



ISSN 1859-4794

TẠP CHÍ

KHOA HỌC & CÔNG NGHỆ Việt Nam

**Vietnam Journal of
Science and Technology - MOST**

B

Tập 60 - Số 9 - Tháng 9 năm 2018

HỘI ĐỒNG BIÊN TẬP

Nguyễn Văn Hiệu - Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam
Nguyễn Việt Anh - Trường Đại học Xây dựng
Bùi Chí Bửu - Viện Khoa học Kỹ thuật Nông nghiệp Miền Nam
Vũ Dũng - Hội Tâm lý học Việt Nam
Trần Thọ Đạt - Trường Đại học Kinh tế Quốc dân
Nguyễn Đình Đức - Trường Đại học Công nghệ - Đại học Quốc gia Hà Nội
Vũ Minh Giang - Đại học Quốc gia Hà Nội
Trương Nam Hải - Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam
Từ Quang Hiến - Trường Đại học Nông lâm Thái Nguyên
Phạm Huy Khang - Trường Đại học Giao thông Vận tải
Phạm Gia Khánh - Chủ tịch Hội Ghép tạng Việt Nam
Hồ Đắc Lộc - Trường Đại học Kỹ thuật Công nghệ TP Hồ Chí Minh
Nguyễn Thị Mỹ Lộc - Trường Đại học Giáo dục - Đại học Quốc gia Hà Nội
Bành Tiến Long - Trường Đại học Bách khoa Hà Nội
Lê Quan Nghiệm - Đại học Y Dược TP Hồ Chí Minh
Mai Trọng Nhuận - Đại học Quốc gia Hà Nội
Nguyễn Thanh Phương - Trường Đại học Cần Thơ
Nguyễn Thanh Thủy - Trường Đại học Công nghệ - Đại học Quốc gia Hà Nội
Phạm Hùng Việt - Trường Đại học Khoa học Tự nhiên - Đại học Quốc gia Hà Nội

TỔNG BIÊN TẬP

Đặng Ngọc Bảo

PHÓ TỔNG BIÊN TẬP

Nguyễn Thị Hải Hằng
Nguyễn Thị Hương Giang

TRƯỞNG BAN BIÊN TẬP

Phạm Thị Minh Nguyệt

TRƯỞNG BAN TRỊ SỰ

Lương Ngọc Quang Hưng

TRÌNH BÀY

Đinh Thị Luận

EDITORIAL COUNCIL

Nguyen Van Hieu - Vietnam Academy of Science and Technology
Nguyen Viet Anh - National University of Civil Engineering
Bui Chi Buu - Institute of Agricultural Science for Southern Vietnam
Vu Dung - Vietnam Association of Social Psychology
Tran Tho Dat - National Economics University
Nguyen Dinh Duc - University of Engineering and Technology - Vietnam National University, Hanoi
Vu Minh Giang - Vietnam National University, Hanoi
Truong Nam Hai - Vietnam Academy of Science and Technology
Tu Quang Hien - Thai Nguyen University of Agriculture and Forestry
Pham Huy Khang - University of Transport and Communications
Pham Gia Khanh - President of Vietnam Society of Organ Transplantation
Ho Duc Loc - Ho Chi Minh City University of Technology
Nguyen Thi My Loc - University of Education, Vietnam National University, Hanoi
Banh Tien Long - Hanoi University of Science and Technology
Le Quan Nghiem - University of Medicine and Pharmacy of Ho Chi Minh City
Mai Trong Nhuan - Vietnam National University, Hanoi
Nguyen Thanh Phuong - Can Tho University
Nguyen Thanh Thuy - University of Engineering and Technology - Vietnam National University, Hanoi
Pham Hung Viet - VNU University of Science

EDITOR-IN-CHIEF

Dang Ngoc Bao

DEPUTY EDITORS

Nguyen Thi Hai Hang
Nguyen Thi Huong Giang

HEAD OF EDITORIAL BOARD

Pham Thi Minh Nguyet

HEAD OF ADMINISTRATION

Luong Ngoc Quang Hung

ART DIRECTOR

Dinh Thi Luan

TÒA SOẠN

113 Trần Duy Hưng - Cầu Giấy - Hà Nội
Tel: (84.24) 39436793; Fax: (84.24) 39436794
Email: khcnvn@most.gov.vn
Tạp chí điện tử: b.vjst.vn

EDITORIAL OFFICE

113 Tran Duy Hung Str. - Cau Giay Dist. - Hanoi
Tel: (84.24) 39436793; Fax: (84.24) 39436794
Email: khcnvn@most.gov.vn
E-journal: b.vjst.vn

GIẤY PHÉP XUẤT BẢN

Số 1153/GP-BTTTT ngày 26/7/2011
Số 2528/GP-BTTTT ngày 26/12/2012
Số 592/GP-BTTTT ngày 28/12/2016
Giá: 18000^d

PUBLICATION LICENCE

No.1153/GP-BTTTT 26th July 2011
No.2528/GP-BTTTT 26th December 2012
No.592/GP-BTTTT 28th December 2016

Phát hiện đột biến gen *BTK* trên các bệnh nhân chẩn đoán bệnh không gammaglobulin máu liên kết nhiễm sắc thể giới tính X (XLA)

Ngô Mạnh Tiến^{1*}, Nguyễn Thị Vân Anh¹, Nguyễn Thị Phương Mai¹, Ngô Diễm Ngọc¹, Nguyễn Ngọc Quỳnh Lê¹, Trần Thị Chi Mai¹, Nguyễn Thanh Bình¹, Khuất Hữu Thanh², Lê Thanh Hải¹, Lê Thị Minh Hương¹

¹Bệnh viện Nhi Trung ương

²Trường Đại học Bách khoa Hà Nội

Ngày nhận bài 24/7/2018; ngày chuyển phản biện 27/7/2018; ngày nhận phản biện 4/9/2018; ngày chấp nhận đăng 10/9/2018

Tóm tắt:

Protein cytoplasmic tyrosine kinase (BTK) được mã hóa bởi gen *BTK*. Đột biến trên gen *BTK* là nguyên nhân gây nên bệnh không gammaglobulin máu liên kết nhiễm sắc thể giới tính X (XLA). **Mục tiêu:** phát hiện các đột biến trên gen *BTK* ở các bệnh nhân mắc bệnh XLA. **Đối tượng và phương pháp:** 3 bệnh nhân được chẩn đoán mắc bệnh XLA. Sử dụng kỹ thuật giải trình tự gen để phát hiện các đột biến trên gen *BTK*. **Kết quả:** 3 bệnh nhân đều có đột biến trên gen *BTK*, trong đó 1 bệnh nhân có đột biến mất đoạn từ exon 2 đến exon 5; 2 bệnh nhân có đột biến điểm thay thế axit amin trên exon 10, các đột biến lần lượt là c.862C>T (p.Arg288Trp) và c.843G>A (p.Trp281Stop). **Kết luận:** kỹ thuật giải trình tự gen là phương pháp chính xác cho phép sàng lọc toàn bộ các đột biến trên gen *BTK*. Phương pháp giải trình tự gen là cơ sở để chẩn đoán xác định bệnh XLA, đây là cơ sở để giúp các bác sỹ lâm sàng tư vấn di truyền và chẩn đoán trước sinh trong tương lai.

Từ khóa: đột biến, gen *BTK*, giải trình tự gen, XLA.

Chỉ số phân loại: 3.2

Đặt vấn đề

Bệnh XLA là bệnh giảm gammaglobulin máu liên kết nhiễm sắc thể giới tính X khiến cho cơ thể không sản xuất được BTK. Do đó, các tế bào lympho B không thể biệt hóa hoặc trưởng thành được, dẫn tới hậu quả trực tiếp là không sản xuất được kháng thể để đưa ra máu ngoại vi. Vì vậy, cơ thể bệnh nhân bị giảm khả năng chống chọi với các tác nhân gây bệnh, đặc biệt là vi khuẩn. Tỷ lệ mắc bệnh XLA khoảng 1/200.000 trẻ. Đây là bệnh di truyền liên kết giới tính X hiếm gặp. Protein BTK có 5 vùng chức năng khác nhau, gồm: vùng pleckstrin - homology (PH) nằm ở đầu N, tiếp theo là vùng Tec (TH), Src- (SH3), SH2 homology và Kinase (TK hoặc SH1). Trong khi vùng SH1 là vùng tổng hợp cho quá trình Tyr phosphoryl hóa, vùng PH lại có chức năng quan trọng trong vị trí của màng BTK. Vùng TH giữ vai trò quan trọng trong quá trình giữ protein và điều hòa hoạt động, vùng SH3 và SH2 giữ vai trò trong quá trình tương tác giữa các protein [1].

Năm 1993, lần đầu tiên hai nhóm nghiên cứu độc lập cùng tìm ra gen *BTK* gây bệnh XLA và giải thích được cơ chế sinh bệnh. Đột biến ở gen này gây giảm chức năng của BTK khiến cho tế bào lympho B không thể biệt hóa hoặc trưởng thành và không sản xuất ra kháng thể [2]. Gen *BTK* nằm ở cánh dài của nhiễm sắc thể X, ở vị trí Xq 21.3-q 22.

Gen này dài 37 kb và chứa 19 exon. Ngày nay, có khoảng 2.152 nghiên cứu về đột biến gen *BTK* đã được công bố trên thế giới (<http://structure.bmc.lu.se/idbase/BTKbase/index.php?content=index/IDbases>) [3-5].

Trong nghiên cứu này, chúng tôi áp dụng kỹ thuật giải trình tự gen để phát hiện các đột biến trên gen *BTK* ở vùng exon và vùng ranh giới exon/intron trên 3 bệnh nhân đã được chẩn đoán mắc bệnh XLA.

Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

Đối tượng nghiên cứu

Nghiên cứu được thực hiện trên 3 bệnh nhân tuổi từ 36 tháng tới 10 năm, không có quan hệ huyết thống với các triệu chứng lâm sàng là nhiễm khuẩn tái diễn nhiều đợt, khởi phát từ 8,4 tháng tuổi. Các bệnh nhân này đủ tiêu chuẩn chẩn đoán xác định bệnh XLA theo các tiêu chuẩn của Hiệp hội suy giảm miễn dịch châu Âu (1999) như sau [6]:

Tiêu chuẩn chẩn đoán xác định: bệnh nhân nam có số lượng tế bào lympho B CD19+ ≤2% và ít nhất một tiêu chuẩn sau:

- Tìm thấy đột biến trên gen *BTK* (Bruton agammaglobulinemia tyrosine kinase).

*Tác giả liên hệ: Email: ntmanh@gmail.com

Identify mutations in *BTK* gene of patients with X-linked agammaglobulinemia (XLA)

Manh Tien Ngo^{1*}, Thi Van Anh Nguyen¹,
Thi Phuong Mai Nguyen¹, Diem Ngoc Ngo¹,
Ngoc Quynh Le Nguyen¹, Thi Chi Mai Tran¹,
Thanh Binh Nguyen¹, Huu Thanh Khuat²,
Thanh Hai Le¹, Thi Minh Huong Le¹

¹National Children's Hospital

²Hanoi University of Science and Technology

Received 24 July 2018; accepted 10 September 2018

Abstract:

The cytoplasmic tyrosine kinase (BTK) protein is encoded by the *BTK* gene. Mutations in the *BTK* gene are responsible for the primary immunodeficiency X-linked agammaglobulinemia (XLA). **Objectives:** to detect mutations in *BTK* gene in patients with XLA. **Subjects and Methods:** three patients were diagnosed with XLA. Sequencing techniques were used to detect mutations in the *BTK* gene. **Results:** all the three patients had mutations in the *BTK* gene; one had a loss mutation of exon 2 to 5; two patients had an amino acid substitution mutation on exon 10, and the mutants respectively were c.862C>T (p.Arg288Trp) and c.843G>A (p.Trp281Stop). **Conclusion:** sequencing technique is the accurate method for screening all mutations in the *BTK* gene. Sequencing technique will support for the diagnosis of XLA, for clinicians to provide genetic counselling and prenatal diagnosis in the future.

Keywords: *BTK* gene, mutation, sequencing, XLA.

Classification number: 3.2

- Anh, em trai cùng mẹ của bệnh nhân, cậu và bác trai bên mẹ, hoặc cháu trai bên mẹ có số lượng tế bào lympho B CD19+ $\leq 2\%$.

- Không có mRNA của gen *BTK* trong mẫu phân tích mRNA của bạch cầu hạt trung tính và bạch cầu mono theo phương pháp Northern blot analysis.

- Không có protein BTK trong tế bào bạch cầu mono hoặc tiểu cầu.

Tiêu chuẩn loại trừ:

- Bệnh nhân bị suy giảm miễn dịch thứ phát do HIV, thuốc hoặc hóa chất.

- Bệnh nhân hoặc người nhà không chấp thuận tham gia nghiên cứu.

Phương pháp nghiên cứu

Mẫu bệnh phẩm: 2 ml máu ngoại vi chống đông EDTA.

Tách chiết ADN từ máu ngoại vi: sử dụng kit tách chiết QiaAmp DNA blood mini kit (Qiagen - Đức).

Phương pháp PCR nhân đoạn gen *BTK*: trình tự mỗi được thiết kế theo Wing và cs. Chu trình nhiệt PCR được thực hiện trong điều kiện 95°C, 5 phút; [95°C, 45 giây; 60°C, 45 phút; 72°C, 1 phút 45 giây] x 35 chu kỳ; 72°C, 10 phút. Sản phẩm PCR được kiểm tra trên Agarose 1%. Độ lớn của sản phẩm PCR được thể hiện ở bảng 1.

Bảng 1. Sản phẩm PCR và độ lớn của sản phẩm.

Sản phẩm PCR	Exon	Độ lớn (bp)
1	Exon 1	600
2	Exon 2-3	949
3	Exon 4-5	1.829
4	Exon 6-7	649
5	Exon 8-9	796
6	Exon 10-13	1.933
7	Exon 14-15	1.058
8	Exon 16-18	1.620
9	Exon 19	627

Tinh sạch sản phẩm PCR: sử dụng kit tinh sạch QIAamp PCR purification kit (Qiagen - Đức).

Thực hiện phản ứng PCR mỗi đơn: phản ứng PCR mỗi đơn được thực hiện theo chu trình nhiệt [95°C, 30 giây; 55°C, 1 phút; 72°C, 2 phút] x 30 chu kỳ. Sản phẩm PCR mỗi đơn được tinh sạch sử dụng kit tinh sạch chuyên dụng BigDye X Terminator (ABI).

Giải trình tự gen *BTK*: được tiến hành trên máy Genetic

Analysar 3130 (ABI). Trình tự gen được phân tích bằng phần mềm Chromas Pro, sau đó được so sánh với trình tự chuẩn U2281904 của Ngân hàng gen thế giới (GeneBank).

Kết quả

Trước khi được chẩn đoán, các bệnh nhân đều bị viêm phổi >2 đợt/năm, viêm tai giữa tái phát, 2 trong số 3 bệnh nhân bị nhiễm khuẩn ngoài da cần điều trị kháng sinh, một hoặc hai đợt nhiễm khuẩn huyết; một bệnh nhân bị viêm não - màng não do nhiễm khuẩn và di chứng nghiêm trọng gây chậm phát triển tinh thần, vận động và viêm phổi nặng dẫn tới tử vong.

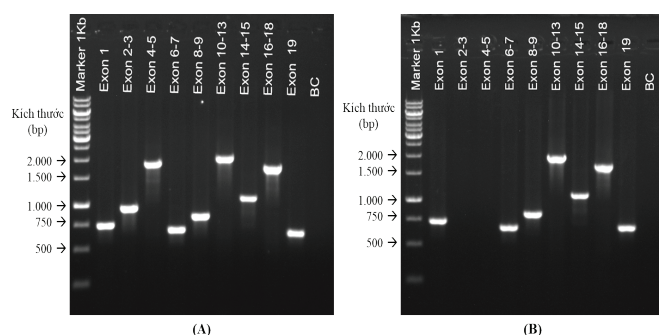
Xét nghiệm cận lâm sàng của cả 3 bệnh nhân cho thấy nồng độ gammaglobulin trong máu ngoại vi giảm nặng (bảng 2). Nồng độ IgG tại thời điểm trước chẩn đoán của 2 bệnh nhân trước khi truyền gammaglobulin dưới -2SD so với tuổi, bệnh nhân số 3 sau khi được truyền gammaglobulin tại bệnh viện tỉnh với chỉ định điều trị nhiễm khuẩn huyết nặng IgG đo được chỉ đạt 4,6 g/l (tương đương ngưỡng thấp của giá trị bình thường so với tuổi).

Bảng 2. Kiểu gen và kiểu hình các bệnh nhân XLA.

Bệnh nhân	Immunoglobuline			Lympho B		Đột biến	
	IgA	IgM	IgG	Số lượng	%	c.ADN	Protein
1	0,01	0,30	0,09	0	0		Del exon 2-5
2	0,02	0,70	2,40	9,1	0,18	c.862C>T	p.Arg288Trp
3	0,45	0,53	4,60*	0	0	c.843G>A	Trp281Stop

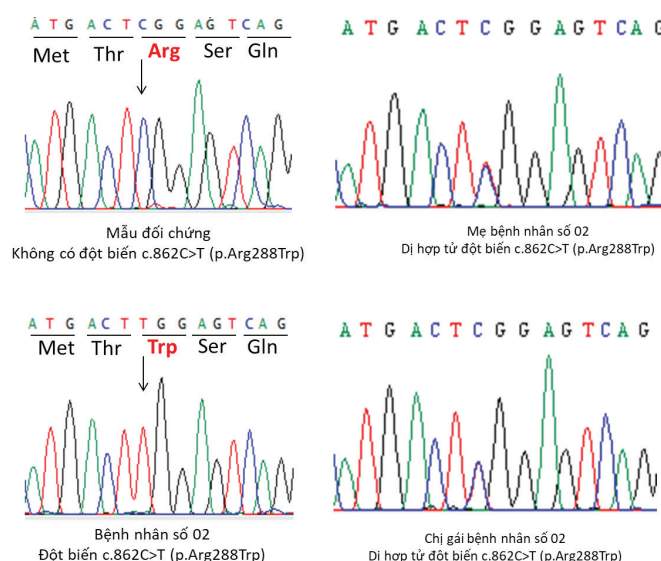
*Bệnh nhân đã được truyền gammaglobulin trước khi định lượng (tại bệnh viện tỉnh do nhiễm khuẩn huyết).

Gen *BTK* được chia làm 9 đoạn với độ lớn tương ứng. Kết quả khuếch đại gen cho thấy, các đoạn gen đều được khuếch đại với độ lớn mong muốn (hình 1A). Sản phẩm PCR tiếp tục được sử dụng để giải trình tự, phân tích gen *BTK*.

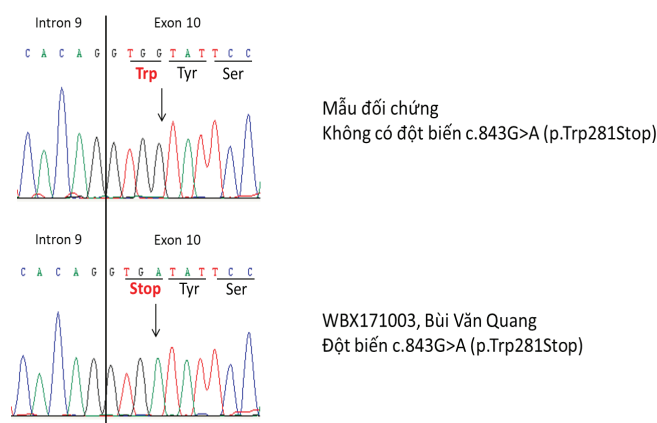


Hình 1. Sản phẩm khuếch đại gen *BTK*. (A) Sản phẩm khuếch đại gen *BTK* trên mẫu không có đột biến. (B) Đột biến mất đoạn từ exon 2 đến exon 5 gen *BTK* được phát hiện trên bệnh nhân số 1.

Nghiên cứu phát hiện 3 bệnh nhân có đột biến trên gen *BTK* (bảng 2). Trong đó, một bệnh nhân có đột biến mất đoạn từ exon 2 đến 5 (hình 1B); 2 bệnh nhân có đột biến điểm kiểu thay thế axit amin trên exon 10 lần lượt là c.862C>T (p.Arg288Trp) và c.843G>A (p.Trp281Stop) (hình 2, 3). Kiểu gen và kiểu hình của các bệnh nhân được thể hiện ở bảng 2.



Hình 2. Đột biến c.862C>T (p.Arg288Trp) trên gen *BTK* ở bệnh nhân số 2.



Hình 3. Đột biến c.843G>A (p.Trp281Stop) trên gen *BTK* ở bệnh nhân số 3.

Bàn luận

3 bệnh nhân đều có nồng độ IgA, IgM giảm nặng <-2SD so với tuổi của bệnh nhân (bảng 2). Số lượng tế bào lympho B của cả 3 bệnh nhân đều giảm nặng <1%, phù hợp tiêu chuẩn chẩn đoán của bệnh nhân. Đây là chỉ số đánh giá không phụ thuộc vào điều trị truyền IVIG, phản ánh bệnh nhân không có khả năng sản xuất kháng thể do giảm rất nặng tế bào lympho B trong máu ngoại vi.

Các bệnh nhân trong nghiên cứu đều có đột biến trên gen *BTK*, trong đó 1 bệnh nhân có đột biến mất đoạn từ exon 2 đến 5 và 2 bệnh nhân có đột biến điểm trên exon 10. Hai đột biến điểm là đột biến thay thế axit amin (p.Arg288Trp) và đột biến tạo codon kết thúc sớm (p.Trp281Stop). Đột biến p.Arg288Trp được mô tả lần đầu tiên vào năm 1994 bởi Bradley và cs [7]. Tác giả sử dụng phương pháp SSCP để phát hiện đột biến trên gen *BTK* ở 10 bệnh nhân. Kết quả phát hiện được 8/10 bệnh nhân có đột biến, trong đó 7 đột biến là đột biến điểm và 1 đột biến ở dạng chèn đoạn nhỏ. Đột biến p.Trp281Stop là đột biến tạo codon kết thúc sớm trên exon 10. Đột biến này đã được công bố năm 1995 bởi Hagemann và cs [8]. Các tác giả này cũng sử dụng phương pháp SSCP để phát hiện các đột biến trên gen *BTK*. Nghiên cứu của chúng tôi sử dụng phương pháp giải trình tự gen để phát hiện toàn bộ đột biến trên gen *BTK*. Ngày nay, đã có nhiều nghiên cứu sử dụng kỹ thuật giải trình tự để phát hiện đột biến trên gen *BTK*. Năm 2015, nghiên cứu của Chear và cs [9] đã phát hiện đột biến mới trên exon 13 nhờ sử dụng phương pháp giải trình tự gen. Năm 2016, Abolhassani và cs [10] cũng đã sử dụng kỹ thuật giải trình tự gen để phát hiện đột biến gen *BTK*. Nghiên cứu này đã phát hiện 37/87 bệnh nhân có đột biến, trong đó có 1 đột biến mới chưa được công bố. Phương pháp giải trình tự gen là phương pháp có độ nhạy và độ đặc hiệu cao, có thể xác định các đột biến điểm trên toàn bộ gen *BTK*. Tuy nhiên, nhược điểm của phương pháp giải trình tự gen là không phát hiện được các đột biến mất đoạn lớn trên bệnh nhân và người mang đột biến loại này. Vì vậy, cần có phương pháp khác để phát hiện các đột biến mất đoạn lớn như MLPA, PRC-RFLP...

Việc phát hiện các đột biến trên gen *BTK* gây bệnh XLA sẽ giúp chẩn đoán xác định bệnh XLA, là tiền đề cho tư vấn di truyền và chẩn đoán trước sinh sau này.

Kết luận

Nghiên cứu phát hiện 3 bệnh nhân được chẩn đoán bệnh XLA đều có đột biến trên gen *BTK*, trong đó 1 bệnh nhân có đột biến mất đoạn từ exon 2 đến 5; 1 bệnh nhân có đột biến p.Arg288Trp và 1 bệnh nhân có đột biến p.Trp281Stop trên exon 10.

Kỹ thuật giải trình tự gen là kỹ thuật có độ chính xác cao, có thể phát hiện các đột biến trên gen *BTK*. Đây là tiền đề cơ bản cho việc xác định dị hợp tử, phòng bệnh bằng tư vấn di truyền và chẩn đoán trước sinh.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] S. Desiderio (1997), "Role of BTK in B cell development and signaling", *Curr. Opin. Immunol.*, **9**(4), pp.534-540.
- [2] D. Vetrie, et al. (1993), "The gene involved in X-linked agammaglobulinemia is a member of the src family of protein-tyrosine kinases", *Nature*, **361**(6409), pp.226-233.
- [3] X. Kong, et al. (2014), "Mutation analysis and prenatal diagnosis in families of X-linked agammaglobulinemia caused by BTK gene mutation", *Zhonghua Yi Xue Za Zhi*, **94**(18), pp.1405-1408.
- [4] J. Lee, et al. (2016), "A novel BTK gene mutation, c.82delC (p.Arg28 Alafs(*)5), in a Korean family with X-linked agammaglobulinemia", *Korean J. Pediatr.*, **59**(Suppl 1), pp.S49-S52, doi: 10.3345/kjp.2016.59.11.S49.
- [5] N. Rattanachartnarong, et al. (2014), "In vitro correction of a novel splicing alteration in the BTK gene by using antisense morpholino oligonucleotides", *Arch. Immunol. Ther. Exp. (Warsz)*, **62**(5), pp.431-436.
- [6] M.E. Conley, L.D. Notarangelo, A. Etzioni (1999), "Diagnostic criteria for primary immunodeficiencies. Representing PAGID (Pan-American Group for Immunodeficiency) and ESID (European Society for Immunodeficiencies)", *Clin. Immunol.*, **93**(3), pp.190-197.
- [7] L.A. Bradley, et al. (1994), "Mutation detection in the X-linked agammaglobulinemia gene, BTK, using single strand conformation polymorphism analysis", *Hum. Mol. Genet.*, **3**(1), pp.79-83.
- [8] T.L. Hagemann, F.S. Rosen, S.P. Kwan (1995), "Characterization of germline mutations of the gene encoding Bruton's tyrosine kinase in families with X-linked agammaglobulinemia", *Hum. Mutat.*, **5**(4), pp.296-302.
- [9] C.T. Chear, et al. (2015), "A novel BTK gene mutation creates a de-novo splice site in an X-linked agammaglobulinemia patient", *Gene*, **560**(2), pp.245-248.
- [10] H. Abolhassani, et al. (2016), "Cohort of Iranian Patients with Congenital Agammaglobulinemia: Mutation Analysis and Novel Gene Defects", *Expert Rev. Clin. Immunol.*, **2**(4), pp.479-486.

Nghiên cứu xây dựng quy trình chẩn đoán vi khuẩn gây nhiễm khuẩn âm đạo bằng phương pháp Multiplex PCR

Triệu Tiến Sang^{1*}, Vũ Hương Ly², Trần Văn Khoa¹, Nguyễn Thị Việt Hà¹,
Nguyễn Thị Trang³, Nguyễn Thị Mai Hương⁴

¹Bộ môn Sinh học và Di truyền y học, Học viện Quân y

²Khoa Sinh học, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội

³Bộ môn Y sinh học - Di truyền, Trường Đại học Y Hà Nội

⁴Khoa Di truyền và Sinh học phân tử, Bệnh viện Nhi Trung ương (NHP)

Ngày nhận bài 10/7/2018; ngày chuyển phản biện 16/7/2018; ngày nhận phản biện 20/8/2018; ngày chấp nhận đăng 31/8/2018

Tóm tắt:

Nhiễm khuẩn âm đạo (*Bacterial vaginosis* - BV) là một trong những bệnh viêm nhiễm đường sinh dục phổ biến nhất ở phụ nữ trong độ tuổi sinh sản, có thể dẫn đến nhiều biến chứng nghiêm trọng. Đặc biệt, bệnh còn ảnh hưởng đến hiệu quả chuyển phôi của bệnh nhân làm hỗ trợ sinh sản. Các nghiên cứu đã chỉ ra rằng, BV không phải do một tác nhân cụ thể nào gây ra, mà do sự mất cân bằng của hệ vi khuẩn trong âm đạo. Tuy nhiên, các kỹ thuật hiện nay như nuôi cấy và nhuộm gram tỏ ra kém hiệu quả, với thời gian kéo dài, không đủ nhạy để xác định đồng thời các tác nhân. Nghiên cứu này được tiến hành nhằm xây dựng phương pháp Multiplex PCR (M-PCR) để phát hiện đồng thời và chính xác các tác nhân gây bệnh, góp phần giảm tối đa chi phí và thời gian xét nghiệm. Quy trình đã phát hiện được 10 loài vi khuẩn gây bệnh dựa trên vùng gene đặc hiệu 16s-rRNA và tối ưu hóa M-PCR thành 3 phản ứng với độ nhạy và độ đặc hiệu cao. Kết quả bước đầu đã xây dựng thành công quy trình M-PCR, chứng tỏ tiềm năng của phương pháp trong xét nghiệm chẩn đoán BV trong tương lai gần.

Từ khóa: BV, chẩn đoán, Multiplex PCR, nhiễm khuẩn âm đạo, PCR.

Chỉ số phân loại: 3.2

Đặt vấn đề

Nhiễm khuẩn âm đạo (*Bacterial vaginosis* - BV) là một trong những bệnh viêm nhiễm đường sinh dục phổ biến nhất ở phụ nữ trong độ tuổi sinh sản (15-44 tuổi) [1]. Nếu không được đề phòng và điều trị kịp thời, bệnh có thể dẫn đến nhiều biến chứng nghiêm trọng, ảnh hưởng đến khả năng sinh sản và sức khỏe lâu dài của phụ nữ. BV là yếu tố làm tăng tỷ lệ mắc bệnh viêm vùng chậu (PID) [2], căn bệnh đau đớn và có thể dẫn tới vô sinh [3], tăng nguy cơ lây truyền HIV và các bệnh lây truyền qua đường tình dục (STD) [4, 5]. Ở những phụ nữ đang mang thai, BV có thể khiến họ tăng nguy cơ sảy thai, sinh non hoặc sinh con nhẹ cân [6, 7]. Đặc biệt, một nghiên cứu gần đây đã phát hiện ra BV còn ảnh hưởng tiêu cực đến tỷ lệ có thai của những bệnh nhân làm thụ tinh trong ống nghiệm (IVF) [8]. Do đó, điều trị và sàng lọc BV là vô cùng cần thiết, đặc biệt đối với phụ nữ đang mang thai và bệnh nhân trước khi làm hỗ trợ sinh sản.

Các chuyên gia y tế chưa thực sự chắc chắn nguyên nhân gây ra tình trạng viêm nhiễm này. Tuy nhiên, các nghiên cứu

đã chỉ ra rằng không có một tác nhân đặc biệt nào gây bệnh, mà do sự mất cân bằng của hệ vi khuẩn trong âm đạo [9]. Sự phát triển quá mức của nhiều loài vi khuẩn kỵ khí có hại sẽ phá vỡ sự cân bằng tự nhiên, làm giảm số lượng của vi khuẩn có lợi, được biết đến chủ yếu là *Lactobacillus* [10]. Sự tăng lên quá nhiều về số lượng và số loài vi khuẩn gây bệnh đã tạo các hình thái bệnh khác nhau, từ đó cần các cách chẩn đoán và điều trị khác nhau.

Hiện nay, phương pháp chẩn đoán BV thường được dùng dựa vào tiêu chuẩn Amsel [11], khi có ít nhất 3 trong 4 tiêu chí sau: khí hư loãng đồng nhất màu trắng, pH âm đạo >4,5, có tế bào chỉ điểm Clue (>20%) và Whiff test (+) (có mùi cá ươn khi nhỏ vài giọt KOH 10% vào khí hư). Ngoài ra, tiêu chuẩn Nugent cũng được dùng để chẩn đoán BV dựa trên kết quả nhuộm gram của mẫu dịch âm đạo [12]. Trên thực tế, các phương pháp vi sinh thông thường chỉ đánh giá sự xuất hiện của tác nhân gây bệnh, mà không xác định được chính xác từng loài. Do đó, hướng nghiên cứu sinh học phân tử đang được phát triển và tỏ ra có nhiều ưu thế hơn khi xác định đặc hiệu các tác nhân gây bệnh chính. Các kỹ thuật

*Tác giả liên hệ: Email: trieusangk83@yahoo.com.vn

Establishment of clinical method for diagnosing bacterial vaginosis by using Multiplex PCR

Tien Sang Trieu^{1*}, Huong Ly Vu², Van Khoa Tran¹,
Thi Viet Ha Nguyen¹,
Thi Trang Nguyen³, Thi Mai Huong Nguyen⁴

¹Department of Biology and Medical Genetic, Military Medical University

²Faculty of Biology, University of Natural Sciences, Vietnam National University, Ha Noi

³Department of Medical Biology and Genetic, Ha Noi Medical University

⁴Department of Genetics and Molecular Biology, National Children's Hospital

Received 10 July 2018; accepted 31 August 2018

Abstract:

Bacterial vaginosis (BV) is one of the most common vaginal infection among women of reproductive age, and it can lead to serious complications. Specially, it affects the embryo transfer efficiency of patients who apply assisted reproductive technology. Studies have shown that BV is not caused by a specific bacterium but a consequence of vaginal bacteria imbalance. However, current techniques, such as culture and Gram staining, have been shown to be ineffective for prolonged periods of time and not sufficiently sensitive to simultaneously identify the agents. This study was conducted to develop Multiplex PCR (M-PCR) for simultaneous and accurate detection of agents, to reduce costs and time for testing. The process identified 10 species of pathogenic bacteria based on 16s-rRNA gene fragments and split analysis into 3 assays with high sensitivity and specificity. Initial results showed the successful establishment of the M-PCR method, demonstrating the potential of this approach in the diagnosis of vaginal infections in the near future.

Keywords: Bacterial vaginosis, BV, diagnosis, Multiplex PCR, PCR.

Classification number: 3.2

xét nghiệm như PCR, M-PCR, real-time PCR, broad-range PCR kết hợp với lai huỳnh quang tại chỗ (FISH) đã phát hiện được một số chủng vi khuẩn mới bên cạnh các chủng vi khuẩn phổ biến như *Gardnerella vaginalis*, *Mobiluncus* spp., *Atopobium vaginae* và *Bacteroides fragilis* [13, 14]. Sự phát triển quá mức nhiều chủng vi khuẩn khác nhau ảnh hưởng đến hướng điều trị khác nhau do các chủng vi khuẩn có sự đề kháng với kháng sinh khác nhau. Vì vậy, cần xác định rõ các loài vi khuẩn gây bệnh để chọn kháng sinh thích hợp trong điều trị.

Nghiên cứu này được tiến hành nhằm xác định đồng thời và chính xác tác nhân gây bệnh BV bằng phương pháp M-PCR, nhằm nâng cao hiệu quả chẩn đoán và giảm tối đa thời gian và chi phí xét nghiệm. Quy trình chuẩn hóa PCR đơn mỗi sử dụng từng cặp mỗi đặc hiệu cho vùng gene 16s-rRNA để phát hiện 10 loài vi khuẩn: *G. vaginalis*, *Mobiluncus mulieris*, *B. fragilis*, *A. vaginae*, *Ureaplasma urealyticum*, *Megasphaera* type I, BVAB (Clostridia-like bacteria vaginosis-associated bacteria) 1, BVAB 2, BVAB 3 và *Sneathia sanguinegens*. Từ đó, khảo sát những điều kiện tối ưu để xây dựng quy trình M-PCR. Quy trình này có tiềm năng được ứng dụng để hỗ trợ chẩn đoán trong xét nghiệm BV.

Đối tượng, vật liệu và phương pháp nghiên cứu

Đối tượng nghiên cứu

Mẫu bệnh phẩm dịch âm đạo của bệnh nhân làm hỗ trợ sinh sản tại Trung tâm Mô phôi, Học viện Quân y và Trung tâm Hỗ trợ sinh sản, Bệnh viện 16A.

Đối chứng dương được lấy từ mẫu lâm sàng dương tính được phát hiện bằng phương pháp PCR đơn mỗi.

Vật liệu

Hóa chất và trang thiết bị: bộ kit tách chiết QIAamp DNA Mini Kit (Qiagen, Hilden, Đức); GoTaq Green Mastermix 2X của hãng ProOmega (Hoa Kỳ); dung dịch TBE 0.5X, Agarose 2% và EtBr; hệ thống trang thiết bị và máy móc đạt yêu cầu về kỹ thuật và an toàn phòng thí nghiệm tại Labo thuộc Bộ môn Sinh học và Di truyền y học, Học viện Quân y.

Hệ mỗi: hệ mỗi được xây dựng dựa trên vùng đặc hiệu 16s-rRNA của 10 loài vi khuẩn phổ biến gây BV đã được công bố trên NCBI và được khảo sát điều kiện tối ưu cho việc xây dựng quy trình M-PCR (bảng 1).

Bảng 1. Hệ thống cặp mồi của 10 loài vi khuẩn gây bệnh.

	Ký hiệu	Vi khuẩn	Cặp mồi xuôi - ngược	Sản phẩm PCR (bp)
Nhóm G1	BV4	<i>G. vaginalis</i>	T TACTGGTGTATCACTGTAA CCGTCACAGGCTGAACAGT	330
	BV5	<i>M. type I</i>	GATGCCAACAGTATCCGTCCG CCTCTCCGACACTCAAGTTCGA	211
	BV6	<i>B. fragilis</i>	TTCGCTTTTCTGTTTCTGTGT CAGCAACCAACCAACATTATT	842
	BV7	<i>A. vaginae</i>	TAGGTCAGGAGTTAAATCTG TCATGGCCCAGAAGACCGCC	155
Nhóm G2	BV2	<i>U. urealyticum</i>	AGAAGACGTTTAGCTAGAGG ACGACGTCCATAAGCAACT	541
	BV8	BVAB 1	GGAGTGTAGGCGGCACTA CTCTCCGATACTCCAGTCTA	90
	BV9	BVAB 2	TTAACCTTGGGGTTCAATACAA GAATACTATTGTGTTAACTGCGC	260
Nhóm G3	BV10	BVAB 3	CATTAGTTGGGCACTCAGGC ACATTTGGGGATTGCTTCGCC	160
	BV12	<i>M. mulieris</i>	ATGGATATGCGTGTGGATGG CCAGGCATGTAAGCCAAA	80
	BV13	<i>S. sanguineus</i>	AATTATTGGGCTTAAAGGGCATC AGTACTCTAGTTATACAGTTTGTAG	102

Tách chiết ADN

Mẫu bệnh phẩm dịch âm đạo được thu và bảo quản trong ống tampon vô trùng, sau đó ADN được tách chiết bằng bộ kit mini QIAamp DNA (Qiagen, Hilden, Đức) theo khuyến nghị của nhà sản xuất. Sau khi thêm 400 µl CL Buffer, 20 µl Proteinase K (20 mg/ml) và 5 µl RNAase, mẫu tampon được ủ ở 56°C trong 30 phút. Tiếp theo, cho thêm 400 µl BL Buffer và ủ ở 70°C trong 5 phút. ADN sau đó được rửa bằng 400 µl Ethanol và toàn bộ dung dịch được chuyển sang cột lọc được cung cấp. Cuối cùng, dung dịch được tách rửa với W1 và W2. ADN được thu bằng 100 µl dung dịch CE và được bảo quản ở -20°C.

Chuẩn hóa phương pháp PCR đơn mồi

Phản ứng PCR đơn mồi được thiết lập trong 12,5 µl phản ứng với 6,25 µl GoTaq Green Mastermix 2X, 3,75 µl nước khử ion, 0,25 µl mỗi mồi (đặc hiệu cho từng loài vi khuẩn theo bảng 1), 2 µl dịch ADN tách chiết.

Chu trình nhiệt cho phản ứng PCR đơn mồi như sau: 95°C trong 10 phút, 40 chu kỳ với 94°C - 30s, 55°C (nhóm G1 và G2) hoặc 63°C (nhóm G3) - 30s, 72°C - 30s và 72°C - 10 phút.

Sản phẩm PCR được kiểm tra độ đặc hiệu của mồi sau

khí điện di trên gel agarose 2% trong thời gian 30 phút với cường độ dòng điện 110V và nhuộm với Ethidium bromide 1 µl/ml.

Tối ưu hóa phương pháp M-PCR

Sau khi kiểm tra toàn bộ 10 cặp mồi, tiến hành thực hiện phản ứng M-PCR nhằm xác định đồng thời các tác nhân gây bệnh, giúp tiết kiệm thời gian và chi phí. Dựa trên kích thước băng và nhiệt độ gắn mồi, quy trình được chia thành 3 phản ứng với 3 nhóm vi khuẩn khác nhau: i) Nhóm G1: BV4, BV5, BV6, BV7; ii) Nhóm G2: BV2, BV8, BV9; iii) Nhóm G3: BV10, BV12, BV13.

Phản ứng M-PCR được tối ưu trong 12,5 µl phản ứng với nồng độ các cặp mồi khác nhau (bảng 2) cùng với 6,25 µl GoTaq Green Mastermix 2X và 2 µl dịch ADN tách chiết.

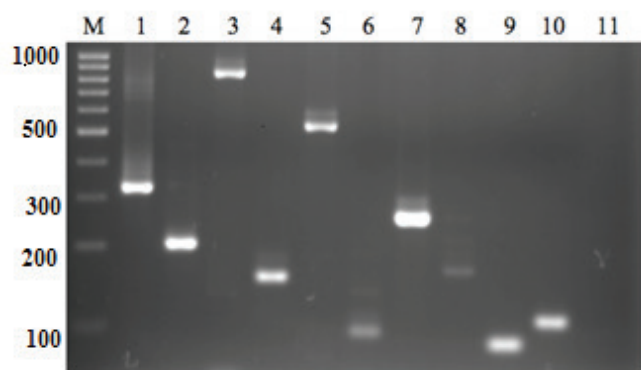
Sản phẩm PCR được điện di trên gel agarose 3% trong 45 phút với cường độ dòng điện 110V và nhuộm với Ethidium bromide 1 µl/ml.

Bảng 2. Nồng độ của các cặp mồi trong phản ứng M-PCR.

	Vi khuẩn	Nồng độ cặp mồi xuôi - ngược	Nhiệt độ gắn mồi
Nhóm G1	BV4	0,3 µl	55°C
	BV5	0,2 µl	
	BV6	0,3 µl	
	BV7	0,2 µl	
Nhóm G2	BV2	0,3 µl	55°C
	BV8	0,2 µl	
	BV9	0,2 µl	
Nhóm G3	BV10	0,5 µl	63°C
	BV12	0,2 µl	
	BV13	0,5 µl	

Kết quả và bàn luận**Chuẩn hóa phương pháp PCR đơn mồi**

Sau khi khảo sát điều kiện phản ứng, chúng tôi chọn nhiệt độ gắn mồi tối ưu là 55°C và 63°C cho tùy loài vi khuẩn (bảng 2). Kết quả điện di trên gel agarose 2% các sản phẩm của phản ứng PCR đơn mồi cho thấy, sản phẩm PCR thu được có một băng duy nhất tương ứng với từng loài vi khuẩn, không có sản phẩm phụ, hình ảnh băng sản phẩm thu được rõ nét. Trình tự mồi có độ đặc hiệu cao, chỉ bắt cặp với vùng gene 16s-rRNA của mỗi vi khuẩn mà không bắt cặp với vi sinh vật khác. Đối chứng âm cho kết quả (-), chứng tỏ trong quá trình làm không bị nhiễm chéo (hình 1).

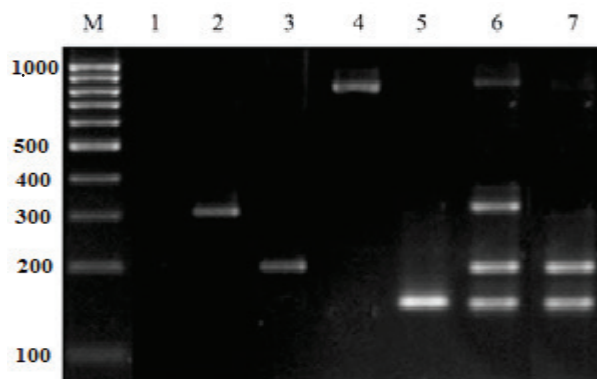


Hình 1. Kết quả điện di sản phẩm PCR đơn môi. M: thang chuẩn ADN 100 bp; 1: *G. vaginalis* - BV4 (330 bp); 2: *M. type I* - BV5 (211 bp); 3: *B. fragilis* - BV6 (842 bp); 4: *A. vaginae* - BV7 (155 bp); 5: *U. urealyticum* - BV2 (541 bp); 6: BVAB 1 - BV8 (90 bp); 7: BVAB 2 - BV9 (260 bp); 8: BVAB 3 - BV10 (160 bp); 9: *M. mulieris* - BV12 (80 bp); 10: *S. sanguinegens* - BV13 (102 bp); 11: đối chứng âm.

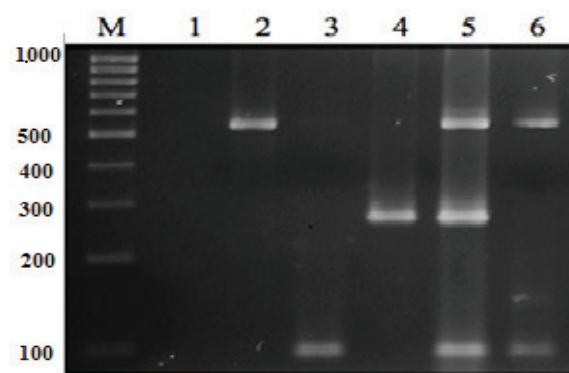
Về lựa chọn phương pháp và hệ môi PCR, có nhiều phương pháp truyền thống có thể xác định sự xuất hiện của các tác nhân gây BV như dựa trên tiêu chuẩn Amsel [11], nhuộm gram, nuôi cấy, kỹ thuật sinh học phân tử như PCR kết hợp lai FISH nhưng mỗi phương pháp đều có ưu, nhược điểm riêng. Nuôi cấy là phương pháp cổ điển, cho kết quả chính xác nhưng yêu cầu cao về điều kiện thu nhận và bảo quản mẫu. Phương pháp nuôi cấy có thể cho kết quả muộn (5-7 ngày), còn phương pháp PCR cho kết quả chỉ sau 5-7 giờ. Ngoài ra, một số loài vi khuẩn kỵ khí không thể xác định được bằng nuôi cấy mà cần được nghiên cứu bằng các kỹ thuật sinh học phân tử hiện đại [15]. Với quy trình PCR đơn môi, chúng tôi đã xác định được chính xác 10 loài vi khuẩn phổ biến gây BV: BV4, BV5, BV6, BV7, BV2, BV8, BV9, BV10, BV12 và BV13. Với tiềm năng có thể trở thành tiêu chuẩn để chẩn đoán bệnh BV, các chuyên gia y tế sẽ có cơ sở để điều trị với kháng sinh đồ thích hợp cho từng tác nhân.

Tối ưu hóa phương pháp M-PCR

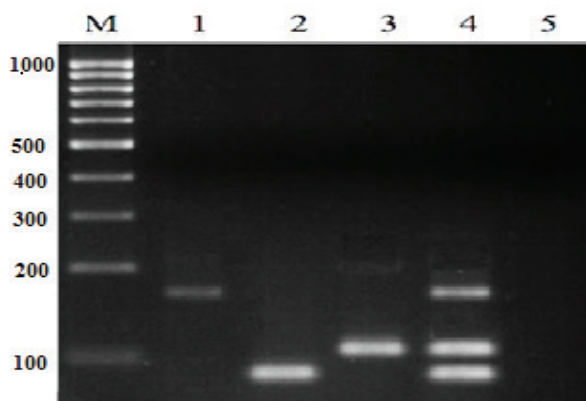
Sau khi chuẩn hóa phương pháp PCR đơn môi, chúng tôi thực hiện tối ưu hóa phương pháp M-PCR nhằm xác định đồng thời và chính xác 10 tác nhân gây bệnh. Quy trình được chia thành 3 phản ứng với nhiệt độ gắn mỗi là 55°C (nhóm G1 và G2) và 63°C (nhóm G3). Cụ thể, nhóm G1 xác định BV4, BV5, BV6, BV7; nhóm G2 xác định BV2, BV8, BV9; và nhóm G3 xác định BV10, BV12, BV13 (hình 2, 3 và 4). Tiến hành thử nghiệm quy trình M-PCR chẩn đoán trên 22 mẫu bệnh phẩm cho các kết quả dương tính với các loài vi khuẩn đã xác định được bằng phương pháp PCR đơn môi.



Hình 2. Kết quả điện di sản phẩm M-PCR với nhóm vi khuẩn G1. M: thang chuẩn ADN 100 bp; 1: đối chứng âm; 2: BV4; 3: BV5; 4: BV6; 5: BV7; 6: nhóm vi khuẩn G1 (BV4, BV5, BV6, BV7); 7: mẫu bệnh nhân dương tính với BV5 và BV7.



Hình 3. Kết quả điện di sản phẩm M-PCR với nhóm vi khuẩn G2. M: thang chuẩn ADN 100 bp; 1: đối chứng âm; 2: BV2; 3: BV8; 4: BV9; 5: nhóm vi khuẩn G2 (BV2, BV8, BV9); 6: mẫu bệnh nhân dương tính với BV2, BV8.



Hình 4. Kết quả điện di sản phẩm M-PCR với nhóm vi khuẩn G3. M: thang chuẩn ADN 100 bp; 1: BV10; 2: BV12; 3: BV13; 4: nhóm vi khuẩn G3 (BV10, BV12, BV13); 5: đối chứng âm.

Phản ứng M-PCR cho các sản phẩm riêng biệt và có tính ổn định như trong phản ứng PCR đơn môi, không có phản ứng chéo giữa các cặp môi. Thử nghiệm trên các mẫu bệnh

phẩm cho thấy xuất hiện băng sáng ứng với vị trí của các loài vi khuẩn đã xác định, bao gồm kết quả dương tính với 1 loài hay đồng nhiễm với nhiều loài. Như vậy, nghiên cứu đã bước đầu xây dựng thành công quy trình M-PCR để phát hiện đồng thời 10 loài vi khuẩn phổ biến gây BV.

Theo nghiên cứu mới đây của K. Tosheva-Daskalova và cs [16], 3 cặp môi đã được sử dụng cho phản ứng M-PCR nhằm phát hiện 3 loài vi khuẩn gây bệnh là *G. vaginalis* - BV4, *A. vaginae* - BV7 và *Mobiluncus* spp. Tuy nhiên, trong nghiên cứu này, chúng tôi đã sử dụng 4 cặp môi trong phản ứng G1 nhằm phát hiện BV4, BV5, BV6 và BV7. Kết quả cho thấy, đã phát hiện đồng thời hơn 2 tác nhân gây bệnh là BV4 và BV7 mà vẫn đảm bảo được độ chính xác và chất lượng băng điện di, mang lại hiệu quả xét nghiệm cao hơn.

Tuy không thể hoàn toàn thay thế các phương pháp xét nghiệm cổ điển, song quy trình này mang nhiều ưu thế vượt trội. Nổi bật là có thể xác định chính xác và đồng thời nhiều tác nhân gây bệnh, làm cơ sở để có hướng điều trị bệnh hiệu quả. Các mẫu dùng trong PCR chỉ cần bảo quản lạnh, không yêu cầu nghiêm ngặt như trong phương pháp nuôi cấy và nhuộm gram. Hơn nữa, phương pháp này còn giảm tối đa chi phí và thời gian xét nghiệm.

Kết luận

Đã ứng dụng kỹ thuật PCR đơn môi trong chẩn đoán và xác định được 10 loài vi khuẩn phổ biến gây BV. Đồng thời tối ưu hóa thành công phương pháp M-PCR nhằm phát hiện đồng thời các tác nhân gây bệnh và được ứng dụng thử nghiệm để hỗ trợ chẩn đoán cho bệnh nhân làm hỗ trợ sinh sản.

Kiến nghị tiếp tục chuẩn hóa kỹ thuật M-PCR để có thể phát hiện đồng thời các tác nhân gây bệnh khác, mở rộng quy mô thí nghiệm với cỡ mẫu lớn để có thể đánh giá tính đặc hiệu của kỹ thuật.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

[1] J. Schwebke (2009), "New concepts in the etiology of bacterial vaginosis", *Current Infectious Disease Reports*, **11**(2), pp.143-147.
 [2] H. Sharma (2014), "Microbiota and pelvic inflammatory disease", *Seminars in Reproductive Medicine*, **32**(1), pp.43-49.
 [3] N. Van Oostrum, et al. (2013), "Risks associated with bacterial vaginosis in infertility patients: a systematic review and meta-

analysis", *Human Reproduction*, **27**(7), pp.809-815.

[4] H.L. Martin, et al. (1999), "Vaginal lactobacilli, microbial flora, and risk of human immunodeficiency virus type 1 and sexually transmitted disease acquisition", *Journal of Infectious Diseases*, **180**(6), pp.1863-1868.

[5] C. Mitchell, et al. (2009), "Detection of fastidious vaginal bacteria in women with HIV infection and bacterial vaginosis", *Infectious Diseases in Obstetric and Gynecology*, **2009**, pp.1-6, doi: 10.1155/2009/236919.

[6] M.G. Gravett, et al. (1986), "Independent associations of bacterial vaginosis and chlamydia trachomatis Infection with adverse pregnancy outcome", *JAMA (The Journal of the American Medical Association)*, **256**(14), pp.1899-1903.

[7] P.E. Hay, et al. (1994), "Abnormal bacterial colonisation of the genital tract and subsequent preterm delivery and late miscarriage", *BMJ*, **308**, pp.295-298.

[8] T. Haahr, et al. (2016), "Abnormal vaginal microbiota may be associated with poor reproductive outcomes: a prospective study in IVF patients", *Human Reproduction*, **31**(4), pp.795-803.

[9] J.M. Marrazzo (2011), "Interpreting the epidemiology and natural history of bacterial vaginosis: are we still confused?", *Anaerobe*, **17**(4), pp.186-190.

[10] D.A. Eschenbach, et al. (2000), "Influence of the normal menstrual cycle on vaginal tissue, discharge, and microflora", *Clinical Infectious Diseases*, **30**(6), pp.901-907.

[11] R. Amsel, et al. (1983), "Nonspecific vaginitis - Diagnostic criteria and microbial and epidemiologic associations", *American Journal of Medicine*, **74**(1), pp.14-22.

[12] R.P. Nugent, M.A. Krohn, S.L. Hillier (1991), "Reliability of diagnosing bacterial vaginosis is improved by a standardized method of gram stain interpretation", *Journal of Clinical Microbiology*, **29**(2), pp.297-301.

[13] D.N. Fredricks, T.L. Fiedler, J.M. Marrazzo (2005), "Molecular identification of bacteria associated with bacterial vaginosis", *The New England Journal of Medicine*, **353**, pp.899-1911.

[14] D.N. Fredricks, et al. (2007), "Targeted PCR for detection of vaginal bacteria associated with bacterial vaginosis", *Journal of Clinical Microbiology*, **45**(10), pp.3270-3276.

[15] D.N. Fredricks, J.M. Marrazzo (2005), "Molecular methodology in determining vaginal flora in health and disease: its time has come", *Curent Infectious Disease Reports*, **7**(6), pp.463-470.

[16] K. Tosheva-Daskalova, et al. (2017), "Multiplex PCR detection of problematic pathogens of clinically heterogeneous bacterial vaginosis in Bulgarian women", *Turkish Journal of Medical Sciences*, **47**, pp.1492-1499.

Điều chế hệ vi tự nhũ để cải thiện tính kém bền của schaftosid trong cao kim tiền thảo toàn phần

Trần Lê Tuyết Châu¹, Phạm Bảo Ngọc¹, Trương Công Trí¹, Dương Chí Toàn^{2*}

¹Trường Đại học Y dược TP Hồ Chí Minh

²Công ty Cổ phần Dược Danapha

Ngày nhận bài 1/6/2018; ngày chuyển phản biện 5/6/2018; ngày nhận phản biện 13/7/2018; ngày chấp nhận đăng 20/7/2018

Tóm tắt:

Hệ thống chuyển giao thuốc dạng vi tự nhũ (self-microemulsifying drug delivery system, SMEDDS) thường gọi là hệ vi tự nhũ chứa cao chiết kim tiền thảo (KTT) được điều chế nhằm cải thiện độ ổn định của schaftosid. Hệ SMEDDS-KTT được điều chế chứa 30% cao chiết KTT (w/w) bao gồm isopropyl myristate (35%, w/w), tween 80 (45%, w/w) và propylen glycol 400 (20%, w/w). Hệ SMEDDS-KTT tạo thành có kích thước trung bình tiểu phân là $75,47 \pm 1,46$ nm, hệ số đa phân tán (PdI) là $0,24 \pm 0,02$ và giá trị thế zeta trung bình là $-8,03 \pm 0,45$ mV. Độ ổn định của schaftosid được thực hiện ở $37 \pm 2^\circ\text{C}$ trong các môi trường pH khác nhau (pH 1,2 trong 2 giờ, pH 6,8 trong 6 giờ và pH 7,4 trong 8 giờ). Kết quả chứng minh độ ổn định của schaftosid được cải thiện rõ rệt bởi hệ SMEDDS-KTT.

Từ khóa: kim tiền thảo, schaftosid, SMEDDS.

Chỉ số phân loại: 3.4

Đặt vấn đề

Trong những bài thuốc cổ truyền của Việt Nam, KTT với tên khoa học *Desmodium styracifolium* (Osb.) Merr. được nhắc đến với rất nhiều tác dụng, như chữa sỏi niệu đạo, sỏi bàng quang, sỏi túi mật, viêm thận phù thũng. Thành phần hóa học chủ yếu trong KTT là các flavonoid, saponin và alkaloid. Theo một số công trình nghiên cứu về tác dụng dược lý, KTT có tác dụng lợi tiểu, kháng khuẩn, kháng viêm, ức chế sỏi thận, hạ huyết áp, tăng lưu lượng máu mạch vành, giảm tiêu thụ oxy ở cơ tim và giảm sức cản động mạch vành [1-3]. Các flavonoid, đặc biệt là schaftosid có khả năng bảo vệ tế bào thận, tăng thải trừ osteopontin, ức chế hình thành sỏi. Tuy nhiên, một số flavonoid cấu trúc phân tử lớn, khó qua được màng phospholipid kép nên hấp thụ kém khi sử dụng qua đường uống. Bên cạnh đó, schaftosid trong cao KTT kém ổn định, dễ bị phân hủy bởi độ pH và các tác nhân trong đường tiêu hóa, làm giảm khả năng điều trị của thuốc dạng bào chế thông thường chứa cao KTT [4]. Với sự phát triển của công nghệ dược phẩm, một số hệ thống phân phối thuốc mới đã ra đời, trong đó có hệ vi nhũ tương (SMEDDS). Thành phần chính của hệ SMEDDS là các tá dược lipid, các chất diện hoạt và đồng diện hoạt. Khi phân tán vào nước, dưới tác động của cơ bóp dạ dày và nhu động ruột có thể tạo ra hệ vi nhũ tương (D/N) có kích thước tiểu phân nhỏ hơn 250 nm, diện tích bề mặt lớn

nên tăng khả năng phân tán, hòa tan và thấm qua màng sinh học của hoạt chất [5, 6]. Từ đó, SMEDDS chứa cao KTT (SMEDDS-KTT) đã được điều chế nhằm mục đích giúp cải thiện khả năng phân tán và tính kém bền của schaftosid - một flavonoid chính trong dược liệu KTT.

Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

Nguyên liệu

Cao KTT được sản xuất bởi Công ty Cổ phần Dược Danapha đạt tiêu chuẩn cơ sở. Schaftosid do Viện Công nghệ hóa học TP Hồ Chí Minh điều chế. Plurol® Oleique CC 497, Transcutol®HP, Peceol™, Labrafil®1944 CS được sản xuất bởi Gattefossé (Pháp). Tween®80 được sản xuất bởi Merck (Đức). Isopropyl myristate (IPM) được cung cấp bởi IOI Acidchem SDN (Malaysia). PEG 400 được sản xuất bởi HIMEDIA (Ấn Độ). Các dung môi acid hydrocloric, acid formic, methanol, acetonitril được cung cấp bởi Merck (Đức).

Phương pháp nghiên cứu

Phương pháp định lượng schaftosid trong cao KTT bằng HPLC:

Độ tan của schaftosid trong các tá dược được xác định bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC). Hệ thống HPLC Hewlett Packard 1050, cột Phenomenex

*Tác giả liên hệ: Email: toan.duong@danapha.com

Preparation of SMEDDS to improve the stability of schaftoside from *Desmodium styracifolium* (Os.) extract

Le Tuyen Chau Tran¹, Bao Ngoc Pham¹,
Cong Tri Truong¹, Chi Toan Duong^{2*}

¹University of Medicine and Pharmacy, Ho Chi Minh City

²Danapha Pharmaceutical Joint Stock Company

Received 1 June 2018; accepted 20 July 2018

Abstract:

A SMEDDS containing *Desmodium styracifolium* (Os.) extract (SMEDDS-DSE) is prepared to improve the stability of schaftoside. The chosen SMEDDS-DSE formulation contained DSE (30%, w/w) including isopropyl myristate (35%, w/w), tween 80 (45%, w/w) and PEG 400 (20%, w/w). The SMEDDS-DSE was dark brown and homogenous. The average particle size was 75.47 ± 1.46 nm; the polydispersity index (PDI) was 0.24 ± 0.02 ; and the average zeta potential value was -8.03 ± 0.45 mV. The stability of schaftoside was studied at $37 \pm 2^\circ\text{C}$ in different pH values (pH 1.2 for 2 hours, pH 6.8 for 6 hours, and pH 7.4 for 8 hours). The results showed that the stability of schaftoside was improved significantly by SMEDDS-DSE. The applications of SMEDDS-DSE as a drug delivery system were potential.

Keywords: *Desmodium styracifolium*, schaftoside, SMEDDS.

Classification number: 3.4

Ultracarb ODS (30) (4,6 mm x 150 mm, 5 μm), detector DAD có bước sóng phát hiện ở 340 nm, tốc độ dòng 1,0 ml/phút, thể tích tiêm mẫu 20 μl , pha động gồm acetonitril - acid formic 0,1% theo chương trình (bảng 1).

Bảng 1. Chương trình dung môi pha động theo gradient nồng độ.

Thời gian (phút)	Acetonitril (% v/v)	Acid formic 0,1% (% v/v)
0	12	88
20	20	80
24	100	0
30	100	0

Khảo sát khả năng phân tán của cao KTT trong các tá dược bằng phương pháp cảm quan và độ tan của schaftosid/KTT trong các tá dược bằng HPLC:

Khảo sát khả năng phân tán cao KTT: đối với mỗi loại tá dược khảo sát (Plurol[®] Oleique CC 497, Transcutol[®]HP, Peceol[™], Labrafil[®]1944 CS, tween[®]80, IPM, PEG 400), cân một lượng tá dược. Thêm vào tá dược từng lượng xác định cao KTT, khuấy đều bằng máy khuấy từ với tốc độ 500 vòng/phút ở nhiệt độ phòng đến quá bão hòa. Quan sát và đánh giá cảm quan mẫu thu được để sơ bộ lựa chọn tá dược cho phương pháp định lượng. Yêu cầu là cao KTT phải phân tán đều trong các tá dược khảo sát để tạo hệ có thể chất mịn.

Dựa trên kết quả khảo sát bằng phương pháp cảm quan, lựa chọn các tá dược có khả năng phân tán tốt cao KTT, tiến hành xác định độ tan của schaftosid trong các tá dược được lựa chọn bằng phương pháp HPLC.

Khảo sát độ tan schaftosid/KTT: cân một lượng tá dược lỏng. Thêm vào tá dược từng lượng xác định cao KTT, khuấy đều bằng máy khuấy từ với tốc độ 500 vòng/phút ở nhiệt độ $30 \pm 2^\circ\text{C}$ đến quá bão hòa. Tiếp tục khuấy đều trong 4 giờ, ly tâm dịch với tốc độ 10.000 vòng/phút trong 15 phút, tiến hành định lượng schaftosid trong lớp dịch phía trên bằng phương pháp HPLC.

Điều chế hệ SMEDDS-KTT:

Dựa vào kết quả khảo sát độ tan của schaftosid, lựa chọn các tá dược thích hợp để xây dựng giả mang SMEDDS thông qua giản đồ ba pha. Sau đó tiến hành tải 30% cao KTT toàn phần vào các công thức giả mang được lựa chọn (SMEDDS-KTT). Các công thức SMEDDS-KTT sẽ được đánh giá các chỉ tiêu: cảm quan, kích thước tiểu phân bằng kỹ thuật tán xạ ánh sáng động và đo thế zeta trên thiết bị Horiba SZ100.

Yêu cầu: hệ SMEDDS-KTT tạo thành phải đồng nhất, không tách lớp và không lắng cặn. Kích thước tiểu phân phải nằm trong khoảng 20-200 nm, PDI < 0,4.

Quy trình điều chế SMEDDS-KTT: cân 30 g KTT phân tán từ từ vào IPM (24,5 g) bằng máy khuấy từ với tốc độ 300 vòng/phút ở $40 \pm 2^\circ\text{C}$ trong 5 phút tạo pha dầu. Khuấy trộn tween 80 (31,5 g) và PEG 400 (14,0 g) với tốc độ 500 vòng/phút ở 40°C tạo pha thân nước. Phối hợp từ từ pha dầu vào pha thân nước bằng máy khuấy từ với tốc độ 500 vòng/phút ở 40°C trong 10 phút để tạo hệ SMEDDS-KTT. Để nguội ở nhiệt độ phòng, đóng chai, dán nhãn.

Đánh giá sự ổn định của schaftosid trong các môi trường pH khác nhau:

Cân chính xác 1 g SMEDDS-KTT cho vào cốc, thêm vào 50 ml các môi trường pH thích hợp (pH 1,2 tương ứng pH

dịch dạ dày, pH 6,8 tương tự pH dịch ruột, pH 7,4 tương tự pH tuần hoàn máu theo quy định của các dược điển). Tiến hành khuấy trộn với tốc độ 70 vòng/phút ở nhiệt độ $37\pm 2^\circ\text{C}$. Sau đó, đo kích thước tiểu phân, thế zêta và định lượng schaftosid trong hệ ở thời điểm lấy mẫu theo quy định.

Kết quả và bàn luận

Xây dựng và thẩm định quy trình định lượng schaftosid trong cao KTT toàn phần bằng phương pháp HPLC

Quy trình định lượng schaftosid trong cao KTT toàn phần bằng phương pháp HPLC đạt yêu cầu về thẩm định tính tương thích hệ thống ($\%RSD < 2\%$), độ đặc hiệu (t_R của đỉnh schaftosid trong mẫu cao KTT là 14,502 phút, tương đương với t_R của đỉnh schaftosid trong mẫu chuẩn là 14,348 phút ở bước sóng 340 nm). Phương pháp cũng đạt yêu cầu về tính tuyến tính ($r^2=0,999$) trong khoảng nồng độ trung bình từ 20 đến 200 $\mu\text{g/ml}$, độ chính xác cao với $RSD=1,28\%$, độ đúng tốt với tỷ lệ hồi phục trung bình là 99,86% và $RSD=0,99\%$.

Khảo sát khả năng phân tán của cao KTT và độ tan của schaftosid trong các tá dược

Thí nghiệm được tiến hành ở 2 điều kiện nhiệt độ là $30\pm 2^\circ\text{C}$ và $40\pm 2^\circ\text{C}$. Độ tan của schaftosid trong các tá dược ở nhiệt độ $30\pm 2^\circ\text{C}$ và $40\pm 2^\circ\text{C}$ khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$). Theo phương pháp cảm quan, cao KTT phân tán tốt trong IPM nhưng lại không tìm được schaftosid bằng phương pháp HPLC. Vì schaftosid là một flavonoid C-glycosid có nhiều nhóm -OH nên không thể tan trong tá dược lipid nhưng cao KTT là cao chiết nước nên vẫn có những thành phần thân dầu tan được trong lipid. Bằng phương pháp định lượng, cao KTT tan tốt trong tween 80 (chất diện hoạt) và PEG 400 (chất đồng diện hoạt). Vì vậy, lựa chọn IPM - Tween 80 - PEG 400 để tiến hành xây dựng giản đồ ba pha cho công thức giả mang SMEDDS.

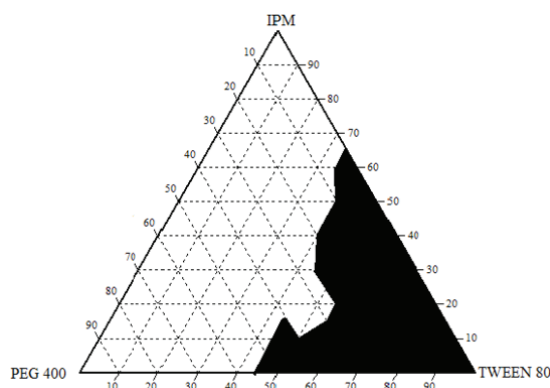
Xây dựng giản đồ 3 pha

Trong giản đồ 3 pha, IPM là pha dầu, tween 80 là chất diện hoạt và PEG 400 là chất đồng diện hoạt. Đánh giá các điểm của giản đồ ba pha dựa theo các tiêu chuẩn:

Cảm quan: giả mang phải đồng nhất, không tách lớp, trong hay trong mờ.

Khả năng nhũ hóa: tại các điểm của giản đồ pha, tiến hành pha loãng 100 lần trong nước ở $37\pm 2^\circ\text{C}$ với tốc độ khuấy 70-100 vòng/phút. Nhũ tương hình thành nhanh, trong suốt hoặc trong mờ ánh xanh (< 2 phút).

Các công thức được theo dõi trong vòng 24 giờ về cảm quan và khả năng tự nhũ hóa. Kết quả xây dựng giản đồ pha được trình bày trong hình 1, phần được tô màu đen hình thành từ tỷ lệ thành phần của các công thức đạt yêu cầu về cảm quan và khả năng nhũ hóa.



Hình 1. Giản đồ pha của hệ IPM - Tween 80 - PEG 400.

Từ giản đồ 3 pha đã xây dựng, thiết lập được 24 công thức giả mang SMEDDS nằm trong vùng tạo vi nhũ tương (vùng màu đen trên hình 1), sau đó tiến hành đo kích thước và phân bố kích cỡ tiểu phân, thế zêta của các công thức giả mang. Các công thức đạt yêu cầu khi có kích thước tiểu phân trung bình nhỏ hơn 200 nm, kiểu phân bố kích thước tiểu phân 1 đỉnh và $PdI < 0,4$. Với các yêu cầu đề ra, lựa chọn được 12 công thức giả mang phù hợp để tiến hành điều chế SMEDDS-KTT.

Điều chế SMEDDS-KTT

Cao KTT toàn phần được tải vào 1 g hệ vi tự nhũ với tỷ lệ 30%, hình thành hệ SMEDDS-KTT. Tiếp theo, SMEDDS-KTT được đánh giá các chỉ tiêu: cảm quan, kích thước và phân bố kích cỡ tiểu phân, thế zêta và khả năng nhũ hóa sau khi bảo chế và sau 24 giờ bảo quản ở điều kiện $30\pm 2^\circ\text{C}$, độ ẩm $75\pm 5\%$.

Kết quả cho thấy, trong 12 công thức SMEDDS-KTT, có 4 công thức tải 30% cao KTT gồm **ITP1*** (30% IPM - 55% tween 80 - 15% PEG 400), **ITP2*** (30% IPM - 50% tween 80 - 20% PEG 400), **ITP3*** (35% IPM - 50% tween 80 - 15% PEG 400) và **ITP4*** (35% IPM - 45% tween 80 - 20% PEG 400) đạt yêu cầu về cảm quan, là hệ đồng nhất, phân tán đều, thể chất mịn, không lắng cặn. Bốn công thức hệ SMEDDS -KTT được lựa chọn sẽ pha loãng 100 lần với nước cất ở $37\pm 2^\circ\text{C}$, tốc độ khuấy 100 vòng/phút. Đánh giá khả năng nhũ hóa dựa vào thời gian nhũ hóa và cảm quan của hệ vi nhũ tương tạo thành.

Với hệ vi nhũ tương tạo thành sau khi nhũ hóa thì công thức **ITP1*** và **ITP3*** bị đục mờ, các tiểu phân bị kết tụ làm hệ không ổn định. Công thức **ITP2*** sau khi nhũ hóa tạo các vi nhũ tương trong mờ, màu vàng nhạt và có hiện tượng nhiễu xạ ánh sáng xảy ra. Công thức **ITP4*** tạo hệ vi nhũ tương trong suốt, màu vàng sau khi nhũ hóa. Vì vậy, lựa chọn 2 công thức **ITP2*** (30% IPM - 50% tween 80 - 20% PEG 400) và **ITP4*** (35% IPM - 45% tween 80 - 20% PEG 400) để đo kích thước tiểu phân và thế zêta. Kết quả được trình bày ở bảng 2.

Bảng 2. Kết quả khảo sát thời gian tự nhũ hóa, kích thước tiểu phân trung bình và thế zêta một số công thức (n=3).

CT	Thời gian tự nhũ hóa (giây)	Vi nhũ tương hình thành	Nhận xét	Kích thước trung bình tiểu phân (nm)	PdI	Thế zêta (mV)
ITP1*	60,33±0,78	Đục mờ	Không đạt			
ITP2*	64,67±1,93	Trong mờ	Đạt	70,50±1,04	0,43±0,03	-7,20±0,51
ITP3*	39,67±1,19	Đục mờ	Không đạt			
ITP4*	42,33±1,11	Trong	Đạt	75,47±1,47	0,24±0,02	-8,03±0,45

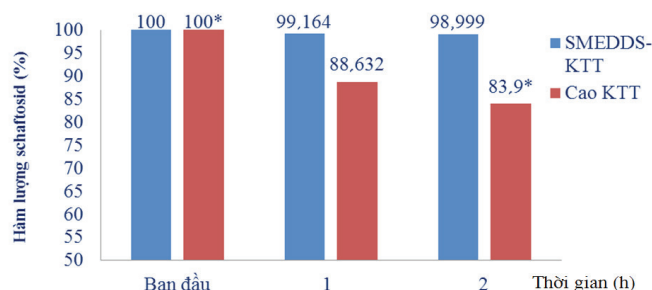
Kích thước trung bình tiểu phân của các công thức SMEDDS-KTT nằm trong khoảng 20-200 nm, nhưng công thức ITP2* có dải phân bố kích thước các tiểu phân rộng (PdI>0,4). Công thức ITP4* đạt yêu cầu về kích thước tiểu phân, PdI và thế zêta. Do đó, công thức ITP4* (35% IPM - 45% tween 80 - 20% PEG 400) được lựa chọn.

Đánh giá sự ổn định của schaftosid ở các môi trường pH khác nhau

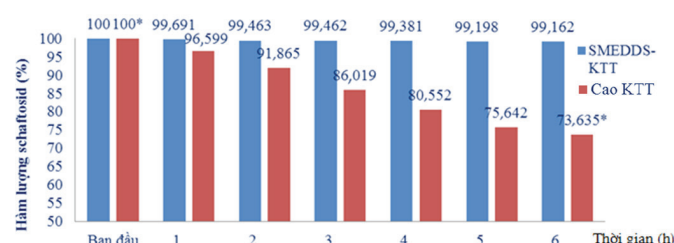
Schaftosid trong cao KTT là một flavonoid kém bền dưới tác động của pH và các tác nhân đường tiêu hóa. Do đó, thử nghiệm này nhằm mục đích khảo sát khả năng cải thiện sự ổn định của schaftosid sau khi tải cao KTT vào hệ SMEDDS. Thử nghiệm so sánh hàm lượng schaftosid/hệ SMEDDS-KTT và hàm lượng schaftosid/cao KTT trong các môi trường đệm pH 1,2 (giả dịch vị), pH 6,8 (giả dịch ruột) và pH 7,4 (giả môi trường tuần hoàn máu). Các môi trường đệm được pha theo hướng dẫn của USP 40 và thí nghiệm được tiến hành ở 37±2°C. Kết quả được lần lượt trình bày trong các bảng 3, hình 2, bảng 4, hình 3, bảng 5 và hình 4.

Bảng 3. Kết quả định lượng schaftosid trong môi trường pH 1,2 (n=3).

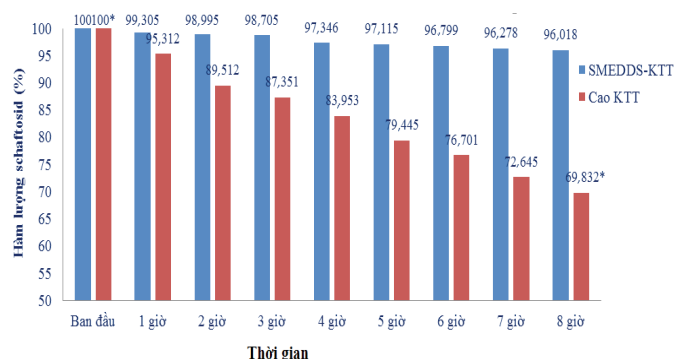
	Hàm lượng schaftosid/ SMEDDS-KTT (%)	Hàm lượng schaftosid/ KTT (%)
Ban đầu	100	100
1h	99,164±0,210	88,632±0,489
2h	98,999±0,048	83,921±1,318

**Hình 2. Biểu đồ so sánh hàm lượng schaftosid/SMEDDS-KTT và hàm lượng schaftosid/KTT trong môi trường pH 1,2.****Bảng 4. Kết quả định lượng schaftosid trong môi trường pH 6,8 (n=3).**

	Hàm lượng schaftosid/ SMEDDS-KTT (%)	Hàm lượng schaftosid/ KTT (%)
Ban đầu	100	100
1h	99,691±0,118	96,599±1,085
2h	99,463±0,027	91,865±0,455
3h	99,462±0,075	86,019±0,407
4h	99,381±0,090	80,552±0,165
5h	99,198±0,108	75,642±1,100
6h	99,162±0,085	73,635±0,462

**Hình 3. Biểu đồ so sánh hàm lượng schaftosid/SMEDDS-KTT và hàm lượng schaftosid/KTT trong môi trường pH 6,8.****Bảng 5. Kết quả định lượng schaftosid trong môi trường pH 7,4 (n=3).**

	Hàm lượng schaftosid/ SMEDDS-KTT (%)	Hàm lượng schaftosid/ KTT (%)
Ban đầu	100	100
1h	99,305±0,157	95,312±0,350
2h	98,995±0,207	89,512±0,110
3h	98,705±0,309	87,351±0,564
4h	97,346±0,737	83,953±0,512
5h	97,115±0,090	79,445±0,572
6h	96,799±0,232	76,701±0,254
7h	96,278±0,319	72,645±0,195
8h	96,018±0,141	69,832±0,676

**Hình 4. Biểu đồ so sánh hàm lượng schaftosid/SMEDDS-KTT và hàm lượng schaftosid/KTT trong môi trường pH 7,4.**

Trong các hệ đệm pH khác nhau, hàm lượng schaftosid trong cao KTT giảm có ý nghĩa thống kê nhưng hàm lượng schaftosid trong SMEDDS-KTT thay đổi không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$) sau các khoảng thời gian khảo sát. Điều này chứng tỏ schaftosid được bảo vệ bởi hệ SMEDDS, giúp hoạt chất tăng tính ổn định dưới tác động của điều kiện pH.

Bàn luận

KTT là một trong những dược liệu quý trong y học. Với Đông y, KTT được sử dụng làm thuốc để chữa các bệnh sỏi thận, sỏi mật, sỏi đường tiết niệu... Tuy nhiên các thành phần hoạt chất trong dược liệu lại kém bền nên hạn chế hiệu quả điều trị của dược liệu khi dùng dưới dạng thuốc thang hoặc các dạng thuốc quy ước. Từ đó, nghiên cứu ứng dụng hệ vi tự nhũ (SMEDDS) đã được tiến hành giúp tăng khả năng phân tán và hòa tan cao vào môi trường nước, tăng tính ổn định của các hợp chất flavonoids, đặc biệt thành phần schaftosid trong cao KTT. Hệ SMEDDS-KTT được tạo ra từ các tá dược phổ biến, hệ ổn định bởi cơ chế cản trở không gian bề mặt. Hệ có bản chất thân nước nhưng không chứa nước, có khả năng đưa vào phát triển dạng bào chế viên nang mềm phân tán nhanh tạo hệ tự nhũ có kích thước tiểu phân trung bình dưới 100 nm với dãy phân bố kích cỡ hẹp trong các môi trường thân nước cũng chính là các môi trường sinh học bên trong cơ thể, giúp tăng cao sinh khả dụng của thuốc.

Kết luận

Nghiên cứu đã điều chế thành công hệ vi tự nhũ chứa cao KTT toàn phần (SMEDDS-KTT) với kích thước trung bình tiểu phân tạo thành dưới 100 nm sử dụng các tá dược thông dụng bằng kỹ thuật phân tán, dễ dàng nâng cỡ lô trên quy mô sản xuất. Kết quả thử nghiệm đánh giá độ ổn định

hàm lượng schaftosid bằng phương pháp HPLC trong các môi trường pH tương tự điều kiện môi trường pH sinh lý bên trong cơ thể cho thấy hệ vi tự nhũ đã giúp cải thiện tính kém bền của schaftosid dưới tác động của môi trường pH. Điều này cho thấy tiềm năng ứng dụng của hệ nhằm nâng cao giá trị của các loại thuốc có nguồn gốc tự nhiên trong tương lai.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Herman J. Woerdenbag, Dien Van Vu, Hung Tran, Dung Tuan Nguyen, Thanh Van Tran, Peter AGM De Smet, Jacobus RBJ Brouwers (2012), "Vietnamese traditional medicine from a pharmacist's perspective", *Expert Review of Clinical Pharmacology*, **5**(4), pp.459-477.
- [2] Jun Mi, Jianmin Duan, Jun Zhang (2012), "Evaluation of antiurolithic effect and the possible mechanisms of *Desmodium styracifolium* and *Pyrrosiae petiolosa* in rats", *Urological Research*, **40**, pp.151-161.
- [3] Xueqin Ma, Chengjian Zheng, Changling Hu, Khalid Rahman, Luping Qin (2011), "The genus *Desmodium* (Fabaceae)-traditional uses in Chinese medicine, phytochemistry and pharmacology", *Journal of Ethnopharmacology*, **138**, pp.314-332.
- [4] Yu Zhang, Xiaowei Tie, Bili Bao, Xiaoqin Wu, Ying Zhang (2007), "Metabolism of flavone C-glucosides and p-coumaric acid from antioxidant of bamboo leaves (AOB) in rats", *British Journal of Nutrition*, **97**, pp.484-494.
- [5] Anjan Kumar Mahapatra, Ranjit Prasad Swain (2014), "Self-Emulsifying Drug Delivery Systems (SEDDS): an Update from Formulation Development to Therapeutic Strategies", *International Journal of PharmTech Research*, **6**(2), pp.546-568.
- [6] Swati Gokul Talele, V.R. Gudsoorkar (2015), "Novel approaches for solidification of SMEDDS", *Journal of Pharmaceutial and BioSciences*, **4**, pp.90-101.

Tác dụng chống viêm cấp và mạn tính của cao chiết từ phần trên mặt đất cây Mũi mác

Nông Thị Anh Thu^{1*}, Nguyễn Trọng Thông², Phạm Thị Vân Anh²,
Nguyễn Thị Bích Thu³

¹Trường Đại học Y dược Thái Nguyên

²Trường Đại học Y Hà Nội

³Viện Dược liệu

Ngày nhận bài 3/5/2018; ngày chuyển phản biện 8/5/2018; ngày nhận phản biện 15/6/2018; ngày chấp nhận đăng 25/6/2018

Tóm tắt:

Nghiên cứu được thực hiện nhằm đánh giá tác dụng chống viêm cấp và mạn tính của cao toàn phần và cao phân đoạn ethyl acetat chiết xuất từ phần trên mặt đất của cây Mũi mác trên thực nghiệm. Tác dụng chống viêm cấp của cao Mũi mác được đánh giá trên mô hình gây phù chân chuột bằng carrageenin và mô hình gây viêm màng bụng trên chuột cống trắng. Để đánh giá tác dụng chống viêm mạn tính, mô hình gây u hạt bằng sợi amiant trên chuột nhắt trắng được tiến hành. Kết quả nghiên cứu cho thấy, cao Mũi mác phân đoạn ethyl acetat và cao toàn phần liều 4,8 và 14,4 g/kg/ngày có tác dụng chống viêm cấp trên mô hình gây viêm màng bụng chuột cống trắng. Cao Mũi mác phân đoạn ethyl acetat liều 9,6 và 28,8 g/kg/ngày có tác dụng chống viêm mạn tính trên mô hình gây u hạt bằng sợi amiant trên chuột nhắt trắng.

Từ khóa: cao Mũi mác, chống viêm, động vật thực nghiệm.

Chỉ số phân loại: 3.4

Đặt vấn đề

Viêm là triệu chứng gặp trong rất nhiều bệnh lý. Theo Tổ chức Y tế thế giới, viêm là phản ứng bảo vệ của cơ thể biểu hiện bởi sự thực bào tại chỗ có tác dụng loại trừ tác nhân gây viêm và sửa chữa tổn thương, đồng thời kèm theo những biểu hiện bệnh lý. Viêm bao giờ cũng đi kèm theo thay đổi mạch máu, với sự tham gia của thần kinh, nhằm đưa các tế bào thực bào (có mặt trong lòng mạch) tới vị trí diễn ra phản ứng viêm (ở ngoài lòng mạch) [1, 2]. Hiện nay, nhiều thuốc tây y có tác dụng chống viêm có nguồn gốc tổng hợp hoặc bán tổng hợp được sử dụng trên lâm sàng, tuy nhiên các thuốc này có thời gian sử dụng hạn chế, giá thành cao và còn nhiều tác dụng không mong muốn.

Cây Mũi mác (*Desmodium triquetrum*) thuộc họ Đậu (*Fabaceae*) có tên gọi khác là Thóc lép, Cỏ bình, mọc nhiều ở các tỉnh miền núi phía Bắc như Bắc Kạn, Thái Nguyên, Cao Bằng. Theo dân gian, cây có vị ngọt, tính mát, có tác dụng thanh nhiệt giải độc, kiện tỳ tiêu thực. Cho đến nay chưa có công bố nào trình bày đầy đủ về tác dụng chống viêm của cây Mũi mác tại Việt Nam. Nhằm làm rõ thêm kinh nghiệm sử dụng cây thuốc trong dân gian và nâng cao giá trị sử dụng của dược liệu, chúng tôi tiến hành nghiên cứu đặc điểm thực vật, thành phần hóa học và một số tác

dụng sinh học của cây Mũi mác. Để đánh giá đầy đủ hơn tác dụng chống viêm của Mũi mác, nghiên cứu này được tiến hành với 2 mục tiêu: đánh giá tác dụng chống viêm cấp tính và mạn tính của cao toàn phần và phân đoạn ethyl acetat chiết xuất từ phần trên mặt đất cây Mũi mác trên chuột thực nghiệm.

Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

Đối tượng nghiên cứu

Dược liệu Mũi mác (*Desmodium triquetrum*): được thu hái ở Bắc Kạn ngày 10/10/2017. Mẫu được định danh bởi TS Nguyễn Quốc Bình - Bảo tàng thiên nhiên Việt Nam, lưu giữ tiêu bản tại Viện Dược liệu và Bảo tàng thiên nhiên Việt Nam.

Thuốc nghiên cứu: cao đặc Mũi mác toàn phần và phân đoạn ethyl acetat được chuẩn bị bằng cách chiết bằng máy chiết và cô chân không tại Khoa Hóa phân tích của Viện Dược liệu. Liều dùng trên lâm sàng là 40 g dược liệu/người/ngày. Thuốc thử được pha trong dung môi CMC 0,5% trước khi cho động vật thí nghiệm uống.

Hóa chất phục vụ nghiên cứu: Aspirin - Aspégic (DL-lysine Acetylsalicylate) gói bột 100 mg của Hãng Sanofi

*Tác giả liên hệ: Email: pgvpharco@gmail.com

The acute and chronic anti-inflammatory effects of *Desmodium triquetrum* extracts

Thi Anh Thu Nong^{1*}, Trong Thong Nguyen²,
Thi Van Anh Pham², Thi Bích Thu Nguyen³

¹Thai Nguyen University of Medicine and Pharmacy

²Ha Noi Medicine University

³National Institute of Medicinal Materials (NIMM)

Received 3 May 2018; accepted 25 June 2018

Abstract:

The present study was conducted to evaluate the acute and chronic anti-inflammatory effects of the extracts from *Desmodium triquetrum* parts above the land surface on experimental animals. *Desmodium triquetrum* extracts at the doses of 4.8 gram and 14.4 gram per kilogram bodyweight of rats, and 9.6 gram and 28.8 gram per kilogram bodyweight of mice were used to study the acute and chronic anti-inflammatory effects. The ethylacetate segment and total extraction of *Desmodium triquetrum* at the doses of 4.8 and 14.4 g/kg exhibited the acute anti-inflammatory effect through inhibiting carrageenan-induced edema in hind paw on rats. The ethylacetate segment of *Desmodium triquetrum* at the doses of 9.6 and 28.8 g/kg bodyweight of mice exhibited the chronic anti-inflammatory effect through the induction of peritoneal inflammation model.

Keywords: anti-inflammatory, *Desmodium triquetrum*, experimental animal.

Classification number: 3.4

aventis (Pháp), Methyl prednisolon (Medrol) viên nén 4 mg của Hãng Pfizer, dung dịch carrageenin 1% và formaldehyd của Hãng Sigma, Hoa Kỳ.

Dụng cụ nghiên cứu: phù kế Plethysmometer No7250 của Hãng Ugo-Basile (Italy), kit định lượng protein của Hãng Hospitex Diagnostics (Italy), dung dịch xét nghiệm máu ABX Minidil LBlood Counter.

Động vật thực nghiệm

Chuột cống trắng chủng Wistar, cả hai giống, khỏe mạnh, trọng lượng 180-200 g/con do Trung tâm Chăn nuôi động vật Đan Phượng cung cấp. Chuột nhắt trắng, chủng Swiss, cả hai giống, khỏe mạnh, trọng lượng 25±2 g/con của Viện Vệ sinh dịch tễ Trung ương. Động vật được nuôi 5-10

ngày trước khi nghiên cứu và trong suốt thời gian nghiên cứu trong điều kiện phòng thí nghiệm với đầy đủ thức ăn và nước uống.

Phương pháp nghiên cứu

Nghiên cứu tác dụng chống viêm cấp tính của Mũi mác:

Tác dụng chống viêm cấp trên mô hình gây phù chân chuột bằng carrageenin [3-6]: chuột cống trắng được chia ngẫu nhiên thành 6 lô, mỗi lô 10 con.

- Lô 1 (đối chứng): uống CMC 0,5%, 1 ml/100 g.

- Lô 2: uống aspirin liều 200 mg/kg.

- Lô 3: uống Mũi mác ethyl acetat liều 4,8 g/kg/ngày (liều tương đương với liều dự kiến trên lâm sàng, tính theo hệ số 6).

- Lô 4: uống Mũi mác ethyl acetat liều 14,4 g/kg/ngày (liều gấp 3 lần liều dự kiến trên lâm sàng, tính theo hệ số 6).

- Lô 5: uống Mũi mác cao toàn phần liều 4,8 g/kg/ngày (liều tương đương với liều dự kiến trên lâm sàng, tính theo hệ số 6).

- Lô 6: uống Mũi mác cao toàn phần liều 14,4 g/kg/ngày (liều gấp 3 lần liều dự kiến trên lâm sàng, tính theo hệ số 6).

Chuột được uống thuốc 5 ngày liên tục trước khi gây viêm. Ngày thứ 5, sau khi uống thuốc thử 1 giờ, gây viêm bằng cách tiêm carrageenin 1% (pha trong nước muối sinh lý) 0,05 ml/chuột vào gan bàn chân sau, bên phải của chuột.

Đo thể tích chân chuột (đến khớp cổ chân) bằng dụng cụ chuyên biệt vào các thời điểm: trước khi gây viêm (V_0); sau khi gây viêm 2 giờ (V_1), 4 giờ (V_2), 6 giờ (V_3) và 24 giờ (V_4). Kết quả được tính theo công thức của Fontaine [4].

$$\Delta V\% = \frac{V_t - V_0}{V_0} \times 100$$

Trong đó: V_0 là thể tích chân chuột trước khi gây viêm; V_t là thể tích chân chuột sau khi gây viêm.

Tác dụng chống viêm cấp tính trên mô hình gây viêm màng bụng chuột [4]: chuột cống trắng được chia ngẫu nhiên thành 6 lô, mỗi lô 10 con. Các lô chuột được cho uống nước, thuốc chuẩn hoặc thuốc thử tương tự như trong thí nghiệm đánh giá tác dụng chống viêm cấp trên mô hình gây phù chân chuột bằng carrageenin. Chuột được uống nước hoặc thuốc 5 ngày liên tục trước khi gây viêm. Ngày thứ 5, sau khi uống thuốc thử 1 giờ, gây viêm màng bụng chuột bằng dung dịch carrageenin 0,05 g + formaldehyd 1,5 ml, pha vừa đủ trong 100 ml nước muối sinh lý, với thể tích tiêm 1 ml/100 g vào ổ

bụng mỗi chuột. Sau gây viêm 24 giờ, mở ổ bụng chuột hút dịch rỉ viêm, đo thể tích, đếm số lượng bạch cầu/ml dịch rỉ viêm và định lượng protein trong dịch rỉ viêm.

Nghiên cứu tác dụng chống viêm mạn tính của Mũi mác: theo phương pháp Ducrot, Julou và cs [7]. Chuột nhắt trắng, được chia ngẫu nhiên thành 6 lô, mỗi lô 10 con.

- Lô 1 (đối chứng): uống CMC 0,5% 0,2 ml/10 g.
- Lô 2: uống methylprednisolon liều 10 mg/kg.
- Lô 3: uống Mũi mác ethyl acetat liều 9,6 g/kg/ngày (liều tương đương liều dự kiến trên lâm sàng, tính theo hệ số ngoại suy 12).
- Lô 4: uống Mũi mác ethyl acetat liều 28,8 g/kg/ngày (liều gấp 3 lần liều dự kiến trên lâm sàng, tính theo hệ số ngoại suy 12).
- Lô 5: uống Mũi mác cao toàn phần liều 9,6 g/kg/ngày (liều tương đương liều dự kiến trên lâm sàng, tính theo hệ số ngoại suy 12).
- Lô 6: uống Mũi mác cao toàn phần liều 28,8 g/kg/ngày (liều gấp 3 lần liều dự kiến trên lâm sàng, tính theo hệ số ngoại suy 12).

Gây viêm mạn tính bằng cách cấy sợi amiant trọng lượng 6 mg tiết trùng (sấy 120°C trong 1 giờ) đã được tẩm carrageenin 1%, ở da gáy của mỗi chuột.

Sau khi cấy u hạt, các chuột được uống nước cất hoặc thuốc thử liên tục trong 10 ngày. Ngày thứ 11 tiến hành giết chuột, bóc tách khối u hạt và cân tươi. Các khối u hạt được sấy khô ở nhiệt độ 56°C trong 18 giờ. Cân trọng lượng u hạt sau khi đã được sấy khô.

Xử lý số liệu

Số liệu được xử lý bằng phần mềm Microsoft Excel. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê khi $p \leq 0,05$.

Kết quả nghiên cứu

Nghiên cứu tác dụng chống viêm cấp tính của Mũi mác

Trên mô hình gây phù chân chuột bằng carrageenin trên chuột cống trắng: kết quả bảng 1 cho thấy, Aspirin 200 mg/kg/ngày có tác dụng chống viêm cấp tính tại các thời điểm nghiên cứu. Mũi mác phân đoạn ethyl acetat liều 4,8 g/kg/ngày và Mũi mác toàn phần liều 4,8 g/kg/ngày và 14,4 g/kg/ngày có xu hướng làm giảm phù chân chuột ở thời điểm sau gây viêm 6 và 24 giờ nhưng sự giảm chưa có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

Bảng 1. Tác dụng chống viêm cấp tính của Mũi mác trên mô hình gây phù chân chuột.

Lô	Sau 2 giờ (V_2)		Sau 4 giờ (V_4)		Sau 6 giờ (V_6)		Sau 24 giờ (V_{24})	
	Độ phù (%)	% giảm phù so đối chứng	Độ phù (%)	% giảm phù so đối chứng	Độ phù (%)	% giảm phù so đối chứng	Độ phù (%)	% giảm phù so đối chứng
Lô 1	37,41±15,62		74,16±17,59		79,31±17,20		40,53±15,39	
Lô 2	26,81±12,27 $p_{2-1} > 0,05$	28,32	54,51±11,61 $p_{2-1} < 0,01$	26,49	60,01±21,22 $p_{2-1} < 0,05$	24,34	27,90±15,88 $p_{2-1} > 0,05$	31,16
Lô 3	52,88±21,92 $p_{3-1} > 0,05$	-41,36	73,00±26,92 $p_{3-1} > 0,05$	1,56	73,23±27,56 $p_{3-1} > 0,05$	7,67	33,93±14,45 $p_{3-1} > 0,05$	16,28
Lô 4	59,36±20,58 $p_{4-1} < 0,05$	-58,69	87,07±22,76 $p_{4-1} > 0,05$	-17,41	74,95±21,01 $p_{4-1} > 0,05$	5,50	53,40±20,32 $p_{4-1} > 0,05$	-31,76
Lô 5	51,12±22,25 $p_{5-1} > 0,05$	-36,65	71,79±22,10 $p_{5-1} > 0,05$	3,20	72,62±22,97 $p_{5-1} > 0,05$	8,44	35,84±14,91 $p_{5-1} > 0,05$	11,56
Lô 6	50,68±19,22 $p_{6-1} > 0,05$	-35,47	73,41±30,26 $p_{6-1} > 0,05$	1,01	61,68±26,52 $p_{6-1} > 0,05$	22,23	40,07±21,59 $p_{6-1} > 0,05$	1,12

Trên mô hình gây viêm màng bụng chuột cống trắng: kết quả bảng 2 cho thấy, Aspirin liều 200 mg/kg/ngày làm giảm rõ thể tích, số lượng protein và có xu hướng giảm số lượng bạch cầu trong dịch rỉ viêm so với lô 1. Mũi mác phân đoạn ethyl acetat liều 14,4 g/kg/ngày làm giảm rõ thể tích dịch rỉ viêm so với lô 1. Mũi mác phân đoạn ethyl acetat liều 4,8 g/kg/ngày không có tác dụng giảm thể tích dịch rỉ viêm so với lô 1. Mũi mác cao toàn phần liều 4,8 và 14,4 g/kg/ngày làm giảm rõ thể tích dịch rỉ viêm so với lô 1. Mũi mác phân đoạn ethyl acetat và Mũi mác toàn phần liều 4,8 và 14,4 g/kg/ngày chưa thể hiện tác dụng làm giảm số lượng bạch cầu trong dịch rỉ viêm so với lô chứng. Mũi mác phân đoạn ethyl acetat và Mũi mác toàn phần liều 4,8 và 14,4 g/kg/ngày làm giảm rõ số lượng protein trong dịch rỉ viêm so với lô 1.

Bảng 2. Ảnh hưởng của Mũi mác đến thể tích dịch rỉ viêm, số lượng bạch cầu và hàm lượng protein trong dịch rỉ viêm.

Lô	Thể tích dịch rỉ viêm (ml/100 g)	Số lượng bạch cầu (G/l)	Hàm lượng protein (mg/dl)
Lô 1: đối chứng	3,41±0,74	13,45±4,92	3,16±0,28
Lô 2: Aspirin (200 mg/kg)	2,40±0,76 $p_{2-1} < 0,01$	11,65±3,87 $p_{2-1} > 0,05$	2,69±0,30 $p_{2-1} < 0,05$
Lô 3: Mũi mác ethyl acetat 4,8 g/kg	3,62±1,05 $p_{3-1} > 0,05$ $p_{3-2} < 0,01$	13,89±5,19 $p_{3-1} > 0,05$ $p_{3-2} > 0,05$	2,25±0,35 $p_{3-1} < 0,001$ $p_{3-2} < 0,01$
Lô 4: Mũi mác ethyl acetat 14,4 g/kg	2,34±0,77 $p_{4-1} < 0,01$ $p_{4-2} > 0,05$ $p_{4-3} < 0,01$	13,77±5,38 $p_{4-1} > 0,05$ $p_{4-2} > 0,05$ $p_{4-3} > 0,05$	2,22±0,15 $p_{4-1} < 0,001$ $p_{4-2} < 0,001$ $p_{4-3} > 0,05$
Lô 5: Mũi mác cao toàn phần 4,8 g/kg	2,60±0,75 $p_{5-1} < 0,01$ $p_{5-2} > 0,05$	15,89±6,83 $p_{5-1} > 0,05$ $p_{5-2} > 0,05$	2,34±0,25 $p_{5-1} < 0,001$ $p_{5-2} < 0,05$
Lô 6: Mũi mác cao toàn phần 14,4 g/kg	2,32±0,70 $p_{6-1} < 0,01$ $p_{6-2} > 0,05$ $p_{6-5} > 0,05$	15,36±5,25 $p_{6-1} > 0,05$ $p_{6-2} > 0,05$ $p_{6-5} > 0,05$	2,61±0,37 $p_{6-1} < 0,01$ $p_{6-2} > 0,05$ $p_{6-5} > 0,05$

Nghiên cứu tác dụng chống viêm mạn tính của Mũi mác

Bảng 3. Tác dụng của Mũi mác trên trọng lượng u hạt cân tươi.

Lô	Trọng lượng u tươi (mg)	p so với lô 1	p so với lô 2
Lô 1: đối chứng	91,02±15,06		
Lô 2: Methylprednisolon 10 mg/kg	58,31±16,78	< 0,001	
Lô 3: Mũi mác (phân đoạn ethyl acetat) liều thấp 9,6 g/kg	48,56±18,83	< 0,001	> 0,05
Lô 4: Mũi mác (phân đoạn ethyl acetat) liều cao 28,8 g/kg	65,58±23,43	< 0,05	> 0,05
Lô 5: Mũi mác (cao toàn phần) liều thấp 9,6 g/kg	79,79±21,80	> 0,05	< 0,05
Lô 6: Mũi mác (cao toàn phần) liều cao 28,8 g/kg	86,34±15,56	> 0,05	< 0,01

Kết quả bảng 3 cho thấy, methylprednisolon liều 10 mg/kg/ngày có tác dụng chống viêm mạn thể hiện qua làm giảm trọng lượng khối u hạt trước khi sấy khô một cách rõ rệt so với lô 1. Mũi mác phân đoạn ethyl acetat liều 9,6 và 28,8 g/kg/ngày có tác dụng chống viêm mạn tính thể hiện qua việc làm giảm trọng lượng khối u hạt trước khi sấy khô 34-43% so với lô 1. Mũi mác toàn phần liều 9,6 và liều 28,8 g/kg/ngày có xu hướng làm giảm trọng lượng khối u hạt nhưng sự khác biệt chưa có ý nghĩa thống kê.

Bảng 4. Tác dụng của Mũi mác trên trọng lượng u hạt sấy khô.

Lô	Trọng lượng u sấy khô (mg)	p so với lô 1	p so với lô 2
Lô 1: đối chứng	24,24±7,41		
Lô 2: Methylprednisolon 10 mg/kg	17,39±4,53	< 0,05	
Lô 3: Mũi mác (phân đoạn ethyl acetat) liều thấp 9,6 g/kg	13,71±5,17	< 0,01	> 0,05
Lô 4: Mũi mác (phân đoạn ethyl acetat) liều cao 28,8 g/kg	15,96±6,38	< 0,05	> 0,05
Lô 5: Mũi mác (cao toàn phần) liều thấp 9,6 g/kg	27,92±12,58	> 0,05	< 0,05
Lô 6: Mũi mác (cao toàn phần) liều cao 28,8 g/kg	27,29±6,37	> 0,05	< 0,001

Kết quả bảng 4 cho thấy, methylprednisolon liều 10 mg/kg/ngày có tác dụng chống viêm mạn thể hiện qua làm giảm

trọng lượng khối u hạt sau khi sấy khô một cách rõ rệt so với lô 1. Mũi mác phân đoạn ethyl acetat liều 9,6 và 28,8 g/kg/ngày có tác dụng chống viêm mạn tính thể hiện qua làm giảm trọng lượng khối u hạt sau khi sấy khô một cách rõ rệt so với lô 1. Mũi mác toàn phần liều 9,6 và 28,8 g/kg/ngày không có tác dụng làm giảm trọng lượng khối u hạt sau khi sấy khô so với lô 1.

Bàn luận

Viêm là một hiện tượng bệnh lý bao gồm một loạt thay đổi tại chỗ và toàn thân, bắt đầu ngay khi tác nhân viêm xâm nhập vào cơ thể. Dựa vào diễn biến của viêm có thể phân loại thành viêm cấp, viêm bán cấp và viêm mạn tính. Viêm cấp khi thời gian diễn biến ngắn và có đặc điểm tiết dịch chứa nhiều protein huyết tương và xuất ngoại nhiều bạch cầu đa nhân trung tính. Viêm mạn tính khi diễn biến vài ngày tới vài tháng hoặc cả năm và biểu hiện về mô học là sự xâm nhập của lympho bào và đại thực bào, mức tổn thương ngang mức sửa chữa (với sự tăng sinh của mạch máu và mô xơ) [1, 2]. Căn cứ vào các giai đoạn của quá trình viêm, các nghiên cứu đánh giá tác dụng chống viêm cũng bao gồm đánh giá tác dụng chống viêm cấp và chống viêm mạn tính.

Về tác dụng chống viêm cấp tính

Trên mô hình gây phù chân chuột cống, kháng nguyên sử dụng là carrageenin, có bản chất là polysaccharid gần giống với cấu trúc vỏ vi khuẩn, vì vậy đáp ứng miễn dịch của cơ thể chủ yếu là đáp ứng miễn dịch không đặc hiệu với sự tham gia của chủ yếu là đại thực bào, bạch cầu trung tính [7, 8]. Biểu hiện của quá trình viêm này là giãn mạch, bạch cầu xuyên mạch, tăng tiết các chất trung gian hoá học như prostaglandin, histamin, leucotrien, biểu hiện quan sát thấy chủ yếu là triệu chứng phù [6]. Trên mô hình này Mũi mác phân đoạn ethyl acetat liều 4,8 g/kg/ngày và Mũi mác toàn phần liều 4,8 và 14,4 g/kg/ngày có xu hướng làm giảm phù chân chuột nhưng sự giảm chưa có ý nghĩa thống kê.

Trên mô hình gây viêm màng bụng chuột cống trắng, Mũi mác phân đoạn ethyl acetat liều 4,8 g/kg/ngày có tác dụng chống viêm cấp thể hiện qua kết quả làm giảm lượng protein trong dịch rỉ viêm. Mũi mác phân đoạn ethyl acetat liều 14,4 g/kg/ngày có tác dụng chống viêm cấp thể hiện qua kết quả làm giảm thể tích dịch rỉ viêm và lượng protein trong dịch rỉ viêm. Mũi mác toàn phần liều 4,8 và liều 14,4 g/kg/ngày có tác dụng chống viêm cấp khi nghiên cứu trên mô hình gây viêm màng bụng chuột cống trắng.

Về tác dụng chống viêm mạn tính

Các kháng nguyên phụ thuộc tuyến ức (như trong mô hình gây viêm mạn tính, kháng nguyên là các amiant) sẽ khởi động quá trình đáp ứng miễn dịch qua trung gian tế bào là phương thức miễn dịch thứ hai bên cạnh đáp ứng miễn dịch dịch thể nhằm loại trừ kháng nguyên lạ, do các lympho

bào T phụ trách [9]. Methylprednisolon là thuốc chống viêm steroid kinh điển, tác dụng chủ yếu chống viêm mạn tính do ức chế đáp ứng miễn dịch qua trung gian tế bào do các lympho bào T đảm nhận nên được dùng làm thuốc chứng dương trên mô hình gây viêm mạn tính [6, 7]. Mũi móc phân đoạn ethyl acetat tương đương liều 9,6 và 28,8 g/kg/ngày có tác dụng chống viêm mạn tính qua làm giảm trọng lượng khối u hạt trước khi sấy khô và sau khi sấy khô một cách rõ rệt so với lô 1. Mũi móc toàn phần liều 9,6 và 28,8 g/kg/ngày không có tác dụng chống viêm mạn tính.

Liên quan thành phần hóa học - tác dụng sinh học

Với kết quả chống viêm cấp tính của cao dược liệu Mũi móc thể hiện rõ ở phân đoạn ethyl acetat đã làm sáng tỏ thêm việc sử dụng dược liệu này trong điều trị các bệnh viêm trong dân gian là hoàn toàn phù hợp. Mặt khác, kết quả phân lập hóa học phân đoạn ethyl acetat cũng thu được một số flavonoid như kaempferon, quercetin, hyperoside... có nhiều tác dụng đã được chứng minh, trong đó có tác dụng chống viêm tốt, do vậy có thể lý giải tác dụng chống viêm của cao dược liệu Mũi móc bằng mối liên quan thành phần hóa học - tác dụng sinh học.

Với kết quả chống viêm cấp của cao dược liệu Mũi móc thể hiện rõ ở phân đoạn ethyl acetat cũng góp phần minh chứng cho việc sử dụng dược liệu trong điều trị các chứng viêm theo kinh nghiệm dân gian là hoàn toàn phù hợp. Mặt khác, kết quả phân lập hóa học phân đoạn ethyl acetat cũng thu được một số flavonoid như kaempferon, isorhamnetin, quercetin, hyperoside... là các flavonoid có trong các dược liệu đã được chứng minh là có tác dụng chống viêm, và một số flavonoid được chứng minh có tác dụng chống viêm tốt, điều này cũng thể hiện mối liên quan thành phần hóa học - tác dụng sinh học của dược liệu Mũi móc.

Kết luận

Tác dụng chống viêm cấp tính trên chuột cống trắng

Cao Mũi móc phân đoạn ethyl acetat và cao toàn phần liều 4,8 và 14,4 g/kg/ngày không có tác dụng trên mô hình gây phù chân chuột cống trắng bằng carrageenin.

Cao Mũi móc phân đoạn ethyl acetat và cao toàn phần liều 4,8 và 14,4 g/kg/ngày có tác dụng chống viêm cấp trên mô hình gây viêm màng bụng chuột thông qua làm giảm hàm lượng protein trong dịch rỉ viêm và thể tích dịch rỉ viêm.

Tác dụng chống viêm mạn tính trên chuột nhắt trắng

Cao Mũi móc phân đoạn ethyl acetat liều 9,6 và 28,8 g/kg/ngày có tác dụng chống viêm mạn tính trên mô hình gây u hạt bằng sợi amiant trên chuột nhắt trắng. Cao Mũi móc toàn phần liều 9,6 và 28,8 g/kg/ngày không có tác dụng chống viêm mạn tính.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Vũ Triệu An (2000), *Sinh lý bệnh*, Nhà xuất bản Y học và thể dục thể thao.
- [2] Bộ môn Miễn dịch - sinh lý bệnh, Trường Đại học Y Hà Nội (2007), *Sinh lý bệnh và miễn dịch (phần Sinh lý bệnh học)*.
- [3] Đỗ Trung Đàm (1997), “Đánh giá mô hình gây phù thực nghiệm bằng cao lan và carrageenan để nghiên cứu tác dụng chống viêm của thuốc”, *Tạp chí Dược học*, **12**, tr.18-20.
- [4] Kyung Soo Kim, Hae In Rhee, Eun Kyung (2008), “Anti-inflammatory effects of Radix gentianae Macrophyllae (Qinjiao), Rhizoma Coptidis (Huanglian) and Citri Unshiu Pericarpium (Wenzhou migan) in animal models”, *Chinese Medicine*, **3(10)**, doi: 10.1186/1749-8546-3-10.
- [5] R.W. Li, et al. (2003), “Across - cultural study: Anti inflammatory activity Australian and Chinese plants”, *Journal Ethnopharmacol.*, **85**, pp.85-32.
- [6] Mitul Patel (2012), “Invivo animal models in preclinical evaluation of anti inflammatory activity - a review”, *International Journal of Pharmaceutical Research and Allied Sciences*, **1**, pp.1-5.
- [7] H. Gerhard Vogel (2008), *Drug discovery and evaluation Pharmacological assays, Chapter H: analgesic, anti-inflammatory, anti- pyretic activity*, Springer.
- [8] C.A. Winter, et al. (1962), “Carrageenin induced edema in hind paw of the rat as an assay for anti inflammatory drug”, *Proc. exp. Biol. N.J.*, **111**, pp.544-574.
- [9] Trường Đại học Y Hà Nội (2013), *Dược lý học*, Nhà xuất bản Giáo dục.

Đa dạng nguồn tài nguyên cây thuốc ở Khu bảo tồn thiên nhiên Sơn Trà, TP Đà Nẵng

Tôn Nữ Thị Như Quỳnh^{1,2}, Trương Thị Đẹp¹, Đặng Văn Sơn^{3*}

¹Trường Đại học Y dược TP Hồ Chí Minh

²Trường Cao đẳng Y tế Huế

³Viện Sinh học nhiệt đới, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

Ngày nhận bài 29/6/2018; ngày chuyển phản biện 3/7/2018; ngày nhận phản biện 2/8/2018; ngày chấp nhận đăng 14/8/2018

Tóm tắt:

Kết quả nghiên cứu nguồn tài nguyên cây thuốc ở Khu bảo tồn thiên nhiên (KBTTN) Sơn Trà, TP Đà Nẵng đã xác định được 657 loài, 396 chi, 133 họ thuộc 5 ngành thực vật bậc cao có mạch, bao gồm Lá thông (*Psilotophyta*), Thông đất (*Lycopodiophyta*), Dương xỉ (*Polypodiophyta*), Thông (*Pinophyta*) và Ngọc lan (*Magnoliophyta*). Trong đó, 16 loài có giá trị bảo tồn theo thang đánh giá của Sách đỏ Việt Nam (2007) và Danh lục đỏ của IUCN (2017). Hình thức sử dụng cây thuốc cũng được chia làm 3 nhóm gồm: chia theo bộ phận dùng, phương thức sử dụng và nhóm bệnh chữa trị. Dạng sống của cây thuốc được chia làm 7 nhóm, bao gồm: cây thân thảo có 178 loài (chiếm 27,1%), cây bụi có 139 loài (21,2%), dây leo có 122 loài (18,6%), cây gỗ lớn có 65 loài (9,9%), cây gỗ nhỏ có 138 loài (21%), bán ký sinh có 9 loài (1,4%) và phụ sinh có 6 loài (0,9%).

Từ khóa: cây thuốc, Đà Nẵng, Sơn Trà, tài nguyên thực vật, thực vật.

Chỉ số phân loại: 3.4

Đặt vấn đề

KBTTN Sơn Trà nằm trên bán đảo Sơn Trà thuộc phường Thọ Quang, quận Sơn Trà, TP Đà Nẵng, trong hệ thống rừng đặc dụng quốc gia, với diện tích trên đất liền 4.439 ha và một phần biển (500 m tính từ chân núi ra biển). Bán đảo Sơn Trà nằm phía đông bắc TP Đà Nẵng, phía tây bắc giáp vịnh Đà Nẵng, đông bắc giáp biển Đông, tây nam giáp đất liền và cảng sông Hàn. Tọa độ địa lý từ 16°05' đến 16°09' vĩ độ Bắc và từ 108°12' đến 108°20' kinh độ Đông. Hệ sinh thái điển hình của khu bảo tồn là kiểu rừng kín thường xanh mưa mùa nhiệt đới nên có hệ thực vật khá phong phú và đa dạng, đặc biệt nhiều loài có giá trị làm thuốc. Năm 1997, trong công trình “Điều tra khu hệ động - thực vật và nhân tố ảnh hưởng - Đề xuất phương án bảo tồn sử dụng hợp lý KBTTN bán đảo Sơn Trà” của Đinh Thị Phương Anh và cộng sự, đã ghi nhận hệ thực vật của khu bảo tồn có 985 loài, thuộc 483 chi và 143 họ thực vật bậc cao có mạch, trong số này có 143 loài là cây thuốc [1]. Tiếp đó, trong dự án “Bảo tồn đa dạng sinh học KBTTN Sơn Trà” do Trường Đại học Khoa học Tự nhiên - Đại học Quốc gia Hà Nội thực hiện năm 2010 đã thống kê và lập Danh lục thực vật ở bán đảo Sơn Trà cũng bằng với số loài trước đó (985 loài), nhưng nhiều hơn 2 họ (145 họ), và trong đó chỉ ghi nhận có 138 loài cây thuốc [2]. Và mới nhất, đề tài “Đánh giá thực trạng cây thuốc trên địa bàn TP Đà Nẵng và đề xuất giải pháp bảo tồn, phát triển”

được thực hiện trong 2 năm (2016-2017), Đặng Ngọc Phái và cộng sự đã ghi nhận ở KBTTN Sơn Trà có 302 loài, 231 chi, 101 họ của 5 ngành thực vật bậc cao có mạch có giá trị làm thuốc [3]. Hiện nay KBTTN Sơn Trà chịu rất nhiều áp lực từ phát triển kinh tế; việc quy hoạch phát triển du lịch và xây dựng cơ sở hạ tầng là hai yếu tố gây ảnh hưởng nhất đến tính đa dạng sinh học nói chung của KBTTN, trong đó có nguồn tài nguyên cây thuốc. Do đó, việc nghiên cứu, điều tra để đánh giá tính đa dạng của nguồn tài nguyên cây thuốc ở KBTTN Sơn Trà nhằm góp phần vào công tác bảo tồn, sử dụng và khai thác hợp lý nguồn tài nguyên thiên nhiên nơi đây là rất cần thiết ở hiện tại và cả trong tương lai.

Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

Đối tượng nghiên cứu

Tất cả các loài thực vật ở KBTTN Sơn Trà, TP Đà Nẵng.

Phương pháp nghiên cứu

Phương pháp kế thừa: tập hợp, phân tích, thu thập thông tin từ các công trình khoa học, các kết quả khảo sát đánh giá nhanh, sách, tạp chí, các tư liệu khoa học đã có liên quan đến đối tượng nghiên cứu.

Phòng vấn PRA (Participatory rapid appraisal): phỏng vấn các thầy lang, thầy thuốc, những người thu hái, mua bán và người dân sống xung quanh KBTTN Sơn Trà về

*Tác giả liên hệ: Email: dvsonitb@gmail.com

Diversity of medicinal plant resources from Son Tra Nature Reserve in Da Nang City

Nu Thi Nhu Quynh Ton^{1,2}, Thi Dep Truong¹,
Van Son Dang^{3*}

¹University of Medicine and Pharmacy in Ho Chi Minh City

²Hue Medical College

³Institute of Tropical Biology, Vietnam Academy of Science and Technology

Received 29 June 2018; accepted 14 August 2018

Abstract:

A study into the medicinal plant resources from the Son Tra Natural Reserve - Da Nang City resulted in the identification of 657 species of medicinal plants belonging to 396 genera, 133 families of five phyla of vascular plants (*Psilotophyta*, *Lycopodiophyta*, *Polypodiophyta*, *Pinophyta*, and *Magnoliophyta*). Of those, 16 species were listed in the Vietnam Red Data Book (Part II, Plants, 2007) and in the International Union for Conservation of Nature (2017). The list of medicinal plants was categorised according to their (1) part of use, (2) mode of use and (3) therapeutic use. Life forms of medicinal plants were divided into seven groups including (1) grasses with 178 species (27.1%), (2) shrubs with 139 species (21.2%), (3) lianas with 122 species (18.6%), (4) big trees with 65 species (9.9%), (5) small trees with 138 species (21%), (6) hemiparasites with 9 species (1.4%), and (7) epiphytics with 6 species (0.9%).

Keywords: Da Nang, medicinal plants, plant resources, plants, Son Tra.

Classification number: 3.4

những kinh nghiệm sử dụng các loài cây làm thuốc và các bài thuốc gia truyền.

Thu mẫu ngoài thực địa: tiến hành điều tra theo tuyến ở những sinh cảnh đại diện có sự tham gia của người dân địa phương để thu thập mẫu tiêu bản cây thuốc, làm cơ sở để xác định tên taxon và xây dựng danh lục thành phần loài.

Xử lý mẫu và giám định tên: các mẫu tiêu bản sau khi mang về phòng thí nghiệm, tiếp tục được xử lý và sấy khô nhằm phục vụ công tác lưu trữ và giám định tên. Việc xác định tên khoa học và ghi nhận công dụng của cây thuốc được tiến hành theo phương pháp hình thái so sánh trên cơ

sở các tài liệu chuyên ngành như: Cây cỏ Việt Nam của Phạm Hoàng Hộ (1999-2000) [4], Cây thuốc và động vật làm thuốc ở Việt Nam của Đỗ Huy Bích (2006) [5], Từ điển cây thuốc Việt Nam của Võ Văn Chi (2012) [6], Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam của Đỗ Tất Lợi (2009) [7]... đồng thời so mẫu và lưu giữ mẫu ở Bảo tàng thực vật thuộc Viện Sinh học nhiệt đới, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam. Cập nhật tên khoa học của cây thuốc theo The Plant List (2018) [8]. Tổng hợp và lập danh lục cây thuốc theo Brummitt (1992) [9].

Kết quả và thảo luận

Đa dạng thành phần loài cây thuốc

Từ kết quả nghiên cứu, chúng tôi đã ghi nhận được nguồn tài nguyên cây thuốc ở KBTTN Sơn Trà có 657 loài, 396 chi, 133 họ của 5 ngành thực vật bậc cao có mạch là: Lá thông (*Psilotophyta*), Thông đất (*Lycopodiophyta*), Dương xỉ (*Polypodiophyta*), Thông (*Pinophyta*) và Ngọc lan (*Magnoliophyta*). Trong đó, ngành Lá thông có 1 loài thuộc 1 chi của 1 họ là Quyết lá thông (*Psilotaceae*); ngành Thông đất có 1 loài thuộc 1 chi của 1 họ là Quỳn bả (*Selaginellaceae*); ngành Dương xỉ có 27 loài thuộc 17 chi của 13 họ là Ráng tổ điều (*Aspleniaceae*), Ráng dứa (*Blechnaceae*), Ráng mộc xi (*Dryopteridaceae*), Ráng tây sơn (*Gleicheniaceae*), Quạt xoè (*Lindsaeaceae*), Bồng bong (*Lygodiaceae*), Rau bợ (*Marsileaceae*), Móng trâu (*Nephrolepidaceae*), Xà thiệt (*Ophioglossaceae*), Cốt toái bồ (*Polypodiaceae*), Chân xỉ (*Pteridaceae*), Ráng yền dực (*Tectariaceae*) và Ráng thư dực (*Thelypteridaceae*); ngành Thông có 7 loài thuộc 2 chi của 2 họ là Tuế (*Cycadaceae*) và Dây gắm (*Gnetaceae*); ngành Ngọc lan có 621 loài thuộc 375 chi của 116 họ, trong đó có 547 loài thuộc lớp hai lá mầm và 74 loài thuộc lớp một lá mầm (bảng 1).

Bảng 1. Phân bố các taxon trong các ngành thực vật.

Ngành	Họ		Chi		Loài	
	Số lượng	%	Số lượng	%	Số lượng	%
<i>Psilotophyta</i>	1	0,8	1	0,3	1	0,2
<i>Lycopodiophyta</i>	1	0,8	1	0,3	1	0,2
<i>Polypodiophyta</i>	13	9,8	17	4,3	27	4,1
<i>Pinophyta</i>	2	1,5	2	0,5	7	1,1
<i>Magnoliophyta</i>	116	87,2	375	94,7	621	94,5
Tổng	133	100	396	100	657	100

Đi sâu nghiên cứu về ngành Ngọc lan (*Magnoliophyta*) cho thấy: lớp Ngọc lan (*Magnoliopsida*) chiếm ưu thế với 547 loài (chiếm 83,3% tổng số loài cây thuốc), 322 chi (chiếm 81,3%) và 98 họ (chiếm 73,7%); trong khi đó lớp Hành (*Liliopsida*) có tỷ lệ thấp hơn với số loài là 74 (chiếm 11,3%), số chi là 53 (chiếm 13,4%) và số họ là 18 (chiếm 13,5%). Kết quả cho thấy lớp Ngọc lan là lớp có số lượng loài cây thuốc chiếm ưu thế trong ngành thực vật hạt kín cũng như trong toàn

hệ thực vật.

Tiến hành phân tích 10 họ và 10 chi có số lượng loài nhiều nhất cho kết quả như sau: ở cấp độ họ, có 10 họ thực vật giàu loài nhất với 275 loài, chiếm 44,9% tổng số loài cây thuốc ở KBTTN Sơn Trà. Trong đó, họ có số lượng loài nhiều nhất phải kể đến là họ Đậu (*Fabaceae*) có 69 loài (chiếm 10,5%), kế đến là họ Thầu dầu (*Euphorbiaceae*) có 32 loài (4,9%), họ Dâu tằm (*Moraceae*) có 31 loài (4,7%), họ Cam chanh (*Rutaceae*) có 28 loài (4,3%), họ Hoa môi (*Lamiaceae*) có 26 loài (4,0%), họ Bông (*Malvaceae*) có 25 loài (3,8%), họ Cà phê (*Rubiaceae*) có 19 loài (2,9%), họ Diệp hạ châu (*Phyllanthaceae*) có 16 loài (2,4%), họ Trúc đào (*Apocynaceae*) có 15 loài (2,3%) và cuối cùng là họ Cúc (*Asteraceae*) có 14 loài (2,1%).

Ở cấp độ chi, 10 chi có số lượng loài có giá trị làm thuốc nhiều nhất với 82 loài, chiếm 13,4% tổng số loài cây thuốc. Trong đó, chi có số lượng loài nhiều nhất là chi Dâu tằm (*Ficus*) có 25 loài (chiếm 3,8%); kế đến là chi Cù đèn (*Croton*) có 9 loài (1,4%); các chi Cơm nguội (*Ardisia*), Kim cang (*Smilax*) và Bình linh (*Vitex*) mỗi chi có 7 loài (1,1%); chi Lài (*Jasminum*) và chi Ba bét (*Mallotus*) mỗi chi có 6 loài (0,9%); các chi Ráng can xi (*Asplenium*), Trảng quả (*Desmodium*) và Lữ đăng (*Lindernia*) mỗi chi có 5 loài (0,8%).

Đa dạng về dạng thân của cây thuốc

Theo cách phân chia dạng thân của Nguyễn Nghĩa Thìn (1997, 2001) [10, 11] thì dạng thân của cây thuốc ở KBTTN Sơn Trà được chia thành 7 nhóm chính là: cây thân thảo, cây bụi/bụi trườn, dây leo, gỗ lớn, gỗ nhỏ, bán ký sinh và phụ sinh. Trong đó, nhóm cây thân thảo (C) có số lượng loài nhiều nhất với 178 loài, chiếm 27,1% tổng số loài cây thuốc; nhóm cây bụi/bụi trườn (B) có 139 loài, chiếm 21,2%; nhóm dây leo (DL) có 122 loài, chiếm 18,6%; nhóm cây gỗ lớn (GL) có 65 loài, chiếm 9,9%; nhóm cây gỗ nhỏ (GN) có 138 loài, chiếm 21%; nhóm cây bán ký sinh (BKS) có 9 loài, chiếm 1,4% và nhóm cây phụ sinh (PS) có số lượng loài ít nhất với 6 loài, chiếm 0,9%.

Đa dạng về giá trị sử dụng của cây thuốc

Phân chia theo bộ phận dùng: từ kết quả nghiên cứu, chúng tôi phân chia các bộ phận sử dụng của cây thuốc làm 7 nhóm chính bao gồm: toàn cây, thân - vỏ thân, rễ - vỏ rễ, lá, quả - hạt, hoa và bộ phận khác (tinh dầu, nhựa, bào tử...). Bộ phận được sử dụng nhiều nhất là rễ - vỏ rễ với 346 loài, chiếm 52,7% tổng số loài. Nó có thể được dùng tươi hoặc phơi khô. Kế đến là bộ phận lá với 271 loài, chiếm 41,2%. Thông thường lá sau khi thu hái về được phơi khô và bảo quản đúng quy định để sử dụng lâu dài và tránh giảm tác dụng chữa bệnh. Bộ phận dùng là thân - vỏ thân có 212 loài, chiếm 32,3%. Đây là bộ phận dễ thu hái với nhiều cách sử dụng khác nhau (sắc, hãm chè, nấu nước uống, nấu nước rửa, giã đắp, ...). Bộ phận dùng là toàn cây có 197 loài, chiếm 30%, thường là cây thân thảo, dễ thu hái và bảo quản nhất. Bộ phận dùng là quả - hạt có 128 loài, chiếm 19,5%. Ngoài ra, các bộ phận còn lại như hoa, tinh dầu, nhựa, bào tử... cũng được sử

dụng (hoa có 29 loài, chiếm 4,4%; bộ phận khác có 41 loài, chiếm 6,2%) (bảng 2).

Bảng 2. Đa dạng các bộ phận sử dụng cây thuốc.

STT	Bộ phận dùng cây thuốc	Số loài cây thuốc	
		Số lượng	Tỷ lệ (%)
1	Toàn cây	197	30,0
2	Thân - vỏ thân	212	32,3
3	Rễ - vỏ rễ	346	52,7
4	Lá	271	41,2
5	Quả, hạt	128	19,5
6	Hoa	29	4,4
7	Bộ phận khác (tinh dầu, nhựa, bào tử,...)	41	6,2

Phân chia theo nhóm bệnh chữa trị: theo kinh nghiệm y học cổ truyền, một cây thuốc có thể chữa được nhiều bệnh và ngược lại kết hợp nhiều cây thuốc để chữa một bệnh. Theo tài liệu của một số tác giả như: Phạm Hoàng Hộ [4], Đỗ Huy Bích [5], Võ Văn Chi [6], Đỗ Tất Lợi [7] cũng như trong quá trình điều tra nghiên cứu, phỏng vấn các thầy lang, thầy thuốc và người dân địa phương, chúng tôi tạm chia cây thuốc ở KBTTN Sơn Trà làm 19 nhóm bệnh chữa trị (bảng 3).

Bảng 3. Các nhóm bệnh được chữa trị bằng cây thuốc.

STT	Nhóm công dụng của cây thuốc	Số loài	
		Số lượng	Tỷ lệ (%)
1	Cây thuốc dùng chữa bệnh tim	9	0,4
2	Cây thuốc dùng chữa đái đường	16	0,8
3	Cây thuốc dùng chữa hạ huyết áp	15	0,7
4	Cây thuốc có chất độc	11	0,5
5	Cây thuốc dùng chữa cầm máu	36	1,8
6	Cây thuốc chống siêu khuẩn, trị ung thư	12	0,6
7	Cây thuốc dùng chữa bệnh mắt, tai, mũi, răng, họng	114	5,6
8	Cây thuốc dùng trị giun sán	46	2,3
9	Cây thuốc dùng an thần, dễ ngủ, trấn kinh	28	1,4
10	Cây thuốc dùng đắp vết thương, rấn rết cắn	122	6,0
11	Cây thuốc dùng chữa bệnh phụ nữ	127	6,3
12	Cây thuốc dùng chữa ho, hen	161	8,0
13	Cây thuốc dùng chữa bệnh ở bộ máy tiêu hóa	183	9,1
14	Cây thuốc dùng chữa tê thấp, đau nhức	210	10,4
15	Cây thuốc dùng bồi dưỡng cơ thể	54	2,7
16	Cây thuốc dùng trị ỉa, ỉa chảy	199	9,9
17	Cây thuốc dùng chữa cảm sốt	178	8,8
18	Cây thuốc dùng chữa mụn nhọt, mẩn ngứa, sưng viêm	346	17,1
19	Cây thuốc dùng chữa bệnh về gan và thận	151	7,5

Từ bảng 3 cho thấy, nguồn tài nguyên cây thuốc ở khu bảo tồn được sử dụng chữa rất nhiều bệnh. Trong đó, cây thuốc chữa nhóm bệnh ngoài da (mụn nhọt, lở ngứa, sưng viêm...) chiếm tỷ lệ cao nhất (17,1%) với 346 loài và ít nhất là cây thuốc chữa nhóm bệnh tim với 9 loài, chiếm 0,4%. Một số loài cây thuốc được các thầy lang, thầy thuốc và người dân địa phương sử dụng phổ biến để chữa bệnh như Vàng đắng (*Coscinium fenestratum* (Goetgh.) Colebr.), Hoàng đằng (*Fibraurea recisa* Pierre), Lá khô (*Ardisia silvestris* Pit.), Bìm ba răng (*Merremia tridentata* (L.) Hallier f.), Cườm thảo (*Abrus pulchellus* subsp. *mollis* (Hance) Verdc.), Bầm bầm lá nhỏ (*Entada rheedii* Spreng.)...

Phân chia theo phương thức sử dụng: trên cơ sở tổng hợp các cách chế biến và sử dụng cây thuốc để chữa bệnh mà có thể tạm chia phương thức sử dụng cây thuốc làm 2 nhóm là nhóm dùng ngoài và nhóm dùng đường uống. Từ kết quả nghiên cứu cho thấy, có 418 loài cây thuốc dùng ngoài và 643 loài cây thuốc dùng đường uống (bảng 4). Trong đó, giã đắp là phương thức dùng ngoài có số lượng loài nhiều nhất với 313 loài, và sắc uống là phương thức dùng uống có số lượng loài cao nhất với 561 loài. Theo kinh nghiệm cổ truyền, người dân địa phương có thể sử dụng cây tươi, cây khô hay vừa tươi vừa khô để chữa bệnh. Đối với nhóm cây tươi, thường là cây thân thảo hay cây có bộ phận dùng là lá, hoa, quả dùng giã đắp, bôi ngoài da, xông hơi, nấu nước uống hay làm rau ăn như Dền gai (*Amaranthus spinosus* L.), Cỏ lào (*Chromolaena odorata* (L.) R.M. King & H. Rob.), Rau tàu bay (*Crassocephalum crepidioides* (Benth.) S. Moore), Nhội (*Bischofia javanica* Blume), Rau đắng (*Glinus oppositifolius* (L.) Aug. DC.), Rau sọp (*Ficus superba* Miq.)... Đối với nhóm cây khô, cây thuốc thu hái về có thể được chặt nhỏ phơi khô hoặc sao ở các mức độ khác nhau dùng sắc uống, hầm chè, ngâm rượu uống như Hoa sữa (*Alstonia scholaris* (L.) R. Br.), Đại hoa đỏ (*Plumeria rubra* L.), Hà thủ ô (*Streptocaulon juvenas* (Lour.) Merr.), Guồ (*Willughbeia edulis* Roxb.), Ngũ gia bì chân chim (*Schefflera heptaphylla* (L.) Frodin), Sỏi nhẵn (*Sarcandra glabra* (Thunb.) Nakai), Bầm bầm (*Entada phaseoloides* (L.) Merr.)...

Bảng 4. Các phương thức sử dụng cây thuốc.

Phương thức sử dụng	Phương thức chế biến	Số loài	Tổng số loài
Dùng ngoài	Nấu cao bôi	4	418
	Xông hơi	6	
	Ngâm rượu xoa bóp	13	
	Nấu nước tắm, gội, rửa	82	
	Giã đắp	313	
Dùng uống	Giã uống	12	643
	Ngâm rượu uống	37	
	Hầm chè (trà)	33	
	Sắc uống	561	

Đa dạng về nguồn gen quý hiếm của cây thuốc

Để có chính sách ưu tiên và biện pháp bảo vệ có hiệu quả nguồn tài nguyên cây thuốc thì việc đánh giá mức độ đe dọa của các loài cây thuốc trong khu vực nghiên cứu đóng vai trò rất quan trọng. Theo Sách đỏ Việt Nam (SDVN 2007) [12] và Danh lục đỏ IUCN (2017) [13], thì KBTTN Sơn Trà có 16 loài cây thuốc (chiếm 2,4% tổng số loài) có giá trị bảo tồn. Trong đó, có 5 loài được xếp ở thứ hạng Ít nguy cấp - LR (Lower risk), 3 loài được xếp ở thứ hạng Nguy cấp - EN (Endangered), 7 loài được xếp ở thứ hạng Sẽ nguy cấp - VU (Vulnerable), 1 loài được xếp ở thứ hạng Rất nguy cấp - CR (Critically Endangered) (bảng 5).

Bảng 5. Các loài cây thuốc cần được bảo vệ.

TT	Tên thực vật	SDVN (2007)	IUCN (2017)
1	Quyển bả (<i>Selaginella tamariscina</i> (Beauv.) Spring)	VU	
2	Sơn tuế (<i>Cycas inermis</i> Lour.)	VU	
3	Tuế lược (<i>Cycas pectinata</i> Buch. -Ham.)	VU	
4	Hoa sữa (<i>Alstonia scholaris</i> (L.) R. Br.)		LR
5	Hoè Bắc Bộ (<i>Sophora tonkinensis</i> Gagnep.)	VU	
6	Chân danh Nam Bộ (<i>Euonymus cochinchinensis</i> Pierre)		LR
7	Dầu lá bóng (<i>Dipterocarpus turbinatus</i> C.F. Gaertn)		CR
8	Sao đen (<i>Hopea odorata</i> Roxb.)		VU
9	Sến đỏ (<i>Shorea roxburghii</i> G. Don)		EN
10	Chẹo bông (<i>Engelhardtia spicata</i> Lechen ex Blume)		LR
11	Máu chó (<i>Knema globularia</i> (Lam.) Warb.)		LR
12	Nắp ấm Trung Bộ (<i>Nepenthes anamensis</i> Macfarl.)	EN	
13	Bình nước (<i>Nepenthes mirabilis</i> (Lour.) Druce)		LR
14	Nguyệt quới nhẵn (<i>Murraya glabra</i> (Guillaumin) Swingle)	VU	
15	Nân gừng (<i>Dioscorea dissimulans</i> Prain & Burkill)	VU	
16	Thanh thiên quỳ (<i>Nervilia fordii</i> (Hance) Schltr.)	EN	

Thảo luận

Nguồn tài nguyên cây thuốc ở KBTTN Sơn Trà khá phong phú và đa dạng. Chỉ trong phạm vi diện tích rừng khoảng 4.439 ha đã ghi nhận được 657 loài cây thuốc. Trong đó có nhiều loài không chỉ có giá trị khoa học mà còn có giá trị kinh tế cao như Lá khô (*Ardisia silvestris* Pit.), Cà gai leo (*Solanum procumbens* Lour.), Thiên niên kiện (*Homalomena occulta* (Lour.) Schott), Thiên môn đông (*Asparagus cochinchinensis* (Lour.) Merr.), Mạch môn (*Ophiopogon japonicus* (Thunb.) Ker Gawl.), Bách bộ (*Stemona tuberosa* Lour.), Vàng đắng (*Coscinium fenestratum* (Goetgh.) Colebr.)...

Nếu so với các nghiên cứu trước đó thì nghiên cứu này đã bổ sung một số lượng lớn các loài cây thuốc cho KBTTN Sơn Trà, cụ thể là đã bổ sung 355 loài so với nghiên cứu của Đặng Ngọc Phái và cộng sự năm 2017 (302 loài), 519 loài so với nghiên cứu của Trường Đại học Khoa học Tự nhiên Hà Nội năm 2010 (138 loài) và 514 loài so với nghiên cứu của Đinh Thị Phương Anh và cộng sự năm 1997 (143 loài). Đồng thời, nghiên cứu cũng đã bổ sung mới 47 loài cây mới có tác dụng làm thuốc so với các nghiên cứu trước đó, nâng danh lục thực vật của khu bảo tồn từ 985 loài lên 1.032 loài.

Điều đặc biệt là trong số các loài được ưu tiên bảo tồn, tình trạng quần thể của 3 loài: Hoàng đằng (*Fibraurea recisa* Pierre), Lá khô (*Ardisia silvestris* Pit.), Tuế Sơn trà (*Cycas inermis* Lour.) gần như còn nguyên trạng. Đây là thực thể hiếm thấy trong các quần hệ rừng khác ở nước ta hiện nay.

Bên cạnh sự đa dạng về giá trị nguồn gen, tài nguyên cây thuốc ở đây còn có giá trị sử dụng cao dùng làm nguồn nguyên liệu chiết xuất các hợp chất tự nhiên có hoạt tính cao được dùng để làm thuốc như: Vàng đắng (*Coscinium fenestratum* (Goetgh.) Colebr.) dùng để chiết xuất berberin, Hoàng đằng (*Fibraurea recisa* Pierre) chiết palmatin. Các hợp chất này thuộc nhóm alkaloid có tác dụng chữa tiêu chảy, lỵ, nhiễm khuẩn đường tiêu hoá. Chóp mao (*Salacia chinensis* L.) chứa các hợp chất terpenoid có tác dụng hạ đường huyết. Ngũ gia bì chân chim (*Schefflera heptaphylla* (L.) Frodin) dùng làm nguyên liệu chiết xuất các hợp chất saponin có tác dụng lợi tiểu, chống viêm. Ngoài ra còn nhiều loài cây thuốc khác có chứa các hợp chất tự nhiên có tác dụng chữa bệnh.

Hiện nay KBTTN Sơn Trà có nhiều tiềm năng để phát triển du lịch sinh thái nên việc quy hoạch phát triển du lịch và xây dựng một số cơ sở hạ tầng khác đã làm thu hẹp và chia cắt địa hình, ảnh hưởng đến nguồn tài nguyên thiên nhiên nơi đây, nhất là tài nguyên cây thuốc.

Kết luận

Qua kết quả nghiên cứu cho thấy, nguồn tài nguyên cây thuốc ở KBTTN Sơn Trà có 657 loài, 396 chi, 133 họ của 5 ngành thực vật bậc cao có mạch là: Lá thông (*Psilotophyta*), Thông đất (*Lycopodiophyta*), Dương xỉ (*Polypodiophyta*), Thông (*Pinophyta*) và Ngọc lan (*Magnoliophyta*). Trong đó có 47 loài cây mới so với các nghiên cứu trước đây, nâng

danh lục thực vật của khu bảo tồn từ 985 loài lên 1.032 loài. Đồng thời, nghiên cứu cũng đã ghi nhận được 16 loài cây thuốc có giá trị bảo tồn theo thang đánh giá của Sách đỏ Việt Nam (2007) và Danh lục đỏ của IUCN (2017).

Có 7 nhóm dạng thân chính gồm nhóm thân thảo, cây bụi, dây leo, cây gỗ lớn, cây gỗ nhỏ, bán ký sinh và phụ sinh.

Đã ghi nhận được 7 nhóm bộ phận sử dụng, 2 phương thức dùng và 19 nhóm bệnh được chữa trị bằng cây thuốc.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Đinh Thị Phương Anh, Nguyễn Tấn Lê và nhiều người khác (1995-1997), *Điều tra khu hệ động - thực vật và nhân tố ảnh hưởng, đề xuất phương án bảo tồn và sử dụng hợp lý KBTTN bán đảo Sơn Trà*, Báo cáo kết quả đề tài, lưu trữ tại Sở Khoa học và Công nghệ TP Đà Nẵng.
- [2] Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội (2010), *Dự án bảo tồn đa dạng sinh học KBTTN Sơn Trà - Tập Danh lục thực vật KBTTN Sơn Trà*, Báo cáo kết quả đề tài, lưu trữ tại Sở Khoa học và Công nghệ TP Đà Nẵng.
- [3] Đặng Ngọc Phái, Phan Công Tuấn, Nguyễn Tập (2016-2017), *Đánh giá thực trạng cây thuốc trên địa bàn TP Đà Nẵng và đề xuất giải pháp bảo tồn, phát triển*, Báo cáo khoa học.
- [4] Phạm Hoàng Hộ (1999, 2000), *Cây cỏ Việt Nam*, **Quyển 1, 2, 3**, Nxb Trẻ.
- [5] Đỗ Huy Bích (Chủ biên) (2006), *Cây thuốc và động vật làm thuốc ở Việt Nam*, **Tập 1, 2**, Nxb Khoa học và Kỹ thuật.
- [6] Võ Văn Chi (2012), *Từ điển cây thuốc Việt Nam*, **Tập 1, 2**, Nxb Y học.
- [7] Đỗ Tất Lợi (2009), *Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam*, Nxb Y học.
- [8] <http://www.theplantlist.org/>
- [9] R.K. Brummitt (1992), *Vascular plant families and genera*, Royal Botanic Gardens, Kew.
- [10] Nguyễn Nghĩa Thìn (1997), *Cẩm nang tra cứu đa dạng sinh vật*, Nxb Nông nghiệp.
- [11] Nguyễn Nghĩa Thìn (2001), *Thực vật học dân tộc - Cây thuốc của đồng bào Thái Con Cuông, Nghệ An*, Nxb Nông nghiệp.
- [12] Bộ Khoa học và Công nghệ (2007), *Sách Đỏ Việt Nam - Phần Thực vật*, Nxb Khoa học tự nhiên và công nghệ.
- [13] <http://www.iucnredlist.org>

Đánh giá tính kháng bệnh đạo ôn của một số mẫu giống lúa nhập nội từ Viện Nghiên cứu lúa Quốc tế (IRRI) tại Việt Nam

Trần Đức Trung^{1*}, Tạ Hồng Linh¹, Bùi Quang Đăng¹,
Lê Hùng Linh², Nguyễn Thúy Kiều Tiên³

¹Viện Khoa học Nông nghiệp Việt Nam

²Viện Di truyền Nông nghiệp Việt Nam

³Viện Lúa Đồng bằng sông Cửu Long

Ngày nhận bài 17/7/2018; ngày chuyển phản biện 20/7/2018; ngày nhận phản biện 29/8/2018; ngày chấp nhận đăng 4/9/2018

Tóm tắt:

Khai thác tiềm năng tính kháng của cây lúa là một trong những phương án hiệu quả trong quản lý đạo ôn, bệnh hại nguy hiểm do nấm *Magnaporthe oryzae* gây ra. Tuy nhiên, tính kháng đạo ôn có xu hướng không bền vững, thường bị phá vỡ dưới áp lực bệnh trong điều kiện đồng ruộng do sự biến đổi rất nhanh chóng về di truyền và độc tính của các nòi nấm đạo ôn. Vì vậy việc đánh giá, xác định các nguồn gen lúa thể hiện tính kháng hiệu quả với các nòi nấm đạo ôn phục vụ chọn tạo giống kháng phù hợp cho từng vùng sinh thái được xác định là công tác thường xuyên. Trong nghiên cứu này, 40 mẫu giống lúa triển vọng kháng đạo ôn tại Phillipine đã được sàng lọc phản ứng bệnh gây ra bởi 12 nòi nấm *M. oryzae* đặc trưng cho các vùng sinh thái trong cả nước. Mặc dù toàn bộ các mẫu giống nhiễm với các nòi nấm đạo ôn phía Nam nhưng đối với phía Bắc đã xác định được 20 mẫu giống kháng tốt với 10/10 nòi nấm đạo ôn. Đây là nguồn vật liệu quý phục vụ cho công tác chọn tạo giống lúa kháng đạo ôn bền vững ở Việt Nam.

Từ khóa: bản đồ nhiệt, đánh giá bệnh, IRRI, *Magnaporthe oryzae*, PCA.

Chỉ số phân loại: 4.1

Đặt vấn đề

Lúa (*Oryza sativa* L.) là loài đa dạng nhất trong nhóm cây lương thực quan trọng, với hàng vạn mẫu giống (bao gồm các giống bản địa, giống sản xuất và họ hàng hoang dại) được trồng và thu thập ở nhiều vùng địa lý khác nhau trên thế giới. Tuy nhiên, do tính mẫn cảm với môi trường, lúa đồng thời cũng là loại cây trồng chịu tác động và bị thiệt hại nhiều nhất bởi các yếu tố bất thuận sinh học (sâu bệnh hại) và phi sinh học (hạn, mặn, ngập úng).

Trong số hơn 70 bệnh hại khác nhau gây ra bởi côn trùng, nấm, vi khuẩn hay virus trên cây lúa, đạo ôn được xác định là bệnh hại chính có sức tàn phá lớn và phổ biến ở hầu khắp các vùng trồng lúa trên thế giới [1]. Đạo ôn do nấm *Magnaporthe oryzae* xâm nhiễm trên cây lúa ở các giai đoạn sinh trưởng khác nhau và gây ra hai dạng bệnh chính là đạo ôn lá và đạo ôn cổ bông. Tùy theo giai đoạn sinh trưởng, mức độ nhiễm bệnh của giống lúa và điều kiện thời tiết, đạo ôn có thể gây hại một phần hoặc toàn bộ diện tích bị lây nhiễm [2, 3]. Giảm thiểu sự bùng phát và những tổn thất do dịch bệnh là mục tiêu trọng tâm của chiến lược quản lý đạo

ôn bền vững, trong đó sử dụng thuốc bảo vệ thực vật và tận dụng tính kháng của cây chủ là những phương án phổ biến hiện nay. Trong khi sử dụng thuốc bảo vệ thực vật làm tăng giá thành sản xuất và ảnh hưởng tiêu cực đến môi trường, áp dụng gen kháng (gen R) trong phát triển các giống lúa kháng bệnh đạo ôn đã được chứng minh là biện pháp quản lý dịch bệnh có hiệu quả kinh tế và bảo vệ môi trường bền vững. Đến nay, đã có khoảng 100 gen/QTLs quy định tính kháng đạo ôn được xác định và áp dụng trong các chương trình chọn tạo giống lúa kháng đạo ôn [4]. Tuy nhiên, do khả năng tiến hóa nhanh chóng của nấm *M. oryzae*, độc tính của các chủng nấm đạo ôn biến đổi rất nhanh dẫn đến tính kháng đạo ôn của các giống lúa mang một hay một vài gen kháng có phổ kháng hẹp dễ dàng bị suy giảm, thậm chí bị phá vỡ chỉ sau một thời gian ngắn [5]. Chính vì vậy, đánh giá tính kháng bệnh của các mẫu giống lúa ở các vùng địa lý khác nhau nhằm xác định các gen kháng mới là công tác thường xuyên nhằm đảm bảo thành công cho các chương trình chọn tạo giống lúa kháng đạo ôn [6].

Chỉ thị phân tử là công cụ hữu hiệu trong nghiên cứu xác định các gen/QTLs kháng đạo ôn đã biết ở các mẫu giống

*Tác giả liên hệ: Email: ductrung83@gmail.com

Phenotypic screening of IRRI's rice accessions for resistance to blast disease in Vietnam

Duc Trung Tran^{1*}, Hong Linh Ta¹, Quang Dang Bui¹,
Hung Linh Le², Thuy Kieu Tien Nguyen³

¹Vietnam Academy of Agricultural Sciences

²Agricultural Genetics Institute

³Cuulong Delta Rice Research Institute

Received 17 July 2018; accepted 4 September 2018

Abstract:

Utilization of host-resistance is assumed as an effective option in rice blast management. However, blast resistance tends to be unreliable because it often fails or breaks down under field stress due to rapid adaptation of diverse toxicity and high mutation-rate of blast fungus. Therefore, large scale screening of rice germplasm originating from different regions for disease reaction has been maintained ceaselessly in order to identify suitable blast-resistance materials for rice breeding. In the present study, 40 potential rice accessions which showed blast resistance in Philippines were evaluated for disease reaction against 12 *M. oryzae* isolates specific for different regions in Vietnam. Although all of studied accessions were susceptible with Southern blast fungi, 20 accessions were shown highly resistant reaction against 10/10 isolated blast fungi originated from Northern part of Vietnam.

Keywords: blast evaluation, heatmap, IRRI, *Magnaporthe oryzae*, PCA.

Classification number: 4.1

lúa. Mặc dù vậy, chỉ riêng dữ liệu kiểu gen là không đủ tin cậy để đánh giá chính xác tính kháng của một mẫu giống và sử dụng trong chọn tạo giống lúa [7]. Trong thực tế, đánh giá phản ứng bệnh (tính kháng đạo ôn) trên đồng ruộng hoặc trong điều kiện thí nghiệm đã được áp dụng rộng rãi, qua đó giúp xác định chính xác mức độ kháng bệnh của các mẫu giống lúa trong điều kiện áp lực bệnh của các chủng nấm đạo ôn có độc tính đặc trưng theo vùng địa lý mà chỉ thị phân tử không thể xác định được. Ngoài ra, giá thành thấp, quy trình đơn giản, không đòi hỏi trang thiết bị và kỹ thuật đặc thù cũng là những ưu điểm của phương pháp dựa trên đánh giá hình thái này [8, 9].

Tình hình dịch bệnh phức tạp trong thời gian qua phần

nào do ảnh hưởng của biến đổi khí hậu và sự suy giảm tính kháng của bộ giống lúa chủ lực được đánh giá là thách thức lớn đối với việc duy trì sản xuất bền vững và hiệu quả của ngành lúa gạo Việt Nam. Nhằm đối phó với nguy cơ này, công tác khảo sát tìm kiếm nguồn gen kháng đạo ôn từ các giống lúa bản địa và đặc biệt là các giống lúa du nhập từ nước ngoài đã và đang được triển khai hiệu quả để mở rộng và sử dụng nền gen kháng cho chương trình chọn tạo giống lúa kháng đạo ôn ở nước ta [10, 11]. Trong nghiên cứu này, bộ mẫu giống lúa kháng đạo ôn được cung cấp bởi Viện Nghiên cứu lúa Quốc tế (IRRI) đã được đánh giá phản ứng bệnh với các chủng nấm *M. oryzae* đặc trưng của Việt Nam trong điều kiện thí nghiệm. Kết quả của nghiên cứu sẽ cung cấp những thông tin và nguồn vật liệu kháng đạo ôn triển vọng mới cho công tác chọn tạo giống lúa kháng đạo ôn ở Việt Nam.

Đối tượng và phương pháp

Vật liệu nghiên cứu và thiết kế triển khai thí nghiệm

40 mẫu giống lúa kháng đạo ôn của IRRI, 9 giống lúa Việt Nam (bao gồm các giống lúa phổ biến trong sản xuất, giống lúa địa phương) và giống LTH đối chứng chuẩn nhiễm đạo ôn đã được sử dụng trong nghiên cứu này. Các thí nghiệm đánh giá phản ứng bệnh đạo ôn được thiết kế ngẫu nhiên hoàn toàn và triển khai trong điều kiện nhà lưới và phòng thí nghiệm tại các đơn vị nghiên cứu của Viện Khoa học Nông nghiệp Việt Nam trong vụ xuân năm 2017.

Nguồn bệnh nấm đạo ôn

Tổng số 12 nòi nấm *M. oryzae* được thu thập từ các tỉnh/thành phố và đánh giá mang độc tính đặc trưng cho từng địa phương đã được sử dụng cho nghiên cứu này [12]. Các bào tử đỉnh nấm đạo ôn được nuôi nhân trên môi trường thạch yến mạch theo phương pháp của Vasudevan và cộng sự [13]. Bào tử nấm thu được được pha loãng trong nước cất bổ sung Tween-20 0,05% tới mật độ đạt $3-8 \times 10^4$ bào tử/ml (kiểm tra bằng buồng đếm hemocytometer) để tiến hành lây nhiễm.

Lây nhiễm nhân tạo và đánh giá phản ứng bệnh

Hạt giống này mầm của các mẫu giống lúa được trồng trên khay nhựa và chăm sóc đến giai đoạn 4-5 lá (khoảng 3 tuần tuổi) để đánh giá phản ứng bệnh. Các khay mạ sau khi được phun đều dung dịch bào tử nấm đạo ôn bằng bình tích áp được chuyển vào buồng tối trong điều kiện nhiệt độ 25°C, độ ẩm 100% trong 24 giờ để bào tử nảy mầm. Sau đó các khay mạ được chuyển sang điều kiện ánh sáng thường, nhiệt độ 25°C và độ ẩm 70%.

Đối với mỗi mẫu giống, phản ứng bệnh đối với từng nòi nấm đạo ôn được đánh giá ngẫu nhiên trên 3 cây mạ sau 7

ngày lấy nhiễm dựa trên thang điểm tiêu chuẩn SES của IRRI [14]. Theo đó điểm 0 là kháng cao, điểm 1-2 là kháng, điểm 3-4 là kháng vừa, điểm 5-6 là nhiễm nhẹ, điểm 7-8 là nhiễm và điểm 9 là nhiễm nặng. Ngoài ra, mức kháng chung với các nòi nấm đạo ôn của mỗi mẫu giống lúa cũng được đánh giá thông qua tần số kháng bệnh (resistance frequency - RF). Căn cứ tỷ lệ số nòi nấm đạo ôn mà một mẫu giống lúa kháng được (điểm đánh giá 0-2) trên tổng số 12 nòi nấm, mức kháng chung của mẫu giống lúa đó được xác định là cao ($RF > 85\%$), vừa ($RF = 50-85\%$) và thấp ($RF < 50\%$) đối với quần thể nấm đạo ôn sử dụng [15]. Mức độ độc tính VF (virulence frequency) của từng nòi nấm đạo ôn được xác định dựa trên tỷ lệ giữa số mẫu giống tương hợp (điểm đánh giá 3-9) trên tổng số mẫu giống đánh giá [16].

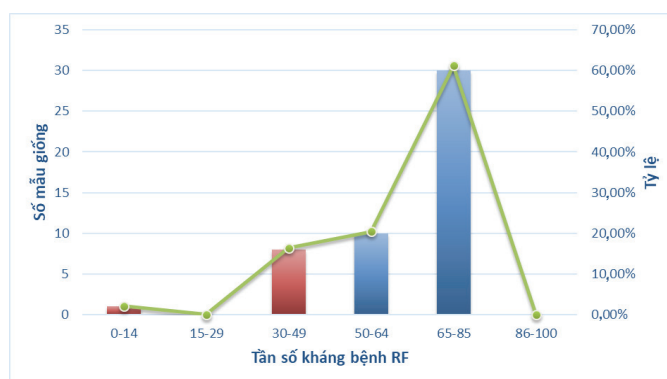
Phân tích số liệu

Số liệu kết quả đánh giá phản ứng bệnh của mỗi mẫu giống lúa với từng nòi nấm đạo ôn, phân tích thành phần chính PCA được xử lý bằng phần mềm SPSS v.23. Ma trận tương quan (sử dụng hệ số Euclidean) tính kháng đạo ôn giữa các mẫu giống lúa và giữa các nòi nấm đạo ôn và phân tích phân nhóm (sử dụng thuật toán UPGMA) được thực hiện trên phần mềm NTSYS v.2.02. Cây phân nhóm tích hợp bản đồ nhiệt mức kháng đạo ôn của các mẫu giống lúa và quần thể nấm đạo ôn được xây dựng trên iTOL v.4 [17].

Kết quả

Phản ứng bệnh đạo ôn của các mẫu giống lúa nghiên cứu

Tính kháng đạo ôn của 50 mẫu giống lúa nghiên cứu bao gồm 40 mẫu giống lúa từ IRRI, 9 mẫu giống lúa Việt Nam và giống chuẩn nhiễm LTH đối với quần thể 12 nòi nấm đạo ôn đại diện cho các vùng ở Việt Nam được thể hiện ở bản đồ nhiệt hình 3. Hầu hết các mẫu giống lúa IRRI đáp ứng tốt với 10 nòi nấm đạo ôn phía Bắc (bao gồm Quảng Bình) với tỷ lệ kháng (điểm ≤ 2) dao động từ 40,0% (IR14D194, IR14D195 và IR15D1082) đến 100% (3 mẫu giống IR14D120, IR14D132 và IR14D181). Chỉ có 5 mẫu giống (IR14D189, IR14D194, IR14D195, IR15D104 và IR15D1082) kháng với ít hơn 7 nòi nấm (tương ứng tỷ lệ kháng thấp hơn 70,0%) và 2 mẫu giống nhiễm đối với một số nòi nấm đạo ôn phía Bắc là IR14D116 (nhiễm với nòi nấm Điện Biên) và IR14D194 (nhiễm với nòi nấm Ninh Bình). Đáng chú ý, toàn bộ các mẫu giống IRRI không có khả năng kháng với các nòi đạo ôn phía Nam khi lần lượt có tới 33/40 và 26/40 số mẫu giống nhiễm và nhiễm nặng (số còn lại nhiễm nhẹ) với các nòi đạo ôn Đồng Tháp và Cần Thơ. Tính chung trên quần thể nấm đạo ôn thử nghiệm, có 35/40 (chiếm 87,5%) mẫu giống lúa IRRI có mức kháng chung RF ở mức vừa và cao, số còn lại thuộc nhóm có tính kháng chung thấp (hình 1, bảng 1).



Hình 1. Phân bố tần số kháng bệnh của 40 mẫu giống lúa IRRI và 9 giống lúa Việt Nam.

Bảng 1. Mức kháng chung của các nhóm mẫu giống lúa đối với các nòi nấm thử nghiệm.

Nhóm giống	Số lượng	Số mẫu giống của mỗi tần số kháng bệnh RF						RF trung bình
		<50%	Tỷ lệ (%)	50%-85%	Tỷ lệ (%)	>85%	Tỷ lệ (%)	
Kháng đạo ôn nhập nội từ IRRI	40	5	12,5	35	87,5	0	0	65,83
Giống cải tiến Việt Nam	6	1	16,66	5	83,34	0	0	61,095
Giống địa phương Việt Nam	3	3	100,0	0	0	0	0	22,22
Tổng	49	9	18,36	40	81,64	0	0	

Nhóm mẫu giống lúa cải tiến ở Việt Nam (PC6, Gia Lộc 105, AN26_1, OM6976, OM4218 và OM10041) thể hiện tính kháng tốt với các nòi nấm phía Bắc với tỷ lệ kháng từ 60% (AN26_1) đến 90% (Gia Lộc 105 và OM4218). Đối với các nòi nấm phía Nam, các giống này thể hiện tính kháng kém hơn khi chỉ có AN26_1 và OM10041 kháng nhẹ, trong khi các giống còn lại nhiễm nhẹ và nhiễm. Cá biệt giống OM4218 nhiễm nặng với cả hai nòi nấm Đồng Tháp và Cần Thơ, và thuộc nhóm có mức kháng chung thấp (hình 1, bảng 1).

Ba mẫu giống lúa địa phương thuộc nhóm có mức kháng chung thấp đối với quần thể nấm đạo ôn thử nghiệm (hình 1, bảng 1). Trong khi Nếp cái hoa vàng nhiễm đến nhiễm nặng với toàn bộ 12 nòi nấm nghiên cứu và giống Khẩu mu moong kháng với 4/12 nòi nấm, giống Một bụi đỏ lùn kháng với 4/12 nòi nấm và đặc biệt kháng nhẹ với các nòi nấm phía Nam.

Độc tính của quần thể nấm đạo ôn trên bộ mẫu giống lúa nghiên cứu

Mức độ độc tính VF của 12 nòi nấm đạo ôn trên bộ mẫu giống lúa nghiên cứu dao động từ 6,12% (Hà Nội) đến 100% (Đồng Tháp và Cần Thơ). Các nòi nấm thu thập từ các tỉnh phía Bắc có độc tính thấp, ngoại trừ hai nòi từ Điện Biên có độc tính cao (VF tương ứng là 36,7 và 57,1%). Nòi

nấm từ Quảng Bình có độc tính cao (VF=61,2%). Các nòi nấm phía Nam từ Đồng Tháp và Cần Thơ có độc tính cao nhất, khi gây bệnh trên 100% bộ mẫu giống nghiên cứu (bản đồ nhiệt, hình 3).

Hệ số tương quan Pearson giữa 12 nòi nấm đạo ôn được xác định dựa trên độc tính đối với bộ mẫu giống lúa nghiên cứu. Tương quan đồng biến được ghi nhận giữa hầu hết các nòi nấm với ý nghĩa thống kê cao ($p \leq 0,01$). Hai nòi nấm Đồng Tháp và Cần Thơ (tương quan 0,757; $p \leq 0,01$) có hệ số tương quan thấp với các nòi nấm còn lại, cá biệt có tương quan nghịch biến với một số nòi như Sơn La, Bắc Kạn 01, Bắc Kạn 02 (bảng 2). Phân nhóm UPGMA phân chia 12 nòi nấm đạo ôn thành hai nhóm có độc tính cao (Đồng Tháp và Cần Thơ) và độc tính thấp (các nòi nấm còn lại) đối với bộ mẫu giống lúa nghiên cứu (hình 3).

Bảng 2. Hệ số tương đồng Pearson giữa 12 nòi nấm đạo ôn dựa trên độc tính đối với bộ mẫu giống nghiên cứu.

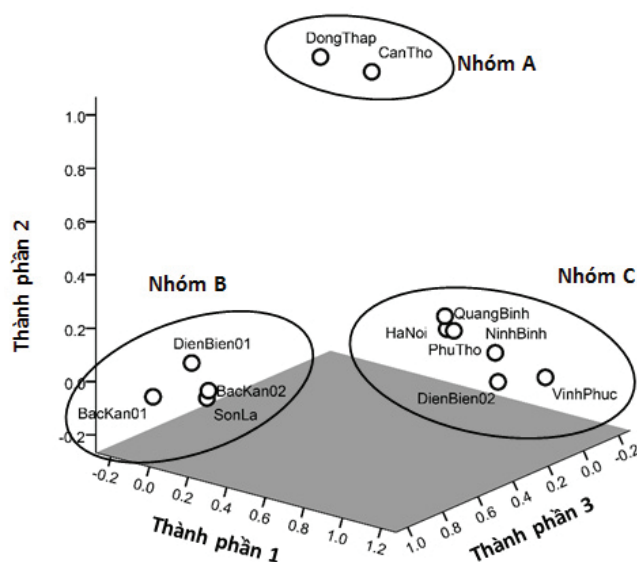
Nòi nấm đạo ôn	ĐB_01	ĐB_02	SL	BK_01	BK_02	PT	HN	NB	VP	QB	DT	CT
ĐB_01	1.000											
ĐB_02	0.453**	1.000										
SL	0.639**	0.450**	1.000									
BK_01	0.668**	0.342**	0.733**	1.000								
BK_02	0.657**	0.497**	0.872**	0.755**	1.000							
PT	0.557**	0.501**	0.629**	0.527**	0.627**	1.000						
HN	0.511**	0.542**	0.559**	0.514**	0.610**	0.845**	1.000					
NB	0.538**	0.566**	0.542**	0.501**	0.571**	0.923**	0.747**	1.000				
VP	0.502**	0.656**	0.543**	0.415**	0.553**	0.823**	0.813**	0.840**	1.000			
QB	0.215 ^{ns}	0.398 ^{ns}	0.449**	0.381**	0.428**	0.557**	0.473**	0.501**	0.475**	1.000		
DT	0.045 ^{ns}	0.097 ^{ns}	-0.064 ^{ns}	-0.112 ^{ns}	-0.032 ^{ns}	0.237*	0.244*	0.181 ^{ns}	0.119 ^{ns}	0.168 ^{ns}	1.000	
CT	0.003 ^{ns}	0.139 ^{ns}	-0.024 ^{ns}	-0.082 ^{ns}	0.007 ^{ns}	0.306*	0.359**	0.255*	0.213 ^{ns}	0.208 ^{ns}	0.757**	1.000

Ghi chú: ĐB: Điện Biên, SL: Sơn La, BK: Bắc Kạn, PT: Phú Thọ, HN: Hà Nội, NB: Ninh Bình, VP: Vĩnh Phúc, QB: Quảng Bình, DT: Đồng Tháp, CT: Cần Thơ.

* Khác biệt có ý nghĩa thống kê tại $p \leq 0,05$; ** Khác biệt có ý nghĩa thống kê tại $p \leq 0,01$; ^{ns} Không có ý nghĩa thống kê.

Phân tích thành phần chính PCA cho thấy ba thành phần chính đầu tiên giải thích đến 77,41% tổng phương sai của các biến tính toán (độc tính của 12 nòi nấm đạo ôn) với giá trị tương ứng của từng thành phần chính theo thứ tự là 52,63, 17,13 và 7,65%. Kết quả này xác nhận phân nhóm UPGMA các nòi nấm nghiên cứu; theo đó bên cạnh nhóm A (bao gồm các nòi nấm Đồng Tháp và Cần Thơ có độc tố cao), các nòi nấm còn lại được phân thành nhóm B (bao gồm các nòi Điện Biên 01, Bắc Kạn 01, Bắc Kạn 02 và Sơn

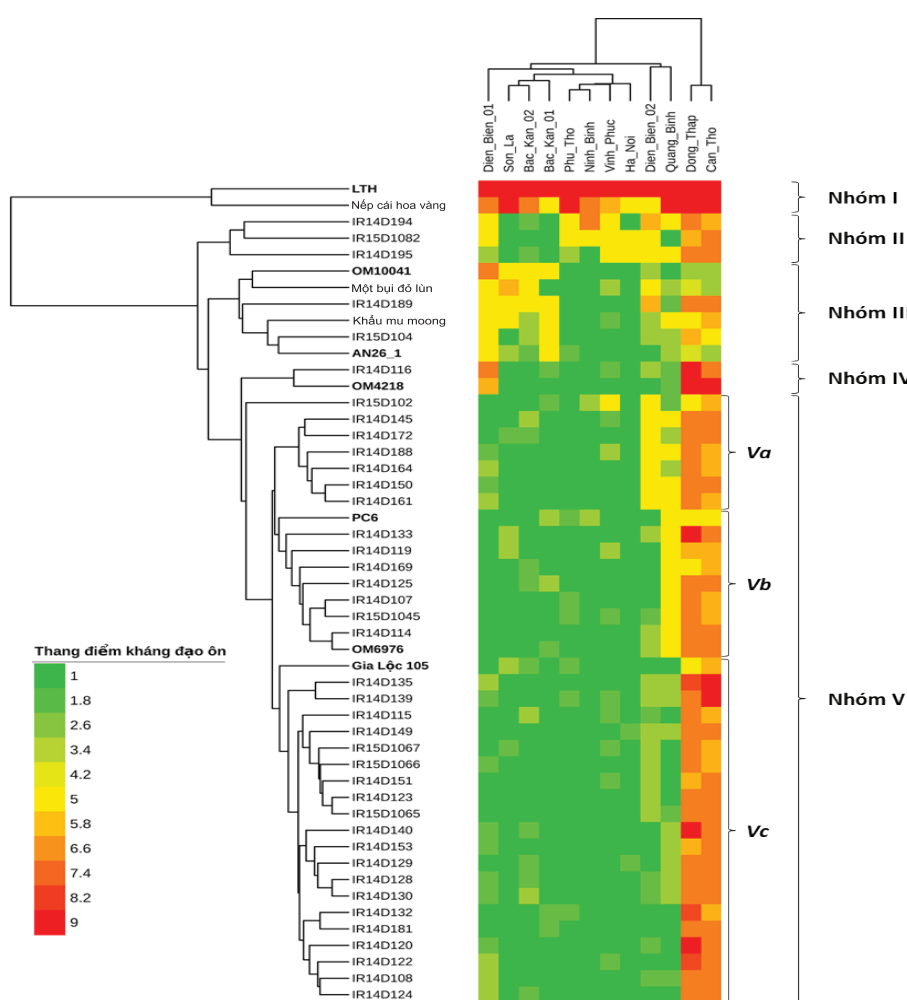
La) và nhóm C (bao gồm các nòi Điện Biên 02, Phú Thọ, Vĩnh Phúc, Hà Nội, Ninh Bình và Quảng Bình) (hình 2).



Hình 2. Phân bố 3 chiều thành phần chính PCA cho thấy quan hệ giữa 12 nòi nấm đạo ôn dựa trên độc tính đối với bộ mẫu giống lúa nghiên cứu.

Phân nhóm bộ mẫu giống lúa dựa trên tính kháng đạo ôn

Tính kháng bệnh đạo ôn phân nhóm 49 mẫu giống lúa nghiên cứu và giống đối chứng chuẩn nhiễm LTH thành 5 nhóm tương ứng với mức độ kháng bệnh và phân bố địa lý của 12 nòi nấm *M. oryzae*. Nhóm I (bao gồm Nếp cái hoa vàng và giống nhiễm chuẩn LTH) nhiễm với tất cả 12 nòi nấm đạo ôn. Nhóm II (bao gồm 3 giống IR14D194, IR15D1082 và IR14D195) kháng với các nòi nấm thuộc nhóm B nhưng nhiễm nhẹ đến nhiễm đối với các nòi nấm còn lại. Nhóm III (bao gồm 6 giống OM10041, Một bụi đỏ lùn, IR14D189, Khẩu mu moong, IR15D104 và AN26_1) nhiễm nhẹ đến nhiễm với các nòi nấm nhóm A và B nhưng kháng tốt các nòi nấm nhóm C. Nhóm IV (bao gồm hai giống IR14D116 và OM4218) nhiễm với nòi Điện Biên 01 và nhóm A nhưng kháng đối với các nòi còn lại của nhóm B và C. Nhóm V (bao gồm các mẫu giống còn lại) có đặc điểm chung là nhiễm đến nhiễm nặng đối với các nòi đạo ôn nhóm A. Nhóm V được phân chia tiếp thành 3 phân nhóm dựa trên tính kháng đối với hai nòi Điện Biên 02 và Quảng Bình, bao gồm: phân nhóm Va (bao gồm 7 mẫu giống lúa IRRI) nhiễm nhẹ với hai nòi trên; phân nhóm Vb (bao gồm các giống PC6, OM9676 và 7 mẫu giống lúa IRRI) chỉ nhiễm nhẹ với nòi Quảng Bình và phân nhóm Vc (bao gồm giống Gia Lộc 105 và 20 mẫu giống lúa IRRI) kháng đối với cả hai nòi Điện Biên 02 và Quảng Bình (hình 3).



Hình 3. Phân nhóm 50 mẫu giống lúa nghiên cứu và 12 nòi nấm *M. oryzae* dựa trên bản đồ nhiệt đánh giá phản ứng bệnh đạo ôn trong điều kiện thí nghiệm.

Bàn luận

Đạo ôn là bệnh hại nghiêm trọng ở lúa với tần suất bùng phát cao và gây thiệt hại lớn. Tại Việt Nam bệnh đạo ôn đã gây hại hầu hết các vụ lúa trong năm, nhất là ở các tỉnh phía Nam. Cải thiện tính kháng của các giống lúa được xem là phương án hiệu quả và bền vững để quản lý bệnh đạo ôn [4]. Tuy nhiên, sự đa dạng các nòi nấm *M. oryzae* kéo theo phổ độc tính rộng, có tính đặc hiệu khác nhau theo vùng địa lý là thách thức lớn, gây khó khăn cho công tác chọn tạo giống lúa kháng bệnh đạo ôn. Thực tế cho thấy, tính kháng đạo ôn của các giống lúa thường bị phá vỡ sau một thời gian đưa vào sản xuất do các nòi nấm đạo ôn tiến hóa và có độc tính vượt qua phổ kháng ban đầu được quy định bởi một hoặc hai gen kháng [5]. Chính vì vậy, công tác đánh giá xác định nguồn vật liệu kháng với các nòi nấm đạo ôn có ý nghĩa quan trọng, tạo tiền đề chọn tạo giống lúa kháng bệnh đạo ôn bền vững cho từng vùng sinh thái. Trong nghiên cứu này, 40 mẫu giống lúa kháng đạo ôn nhập nội từ IRRI đã được kiểm chứng phản ứng bệnh với các nòi nấm *M. oryzae* của Việt Nam và đánh giá mức độ kháng so với một số giống lúa

cải tiến và địa phương của Việt Nam.

Độc tính vượt trội của các nòi nấm *M. oryzae* phía Nam

Qua đánh giá độc tính trên bộ mẫu giống nghiên cứu, 12 nòi nấm đạo ôn được phân nhóm rất rõ theo vùng địa lý. Các nòi Đồng Tháp và Cần Thơ thuộc nhóm A có độc tính mạnh nhất, gây bệnh (điểm ≥ 5) trên toàn bộ 40 mẫu giống lúa từ IRRI và 6/9 mẫu giống lúa Việt Nam. Chỉ có các giống AN26_1 và OM10041 và Một bụi đỏ lùn là kháng nhẹ với hai nòi nấm này (điểm 3 và 4). Trong khi đó hầu hết mẫu giống lúa IRRI và Việt Nam kháng với các nòi nấm phía Bắc thuộc nhóm B và C với mức độ độc tính VF từ 6,12% (nòi Hà Nội) đến 61,2% (nòi Quảng Bình). Đáng chú ý, nòi nấm Điện Biên 02 (VF=57,1%) và Quảng Bình có độc tính cao hơn các nòi còn lại trong nhóm.

Nghiên cứu hệ gen cho thấy hoạt động của các gen lập có vai trò rất lớn trong việc thay đổi cấu trúc và chức năng của các gen độc tính và yếu tố quy định tính đặc hiệu ký chủ của nấm *M. oryzae* [18, 19]. Đây chính là nguyên nhân dẫn đến sự khác biệt về độc tính, phổ đặc hiệu giữa các nòi nấm đạo ôn vốn rất đa dạng theo các vùng địa lý [12, 20] và lý giải xu hướng độc tính tăng dần của 12 nòi nấm *M. oryzae* nghiên cứu theo vùng sinh thái từ Bắc vào Nam. Bên cạnh đó, phổ độc tính cũng phản ánh đúng sự khác biệt về nhóm gen kháng đạo ôn hiệu lực giữa hai khu vực phía Bắc và phía Nam theo những nghiên cứu của Nguyễn Thị Minh Nguyệt và cộng sự [12] và Võ Thị Thu Ngân và cộng sự [21].

Phân nhóm bộ mẫu giống lúa IRRI theo tính kháng với các nòi nấm đạo ôn Việt Nam

Tính kháng đối với bộ 12 nòi nấm nghiên cứu thể hiện rất rõ tính thích ứng vùng sinh thái của các giống lúa Việt Nam. Được chọn tạo và phổ biến trong sản xuất ở khu vực phía Bắc, các giống PC6 và Gia Lộc 105 thể hiện tính kháng rất tốt với các nòi nấm phía Bắc nhưng lại nhiễm bệnh với các nòi nấm phía Nam. Trong khi đó các giống AN26_1 và OM10041 phổ biến ở các tỉnh phía Nam nhiễm nhẹ với các nòi nấm vùng Tây Bắc nhưng kháng tốt với nòi nấm Quảng Bình và đặc biệt là các nòi nấm Đồng Tháp và Cần Thơ. Các giống này là chỉ dấu tốt, giúp xác định các mẫu giống lúa có tính kháng phù hợp với đạo ôn ở từng vùng sinh thái nước ta thông qua phân tích phân nhóm.

Không có mẫu giống lúa IRRI nào kháng toàn diện với các nòi nấm đạo ôn Việt Nam. Thay vào đó 40 mẫu giống được phân thành 5 nhóm chính tương ứng với khả năng kháng với các nòi nấm đạo ôn ở từng vùng sinh thái Việt Nam. Trong khi các mẫu giống lúa thuộc nhóm II và III có tính kháng đạo ôn cục bộ với các nòi nấm đạo ôn vùng Tây Bắc (nhóm B) hoặc các tỉnh đồng bằng phía Bắc (nhóm C), các mẫu giống lúa thuộc nhóm IV và V thể hiện tính kháng phổ rộng hơn với các nòi đạo ôn phía Bắc (nhóm B và C). Tuy nhiên không một mẫu giống lúa IRRI nào thể hiện tính kháng với hai nòi nấm phía Nam (nhóm A) (hình 3). Kết quả này cho thấy các mẫu giống lúa IRRI thiếu các gen kháng hiệu lực với các nòi nấm phía Nam, tuy nhiên có thể sử dụng làm vật liệu phù hợp cho công tác chọn giống cải thiện tính kháng đạo ôn cho các tỉnh phía Bắc.

Đánh giá phản ứng bệnh là cách tiếp cận đơn giản và hiệu quả nhằm sàng lọc tính kháng đạo ôn của các mẫu giống nghiên cứu. Phương pháp đánh giá kiểu gen phải dựa trên các gen/QTLs kháng đã biết và chỉ xác định được sự có mặt của các gen/QTLs thông qua các chỉ thị liên kết mà không trực tiếp phản ánh phản ứng của mẫu giống nghiên cứu với nguồn bệnh. Bên cạnh đó, tính kháng bệnh hại nói chung và bệnh đạo ôn nói riêng chỉ hiệu quả khi kết hợp hai hoặc nhiều gen kháng khác nhau. Như vậy, việc sử dụng các chỉ thị phân tử liên kết với các gen/QTLs đã biết là không đủ tin cậy để đánh giá khả năng kháng bệnh trên thực tế [4]. Chính vì vậy, sàng lọc kiểu hình rõ ràng sẽ giúp các nhà nghiên cứu chọn lọc các nguồn gen có khả năng kháng bệnh tốt nhất với nguồn bệnh thực tế để tiếp tục đánh giá và sử dụng cho công tác chọn tạo giống. Nghiên cứu này đã cung cấp dữ liệu đầy đủ về tính kháng đạo ôn của 40 mẫu giống lúa IRRI và phân nhóm tương ứng với độc tính của 12 nòi nấm đạo ôn Việt Nam. Đây sẽ là cơ sở để xác định các vật liệu phù hợp nhất cho công tác chọn giống lúa kháng đạo ôn ở từng vùng sinh thái Việt Nam.

Kết luận

Các nòi nấm đạo ôn Việt Nam có sự đa dạng di truyền rất lớn, thể hiện qua mức độ độc tính biến thiên theo từng vùng sinh thái. Các nòi nấm khu vực đồng bằng phía Bắc có độc tính thấp, các nòi nấm miền núi phía Bắc có độc tính trung bình, các nòi nấm phía Nam có độc tính cao trên bộ mẫu giống lúa nghiên cứu. Như vậy cần xác định các nguồn vật liệu cho gen kháng phù hợp cho công tác chọn tạo giống lúa kháng đạo ôn ở từng vùng sinh thái.

Bộ mẫu giống lúa IRRI nhiễm với bệnh đạo ôn do các nòi nấm *M. oryzae* phía Nam gây ra. Trong khi đó đa số mẫu giống lúa IRRI kháng tốt với các nòi nấm đạo ôn phía Bắc và có thể được sử dụng làm vật liệu phát triển giống lúa kháng đạo ôn cho khu vực này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

[1] S. Ashkani, et al. (2015), "Molecular breeding strategy and challenges towards improvement of Blast Disease Resistance in Rice Crop", *Front Plant Sci.*, **6**, p.886.

[2] J. Ma, et al. (2015), "Pi64, Encoding a Novel CC-NBS-LRR Protein, Confers Resistance to Leaf and Neck Blast in Rice", *Mol. Plant Microbe Interact.*, **28**(5), pp.558-568.

[3] A.K. Singh, et al. (2015), "Molecular Screening of Blast Resistance Genes in Rice using SSR Markers", *Plant Pathol. J.*, **31**(1), pp.12-24.

[4] T.R. Sharma, et al. (2012), "Rice Blast Management Through Host-Plant Resistance: Retrospect and Prospects", *Agricultural Research*, **1**(1), pp.37-52.

[5] J. Huang, et al. (2014), "Rapid evolution of avirulence genes in rice blast fungus *Magnaporthe oryzae*", *BMC Genet.*, **15**, pp.45.

[6] B. Valent and C.H. Khang (2010), "Recent advances in rice blast effector research", *Curr. Opin. Plant Biol.*, **13**(4), pp.434-441.

[7] W. Liu, et al. (2016), "Evaluation of Genetic Diversity and Development of a Core Collection of Wild Rice (*Oryza rufipogon* Griff.) Populations in China", *Plos One*, **10**(12), pp.145990.

[8] M. Tuhina-Khatun, et al. (2015), "Reactions and diversity analysis of upland rice genotypes against blast disease of rice (*Oryza sativa* L.)", *Australasian Plant Pathology*, **44**(4), pp.405-412.

[9] M. Jena, et al. (2015), "Evaluation of rice genotypes for rice brown plant hopper resistance through phenotypic reaction and genotypic analysis", *Crop Protection*, **78**, pp.119-126.

[10] Nguyễn Thị Minh Nguyệt (2002), *Khảo sát và ứng dụng chỉ thị phân tử liên kết với tính kháng đạo ôn trong đánh giá các giống lúa bố mẹ phục vụ công tác chọn tạo giống kháng bền vững*, Luận văn thạc sỹ sinh học, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội.

[11] Lê Tuấn Nghĩa (2011), "Ứng dụng phương pháp chỉ thị phân tử trong chọn giống lúa kháng đạo ôn", *Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn*, **2+3**, tr.11-16.

[12] Nguyễn Thị Minh Nguyệt, Hoàng Hoa Long và Nguyễn Thị Thanh Thủy (2015), "Thu thập đánh giá và phân loại nòi nấm bệnh đạo ôn (*Pyricularia oryzae* Cavara) ở các tỉnh Trung du và miền núi phía Bắc Việt Nam", *Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn*, **9**, tr.20-26.

[13] K. Vasudevan, et al. (2014), "Large scale germplasm screening for identification of novel rice blast resistance sources", *Front Plant Sci.*, **5**, pp.505.

[14] IRRI (2002), *Standard Evaluation System for Rice (SES)*, Philippines.

[15] Y. Wu, et al. (2017), "Characterization and evaluation of rice blast resistance of Chinese indica hybrid rice parental lines", *The Crop Journal*, **5**(6), pp.509-517.

[16] M.C. Filippi and A.S. Prabhu (2001), "Phenotypic virulence analysis of *Pyricularia grisea* isolates from Brazilian upland rice cultivars", *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, **36**, pp.27-35.

[17] I. Letunic and P. Bork (2016), "Interactive tree of life (iTOL) v3: an online tool for the display and annotation of phylogenetic and other trees", *Nucleic Acids Research*, **44**(W1), pp.242-245.

[18] M. Gowda, et al. (2015), "Genome analysis of rice-blast fungus *Magnaporthe oryzae* field isolates from southern India", *Genom Data*, **5**, pp.284-291.

[19] C. Chen, et al. (2013), "Genome comparison of two *Magnaporthe oryzae* field isolates reveals genome variations and potential virulence effectors", *BMC Genomics*, **14**, pp.887.

[20] Nguyễn Thị Thu Thủy và Trương Thị Hồng Hải (2016), "Nghiên cứu đa dạng di truyền và đánh giá tính độc của các chủng nấm gây bệnh đạo ôn ở Nam Trung Bộ", *Tạp chí Bảo vệ Thực vật*, **1**, tr.7-12.

[21] Võ Thị Thu Ngân, Nguyễn Thị Phong Lan và Trần Ngọc Thạch (2018), "Hiệu lực gen kháng bệnh đạo ôn trên lúa tại Đồng bằng sông Cửu Long", *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Nông nghiệp Việt Nam*, **3**(88), tr.17-21.

Khả năng sản xuất của vịt Star 53 ông bà nhập nội

Nguyễn Quý Khiêm*, Nguyễn Ngọc Dung, Nguyễn Thị Nga, Phạm Thị Kim Thanh, Vũ Đức Cảnh, Phạm Thùy Linh, Đặng Thị Phương Thảo, Trần Thị Thu Hằng, Tạ Thị Hương Giang, Trần Thị Hà, Lê Xuân Sơn, Nguyễn Thị Tâm

Trung tâm Nghiên cứu gia cầm Thụy Phương

Ngày nhận bài 11/5/2018; ngày chuyển phản biện 16/5/2018; ngày nhận phản biện 26/6/2018; ngày chấp nhận đăng 2/7/2018

Tóm tắt:

Tháng 2/2016, Trung tâm Nghiên cứu gia cầm Thụy Phương đã nhập vịt Star 53 ông bà từ Hãng Grimaud Freres (Cộng hòa Pháp). Kết quả nuôi thích nghi và nhân giống cho thấy: tỷ lệ nuôi sống 1 ngày tuổi đến 24 tuần tuổi (TT) đạt 91,96-94,01%. Khối lượng cơ thể ở 24 TT: trống (A) đạt 4006 g, mái (B) đạt 3596 g, trống (C) đạt 3473 g và mái (D) đạt 3106 g. Năng suất trứng/48 tuần đẻ của mái (B) đạt 200,57 quả, mái (D) đạt 249,58 quả, tỷ lệ phôi (♂A x ♀B) đạt 83,85%, (♂C x ♀D) đạt 85,94%, tỷ lệ nở/tổng trứng có phôi tương ứng đạt 88,38 và 86,12%. Vịt Star bố mẹ có tỷ lệ nuôi sống đến 24 TT đạt 95,0-96,5%, khối lượng cơ thể 24 TT của trống (AB) đạt 3861 g và mái (CD) đạt 3003 g, năng suất trứng/mái/40 tuần đẻ đạt 215,97 quả. Tỷ lệ phôi đạt 89,92%, tỷ lệ nở/tổng trứng có phôi đạt 86,22%. Vịt thương phẩm (ABCD) có tỷ lệ nuôi sống đến 7 TT đạt 97,67%, khối lượng cơ thể ở 7 TT đạt 3542 g, tỷ lệ thân thịt và tỷ lệ thịt lườn tương ứng đạt 74,47 và 22,60%.

Từ khóa: khả năng sản xuất, ưu thế lai, vịt Star 53.

Chỉ số phân loại: 4.2

Đặt vấn đề

Chăn nuôi vịt trong những năm qua đã có bước phát triển nhanh chóng. Theo số liệu của Tổng cục Thống kê năm 2017, số lượng vịt xuất chuồng tăng từ 81,3 triệu con năm 2014 lên 106,1 triệu con năm 2016, bình quân tăng 10,28%/năm. Về số lượng đứng thứ 2 thế giới (sau Trung Quốc) và thuộc top 10 quốc gia có sản lượng thịt và trứng vịt lớn nhất thế giới. Có được mức tăng trưởng như vậy là nhờ sự phát triển mạnh mẽ của khoa học và công nghệ, đặc biệt trên lĩnh vực di truyền chọn tạo giống.

Để có các nguồn gen quý phục vụ công tác nghiên cứu cải tạo đàn vịt trong nước, nâng cao chất lượng con giống và đa dạng hóa sản phẩm nhằm đáp ứng nhu cầu của thị trường, tháng 2/2016, Trung tâm Nghiên cứu gia cầm Thụy Phương đã nhập vịt Star 53 ông bà có nguồn gốc từ Hãng Grimaud Freres (Cộng hòa Pháp). Đây là giống vịt có tỷ lệ thịt ức và năng suất trứng cao. Vịt ông bà dòng trống có năng suất trứng 220,4 quả/mái/52 tuần đẻ, tỷ lệ phôi 85,9%, tỷ lệ nở/tổng trứng có phôi 85,4%; dòng mái 286,1 quả/mái/52 tuần đẻ, tỷ lệ phôi 91,9%, tỷ lệ nở/tổng trứng có phôi 89,7%. Để có cơ sở khoa học về sức sống, khả năng sản xuất, chúng tôi tiến hành nghiên cứu đề tài với mục tiêu đánh giá khả năng sản xuất của đàn vịt Star 53 ông bà, bố mẹ và con thương phẩm.

*Tác giả liên hệ: Email: giacamthuyphuong@gmail.com

Vật liệu, nội dung và phương pháp nghiên cứu

Vật liệu nghiên cứu

- Vịt Star 53 ông bà nhập nội 1 ngày tuổi: trống (A) 167 con, mái (B) 672 con, trống (C) 168 con và mái (D) 668 con.
- Vịt Star 53 bố mẹ: trống (AB) 220 con, mái (CD) 600 con.
- Vịt thương phẩm ABCD: 450 con.

Nghiên cứu được thực hiện tại Trạm Nghiên cứu chăn nuôi gia cầm Thụy Phương và Trạm Nghiên cứu chăn nuôi gia cầm Cẩm Bình thuộc Trung tâm Nghiên cứu gia cầm Thụy Phương từ năm 2016 đến 2018.

Nội dung nghiên cứu

- Theo dõi đặc điểm ngoại hình của vịt Star 53 ông bà.
- Đánh giá khả năng sản xuất của vịt Star 53 ông bà, bố mẹ.
- Đánh giá khả năng sinh trưởng của vịt thương phẩm ABCD.

Phương pháp nghiên cứu

- Đánh giá khả năng sinh trưởng của đàn vịt bằng phương pháp cân trực tiếp qua các giai đoạn tuổi. Kết thúc giai đoạn vịt con (1-8 TT) và vịt dò, hậu bị (9-24 TT) tiến hành cân toàn bộ đàn vịt, còn các tuần khác cân riêng trống, mái (mẫu = 30 con).

The production ability of Star 53 duck

Quy Khiem Nguyen*, Ngoc Dung Nguyen,
Thi Nga Nguyen, Thi Kim Thanh Pham, Duc Canh Vu,
Thuy Linh Pham, Thi Phuong Thao Dang,
Thi Thu Hang Tran, Thi Huong Giang Ta,
Thi Ha Tran, Xuan Son Le, Thi Tam Nguyen

Thuy Phuong Poultry Research Center

Received 11 May 2018; accepted 2 July 2018

Abstract:

In February 2016, Thuy Phuong Poultry Research Center imported Star 53 duck's grandparents from France's Grimaud Freres. The results of adaptation and breeding have exhibited that the survival rate of ducks at 1-24 weeks of age reached 91.96-94.01%. Body weight at 24 weeks of age: males A reached 4006 g; females B reached 3596 g; males C reached 3473 g; females D reached 3106 g. The yield of eggs/48 weeks of laying females B reached 200.57, and that of the females D reached 249.58 eggs; the rate of having embryos (males A x females B) reached 83.85%, and that of (males C x females D) reached 85.94%; and the hatching rate/total embryo eggs were 88.38% and 86.12%, respectively. Star 53 duck's parents had a survival rate at 95.0-96.5% of living up to 24 weeks of age. Body weight at 24 weeks: male AB reached 3861 g; female CD reached 3003 g. The yield of eggs/female/40 weeks of laying reached 215.97 eggs. The rate of embryos reached 89.92%, and the hatching rate/total embryo eggs reached 86.22% respectively. The commercial ABCD duck had a survival rate of the age up to 7 weeks reached 97.67%. Body weight at 7 weeks of age reached 3542 g. The percentage of carcasses and breast meat were 74.47% and 22.60%, respectively.

Keywords: hybrid advantage, production capacity, Star 53 duck.

Classification number: 4.2

- Xác định năng suất sinh sản của đàn vịt bằng phương pháp thu nhặt trứng kiểm đếm hàng ngày, cân khối lượng vịt và khối lượng trứng khi đàn vịt đẻ 5% và 38 TT.

Trên đàn vịt thương phẩm được bố trí theo kiểu ngẫu nhiên hoàn toàn một nhân tố để đánh giá ưu thế lai (bảng 1).

Bảng 1. Sơ đồ bố trí thí nghiệm vịt thương phẩm.

Chỉ tiêu	Lô 1 (AB)	Lô 2 (CD)	Lô 3 (ABCD)
Số lượng vịt/lô (con)	50	50	50
Số lần lặp lại	3	3	3
Tổng số lượng vịt (con)	150	150	150

Chế độ chăm sóc nuôi dưỡng: vịt Star 53 được chăm sóc nuôi dưỡng theo hướng dẫn của Hãng Grimaud Freres kết hợp với quy trình chăn nuôi vịt chuyên thịt của Trung tâm Nghiên cứu gia cầm Thụy Phương (bảng 2 và 3).

Bảng 2. Giá trị dinh dưỡng của TĂ nuôi vịt sinh sản.

Chỉ tiêu	TT						
	1-4	5-8	9-11	12-20	21-22	23-24	> 25
ME (kcal/kg TĂ)	2900,0	2906,7	2856,3	2744,8	2789,2	2813,2	2850,0
Protein (%)	20,00	18,43	14,15	12,28	14,1	16,16	19,0
Methionine (%)	0,8	0,72	0,50	0,41	0,48	0,57	0,7
Lysine (%)	1,0	1,00	0,64	0,53	0,67	0,82	1,0
Can xi (%)	1,0	0,98	0,98	1,00	1,86	2,87	3,5-4,5
Phot pho (%)	0,7	0,68	0,62	0,59	0,59	0,62	0,5-0,9
Xơ (%)	4,0	4,73	6,65	7,77	7,87	7,63	7,0

Ghi chú: ME là năng lượng trao đổi; TĂ là Thức ăn.

Bảng 3. Giá trị dinh dưỡng của TĂ nuôi vịt thương phẩm.

Chỉ tiêu	1-21 ngày tuổi	22 ngày tuổi - giết thịt
Protein (%)	20,0	17
ME (kcal/kg TĂ)	2900	3000
Lysine (%)	1,1	0,8
Methionine (%)	0,5	0,35
Canxi (%)	1,00	0,95
Phot pho (%)	0,5	0,5

Các chỉ tiêu theo dõi: trên đàn vịt ông bà, bố mẹ theo dõi đặc điểm ngoại hình, tỷ lệ nuôi sống, khả năng sinh trưởng, sinh sản. Trên đàn vịt thương phẩm theo dõi tỷ lệ nuôi sống, khối lượng cơ thể, tỷ lệ thân thịt và tỷ lệ thịt lườn.

Các số liệu được thu thập hàng ngày, ghi chép và xử lý theo phương pháp thống kê sinh vật học trên phần mềm Excell 2007.

Kết quả và thảo luận

Trên đàn vịt ông bà

Đặc điểm ngoại hình của vịt Star 53: vịt con 1 ngày tuổi có lông màu vàng rom đồng nhất, chân và mỏ màu vàng. Vịt trưởng thành có lông màu trắng tuyền, chân và mỏ màu vàng, riêng mái D mỏ có màu vàng nhạt, trống C chân có màu vàng đậm hơn.

Tỷ lệ nuôi sống qua các giai đoạn tuổi: kết quả bảng 4 cho thấy, tỷ lệ nuôi sống kết thúc giai đoạn vịt con đạt cao. Cụ thể, trống A đạt 96,41%, mái B đạt 96,13%, trống C đạt 95,83% và mái D đạt 94,01%. Giai đoạn vịt dò, hậu bị đạt 95,67-98,09%. Kết thúc 24 TT, trống A có tỷ lệ nuôi sống đạt 94,01%, mái B đạt 91,96%, trống C đạt 93,45% và mái D đạt 92,22%.

Bảng 4. Tỷ lệ nuôi sống giai đoạn con, dò, hậu bị (%).

TT	Trống (A) <i>n=167</i>	Mái (B) <i>n=672</i>	Trống (C) <i>n=168</i>	Mái (D) <i>n=668</i>
1-8	96,41	96,13	95,83	94,01
9-24	97,52	95,67	97,52	98,09
1-24	94,01	91,96	93,45	92,22

Khối lượng cơ thể qua các TT: khối lượng cơ thể của các dòng vịt được khống chế theo quy trình nuôi giống và đều nằm trong khoảng cho phép của Hãng. Cụ thể ở 8 TT trống (A) 2408,33 g, mái (B) 2488,33 g, trống (C) 2050,0 g, mái (D) 2121,67 g, so với tiêu chuẩn của Hãng đạt 93,06-97,58%. Ở 24 TT trống (A) 4006,67 g, mái (B) 3596,67 g, trống (C) 3473,33 g và mái (D) 3106,67 g, so với tiêu chuẩn của Hãng đạt 94,06-97,46% (bảng 5).

Bảng 5. Khối lượng cơ thể vịt Star 53 ông bà qua các TT.

TT	Trống A		Mái B		Trống C		Mái D	
	Mean (g)	So với Hãng (%)	Mean (g)	So với Hãng (%)	Mean (g)	So với Hãng (%)	Mean (g)	So với Hãng (%)
4	1270,67	96,56	1231,67	83,73	1061,67	93,7	1166,67	94,77
8	2408,33	97,58	2488,33	93,06	2050	96,52	2121,67	94,8
12	2965	93,01	2833,33	94,38	2668,33	97,25	2461,67	98
16	3415	94,36	3126,67	95,88	3006,67	96,52	2696,67	98,85
20	3706,67	93,89	3305	95,77	3265	96,09	2790	96,64
24	4006,67	96,76	3596,67	94,06	3473,33	97,46	3106,67	97,11

Ghi chú: 4, 12, 16 và 20 TT cân trọng mái riêng, mẫu $n=30$ con; 8 TT: trống A: 161 con, mái B: 646 con, trống C: 161 con và mái D: 628 con; 24 TT: trống A: 157 con, mái B: 618 con, trống C: 157 con và mái D: 616 con.

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cho thấy, vịt Star 53 có khối lượng lớn hơn vịt Star 53 HY, cụ thể, ở 24 TT trống (A) 3431 (g), mái (B) 3130 g, trống (C) 3173 g và mái (D) 2833 g [1].

Lượng TĂ tiêu thụ qua các giai đoạn tuổi: lượng TĂ tiêu thụ/con từ 1 đến 24 TT với trống (A) là 26220,9 g, mái (B) 24456,9 g, trống (C) 21987,9 g, mái (D) 20638 g, so với Hãng đạt từ 98,62 đến 103,19% (bảng 6). Lượng TĂ tiêu thụ cho vịt Star 53 cao hơn so với vịt Star 53 HY ở cùng giai đoạn tuổi. Dẫn theo Phùng Đức Tiến và cs (2008), trên giống vịt Star 53 HY, trống (A) 24841,6 g, mái (B) 22201,8 g, trống (C) 21696,6 g và mái (D) 19890,8 g [1].

Bảng 6. Lượng TĂ tiêu thụ qua các giai đoạn tuổi (g/con/giai đoạn).

TT	Trống (A)		Mái (B)		Trống (C)		Mái (D)	
	TĂ/con (g)	% so với Hãng	TĂ/con (g)	% so với Hãng	TĂ/con (g)	% so với Hãng	TĂ/con (g)	% so với Hãng
1-8	6459,9	101,64	6277,9	104,20	5544,9	101,26	5532,0	104,06
9-24	19761,0	101,58	18179,0	102,85	16443,0	98,12	15106,0	96,77
1-24	26220,9	101,60	24456,9	103,19	21987,9	98,89	20638,0	98,62

Tuổi thành thực và khả năng sinh sản của vịt ông bà Star 53: tuổi đẻ 5% của mái (B) là 175 ngày và mái (D) là 170 ngày, tương đương với kết quả của Phùng Đức Tiến và cs (2008) khi nghiên cứu trên vịt Star 53 HY [1]. Khối lượng vịt mái khi đẻ 5% lần lượt là 3605 g và 3215 g, đạt 94,27-97,93% so với Hãng, khối lượng trứng đạt 99,32-99,60% so với Hãng. Tại thời điểm 38 TT khối lượng mái (B) 3811,67 g, mái (D) 3403,33 g, khối lượng trứng lần lượt đạt 96,39-99,56% so với Hãng (bảng 7).

Bảng 7. Tuổi đẻ, khối lượng cơ thể, khối lượng trứng và khả năng sinh sản.

Chỉ tiêu	(♂A x ♀B)		(♂C x ♀D)	
	Mean $\pm$ m _x	So sánh Hãng (%)	Mean $\pm$ m _x	So sánh Hãng (%)
1. Tỷ lệ đẻ đạt 5%				
+ Tuổi đẻ (ngày tuổi)	175		170	
+ Khối lượng cơ thể (g) (n=30 con)	3605,00 $\pm$ 33,33	94,27	3215,00 $\pm$ 34,67	97,93
+ Khối lượng trứng (g) (n=100 quả)	73,10 $\pm$ 0,77	99,32	71,91 $\pm$ 1,0	99,60
2. Lúc 38 TT				
+ Khối lượng cơ thể (g) (n=30 con)	3811,67 $\pm$ 36,09		3403,33 $\pm$ 50,17	
+ Khối lượng trứng (g) (n=100 quả)	92,73 $\pm$ 0,60	96,39	89,80 $\pm$ 0,53	99,56
3. Khả năng sinh sản				
+ Năng suất trứng/mái/48 tuần đẻ (quả)	200,57	95,88	249,58	93,30
+ TTTĂ/10 trứng (kg)	4,58		3,63	
+ Tỷ lệ phôi (%)	83,85		85,94	
+ Tỷ lệ nở/tổng trứng ấp (%)	74,11		74,01	
+ Tỷ lệ nở/trứng có phôi (%)	88,38		86,12	
+ Tỷ lệ loại 1/trứng có phôi (%)	81,59		81,83	

TTTT: tiêu tốn thức ăn.

Khả năng sinh sản: năng suất trứng/mái B/48 tuần đẻ đạt 200,57 quả, năng suất trứng/mái D/48 tuần đẻ đạt 249,58 quả. So với chỉ tiêu năng suất trứng của Hãng đưa ra cùng thời điểm thì mái B đạt 95,88%, mái D đạt 93,30%. TTTA/10 trứng của mái (B) là 4,58 kg và mái (D) là 3,63 kg. Kết quả theo dõi đạt cao hơn của Nguyễn Đức Trọng và cs (2009) trên vịt Star 76, năng suất trứng/48 tuần đẻ của mái (B) đạt 168,08 quả, mái (D) đạt 225,24 quả. Tỷ lệ phôi ở (♂A x ♀B) và (♂C x ♀D) đạt từ 83,85-85,94%; tỷ lệ nở/tổng trứng ấp (♂A x ♀B) là 74,11%, (♂C x ♀D) là 74,01%; tỷ lệ nở/trứng có phôi của (♂A x ♀B) đạt 88,38%, (♂C x ♀D) là 86,12%; tỷ lệ loại 1/trứng có phôi tương ứng là 81,59% và 81,83%.

Trên đàn vịt bố mẹ

Đặc điểm ngoại hình: vịt con 1 ngày tuổi có bộ lông màu vàng rom, chân và mỏ có màu vàng đồng nhất đặc trưng của giống. Vịt Star 53 trưởng thành có màu lông trắng tuyền đồng nhất, chân và mỏ có màu vàng.

Tỷ lệ nuôi sống qua các giai đoạn tuổi: tỷ lệ nuôi sống kết thúc giai đoạn vịt con (1 ngày tuổi - 8 TT) trên đàn vịt Star 53 bố mẹ đạt cao, cụ thể, trống (AB) đạt 98,18%, mái (CD) đạt 97,83% (bảng 8). Giai đoạn vịt dò, hậu bị đạt từ 96,76 đến 98,64%. Kết thúc 24 TT, tỷ lệ nuôi sống trên đàn vịt Star 53 bố mẹ trống (AB) đạt 95,0%, mái (CD) đạt 96,5%. Nguyễn Đức Trọng và cs (2010) nghiên cứu trên đàn vịt Star 76 bố mẹ có kết quả như sau: tỷ lệ nuôi sống hai dòng AB (ST3) và CD (ST4) khi kết thúc 24 TT lần lượt là 91,11 và 94,29% [2]. Như vậy, vịt Star 53 bố mẹ có khả năng sinh trưởng và phát triển tốt, đồng thời sức chống chịu bệnh tật cao trong điều kiện khí hậu Việt Nam.

Bảng 8. Tỷ lệ nuôi sống qua các giai đoạn tuổi (%).

TT	Trống (AB)	Mái (CD)
	n=220	n=600
1-8	98,18	97,83
9-24	96,76	98,64
1-24	95,00	96,50

Khối lượng cơ thể qua các TT: kết quả bảng 9 cho thấy, khối lượng cơ thể vịt Star 53 bố mẹ ở 8 TT của trống (AB) đạt 2375,0 g và mái (CD) là 2075,0 g. Ở 24 TT khối lượng cơ thể trống (AB) đạt 3861,67 g, mái (CD) đạt 3003,33 g. Kết quả này cao hơn kết quả của Nguyễn Đức Trọng và cs (2012) nghiên cứu trên vịt Star 76 bố mẹ (ST3, ST4 thể hệ 3), cụ thể ở 24 TT khối lượng cơ thể trống AB (ST3) đạt 3440 g, mái CD (ST4) là 2893 g [3] - tương đương với kết quả của Nguyễn Đức Trọng và cs (2007) nghiên cứu trên vịt CV. Super M2 [4].

Bảng 9. Khối lượng cơ thể vịt Star 53 bố mẹ qua các TT.

TT	Trống AB		Mái CD	
	Mean±m _x (g)	Cv(%)	Mean±m _x (g)	Cv(%)
4	1330,00±13,35	7,78	1088,33±14,38	10,23
8	2375,00±36,89	8,79	2075,00±23,44	8,14
12	2891,67±29,70	5,63	2338,33±27,61	6,47
16	3213,33±26,99	6,51	2470,00±22,96	6,2
20	3528,33±50,38	7,82	2585,00±29,76	6,31
24	3861,67±34,57	8,18	3003,33±28,69	6,63

Ghi chú: 4, 12, 16 và 20 TT cân trọng mái riêng, mẫu n=30 con; 8 TT: trống AB: 216 con, mái CD: 587 con; 24 TT: trống AB: 209 con, mái CD: 579 con.

Lượng Tã tiêu thụ qua các giai đoạn tuổi: tiêu thụ Tã/con từ 1 ngày tuổi đến 8 TT của trống (AB) là 6450,4 g, mái (CD) là 5306 g (bảng 10). Kết quả này tương đương với nghiên cứu của Phùng Đức Tiến và cs (2008) khi nghiên cứu trên vịt Super Heavy bố mẹ [5]. Khi kết thúc 24 TT lượng Tã tiêu thụ của trống (AB) là 26351,4 g và mái (CD) 20370 g.

Bảng 10. Lượng Tã tiêu thụ qua các giai đoạn tuổi (g/con/giai đoạn).

TT	Trống (AB)	Mái (CD)
1-8	6450,40	5306,00
9-24	19901,00	15064,00
1-24	26351,40	20370,00

Tuổi thành thực sinh dục và khả năng sinh sản của vịt Star 53 bố mẹ: tuổi đẻ 5% của mái (CD) là 168 ngày (24 TT), tương đương với kết quả theo dõi của Nguyễn Đức Trọng và cs (2012) trên vịt Star 76 bố mẹ [3]. Khối lượng cơ thể vào đẻ 5% của mái (CD) 3191,67 g. Tại thời điểm 38 TT khối lượng cơ thể của mái (CD) 3398,33 g, khối lượng trứng (CD) 87,78 g.

Về khả năng sinh sản: kết quả bảng 11 cho thấy, năng suất trứng/mái/40 tuần đẻ đạt 215,97 quả, TTTA là 3,75 kg/10 quả trứng. Tỷ lệ phôi của (♂AB x ♀CD) đạt 89,92%; tỷ lệ nở/tổng trứng ấp đạt 77,53%, tỷ lệ nở/trứng có phôi đạt 86,22%, tỷ lệ loại 1/trứng có phôi đạt 81,70%. Nguyễn Đức Trọng và cs (2012) [3] nghiên cứu trên vịt Star 76 bố mẹ (ST3, ST4 thể hệ 3) có kết quả như sau: năng suất trứng của mái CD (ST4) đạt 175,68 quả/mái/40 tuần đẻ, đồng thời cũng theo Nguyễn Đức Trọng và cs (2007) [6] nghiên cứu trên vịt M14 nuôi tại Trung tâm Nghiên cứu vịt Đại Xuyên ở cùng thời điểm đẻ có năng suất trứng/mái đạt 193,86-197,16 quả tương ứng với hai dòng MT1 và MT2. Như vậy năng suất trứng của vịt Star 53 bố mẹ cao hơn.

Bảng 11. Tuổi đẻ, khối lượng cơ thể, khối lượng trứng và khả năng sinh sản.

Chỉ tiêu	(♂AB x ♀CD)	
	Mean±m _x	Cv(%)
1. Tỷ lệ đẻ đạt 5%		
+ Tuổi đẻ (ngày tuổi)	168	
+ Khối lượng cơ thể (g) (n=30 con)	3191,67±33,40	5,73
+ Khối lượng trứng (g) (n=100 quả)	70,1±0,73	8,02
2. Lúc 38 TT		
+ Khối lượng cơ thể (g) (n=30 con)	3398,33±35,44	5,71
+ Khối lượng trứng (g) (n=100 quả)	87,78±0,45	5,12
3. Khả năng sinh sản		
+ Năng suất trứng/mái/40 tuần đẻ (quả)	215,97	
+ TTTA/10 trứng (kg)	3,75	
+ Tỷ lệ phôi (%)	89,92	
+ Tỷ lệ nở/tổng trứng ấp (%)	77,53	
+ Tỷ lệ nở/trứng có phôi (%)	86,22	
+ Tỷ lệ loại 1/trứng có phôi (%)	81,70	

Đánh giá vịt Star 53 thương phẩm

Tỷ lệ nuôi sống vịt ở các lô nuôi thương phẩm đến 49 ngày tuổi (7 TT) đạt 96,00-97,67%. Khối lượng cơ thể ở 7 TT ở lô 1 cao hơn lô 2 có sự sai khác ($p < 0,05$), đạt lần lượt 3593,15 và 3460,68 g (bảng 12). Ưu thế lai so với trung bình bố mẹ về khối lượng cơ thể ở lô 3 là 4,35%. Kết quả này tương đương kết quả theo dõi trên vịt SD thương phẩm (3563,30 g) [7].

Bảng 12. Một số chỉ tiêu kỹ thuật của vịt Star 53 thương phẩm đến 7 TT. (n=3)

Chỉ tiêu	Lô 1 (AB)	Lô 2 (CD)	Lô 3 (ABCD)
1. Tỷ lệ nuôi sống (%)	97,33	96,00	97,67
2. Khối lượng cơ thể ở 7 TT (g)	3593,15 ^a	3460,68 ^b	3542,24 ^{ab}
CV (%)	6,57	6,17	6,91
Ưu thế lai (%)			4,35
3. TTTA/kg P (kg)	2,63	2,60	2,58
Ưu thế lai (%)			- 1,34
4. Tỷ lệ thân thịt (%)	74,99	74,30	74,47
5. Tỷ lệ thịt lườn (%)	24,01	21,89	22,60

Ghi chú: Các giá trị trung bình trong cùng hàng có chữ cái khác nhau thì sai khác nhau có ý nghĩa thống kê với mức $p < 0,05$.

TTTA/kg tăng khối lượng cơ thể đến 7 TT của vịt ABCD thấp nhất (2,58 kg). Ưu thế lai -1,34%. Tỷ lệ thân thịt, tỷ lệ thịt lườn của vịt Star 53 ở 2 lô thí nghiệm vịt bố mẹ đều đạt lần lượt là 74,30-74,99% và 21,89-24,01%, vịt thương phẩm ABCD có tỷ lệ thân thịt và thịt lườn đạt 74,47 và 22,60%.

Kết luận

Qua quá trình theo dõi vịt Star 53 cho thấy:

Vịt ông bà: tỷ lệ nuôi sống từ 1 ngày tuổi đến 24 TT đạt 91,96-94,01%. Khối lượng cơ thể ở 24 TT trống (A) đạt 4006 g, mái (B) 3596 g, trống (C) 3473 g và mái (D) 3106 g, so với tiêu chuẩn của Hãng đạt từ 94,06 đến 97,46%. Tuổi đẻ 5% vịt ông bà là 170-175 ngày. Năng suất trứng/48 tuần đẻ của mái B đạt 200,57 quả, mái D đạt 249,58 quả. TTTA/10 trứng của mái B là 4,58 kg, mái D là 3,63 kg. Tỷ lệ phôi đạt 83,85 và 85,94%, tỷ lệ nở/tổng trứng có phôi tương ứng đạt 88,38 và 86,12%.

Vịt bố mẹ (AB) và (CD): tỷ lệ nuôi sống từ 1 ngày tuổi đến 24 TT đạt 95,0-96,5%. Khối lượng cơ thể 24 TT của trống (AB) đạt 3861,67 g, mái (CD) đạt 3003,33 g. Tuổi đẻ 5% vịt bố mẹ là 168 ngày tuổi, khối lượng cơ thể khi đẻ 5% của mái (CD) là 3191,67 g. Theo dõi đến 40 tuần đẻ năng suất trứng/mái (CD) đạt 215,97 quả. Tỷ lệ phôi tương ứng đạt 89,92%, tỷ lệ nở/tổng trứng có phôi là 86,22%.

Trên đàn thương phẩm: tỷ lệ nuôi sống từ 1 ngày tuổi đến 49 ngày tuổi đạt 97,67%. Khối lượng cơ thể ở 7 TT của vịt ABCD đạt 3542 g. TTTA/kg tăng khối lượng cơ thể đến 7 TT là 2,58 kg. Tỷ lệ thân thịt và tỷ lệ thịt lườn cao, đạt 74,47 và 22,60%.

Đề nghị tiếp tục theo dõi khả năng sản xuất trên đàn vịt Star 53 bố mẹ đến hết 48 tuần đẻ và những thế hệ tiếp theo.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Phùng Đức Tiến và cs (2008), *Theo dõi khả năng sản xuất của 4 dòng vịt Star 53 HY nhập nội*, Báo cáo khoa học và công nghệ năm 2007, Viện Chăn nuôi.
- [2] Nguyễn Đức Trọng, Phạm Văn Chung, Lương Thị Bột, Hoàng Văn Tiệp, Nguyễn Thuý Nghĩa, Đồng Thị Quyên, Đặng Thị Vui (2010), *Khả năng sản xuất của vịt Star 76*, Báo cáo khoa học năm 2009, Viện Chăn nuôi, Phân di truyền giống vật nuôi.
- [3] Nguyễn Đức Trọng, Lương Thị Bột, Mai Hương Thu, Phạm Văn Chung, Nguyễn Thị Thuý Nghĩa, Đặng Thị Vui, Đồng Thị Quyên (2012), *Khả năng sản xuất của vịt Star 76 (ST3, ST4)*, Báo cáo khoa học năm 2011, Viện Chăn nuôi, Phân di truyền giống vật nuôi.
- [4] Nguyễn Đức Trọng, Hoàng Thị Lan, Phạm Văn Trương, Doãn Văn Xuân, Lương Thị Bột, Nguyễn Thị Ngọc Liên, Lê Xuân Thọ và Lê Sỹ Cương (2007), “Kết quả nghiên cứu một số chỉ tiêu về khả năng sản xuất của giống vịt CV Super M2 nuôi tại Trung tâm Nghiên cứu vịt Đại Xuyên”, *Tạp chí Khoa học Công nghệ Chăn nuôi, Viện Chăn nuôi*, 7, tr.56-73.
- [5] Phùng Đức Tiến và cs (2008), *Nghiên cứu khả năng sản xuất của 4 dòng vịt Super Heavy ông bà nhập nội*, Báo cáo khoa học và công nghệ năm 2007, Viện Chăn nuôi.
- [6] Nguyễn Đức Trọng, Nguyễn Văn Duy, Ngô Văn Vĩnh, Hoàng Thị Lan, Lương Thị Bột, Nguyễn Thị Thuý Nghĩa và Đồng Thị Quyên (2007), “Nghiên cứu khả năng sản xuất của vịt M14 nuôi tại Trung tâm Nghiên cứu vịt Đại Xuyên”, *Tạp chí Khoa học Công nghệ Chăn nuôi, Viện Chăn nuôi*, 7, tr.41-48.
- [7] Phùng Đức Tiến, Nguyễn Ngọc Dung, Lê Thị Nga, Vũ Đức Cảnh, Nguyễn Thị Hương, Phạm Thị Xuân, Lê Thị Cẩm, Trần Thị Thu Hằng, Nguyễn Thị Duyên (2010), *Chọn tạo 2 dòng vịt SD*, Báo cáo khoa học năm 2009, Viện Chăn nuôi, Phân di truyền giống vật nuôi.

Ảnh hưởng của việc bổ sung bột bã nghệ sau tách chiết curcumin trong khẩu phần tới sức sản xuất thịt và độ vàng da của gà thịt JA-DABACO

Cù Thị Thiên Thu*, Vũ Thị Ngân, Bùi Quang Tuấn

*Khoa Chăn nuôi, Học viện Nông nghiệp Việt Nam

Ngày nhận bài 4/5/2018; ngày chuyển phản biện 7/5/2018; ngày nhận phản biện 12/6/2018; ngày chấp nhận đăng 20/6/2018

Tóm tắt:

Thí nghiệm (TN) được tiến hành để đánh giá ảnh hưởng của việc bổ sung bã nghệ (sau tách chiết curcumin) ở 2 mức khác nhau đến sức sản xuất thịt và độ vàng da của gà JA-DABACO. TN chia làm 3 lô, mỗi lô 30 con, lặp lại 3 lần. Lô đối chứng (ĐC) chỉ sử dụng thức ăn hỗn hợp hoàn chỉnh theo các giai đoạn tuổi. Lô TN1 bổ sung bã nghệ ở mức 3%. Lô TN2 bổ sung bã nghệ ở mức 5%. Kết quả cho thấy, việc bổ sung bã nghệ vào khẩu phần đã làm tăng tỷ lệ nuôi sống (lô ĐC đạt tỷ lệ 94,73%, lô TN1 đạt tỷ lệ 99,78% và lô TN2 đạt tỷ lệ 99,88%), tăng khối lượng cơ thể (khối lượng cơ thể gà tại 10 tuần tuổi ở lô ĐC, lô TN1 và lô TN2 lần lượt là 1173,3; 1273,3 và 1356,72 g/con), đồng thời làm tăng màu sắc da gà một cách rõ rệt (từ 2,67 ở lô ĐC đến 3,2 và 3,9 đơn vị Roche ở lô TN1, 2). Kết quả nghiên cứu này mở ra tiềm năng có thể sử dụng bã nghệ sau tách chiết curcumin trong khẩu phần thức ăn chăn nuôi gà nhằm tăng tốc độ sinh trưởng, cũng như cải thiện màu sắc của da gà.

Từ khóa: bã nghệ, độ vàng da, gà JA-DABACO, sắc chất, sinh trưởng.

Chỉ số phân loại: 4.2

Đặt vấn đề

Trong những năm gần đây, tiêu thụ gia cầm ngày càng tăng cao ở nước ta. Do đó đã xuất hiện nhiều trang trại nuôi gia cầm ở quy mô lớn. Để đàn gia cầm tăng trưởng nhanh, mẫu mã đẹp, nhiều trang trại đã lạm dụng các chất như kháng sinh, hormone tăng trưởng, chất tạo màu công nghiệp để bổ sung vào thức ăn chăn nuôi, dẫn đến nguy cơ mất an toàn vệ sinh thực phẩm, ảnh hưởng xấu đến sức khỏe vật nuôi cũng như người tiêu dùng. Tìm về thực phẩm sạch, an toàn là xu hướng không chỉ ở Việt Nam mà trên cả thế giới. Chính vì thế nghiên cứu để tìm ra hợp chất có nguồn gốc thiên nhiên thay thế cho hóa chất dùng trong chăn nuôi là hết sức cần thiết để đảm bảo sức khỏe cho người tiêu dùng và nâng cao hiệu quả kinh tế cho người chăn nuôi [1].

Từ lâu củ nghệ đã được dùng phổ biến như một loại phụ gia trong chế biến thực phẩm và một loại thảo dược an toàn không chỉ ở nước ta mà ở rất nhiều nước trên thế giới. Nhiều tài liệu cho thấy, nghệ được dùng để tạo màu sắc, hương vị, là thành phần không thể thiếu để tạo màu sắc cho nhiều món canh, kho, nấu của ẩm thực châu Á. Trong y học cổ truyền và dân gian, nghệ được dùng như một phương thuốc chữa các bệnh dạ dày và gan, cũng như thường được dùng

để chữa lành các vết loét do đặc tính kháng khuẩn của nó...

Những nghiên cứu y học hiện đại ngày nay đã khai thác sâu hơn những tác dụng trên của nghệ ở cấp độ các hợp chất có hoạt tính sinh học. Đặc trưng nhất có lẽ là nhóm các chất curcumin. Do có nhiều tác dụng tốt đối với sức khỏe, hiện nay curcumin, nano curcumin được sản xuất như một loại thực phẩm chức năng tăng cường sức khỏe, nâng cao miễn dịch.

Trong nghệ, thành phần curcumin chỉ chiếm 0,3% [2]. Song song với việc sản xuất curcumin thì một lượng lớn bột bã nghệ (sau tách chiết curcumin) được tạo ra. Việc tách chiết curcumin thực tế tại các nhà máy cho thấy hàm lượng curcumin tách chiết được chỉ khoảng 50-60%, phần còn lại (40-50%) vẫn ở trong bã nghệ. Hiện nay bã nghệ này thường bị bỏ đi, không được sử dụng hay được sử dụng rất ít (thường ủ làm phân bón cây trồng). Một số nơi bã nghệ bị đổ bỏ gây ô nhiễm môi trường. Nhận thấy đây là một nguồn dinh dưỡng và sắc chất tiềm năng có thể sử dụng làm thức ăn chăn nuôi, chúng tôi đã tiến hành nghiên cứu đánh giá ảnh hưởng của việc bổ sung bột bã nghệ đối với khả năng sản xuất thịt cũng như màu sắc của da gà.

*Tác giả liên hệ: Email: ctththu@vnua.edu.vn

Effect of turmeric residue powder supplementation on the growth performance and yellow skin level of JA-DABACO broiler chicken

Thi Thien Thu Cu*, Thi Ngan Vu, Quang Tuan Bui

Faculty of Animal Science, Vietnam National University of Agriculture

Received 4 May 2018; accepted 20 June 2018

Abstract:

The study was carried out to evaluate the effect of turmeric residue powder supplement at 2 levels into diets for JA-DABACO chicken. The experiment was designed with 3 groups, 30 chickens in each group, and 3 replications. The control group was provided with a basal diet without adding turmeric residue powder. Group 1 (TN1) was supplied with a basal diet and an addition of 3% turmeric residue powder in the first 4 weeks and 1% for the last weeks. Group 2 (TN2) used a basal diet with adding 5% turmeric residue powder in the first 4 weeks and 3% for the last weeks. Results revealed that adding turmeric powder increased survival rate (Control group: 94.73%, TN1: 99.78%, and TN2: 99.88%), and increased body weight (Control, TN1, and TN2 were 1173,3 g/head, 1273,3 g/head, and 1356,72 g/head, respectively). The results also showed that adding turmeric residue powder enhanced strongly the yellow colour for chicken skin. Our findings exhibited a great potential of using turmeric residue powder as supplements in chicken diet in order to increase development rate and enhance yellow colour for chicken skin.

Keywords: colour substance, growth, JA-DABACO chicken, turmeric residue powder, yellow skin level.

Classification number: 4.2

Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

Vật liệu

TN được thực hiện tại trại gà thịt JA-DABACO, Công ty TNHH dinh dưỡng thú y Hà Thành, Lạng Giang, Bắc Giang. Tổng số 270 con gà thịt giống JA-DABACO từ 1 đến 70 ngày tuổi được tiến hành TN. Bã nghệ sau tách chiết curcumin lấy từ Nhà máy Technifarm - Hà Nội, được sấy

khô và ép viên tại Khoa Chăn nuôi, Học viện Nông nghiệp Việt Nam, sau đó được trộn với cám bằng tay theo các tỷ lệ TN. Các nguyên liệu khác như cám hỗn hợp G71, G72 do Công ty ABC sản xuất được mua trên thị trường.

Bố trí TN

TN được bố trí theo phương pháp chia lô so sánh, TN có 3 lô, mỗi lô lặp lại 3 ô chuồng, mỗi ô chuồng 30 con. Gà TN được ăn và uống nước tự do và được tiêm phòng CRD, gumboro, dịch tả đầy đủ. Gà được nuôi trên lồng với hệ thống chuồng hở. Lô ĐC: sử dụng thức ăn cơ sở (cám G71, G72) không sử dụng bã nghệ. Lô TN1 sử dụng thức ăn cơ sở và bổ sung bã nghệ ở mức 3%. Lô TN2 sử dụng bổ sung bã nghệ ở mức 5%. Sơ đồ bố trí TN thể hiện ở bảng 1.

Gà ở giai đoạn 1 đến 28 ngày tuổi, khẩu phần ăn đảm bảo cung cấp 22% protein thô, 2800 Kcal/kg thức ăn. Giai đoạn từ 29 đến 70 ngày tuổi, khẩu phần ăn đảm bảo cung cấp 2900Kcal/kg thức ăn (bảng 2). Thức ăn được cân và ghi chép theo ngày. Khối lượng gà được cân theo tuần và cân cố định vào một ngày trong tuần lúc đói.

Bảng 1. Sơ đồ bố trí TN.

Chi tiêu	ĐC	TN	
		TN1	TN2
Giống gà	JA-DABACO	JA-DABACO	JA-DABACO
Số con/ô chuồng (con)	30	30	30
Số lần lặp lại (n)	3	3	3
Tổng số con/lô (con)	90	90	90
Thời gian nuôi	1-70 ngày	1-70 ngày	1-70 ngày
Giai đoạn 1-28 ngày tuổi	Cám G71	Cám G71 + bã nghệ 3%	Cám G71 + bã nghệ 5%
Giai đoạn 29-70 ngày tuổi	Cám G72	Cám G72 + bã nghệ 3%	Cám G72 + bã nghệ 5%

Bảng 2. Thành phần dinh dưỡng thức ăn hỗn hợp (TAHH) cho gà từ 1-28 ngày tuổi và từ 29 ngày tuổi đến xuất bán.

TAHH	Từ 1-28 ngày tuổi	Từ ngày 29-xuất bán
Độ ẩm (%) max	14	14
Protein thô (%) min	22	20
Năng lượng trao đổi (Kcal/kg)	2800	2900
Xơ thô (%) max	7,5	7,0
Ca (%) min-max	0,5-1,5	0,5-1,5
P (%) min-max	0,5-1,5	0,5-1,5
Lysine tổng số (%) min	0,5	0,7
Methionine + Cystins tổng số (%) min	0,25	0,2

Các chỉ tiêu theo dõi

Đánh giá khả năng sinh trưởng: các chỉ tiêu theo dõi bao gồm tỷ lệ nuôi sống (%), sinh trưởng tích lũy (g/con), sinh trưởng tương đối (%), sinh trưởng tuyệt đối (g/con/ngày), lượng thức ăn thu nhận (g/con/ngày), tiêu tốn thức ăn (kg

thức ăn/kg tăng khối lượng).

Khảo sát năng suất thịt: mổ khảo sát 6 cá thể mỗi lô (3 trống, 3 mái) tại thời điểm giết thịt. Năng suất thịt được đánh giá qua các chỉ tiêu: khối lượng sống (g), khối lượng thân thịt (g), tỷ lệ thịt xẻ (%), tỷ lệ thịt đùi (%), độ vàng da gà.

Phương pháp xử lý số liệu

Số liệu được xử lý bằng phần mềm Excel và phân tích phương sai bằng mô hình tuyến tính tổng quát (GLM) Minitab 16, sự sai khác giữa các trung bình nghiệm thức được so sánh bằng phép thử Tukey ở mức ý nghĩa 5%.

Kết quả và thảo luận

Ảnh hưởng của việc bổ sung bã nghệ trong khẩu phần tới tỷ lệ nuôi sống của gà JA-DABACO

Ảnh hưởng của việc bổ sung bã nghệ trong khẩu phần ăn của gà được thể hiện ở bảng 3.

Bảng 3. Tỷ lệ nuôi sống của gà TN qua các tuần tuổi (%).

Tuần tuổi	Lô ĐC (n=30)	Lô TN1 (n=30)	Lô TN2 (n=30)
1	98,65	100,00	100,00
2	100,00	100,00	100,00
3	100,00	97,75	98,75
4	98,68	100,00	100,00
5	100,00	100,00	100,00
6	100,00	100,00	100,00
7	100,00	100,00	100,00
8	100,00	100,00	100,00
9	100,00	100,00	100,00
10	100,00	100,00	100,00
Cả kỳ	94,73	99,78	99,88

Kết quả bảng 3 cho thấy gà JA-DABACO nuôi 70 ngày có tỷ lệ nuôi sống khá cao ở các lô TN và lô ĐC. Lô ĐC đạt tỷ lệ 94,73%, lô TN1 đạt tỷ lệ 99,78% và lô TN2 đạt tỷ lệ 98,88%. Kết quả này cũng phù hợp với nghiên cứu của Trần Thị Thu Hiền về tỷ lệ nuôi sống của gà JA-DABACO đạt 93,2% ở 12 tuần tuổi [3]. Theo công bố của Công ty DABACO, tỷ lệ nuôi sống của gà JA-DABACO đạt từ 96-98% [4].

Ảnh hưởng của việc bổ sung bã nghệ tới khả năng tăng khối lượng của gà JA-DABACO.

Khối lượng của gà JA-DABACO qua các tuần tuổi: khối lượng của gà qua các tuần tuổi được thể hiện ở bảng 4.

Bảng 4. Khối lượng của gà TN qua các tuần tuổi (g/con) (n=3).

Giai đoạn	Lô ĐC		Lô TN1		Lô TN2	
	$\bar{X} \pm SE$	$C_v\%$	$\bar{X} \pm SE$	$C_v\%$	$\bar{X} \pm SE$	$C_v\%$
Sơ sinh (SS)	38,31 $\pm$ 0,21	2,63	38,6 $\pm$ 0,7	4,56	37,8 $\pm$ 0,12	2,63
Tuần 1	71,67 ^b $\pm$ 1,45	3,51	75,67 ^{ab} $\pm$ 0,88	2,02	79,33 ^a $\pm$ 1,20	2,62
Tuần 2	130,33 ^b $\pm$ 1,45	1,93	141,00 ^b $\pm$ 1,15	1,42	149,33 ^a $\pm$ 1,45	1,69
Tuần 3	208,00 ^b $\pm$ 1,73	1,44	222,00 ^a $\pm$ 3,51	2,74	229,67 ^a $\pm$ 3,28	2,48
Tuần 4	289,33 ^b $\pm$ 1,76	1,06	313,00 ^a $\pm$ 3,51	1,94	326,67 ^a $\pm$ 4,41	2,34
Tuần 5	390,67 ^a $\pm$ 1,76	0,78	421,67 ^b $\pm$ 4,06	1,67	443,00 ^a $\pm$ 4,16	1,63
Tuần 6	512,00 ^b $\pm$ 6,24	2,11	563,67 ^a $\pm$ 4,67	1,43	577,33 ^a $\pm$ 9,94	2,98
Tuần 7	679,67 ^b $\pm$ 2,06	0,66	740,33 ^a $\pm$ 6,06	1,42	760,00 ^a $\pm$ 10,0	2,28
Tuần 8	866,7 ^b $\pm$ 12,0	2,40	916,3 ^{ab} $\pm$ 13,4	2,54	945,3 ^a $\pm$ 2,27	4,17
Tuần 9	996,0 ^a $\pm$ 48,1	8,37	1170,0 ^a $\pm$ 9,64	14,28	1235,0 ^a $\pm$ 5,89	14,28
Tuần 10	1173,3 ^b $\pm$ 27	4,00	1273,3 ^{ab} $\pm$ 3,84	5,23	1356,7 ^a $\pm$ 4,81	6,14

Ghi chú: những giá trị cùng một hàng có các chữ cái khác nhau thì sai khác giữa chúng có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$) và ngược lại.

Kết quả ở bảng 4 cho thấy, khối lượng cơ thể gà tăng dần qua các tuần tuổi. Lúc sơ sinh khối lượng cơ thể gà ở lô ĐC và các lô TN từ 37,8-38,6 g/con. Đến 1 tuần tuổi khối lượng cơ thể gà ở lô ĐC là 71,67 g/con, ở lô TN1, TN2 lần lượt là 75,67; 79,33 g/con. Đến 5 tuần tuổi khối lượng cơ thể gà ở lô ĐC là 390,67 g/con, ở lô TN1, TN2 lần lượt là 421,67; 443,00 g/con. Kết thúc ở giai đoạn nuôi gà đến 10 tuần tuổi khối lượng cơ thể gà ở lô ĐC là 1173,3 g/con, ở lô TN1, TN2 lần lượt là 1273,3; 1356,7 g/con. Kết quả khối lượng cơ thể gà khi bổ sung bã nghệ và không bổ sung bã nghệ có sự sai khác ($P < 0,05$). Cụ thể lô bổ sung bã nghệ có khối lượng cao hơn lô ĐC. Kết quả này cho thấy, việc bổ sung bã nghệ có tác dụng tích cực đối với khối lượng cơ thể của gà. Điều này có thể được giải thích trong bột bã nghệ vẫn có hàm lượng curcumin có tác dụng đến hệ tiêu hóa và miễn dịch của gà, giúp cho gà có khả năng sinh trưởng tốt hơn lô ĐC không bổ sung bã nghệ.

Sinh trưởng tuyệt đối: sinh trưởng tuyệt đối là chỉ tiêu quan trọng đánh giá sự tăng lên về khối lượng, kích thước và thể tích cơ thể trong khoảng thời gian giữa 2 lần khảo sát. Trên cơ sở khối lượng cơ thể theo dõi được qua các tuần tuổi, chúng tôi xác định được tốc độ sinh trưởng tuyệt đối ở các tuần tuổi khác nhau (g/con/ngày). Kết quả theo dõi sinh trưởng tuyệt đối được thể hiện ở bảng 5.

Bảng 5. Sinh trưởng tuyệt đối của gà qua các giai đoạn (g/con/ngày) (n=3).

Giai đoạn	Lô ĐC		Lô TN1		Lô TN2	
	$\bar{X} \pm SE$	$C_v, \%$	$\bar{X} \pm SE$	$C_v, \%$	$\bar{X} \pm SE$	$C_v, \%$
(SS)-1	4,81 ^b ±0,29	10,4	5,38 ^{ab} ±0,05	1,53	5,91 ^a ±0,09	2,79
1-2	8,38 ^b ±0,42	8,58	9,33 ^{ab} ±0,17	3,19	10,00 ^a ±0,29	9,32
2-3	11,09 ^a ±0,41	6,35	11,57 ^a ±0,39	5,66	11,48 ^a ±0,48	7,29
3-4	11,62 ^a ±0,41	6,07	13,00 ^a ±0,57	7,61	13,86 ^a ±0,16	2,06
4-5	14,48±0,25	3,01	15,52±0,83	9,22	16,6±0,91	9,43
5-6	17,33±0,67	6,71	20,29±0,17	1,41	19,19±1,49	13,41
6-7	23,95±0,53	3,83	25,23±0,24	1,63	26,10±2,56	1,72
7-8	26,71±1,82	11,8	25,14±1,15	7,89	26,48±2,71	1,77
8-9	23,05±1,56	11,7	23,05 ^a ±6,3	4,73	28,05 ^a ±3,78	2,33
9-10	20,57±4,65	3,91	28,0 ^a ±10,1	6,26	30,71 ^a ±7,95	4,85
SS-10	15,76±4,36	4,79	22,6 ^a ±10,1	7,73	24,8±7,92	5,59

Ghi chú: những giá trị cùng một hàng có các chữ cái khác nhau thì sai khác giữa chúng có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$) và ngược lại.

Qua kết quả thu được ở bảng 5 cho thấy, việc bổ sung bã nghệ vào khẩu phần đã cải thiện được tốc độ sinh trưởng của gà JA-DABACO so với lô ĐC không bổ sung bã nghệ. Trung bình từ SS-10 tuần tuổi, sinh trưởng tuyệt đối của gà ở lô ĐC là 15,76 g/con/ngày; lô TN1 là 22,60 g/con/ngày; lô TN2 là 24,80 g/con/ngày. Gà có bổ sung bột bã nghệ có khả năng sinh trưởng cao hơn so với gà không bổ sung bột bã nghệ vào thức ăn.

Sinh trưởng tương đối: sinh trưởng tương đối là tỷ lệ phần trăm tăng lên của khối lượng cơ thể với bình quân khối lượng giữa 2 lần khảo sát. Tỷ lệ này nói lên mức độ tăng khối lượng của cơ thể sau một thời gian nuôi dưỡng. Qua đó, người chăn nuôi biết nên tác động như thế nào và thời điểm nào là phù hợp nhất để có được tăng khối lượng của gà tốt nhất với lượng thức ăn ít nhất. Kết quả được thể hiện ở bảng 6.

Bảng 6. Sinh trưởng tương đối của gà qua các giai đoạn tuổi (%) (n=3).

Giai đoạn	Lô ĐC		Lô TN1		Lô TN2	
	$\bar{X} \pm SE$	$C_v, \%$	$\bar{X} \pm SE$	$C_v, \%$	$\bar{X} \pm SE$	$C_v, \%$
(SS)-1	61,35 ^b ±3,22	9,08	66,32 ^{ab} ±1,43	3,73	70,45 ^a ±0,37	0,91
1-2	58,09 ^a ±2,88	8,58	60,31 ^a ±1,09	3,12	61,23 ^a ±1,73	4,09
2-3	45,91 ^a ±1,65	6,24	43,89 ^a ±1,22	4,82	43,77 ^a ±1,46	5,79
3-4	32,71±1,15	6,09	34,24±1,62	8,19	34,46±0,63	3,16
4-5	29,81±0,53	3,11	30,1±1,21	6,98	29,23±1,26	7,48
5-6	26,87±0,82	5,31	28,82±0,23	1,41	27,55±2,0	12,58
6-7	28,15±0,83	5,13	27,63±0,62	3,86	25,57±2,14	1,45
7-8	24,33±0,12	0,87	20,69±1,29	10,77	22,20±2,07	1,65
8-9	16,99±0,99	10,1	16,06±4,26	4,59	18,86±2,72	2,49
9-10	13,04±2,90	3,86	16,65±6,09	6,36	17,08±4,13	4,88
SS-10	48,31±0,42	1,51	49,67±6,25	2,19	53,38±4,41	14,30

Ghi chú: những giá trị cùng một hàng có các chữ cái khác nhau thì sai khác giữa chúng có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$) và ngược lại.

Kết quả bảng 6 cho thấy, sinh trưởng tương đối của gà JA-DABACO cả lô ĐC và lô TN không có sự khác nhau về thống kê.

Khả năng chuyển hóa thức ăn

Lượng thức ăn thu nhận: lượng thức ăn thu nhận phản ánh tình trạng sức khỏe đàn gà, chất lượng thức ăn, chế độ chăm sóc nuôi dưỡng, ảnh hưởng trực tiếp đến sinh trưởng và năng suất của con giống. Kết quả về khối lượng tiêu thụ thức ăn của gà JA-DABACO được thể hiện ở bảng 7.

Bảng 7. Lượng thức ăn thu nhận của gà qua các tuần tuổi (g/con/ngày) (n=3).

Giai đoạn	Lô ĐC		Lô TN1		Lô TN2	
	$\bar{X} \pm SE$	$C_v, \%$	$\bar{X} \pm SE$	$C_v, \%$	$\bar{X} \pm SE$	$C_v, \%$
(SS)-1	7,30 ^b ±0,15	3,62	7,73 ^{ab} ±0,15	3,25	8,03 ^a ±0,15	3,13
1-2	11,00 ^b ±1,15	18,18	14,67 ^{ab} ±0,88	10,41	16,00 ^a ±1,15	12,50
2-3	20,00±0,58	5,00	21,67±1,20	9,61	22,67±1,20	9,18
3-4	24,33±1,76	12,56	25,00±2,65	18,33	24,67±1,45	10,20
4-5	40,67±1,76	7,51	40,67±1,45	6,19	41,67±2,40	9,99
5-6	56,00±1,53	4,72	58,33±2,19	6,49	58,00±2,65	7,90
6-7	62,67±2,33	6,45	63,67±2,40	6,54	65,00±2,31	6,15
7-8	70,67±1,45	3,56	73,67±2,40	5,65	70,67±1,20	2,95
8-9	78,33±1,20	2,66	77,33±1,86	4,16	78,00±1,15	2,56
9-10	89,00±1,53	2,97	90,67±2,33	4,46	90,00±2,65	5,09
TB	45,99		47,34		47,47	
Tổng	495,97		473,41		474,71	

Ghi chú: những giá trị cùng một hàng có các chữ cái khác nhau thì sai khác giữa chúng có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$) và ngược lại.

Kết quả bảng 7 cho thấy, việc bổ sung bã nghệ vào khẩu phần đã làm tăng lượng thức ăn thu nhận. Cụ thể, lượng thức ăn thu nhận ở 1 tuần tuổi của lô ĐC, lô TN1, lô TN2 lần lượt là 11,00; 14,67; 16,00 g/con/ngày. Kết thúc TN ở 10 tuần tuổi, lượng thức ăn thu nhận đạt cao nhất, lô ĐC là 89,00 g/con/ngày, lô TN1 là 90,67 g/con/ngày, lô TN2 là 90,00 g/con/ngày. Tuy nhiên sự sai khác này không có ý nghĩa thống kê. Kết quả này chỉ ra rằng, màu sắc và mùi vị của bột bã nghệ đã không làm ảnh hưởng tới khẩu vị của gà.

Tiêu tốn thức ăn cho 1 kg tăng khối lượng: tiêu tốn thức ăn cho 1 kg tăng khối lượng qua các tuần tuổi phản ánh hiệu quả sử dụng thức ăn, đây là chỉ tiêu kinh tế quan trọng trong chăn nuôi nói chung và chăn nuôi gà thịt nói riêng. Trong chăn nuôi gia cầm lấy thịt thì chi phí thức ăn cho 1 kg tăng khối lượng là chỉ tiêu quyết định đến hiệu quả kinh tế, vì chi phí thức ăn chiếm 70-75% giá thành sản phẩm. Trong chăn nuôi gia cầm, giảm chi phí thức ăn là biện pháp nâng cao hiệu quả kinh tế nhất. Kết quả thí nghiệm được trình bày ở bảng 8.

Bảng 8. Tiêu tốn thức ăn cho 1 kg tăng khối lượng của gà (n=3, kg).

Tuần tuổi	Lô ĐC		Lô TN1		Lô TN2	
	$\bar{X} \pm SE$	$C_v\%$	$\bar{X} \pm SE$	$C_v\%$	$\bar{X} \pm SE$	$C_v\%$
(SS)-1	1,53 $\pm$ 0,12	14,00	1,43 $\pm$ 0,03	3,41	1,36 $\pm$ 0,02	1,86
1-2	1,33 $\pm$ 0,18	2,97	1,58 $\pm$ 0,12	2,68	1,60 $\pm$ 0,08	8,60
2-3	1,80 $\pm$ 0,03	2,74	1,92 $\pm$ 0,13	2,28	1,89 $\pm$ 0,06	5,85
3-4	2,09 $\pm$ 0,10	8,60	1,93 $\pm$ 0,22	2,68	1,78 $\pm$ 0,11	1,04
4-5	2,81 $\pm$ 1,66	10,22	2,59 $\pm$ 0,13	8,85	2,59 $\pm$ 0,13	9,35
5-6	3,24 $\pm$ 0,85	4,58	2,88 $\pm$ 0,13	7,60	2,88 $\pm$ 0,11	6,64
6-7	2,62 $\pm$ 0,15	9,87	2,47 $\pm$ 0,14	9,73	2,68 $\pm$ 0,16	10,03
7-8	2,62 $\pm$ 0,03	2,24	3,03 $\pm$ 0,27	15,35	2,67 $\pm$ 0,28	7,85
8-9	3,43 $\pm$ 0,26	13,05	4,16 $\pm$ 1,48	6,11	2,89 $\pm$ 0,39	3,85
9-10	4,95 $\pm$ 1,39	4,86	4,22 $\pm$ 1,41	5,77	4,12 $\pm$ 0,75	8,96
TB	2,64		2,62		2,57	

Ghi chú: những giá trị cùng một hàng có các chữ cái khác nhau thì sai khác giữa chúng có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$) và ngược lại.

Ở một tuần tuổi, mức tiêu tốn thức ăn cho một kg tăng khối lượng trung bình ở lô ĐC là 1,53 kg thức ăn/kg tăng khối lượng, lô TN1 và TN2 là 1,43 và 1,36 kg thức ăn/kg tăng khối lượng. Sau đó tiêu tốn thức ăn cho một kg tăng khối lượng tăng dần đều ở cả 3 lô ĐC và TN, tính cho cả giai đoạn từ 1-10 tuần tuổi, trung bình gà JA-DABACO ở lô ĐC là 2,64 kg thức ăn/kg tăng khối lượng, lô TN1 và TN2 lần lượt là 2,62 và 2,57 kg thức ăn/kg tăng khối lượng. Theo nghiên cứu của Nguyễn Đức Hưng và cộng sự, tiêu tốn thức ăn của gà JA-DABACO là 2,48 kg thức ăn/kg tăng trọng [5], còn nghiên cứu của Trần Thị Thu Hiền cho thấy tiêu tốn thức ăn của gà JA-DABACO từ 2,6-2,9 kg thức ăn/kg tăng khối lượng [3].

Khả năng cho thịt

Khả năng cho thịt của gà phản ánh chất lượng phẩm giống và điều kiện chăm sóc nuôi dưỡng, đặc biệt là thành phần dinh dưỡng trong thức ăn. Mỗi lô mổ khảo sát 3 trống, 3 mái. Các con (gà trống/mái) được chọn mổ khảo sát có khối lượng gần với khối lượng trung bình của đàn gà. Màu sắc da gà được xác định bằng quạt so màu Roche. Kết quả mổ khảo sát gà ở 10 tuần tuổi được thể hiện ở bảng 9.

Bảng 9. Kết quả mổ khảo sát của gà TN lúc 70 ngày tuổi (n=6).

Chỉ tiêu	Lô ĐC		Lô TN1		Lô TN2	
	$\bar{X} \pm SE$	$C_v\%$	$\bar{X} \pm SE$	$C_v\%$	$\bar{X} \pm SE$	$C_v\%$
Khối lượng sống (g)	1172,0 $\pm$ 40,7	6,01	1265,0 $\pm$ 78,6	9,38	1290,0 $\pm$ 50,3	5,85
Khối lượng thân thịt (g)	987,3 $\pm$ 31,8	6,45	1066,7 $\pm$ 44,1	7,16	1120,3 $\pm$ 41,4	6,40
Tỷ lệ thân thịt (%)	72,8		77,02		75,19	
Khối lượng thịt đùi (g)	110,3 $\pm$ 2,19	4,01	123,3 $\pm$ 4,41	6,19	125,7 $\pm$ 10,3	14,15
Tỷ lệ thịt đùi (%)	22,11		23,11		22,44	
Khối lượng thịt ngực (g)	84,33 $\pm$ 6,36	13,88	89,0 $\pm$ 10,4	14,42	90,7 $\pm$ 11,7	16,61
Tỷ lệ thịt ngực (%)	16,59		16,69		16,19	
Màu sắc da gà	2,67 $\pm$ 2,19	2,10	3,2 $\pm$ 1,4	3,19	3,9 $\pm$ 1,03	1,55

Ghi chú: những giá trị cùng một hàng có các chữ cái khác nhau thì sai khác giữa chúng có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$) và ngược lại.

Kết quả bảng 9 cho thấy, tỷ lệ thân thịt, tỷ lệ thịt đùi và tỷ lệ thịt ngực giữa lô ĐC không bổ sung bột bã nghệ và 2 lô TN không có sự sai khác có ý nghĩa thống kê. Tuy nhiên màu sắc của da gà được cải thiện đáng kể khi bổ sung bã nghệ vào khẩu phần. Kết quả mổ khảo sát cho thấy, màu vàng của da gà tăng lên khi lượng bã nghệ bổ sung vào thức ăn tăng lên, cụ thể ở lô ĐC độ vàng da khi dùng quạt so màu Roche là 2,67, lô TN1 là 3,2 và lô TN2 là 3,9. Kết quả này cho thấy việc bổ sung bột bã nghệ đã làm tăng độ vàng da rõ rệt. Những con gà ở lô TN có màu vàng đậm hơn so với lô ĐC có màu vàng nhạt. Thị hiếu của người tiêu dùng Việt Nam thường ưa chuộng những con gà có màu vàng, do đó kết quả này mở ra tiềm năng sử dụng phụ phẩm tự nhiên bổ sung vào khẩu phần làm tăng màu sắc da, tránh việc sử dụng những chất tạo màu hóa học chứa nhiều nguy cơ ảnh hưởng sức khỏe người tiêu dùng.

Kết luận và kiến nghị

Bổ sung bã nghệ mức 3-5% vào thức ăn giúp tăng tốc độ sinh trưởng của gà thịt JA-DABACO so với lô ĐC không bổ sung. Với mức bổ sung bã nghệ 5% cho kết quả sinh trưởng là tốt nhất (1356 g/con tại thời điểm 10 tuần tuổi). Bên cạnh đó, việc bổ sung bã nghệ đã làm tăng màu sắc da gà rõ rệt theo phương pháp so màu Roche (ĐC: 2,67, TN1 là 3,2 và TN2 là 3,9). Kết quả nghiên cứu này chỉ ra tiềm năng sử dụng bã nghệ trong khẩu phần thức ăn cho gà thịt để cải thiện tốc độ sinh trưởng, màu sắc của da gà, đáp ứng nhu cầu thị hiếu người tiêu dùng, nâng cao giá trị kinh tế cho người chăn nuôi. Những nghiên cứu tiếp theo nên được thực

hiện nhằm đánh giá ảnh hưởng của việc bổ sung bã nghệ tới một số chỉ tiêu miễn dịch, sinh lý sinh hóa máu nhằm tìm hiểu rõ hơn cơ chế tác dụng của bã nghệ đến sinh trưởng và phát triển của gà.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu được thực hiện từ nguồn kinh phí của Học viện Nông nghiệp Việt Nam, Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn. Các tác giả xin trân trọng cảm ơn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

[1] Nguyễn Thị Phương Giang, Đặng Thúy Nhung (2014), “Bổ sung bột cánh hoa cúc Vạn Thọ vào khẩu phần của gà đẻ trứng Isa Brown”, *Khoa học Kỹ thuật Chăn nuôi*, **12**, tr.27-34.

[2] Đào Hùng Cường, Nguyễn Đình Anh, Phạm Thị Thùy Phương (2005), “Điều kiện tối ưu để chiết tách curcumin từ củ nghệ vàng bằng phương pháp chưng cất”, *Tuyển tập Báo cáo khoa học 30 năm xây dựng và phát triển Trường Đại học Sư phạm - Đại học Đà Nẵng 1975-2005*, tr.99-103.

[3] Trần Thị Thu Hiền (2014), “Hiệu quả mô hình chăn nuôi gà JA-DABACO theo quy mô trang trại ở Bồ Trạch”, *Tạp chí Thông tin KH&CN Quảng Bình*, **4**, tr.62-64.

[4] <http://www.dabaco.com.vn/vn/cac-cong-ty-con/cong-ty-tnhh-mtv-ga-giong-dabaco.html>.

[5] Nguyễn Đức Hưng, Nguyễn Đức Chung, Nguyễn Tiến Quang (2017), “So sánh sự sinh trưởng và hiệu quả nuôi thịt của ba nhóm gà lai trong vụ xuân - hè tại Thừa Thiên - Huế”, *Tạp chí KH&CN Nông nghiệp*, **1(2)**, tr.293-302.

Một số giống Tràm trà giàu Terpinen-4-ol có triển vọng trên một số lập địa tại miền Bắc Việt Nam

Lê Đình Khả*, Nguyễn Thị Thanh Hương¹, Nguyễn Văn Dư¹, K. Pinyopusarerk²

¹Viện Cải thiện giống và phát triển lâm sản (IIFPD)

²Trung tâm Giống cây rừng, Úc

Ngày nhận bài 25/5/2018; ngày chuyển phản biện 31/5/2018; ngày nhận phản biện 10/7/2018; ngày chấp nhận đăng 16/7/2018

Tóm tắt:

Khảo nghiệm hậu thế và khảo nghiệm dòng vô tính Tràm trà (*Melaleuca alternifolia*) giàu terpinen-4-ol nhập từ Australia được tiến hành tại Ba Vì (Hà Nội) và Phú Lộc (Thừa Thiên - Huế). Kết quả khảo nghiệm cho thấy sau hơn 2 năm trồng (cây hơn 2 tuổi): i) Tại Ba Vì, các giống có triển vọng là A6, A9 và A10 thuộc xuất xứ Candole State Forest bang New South Wales (tỷ lệ sống 96,7-97,8%, hàm lượng tinh dầu lá tươi 2,61%, tỷ lệ terpinen-4-ol $\geq 40\%$); các dòng vô tính A37.217, A32.23, A38.317, A26.218 và A38.39 (tỷ lệ sống 82,5-92,5%, hàm lượng tinh dầu lá tươi 3,06-3,87%, tỷ lệ terpinen-4-ol 40-43%, tỷ lệ limonene $< 1\%$, tỷ lệ 1,8-cineole $< 2,5\%$); ii) Tại Phú Lộc, giống có triển vọng là dòng vô tính A26.218 xuất xứ Candole (tỷ lệ sống 76,7%, hàm lượng tinh dầu lá tươi 4,05%, tỷ lệ terpinen-4-ol $> 40\%$, tỷ lệ limonene và tỷ lệ 1,8-cineole $< 1\%$); iii) Giống đối chứng A38 là giống có triển vọng tại Ba Vì và Phú Lộc (tỷ lệ sống tương đối cao, sinh trưởng tốt, hàm lượng và chất lượng tinh dầu cao và ổn định - đây là giống đã được Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn công nhận); iv) Tràm trà trồng tại Phú Lộc có tỷ lệ sống tương đối thấp, sinh trưởng chậm hơn so với trồng tại Ba Vì, cần có biện pháp kỹ thuật trồng và chăm sóc thích hợp.

Từ khóa: khảo nghiệm dòng vô tính, khảo nghiệm hậu thế, *Melaleuca alternifolia*, tinh dầu Tràm trà, Tràm trà.

Chỉ số phân loại: 4.4

Mở đầu

Tràm trà (*Melaleuca alternifolia* Maiden & E. Betcher ex Cheel) (hình 1), còn có tên là Tràm lá hẹp (Narrow-leaved paperbark), là loài cây gỗ nhỏ, cao 2-3 m, cao nhất có thể 15 m, phân bố tự nhiên ở vĩ độ 28°54' đến 31°23' N tại bang New South Wales (NSW) của Australia, mọc trên đất thịt hoặc đất pha cát ven biển [1]. Đặc điểm nổi bật của Tràm trà là sau khi trồng 1-2 năm có thể khai thác lần đầu, sau đó khai thác cây chồi hàng năm trong hơn 20 năm, nên là loài cây trồng có hiệu quả kinh tế cao và ổn định.



Hình 1. Tràm trà (*Melaleuca alternifolia*). (A) Mẫu hoa lá, (B) cây chồi 1 năm tuổi.

Tinh dầu Tràm trà được chia thành một số nhóm, trong đó 2 nhóm chính là giàu terpinen-4-ol và giàu 1,8-cineole. Nhóm tinh dầu giàu terpinen-4-ol được sản xuất nhiều nhất tại Australia và là nhóm có giá trị nhất.

Theo Tiêu chuẩn tinh dầu Tràm trà giàu terpinen-4-ol ISO-4730:2017 [2] thì tỷ lệ terpinen-4-ol là 35-48%, limonene là 0,5-1,5%, 1,8-cineole là $< 10\%$. Giống chất lượng cao là giống có tỷ lệ terpinen-4-ol cao, tỷ lệ limonene và 1,8-cineole thấp.

Do có tỷ lệ limonene thấp, tác dụng sát khuẩn cao nên tinh dầu Tràm trà giàu terpinen-4-ol là loại đa tác dụng, không hại da, được sử dụng trong nhiều lĩnh vực đời sống như nước súc miệng, mỹ phẩm bôi da, nước hoa, dầu gội đầu, xà phòng thơm, kem đánh răng... [3]. Tinh dầu Tràm trà cũng được dùng chữa một số bệnh ngoài da thông thường như mụn trứng cá, mụn cóc, mụn nhọt, mụn rộp, bong, côn trùng cắn, bệnh nấm móng tay, bệnh nấm da bàn chân, mề hôi chân... [4, 5].

Nghiên cứu tại Australia đầu những năm 1990 đã xác định được một số lô hạt Tràm trà của xuất xứ Candole có

*Tác giả liên hệ: Email: ledinhkha2016@gmail.com

Some terpinen-4-ol rich tea tree cultivars promising for some sites in the north of Vietnam

Dinh Kha Le^{1*}, Thi Thanh Huong Nguyen¹,
Van Du Nguyen¹, K. Pinyopasarker²

¹Institute for Improvement of Forest Tree Improvement and Products Development

²Australia Tree Seed Center, CSIRO

Received 25 May 2018; accepted 16 July 2018

Abstract:

Progeny and clonal test of tea tree (*Melaleuca alternifolia* Maiden & E. Betcher ex Cheel) seedlots rich in terpinen-4-ol introduced from Australia were conducted at Ba Vi (Hanoi) and Phu Loc (Thua Thien-Hue province). Research results at more 2 years of age showed that: i) Promising cultivars at Ba Vi were families A6, A9 and A10 from Candole State Forest provenance New South Wales (NSW) (survival 96.7-97.8%, fresh leaf oil content 2.61%, terpinen-4-ol >40%, limonene ≤1%, and 1,8-cineole <3.5%) and clones A37.217, A32.23, A38.317, A26.218 and A38.39 (survival 82.5-92.5%, fresh leaf oil content 3.06-3.87%, terpinen-4-ol 40-43%, limonene <1%, and 1,8-cineole <3.0%); ii) Promising cultivar at Phu Loc was clone A26.218 of Candole provenance NSW (survival 76.7%, fresh leaf oil content 4.05%, terpinen-4-ol >40%, limonene and 1,8-cineole <1%); iii) Control A38 was promising at Ba Vi and Phu Loc, having relatively high survival and good growth with high and stable oil content and quality. It is now recognised by Ministry of Agriculture and Rural Development; iv) Survival and growth of tea tree at Phu Loc were poorer than those at Ba Vi, and therefore it is necessary to apply suitable planting technologies.

Keywords: clonal test, *Melaleuca alternifolia*, progeny test, tea tree, tea tree oil.

Classification number: 4.4

khả năng sinh trưởng nhanh, hàm lượng và chất lượng tinh dầu cao. Tại Wyrallah NSW, sau 19 tháng những gia đình này có hàm lượng tinh dầu tính theo lá khô là 40,7-45,9 mg/g, tỷ lệ terpinen-4-ol 38,9-40,6% và tỷ lệ 1,8-cineole 2,2-3,2% [6].

Tràm trà được Viện Dược liệu nhập vào nước ta từ giữa những năm 1980, trồng ở Quảng Bình và Trạm cây thuốc

Văn Điển [7], sau đó được phát triển thêm ở một số nơi khác.

Từ các lô hạt Tràm trà giàu terpinen-4-ol do CSIRO Australia cung cấp, Viện Cải thiện giống và phát triển lâm sản đã tiến hành khảo nghiệm hậu thế, chọn lọc cây trội, nhân giống và khảo nghiệm dòng vô tính tại Ba Vi (Hà Nội) và Phú Lộc (Thừa Thiên - Huế). Qua khảo nghiệm đã chọn được một số giống sinh trưởng tốt, hàm lượng và chất lượng tinh dầu cao, có triển vọng để phát triển tại một số lập địa thích hợp ở miền Bắc nước ta.

Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

Vật liệu nghiên cứu trong khảo nghiệm hậu thế là cây hạt của 15 gia đình Tràm trà xuất xứ Candole State Forest (số A1-A15) ở vĩ độ 29°41'-29°42' N, kinh độ 153°13'-153°14'Đ tại bang NSW và xuất xứ Devils Pulpit NSW (A16) ở vĩ độ 29°15' N, kinh độ 153°Đ tại NSW.

Vật liệu nghiên cứu trong khảo nghiệm dòng vô tính là cây hom nhân từ cây trội chọn lọc trong xuất xứ Candole (cùng tọa độ với các xuất xứ nêu trên).

Giống đối chứng là hỗn hợp cây hom nhân từ các gia đình A26, A38 xuất xứ Candole.

Khảo nghiệm hậu thế được bố trí theo khối ngẫu nhiên 3-4 lần lặp (tùy điều kiện cho phép), mỗi lần 30 cây. Khảo nghiệm dòng vô tính bố trí theo khối hàng ngẫu nhiên 3 lần lặp, mỗi lần 15 cây.

Khoảng cách trồng 1,5x0,6 m (mật độ 11.100 cây/ha).

Kích thước hố 30x30x30 cm.

Bón lót mỗi hố 150 g phân NPK (tại Ba Vi tỷ lệ 8:10:3, tại Phú Lộc tỷ lệ 16:16:8).

Các chỉ tiêu sinh trưởng được đánh giá là chiều cao thân cây (H) đo vút ngọn, đường kính gốc (Do) đo ở độ cao cách mặt đất 10 cm, đường kính tán lá (Dt) đo ở điểm rộng nhất của tán (theo hướng đông - tây).

Hàm lượng tinh dầu theo lá tươi (Hlt%) được xác định tại Viện Cải thiện giống và phát triển lâm sản theo phương pháp lôi cuốn hơi nước và tính theo tỷ lệ % giữa lượng tinh dầu (khối lượng riêng 0,9 kg/l) với khối lượng lá tươi.

$$Hlt\% = \frac{N \cdot 0,9 \cdot 100}{A}$$

Trong đó: N là lượng tinh dầu tính theo mililit (ml); A là khối lượng mẫu lá tươi đưa vào chưng cất tính theo gram (g); 0,9 là khối lượng riêng trung bình của tinh dầu tràm.

Thành phần tinh dầu được xác định theo phương pháp sắc ký khối phổ (GC/MS) tại Phòng phân tích hữu cơ thuộc Viện Hóa học các hợp chất thiên nhiên. Thiết bị phân tích là máy sắc ký khí HP 6890 nối ghép với khối phổ (agilent

mass spectrum detector - MSD) 5973. Tỷ lệ thành phần tinh dầu được xác định theo ngân hàng dữ liệu Wiley 275 và Nist 98. Giống được xác định thành phần tinh dầu là giống đối chứng và giống có sinh trưởng trên mức trung bình, có hàm lượng tinh dầu cao nhất.

Số liệu thu thập được xử lý theo phần mềm thống kê SPSS [8].

Giống có triển vọng là giống có tỷ lệ sống cao, sinh trưởng trên mức trung bình trong khảo nghiệm, hàm lượng tinh dầu cao, tỷ lệ terpinen-4-ol trong tinh dầu >40%, tỷ lệ limonene <1%, tỷ lệ 1,8-cineole <3%.

Kết quả nghiên cứu và thảo luận

Các khảo nghiệm tại Ba Vì

Các khảo nghiệm hậu thế và khảo nghiệm dòng vô tính Tràm trà tại Ba Vì được trồng trên đất đồi lateritic phát triển trên sa thạch tại Trạm Cầm Quỳ thuộc Trung tâm Thực nghiệm và chuyển giao giống cây rừng (Viện Nghiên cứu giống và công nghệ sinh học lâm nghiệp, Viện Khoa học lâm nghiệp Việt Nam), ở vĩ độ 21°27'B, kinh độ 105°19'Đ, nhiệt độ trung bình hàng năm 23,1°C, nhiệt độ tối cao trung bình 32,9°C, lượng mưa trung bình hàng năm 1680 mm.

Bảng 1. Sinh trưởng và tinh dầu các gia đình Tràm trà xuất xứ Candole State Forest tại Ba Vì (26 tháng tuổi).

TT	Giống	Tlsg (%)	H (m)	Do (cm)	Dt (m)	Tinh dầu			
						Hlt (%)	Terp- (%)	Lim- (%)	1,8-ci- (%)
1	A16	100	2,23	3,72	1,02	2,34	37,39	0,90	2,60
2	A5	97,8	2,06	3,97	1,04	2,25	-	-	-
3	A10	96,7	2,06	3,76	0,98	2,61	39,97	0,75	1,03
4	A11	98,9	2,05	3,66	0,98	2,34	-	-	-
5	A9	96,7	2,02	3,36	0,97	2,61	40,07	0,83	0,94
6	A7	96,7	2,00	3,49	1,05	2,52	-	-	-
7	A6	97,8	1,99	3,46	0,95	2,61	40,55	1,02	3,47
8	A15	98,9	1,98	3,67	1,01	2,52	-	-	-
9	A3	94,4	1,96	3,32	0,95	2,43	-	-	-
10	A14	90,0	1,94	3,60	1,20	2,07	-	-	-
11	A4	95,6	1,92	3,47	0,95	2,61	37,77	0,97	2,79
12	A13	98,9	1,91	3,84	1,03	2,07	-	-	-
13	A2	96,7	1,90	3,57	1,01	2,16	-	-	-
14	A1	96,7	1,86	3,57	1,01	2,07	-	-	-
15	A12	95,6	1,83	3,26	0,98	2,52	-	-	-
16	A26 ^b	77,8	1,79	3,25	1,05	2,43	40,46	0,98	2,39
17	A38 ^b	75,6	1,71	3,43	1,01	2,79	41,87	0,77	0,59
18	A8	97,8	1,70	3,30	0,96	2,25	-	-	-
	Trung bình	94,6	1,94	3,54	1,01	2,40	-	-	-
	Sig	-	,000	,012	,020	-	-	-	-
	Lsd	-	0,23	0,45	0,09	-	-	-	-

Ghi chú: Tlsg là tỷ lệ sống; Terp- là terpinen-4-ol; Lim- là limonene; 1,8-ci- là 1,8-cineole; b là cây hom.

Khảo nghiệm hậu thế trong xuất xứ Candole State Forest:

Đánh giá sinh trưởng các gia đình Tràm trà A1-A15 xuất xứ Candole State Forest NSW tại Ba Vì sau hơn 2 năm cho thấy, tỷ lệ sống 94-100%, cây cao 1,7-2,23 m, đường kính 3,25-3,97 cm. Trong đó, xuất xứ Devils Pulpit NSW (A16) vừa có tỷ lệ sống 100%, vừa sinh trưởng nhanh nhất. Sai khác giữa các gia đình về chiều cao và đường kính rất rõ rệt (trị số Sig tương ứng là 0,000 và 0,012). Cây hom các gia đình A26 và A38 (đối chứng) có tỷ lệ sống tương ứng 77,8 và 75,6%, thuộc nhóm sinh trưởng chậm nhất trong khảo nghiệm (bảng 1).

Đánh giá tinh dầu cho thấy, các giống Tràm trà có hàm lượng tinh dầu 2,07-2,61%, trong đó các gia đình A6, A9 và A10 đều có hàm lượng 2,61% - cao nhất trong khảo nghiệm (bảng 1). Đây cũng là những gia đình có tỷ lệ terpinen-4-ol (39,97-40,55%), tỷ lệ limonene (0,75-1,02%), 1,8-cineole (<4%) thuộc nhóm có chất lượng tinh dầu cao theo Tiêu chuẩn ISO-4730:2017. Các giống đối chứng A26 và A38 có hàm lượng tinh dầu lần lượt là 2,43 và 2,79%, tỷ lệ terpinen-4ol đạt 40,46 và 41,87%.

Xuất xứ Devils Pulpit NSW (A16) tuy sinh trưởng nhanh nhưng hàm lượng tinh dầu chỉ đạt 2,34%, tỷ lệ terpinen-4-ol 37,39%, thuộc nhóm trung bình, ít có triển vọng tại Ba Vì.

Khảo nghiệm dòng vô tính trong xuất xứ Candole:

Đánh giá sinh trưởng: số liệu ở bảng 2 cho thấy, sau hơn 2 năm trồng tại Ba Vì các giống khảo nghiệm có tỷ lệ sống 72,5-95%; các dòng A36.217, A32.23 và A38.317 có chiều cao 1,97-2,07 m, cao hơn các giống đối chứng A26 và A38 (cao 1,85 và 1,75 m). Hơn nữa, giữa các dòng vô tính cũng có phân hóa rõ rệt về chiều cao và đường kính (Sig=0,0001).

Đánh giá hàm lượng và chất lượng tinh dầu: số liệu ở bảng 2 cũng cho thấy, hàm lượng tinh dầu trung bình của các giống khảo nghiệm ở giai đoạn 2 tuổi là 2,92%, trong đó các dòng A36.217, A32.23, A26.218, 38.317 và A38.39 có hàm lượng tinh dầu 3,06-3,87%. Trong khi các giống đối chứng A26 và A38 có hàm lượng tinh dầu tương ứng là 2,61 và 2,70%.

Phân tích thành phần tinh dầu các dòng vô tính sinh trưởng trên mức trung bình và có hàm lượng tinh dầu cao cho thấy, những dòng này có tỷ lệ terpinen-4-ol 39,96-43,25%, thuộc nhóm có chất lượng tinh dầu cao theo Tiêu chuẩn ISO-4730:2017 (tỷ lệ terpinen-4-ol là 35-48%, tỷ lệ limonene 0,5-1,5%, tỷ lệ 1,8-cineole <10%). Trong đó, dòng A36.217 có tỷ lệ terpinen-4-ol 43,25%, limonene 0,76%, 1,8-cineole 0,58%; tương đương chất lượng “siêu dòng 88” ở Australia có tỷ lệ terpinen-4-ol 42-45%, tỷ lệ 1,8-cineole 0,5-1,0% [9].

Cây hom các giống đối chứng A26 và A38 xuất xứ Candole có sinh trưởng chậm hơn cây hạt các gia đình xuất xứ Candole State Forest trong khảo nghiệm này, song có sinh trưởng nhanh nhất trong khảo nghiệm hậu thế các năm 2009-2011 [10], và là những giống đã được Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn công nhận trong giai đoạn trước.

Đánh giá chung về sinh trưởng và tinh dầu có thể thấy, các dòng vô tính có triển vọng tại Ba Vì là A36.217, A32.23, A38.317, A26.218 và A38.39. Đây là những dòng vô tính có tỷ lệ sống hơn 80%, sinh trưởng trên mức trung bình, hàm lượng tinh dầu đạt 3,06-3,87% (cao hơn 13,3-48,3% so với các giống đối chứng A26 và A38), có tỷ lệ terpinen-4-ol 40-43%.

Bảng 2. Sinh trưởng và tinh dầu một số dòng vô tính Tràm trà xuất xứ Candole tại Ba Vì (26 tháng tuổi).

TT	Giống	Tlsg (%)	H (m)	Do (cm)	Dt (m)	Tinh dầu			
						Hlt (%)	Terp- (%)	Lim- (%)	1,8-ci- (%)
1	A36.217	92,5	2,07	3,98	1,10	3,15	43,25	0,76	0,58
2	A32.316	90,0	2,03	3,56	1,05	-	-	-	-
3	A32.23	82,5	2,0	3,79	1,12	3,87	39,96	0,94	2,90
4	A26.11	75,0	1,98	3,41	0,92	-	-	-	-
5	A38.317	85,0	1,97	3,6	1,10	3,06	41,33	0,73	0,65
6	A38.39	92,5	1,90	3,34	0,94	3,60	41,61	0,71	0,60
7	A32.213	95,0	1,86	3,65	0,99	-	-	-	-
8	A26.218	90,0	1,86	3,45	1,1	3,33	40,87	0,68	0,53
9	A38	90,0	1,85	3,52	1,08	2,70	40,77	0,81	1,08
10	A38.124	72,5	1,79	3,27	1,15	2,79	42,08	0,84	0,70
11	A38.216	85,0	1,76	3,72	1,12	-	-	-	-
12	A26.226	92,5	1,76	3,34	0,98	-	-	-	-
13	A26	82,5	1,75	3,72	1,07	2,61	42,15	0,73	0,85
14	A30.216	85,0	1,63	3,34	1,03	3,15	-	-	-
15	A30.310	85,0	1,62	3,31	1,11	3,24	42,26	0,76	0,59
16	A26.121	87,5	1,61	3,66	1,14	3,06	41,24	0,76	0,56
17	A38.313	75,0	1,58	3,43	1,05	3,06	-	-	-
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
28	A38.220	77,5	1,13	2,63	0,82	-	-	-	-
Trung bình		82,9	1,69	3,35	1,02	2,92	-	-	-
Sig			,0001	,0001	,0001	-	-	-	-
Lsd			0,325	0,65	0,15	-	-	-	-

Các khảo nghiệm tại Phú Lộc

Tại Phú Lộc (Thừa Thiên - Huế) các khảo nghiệm Tràm trà được trồng trên đất đồi pha cát tại Công ty TNHH Đại Hòa, xã Lộc Bôn ở vĩ độ 16°30'B, kinh độ 107°42'D, nhiệt độ trung bình hàng năm 25,2°C, nhiệt độ tối cao trung bình 34,3°C, lượng mưa trung bình hàng năm 2870 mm.

Khảo nghiệm hậu thế xuất xứ Candole State Forest:

Đánh giá khảo nghiệm hậu thế sau 18 tháng cho thấy, các gia đình A1-A15 xuất xứ Candole State Forest có tỷ lệ sống 24,2-75,8% (trung bình 54,3%), sinh trưởng chậm, sau 18 tháng chỉ cao 0,93-1,52 m (trung bình 1,19 m), đặc biệt gia đình A2 tỷ lệ sống chỉ 24,17%, cây cao 1,16 m; xuất xứ Devils Pulpit (A16) có tỷ lệ sống 60%, cây cao 1,16 m. Trong khi các giống A26 và A38 (đối chứng) có tỷ lệ sống tương ứng 75,83 và 67,5%, cây cao 1,52 và 1,29 m.

Hàm lượng tinh dầu của các giống trong khảo nghiệm là 2,61-3,24% (trung bình 2,92%), tỷ lệ terpinen-4-ol 35,86-39,71%, tỷ lệ limonene 0,81-1,19%, tỷ lệ 1,8-cineole 1,06-4,81%. Xuất xứ Devils Pulpit (A16) có hàm lượng tinh dầu 2,97%, tỷ lệ terpinen-4-ol 39,71%, tỷ lệ limonene 0,89%, tỷ lệ 1,8-cineole 2,32%. Các giống A26 và A38 (đối chứng) có hàm lượng tinh dầu 2,61 và 3,24%, tỷ lệ terpinen-4-ol 39,59 và 41,40%, tỷ lệ limonene và 1,8-cineole dưới 1%.

Kết quả trồng thử nghiệm một số giống của xuất xứ Candole trong các năm 2011-2016 cũng cho thấy A38 là giống có triển vọng nhất tại Phú Lộc. Sau 5 năm giống này vẫn có tỷ lệ sống 70%, cây chồi sau khai thác 1 năm cao 1,37 m, hàm lượng tinh dầu 2,97%, tỷ lệ terpinen-4-ol là 42,38%, tỷ lệ limonene 0,89%, tỷ lệ 1,8-cineole 0,66%.

Như vậy, tại Phú Lộc gia đình A38 chứng tỏ là giống có triển vọng. Các gia đình thuộc xuất xứ Candole State Forest (A1-A15) có tỷ lệ sống thấp và tương đối thấp; xuất xứ Devils Pulpit (A16) tuy có chất lượng tinh dầu cao, song tỷ lệ sống chỉ 60%. Vì thế có thể nói, về cơ bản các giống Tràm trà A1-A16 ít phù hợp với điều kiện sinh thái ở đây.

Khảo nghiệm dòng vô tính:

Đánh giá sinh trưởng cho thấy, ngoài các dòng A32.316, A26.121, A26.218 và A26.217 có tỷ lệ sống 76,7-83,3%, các dòng vô tính còn lại trong xuất xứ Candole khảo nghiệm tại Phú Lộc có tỷ lệ sống 43,3-70%, thấp hơn các giống đối chứng là A26 (75%) và A38 (80%). Trong đó, các dòng A32.316, A26.121 và A26.217 có sinh trưởng nhanh hơn giống đối chứng A26 và A38, các dòng còn lại có sinh trưởng kém hơn A26 và A38 (bảng 3).

Bảng 3. Sinh trưởng và tinh dầu một số dòng vô tính Tràm trà xuất xứ Candole tại Phú Lộc (18 tháng tuổi).

TT	Giống	Tlsg (%)	H (m)	Do (cm)	Dt (m)	Tinh dầu			
						Hlt (%)	Terp- (%)	Lim- (%)	1,8-ci- (%)
1	A32.316	83,3	1,79	1,86	0,57	2,61	-	-	-
2	A26.121	76,8	1,67	1,83	0,62	2,88	-	-	-
3	A26.217	81,7	1,53	1,62	0,58	3,06	-	-	-
4	A26	75,0	1,52	1,67	0,52	3,06	38,34	0,81	0,59
5	A26.218	76,7	1,52	1,62	0,52	4,05	40,24	0,74	0,55
6	A38	80,0	1,50	1,73	0,58	3,42	41,40	0,76	0,58
7	A38.317	60,0	1,49	1,45	0,51	3,51	39,87	0,83	0,97
8	A38.124	51,7	1,47	1,59	0,59	3,42	39,88	0,93	0,81
9	A38.313	66,7	1,46	1,38	0,54	4,05	40,65	0,81	0,59
10	A30.216	60,0	1,44	1,43	0,44	3,42	-	-	-
11	A32.23	55,0	1,41	1,46	0,56	3,96	40,80	1,02	3,20
12	A36.217	61,7	1,32	1,44	0,57	3,06	-	-	-
13	A32.325	61,7	1,30	1,46	0,47	-	-	-	-
14	A38.39	70,0	1,30	1,34	0,43	3,78	-	-	-
15	A30.130	43,3	1,30	1,29	0,54	3,42	-	-	-
16	A36.29	61,7	1,26	1,57	0,52	3,35	-	-	-
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
26	A32.327	78,3	1,23	1,12	0,40	-	-	-	-
Trung bình		58,0	1,30	1,36	0,49	3,40	-	-	-
-	-	-	,001	,001	,017	-	-	-	-
-	-	-	0,193	0,191	0,120	-	-	-	-

Đánh giá hàm lượng tinh dầu các dòng vô tính có sinh trưởng trên mức trung bình và các giống đối chứng A26 và A38 cho thấy tại Phú Lộc các dòng vô tính A32.316 và A26.121 tuy sinh trưởng tốt, song hàm lượng tinh dầu chỉ đạt 2,88 và 2,61% (thấp nhất trong các giống được khảo nghiệm). Dòng vô tính A26.218 có hàm lượng tinh dầu 4,05%, tỷ lệ terpinen-4-ol 40,24%, tỷ lệ limonene và tỷ lệ 1,8-cineole dưới 1%; giống A38 có hàm lượng tinh dầu 3,42%, tỷ lệ terpinen-4-ol 41,4%, tỷ lệ limonene và tỷ lệ 1,8-cineole dưới 1% (bảng 3).

Đánh giá chung có thể thấy giống A38 và dòng vô tính A26.218 là những giống có tỷ lệ sống cao, hàm lượng và chất lượng tinh dầu cao, và là giống có triển vọng tại Phú Lộc.

Một số nhận định chính

Đánh giá tổng hợp các chỉ tiêu sinh trưởng, hàm lượng và chất lượng tinh dầu các giống Tràm trà giàu terpinen-4-ol khảo nghiệm tại Ba Vì và Phú Lộc có thể đi đến một số nhận định sau đây:

- Tại Ba Vì, các khảo nghiệm hậu thể và khảo nghiệm dòng vô tính có tỷ lệ sống trung bình 94,6 và 82,9%, trong khi tại Phú Lộc có tỷ lệ sống tương ứng 54,3 và 58%. Điều đó chứng tỏ Tràm trà trồng tại Phú Lộc có tỷ lệ sống thấp hơn rõ rệt so với tại Ba Vì.

- Tại Ba Vì, hậu thể (cây hạt) của xuất xứ Candole State Forest sau 26 tháng có hàm lượng tinh dầu trung bình 2,40%, trong khi cây hom cùng tuổi của các dòng vô tính nhân từ cây trội chọn lọc trong xuất xứ Candole có hàm lượng tinh dầu 2,92%. Tại Phú Lộc, cây hạt các hậu thể xuất xứ Candole State Forest sau 18 tháng tuổi có hàm lượng tinh dầu 2,92%, trong khi cây hom cùng tuổi các dòng vô tính xuất xứ Candole có hàm lượng tinh dầu 3,40%. Điều đó chứng tỏ tại Ba Vì và Phú Lộc cây hom của các dòng vô tính nhân từ các cây trội được chọn trong xuất xứ Candole đều có hàm lượng tinh dầu cao hơn rõ rệt so với cây hạt xuất xứ Candole State Forest cùng tuổi.

- Các gia đình A6, A9 và A10 tại Ba Vì có tỷ lệ sống 96,7-97,8%, sinh trưởng trên mức trung bình, đường kính tán không lớn (0,95-0,98 m), song hàm lượng và chất lượng tinh dầu thuộc nhóm cao nhất trong khảo nghiệm, vì thế là những giống có triển vọng.

- Gia đình A38 xuất xứ Candole thuộc nhóm sinh trưởng chậm và tương đối chậm tại Ba Vì, song thuộc nhóm sinh

trưởng tốt tại Phú Lộc. A38 cũng là gia đình có hàm lượng và chất lượng tinh dầu cao và ổn định tại Ba Vì và Phú Lộc, là giống đã được Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn công nhận là giống tiến bộ kỹ thuật tại Ba Vì trong giai đoạn 2008-2012.

- Các dòng vô tính có triển vọng tại Ba Vì là A36.217, A32.23, A38.317, A26.218 và A38.39. Đây là những dòng vô tính có sinh trưởng trên mức trung bình, hàm lượng tinh dầu cao hơn 13,3-48,3% so với các giống đối chứng A26 và A38, tỷ lệ terpinen-4-ol 40-43%.

- Dòng vô tính A26.218 tại Ba Vì và Phú Lộc có tỷ lệ sống 90 và 76,7%, sinh trưởng tốt, hàm lượng tinh dầu cao (3,33 và 4,05%), tỷ lệ terpinen-4-ol >40%, tỷ lệ limonene và tỷ lệ 1,8-cineole dưới 1%, là giống có triển vọng tại cả 2 nơi.

- Tràm trà trồng tại Phú Lộc có tỷ lệ sống thấp hơn, cây sinh trưởng chậm hơn so với trồng tại Ba Vì, nên khi phát triển tại Phú Lộc cần có biện pháp chăm sóc thích đáng.

Kết luận

Từ kết quả khảo nghiệm hậu thể và khảo nghiệm dòng vô tính Tràm trà giàu terpinen-4-ol tại Ba Vì (Hà Nội) và Phú Lộc (Thừa Thiên - Huế) sau hơn 2 năm có thể đi đến một số kết luận sau đây:

- Tại Ba Vì các giống có triển vọng là các gia đình A6, A9 và A10 thuộc xuất xứ Candole State Forest NSW (tỷ lệ sống 96,7-97,8%, hàm lượng tinh dầu 2,61%, tỷ lệ terpinen-4-ol $\geq 40\%$, tỷ lệ limonene 0,75-1,02%, tỷ lệ 1,8-cineole <3,5%); các dòng vô tính A37.217, A32.23, A38.317, A26.218 và A38.39 có tỷ lệ sống 82,5-92,5%, hàm lượng tinh dầu 3,06-3,87%, tỷ lệ terpinen-4-ol 40-43%, tỷ lệ limonene <1%, tỷ lệ 1,8-cineole <2,5%.

- Tại Phú Lộc, giống có triển vọng là dòng vô tính A26.218 thuộc xuất xứ Candole (tỷ lệ sống 76,7%, hàm lượng tinh dầu 4,05%, tỷ lệ terpinen-4-ol >40%, tỷ lệ limonene và tỷ lệ 1,8-cineole <1%).

- Giống đối chứng A38 có tỷ lệ sống tương đối cao, sinh trưởng tốt, hàm lượng và chất lượng tinh dầu cao, ổn định, và là giống có triển vọng tại Ba Vì, Phú Lộc.

- Tràm trà trồng tại Phú Lộc có tỷ lệ sống tương đối thấp, sinh trưởng chậm hơn so với trồng tại Ba Vì, cần có biện pháp kỹ thuật trồng và chăm sóc thích đáng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] D.J. Boland., et al. (2006). *Forest trees of Australia (Fifth edition)*, CSIRO and ensis.
- [2] ISO 4730:2017(E) Essential oil of *Melaleuca*, terpinen-4-ol type (Tea Tree Oil), <http://www.ter-tree.org.au/standards.php>.
- [3] J.J. Brophy, L.A. Caren, J.C. Doran (2013), *Melaleucas their batany, essential oils and uses*, ACIAR, Rural Industries, Canberra.
- [4] C.F. Carson, K.A. Hammer, T.V. Riley (2006), “*M. alternifolia* (Tea Tree) oil: A Review of antimicrobial and other medicinal properties”, *Clinical Microbiology Reviews*, **19(1)**, pp.50-62.
- [5] Trịnh Thị Diệp, Trần Thanh Hà, Lê Đình Khả (2012), “Tác dụng sinh học của các loại tinh dầu trầm giàu terpinen-4-ol và 1,8-cineole (tổng quan)”, *Tạp chí Dược liệu*, **4(17)**, tr.203-211.
- [6] J.C. Doran, G.R. Baker, E.R. Williams, I.A. Southwell (2002), *Improving Australian Tea Tree through selection and breeding (1996-2001)*, RIRDC Project DAN 151A.
- [7] Nguyễn Văn Nghi (2000), *Nghiên cứu một số đặc điểm sinh trưởng, tích lũy tinh dầu và khả năng nhân giống vô tính cây Tràm lá hẹp (M. alternifolia) ở Việt Nam*, Tóm tắt luận văn tiến sỹ sinh học, Trường Đại học Khoa học tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội.
- [8] Nguyễn Hải Tuất, Nguyễn Trọng Bình (2005), *Khai thác và sử dụng SPSS để xử lý số liệu trong lâm nghiệp*, Nhà xuất bản Nông nghiệp.
- [9] T. Burfield, S. Sheppard-Hanger (2000), *First International Phyto-Aromatic Conference, Super Clone “88” M. alternifolia-what is its value?*
- [10] Lê Đình Khả, Hà Thị Kim Thoa, Nguyễn Thị Thanh Hương, K. Pinyopusarerk (2011), “Nghiên cứu chọn giống Tràm trà có năng suất và chất lượng tinh dầu cao tại Ba Vì”, *Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển nông thôn*, **1**, tr.196-205.

Hiện trạng nhiễm ký sinh trùng ở cá chim vây vàng (*Trachinotus* spp) nuôi lồng tại Hải Phòng

Trương Thị Mỹ Hạnh*, Phạm Thị Yên, Phạm Thị Thanh
Nguyễn Thị Nguyễn, Đào Xuân Trường, Nguyễn Hữu Nghĩa, Phan Thị Vân

Viện Nghiên cứu nuôi trồng thủy sản I

Ngày nhận bài 12/6/2018; ngày chuyển phân biện 18/6/2018; ngày nhận phân biện 11/7/2018; ngày chấp nhận đăng 1/8/2018

Tóm tắt:

Nghiên cứu ký sinh trùng nhiễm ở cá chim vây vàng (*Trachinotus* spp) nuôi lồng tại Cát Bà, Hải Phòng được thực hiện từ tháng 6/2017 đến 5/2018. Kết quả nghiên cứu đã xác định được 5 loài ký sinh trùng bao gồm *Trichodina* sp., *Cryptocaryon irritans*, *Pseudorhabdosynochus* sp., *Benedenia* sp. và *Caligus* sp. ký sinh ở cá chim vây vàng. Trong đó, *Trichodina* sp. có tỷ lệ và cường độ nhiễm (CDN) cao nhất ở cá chim vây vàng lần lượt là 50,7% và 1-88 trùng/vi trường, tiếp đến là *Cryptocaryon irritans* (13,8% và 1-30 trùng/vi trường), *Pseudorhabdosynochus* sp. (3,8% và 1-10 trùng/vi trường), *Benedenia* sp. (6,3% và 1-7 trùng/cá thể) và thấp nhất là *Caligus* sp. (1,3% và 1-5 trùng/cá thể). Hơn nữa, *Trichodina* sp. được ghi nhận nhiễm ở cá chim vây vàng từ tháng 1 đến 12, trong khi đó *Cryptocaryon irritans* và *Benedenia* sp. bắt gặp ký sinh ở cá chim vây vàng lần lượt trong tháng 3, 4, 7 và 3, 4, 8, *Pseudorhabdosynochus* sp. và *Caligus* sp. xuất hiện 1 lần vào tháng 5 và 11.

Từ khóa: cá chim vây vàng, Cát Bà, Hải Phòng, ký sinh trùng.

Chỉ số phân loại: 4.5

Đặt vấn đề

Nghề nuôi biển có vai trò, vị trí quan trọng, ảnh hưởng lớn đến sự phát triển kinh tế - xã hội, bảo đảm quốc phòng - an ninh, bảo vệ môi trường. Mục tiêu đến năm 2020 sản lượng cá biển của cả nước sẽ đạt 200.000 tấn đã được Thủ tướng Chính phủ phê duyệt trong “Đề án phát triển nuôi trồng thủy sản đến năm 2020, tầm nhìn 2030”, trong đó Cát Bà, Hải Phòng là một trong những khu vực quy hoạch nuôi cá lồng biển. Nuôi cá lồng biển tại Cát Bà, Hải Phòng phát triển mạnh mẽ từ những năm 2000, đã cung cấp cho thị trường khoảng 3.200-3.500 tấn cá/năm, chủ yếu là những đối tượng có giá trị kinh tế cao như cá song (*Epinephelus* spp.), cá giò (*Rachycentron canadum*), cá hồng mỹ (*Sciaenops ocellatus*), cá chẽm (*Lates calcarifer*), cá chim vây vàng (*Trachinotus blochii*), cá tráp (*Pagrus major*) và cá hồng bạc (*Lutjanus argentimaculatus*) [1].

Cá chim vây vàng có mặt lần đầu tiên ở châu Á vào đầu năm 1990 tại Singapore và phát triển mạnh ở Hồng Kông vào năm 1995, lan rộng đến Trung Quốc vào cuối năm 2000. Năm 2013, sản lượng cá chim vây vàng đạt trên 110.000 tấn (chủ yếu từ các nước Indonesia, Philippine, Ấn Độ, Malaysia, Việt Nam) và có xu hướng tăng trong tương lai. Việt Nam có sản lượng khoảng 700 tấn/năm với cỡ cá thu hoạch 700-1.000 g/con, thị trường xuất khẩu chính là

Mỹ, Hàn Quốc và Nhật Bản [2]. Tuy nhiên, nghề nuôi cá biển nói chung và nghề nuôi cá chim nói riêng đã và đang phải đối mặt với vấn đề dịch bệnh, trong đó nhiều nghiên cứu cho thấy bệnh do ký sinh trùng là mối nguy hại chính cho nghề nuôi cá biển công nghiệp. Trong danh mục 9 loại bệnh thường gặp ở cá chim vây vàng đã có 7 bệnh do ký sinh trùng gây ra [2]. Ký sinh trùng gây ảnh hưởng đến sức tăng trưởng của cá, làm giảm chất lượng sản phẩm thủy sản, thậm chí cá nuôi có hiện tượng chết hàng loạt. Ngoài ra, ký sinh trùng là nguyên nhân mở đường, tạo điều kiện cho các tác nhân khác xâm nhập vào cơ thể vật chủ như nấm, vi khuẩn, virus, gây thiệt hại lớn đến nghề nuôi thủy sản [3-5]. Vì vậy, mục đích của nghiên cứu này là phân tích thành phần giống loài, mùa vụ xuất hiện và mức độ cảm nhiễm ký sinh trùng trên cá chim vây vàng nhằm cung cấp thông tin cho công tác phòng trị và quản lý dịch bệnh trong nghề nuôi lồng ở vùng biển Hải Phòng nói riêng, vùng biển Việt Nam nói chung.

Địa điểm, thời gian và phương pháp nghiên cứu

Địa điểm, thời gian

Địa điểm nghiên cứu: thu mẫu cá chim vây vàng tại lồng nuôi ở vịnh Lan Hạ, Cát Bà, Hải Phòng. Các mẫu cá được kiểm tra ký sinh trùng tại địa điểm thu mẫu. Thời gian nghiên cứu từ tháng 6/2017 đến 5/2018.

*Tác giả liên hệ: Email: tmhanh@ria1.org

Status of parasitic infection on Pompano (*Trachinotus* spp) cage culture in Hai Phong

Thi My Hanh Truong*, Thi Yen Pham,
Thi Thanh Pham, Thi Nguyen Nguyen,
Xuan Truong Dao, Huu Nghia Nguyen, Thi Van Phan
Research Institute for Aquaculture No 1

Received 12 June 2018; accepted 1 August 2018

Abstract:

The study into parasitological agents infecting cage-cultured Pompano (*Trachinotus* spp) at Cat Ba island, Hai Phong City was carried out from June 2017 to May 2018. The results showed that there were 5 species of parasites, including *Trichodina* sp., *Cryptocaryon irritans*, *Pseudorhabdosynochus* sp., *Benedenia* sp., and *Caligus* sp., which infected Pompano. *Trichodina* sp. had the highest prevalence and intensity of 50.7% and 1-88 parasites/microscope field, respectively, followed by *Cryptocaryon irritant* (13.8% and 1-30 parasites/microscope field), *Pseudorhabdosynochus* sp. (3.8% and 1-10 parasites/microscope field), *Benedenia* sp. (6.3% and 1-7 parasites/fish), and the lowest as *Caligus* sp. (1.3% and 1-5 parasites/fish). *Trichodina* sp. were reported on Pompano from January to December while *Cryptocaryon irritant* and *Benedenia* sp. were found in March, April, July and March, April and August respectively; however, *Pseudorhabdosynochus* sp. and *Caligus* sp. just occurred one time in May and November, respectively.

Keywords: Cat Ba island, Hai Phong, parasite, pompano.

Classification number: 4.5

Phương pháp thu và phân tích mẫu

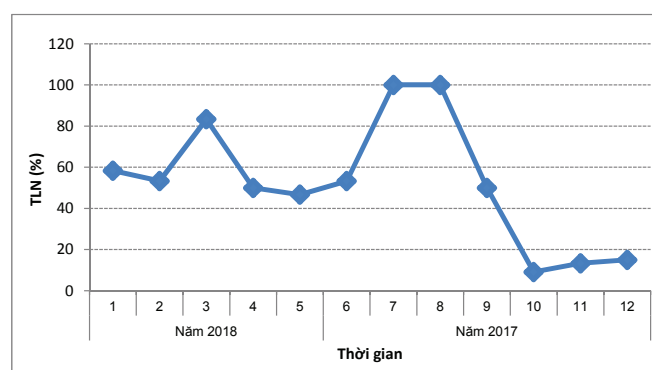
Tổng số 240 mẫu cá chim vây vàng thu ngẫu nhiên ở 48 lồng. Cá thu và phân tích có kích thước đa dạng, dao động từ 0,05 đến 1 kg, phụ thuộc vào thời điểm thả cá và chế độ chăm sóc cá của chủ lồng nuôi.

Phương pháp phân tích ký sinh trùng áp dụng theo Hà Kỳ và cs (2007) [6] và Võ Thế Dũng và cs (2012) [7] bằng cách lấy nhớt trên thân, vây, mang, ép tiêu bản tươi và quan sát dưới kính hiển vi (4X, 10X và 40X) đối với ngoại ký sinh, ngoài ra kiểm tra ngoại ký sinh có kích thước to ở xoang miệng, mắt, nắp mang... bằng mắt thường. Kiểm tra nội ký sinh bằng cách lấy dịch dạ dày, ruột và bất kỳ biểu hiện bất thường ở gan, thận và lách (như các nốt trắng, sần...) làm tiêu bản tươi quan sát dưới kính hiển vi (4X, 10X và 40X). Mức độ cảm nhiễm của ký sinh trùng được đặc trưng bởi tỷ lệ nhiễm (TLN) và CDN, được tính theo phương pháp của Margolis và cs (1982) [8]. Công thức tính như sau: TLN (%) = (Số mẫu nhiễm KST/Tổng số mẫu kiểm tra) x 100; CDN = Số ký sinh trùng/(cơ quan/lam/vi trường).

Kết quả nghiên cứu và thảo luận

Tình hình nhiễm ký sinh trùng ở cá chim vây vàng nuôi lồng tại Cát Bà, Hải Phòng và biểu hiện bệnh lý

Kết quả phân tích cho thấy, cá chim vây vàng nuôi tại Cát Bà, Hải Phòng nhiễm ký sinh trùng hầu hết các tháng trong năm, từ tháng 1 đến 12. Trong đó tháng 7 và 8 có TLN cao nhất (100%), tiếp đến tháng 3 (83%), tháng 4, 5, 6 và 9 dao động trong khoảng 49-59% và thấp nhất là tháng 10, 11, 12 với 10-15% (hình 1). Bên cạnh đó, kết quả phân tích từ 240 mẫu cá chim vây vàng (129 mẫu cá ở giai đoạn giống và 111 mẫu cá ở giai đoạn thương phẩm) cho thấy, các mẫu cá này có biểu hiện bệnh lý tương đối đa dạng, gồm không có dấu hiệu bất thường (109 mẫu) và có biểu hiện bất thường (131 mẫu) như cụt vây đuôi, vây bơi, xuất huyết gốc vây hậu môn, vây bơi, lở loét ở thân, mắt nhợt, màu sắc trên da không đồng đều... (bảng 1 và hình 2).



Hình 1. Tỷ lệ % mẫu cá chim vây vàng nhiễm ký sinh trùng ở các tháng trong năm.

Bảng 1. Dấu hiệu bệnh lý của cá chim vây vàng nuôi tại Cát Bà, Hải Phòng.

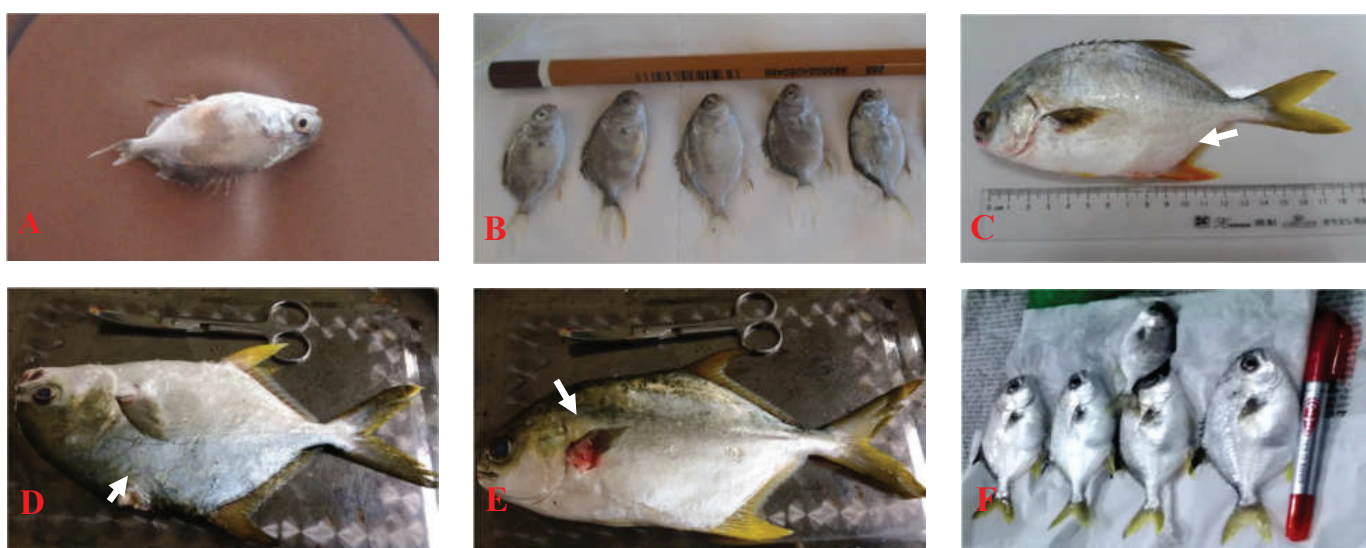
TT	Cỡ cá	Số mẫu (n)	Dấu hiệu bệnh lý
1	Giống	35	Màu sắc trên thân không đồng đều, chỗ sáng màu chỗ tối màu, mất nhớt
		41	Vây đuôi, vây bơi bị cụt, mất nhớt
		53	Thân sáng màu, không có dấu hiệu bệnh lý
2	Thương phẩm	44	Lở loét, xuất huyết gốc vây bơi, vây hậu môn
		11	Cong thân
		56	Không có dấu hiệu bệnh lý

Hiện nay, chưa có nghiên cứu nào công bố về mùa vụ xuất hiện bệnh ký sinh trùng ở cá chim vây vàng nuôi tại Việt Nam. Tuy nhiên, một số kết quả nghiên cứu bệnh ký sinh trùng ở cá biển nuôi tại Kiên Giang và Khánh Hòa nói chung đã được nêu ra, ví như: cá biển nuôi lồng có kết quả dương tính với ký sinh trùng ở hầu hết các tháng trong năm, đặc biệt TLN có xu hướng cao vào thời điểm giao mùa (tháng 3, 4) và ở các tháng mùa mưa (từ tháng 4 đến 11). Trong số các mẫu phân tích ký sinh trùng có từ 60,3 đến 88,0% các mẫu có dấu hiệu bệnh lý như xuất huyết, ghê lở, mòn vây, mù mắt, đốm trắng [9, 10]. Một nghiên cứu khác cũng đã nêu ra tỷ lệ cá nuôi nhiễm ký sinh trùng chịu ảnh

hưởng của nhiệt độ nước và mức độ phơi nhiễm ký sinh trùng, sau 60 ngày phơi nhiễm ký sinh trùng, TLN ký sinh trùng và CDN ký sinh trùng ở cá cao hơn có ý nghĩa khác biệt ở 22°C so với 18°C, qua đó nghiên cứu nhận định khi nhiệt độ tăng cao ảnh hưởng đáng kể đến tỷ lệ và CDN ký sinh trùng, nhiệt độ ảnh hưởng đến tốc độ phát triển ký sinh trùng, ngoài ra sự ẩm lên có thể có những tác động phức tạp đối với động lực ký sinh và kháng chủ [11]. Như vậy, qua kết quả nêu trên có thể nhận thấy kết quả nghiên cứu ký sinh trùng ở cá chim vây vàng nuôi tại Cát Bà, Hải Phòng có sự trùng hợp với các kết quả nghiên cứu ký sinh trùng ở cá biển trước đây, khi xác định tỷ lệ ký sinh trùng nhiễm ở cá cao trong năm ở 2 thời điểm: thời điểm giao mùa giữa mùa hè và thu ở miền Bắc (tháng 7-8) và ở thời điểm có nhiệt độ ẩm cao hơn thời gian có nhiệt độ lạnh (hình 1). Bên cạnh đó, một số biểu hiện bệnh lý điển hình cũng đã được ghi nhận ở cá chim vây vàng như cụt vây đuôi, vây hậu môn (hình 2).

Thành phần giống, loài ký sinh trùng nhiễm ở cá chim vây vàng nuôi lồng tại Cát Bà, Hải Phòng

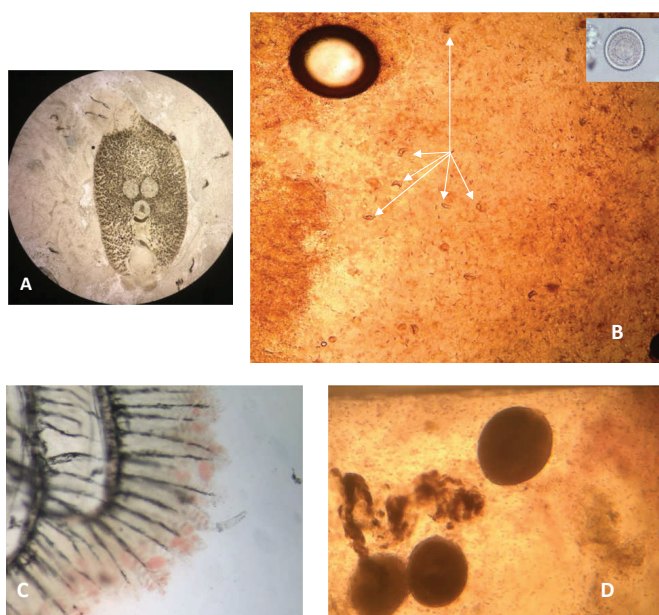
Kết quả nghiên cứu xác định có 5 loài ký sinh trùng ký sinh ở cá chim vây vàng nuôi tại Cát Bà, Hải Phòng, trong đó có 2 loài thuộc nhóm ký sinh trùng đơn bào (*Trichodina* sp. và *Cryptocaryon irritans*), 2 loài thuộc nhóm ký sinh trùng đa bào (*Pseudorhabdosynochus* sp. và *Benedenia* sp.) và 1 loài thuộc nhóm giáp xác (*Caligus* sp.) (bảng 2, hình 3). Tất cả 5 loài ký sinh trùng xác định trong nghiên cứu đều là các loài thuộc ngoại ký sinh.



Hình 2. Biểu hiện ngoài của mẫu cá chim vây vàng thu và phân tích (A: cá bị cụt vây đuôi, vây bơi, mất nhớt; B: màu sắc trên thân cá không đồng đều, mất nhớt; C: cá bị xuất huyết gốc vây hậu môn; D: cá bị loét; E: cá bị xuất huyết gốc vây; F: thân sáng màu, không có dấu hiệu bệnh lý).

Bảng 2. Thành phần loài ký sinh trùng nhiễm ở cá chim vây vàng.

TT	Giống	Loài	TLN (%)	CĐN	Đơn vị tính
Ký sinh trùng đơn bào (Protozoa)					
1	<i>Trichodina</i>	<i>Trichodina</i> sp.	50,7	37,1 (1-88)	Trùng/vi trường (10X)
2	<i>Cryptocaryon</i>	<i>Cryptocaryon irritans</i>	13,8	10,7 (1-30)	Trùng/vi trường (10X)
Ký sinh trùng đa bào (Metazoa)					
3	<i>Pseudorhabdosynochus</i>	<i>Pseudorhabdosynochus</i> sp.	3,8	5,5 (1-10)	Trùng/vi trường (10X)
4	<i>Benedenia</i>	<i>Benedenia</i> sp.	6,3	4 (1-7)	Trùng/cá thể
Giáp xác ký sinh (Crustacea)					
5	<i>Caligus</i>	<i>Caligus</i> sp.	1,3	3 (1-5)	Trùng/cá thể



Hình 3. Tiêu bản tươi ký sinh trùng (A: *Benedenia* sp.; B: *Trichodina* sp.; C: *Pseudorhabdosynochus* sp.; D: *Cryptocaryon irritans*).

Kết quả nghiên cứu cho thấy, trong số 5 loài ký sinh trùng, duy chỉ có 1 loài (*Trichodina* sp.) nhiễm ở cá chim vây vàng ở tất cả các tháng từ 1 đến 12, trong khi đó *Pseudorhabdosynochus* sp. và *Caligus* sp. bắt gặp ở một tháng lần lượt tương ứng là 5 và 11 (bảng 3).

Trichodina sp. được xác định nhiễm ở cá chim vây vàng nuôi lồng tại Cát Bà, Hải Phòng ở tất cả các tháng từ 1 đến 12, có TLN cao nhất (50,7%) và CĐN từ 1-88 trùng/vi trường (10X), đây là loài ký sinh trùng đã phát hiện nhiễm trên đa dạng loài cá nuôi biển như cá bớp, cá chẽm, cá mú với TLN 9,2-53,3% và CĐN 3-120 trùng/vi trường (10X) [4, 9, 12]. *Trichodina* sp. ký sinh ở mang gây ra hiện tượng sung huyết tia mang ảnh hưởng đến hô hấp của cá, đồng thời tạo cơ hội nhiễm trùng thứ cấp khác ảnh hưởng đến cá nuôi như vi khuẩn, vi rút và nấm.

Bảng 3. Thành phần loài ký sinh trùng nhiễm ở cá chim vây vàng theo tháng trong năm.

TT	Loài ký sinh trùng	Tháng trong năm 2018					Tháng trong năm 2017						
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1	<i>Trichodina</i> sp.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2	<i>Cryptocaryon irritans</i>	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-
3	<i>Pseudorhabdosynochus</i> sp.	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
4	<i>Benedenia</i> sp.	-	-	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-
5	<i>Caligus</i> sp.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-

Ghi chú: “+” nhiễm ký sinh trùng; “-” không nhiễm ký sinh trùng.

Cryptocaryon irritans bắt gặp nhiễm ở cá chim vây vàng phổ biến vào tháng 3, 4 và 9 với CĐN 1-30 trùng/vi trường (10X) (bảng 2 và 3). Kết quả này cũng phù hợp với ghi nhận của FAO khi chỉ ra *Cryptocaryon irritans* là 1 trong 9 bệnh xuất hiện ở cá chim vây vàng và cần kiểm soát [2]. Bên cạnh đó, *Cryptocaryon irritans* được biết đến với tên gọi là bệnh đốm trắng, chúng ký sinh gây bệnh nguy hiểm ở hầu hết các loài cá biển và gây thiệt hại nghiêm trọng [13]. Một số loài nuôi biển chủ lực ở Việt Nam đã xác định nhiễm *Cryptocaryon irritans* như cá mú, cá bớp, cá chẽm, cá hồng với tỷ lệ và CĐN lần lượt tương ứng 15,7-90,3% và 5-125 trùng/vi trường 10X [9, 10].

Pseudorhabdosynochus sp. bắt gặp nhiễm ở cá chim vây vàng vào tháng 5 với tỷ lệ và CĐN thấp lần lượt tương ứng 3,8% và 1-10 trùng/vi trường 10X (bảng 2 và 3). Hiện nay ở Việt nam đã xác định một số loài cá như mú đen, mú tiêu, mú mỡ nhiễm *Pseudorhabdosynochus* sp. với tỷ lệ cao từ 30,9-76,3% và cường độ 3-37 trùng/vi trường 10X, số ít có cường độ cao 90 trùng/vi trường [9, 10, 14]. Khi cá nhiễm bệnh nặng có hiện tượng kênh nắp mang, nhớt tiết nhiều đặc biệt ở vùng mang, người dân thường gọi là bệnh mũ mang hoặc bệnh kênh nắp mang, CĐN 0-7 trùng/lá mang không gây ra hiện tượng kênh/mũ mang [10]. Bên cạnh đó, một số nghiên cứu khác đã xác định có 2 yếu tố thuận lợi để *Pseudorhabdosynochus* sp. phát triển, bao gồm mật độ thả cá cao và hệ thống lưới lồng, do loài ký sinh trùng này có khả năng lây lan trực tiếp từ cá này sang cá khác, khi cá thể thành thực đẻ trứng nở ra và bám ngay ở ký chủ để sinh trưởng và phát triển, vì vậy mật độ cá nuôi cao là điều kiện thuận lợi để ký sinh trùng phát triển và lưới lồng là chất nền phù hợp nhất của ký sinh trùng vướng và bám vào [9, 15].

Nghiên cứu cũng đã ghi nhận *Benedenia* sp. với CĐN 1-7 trùng/cá thể và TLN đạt 6,3%, xuất hiện vào 3 thời điểm trong năm là tháng 3, 4 và 7 ở cá chim vây vàng nuôi tại Cát Bà, Hải Phòng (bảng 2 và 3). Đây là loài ký sinh trùng được xác định gây bệnh sán lá da trên cá biển nuôi lồng tại Khánh Hòa với tần suất bắt gặp ở cá mú (20/65), cá hồng (12/20), cá chẽm (3/25) và cá giò (2/4), CĐN 26-89 trùng/

cá thể. Người dân thường gọi là bệnh “mè cá”, chúng ký sinh ở thân cá, gây ra hiện tượng đục mắt, hoạt động bơi lội bất thường do ngứa ngáy [10]. Khi cá chìm vây vàng nuôi ở giai đoạn giống nhiễm *Benedenia* sp. với CĐN thấp 3-4 trùng/cá thể cũng là nguyên nhân gây cá chết với tỷ lệ cao, việc trị bệnh đạt hiệu quả khi sử dụng nước ngọt tắm cho cá 3-5 phút và hoạt động lặp lại sau 2 ngày, thực hiện trong 1 tuần [16], hơn nữa *Benedenia* sp. là 1 trong số 9 loài tác nhân gây bệnh có ảnh hưởng đến cá chim vây vàng do tổ chức FAO công bố [2].

Caligus sp. là loài ký sinh trùng thuộc giáp xác đã xác định ký sinh ở cá chim vây vàng vào tháng 11 với CĐN 1-5 trùng/cá thể, đây là loài ký sinh trùng được xác định nhiễm phổ biến ở cá nuôi lồng biển tại Malaysia và chúng ký sinh chủ yếu ở thân và các hốc nắp mang cá [17]. Đồng thời, đây là tác nhân gây bệnh có ảnh hưởng đến cá chim vây vàng nuôi được cảnh báo bởi tổ chức FAO [2]. *Caligus* sp. cũng đã được ghi nhận ký sinh ở cá mú và cá giò nuôi tại vùng biển Cát Bà, Hải Phòng và gây ảnh hưởng đến tỷ lệ sống của cá, đặc biệt ở giai đoạn giống [18].

KẾT LUẬN

Cá chim vây vàng nuôi lồng tại Cát Bà, Hải Phòng đã xác định nhiễm 5 loài ký sinh trùng, bao gồm *Trichodina* sp., *Cryptocaryon irritans*, *Pseudorhabdosynochus* sp., *Benedenia* sp. và *Caligus* sp.

Trùng đơn bào *Trichodina* sp. có tỷ lệ và CĐN cao nhất ở cá chim vây vàng lần lượt tương ứng 50,7% và 1-88 trùng/vi trường, tiếp đến là *Cryptocaryon irritans* (13,8% và 1-30 trùng/vi trường), *Pseudorhabdosynochus* sp. (3,8% và 1-10 trùng/vi trường), *Benedenia* sp. (6,3% và 1-7 trùng/cá thể) và thấp nhất là *Caligus* sp. (1,3% và 1-5 trùng/cá thể).

Trichodina sp. được ghi nhận nhiễm ở cá chim vây vàng từ tháng 1 đến 12, trong khi đó *Cryptocaryon irritans* và *Benedenia* sp. bắt gặp ký sinh ở cá chim vây vàng lần lượt trong tháng 3, 4, 7 và tháng 3, 4, 8, *Pseudorhabdosynochus* sp. và *Caligus* sp. xuất hiện 1 lần vào tháng 5 và 11.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu được thực hiện với sự hỗ trợ kinh phí từ tiểu dự án “Hiện đại hóa công nghệ sản xuất cá biển quy mô công nghiệp ở Việt Nam nhằm nâng cao sản lượng, chất lượng và vệ sinh an toàn thực phẩm”. Các tác giả xin chân thành cảm ơn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Nguyễn Ngọc Hưng và cs (2013), “Hiện trạng và giải pháp phát triển nghề nuôi cá lồng biển tại vịnh Cát Bà, Hải Phòng”, *Tạp chí Khoa học Công nghệ Thủy sản*, **4**, tr.120-125.
- [2] FAO (2015), *Cultured Aquatic Species Information Programme Trachinotus spp (T. carolinus, T. blochii)*.

[3] C.P. Lopez, et al. (2002), “Disease outbreak in farmed cobia (*Rachycentron canadum*) associated with *Vibrio* spp., *Photobacterium damsela* spp. Piscicida, monogenean and myxosporean parasites”, *Bull. Eur. Assoc. Fish Pathol.*, **22(3)**, pp.206-211.

[4] S. Ruckert, et al. (2008), “Parasite fauna of seabass (*Lates calcarifer*) under mariculture conditions in Lampung Bay, Indonesia”, *J. Appl. Ichthyol.*, **24**, pp.321-327.

[5] A. Shinn, et al. (2015), “Economic costs of protistan and metazoan parasites to global mariculture”, *Parasitology*, **142**, pp.196-270.

[6] Hà Kỳ và cs (2007), *Ký sinh trùng cá nước ngọt Việt Nam*, Nhà xuất bản Khoa học và kỹ thuật.

[7] Võ Thế Dũng và cs (2012), *Ký sinh trùng cá mú và cá chẽm ở Việt Nam*, Nhà xuất bản Nông nghiệp.

[8] L. Margolis, et al. (1982), “The Use of Ecological Terms in Parasitology (Report of an Ad Hoc Committee of the American Society of Parasitologists)”, *J. Parasitol.*, **68(1)**, pp.131-133.

[9] Từ Thanh Dung và cs (2017), “Hiện trạng nhiễm ký sinh trùng trên cá bớp (*Rachycentron canadum*) nuôi lồng ở tỉnh Kiên Giang”, *Tạp chí Khoa học, Đại học Cần Thơ*, **52**, tr.106-116.

[10] Đỗ Thị Hòa và cs (2008), “Các loại bệnh thường gặp trên cá biển nuôi lồng ở Khánh Hòa”, *Tạp chí Khoa học Công nghệ Thủy sản*, **2**, tr.16-24.

[11] D.J. Sheath, et al. (2016), “Interactions of warming and exposure affect susceptibility to parasite infection in a temperate fish species”, *Parasitology*, **143**, pp.1340-1346.

[12] T.S. Leong, et al. (1986), *Parasite fauna of seabass, Lates calcarifer Bloch, from Thailand and from floating cage culture in Penang, Malaysia, Manila, Philippines*.

[13] C.K. Khoo (2012), “Cryptocaryon irritans infection induces the acute phase response in *Lates calcarifer*: A transcriptomic perspective”, *Fish Shellfish Immunol.*, **33**, pp.788-794.

[14] Võ Thế Dũng (2010), *Động vật ký sinh ở cá mú thuộc giống Epinephelus*, Luận án tiến sĩ, Thư viện Quốc gia TP Hồ Chí Minh.

[15] K. Ogawa, H. Yokoyama (1998), “Parasitic Diseases of Cultured Marine Fish in Japan”, *Fish Pathol.*, **33**, pp.303-309.

[16] Nguyễn Đức Bình và cs (2016), “Giám sát chủ động môi trường và bệnh cá, nhằm đưa ra các giải pháp tăng tỷ lệ sống cho cá nuôi quy mô công nghiệp thuộc Trang trại nuôi cá lồng biển tại vịnh Vân Phong, Khánh Hòa”, *Báo cáo tổng kết Dự án Nâng cao năng lực nghiên cứu đào tạo khuyến ngư cho Viện Nghiên cứu nuôi trồng thủy sản 1, pha 3: Nâng cao năng lực nghề nuôi cá biển tại Việt Nam (mã số SRV-11/0027)*.

[17] B.A.V. Maran (2009), “Records of *Caligus* (crustacea: Copepoda: Caligidae) from marine fish cultured in floating cages in Malaysia with a redescription of the male of *Caligus longipedis* Bassett-Smith, 1898”, *Zool. Stud.*, **48(6)**, pp.797-807.

[18] Phan Thị Vân và cs (2006), “Nghiên cứu tác nhân gây bệnh phổ biến ở cá mú, cá giò và đề xuất giải pháp phòng trị bệnh”, *Báo cáo tổng kết đề tài cấp bộ thực hiện năm 2003-2005*, Viện Nghiên cứu nuôi trồng thủy sản 1.

Hiện trạng nuôi tôm hùm lồng bè tập trung và chất lượng môi trường nước tại vịnh Xuân Đài, tỉnh Phú Yên

Hoàng Thị Mỹ Hương¹, Trần Thị Kim Nhung¹, Tôn Thất Khoa¹,
Lê Quang Hiệp², Nguyễn Phú Hòa^{1*}

¹Trường Đại học Nông Lâm TP Hồ Chí Minh

²Trung tâm Giống và Kỹ thuật Thủy sản tỉnh Phú Yên

Ngày nhận bài 31/5/2018; ngày chuyển phản biện 5/6/2018; ngày nhận phản biện 10/7/2018; ngày chấp nhận đăng 14/7/2018

Tóm tắt:

Hiện trạng nuôi tôm hùm lồng bè được tiến hành điều tra dựa trên phiếu khảo sát có sự tham gia của cộng đồng (PRA) tại vịnh Xuân Đài, tỉnh Phú Yên. Kết quả điều tra cho thấy, nghề nuôi tôm hùm có 3 hình thức: nuôi trong lồng treo, lồng chìm và kết hợp cả hai hình thức. Kinh nghiệm nuôi của người dân từ 10-20 năm chiếm 54%. Số lồng nuôi đang ngày một tăng lên đáng kể. Người dân sử dụng thức ăn tươi hoàn toàn (như cá tạp, ghẹ) để cho tôm hùm ăn. Phần lớn thức ăn thừa không được thu gom đưa lên bờ. Tiến hành khảo sát, đo đạc chất lượng nước nuôi tôm hùm tại địa điểm nghiên cứu trong 12 đợt khảo sát kéo dài 4 tháng, kết quả cho thấy chất lượng nước, đặc biệt là ở tầng đáy, đang diễn biến ngày càng xấu hơn. Cụ thể là nhiệt độ, pH, độ mặn, DO hầu như ổn định trong thời gian khảo sát và nằm trong giới hạn cho phép, nhưng độ trong có sự biến động khá lớn từ đợt 1 đến đợt 8 so với các đợt thu mẫu khác. Nồng độ ammonia (NH_3) hầu hết vượt tiêu chuẩn cho phép, đặc biệt là ở tầng đáy. Nồng độ nitrite (NO_2^-) có xu hướng tăng ở tầng đáy. Nồng độ nitrate (NO_3^-) hầu như ổn định. Giá trị nitơ tổng ở tầng đáy tương đối cao hơn các tầng còn lại, thấp nhất ở mức 0,1 mg/l và cao nhất là 0,2 mg/l. Nồng độ PO_4^{3-} hòa tan có sự dao động lớn tại tầng mặt, tầng giữa và tầng đáy, tăng cao nhất là đợt 4. Nồng độ phospho tổng giữa các tầng hầu hết đều vượt tiêu chuẩn cho phép và diễn biến theo chiều hướng xấu.

Từ khóa: chất lượng nước, nuôi lồng bè, tôm hùm.

Chỉ số phân loại: 4.5

Đặt vấn đề

Phú Yên là tỉnh ven biển Nam Trung Bộ với chiều dài bờ biển 189 km, có nhiều dãy núi nhô ra biển làm hình thành các đầm, vịnh, trong đó có vịnh Xuân Đài. Vịnh Xuân Đài nằm ở phía bắc tỉnh Phú Yên với diện tích khoảng 90 km², cửa vịnh rộng 4,5 km. Đây là một vùng sinh thái đa dạng, với tiềm năng rất lớn về nuôi trồng và khai thác thủy sản. Sự đa dạng sinh học và năng suất sinh học cao tạo điều kiện thuận lợi cho phát triển nghề nuôi trồng thủy sản với các loại hải sản có giá trị cao như: tôm hùm, cá mú, cá bớp... Trong đó, tôm hùm là đối tượng nuôi có giá trị kinh tế rất cao, được hình thành từ những năm 1990 [1, 2] và đến nay đã phát triển rầm rộ, đưa vịnh Xuân Đài trở thành vùng nuôi tôm hùm tập trung, trọng điểm của tỉnh, mang lại lợi ích đáng kể cho người nuôi [3]. Tuy nhiên, việc phát triển nuôi trồng thủy sản một cách ồ ạt, không theo sự quy hoạch, phương thức nuôi lạc hậu đã làm nảy sinh nhiều vấn đề gây bất lợi cho người nuôi tôm, như môi trường ngày càng ô nhiễm, tình hình dịch bệnh ngày càng gia tăng [4].

Theo báo cáo năm 2014, toàn tỉnh có 21.092 lồng ương

nuôi tôm hùm giống, trong đó, thị xã Sông Cầu có 19.772 lồng, tập trung chủ yếu xen canh trong các bè nuôi tôm thương phẩm. Huyện Tuy An có 1.320 lồng, tập trung chủ yếu ở 2 xã có nghề ương nuôi tôm hùm là An Chấn và An Hòa. Mật độ lồng nuôi tăng so với quy định, dẫn đến chất thải từ hoạt động nuôi tôm hùm và chất thải từ việc cải tạo ao đĩa nuôi tôm nước lợ thải vào các vùng nuôi tôm hùm làm chất lượng nước ngày càng xấu, trầm tích tại các đầm, vịnh đang ở mức báo động, gây nên hiện tượng thiếu oxy cục bộ tại một số vùng nuôi tôm hùm ở Phú Yên. Vì vậy, việc điều tra thực trạng nuôi tôm hùm và đánh giá chất lượng môi trường nước nuôi là rất cần thiết.

Phương pháp nghiên cứu

Nghiên cứu thực hiện điều tra khảo sát tại 2 vùng nuôi tôm hùm lồng bè tập trung là xã Xuân Phương và phường Xuân Yên, thị xã Sông Cầu, tỉnh Phú Yên từ tháng 7/2016 đến tháng 11/2016 đối với số liệu điều tra về thông tin người nuôi.

Số liệu thứ cấp về điều kiện tự nhiên và kinh tế - xã hội

*Tác giả liên hệ: Email: phuhoa@hcmuaf.edu.vn

Investigating the status of centralised lobster cage culture and water environment quality at Xuan Dai bay, Phu Yen province

Thi My Huong Hoang¹, Thi Kim Nhung Tran¹,
That Khoa Ton¹, Quang Hiep Le², Phu Hoa Nguyen^{1*}

¹Nong Lam University, Ho Chi Minh City

²Aquaculture Species and Technical Center of Phu Yen Province

Received 31 May 2018; accepted 14 July 2018

Abstract:

The status of lobster cage farming was investigated basing on Participatory Rural Appraisal (PRA) at Xuan Dai bay, Phu Yen province. The survey showed that lobster cage farming had the three types: rearing in suspending cages, rearing in settling cages, and combining both the above forms. The experience of farmers from 10 to 20 years accounted for 54%. The number of cages had been increasing significantly. Farmers used live food (such as trash fish, swimming crab, green mussel, and other bivalve mollusc) to feed lobster. Most of the leftover food was not collected ashore. When collecting and analysing the water quality parameters at the lobster farming areas for 12 times during 4 months, the results showed that the water quality, especially in the bottom layer, was getting worse. During the investigation, temperature, pH, salinity, DO were almost stable and within the allowable limits. But the turbidity fluctuated widely from 1st time to 8th time as compared to the other sample collecting times. Ammonia (NH₃) concentrations exceeded the allowable standard, especially in the bottom. Nitrite (NO₂⁻) concentrations tended to rise at the bottom. Nitrate (NO₃⁻) levels were almost stable. Total nitrogen in the bottom layer was relatively higher than the other layers; the lowest was 0.1 mg/l and highest was 0.2 mg/l. The dissolved PO₄³⁻ concentration had a large variation in the surface, middle, and bottom layers, and reached the highest in the 4th time of sample collecting. Total phosphorus concentrations at most of the layers were above the allowed standard and evolved in a bad direction.

Keywords: cage culture, lobster, water quality.

Classification number: 4.5

của vùng được thu thập thông qua các báo cáo của các sở, ban, ngành tại tỉnh Phú Yên. Sử dụng phương pháp điều tra có sự tham gia của cộng đồng (PRA) bằng các phiếu điều tra. Số lượng phiếu điều tra là 115 (60 phiếu ở xã Xuân Phương và 55 phiếu ở phường Xuân Yên) dành cho người dân nuôi tôm hùm nhằm thu thập thông tin chung về người nuôi, kỹ thuật nuôi và những khó khăn, hạn chế trong quá trình nuôi tôm. Hình thức điều tra là phỏng vấn trực tiếp các cán bộ phụ trách và người dân nuôi tôm hùm.

Về chất lượng nước vùng nuôi, tiến hành đo đạc và lấy mẫu từ tháng 7/2017 đến tháng 10/2017. Trong đó, các chỉ tiêu đo tại hiện trường bao gồm: pH, DO, độ mặn (S‰), độ trong và nhiệt độ, ngày 2 lần (sáng và chiều); thu mẫu nước tầng đáy, tầng giữa và tầng mặt, định kỳ 10 ngày/đợt, thời gian thu mẫu 4 tháng (12 đợt); các chỉ tiêu được phân tích tại phòng thí nghiệm gồm: NH₃, NO₃⁻, NO₂⁻, PO₄³⁻, nitơ tổng (TN), phospho tổng (TP) theo APHA, 2005.

Số liệu được xử lý với chương trình Excel 2.0 và phần mềm SPSS 22 thông qua các phương pháp thống kê mô tả dùng phân tích định tính cho các chỉ tiêu như: tần suất, trung bình và tỷ lệ phần trăm; phân tích định lượng gồm các giá trị: trung bình, lớn nhất, nhỏ nhất và độ lệch chuẩn; phân tích phương sai một nhân tố (ANOVA, Duncan - test) hoặc kiểm định mẫu độc lập (independent - test).

Kết quả và thảo luận

Kết quả khảo sát hiện trạng nuôi tôm hùm lồng bè tại vịnh Xuân Đài

Hiện nay, thị xã Sông Cầu có khoảng 1.000 ha diện tích mặt biển được sử dụng để nuôi tôm hùm. Sản lượng tôm hùm thương phẩm vào khoảng 400-500 tấn/năm, chiếm gần 70% sản lượng của toàn tỉnh. Trong đó, vùng nuôi tôm hùm thuộc xã Xuân Phương có số lượng đã lên đến gần 8.750 lồng với hơn 1,5 triệu con tôm. Tại vùng nuôi tôm thuộc phường Xuân Yên có khoảng 13.000 lồng tôm hùm với số lượng tôm nuôi lên đến gần 2 triệu con [5].

Vùng nuôi tôm hùm lồng bè tại xã Xuân Phương có diện tích 491,7 ha với dân số khoảng 4.325 người, 1.019 hộ, bình quân khoảng 4-5 người/hộ. Trong đó, số hộ có hoạt động nuôi tôm hùm là khoảng 643, chiếm tỷ lệ khoảng 63,1%. Phường Xuân Yên có diện tích khoảng 123,4 ha với dân số 4.000 người, 2.031 hộ, bình quân khoảng 2 người/hộ. Trong đó, số hộ có hoạt động nuôi tôm hùm là 315, chiếm tỷ lệ 15,5%, khoảng 6.300 lồng [5].

Số người tham gia nuôi tôm hùm được khảo sát (n=115) cho biết, nghề nghiệp chính của các hộ được điều tra, khảo sát là nuôi tôm hùm thương phẩm, trong đó xã Xuân Phương chiếm tỷ lệ 100%, phường Xuân Yên chiếm 98%. Trong số đó, có khoảng 10% các hộ có nghề phụ gồm nuôi trồng, khai thác thủy hải sản...

Hình thức nuôi: theo kết quả khảo sát, tại xã Xuân Phương, 100% người nuôi được khảo sát cho biết nuôi tôm hùm bằng hình thức nuôi lồng treo trên các phi nhựa. Tại phường Xuân Yên, người dân nuôi tôm theo 3 hình thức, trong đó 20 người nuôi theo hình thức nuôi găm (lồng thả chìm xuống cách đáy 0,5-1 m), chiếm tỷ lệ 36,4%; 25 người nuôi lồng treo (treo lồng trên các bè nổi hoặc treo trên các phi nhựa), chiếm 45,5% và 10 người nuôi bằng cả hai phương pháp, chiếm tỷ lệ 18,1%. Như vậy, hình thức nuôi lồng treo tại địa điểm nghiên cứu chiếm đại đa số. Hình thức nuôi găm (lồng chìm) và kết hợp 2 hình thức chỉ được áp dụng tại phường Xuân Yên. Theo Phạm Trường Giang [6], các hình thức nuôi này cũng tương ứng với tỉnh Bình Định và các khu vực khác thuộc tỉnh Phú Yên. Tại các tỉnh Khánh Hòa, Ninh Thuận và Bình Thuận, người nuôi tôm không sử dụng hình thức nuôi tôm bằng lồng chìm.

Số lồng nuôi: nhìn chung, tại cả xã Xuân Phương và phường Xuân Yên, nghề nuôi tôm hùm lồng cần rất nhiều vốn đầu tư, từ con giống, thức ăn đến chi phí lồng bè. Theo kết quả điều tra, 100% số hộ cho biết số lồng ban đầu thả nuôi chỉ từ 1-5, sau đó tăng dần theo thời gian. Trung bình người nuôi có số lồng nhỏ hơn 10 là 27 hộ, chiếm tỷ lệ 23,5%; người nuôi có số lồng từ 10 đến dưới 20 là 41 hộ, chiếm tỷ lệ 35,6%; người nuôi từ 20 đến dưới 30 lồng là 20 hộ, chiếm tỷ lệ 17,4%; người nuôi có số lồng trên 30 là 27 hộ, chiếm tỷ lệ 23,5%. Như vậy, theo Phạm Trường Giang [6], trung bình số lồng nuôi tại địa điểm nghiên cứu nằm ở mức trung bình (22 lồng/người) so với các tỉnh lân cận 14 lồng/người (Bình Định), 33 lồng/người (Khánh Hòa), 23 lồng/người (Ninh Thuận và Bình Thuận).

Thời gian, kinh nghiệm nuôi tôm hùm: theo kết quả khảo sát, tại xã Xuân Phương, 100% người nuôi có nghề nghiệp chính là nuôi tôm hùm. Trong đó, số hộ có nghề nghiệp phụ là khai thác thủy sản hoặc làm nông nghiệp chiếm tỷ lệ 10%. Tại phường Xuân Yên, 98% người nuôi có nghề nghiệp chính là nuôi tôm hùm, 1 hộ có nghề nghiệp chính là giáo viên, chiếm tỷ lệ là 0,2%. 9% người nuôi có nghề nghiệp phụ là khai thác thủy sản hoặc làm nông nghiệp. Kết quả điều tra cho thấy, các hộ dân nuôi tôm ở xã Xuân Phương và phường Xuân Yên có kinh nghiệm trong nghề nuôi tôm hùm lồng khá lâu, 54% số hộ nuôi tôm từ 10-20 năm.

Số vụ nuôi và nguồn giống: kết quả khảo sát tại 2 xã/phường đều cho thấy: 100% hộ được điều tra cho biết chỉ nuôi 1 vụ tôm/năm với sản phẩm là tôm hùm thương phẩm. Giống tôm hùm người dân tại hai xã/phường đang nuôi chủ yếu là 3 loài: tôm hùm bông (tôm hùm sao), tôm hùm đá (tôm hùm xanh) và tôm hùm đỏ (tôm hùm sồi). Tại xã Xuân Phương, số người nuôi tôm hùm bông là 60, chiếm 100%; nuôi tôm hùm xanh là 17, người chiếm 28,3% và tôm hùm đỏ là 1, chiếm 1,7%. Tại phường Xuân Yên, số người nuôi tôm hùm bông là 46, chiếm 83,6%; nuôi tôm hùm xanh là 43, chiếm 78,2% và tôm hùm đỏ là 27, chiếm 49,1%.

Bảng 1. Nguồn giống và con giống.

TT	Nội dung khảo sát	Xã Xuân Phương		Phường Xuân Yên		Tổng	
		Số người	Tỷ lệ (%)	Số người	Tỷ lệ (%)	Số người	Tỷ lệ (%)
1.	<i>Nguồn cung cấp giống:</i>						
	- Tại địa phương	35	58,3	20	36,4	55	47,8
	- Khu vực lân cận	41	68,3	40	72,7	81	67,9
	- Giống nước ngoài	12	20	15	27,2	25	21,7
2.	<i>Con giống:</i>						
	- Tôm hùm bông	60	100	46	83,6	106	92,2
	- Tôm hùm xanh	17	28,3	43	8,2	60	52,2
	- Tôm hùm đỏ	1	1,7	27	49,1	28	24,3

Nguồn: kết quả tổng hợp điều tra, khảo sát năm 2016.

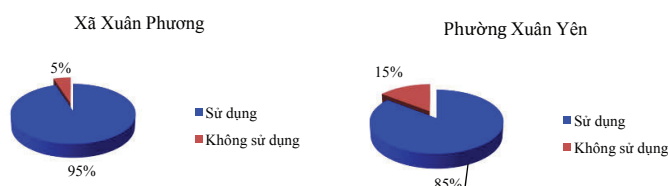
Hiện tại, nguồn giống tại địa phương không đủ cung cấp cho nhu cầu nuôi tôm hùm nên người nuôi thu mua từ nhiều nguồn khác nhau tại địa phương, giống ngoài tỉnh và giống nước ngoài (bảng 1). Điều này tương tự với các tỉnh lân cận như Quảng Ngãi, Khánh Hòa, Bình Định [7].

Tại Bình Định, mùa vụ thả giống tôm thương phẩm cũng từ tháng 11 đến tháng 4 năm sau, mật độ 50-200 con/m², thời gian nuôi 12-18 tháng. Tại Khánh Hòa, mùa vụ từ tháng 11 đến tháng 3 năm sau, mật độ 50-200 con/m², thời gian nuôi 12-18 tháng. Tại Ninh Thuận, mùa vụ thả nuôi từ tháng 1 đến tháng 4 hàng năm, mật độ 50-200 con/m², thời gian nuôi 12-18 tháng. Nhìn chung, thời điểm thả giống, thời gian nuôi và mật độ thả giống không có sự khác biệt nhiều giữa các khu vực [8].

Nguồn thức ăn: 100% nguồn thức ăn nuôi tôm hùm là thức ăn tươi sống được mua và tự khai thác. Thức ăn tươi là cá tạp, các loại giáp xác như cua, ghẹ, nhuyễn thể như vẹm xanh, ốc, sò và một số nhuyễn thể hai mảnh vỏ khác. Theo kết quả điều tra, tại xã Xuân Phương có 56 người (chiếm tỷ lệ 93,3%) là mua thức ăn cho tôm hùm và có 4 người (chiếm 6,7%) là sử dụng cả mua thức ăn và nguồn thức ăn tự khai thác. Tại phường Xuân Yên, kết quả điều tra cho thấy có 50 người (90,9%) mua thức ăn và tự khai thác, không có hộ nào tự khai thác đủ thức ăn để nuôi tôm. Cũng theo tác giả Phạm Trường Giang [6], Võ Văn Nha [9], các hộ nuôi tôm hùm tập trung tại Khánh Hòa và Phú Yên đều gặp khó khăn trong việc tìm kiếm thức ăn tươi sống. Riêng tại Bình Thuận, do không phải là vùng nuôi tập trung và có nguồn cá tạp dồi dào nên thuận lợi hơn. Lượng thức ăn cung cấp cho tôm hùm gồm 3 giai đoạn: từ tôm giống (tôm trắng) đến cỡ 100 g/con: khoảng 1-3 kg/lồng/ngày; từ 100-500 g/con: khoảng 6-8 kg/lồng/ngày; từ 500-1.000 g/con khoảng từ 8-10 kg/lồng/ngày. Như vậy, lượng thức ăn cung cấp cho tôm hùm ở xã Xuân Phương ước tính trung bình là 48.900 kg/ngày (gần 49 tấn/ngày) (8 kg/ngày*6.114 lồng); lượng thức ăn cung cấp cho tôm hùm ở phường Xuân Yên ước tính trung bình là 50.400 kg/ngày (khoảng 50 tấn/ngày) (8

kg/ngày*63.00 lồng).

Việc sử dụng các loại hoá chất, thuốc thú y trong quá trình nuôi: theo kết quả khảo sát tại 2 xã/phường, trường hợp tôm bị bệnh, người nuôi sử dụng thuốc kháng sinh và các loại vitamin dành cho người vào quá trình điều trị bệnh hoặc phòng bệnh trên tôm hùm do giá thành thấp và hiệu quả cao hơn. Cụ thể, tại xã Xuân Phương có 5% hộ không sử dụng bất kỳ loại thuốc nào trong quá trình nuôi tôm và tại phường Xuân Yên có 15% không sử dụng bất kỳ loại thuốc nào trong quá trình nuôi tôm (hình 1).



Hình 1. Tỷ lệ sử dụng hoá chất, thuốc thú y.

Theo kết quả nghiên cứu của Chi cục Nuôi trồng Thủy sản Khánh Hòa [7], người nuôi sử dụng thuốc kháng sinh trong quá trình nuôi và phòng bệnh định kỳ 2 lần/tháng. Kết quả nghiên cứu của Võ Văn Nha [9] cũng cho thấy, việc sử dụng kháng sinh trong điều trị bệnh trên tôm hùm rất phổ biến (85%). Theo Phạm Trường Giang [6], tỷ lệ sử dụng thuốc kháng sinh là 100% người nuôi (Bình Định), Khánh Hòa là 85,6%, Ninh Thuận 85% và Bình Thuận 25%.

Kết quả theo dõi chất lượng môi trường nước tại vùng nuôi

Hiện nay, chất lượng nước tại vùng nuôi tôm hùm diễn biến ngày càng xấu bởi hoạt động nuôi trồng thủy sản quá mức (trung bình tăng thêm khoảng 5 lồng/ha/năm [5]). Các thông số được xem xét bao gồm pH, nhiệt độ, độ mặn, độ trong, hàm lượng oxy hòa tan (DO) và các chất dinh dưỡng vô cơ như ammonia, nitrate, nitrite, nitơ tổng, phosphate và phospho tổng [10, 11]. Theo kết quả khảo sát, nguyên nhân chính gây ảnh hưởng đến chất lượng nước là từ chất thải sinh hoạt của người nuôi và chất thải từ hoạt động nuôi tôm hùm (chất thải của tôm, xác tôm lột, thức ăn thừa...).

Tình hình xử lý thức ăn thừa: tại khu vực tiến hành khảo sát, có 18,3% số người được điều tra cho biết có xử lý lượng thức ăn tươi sống thừa trong các lồng nuôi và có 81,7% số người được điều tra là không thu gom. Thức ăn thừa, các xác vỏ giáp xác và nhuyễn thể sẽ được thu gom trong lồng rồi thải trở lại vịnh ngay tại khu vực nuôi tôm hùm. Kết quả điều tra của Phạm Trường Giang [6] cũng cho thấy, tại các tỉnh lân cận, tỷ lệ người nuôi xử lý thức ăn thừa là khá thấp. Cụ thể, tại Khánh Hòa có 48,7% người nuôi thu gom và mang lên bờ xử lý. Tại Bình Thuận, 86,7% thải bỏ thức ăn thừa, rác thải tại khu vực nuôi. Tại Bình Định, 57,7% không

thu gom chất thải và thức ăn thừa.

Tình hình chất lượng nước vùng nuôi: chất lượng nước vùng nuôi tôm hùm lồng bè tại địa điểm nghiên cứu được đánh giá qua 12 đợt khảo sát, đo đạc trong 4 tháng, từ tháng 7/2017 đến tháng 10/2017. Trong đó, các chỉ tiêu đo tại hiện trường được tính từ giá trị trung bình trong ngày, đo 2 lần (8h sáng và 15h chiều) và trung bình của 12 đợt, bao gồm: pH đo bằng test kit, DO đo bằng máy đo cầm tay, độ mặn (‰) đo bằng khúc xạ kế thang đo 100, độ trong đo bằng đĩa Secchi và nhiệt độ đo bằng nhiệt kế thang đo 100 với sai số 0,1°C. Kết quả đo đạc được thống kê trong bảng 2.

Bảng 2. Kết quả đo đạc các chỉ tiêu chất lượng nước tại hiện trường.

Chỉ tiêu	pH	Nhiệt độ (°C)	Độ mặn (‰)	DO (mg/l)	Độ trong (m)	Vị trí đo đạc
Giá trị						
Trung bình	8,6	29,1	32,2	5,2	0,96	
Cực đại	8,7	29,5	33,3	5,4	1,13	Tại khu vực bè nuôi tôm hùm số 153/T6 phường Xuân Yên, thị xã Sông Cầu, Phú Yên
Cực tiểu	8,5	28,7	31,0	5,2	0,54	
Số mẫu	12	12	12	12	12	
QCVN 10:2015/ BTNMT	6,5-8,5	-	-	≥ 5	-	

Ghi chú: “-”: không quy định.

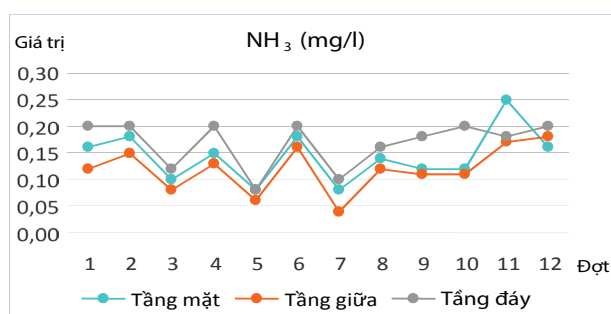
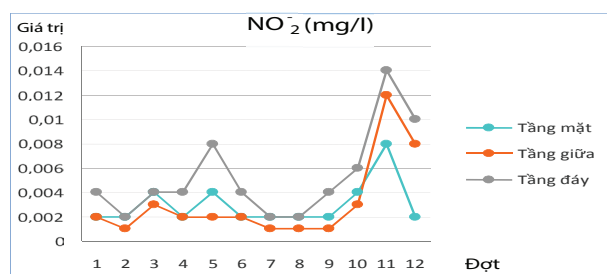
Theo bảng 2, các chỉ tiêu về nhiệt độ, pH, độ mặn, DO hầu như ổn định, không biến động nhiều trong ngày, trong thời gian khảo sát và nằm trong giới hạn cho phép theo QCVN 10:2015/BTNMT. Theo Nguyễn Hữu Hào [12], nhiệt độ từ 24-31°C, độ mặn từ 30-35‰ là điều kiện phù hợp để nuôi tôm hùm. Nồng độ oxy hòa tan (DO) tại 12 đợt đều có giá trị >5 mg/l, đảm bảo giới hạn cho phép. Độ pH dao động từ 8,5 đến 8,7 cao hơn mức quy định theo QCVN 10:2015/ BTNMT về chất lượng nước biển vùng ven bờ nhưng không đáng kể. Riêng độ trong có sự biến động khá lớn giữa các đợt 1 đến đợt 8 so với đợt 10 đến đợt 12, dao động từ 0,54 đến 1,13 m. Các nghiên cứu của M. Vijayakumaran và cộng sự [13] tại Ấn Độ cho thấy, các thông số chất lượng nước nuôi tôm hùm lần lượt có pH từ 8,0 đến 8,4, nhiệt độ dao động từ 26,9 đến 32,5°C, độ mặn từ 33-36‰. Nghiên cứu của Wickins và Lee [14] tại châu Âu cũng cho thấy, pH dao động từ 7,8-8,2, nhiệt độ dao động từ 18 đến 22°C, độ mặn từ 28-35‰, nồng độ DO là 6,4 mg/l.

Nồng độ ammonia (NH_3), nitrit (NO_2^-) và nitrat (NO_3^-), nitơ tổng, phospho tổng được lấy mẫu ở 3 tầng tại cùng vị trí. Trong đó, mẫu nước tầng đáy và tầng giữa được thực hiện bằng phương pháp lặn trực tiếp. Mẫu nước tầng mặt được lấy cách mặt nước 1 m. Mỗi chỉ tiêu lặp lại từ 1-3 lần/mẫu. Kết quả trình bày tại bảng 3 là được tính từ giá trị trung bình giữa 3 tầng gồm tầng đáy, tầng giữa và tầng mặt và trung bình của 12 đợt, định kỳ 10 ngày/đợt trong thời gian thu mẫu 4 tháng và xử lý bằng phần mềm Excel 2.0.

Bảng 3. Kết quả phân tích các chỉ tiêu chất lượng nước.

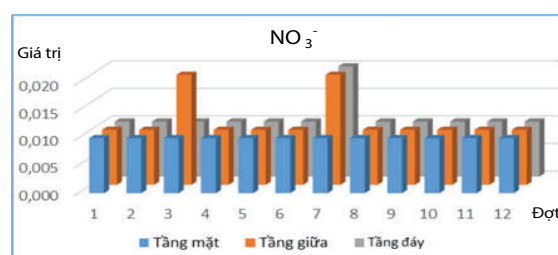
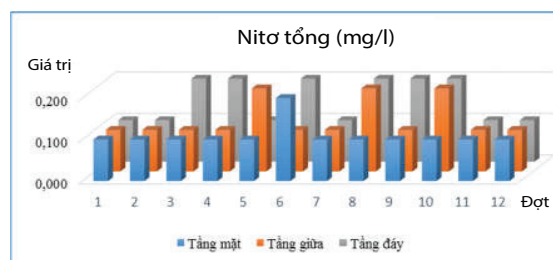
Chỉ tiêu	NH ₃ (mg/l)	NO ₂ ⁻ (mg/l)	NO ₃ ⁻ (mg/l)	Nitơ tổng (mg/l)	PO ₄ ³⁻ (mg/l)	Phospho tổng (mg/l)	Vị trí lấy mẫu
Giá trị							
Trung bình	0,14	0,0038	0,011	0,128	0,064	0,27	
Cực đại	0,20	0,0113	0,017	0,167	0,117	0,36	Tại khu vực bể nuôi tôm hùm số 153/
Cực tiểu	0,07	0,0017	0,010	0,100	0,027	0,20	T6 phường Xuân Yên, thị xã Sông Cầu,
Số mẫu	12	12	12	12	12	12	Phú Yên
QCVN 10:2015/ BTNMT	<0,1	-	-	-	-	0,2	

Sự biến động của nồng độ NH₃, NO₂⁻ qua 12 đợt khảo sát thể hiện như sau:

**Hình 2. Biến động nồng độ NH₃.****Hình 3. Biến động nồng độ NO₂⁻.**

Kết quả phân tích thể hiện trong hình 2 và 3 cho thấy, nồng độ ammonia (NH₃) có giá trị từ 0,07 đến 0,20 mg/l, hầu hết vượt tiêu chuẩn cho phép theo QCVN 10:2015/BTNMT, cao hơn mức tối ưu so với khu vực châu Âu là 0,14 mg/l (Wickins & Lee) [14]. Đặc biệt, tại tầng đáy có 8/12 mẫu vượt tiêu chuẩn cho phép từ 2 lần trở lên. Nồng độ nitrit có xu hướng tăng ở tầng đáy. Trong đó, các đợt 10, 11 và 12 (tháng 12), nồng độ nitrit tăng rất cao, gấp 4 đến 7 lần so với các đợt còn lại.

Tại vùng nuôi, nồng độ nitrat nhìn chung hầu như ổn định, không có sự biến động lớn (hình 4). Tuy nhiên, tại đợt 3 và đợt 7, nồng độ nitrat tăng gấp 2 lần so với các đợt còn lại do ảnh hưởng của việc xả thải từ hoạt động khai thác tôm thẻ chân trắng, ốc hương và quá trình cải tạo ao nuôi. Kết quả này cũng tương tự với nghiên cứu về chất lượng nước biển ven bờ khu vực phía Bắc dao động từ 0,008 đến 0,019 mg/l [15]. Hiện tại, QCVN 10:2015/BTNMT không quy định về nồng độ nitrit, nitrat trong nước biển ven bờ.

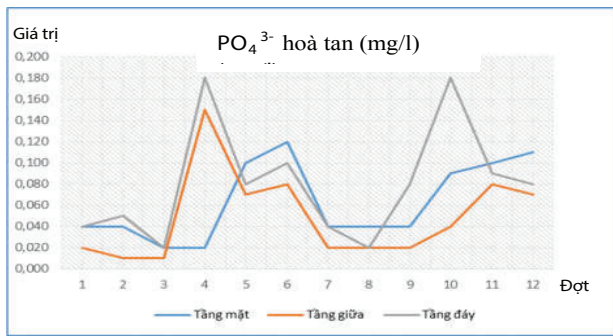
**Hình 4. Biến động nồng độ NO₃⁻.****Hình 5. Biến động nồng độ nitơ tổng.**

Giá trị nitơ tổng tại vùng nghiên cứu tương đối ổn định (hình 5). Giá trị thấp nhất ở mức 0,1 mg/l đối với đợt 1, 2, 7, 11 và 12. Giá trị lớn nhất là 0,2 mg/l đối với mẫu đợt 3, 4 (tầng đáy), đợt 5 (tầng giữa), đợt 6 (tầng mặt và đáy), đợt 8 (tầng giữa và đáy), đợt 9 (tầng đáy) và đợt 10 (tầng giữa và đáy). Nhìn chung, giá trị nitơ tổng ở tầng đáy tập trung tương đối cao hơn các tầng còn lại. So với vùng ven biển phía Bắc, giá trị nitơ tổng còn khá thấp so với mức trung bình tại khu vực này là 1,97 mg/l [15].

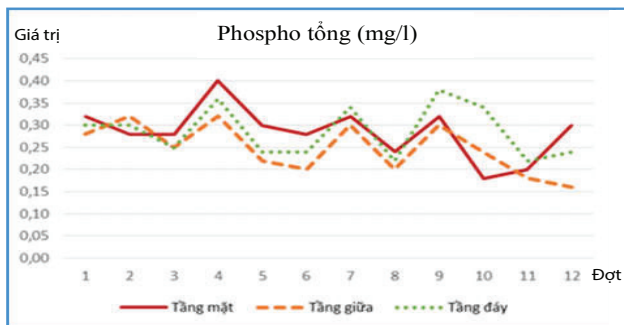
Nồng độ PO₄³⁻ hoà tan và phospho tổng số:

Nồng độ PO₄³⁻ hoà tan có sự dao động lớn tại vùng nuôi (hình 6). Tại tầng mặt, giá trị nhỏ nhất là 0,02 mg/l (đợt 3) và giá trị cao nhất là 0,16 mg/l (đợt 6), cao gấp 6 lần. Tại tầng giữa, nồng độ PO₄³⁻ hòa tan cũng dao động rất lớn. Giá trị nhỏ nhất là 0,01 mg/l (đợt 2, 3 và 11), giá trị cao nhất là 0,15 mg/l, cao hơn gấp 15 lần. Tại tầng đáy, giá trị thấp nhất là 0,02 mg/l (đợt 3 và đợt 8), giá trị cao nhất là 0,18 mg/l (đợt 4 và đợt 10). Nhìn chung, nồng độ PO₄³⁻ hoà tan tăng cao vào đợt 4, 5, 6 và 10, 11, 12, trong đó, cao nhất là đợt 4. Như vậy, PO₄³⁻ ở mức cao hơn so với vịnh Vân Phong có giá trị là 0,08 mg/l [16] và cũng cao hơn so với nước biển ven bờ khu vực phía Bắc với giá trị thấp nhất là 0,01 mg/l và cao nhất là 0,06 mg/l [15]. Tuy nhiên, PO₄³⁻ cũng giảm khá nhiều so với kết quả đo đạc năm 2015 có giá trị từ 1,43 đến 2,85 mg/l [17].

Nồng độ phospho tổng giữa các tầng tại vùng khảo sát ít có sự biến động (hình 7). Tại tầng mặt, phospho dao động từ 0,18 đến 0,4 mg/l. Tầng giữa dao động từ 0,16 đến 0,32 mg/l. Tầng đáy dao động từ 0,22 đến 0,38 mg/l. So với QCVN 10:2015/BTNMT về chất lượng nước biển ven bờ, hầu hết các mẫu đều vượt tiêu chuẩn cho phép, trong đó ở tầng mặt, mẫu đợt 4 có nồng độ phospho tổng vượt tiêu chuẩn cho phép 2 lần. Giá trị này vẫn thấp hơn so với khu vực phía Bắc có giá trị trung bình khoảng 0,54 mg/l [15].



Hình 6. Biến động PO_4^{3-} hòa tan.



Hình 7. Biến động phospho tổng.

Nhìn chung, các biến động trong môi trường nước diễn biến theo hướng xấu tại địa điểm nghiên cứu mang tính chất cục bộ và ngắn hạn nên chưa gây tác động lớn và lâu dài đến chất lượng nước vùng nuôi.

Kết luận

Việc nuôi tôm hùm ở vịnh Xuân Đài đã đem lại nguồn lợi về kinh tế - xã hội là rất đáng kể. Kết quả điều tra cho thấy, người dân có kinh nghiệm nuôi từ 10-20 năm chiếm tỷ lệ khá cao (54%) với cả 3 hình thức nuôi: lồng treo, lồng chìm và kết hợp cả hai hình thức. Số lồng nuôi đang ngày một tăng lên đáng kể. Thức ăn nuôi tôm hùm là thức ăn tươi và phần lớn không thu gom thức ăn thừa đem vào bờ mà thải thẳng vào môi trường nước. Vì vậy, nghề nuôi tôm hùm tại địa điểm nghiên cứu đang gặp phải những khó khăn, đặc biệt trong công tác quy hoạch và đảm bảo chất lượng nước vùng nuôi. Cụ thể, chất lượng nước nuôi tôm hùm đang có sự biến động theo chiều hướng xấu hơn. Trong đó, các chỉ tiêu về nhiệt độ, pH, độ mặn, DO, độ trong tương đối ổn định, nhưng hàm lượng NH_3 hầu hết vượt tiêu chuẩn cho phép, NO_2^- có xu hướng tăng ở tầng đáy. Giá trị nitơ tổng ở tầng đáy tập trung tương đối cao hơn các tầng còn lại, thấp nhất ở mức 0,1 mg/l và cao nhất là 0,2 mg/l. Nồng độ PO_4^{3-} hòa tan có sự dao động lớn tại tầng mặt, tầng giữa và tầng đáy. Nồng độ phospho tổng giữa các tầng hầu hết đều vượt tiêu chuẩn cho phép. Sự phân tầng xảy ra đối với nhóm thông số dinh dưỡng như nitrite, nitrate, ammonia, phosphate, nitơ tổng và phospho tổng. Vì vậy, cần có những nghiên cứu sâu hơn về quản lý môi trường nước vùng nuôi tôm hùm lồng bè này để đảm bảo sự phát triển bền vững.

LỜI CẢM ƠN

Công trình này được hoàn thành là một phần kết quả nghiên cứu của đề tài độc lập cấp nhà nước ĐTDL.CNN-60/15. Nhóm tác giả xin trân trọng cảm ơn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] H. Kongkeo (2001), "Current status and development trend of aquaculture Asia Region", *Technical proceeding of conference on Aquaculture in the third millennium*, pp.267-293.
- [2] E.H. Petersen, T.H. Phuong (2010), "Tropical spiny lobster (*Panulirus ornatus*) farming in Vietnam - bioeconomics and perceived constraints to development", *Aquaculture Research*, **41**, pp.634-642.
- [3] J. Hambrey, L.A. Tuan, T.K. Thuong (2001), "Aquaculture and poverty alleviation 2: cage culture in coastal waters of Vietnam", *World Aquaculture*, pp.34-38.
- [4] L.T. Vinh, L.L. Huong (2009), "Improving environmental quality for *Panulirus ornatus* lobster aquaculture in Van Phong Bay, Vietnam, by combined culture with *Perna viridis* mussels", *Australian Centre for International Agricultural Research, Canberra, Australia*, pp.59-71.
- [5] Viện Nghiên cứu Nuôi trồng Thủy sản III (2015), *Báo cáo tổng hợp quy hoạch nuôi tôm hùm đến năm 2020 và định hướng đến năm 2030*.
- [6] Phạm Trường Giang (2015), *Kết quả triển khai quy hoạch phát triển nuôi tôm hùm khu vực miền Trung đến năm 2020 và định hướng đến 2030*, Viện Nghiên cứu nuôi trồng thủy sản III.
- [7] Chi cục Nuôi trồng Thủy sản Khánh Hòa (2015), *Báo cáo kết quả hoạt động nuôi tôm hùm từ 2010 đến 2015 và quản lý, quy hoạch, định hướng phát triển nuôi tôm hùm tại tỉnh Khánh Hòa*.
- [8] Cục Thú y (2015), *Báo cáo tình hình dịch bệnh trên tôm hùm*.
- [9] Võ Văn Nha (2014), "Nuôi tôm hùm lồng - Thực trạng và một số vấn đề đặt ra", *Thông tin Thủy sản*, **3**, tr.16-17.
- [10] A. Demirak, A. Balci, M.T. Fekc (2006), "Environmental impact of aquaculture in Gululluk Bay, Turkey", *Environmental Monitoring and Assessment*, **123**, pp.1-12.
- [11] Jiangzengjie, Fang Jianguang, Zhang Jihong (2009), *Nutrient budget in marine fish cage culture system and Integrated Multi-trophic Aquaculture scheme (2nd regional mariculture conference-Jeju Island)*, Yellow Sea Fisheries Research Institute.
- [12] Nguyễn Hữu Hào, Trần Văn Vinh, Nguyễn Duy Lâm, Nguyễn Hải Bình, Lê Văn Hùng, Huỳnh Văn Cảnh (2010), *Nghiên cứu đề xuất giải pháp khai thác bền vững nguồn lợi tôm hùm giống tỉnh Bình Định*.
- [13] M. Vijayakumaran, R. Venkatesan, T. Senthil Murugan, T.S. Kumar, Dilip Kumar Jha, M.C. Remany, J. Mary Leema Thilakam, S. Syed Jahan, G. Dharani, S. Kathirolu & K. Selvan (2009), "Farming of spiny lobsters in sea cages in India", *New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research*, **43**, pp.622-634.
- [14] J.F. Wickins, D.O. Lee (2002), "Crustacean Farming - Ranching and Culture", *Blackwell Science*, p.446.
- [15] Cao Thị Thu Trang, Vũ Thị Lựu (2009), "Biến động nồng độ các chất dinh dưỡng trong nước biển ven bờ miền Bắc Việt Nam giai đoạn 1999-2008", *Tuyển tập Tài nguyên và Môi trường biển*, ISBN 978-604-913-025-0. XV.
- [16] Kevin C. Williams (2008), "Proceedings of an international symposium held at Nha Trang, Vietnam", *Spiny lobster aquaculture in the Asia-Pacific region*, pp.59-71.
- [17] Lê Thị Nam Thuận, Hoàng Thị Hà Giang (2016), *Một số dẫn liệu về môi trường và dịch bệnh vùng nuôi trồng thủy sản ở vịnh Xuân Đài, tỉnh Phú Yên*, Hội nghị Khoa học toàn quốc về sinh thái và tài nguyên sinh vật lần thứ 7.

Nghiên cứu chuyển gen mã hóa mannitol 1-phosphate dehydrogenase (*mtlD*) vào cây ngô

Lưu Hàn Ly¹, Lê Thị Thu Hiền^{1,2}, Nguyễn Xuân Thắng³, Huỳnh Thị Thu Huệ^{1,2*}

¹Viện Nghiên cứu hệ gen, Viện Hàn lâm KH&CN Việt Nam

²Học viện KH&CN, Viện Hàn lâm KH&CN Việt Nam

³Viện Nghiên cứu ngô, Viện Khoa học nông nghiệp Việt Nam

Ngày nhận bài 20/6/2018; ngày chuyển phản biện 29/6/2018; ngày nhận phản biện 7/8/2018; ngày chấp nhận đăng 16/8/2018

Tóm tắt:

Gen *mtlD* mã hóa mannitol 1-phosphate dehydrogenase ở vi khuẩn đã được nghiên cứu và chuyển vào một vài loại cây trồng. Các cây chuyển gen sinh trưởng nhanh và chịu mặn, hạn tốt hơn nhờ có sự tăng tích lũy mannitol. Với mục tiêu tạo cây ngô mang gen *mtlD*, các tác giả thực hiện nghiên cứu chuyển gen *mtlD* vào phôi ngô nhờ vi khuẩn *Agrobacterium tumefaciens*. Tỷ lệ phát sinh mô sẹo ở hai đợt chuyển gen lần lượt đạt 17,70 và 13,24%. Trong đó, trung bình khoảng 56% số chồi tái sinh tạo rễ thành cây hoàn chỉnh. Các cây ngô tái sinh sau đó được chăm sóc trong điều kiện đồng ruộng và 44 cây ngô sống sót đến giai đoạn sinh sản. Nghiên cứu đã sử dụng phản ứng PCR với cặp mồi đặc hiệu để sàng lọc cây chuyển gen và xác định được 8 cây ngô dương tính với sự có mặt của gen *mtlD*, đạt tỷ lệ 18,18% so với tổng số cây sống sót.

Từ khóa: *Agrobacterium*, chuyển gen, *mtlD*, ngô.

Chỉ số phân loại: 4.6

Đặt vấn đề

Ngày nay, cây ngô được trồng trên khắp thế giới và trở thành một trong ba loại ngũ cốc quan trọng nhất đối với con người. Theo ước tính của Tổ chức lương thực và nông nghiệp Liên hợp quốc (FAO) năm 2012, lúa mì, ngô và lúa gạo chiếm đến 94% tổng lượng ngũ cốc được tiêu thụ toàn cầu [1]. Trong đó, ngô là loại ngũ cốc có sản lượng cao nhất hàng năm, khoảng 1.034,8 triệu tấn vào năm 2017/18 (so với lúa gạo là 488,3 triệu tấn và 758,2 triệu tấn ở lúa mì) [2]. Hiện nay, hạn hán là tác nhân khí hậu gây ảnh hưởng nghiêm trọng nhất đến các cây trồng nông nghiệp, đặc biệt là cây ngô. Cùng so sánh trong điều kiện thiếu nước như nhau, sản lượng cây ngô đã giảm khoảng 39% trong khi lúa mì chỉ giảm 20% sản lượng [3].

Kỹ thuật chuyển gen vào ngô mới bắt đầu từ những năm 1990 nhưng đã nhanh chóng được áp dụng để tạo ra những cây ngô biến đổi gen có chất lượng và năng suất cao. Cây ngô biến đổi gen kháng sâu chứa gen *Bt* được thương mại hóa vào năm 1996 [4]. Kể từ đó, các giống ngô kháng sâu và kháng thuốc diệt cỏ được chấp nhận và trồng ở nhiều nơi trên thế giới, đây được coi là thế hệ cây ngô chuyển gen đầu tiên. Đến nay, ngô là loại cây trồng có số lượng sự kiện chuyển gen được Bộ Nông nghiệp Hoa Kỳ (USDA) thông qua nhiều nhất, với 148 sự kiện. Ngô biến đổi gen hiện được trồng tại 16 quốc gia, chiếm 33% tổng diện tích trồng cây chuyển gen trên toàn cầu [5].

Ở nước ta, việc chuyển gen vào ngô đã được nghiên cứu trên một số gen như *CryIAC* mã hóa protein kháng sâu [6, 7], gen *Sh2* mã hóa enzyme ADP-glucose pyrophosphorylase [8], gen liên quan đến tính chịu hạn như *ZmNF-YB* được chuyển vào hai dòng ngô VH1 và C8H9 [9] hay *modiCspB* [10]. Các kết quả đều cho thấy tiềm năng có thể ứng dụng kỹ thuật chuyển gen vào cây ngô ở nước ta.

Trong số các gen được sử dụng cho chuyển gen cây trồng nhằm tăng tính chống chịu, một số gen có nguồn gốc từ vi sinh vật cũng đã được nghiên cứu để chuyển vào cây trồng như *TPSP* [11], *CspA/CspB* [12], *gdhA* có nguồn gốc từ *E. coli* [13] đã cải thiện đáng kể tính chống chịu với các bất lợi phi sinh học, như lạnh, nóng và thiếu nước. Cây trồng chuyển gen có khả năng phát triển mạnh trong điều kiện khô hạn, cho năng suất cao hơn so với giống cây trồng không được chuyển gen.

Ở thực vật, mannitol là chất có thể hòa tan, ngăn muối xâm nhập và có thể giải phóng gốc hydroxyl trong nhiều bất lợi phi sinh học khác nhau, vì vậy mang lại khả năng chống chịu hạn cho cây [14]. Do đó, gen *mtlD* của vi khuẩn mã hóa mannitol 1-phosphate dehydrogenase (EC1.1.1.17) chuyển hóa fructose 2 với 6-phosphate tạo thành mannitol-1-phosphate đã được sử dụng trong chuyển gen vào một số cây trồng. Kết quả tích cực của sự tăng tích lũy mannitol trong các cây chuyển gen đã được chứng minh trong nhiều nghiên cứu. Nhóm nghiên cứu của Karakas và cs (1997) đã

*Tác giả liên hệ: Email: hthue@igr.ac.vn

Transformation of maize (*Zea mays* L.) using mannitol 1-phosphate dehydrogenase (*mtlD*) genes

Han Ly Luu¹, Thi Thu Hien Le^{1,2},
Xuan Thang Nguyen³, Thi Thu Hue Huynh^{1,2*}

¹Institute of Genome Research, VAST

²Graduate University of Science and Technology, VAST

³Maize Research Institute

Received 20 June 2018; accepted 16 August 2018

Abstract:

The bacterial *mtlD* gene which encodes mannitol 1-phosphate dehydrogenase has been characterized and transferred into several crops. Transgenic plants exhibited the good development and drought or salinity tolerances as increased mannitol accumulation. With the aim of producing transgenic maize, the authors conducted this study which transferred *mtlD* into maize embryos via *Agrobacterium tumefaciens*. The rate of callus regeneration in two independent transformation experiments were 17.70 and 13.24%, respectively. Meanwhile, the average frequency of root formation was about 56%. The regenerated plantlets were transferred to the field and 44 T₀ maize plants survived and reached the reproducing stage. The authors used a PCR assay with the specific primers to determine the presence of the target gene in T₀ plants and obtained 8 *mtlD*-positive plants, accounting for 18.18% of total survival plants.

Keywords: *Agrobacterium*, maize, *mtlD* gene, transformation.

Classification number: 4.6

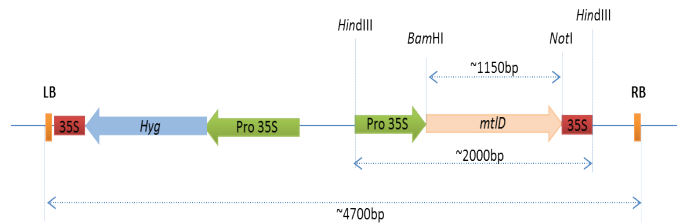
chuyển gen *mtlD* của *E. coli* vào cây thuốc lá, cây chuyển gen biểu hiện *mtlD* cho thấy nồng độ mannitol tăng lên 6 μM/g khối lượng khô [15]. Khi chuyển gen này vào lúa mì, cây chuyển gen có biểu hiện tính chống chịu tốt hơn khi gặp hạn và mặn so với cây không chuyển gen [16]. Gen *mtlD* còn được chuyển vào cà tím [17], cà chua [18], lúa [19], cao lương [20], khoai tây [21, 22] nhằm nâng cao tính chịu hạn, mặn của cây trồng. Với mục tiêu tạo nguyên liệu cho chuyển gen ở cây ngô, gen *mtlD* có nguồn gốc *E. coli*

đã được cải biến mã phù hợp với cây ngô và được gắn vào vector Ti-plasmid pCambia1300 dưới sự điều khiển của promoter 35S [23]. Trong nghiên cứu này, chúng tôi tiến hành chuyển gen *mtlD* đã thiết kế vào cây ngô nhằm tạo cây ngô mang gen *mtlD*, phục vụ công tác tạo giống ngô cải thiện tính chịu hạn.

Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

Vật liệu nghiên cứu

Chủng *A. tumefaciens* EHA105 mang vector pCAM/35S-*mtlD* được thiết kế bởi Viện Nghiên cứu hệ gen [23]. Cấu trúc của vector mang gen *mtlD* được thể hiện trong sơ đồ hình 1. Phôi non từ giống ngô K7 dùng làm nguyên liệu cho chuyển gen được cung cấp từ Viện Nghiên cứu ngô là dòng đã được đánh giá có khả năng biến nạp gen tốt và có tính chịu hạn bình thường.



Hình 1. Sơ đồ cấu trúc vector pCambia1300 mang gen *mtlD* dưới sự điều khiển của promoter 35S [23]. LB: bờ trái T-ADN; RB: bờ phải T-ADN; Hyg: gen kháng Hygromycin; Pro35S: đoạn khởi đầu phiên mã 35S của *Cauliflower mosaic virus*; 35S: đoạn kết thúc phiên mã 35S; *mtlD*: gen mã hóa mannitol 1-phosphate dehydrogenase; vị trí các điểm cắt giới hạn của enzyme *Bam*HI, *Not*I và *Hind*III.

Phương pháp nghiên cứu

Chuyển gen vào phôi non ngô thông qua *A. tumefaciens*: được tiến hành theo phương pháp của Frame và cs (2006) [24] có cải tiến cho phù hợp với nguồn vật liệu ngô K7 và điều kiện phòng thí nghiệm của chúng tôi. Vi khuẩn *A. tumefaciens* chứa vector tái tổ hợp được nuôi cấy trong môi trường Yeast Extract Peptone (YEP) lỏng có bổ sung kháng sinh thích hợp và lắc ở 200 vòng/phút, 28°C, qua đêm. Dịch huyền phù vi khuẩn được ly tâm với tốc độ 5.000 vòng/phút, ở 4°C trong 5 phút. Loại bỏ dịch trên và hoà tan cặn vi khuẩn bằng môi trường lấy nhiễm có bổ sung acetosyringone (AS). Pha loãng dịch khuẩn cho tới khi đạt được OD₆₀₀ 0,5-1,0. Dịch huyền phù vi khuẩn được sử dụng để lây nhiễm với phôi non của ngô.

Bắp ngô non được thu hái sau 10 ngày tự thụ phấn, phôi non 1-2 mm được tách khỏi bắp và hạt trong điều kiện vô trùng và được lây nhiễm với dịch vi khuẩn có bổ sung AS nồng độ 100 μM trong 20 phút. Phôi sau khi lây nhiễm với vi khuẩn được chuyển sang môi trường đồng nuôi cấy. Sau 3 ngày, các phôi đã biến nạp được chuyển sang môi trường

phục hồi trong 7 ngày. Tiếp đó, mô sẹo tái sinh trong giai đoạn này lần lượt được nuôi cấy trên môi trường chọn lọc 1 và chọn lọc 2 chứa kháng sinh hygromycin với hai nồng độ khác nhau (mỗi giai đoạn 14 ngày). Các mô sẹo phôi hoá tạo thành trên môi trường chọn lọc được cấy chuyển sang môi trường tái sinh 1 trong 7 ngày. Sau đó, chuyển sang môi trường tái sinh 2 và liên tục chuyển môi trường mới đến khi mọc chồi. Chồi tái sinh được cấy chuyển sang môi trường tạo cây ra rễ trong khoảng 10-20 ngày. Cây tái sinh khi có 2-3 lá được chuyển ra giá thể để huấn luyện cây trong phòng thí nghiệm, sau đó trồng trong nhà lưới. Khi cây đã cứng cáp đến giai đoạn 5 lá thì thu mẫu lá cho các thí nghiệm tách chiết ADN và PCR. Thành phần từng loại môi trường và điều kiện nuôi cấy từng giai đoạn được trình bày trong bảng 1. Các môi trường sử dụng trong quá trình chuyển gen đều dựa trên môi trường MS [25] và bổ sung các thành phần khác tùy theo mục đích sử dụng.

Bảng 1. Thành phần môi trường và điều kiện nuôi cấy trong thí nghiệm chuyển gen vào phôi ngô [24].

Môi trường	Thành phần	Điều kiện nuôi cấy
Lây nhiễm lỏng	MS (Murashige and Skoog 1962) + 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid (2,4D) 1,5 mg/l + L-proline 0,7 g/l + sucrose 68,4 g/l + glucose 36 g/l + AS (100uM) pH 5,5	
Đồng nuôi cấy	MS + 2,4D 2 mg/l + L-proline 0,7 g/l + sucrose 30 g/l + phytagel 2,4 g/l + AgNO ₃ 0,85 mg/l + AS (100µM) pH 5,8	Tối, 21°C, 3 ngày
Nuôi phục hồi	MS + 2,4D 2 mg/l + L-proline 0,7 g/l + sucrose 30 g/l + MES 0,5 g/l + phytagel 2,4 g/l + cefotaxime 100 mg/l + vancomycin 100 mg/l + AgNO ₃ 0,85 mg/l pH 5,8	Tối, 28°C, 7 ngày
Chọn lọc 1	MS + 2,4D 1,5 mg/l + L-proline 0,7 g/l + MES 0,5 g/l + sucrose 30 g/l + phytagel 2,4 g/l + cefotaxime 100 mg/l + vancomycin 100 mg/l + AgNO ₃ 0,85 mg/l + hygromycin 1,5 mg/l pH 5,8	Tối, 28°C, 14 ngày
Chọn lọc 2	MS + 2,4D 1,5 mg/l + L-proline 0,7 g/l + MES 0,5 g/l + sucrose 30 g/l + phytagel 2,4 g/l + cefotaxime 100 mg/l + vancomycin 100 mg/l + AgNO ₃ 0,85 mg/l + hygromycin 3 mg/l pH 5,8	Tối, 28°C, 14 ngày
Tái sinh 1	MS + myo-inositol 100 mg/l + sucrose 60 g/l + phytagel 2,4 g/l + cefotaxime 100 mg/l + vancomycin 100 mg/l + hygromycin 3 mg/l pH 5,8	Tối, 25°C, 7 ngày
Tái sinh 2	MS + myo-inositol 100 mg/l + sucrose 30 g/l + casein 400 mg/l + kinetin 1 mg/l + nước dừa 150 ml/l + phytagel 2,4 g/l pH 5,8	Sáng, 25°C
Môi trường ra rễ	MS + myo-inositol 100 mg/l + sucrose 30 g/l + casein 100 mg/l + NAA 1 mg/l + IBA 0,1 mg/l + phytagel 2,4 g/l pH 5,8	Sáng, 25°C

Các chỉ tiêu theo dõi:

- Tỷ lệ mô sẹo = (Số mô sẹo kháng hygromycin SE2/số phôi biến nạp) x 100%.
- Tỷ lệ tạo chồi tái sinh = (Số chồi tái sinh/số mô sẹo kháng hygromycin SE2) x 100%.
- Tỷ lệ tạo cây hoàn chỉnh = Số cây hoàn chỉnh (số cây trong môi trường ra rễ)/số cây tái sinh.
- Tỷ lệ biến nạp gen = (Số cây sống sót khi ra ruộng/số phôi biến nạp) x 100%.

Tách chiết ADN tổng số từ lá cây ngô: ADN tổng số được tách chiết theo phương pháp của Roger và cs (1985) [26] nhưng có cải tiến cho phù hợp với mô lá ngô. Cụ thể: lá ngô tươi được nghiền thành bột mịn bằng cối chày sứ đã khử trùng trong nitor lỏng. Sau đó, đệm chiết (100mM Tris pH 8,0, 1,4M NaCl, 20mM EDTA pH 8,0, 0,2% (v/v) β-mercaptoethanol, 1-2% polyphenolpyrrolidine, 2-4% cetyltrimethyl ammonium bromide) được bổ sung vào ống chứa bột lá với tỷ lệ mẫu/đệm là 1:5. Hỗn hợp được trộn đều và ủ ở 65°C trong 60 phút. Tiếp theo, hỗn hợp được để ổn định ở nhiệt độ phòng và ly tâm ở 10.000 vòng/phút trong 10 phút ở 4°C nhằm loại bỏ xác tế bào thực vật. Protein và tạp chất cũng được loại bỏ lần lượt bằng các hỗn hợp phenol/chloroform/isoamyl alcohol (v:v:v = 25:24:1) và chloroform/isoamyl alcohol (v:v = 24:1). ADN sau đó được rửa lại bằng ethanol 96-100% có bổ sung 0,3M CH₃COONa và hòa trong đệm Tris-EDTA để sử dụng làm khuôn cho các phản ứng tiếp theo.

Nhân đoạn gen quan tâm bằng PCR: hiệu quả chuyển gen được đánh giá thông qua các thí nghiệm PCR kiểm tra sự có mặt của gen chuyển trong hệ gen của cây ngô tái sinh. Phản ứng PCR được thực hiện với cặp mồi nhân gen chọn lọc kháng hygromycin được chúng tôi thiết kế có trình tự (mỗi xuôi 5'-ATCGGCACTTTGCATCGG-3', mồi ngược 5'-TACACAGCCATCGGTCCAGAC-3') sẽ nhân đoạn 775 bp và mồi nhân gen đích *mtlD* được chúng tôi thiết kế có trình tự (mỗi xuôi 5'-ACAGATGGATCCAAGGCATTGCATTTTCGGC-3', mồi ngược 5'-AGTGATGCGGCCGCTGCATTGCCTTGTA-3') sẽ nhân đoạn 1.153 bp. Thành phần thực hiện các phản ứng khuếch đại bao gồm: 1X Buffer, 0,4mM dNTPs, 1mM MgCl₂, 0,4mM mỗi mồi, 20 ng ADN genome và 2U Dream taq ADN polymerase (Thermofisher Scientific, Lithuania). Chu trình nhiệt PCR được cài đặt như sau: 95°C/3 phút; (95°C/30 giây, 55°C/45 giây, 72°C/2 phút) x 30 chu kỳ; 72°C/10 phút. Sản phẩm PCR được kiểm tra trên gel agarose 0,8% và nhuộm bằng ethidium bromide.

Các thí nghiệm chuyển gen và đánh giá các nguồn vật liệu chuyển gen được thực hiện trong điều kiện nhà lưới (khu thí nghiệm nhà lưới có cách ly bảo đảm an toàn sinh học). Theo dõi các chỉ tiêu thí nghiệm trong điều kiện nhà lưới (có cách ly đảm bảo an toàn sinh học) của các nguồn

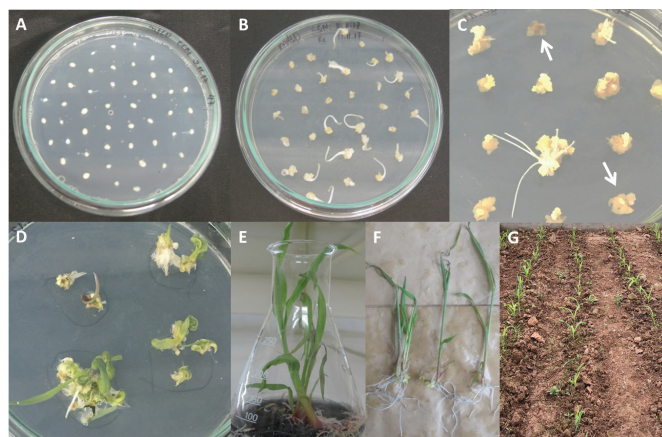
ngô theo hướng dẫn của Trung tâm Cải tạo giống ngô và lúa mì quốc tế (CIMMYT).

Kết quả và thảo luận

Đánh giá khả năng tái sinh cây từ phôi non sau chuyển gen

Vật liệu chuyển gen ban đầu được chúng tôi lựa chọn là phôi non có nguồn gốc từ dòng ngô mô hình K7 - một dòng ngô ưu tú của Viện Nghiên cứu ngô và chủng vi khuẩn *A. tumefaciens* EHA105 mang vector pCAM/35S-*mtlD* [23]. Trong nghiên cứu chuyển gen thực vật, mức độ tái sinh thành cây hoàn chỉnh của mẫu biến nạp sau các giai đoạn nuôi cấy chọn lọc cũng như sức sống và khả năng sinh sản của cây tái sinh là hết sức quan trọng, quyết định đến hiệu quả quá trình biến nạp. Các giai đoạn chính của quá trình chuyển gen vào phôi ngô thông qua vi khuẩn *A. tumefaciens* được thể hiện trong hình 2. Trải qua 2 giai đoạn lây nhiễm và đồng nuôi cấy với vi khuẩn *A. tumefaciens*, phôi non bắt đầu phân hóa tạo mô sẹo trên môi trường phục hồi (hình 2A, B). Tuy nhiên, số lượng mô sẹo giảm dần đi qua hai lần chọn lọc trên môi trường chứa hygromycin. Nhiều mô sẹo xảy ra hiện tượng hoại tử, chuyển màu nâu và chết đi (hình 2C). Hiện tượng này đã được báo cáo là nguyên nhân làm giảm sự tái sinh cây trồng chuyển gen trong nhiều loại cây trồng [27, 28] nhưng cũng cho thấy quá trình loại bỏ các mô sẹo không mang gen chỉ thị đang diễn ra. Sau chọn lọc, chúng tôi thu được tỷ lệ phần trăm mô sẹo hình thành qua đợt chuyển gen 1 và 2 lần lượt là 17,70 và 13,24% (bảng 2). Tiếp theo, các mô sẹo được nuôi cấy trên hai môi trường tái sinh và môi trường ra rễ để tạo thành cây hoàn chỉnh (hình 2D, E) với tỷ lệ tái sinh trung bình của 2 đợt chuyển gen đạt khoảng 56%. So với một số nghiên cứu tương tự được thực hiện trong nước như của nhóm tác giả Trần Thị Lương và cs (2014) (trung bình đạt 39,15%) [8] hay Huỳnh Thị Thu Huệ và cs (2014) (trung bình đạt 20,18%) [10], tỷ lệ này là khá cao. Khả năng tái tạo cây hoàn chỉnh từ các mô sẹo chuyển gen đã đạt được bước đầu cho thấy tính phù hợp với điều kiện và vật liệu của quy trình chuyển gen và tái sinh cây mà chúng tôi đang áp dụng.

Các cây con tái sinh phát triển hoàn chỉnh được chuyển sang trồng và chăm sóc trong nhà lưới (hình 2F, G). Ngô là một trong những cây dễ bị tổn thương bởi các yếu tố môi trường bất lợi như sâu bệnh và điều kiện thời tiết khắc nghiệt. Do đó, số lượng cây chuyển gen sống sót khi trồng ra đất chúng tôi thu được khá thấp, ở đợt chuyển gen 1 là 25 cây (1,64%) và ở đợt chuyển gen 2 là 19 cây (0,8%). Các cây sống sót được gắn thẻ theo dõi và thu mẫu lá để tiến hành kiểm tra sự có mặt của cấu trúc biểu hiện gen *mtlD* bằng kỹ thuật PCR. Các cây con có hình thái và sinh trưởng khá bình thường đến giai đoạn cây 3-5 lá, tuy nhiên đến giai đoạn muộn hơn một số cây có hiện tượng phun râu và trở cờ lệch nhau, ngoài ra một số cây có một vài bất thường về hình thái như bắp ngoài bao.



Hình 2. Minh họa quá trình biến nạp và tái sinh cây ngô chuyển gen. (A) Phôi non sau 3 ngày được nuôi cấy cộng sinh với vi khuẩn *A. tumefaciens* trong môi trường đồng nuôi cấy; (B) Phôi sau một tuần nuôi cấy trên môi trường phục hồi có bổ sung kháng sinh vancomycin (100 mg/l) và cefotaxim (100 mg/l); (C) Mô sẹo nuôi cấy trên môi trường chọn lọc bổ sung kháng sinh hygromycin, mũi tên trắng: các mô sẹo hoại tử; (D) Các chồi phát sinh từ mô sẹo trên môi trường tái sinh bổ sung chất điều hòa sinh trưởng kinetin (1 mg/l); (E) Cây con tái sinh trong môi trường ra rễ; (F) Cây con chuẩn bị ra bầu đất; (G) Cây được trồng trên đất trong nhà lưới.

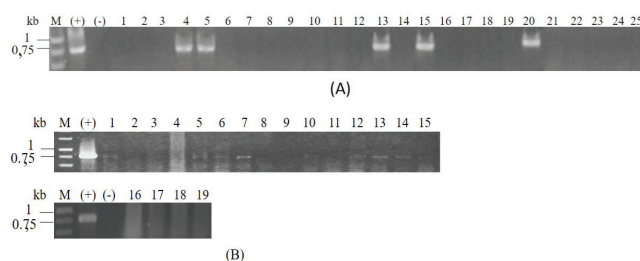
Bảng 2. Thống kê kết quả chuyển gen *mtlD* vào cây mô hình ngô K7.

Đợt chuyển gen	Đồng nuôi cấy	Phục hồi	Chọn lọc 1	Chọn lọc 2	Tái sinh 1	Tái sinh 2	Ra rễ	Ra bầu đất	Tỷ lệ so với số phôi sử dụng	Số cây sống sót khi ra đất	Số cây T ₀ PCR (+) gen đích
Đợt 1	1.520	1.352	993	269	186	101	49	25	0,016	25	5
Đợt 2	2.387	1.680	1.238	316	123	68	43	35	0,014	19	3

Đánh giá gen chuyển từ cấu trúc pCAM/35S-*mtlD* vào cây ngô thể hệ T₀

Hiệu quả biến nạp được đánh giá dựa trên sự có mặt của gen chuyển trong thể chuyển gen. Vì vậy, chúng tôi tiến hành thu mẫu lá trên toàn bộ 44 cây ngô từ 2 đợt chuyển gen ở nhà lưới nhằm tách chiết ADN tổng số và kiểm tra sự có mặt của gen chuyển bằng phương pháp PCR.

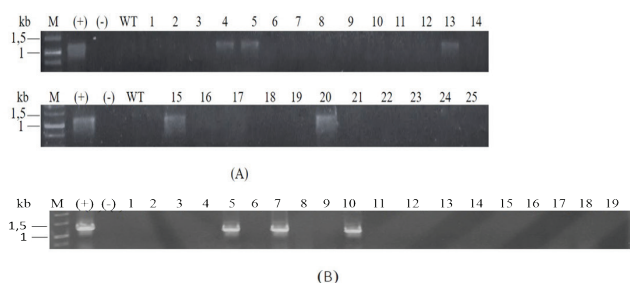
Trước hết, PCR được tiến hành để kiểm tra sự có mặt của gen chỉ thị kháng hygromycin trong các cây ngô chuyển gen pCAM/35S-*mtlD*. Gen chỉ thị được thiết kế nằm trong T-ADN và trên lý thuyết sẽ sát nhập vào hệ gen vật chủ cùng với gen đích *mtlD*. Sự có mặt của gen chỉ thị giúp các thể chuyển gen vượt qua các giai đoạn chọn lọc trong nuôi cấy mô. Cặp mồi chúng tôi thiết kế được sử dụng trong thí nghiệm PCR này khuếch đại vùng mã hóa của gen chỉ thị hygromycin với kích thước lý thuyết là 775 bp. Kết quả điện di kiểm tra sản phẩm PCR thể hiện trên hình 3 cho thấy, có 5/25 cây chuyển gen đợt 1 (giếng 4, 5, 13, 15 và 20, hình 3A) và 8/19 cây chuyển gen đợt 2 dương tính (giếng 1, 5, 6, 7, 10, 12, 13 và 14, hình 2B) với gen chọn lọc. Như vậy,



Hình 3. Kiểm tra sự có mặt của gen chỉ thị hygromycin trong một số cây ngô chuyển gen thế hệ T₀. (A) Kết quả kiểm tra đột chuyển gen 1: (+): sản phẩm PCR từ plasmid pCAM/35S-*mtlD*; (-): sản phẩm PCR với khuôn là nước, 1-25: sản phẩm PCR từ ADN tổng số của các cây ngô chuyển gen thế hệ T₀ (tương ứng với các cây 1-25). (B) Kết quả kiểm tra đột chuyển gen 2: (+): sản phẩm PCR từ plasmid pCAM/35S-*mtlD*; (-): sản phẩm PCR với khuôn là nước, 1-19: sản phẩm PCR từ ADN tổng số của các cây ngô chuyển gen thế hệ T₀ (tương ứng với các cây 1-19).

chúng tôi thu được 13 cây dương tính với gen chọn lọc, chiếm tỷ lệ 29,54% số cây tái sinh sống sót.

Để kiểm tra sự có mặt của cấu trúc biểu hiện gen *mtlD* trong ADN tổng số cây chuyển gen, phản ứng PCR với cặp mồi nhân đặc hiệu vùng CDS của gen *mtlD* do chúng tôi thiết kế được tiến hành. Kích thước theo lý thuyết của sản phẩm PCR là 1.153 bp. Kết quả điện di ở hình 3 cho thấy đã thu được cây ngô tái sinh mang gen *mtlD*: 5 cây thuộc đợt chuyển gen 1 (hình 4A, đường chạy 4, 5, 13, 15, 20) và 3 cây thuộc đợt chuyển gen 2 (hình 4B, đường chạy 5, 7, 10) xuất hiện băng ADN có kích thước tương đương với đối chứng dương. Ngoài ra, kết quả PCR với 2 cặp mồi cho thấy rằng các cây có kết quả dương tính với gen đích cũng cho kết quả dương tính với gen chỉ thị. Như vậy, qua hai đợt chuyển gen vào cây mô hình ngô K7, chúng tôi đã sàng lọc được 8/44 cây T₀ mang gen *mtlD*, chiếm tỷ lệ 18,18% cây tái sinh sống sót. Các cây ngô chuyển gen *mtlD* tiếp tục



Hình 4. Kiểm tra sự có mặt của gen đích *mtlD* trong cây ngô chuyển gen thế hệ T₀. (A) Kết quả kiểm tra đột chuyển gen 1: (+): sản phẩm PCR từ plasmid pCAM/35S-*mtlD*; (-): sản phẩm PCR với khuôn là nước, WT: sản phẩm PCR từ ADN tổng số của cây ngô không chuyển gen; 1-25: sản phẩm PCR từ ADN tổng số của các cây ngô chuyển gen thế hệ T₀ (tương ứng với các cây 1-25). (B) Kết quả kiểm tra đột chuyển gen 2: (+): sản phẩm PCR từ plasmid pCAM/35S-*mtlD*; (-): sản phẩm PCR với khuôn là nước, 1-19: sản phẩm PCR từ ADN tổng số của các cây ngô chuyển gen thế hệ T₀ (tương ứng với các cây: 1-19).

được chăm sóc và thu hạt nhằm phục vụ những phân tích, đánh giá khả năng hoạt động và biểu hiện của gen những thế hệ tiếp theo.

Tỷ lệ chuyển gen vào cây ngô không cao do những khó khăn trong quá trình chuyển gen vào thực vật một lá mầm so với thực vật hai lá mầm [29] mặc dù cơ chế chuyển đoạn T-ADN của vi khuẩn *A. tumefaciens* vào hai loại thực vật này được khẳng định là giống nhau. Sự khác biệt về hiệu quả chuyển gen gây ra bởi thành phần cấu trúc thành tế bào, khả năng biệt hóa, phản ứng với các tổn thương, quá trình cảm ứng gen *vir*... của thực vật một lá mầm không giống với thực vật hai lá mầm. Ngoài ra, một số chất chuyển hóa thứ cấp gây ức chế quá trình cảm ứng gen *vir* cần thiết để sát nhập gen ngoại lai đã được tìm thấy ở ngô [30-32].

Với kết quả ban đầu về việc chuyển gen *mtlD* vào cây ngô, chúng tôi hy vọng nếu có sự biểu hiện gen *mtlD* trên cây ngô chuyển gen sẽ giúp cải thiện tính chịu hạn cho cây ngô chuyển gen. Các thí nghiệm đánh giá tiếp theo để khẳng định sự sát nhập của gen chuyển *mtlD* vào cây ngô và sự biểu hiện gen *mtlD* sẽ được thực hiện ở các thế hệ sau.

Kết luận

Trong nghiên cứu này, chúng tôi đã thực hiện việc chuyển gen *mtlD* vào phôi non của dòng ngô K7 thông qua vi khuẩn *A. tumefaciens*. Kết quả đã thu được 25 cây sống sót trong đợt 1, đạt tỷ lệ 1,64% và 19 cây sống sót trong đợt 2, đạt tỷ lệ 0,80% so với số phôi sử dụng, trong đó có 8 cây cho kết quả dương tính với PCR, chiếm tỷ lệ 18,18% số cây tái sinh sống sót.

LỜI CẢM ƠN

Công trình được thực hiện tại Viện Nghiên cứu hệ gen với kinh phí từ đề tài cấp nhà nước “Phân lập thiết kế gen chịu hạn phục vụ công tác tạo giống ngô biến đổi gen” do Bộ Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn quản lý giai đoạn 2014-2018. Các tác giả xin chân thành cảm ơn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] FAOSTAT (2012), *Food Supply*.
- [2] USDA (2018), *FAS Grain: World Markets and Trade*.
- [3] S. Daryanto, et al. (2016), “Global synthesis of drought effects on maize and wheat production”, *PLOS ONE*, **11**(5), e0156362, doi: 10.1371/journal.pone.0156362.
- [4] R.A. Ibrahim, D.M. Shaver (2014), “Transgenic Bt-Plants and the Future of Crop Protection (An Overview)”, *International Journal of Agricultural and Food Research*, **3**(1), pp.14-40.
- [5] ISAAA (2016), *Global Status of Commercialized Biotech/GM Crops*, Ithaca, New York, ISAAA Brief No.52.
- [6] Nguyễn Văn Đồng và cs (2010), “Kết quả bước đầu trong nghiên cứu chuyển gen kháng sâu (*CryIac*) vào phôi non các dòng ngô mô hình”, *Tạp chí Công nghệ sinh học*, **8**(2), tr.173-180.

- [7] Trương Thu Hằng (2013), “Chọn tạo các dòng ngô được chuyển gen kháng sâu (*CryIAC*) thông qua vi khuẩn *Agrobacterium tumefaciens*”, *Tạp chí Khoa học, Đại học Quốc gia Hà Nội*, **29(3)**, tr.17-29.
- [8] Trần Thị Lương, Nguyễn Thị Thu, Nguyễn Thùy Ninh, Nguyễn Đức Thành (2014), “Chuyển gen *Shrunken 2* (*Sh2*) mã hóa enzyme ADP-glucose pyrophosphorylase vào một số dòng ngô bằng phương pháp chuyển gen thông qua *A. tumefaciens*”, *Tạp chí Sinh học*, **36(1)**, tr.99-109.
- [9] Nguyễn Văn Đồng, Nguyễn Hữu Kiên (2013), “Thiết kế vector biểu hiện gen chịu hạn *NTCB-ZmNF-YB2* ở cây ngô”, *Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển nông thôn*, **7**, tr.31-37.
- [10] Huỳnh Thị Thu Huệ, Nguyễn Văn Trường, Bùi Mạnh Minh, Đoàn Thị Bích Thảo, Nguyễn Xuân Thắng, Nông Văn Hải, Bùi Mạnh Cường (2014), “Thiết kế vector biểu hiện mang gen *modiCspB* và chuyển gen này vào cây ngô”, *Tạp chí Công nghệ sinh học*, **12(1)**, tr.125-132.
- [11] I.C. Jang, et al. (2003), “Expression of a bifunctional fusion of the *Escherichia coli* genes for trehalose-6-phosphate synthase and trehalose-6-phosphate phosphatase in transgenic rice plants increases trehalose accumulation and abiotic stress tolerance without stunting growth”, *Plant Physiol.*, **131(2)**, pp.516-524.
- [12] P. Castiglioni, et al. (2008), “Bacterial RNA chaperones confer abiotic stress tolerance in plants and improved grain yield in maize under water-limited conditions”, *Plant Physiol.*, **147(2)**, pp.446-455.
- [13] D.A. Lightfoot, et al. (2007), “Improved drought tolerance of transgenic *Zea mays* plants that express the glutamate dehydrogenase gene (*gdhA*) of *E. coli*”, *Euphytica*, **156(1-2)**, pp.103-116.
- [14] J.M. Stoop, et al. (1996), “Mannitol metabolism in plants: a method for coping with stress”, *Trends in Plant Science*, **1(5)**, pp.139-144.
- [15] B. Karakas, et al. (1997), “Salinity and drought tolerance in mannitol accumulating transgenic tobacco”, *Plant Cell Environ.*, **20(3)**, pp.609-616.
- [16] T. Abebe, et al. (2003), “Tolerance of mannitol-accumulating transgenic wheat to water stress and salinity”, *Plant Physiol.*, **131(4)**, pp.1748-1755.
- [17] V. Prabhavathi, et al. (2002), “Abiotic stress tolerance in transgenic eggplant (*Solanum melongena* L.) by introduction of bacterial mannitol phosphate dehydrogenase gene”, *Mol. Breed.*, **9(2)**, pp.137-147.
- [18] N. Khare, et al. (2010), “Transgenic tomato cv. Pusa Uphar expressing a bacterial mannitol-1-phosphate dehydrogenase gene confers abiotic stress tolerance”, *Plant Cell, Tissue Organ Culture*, **103**, pp.267-277.
- [19] W.H. Huizhong, et al. (2000), “Salt tolerance of transgenic rice (*Oryza sativa* L.) with *mtlD* gene and *gutD* gene”, *Chinese. Sci. Bull.*, **45**, pp.18-22.
- [20] M. Maheswari, et al. (2010), “Metabolic engineering using *mtlD* gene enhances tolerance to water deficit and salinity in sorghum”, *Biologia Plantarum*, **54(4)**, pp.647-652.
- [21] H. Rahnama, et al. (2011), “Enhanced salt stress tolerance in transgenic potato plants (*Solanum tuberosum* L.) expressing a bacterial *mtlD* gene”, *Acta. Physiol. Plant*, **33**, pp.1521-1532.
- [22] A. Askari, A. Pepoyan, A. Parsaeimehr (2012), “Salt tolerance of genetic modified potato (*Solanum tuberosum*) cv. Agria by expression of a bacterial *mtlD* gene”, *Adv. Agr. Botany*, **4**, pp.10-16.
- [23] Lê Bắc Việt, Nguyễn Thị Kim Liên, Nguyễn Huy Hoàng, Nông Văn Hải, Huỳnh Thị Thu Huệ (2017), “Thiết kế vector biểu hiện mang gen mã hóa mannitol-1-phosphate dehydrogenase (*mtlD*) từ chủng *E. coli* JM109 để chuyển vào cây ngô”, *Tạp chí Sinh học*, **39(1)**, tr.61-67.
- [24] B.R. Frame, et al. (2006), “Improved *Agrobacterium*-mediated transformation of three maize inbred lines using MS salts”, *Plant Cell Reports*, **25(10)**, pp.1024-1034.
- [25] T. Murashige, F. Skoog (1962), “A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures”, *Physiol. Plant*, **15**, pp.473-497.
- [26] S.O. Rogers, A.J. Bendich (1985), “Extraction of DNA from milligram amounts of fresh, herbarium and mummified plant tissues”, *Plant Molecular Biology*, **5(2)**, pp.69-76.
- [27] G. Hansen (2000), “Evidence for *Agrobacterium* - Induced Apoptosis in Maize cells”, *MPMI*, **13(6)**, pp.649-657.
- [28] A. Karthikeyan, et al. (2012), “*Agrobacterium* - mediated transformation of *indica* rice cv. ADT 43”, *Plant Cell, Tissue and Organ. Culture (PCTOC)*, **109(1)**, pp.153-165.
- [29] P. Sood, A. Bhattacharya, A. Sood (2011), “Problems and possibilities of monocot transformation”, *Biologia Plantarum*, **55(1)**, pp.1-15.
- [30] J. Zhang, et al. (2000), “At the maize/*Agrobacterium* interface: natural factors limiting host transformation”, *Chem. Biol.*, **7**, pp.611-621.
- [31] P. Liu, E.W. Nester (2006), “Indoleacetic acid, a product of transferred DNA, inhibits *vir* gene expression and growth of *A. tumefaciens* C58”, *Proc. Nat. Acad. Sci., USA*, **103**, pp.4658-4662.
- [32] J. Maresh, J. Zhang, D.G. Lynn (2006), “The innate immunity of maize and the dynamic chemical strategies regulating two component signal transduction in *Agrobacterium tumefaciens*”, *ACS Chem. Biol.*, **1**, pp.165-175.

QUY ĐỊNH VỀ BÀI VIẾT ĐĂNG TẢI TRÊN TẠP CHÍ

Yêu cầu chung

Bài viết gửi đăng trên Tạp chí phải là bài viết nguyên thủy (chưa được công bố trước đó). Tác giả không được gửi đăng bài viết trên các tạp chí khác cho đến khi có quyết định xét duyệt của Ban Biên tập.

Bài báo dài không quá 10 trang (bao gồm cả bảng biểu, ghi chú, tài liệu tham khảo và phụ lục); font chữ: Times New Roman; cỡ chữ 13; khổ giấy A4, lề trên 2 cm, lề dưới 2 cm, lề trái 3 cm, lề phải 2 cm.

Bài viết gửi về Tòa soạn dưới dạng file mềm và bản in; có thể gửi trực tiếp đến Tạp chí (Phòng 507, số 113 Trần Duy Hưng, Cầu Giấy, Hà Nội) hoặc qua hòm thư điện tử, địa chỉ: khcnvn@most.gov.vn.

Tên bài báo

- Tên bài báo được viết bằng tiếng Việt và tiếng Anh, trên trang đầu của bài báo, không gạch chân hay viết nghiêng.

- Tên bài báo phải ngắn gọn, rõ ràng và phù hợp với nội dung bài báo.

- Phía dưới tên bài báo là tên tác giả không viết chức danh và học hàm, học vị. Nếu có nhiều tác giả làm việc ở các cơ quan khác nhau thì tên tác giả được đánh số (^{1,2...}) ở phía trên. Dấu hoa thị (*) chỉ tác giả liên hệ, được viết ở cuối trang đầu tiên của bài báo.

Tóm tắt

Tóm tắt bằng tiếng Việt và tiếng Anh. Nêu được mục đích, phương pháp nghiên cứu chính, kết quả nghiên cứu và kết luận chủ yếu. Từ khoá bằng cả tiếng Việt và tiếng Anh theo thứ tự alphabet. Chỉ số phân loại (theo hướng dẫn).

Dẫn nhập/đặt vấn đề

Định nghĩa vấn đề, tóm lược vấn đề nghiên cứu đã được công bố trong và ngoài nước, nêu mục tiêu nghiên cứu và giải thích sự lựa chọn đề tài và mục tiêu nghiên cứu để thấy được tính thời sự, tính khoa học và sự cần thiết của vấn đề nghiên cứu.

Đối tượng và phương pháp

Đối tượng nghiên cứu cần trình bày tiêu chuẩn lựa chọn, đặc điểm đối tượng nghiên cứu.

Phương pháp nghiên cứu cần nêu rõ cách tiếp cận nghiên cứu, loại hình nghiên cứu, phương pháp đo lường, công thức tính cỡ mẫu, phương pháp xử lý số liệu, mô tả kỹ các kỹ thuật tiến hành trong nghiên cứu; các quan điểm, lập luận, ý kiến tranh luận, các dẫn chứng...

Kết quả

Trình bày đầy đủ, khách quan các kết quả thu được sau nghiên cứu, các kết quả này phải phục vụ cho mục tiêu nghiên cứu. Các số liệu phải chính xác và khớp với nhau.

Phần kết quả nghiên cứu chỉ trình bày các kết quả nghiên cứu của đề tài, không giải thích, so sánh và bàn luận.

Bàn luận

Chủ yếu bàn luận các vấn đề liên quan đến mục tiêu đề tài.

Nhận xét, đánh giá một cách khách quan các kết quả nghiên cứu, có so sánh với các tác giả khác để khẳng định hoặc phủ định những hiểu biết đã có, qua đó nêu được những điểm mới và đóng góp của đề tài.

Dự báo hướng nghiên cứu tiếp và khả năng ứng dụng các kết quả nghiên cứu vào thực tiễn.

Kết luận

Nêu kết quả nghiên cứu chủ yếu của đề tài có tính khái quát liên quan đến mục tiêu nghiên cứu, đề xuất các vấn đề tiếp tục nghiên cứu.

Chú thích và tài liệu tham khảo

Chú thích được đánh số theo thứ tự xuất hiện (^{1,2,3...}) và được trình bày ngay ở cuối trang viết (footnote). Các tài liệu tham khảo được đánh số theo thứ tự xuất hiện để chỉ dẫn chúng được trích dẫn ở đâu trong bài báo. Số thứ tự được đánh trong ngoặc vuông, ví dụ: [3] với 1 hoặc [2, 5, 7-9] với nhiều số chỉ dẫn.

Tác giả (Năm xuất bản), "Tên tài liệu được trích dẫn", *Tên nguồn*, **tập (số)**, pp<trang đầu-trang cuối>

Tác giả: là tác giả/các tác giả của tài liệu được tham khảo, trích dẫn.

Năm xuất bản: năm xuất bản của tài liệu được tham khảo, trích dẫn.

Tên tài liệu được trích dẫn: là tên bài báo, chương/phần sách...

Tên nguồn có thể là tên tạp chí, tên sách, hay tên tài liệu gốc của tài liệu được trích dẫn (phần này được in nghiêng).

Tập (số): dành cho nguồn trích là tạp chí, sách hoặc các xuất bản phẩm khác (phần này in đậm).

Trang đầu-trang cuối là số thứ tự các trang phản ánh nơi cư trú của tài liệu được trích dẫn trong tài liệu nguồn.

Chú ý: nếu có ≥ 2 tài liệu tham khảo do cùng 1 tác giả/nhóm tác giả, cùng năm công bố, thì các tài liệu tham khảo này cần được đánh dấu a, b... sau năm xuất bản (ví dụ: 1986a).

Nếu có một số tài liệu tham khảo trong cùng 1 bài báo được trích dẫn có số trang khác nhau thì cần trích dẫn thêm số trang, ví dụ: Kitchen (1982, p 39).

Các yêu cầu khác

- Bài viết không đạt yêu cầu, Tòa soạn không trả lại bản thảo.

- Bài viết chỉ được đăng khi phản biện nhận xét về chất lượng bài báo đồng ý cho đăng.

- Bản quyền: tác giả đồng ý trao bản quyền bài viết (bao gồm cả phần tóm tắt) cho Ban Biên tập Tạp chí.

PHÂN LOẠI LĨNH VỰC KHOA HỌC

1. Khoa học tự nhiên

- 1.1. Toán học và thống kê
- 1.2. Khoa học máy tính và thông tin
- 1.3. Vật lý
- 1.4. Hóa học
- 1.5. Khoa học trái đất và môi trường
- 1.6. Khoa học sự sống
- 1.7. Khoa học nano
- 1.8. Khoa học tính toán
- 1.9. Các lĩnh vực khác của khoa học tự nhiên

2. Khoa học kỹ thuật và công nghệ

- 2.1. Kỹ thuật dân dụng: kỹ thuật kiến trúc; kỹ thuật xây dựng; kỹ thuật kết cấu và đô thị; kỹ thuật giao thông vận tải; kỹ thuật thủy lợi; kỹ thuật địa chất công trình
- 2.2. Kỹ thuật điện, kỹ thuật điện tử, kỹ thuật thông tin
- 2.3. Kỹ thuật cơ khí, chế tạo máy
- 2.4. Kỹ thuật hóa học
- 2.5. Kỹ thuật vật liệu và luyện kim
- 2.6. Kỹ thuật y học
- 2.7. Kỹ thuật môi trường
- 2.8. Công nghệ sinh học công nghiệp
- 2.9. Công nghệ nano
- 2.10. Kỹ thuật thực phẩm và đồ uống
- 2.11. Các lĩnh vực khác của khoa học kỹ thuật và công nghệ

3. Khoa học y - dược

- 3.1. Y học cơ sở
- 3.2. Y học lâm sàng
- 3.3. Y học dự phòng
- 3.4. Dược học
- 3.5. Các lĩnh vực khác của Y - dược học

4. Khoa học nông nghiệp

- 4.1. Trồng trọt
- 4.2. Chăn nuôi
- 4.3. Thú y
- 4.4. Lâm nghiệp
- 4.5. Thủy sản
- 4.6. Công nghệ sinh học trong nông nghiệp, thủy sản
- 4.7. Các lĩnh vực khác của khoa học nông nghiệp

5. Khoa học xã hội và nhân văn

- 5.1. Tâm lý học
- 5.2. Kinh tế và kinh doanh
- 5.3. Khoa học giáo dục
- 5.4. Xã hội học
- 5.5. Pháp luật
- 5.6. Khoa học chính trị
- 5.7. Địa lý kinh tế và xã hội
- 5.8. Thông tin đại chúng và truyền thông
- 5.9. Lịch sử và khảo cổ học
- 5.10. Ngôn ngữ học và văn học
- 5.11. Triết học, đạo đức và tôn giáo
- 5.12. Nghiên cứu về khu vực và quốc tế
- 5.13. Các lĩnh vực khác của khoa học xã hội và nhân văn

TẠP CHÍ KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM

Vietnam Journal of Science and Technology - MOST

Volume 60 - Number 9 - September 2018

Phát hiện đột biến gen *BTK* trên các bệnh nhân chẩn đoán bệnh không gammaglobulin máu liên kết nhiễm sắc thể giới tính X (XLA).

Ngô Mạnh Tiến, Nguyễn Thị Văn Anh, Nguyễn Thị Phương Mai, Ngô Diễm Ngọc, Nguyễn Ngọc Quỳnh Lê, Trần Thị Chi Mai, Nguyễn Thanh Bình, Khuất Hữu Thanh, Lê Thanh Hải, Lê Thị Minh Hương

Nghiên cứu xây dựng quy trình chẩn đoán vi khuẩn gây nhiễm khuẩn âm đạo bằng phương pháp Multiplex PCR.

Triệu Tiến Sang, Vũ Hương Ly, Trần Văn Khoa, Nguyễn Thị Việt Hà, Nguyễn Thị Trang, Nguyễn Thị Mai Hương

Điều chế hệ vi tự nhũ để cải thiện tính kém bền của schaftosid trong cao kim tiền thảo toàn phần.

Trần Lê Tuyết Châu, Phạm Bảo Ngọc, Trương Công Trí, Dương Chí Toàn

Tác dụng chống viêm cấp và mạn tính của cao chiết từ phần trên mặt đất cây Mối mác.

Nông Thị Anh Thư, Nguyễn Trọng Thông, Phạm Thị Văn Anh, Nguyễn Thị Bích Thu

Đa dạng nguồn tài nguyên cây thuốc ở Khu bảo tồn thiên nhiên Sơn Trà, TP Đà Nẵng.

Tôn Nữ Thị Như Quỳnh, Trương Thị Đẹp, Đặng Văn Sơn

Đánh giá tính kháng bệnh đạo ôn của một số mẫu giống lúa nhập nội từ Viện Nghiên cứu lúa Quốc tế (IRRI) tại Việt Nam.

Trần Đức Trung, Tạ Hồng Linh, Bùi Quang Đăng, Lê Hùng Linh, Nguyễn Thúy Kiều Tiên

Khả năng sản xuất của vịt Star 53 ông bà nhập nội.

Nguyễn Quý Khiêm, Nguyễn Ngọc Dung, Nguyễn Thị Nga, Phạm Thị Kim Thanh, Vũ Đức Cảnh, Phạm Thủy Linh, Đặng Thị Phương Thảo, Trần Thị Thu Hằng, Tạ Thị Hương Giang, Trần Thị Hà, Lê Xuân Sơn, Nguyễn Thị Tâm

Ảnh hưởng của việc bổ sung bột bã nghệ sau tách chiết curcumin trong khẩu phần tới sức sản xuất thịt và độ vàng da của gà thịt JA-DABACO.
Cù Thị Thiên Thu, Vũ Thị Ngân, Bùi Quang Tuấn

Một số giống Trà trà giàu Terpinen-4-ol có triển vọng trên một số lập địa tại miền Bắc Việt Nam.

Lê Đình Khả, Nguyễn Thị Thanh Hương, Nguyễn Văn Dư, K. Pinyopusarerk

Hiện trạng nhiễm ký sinh trùng ở cá chim vây vàng (*Trachinotus* spp) nuôi lồng tại Hải Phòng.

Trương Thị Mỹ Hạnh, Phạm Thị Yến, Phạm Thị Thanh, Nguyễn Thị Nguyễn, Đào Xuân Trường, Nguyễn Hữu Nghĩa, Phan Thị Vân

Hiện trạng nuôi tôm hùm lồng bè tập trung và chất lượng môi trường nước tại vịnh Xuân Đài, tỉnh Phú Yên.

Hoàng Thị Mỹ Hương, Trần Thị Kim Nhung, Tôn Thất Khoa, Lê Quang Hiệp, Nguyễn Phú Hòa

Nghiên cứu chuyển gen mã hóa mannitol 1-phosphate dehydrogenase (*mtlD*) vào cây ngô.

Lưu Hàn Ly, Lê Thị Thu Hiền, Nguyễn Xuân Thắng, Huỳnh Thị Thu Huệ

1 Identify mutations in *BTK* gene of patients with X-linked agammaglobulinemia (XLA).

Manh Tien Ngo, Thi Van Anh Nguyen, Thi Phuong Mai Nguyen, Diem Ngoc Ngo, Ngoc Quynh Le Nguyen, Thi Chi Mai Tran, Thanh Binh Nguyen, Huu Thanh Khuat, Thanh Hai Le, Thi Minh Huong Le

5 Establishment of clinical method for diagnosing bacterial vaginosis by using Multiplex PCR.

Tien Sang Trieu, Huong Ly Vu, Van Khoa Tran, Thi Viet Ha Nguyen, Thi Trang Nguyen, Thi Mai Huong Nguyen

10 Preparation of SMEDDS to improve the stability of schaftoside from *Desmodium styracifolium* (Osb.) extract.

Le Tuyen Chau Tran, Bao Ngoc Pham, Cong Tri Truong, Chi Toan Duong

15 The acute and chronic anti-inflammatory effects of *Desmodium triquetrum* extracts.

Thi Anh Thu Nong, Trong Thong Nguyen, Thi Van Anh Pham, Thi Bích Thu Nguyen

20 Diversity of medicinal plant resources from Son Tra Nature Reserve in Da Nang City.

Nu Thi Nhu Quynh Ton, Thi Dep Truong, Van Son Dang

25 Phenotypic screening of IRRI's rice accessions for resistance to blast disease in Vietnam.

Duc Trung Tran, Hong Linh Ta, Quang Dang Bui, Hung Linh Le, Thuy Kieu Tien Nguyen

31 The production ability of Star 53 duck.

Quy Khiem Nguyen, Ngoc Dung Nguyen, Thi Nga Nguyen, Thi Kim Thanh Pham, Duc Canh Vu, Thuy Linh Pham, Thi Phuong Thao Dang, Thi Thu Hang Tran, Thi Huong Giang Ta, Thi Ha Tran, Xuan Son Le, Thi Tam Nguyen

36 Effect of turmeric residue powder supplementation on the growth performance and yellow skin level of JA-DABACO broiler chicken.
Thi Thiên Thu Cu, Thi Ngân Vu, Quang Tuấn Bùi

42 Some terpinen-4-ol rich tea tree cultivars promising for some sites in the north of Vietnam.

Dinh Kha Le, Thi Thanh Huong Nguyen, Van Du Nguyen, K. Pinyopusarerk

48 Status of parasitic infection on Pompano (*Trachinotus* spp) cage culture in Hai Phong.

Thi My Hanh Truong, Thi Yen Pham, Thi Thanh Pham, Thi Nguyen Nguyen, Xuan Truong Dao, Huu Nghia Nguyen, Thi Van Phan

53 Investigating the status of centralised lobster cage culture and water environment quality at Xuan Dai bay, Phu Yen province.

Thi My Huong Hoang, Thi Kim Nhung Tran, That Khoa Ton, Quang Hiep Le, Phu Hoa Nguyen

59 Transformation of maize (*Zea mays* L.) using mannitol 1-phosphate dehydrogenase (*mtlD*) genes.

Han Ly Lau, Thi Thu Hien Le, Xuan Thang Nguyen, Thi Thu Hue Huynh