

THÀNH PHẦN CÁC LOẠI VI KHUẨN TRONG DỊCH VIÊM TỬ CUNG LỢN NÁI NGOẠI SINH SẢN VÀ TÍNH Mẫn CẢM VỚI MỘT SỐ LOẠI KHÁNG SINH

Vũ Minh Đức

Trường Đại học Nông Lâm Thái Nguyên

Phạm Đức Chương

Trường Đại học Hùng Vương

TÓM TẮT

Kết quả xét nghiệm 30 mẫu dịch tử cung, âm đạo của lợn khỏe thấy 76,67% số mẫu bệnh phẩm phát hiện có *E.coli*, 86,67% có *Staphylococcus*, 73,33% có mặt vi khuẩn *Streptococcus*, 23,33% có sự xuất hiện của *Salmonella* và 0% số mẫu có vi khuẩn *Pseudomonas*.

Khi xét nghiệm 30 mẫu dịch viêm tử cung, âm đạo của lợn phát hiện 100% số mẫu bệnh phẩm có chứa vi khuẩn *E.coli* và *Staphylococcus*, 83,33% vi khuẩn *Streptococcus*, 43,33% vi khuẩn *Salmonella* và đặc biệt là sự có mặt của vi khuẩn *Pseudomonas* với 13,33%.

Thử kháng sinh đồ với các vi khuẩn phân lập được từ dịch viêm tử cung, âm đạo của lợn bệnh có tỷ lệ mẫn cảm không cao với các loại kháng sinh, cao nhất là Oxytetracyclin, Gentamicin và Neomycin.

Các kháng sinh thường dùng như Penicillin, Streptomycin và Tetracyclin hầu như không mẫn cảm.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Viêm tử cung là bệnh phổ biến xảy ra ở gia súc sinh sản đặc biệt với lợn nái ngoại. Bệnh trực tiếp ảnh hưởng khả năng sinh sản của đàn lợn và sự phát triển của ngành chăn nuôi lợn ngoại ở nước ta. Bệnh viêm tử cung ở lợn nái ngoại sinh sản do nhiều nguyên nhân gây ra và mang lại hậu quả: tổn thương tổ chức và quá trình bội nhiễm các loại vi khuẩn. Để có phương pháp điều trị hiệu quả bệnh viêm tử cung ở lợn nái, thì việc nghiên cứu tìm ra các loại vi khuẩn gây bệnh và các loại kháng sinh mẫn cảm với vi khuẩn là việc làm cần thiết.

2. NỘI DUNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Vật liệu và đối tượng

Dịch viêm tử cung và âm đạo của lợn khỏe và lợn bị viêm nội mạc tử cung của đàn lợn nái ngoại sinh sản nuôi tại một số trang trại chăn nuôi lợn nái ngoại tại thành phố Thái Nguyên.

Phương pháp

Phương pháp xét nghiệm và giám định vi khuẩn theo Phạm Kim Anh (1991) [1].

- Lấy mẫu dịch viêm tử cung, âm đạo ở lợn bình thường và lợn bệnh. Phân lập giám định thành phần vi khuẩn trên các môi trường phù hợp như: Thạch máu, thạch huyết thanh, MacConkey, Gerlatin... các vi khuẩn được nuôi cấy trong thời gian 24 giờ, 36 giờ, 48 giờ ở 37°C.

- Làm kháng sinh đồ theo phương pháp của Kirby – Bauer cải tiến.

- Môi trường sử dụng làm kháng sinh đồ là môi trường Muller Hinton.

- Giấy tẩm kháng sinh do hãng Oxoid (Anh) cung cấp và một số loại giấy khác được sản xuất trong nước theo tiêu chuẩn của Oxoid (Anh).

- Đánh giá kết quả dựa theo quy trình và bảng chuẩn của hãng sản xuất các khoanh giấy thử kháng sinh đồ và của Bộ Y tế: Đường kính vòng vô khuẩn;

$\phi \geq 20\text{mm}$: rất mẫn cảm, ϕ từ 15 – 20mm: mẫn cảm trung bình, $\phi \leq 10\text{mm}$: kháng thuốc.

- Xử lý số liệu theo phương pháp thống kê sinh vật học của Nguyễn Văn Thiện, (2002) [5].

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Kết quả phân lập và giám định thành phần các loại vi khuẩn trong dịch tử cung, âm đạo của lợn nái bình thường và bệnh lý.

Để làm rõ về các loại vi khuẩn có trong đường sinh dục của lợn chúng tôi tiến hành lấy mẫu (3 – 5ml/mẫu) dịch tử cung âm đạo của lợn nái bình thường sau đẻ 12 – 24 giờ để xét nghiệm các vi khuẩn thường gặp trong tử cung lợn bình thường.

Kết quả xét nghiệm trên 30 mẫu dịch tử cung, âm đạo của lợn bình thường được thể hiện tại bảng 1.

Kết quả cho thấy:

- Các loại vi khuẩn *E.coli*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*

và *Salmonella* thường gặp trong dịch tử cung, âm đạo của lợn bình thường: có 76,67% số mẫu bệnh phẩm phát hiện có *E.coli*, 86,67% có *Staphylococcus*, 73,33% có mặt vi khuẩn *Streptococcus*, 23,33% có sự xuất hiện của *Salmonella* và 0% số mẫu có vi khuẩn *Pseudomonas*. Kết quả trên cho

Kết quả được thể hiện tại bảng 02.

Qua bảng 2 cho thấy sự có mặt với tỷ lệ cao của các loại vi khuẩn trên, 100% số mẫu bệnh phẩm có chứa vi khuẩn *E.coli* và *Staphylococcus*, 83,33% vi khuẩn *Streptococcus*, 43,33% vi khuẩn *Salmonella* và đặc biệt là sự có mặt của vi khuẩn

được từ dịch viêm tử cung lợn nái với một số loại thuốc kháng sinh

Để giúp người chăn nuôi lợn nái lựa chọn đúng loại thuốc điều trị bệnh viêm tử cung, chúng tôi tiến hành làm kháng sinh đồ của những vi khuẩn phân lập được từ dịch tử cung, âm đạo của lợn nái mắc bệnh. Kết quả được trình bày tại bảng 03.

Kết quả của bảng 3 cho thấy: những vi khuẩn phân lập được từ dịch viêm tử cung, âm đạo của lợn nái có tỷ lệ mẫn cảm không cao với các loại thuốc kháng sinh. Trong đó thuốc có độ mẫn cảm cao nhất là Oxytetracyclin, Gentamicin và Neomycin. Một số loại kháng sinh thường dùng trong thực tiễn sản xuất như: Penicillin, Streptomycin hay Tetracyclin hầu như không mẫn cảm. Kết quả nghiên cứu phù hợp với kết quả nghiên cứu của Nguyễn Văn Thanh (2003) [3]. Như vậy theo chúng tôi để tiến hành điều trị bệnh viêm tử cung, âm đạo của lợn nái nên dùng các thuốc Oxytetracyclin, Gentamicin và Neomycin không nên chọn các thuốc Penicillin, Streptomycin và Tetracyclin.

Kết quả xác định tính mẫn cảm của tập đoàn vi khuẩn trong dịch viêm tử cung, âm đạo của lợn nái với một số loại thuốc kháng sinh

Trong nguyên tắc sử dụng kháng sinh cũng như thực tế sản xuất cần phải phát hiện bệnh sớm, điều trị kịp thời. Do đó, chúng ta không có nhiều thời gian để phân lập giám định từng loại vi khuẩn rồi làm kháng sinh đồ như trên được. Vì vậy để đáp ứng kịp thời công tác điều trị chúng tôi đã tiến hành làm kháng sinh đồ trực tiếp với cả tập đoàn vi khuẩn có trong dịch viêm tử cung của lợn nái mắc bệnh để giúp người chăn nuôi chọn ra loại kháng sinh phù hợp

Bảng 1. Kết quả phân lập và giám định thành phần các loại vi khuẩn trong dịch tử cung, âm đạo của lợn nái bình thường

Loại vi khuẩn	Số mẫu xét nghiệm	Số mẫu dương tính	Tỷ lệ (%)
<i>E. coli</i>	30	23	76,67
<i>Staphylococcus</i>	30	26	86,67
<i>Streptococcus</i>	30	22	73,33
<i>Salmonella</i>	30	7	23,33
<i>Pseudomonas</i>	30	0	0

Bảng 2. Kết quả phân lập và giám định thành phần các loại vi khuẩn trong dịch tử cung, âm đạo của lợn nái bị viêm tử cung

Loại vi khuẩn	Số mẫu xét nghiệm	Số mẫu dương tính	Tỷ lệ (%)
<i>E. coli</i>	30	30	100
<i>Staphylococcus</i>	30	30	100
<i>Streptococcus</i>	30	25	83,33
<i>Salmonella</i>	30	13	43,33
<i>Pseudomonas</i>	30	4	13,33

thấy trong tử cung, âm đạo của lợn bình thường luôn có sẵn các loại vi khuẩn và nó có thể gây bệnh cho con vật khi có các điều kiện thuận lợi. Kết quả nghiên cứu phù hợp với kết quả nghiên cứu của Hồ Văn Nam (1997) [2], 100% mẫu phân lợn khỏe mạnh có chứa *E.coli*, 40 – 80% có *Salmonella*, ngoài ra còn phát hiện *Staphylococcus*, *Streptococcus*.

Để so sánh về các loại vi khuẩn có trong dịch tử cung, âm đạo của nái bị viêm và trong dịch tử cung, âm đạo của nái bình thường chúng tôi tiến hành lấy (3 – 5ml/mẫu) dịch tử cung, âm đạo của nái viêm tử cung.

Pseudomonas với 13,33%. Các kết quả trên phù hợp với nghiên cứu của Nguyễn Văn Thanh (2007) [4] trên bò sữa.

Trong điều kiện sinh lý bình thường cổ tử cung luôn khép chặt nên các vi khuẩn không có cơ hội xâm nhập vào tử cung nhưng trong quá trình đẻ cổ tử cung mở là cơ hội để vi khuẩn xâm nhập và gây bệnh. Khi tử cung bị viêm, dịch viêm tử cung chứa các sản phẩm độc kích thích các vi khuẩn khác xâm nhập như *Pseudomonas* làm đẩy nhanh quá trình hình thành mủ trong viêm tử cung.

Kết quả xác định tính mẫn cảm của các vi khuẩn phân lập

Bảng 3. Kết quả xác định tính mẫn cảm của các vi khuẩn phân lập được từ dịch viêm tử cung lợn nái với một số loại thuốc kháng sinh

Loại VK	<i>E.coli</i> (n = 15)		<i>Salmonella</i> (n = 15)		<i>Staphylococcus</i> (n = 12)		<i>Streptococcus</i> (n = 12)	
	Mẫn cảm	Tỷ lệ (%)	Mẫn cảm	Tỷ lệ (%)	Mẫn cảm	Tỷ lệ (%)	Mẫn cảm	Tỷ lệ (%)
Loại KS								
Ampicillin	2	13,33	3	20,00	3	25,00	2	16,67
Neomycin	9	60,00	12	80,00	8	66,67	12	100
Norfloxacin	6	40,00	12	80,00	9	75,00	7	58,33
Gentamicin	10	66,67	12	80,00	10	83,33	11	91,67
Tetracyclin	2	13,33	0	0	2	16,67	0	0
Penicillin	2	13,33	1	6,67	2	16,67	8	66,67
Streptomycin	0	0	8	53,33	0	0	4	33,33
Doxycyclin	3	20,00	4	26,67	7	58,33	6	50,00
Oxytetracyclin	11	73,33	9	60,00	11	91,67	12	100

Bảng 4. Kết quả xác định tính mẫn cảm của tập đoàn vi khuẩn trong dịch viêm tử cung, âm đạo của lợn nái với một số loại thuốc kháng sinh

TT	Loại kháng sinh	Số mẫu kiểm tra	Số mẫu mẫn cảm	Tỷ lệ (%)	Đường kính vòng vô khuẩn $\bar{X} \pm m_x$
1	Ampicillin	10	1	10,00	8,15 $\pm$ 0,35
2	Neomycin	10	9	90,00	15,65 $\pm$ 0,42
3	Norfloxacin	10	4	40,00	16,23 $\pm$ 0,78
4	Gentamicin	10	7	70,00	19,34 $\pm$ 0,53
5	Tetracyclin	10	4	40,00	14,56 $\pm$ 0,46
6	Penicillin	10	3	30,00	13,25 $\pm$ 0,32
7	Streptomycin	10	1	10,00	8,46 $\pm$ 0,18
8	Doxycyclin	10	5	50,00	15,32 $\pm$ 0,33
9	Oxytetracyclin	10	8	80,00	22,31 $\pm$ 0,67

nhất. Kết quả được trình bày tại bảng 4.

Từ kết quả của bảng 4 ta thấy: mức độ mẫn cảm của tập đoàn vi khuẩn có trong dịch viêm tử cung, âm đạo của lợn nái với thuốc kháng sinh là không cao. Trong 9 loại kháng sinh được sử dụng thí nghiệm chỉ có 3 kháng sinh là Oxytetracyclin, Neomycin và Gentamicin có tỷ lệ vi khuẩn mẫn cảm cao trên 70,00%. 3 loại kháng sinh có tỷ lệ mẫn cảm thấp dưới 30% là Penicillin, Streptomycin và Ampicillin. Kết quả này phù hợp với kết quả làm kháng sinh đồ đối với từng loại vi khuẩn.

Như vậy trong thực tế chúng ta có thể sử dụng phương pháp làm kháng sinh đồ với tập đoàn vi khuẩn trong dịch viêm tử

cung, âm đạo ở lợn.

KẾT LUẬN

1. Trong tử cung, âm đạo của lợn bình thường có 86,67% số mẫu bệnh phẩm phát hiện thấy *Staphylococcus*, có 76,67% có *E.coli*, 73,33% có *Streptococcus* và 23,33% có *Pseudomonas*.

2. Khi tử cung, âm đạo bị viêm thấy 100% mẫu bệnh phẩm có *E.coli* và *Staphylococcus*, 83,33% phát hiện thấy vi khuẩn *Streptococcus*, 43,33% có *Salmonella* và đặc biệt 13,33% mẫu phát hiện thấy sự có mặt của *Pseudomonas*.

3. Những vi khuẩn phân lập được từ dịch viêm tử cung, âm đạo của lợn bệnh có tỷ lệ mẫn cảm không cao với các loại kháng sinh, cao nhất là Oxytetracyclin, Gentamicin và

Neomycin và các kháng sinh mẫn cảm ít nhất là Penicillin, Streptomycin và Tetracyclin.

4. Để lựa chọn thuốc thích hợp trong việc điều trị bệnh viêm tử cung, âm đạo của lợn có thể dùng mẫu bệnh phẩm là dịch viêm tử cung, âm đạo để kiểm tra kháng sinh đồ trực tiếp. □

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1]. Phạm Kim Anh (1991), *Staphylococcus và Streptococcus. Kỹ thuật xét nghiệm vi sinh vật học NXB Văn hóa Hà Nội.*
- [2]. Hồ Văn Nam, Nguyễn Thị Đào Nguyên, Phạm Ngọc Thạch (1997), *Giáo trình chẩn đoán lâm sàng thú y, NXB Nông nghiệp Hà Nội.*
- [3]. Nguyễn Văn Thanh (2003), *Khảo sát tỷ lệ mắc bệnh viêm tử cung trên đàn lợn nái ngoại nuôi tại Đồng bằng sông Hồng và thử nghiệm điều trị. Tạp chí KHKT thú y, tập 10.*
- [4]. Nguyễn Văn Thanh (2007), *Thành phần các loài vi khuẩn trong dịch viêm tử cung và âm đạo của bò sữa và tính mẫn cảm với một số loại kháng sinh thường dùng. Tạp chí KHKT thú y, tập 14.*
- [5]. Nguyễn Văn Thiện (2002), *Thông kê sinh vật học, NXB Nông nghiệp.*

ẢNH HƯỞNG CỦA KỸ THUẬT HÁI ĐẾN SINH TRƯỞNG, NĂNG SUẤT, CHẤT LƯỢNG CHÈ PHÚC VÂN TIÊN, KEO AM TÍCH

Hoàng Thị Lệ Thu

Khoa Nông - Lâm - Ngư

Trường Đại học Hùng Vương, Phú Thọ

Nguyễn Thị Ngọc Bình

Viện Khoa học kỹ thuật nông lâm nghiệp miền núi phía Bắc

TÓM TẮT

Kỹ thuật hái có ảnh hưởng lớn sinh trưởng, năng suất và chất lượng của chè, từ đó ảnh hưởng đến giá trị kinh tế thu được từ cây chè cũng như tính bền vững trong kinh doanh chè. Để đánh giá được ảnh hưởng của kỹ thuật hái, chúng tôi tiến hành bố trí các thí nghiệm theo các công thức khác nhau. Sau đó tiến hành đo đếm đánh giá các chỉ tiêu về sinh trưởng, phát triển, chất lượng chè nhằm tìm ra được kỹ thuật hái chè tối ưu tại khu vực nghiên cứu.

I. Đặt vấn đề

Việc chọn lựa hái búp dài hoặc ngắn, cách hái chừa lại nông hay sâu, hái bằng tay hoặc bằng máy,... không chỉ ảnh hưởng độ non già của búp mà còn ảnh hưởng độ cao thấp của tán chừa, thời gian cho búp, mật độ và khối lượng búp. Vì thế hái chè là một thao tác kỹ thuật được khẳng định có ảnh hưởng rất lớn đến năng suất, phẩm cấp, sinh trưởng chè.

Chất lượng của chè thành phẩm phụ thuộc vào chất lượng nguyên liệu búp ban đầu. Các loại chè khác nhau, đòi hỏi chất lượng nguyên liệu và kỹ thuật chế biến khác nhau, phụ thuộc vào kỹ thuật hái tương ứng. Do kỹ thuật hái khác nhau sẽ ảnh hưởng đến phẩm cấp nguyên liệu búp ban đầu, từ đó ảnh hưởng đến chất lượng chè thành phẩm.

II. Mục tiêu, đối tượng, nội dung, phương pháp nghiên

cứu

2.1. Mục tiêu nghiên cứu

Trên cơ sở nghiên cứu các chỉ tiêu về đặc điểm hình thái cây, khả năng sinh trưởng, năng suất, chất lượng và chống chịu sâu bệnh của hai giống chè PVT, KAT được bố trí trên các kỹ thuật hái khác nhau, làm cơ sở để lựa chọn được biện pháp hái phù hợp với mỗi giống.

2.2. Đối tượng nghiên cứu

Hai giống chè Keo Am Tích và Phúc Vân Tiên:

- Giống Phúc vân Tiên: Trồng năm 2000 tại đồi 16, khu 2, Viện Nghiên cứu Chè.

- Giống Keo Am Tích: Trồng năm 2000 tại đồi 6, Công ty chè Đoan Hùng.

2.3. Nội dung nghiên cứu

- Đánh giá các chỉ tiêu sinh trưởng khi áp dụng các kỹ thuật hái cho hai giống PVT, KAT

- Đánh giá các chỉ tiêu cấu thành năng suất, năng suất và chất lượng của hai giống chè

trên các kỹ thuật hái khác nhau khác nhau.

- Tìm ra kỹ thuật thích hợp nhất cho mỗi giống chè trong điều kiện thí nghiệm.

2.4. Phương pháp nghiên cứu

2.4.1. Công thức thí nghiệm

Đề tài bố trí 4 công thức áp dụng cho cả 2 giống:

- CT1: Hái theo quy trình năm 2001

- CT2: Hái chừa đầu vụ cách vết đốn 10 cm, định hình mặt tán bằng theo vết hái chừa vụ xuân.

- CT3: Hái cách vết đốn 10 cm, sửa tán bằng máy đốn 2 đợt tháng 4, tháng 7.

- CT4: Hái cách vết đốn 10 cm, sửa tán bằng máy đốn sau 3-4 lứa hái liên tiếp.

2.4.2. Phương pháp bố trí thí nghiệm

Thí nghiệm được bố trí theo sơ đồ sau:

CT2	CT3	CT4	CT1
CT3	CT4	CT1	CT2

Thí nghiệm được nhắc lại 3 lần, một ô TN dài 10 m, mỗi ô gồm có 5 hàng chè. Khoảng cách trồng của giống Phúc Vân Tiên là 1,4 m x 0,4 m. Khoảng cách trồng của giống Keo Am Tích là 1,3 m x 0,33 m.

Diện tích một ô TN hái trên giống Phúc Vân Tiên là 70m². Tổng diện tích thí nghiệm hái trên giống Phúc Vân Tiên là 1000 m² kể cả các hàng bảo vệ.

Diện tích một ô TN hái trên giống Keo Am Tích là 45 m². Tổng diện tích thí nghiệm hái trên giống Keo Am Tích là 700 m² kể cả các hàng bảo vệ.

2.4.2. Các chỉ tiêu theo dõi

- Các chỉ tiêu về sinh trưởng: so sánh mức độ sinh trưởng của cây giữa các công thức khác nhau (cao cây, rộng tán, hệ số lá)

+ Cao cây đo từ mặt đất đến mặt bằng tán (cm)

+ Rộng tán đo độ rộng tán trung bình hàng (cm)

+ Hệ số lá: vật lá toàn bộ cây cân tổng trọng lượng của lá, cân trọng lượng của 1 dm² lá, tính số m² của một cây chia cho diện tích dinh dưỡng đất của một cây, ta được hệ số lá.

- Các chỉ tiêu năng suất:

+ Sản lượng: Cân sản lượng từng lứa hái, tính năng suất búp tươi /ha

+ Mật độ búp: Đếm số búp/ khùng 50 cm x50 cm, tính số búp/m² trung bình mỗi lứa hái.

+ Trọng lượng búp trung bình (gam/búp), trọng lượng trung bình của 100 búp hái (không tính riêng búp 1 tôm 2 lá hoặc 1 tôm 3 lá)

+ Chiều dài búp (cm): được

tính theo chiều dài búp thu hái(đo từ phần cuống được hái đến đỉnh tôm)

+ Tỷ lệ búp mù xoè: đếm số búp mù / tổng số búp hái (%)

- Các chỉ tiêu sinh hoá (ta nin, chất hoà tan, đường,...) được phân tích tại bộ môn công nghệ sản phẩm của Viện KHK-TNLNMN phía Bắc.

- Các chỉ tiêu đánh giá chất lượng chè thành phẩm(hương, vị, màu nước, tổng điểm thử nếm) được đánh giá tại hội đồng thử nếm của Viện KHK-TNLNMN phía Bắc.

III. Kết quả nghiên cứu và thảo luận

3.1. Các chỉ tiêu về sinh trưởng cây

Sản phẩm thu hoạch của chè là búp và lá non, do vậy muốn cho cây có năng suất cao trước hết là cây phải sinh trưởng khoẻ, có hệ số lá cao, độ rộng tán lớn. Kết quả nghiên cứu được chúng tôi trình bày tại bảng 3.1.

Kết quả bảng 3.1 cho thấy: Áp dụng sửa tán bằng máy sau khi hái đã ảnh hưởng sinh trưởng chiều cao của cây cả 2 giống đều có chiều cao cây lớn nhất ở công thức 1 (PVT: 78,84 cm, KAT: 64,68cm), thấp nhất là công thức 4. (PVT: 71,47 cm; KAT: 58,84cm).

- Độ rộng tán cây quyết định đến diện tích bề mặt cho búp, nó tác động rất lớn đến hoạt

động sinh lý khác của cây như: Hô hấp, quang hợp...tác động trực tiếp đến sinh trưởng cây và năng suất búp chè. Số liệu B1 cho biết trên cả 2 giống độ rộng tán cao nhất là công thức 2 (PVT: 113,5 cm, KAT: 114,77 cm) tiếp đến là công thức 1 (PVT: 110,31 cm, KAT: 111,78 cm), thấp nhất là công thức 4 (PVT: 100,16 cm, KAT: 101,33 cm).

- Bộ tán lá đầy sẽ có hệ số diện tích lá lớn kết hợp với chiều rộng tán sẽ tạo ra không gian lớn đảm bảo cho cây chè quang hợp tốt thuận lợi cho sự hình thành và phát triển búp đó là cơ sở cho việc tăng năng suất. Kết quả cho biết giống PVT công thức 2 có độ dày tán lớn nhất là 27,45 cm, tiếp theo là công thức 1, thấp nhất là công thức 4. giống KAT dày tán lớn nhất là CT1: 35,33 cm, tiếp theo là công thức 2: 34,55 cm, thấp nhất CT 4: 31,17 cm

- Hệ số lá là một chỉ tiêu liên quan khả năng quang hợp của cây nó phụ thuộc diện tích của 1 lá và tổng diện tích lá trên cây. Việc sửa tán liên tục bằng máy ở CT4 đã không giữ cho các lá lành lặn ảnh hưởng trực tiếp đến diện tích 1 lá và làm giảm tổng diện tích lá đây là nguyên nhân trực tiếp làm cho CT4 có hệ số lá thấp nhất 3,49 và ảnh hưởng tới toàn bộ

Bảng 3.1. Ảnh hưởng của kỹ thuật hái đến các chỉ tiêu sinh trưởng cây chè

Công thức		Cao cây (cm)	Rộng tán (cm)	Dày tán (cm)	Hệ số lá
Phúc Vân Tiên	CT1	78,84 ± 1,31	110,31 ± 3,50	26,83 ± 0,87	3,98
	CT2	78,70 ± 1,43	113,5 ± 2,90	27,45 ± 0,59	3,95
	CT3	72,14 ± 1,36	105,00 ± 3,39	26,54 ± 0,84	3,78
	CT4	71,47 ± 1,24	100,16 ± 2,47	26,13 ± 0,70	3,49
Keo Am Tích	CT1	64,68 ± 1,67	111,78 ± 2,74	35,33 ± 1,32	3,87
	CT2	61,14 ± 1,47	114,77 ± 2,27	34,35 ± 1,01	3,82
	CT3	59,63 ± 1,97	106,27 ± 2,11	32,25 ± 1,27	3,64
	CT4	58,84 ± 1,65	101,23 ± 2,38	31,17 ± 1,21	3,41

các chỉ tiêu như chiều cao cây, độ rộng tán, độ dày tán lá đây cũng là một chỉ tiêu liên quan khả năng chống chịu sâu bệnh của các công thức hái.

3.2. Ảnh hưởng của kỹ thuật hái đến một số sâu hại chính trên chè

Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của kỹ thuật hái đến một số sâu hại chính trên chè được tổng hợp trong bảng 3.2.

Qua bảng 3.2 cho thấy: Các loại sâu hại chè trên giống PVT chủ yếu vẫn là rầy xanh và bọ cánh tơ, kỹ thuật hái khác nhau đã làm cho thời gian để có một lứa hái khác nhau vì thế mức độ nhiễm sâu bệnh khác nhau. Thời gian để có 1 lứa hái của CT1, 2 ngắn là một nguyên nhân làm cho mật độ sâu ít hơn nhưng sẽ không đảm bảo thời gian cách ly an toàn cho sản phẩm, bởi vì sau mỗi lứa hái thường phải phun thuốc nên số lần phun thuốc tỷ lệ thuận với số lứa hái không chỉ ảnh hưởng đến an toàn sản phẩm mà còn làm tăng chi phí đầu tư. Rầy xanh CT1 ít nhất 6,35 con/khay cao nhất CT4 9,62 con/khay, xuất hiện chủ yếu vào đầu vụ chè tháng 3 và tháng 6 còn các tháng khác ít hơn. Các loại sâu khác như bọ cánh tơ, nhện đỏ

, bọ xít muỗi tỷ lệ rất ít không khác nhau giữa các công thức. Đặc biệt lưu ý là tỷ lệ bệnh chám xám, khô vằn, phòng lá tăng cao ở CT4, do 2 nguyên nhân: Bản thân giống PVT tỷ lệ nhiễm bệnh cao so các giống khi gặp thời tiết bất thuận, mặt khác do việc hái theo CT4 đã không chừa được lá lành lặn, gây thương tổn liên tục cho lá do vậy tỷ lệ nhiễm bệnh cao hơn CT1,2.

Các loại sâu hại chè trên giống KAT diễn biến tương tự PVT, tuy nhiên việc sửa tán liên tục trên giống KAT không ảnh hưởng nặng đến tỷ lệ lá nhiễm bệnh, điều đó có lợi trong việc thực hiện hái máy, hoặc sửa tán bằng máy đối với KAT, Rầy xanh công thức 4 cao nhất trung bình là 5,59 con/khay, công thức 2 có số con TB/khay thấp nhất, Bọ cánh tơ tăng dần từ công thức 1 đến công thức 4, công thức 2 thấp nhất TB là 2,02 con/búp, cao nhất là công thức 4 TB 3,2 con/búp.

3.3. Ảnh hưởng của kỹ thuật hái đến các chỉ tiêu về búp chè

Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của kỹ thuật hái đến các chỉ tiêu về búp chè được tổng hợp trong bảng 3.3.

Qua bảng 3.3 cho thấy:

- Đối với giống Chè Phúc Vân Tiên:

+ CT4 có mật độ búp cao nhất. Mật độ búp các công thức sau đốn sửa tán bằng máy nhiều hơn và búp ra đều, tập trung hơn, nhưng thời gian cho một lứa hái dài, điều này có lợi cho việc cách ly thuốc bảo vệ thực vật. CT2 có sản lượng đạt cao nhất nhưng thời gian cho một lứa hái ngắn sẽ khó áp dụng việc cách ly thuốc bảo vệ thực vật.

+ Chiều dài búp, trọng lượng búp không chỉ là các yếu tố cấu thành năng suất mà còn liên quan đến chất lượng nguyên liệu búp và kết quả thử nếm ngoại hình chè thành phẩm. các kết quả theo dõi cho thấy: công thức hái khác nhau đều cho chiều dài búp và trọng lượng búp thấp hơn đối chứng. CT4 có khối lượng búp và chiều dài búp nhỏ nhất. Trọng lượng búp nhỏ là chỉ tiêu có lợi cho việc chế biến chè xanh chất lượng cao.

- Chè Keo Am Tích:

+ CT4 là công thức có mật độ búp cao nhất. Mật độ búp các công thức sau đốn sửa tán bằng máy nhiều hơn và búp ra đều, tập trung hơn, nhưng thời gian cho một lứa hái dài, điều này có lợi cho việc cách ly thuốc bảo vệ thực vật. CT2 có sản lượng đạt cao nhất nhưng thời gian cho một lứa hái ngắn sẽ khó áp dụng việc cách ly thuốc bảo vệ thực vật.

+ Chiều dài búp, trọng lượng búp không chỉ là các yếu tố cấu thành năng suất mà còn liên quan đến chất lượng

Bảng 3.2: Ảnh hưởng của kỹ thuật hái đến các loại sâu hại chính trên chè

Các loại sâu	Phúc vân Tiên				Keo Am Tích			
	CT1	CT2	CT3	CT4	CT1	CT2	CT3	CT4
Rầy xanh (con/khay)	6,35	6,97	9,44	9,62	3,62	3,60	4,57	5,59
Bọ cánh tơ (con/búp)	1,79	1,76	2,38	2,51	2,39	2,02	2,65	3,27
Nhện đỏ (con/lá)	1,50	1,33	1,61	1,35	0,09	0,05	0,13	0,28
Bọ xít muỗi (%) búp bị hại)	0,18	0,22	0,19	0,19	0,17	0,21	0,20	0,25
Tỷ lệ nhiễm bệnh chám xám (%) lá bị hại)	3,11	3,04	4,28	6,34	1,11	1,04	1,28	2,34

Bảng 3.3: Ảnh hưởng của kỹ thuật hái đến các chỉ tiêu về búp chè

Chỉ tiêu theo dõi	Đơn vị	Phúc Vân Tiên				Keo Am Tích			
		CT1	CT2	CT3	CT4	CT1	CT2	CT3	CT4
MĐB 2005	búp/cây	43,3	49,1	55,2	68,0	51,6	64,8	69,3	74,8
MĐB 2006	búp/cây	46,45	47,83	53,14	68,24	53,76	65,63	69,87	72,14
MĐB 2007	búp/cây	58,8	70,47	82,47	96,19	73,85	100,98	107,94	118,74
TLB 2005	gam	0,57	0,60	0,57	0,56	0,55	0,52	0,55	0,55
TLB 2006	gam	0,57	0,54	0,55	0,54	0,54	0,53	0,55	0,56
TLB 2007	gam	0,66	0,65	0,65	0,63	0,59	0,59	0,58	0,56
CDB 2005	cm	6,12	6,00	5,27	5,18	4,43	4,47	4,40	4,40
CDB 2006	cm	5,5	5,53	5,46	5,42	4,1	4,18	4,02	4,09
CDB 2007	cm	6,31	6,47	6,38	6,16	4,97	4,94	4,88	4,86
Số lứa hái 2005	lứa	17	16	11	10	12	11	9	7
Số lứa hái 2006	lứa	17	16	14	10	11	10	8	6
Số lứa hái 2007	lứa	18	16	13	10	12	10	8	6

nguyên liệu búp và kết quả thử nếm ngoại hình chè thành phẩm. các kết quả theo dõi cho thấy: công thức hái khác nhau đều cho chiều dài búp và trọng lượng búp thấp hơn đối chứng. CT4 có KLB và CDB nhỏ nhất. Trọng lượng búp nhỏ là chỉ tiêu có lợi cho việc chế biến chè xanh chất lượng cao.

3.4. Ảnh hưởng của kỹ thuật hái đến năng suất chè

Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của kỹ thuật hái đến năng suất chè được tổng hợp trong bảng 3.4.

Qua bảng 3.4 cho thấy:

- Chè Phúc Vân Tiên:

+ Hái theo CT2 cho sản lượng bình quân 3 năm cao hơn so đối chứng 9,58% nhưng số lứa hái nhiều, thời gian giữa các lứa hái ngắn sẽ không đảm bảo an toàn trong việc cách ly thuốc BVTV.

+ Hái theo CT4 sản lượng bình quân 3 năm đạt bằng 94,99 % so Đ/C, thời gian cách ly thuốc đảm bảo, an toàn nhưng hệ số lá giảm chỉ bằng 86,72% so Đ/C. Việc sửa tán liên tục

theo CT4 sẽ ảnh hưởng tới bề dày tán lá chè, làm thương tổn liên tục cho các lá chè, do việc cắt máy không thể lựa chọn chừa lại lá lành lặn cũng sẽ làm ảnh hưởng khả năng chống chịu khô hạn, sâu bệnh, nếu áp dụng liên tục sửa tán bằng máy sau khi hái hoặc áp dụng hái chè bằng máy phải có biện pháp tăng cường phân bón, tủ ẩm để giúp ổn định hệ số lá chè.

+ Sai khác không rõ rệt giữa năng suất của CT1 và CT3 là một kết quả tốt làm cơ sở chọn lựa hái theo CT3 cho sản xuất để đảm bảo cả sinh trưởng cho bộ lá trong năm do chỉ sửa tán 2 lần bằng máy, đồng thời đảm bảo năng suất và thời gian cách ly thuốc BVTV trong thời kỳ chè rộ giữa vụ.

- Chè Keo Am Tích:

+ CT 2 có năng suất đạt cao nhất sản lượng TB 3 năm cao hơn so Đ/C 11,5 %, biến động năng suất từng năm sai khác rõ rệt với đối chứng. Tuy nhiên CT 2 có số lứa hái nhiều, thời gian giữa các lứa hái ngắn sẽ không đảm bảo an toàn trong

việc cách ly thuốc BVTV.

+ CT 3 không có biến động sai khác năng suất với CT1 là cơ sở để áp dụng kỹ thuật hái chừa vụ xuân cách vết đồn 10 cm sửa tán bằng máy nhằm bảo đảm an

toàn trong việc cách ly thuốc BVT.

3.5. Ảnh hưởng của hái chè đến kết quả thử nếm

Thử nếm cảm quan là 1 trong những căn cứ rất quan trọng để đánh giá chất lượng của chè. Điểm của thử nếm cảm quan đánh giá bằng điểm của ngoại hình, màu nước, mùi, vị của chè thành phẩm. Kết quả được tổng hợp trong bảng 3.5.

Qua bảng 3.5 cho thấy:

- Đối với chè Phúc Vân Tiên: Các công thức có tổng số điểm thử nếm đều đạt loại khá, công thức có điểm cao hơn là công thức 2 và 3. chủ yếu do điểm ngoại hình chè cao mà nguyên nhân chính là do chiều dài búp và khối lượng búp của các CT nhỏ hơn so Đ/C.

- Đối với chè Keo Am Tích: Các công thức có tổng số điểm thử nếm đều đạt loại khá, công thức có điểm cao hơn là công thức 1 và 2, công thức có số điểm thấp nhất là công thức 4. Như vậy kết quả cho thấy hái chè ảnh hưởng đến chất lượng

Bảng 3.4: Ảnh hưởng của kỹ thuật hái đến năng suất chè

Năm		Phúc Vân Tiên				Keo Am Tích			
		CT1	CT2	CT3	CT4	CT1	CT2	CT3	CT4
2005	Kg/ha	4747,5	5335,4	4778,2	4733,2	4255,5	4664	4191,7	4115,1
	% so với đối ĐC	100,0	112,93	100,65	99,7	100,0	109,6	98,5	96,70
	LSD _{0,05}	LSD _{0,05} : 231,84				LSD _{0,05} : 351,89			
2006	Kg/ha	5213,3	5886,7	5060,0	4906,7	4273,3	4686,7	4173,3	4073,3
	% so với đối ĐC	100,0	112,92	97,06	94,12	100,0	109,67	97,66	95,32
	LSD _{0,05}	LSD _{0,05} : 160,20				LSD _{0,05} : 329,52			
2007	Kg/ha	7010,6	7374,7	6968,8	6464,6	5122,3	5665,3	5026,0	4936,4
	% so với đối ĐC	100,0	105,2	99,40	92,21	100,0	114,60	98,12	96,37
	LSD _{0,05}	LSD _{0,05} : 353,75				LSD _{0,05} : 318,28			
TB	Kg/ha	5657,13	6198,93	5602,33	5368,17	4550,37	5073,62	4463,67	4374,93
	% so với đối ĐC	100	109,58	99,33	94,99	100,0	111,5	98,1	96,14

chè thành phẩm chủ yếu là do điểm ngoại hình chè mà nguyên nhân trực tiếp đến điểm ngoại hình chính là do việc hái búp khác nhau đã ảnh hưởng đến chiều dài búp và khối lượng búp.

Tỷ lệ mù xoè, tỷ lệ bánh tẻ của CT 4 thấp nhất so đối chứng. Phẩm cấp chè A+B đạt cao nhất là ưu điểm nổi bật của các công thức hái kết hợp sửa tán bằng máy. Điểm thử nếm biến động qua các công thức không rõ.

3.6. Ảnh hưởng của kỹ thuật hái đến chất lượng nguyên liệu búp

Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của kỹ thuật hái đến chất lượng nguyên liệu búp được tổng hợp trong bảng 3.6.

Qua bảng 3.6 cho thấy:

- Chè Phúc Vân Tiên: Tỷ lệ mù xoè, tỷ lệ bánh tẻ của CT 4 thấp nhất so đối chứng. Phẩm cấp chè A+B đạt cao nhất là ưu điểm nổi bật của các công thức

hái kết hợp sửa tán bằng máy, kết quả tỷ lệ A+B của CT2 khá cao cho thấy đây là công thức dễ áp dụng ra sản xuất cho các hộ nông dân nhỏ, mặc dù CT2 sẽ tốn nhiều công hái và thời gian cách ly thuốc BVTV ngắn nhưng CT2 có năng suất cao nhất và chất lượng chè búp cũng khá cao.

Keo Am Tích: Tỷ lệ mù xoè, tỷ lệ bánh tẻ của CT 4 thấp nhất so đối chứng. Phẩm cấp chè A+B đạt cao nhất là ưu điểm nổi bật của các công thức hái kết hợp sửa tán bằng máy. Điểm thử nếm biến động qua các công thức không rõ.

3.7. Ảnh hưởng của hái chè

Bảng 3.5. Ảnh hưởng của hái chè đến thử nếm cảm quan chè xanh

Năm	Phúc Vân Tiên				Keo Am Tích			
	CT1	CT2	CT3	CT4	CT1	CT2	CT3	CT4
2006 (điểm)	16,75	17,21	16,96	16,75	16,60	16,59	16,46	16,35
2007 (điểm)	16,25	16,47	16,25	16,30	16,75	16,64	16,37	16,35
TB (điểm)	16,50	16,84	16,61	16,53	16,68	16,62	16,42	16,35
Xếp loại	Khá	Khá	Khá	Khá	Khá	Khá	Khá	Khá

Bảng 3.6: Phẩm cấp chất lượng nguyên liệu chè thành phẩm

Chỉ tiêu theo dõi	Phúc Vân Tiên				Keo Am Tích			
	CT 1	CT 2	CT 3	CT 4	CT 1	CT 2	CT 3	CT 4
Tỷ lệ mù xoè %	9,9	7,6	6,2	6,1	7,8	7,1	6,7	5,4
Tỷ lệ bánh tẻ %	16,4	12,8	10,6	9,3	14,6	12,0	11,3	17,1
Tỷ lệ A+B %	72,7	81,2	83,6	85,3	80,6	88,7	88,9	89,5

fein, tinh dầu, sắc tố, các vi lượng ... Song để đánh giá chất lượng chè, đầu tiên phải chú ý đến hàm lượng các chất hoà tan trong chè, chúng chiếm từ 40-45% trọng liệu khô của nguyên

liệu, từ 32-40% ở chè bán thành phẩm, bao gồm hầu hết các chất có giá trị trong chè.

+ Hợp chất Tanin trong chè cũng chiếm vị trí khá quan trọng, hợp chất Tanin có ảnh hưởng quyết định đến hương vị, màu sắc của chè. Trong quá trình chế biến thì hàm lượng Tanin - Catexin tham gia trực tiếp vào quá trình biến đổi sinh hoá phức tạp để tạo nên hương vị đặc trưng cho từng loại sản phẩm.

+ Kết quả phân tích sinh hoá cho thấy các CT hái khác nhau thành phần sinh hoá trong búp có sự khác nhau nhưng biến động không lớn, công thức 3,4 có chỉ tiêu axit amin và đường khử cao hơn các CT khác có thể do việc sửa tán kéo dài thời gian hình thành búp là yếu tố giúp búp chín kỹ (đạt độ chín).

- Keo Am Tích: Kỹ thuật hái khác nhau đã ảnh hưởng đến thành phần sinh hoá trong búp các công thức có sự khác nhau. Công thức 4 có chỉ tiêu axit amin và đường khử cao nhất tiếp đến là CT3, thấp nhất là CT1. nguyên nhân có thể do việc sửa tán liên tục sau các lứa hái đã kéo dài thời gian hình thành búp là yếu tố giúp các vật chất hữu cơ được tích lũy

Bảng 7: Ảnh hưởng của hái đến một số chỉ tiêu sinh hoá chè

Công thức		Tanin (%)	Chất hoà tan (%)	Axit amin (%)	Đường khử (%)	Đạm T/S (%)
Phúc Vân Tiên	CT1	26,54	44,00	2,28	2,18	3,81
	CT2	26,96	43,66	2,34	2,17	4,06
	CT3	27,59	45,35	2,46	2,34	4,15
	CT4	27,94	44,15	2,48	2,45	4,17
Keo Am Tích	CT1	29,48	40,68	2,40	2,40	3,92
	CT2	29,60	41,37	2,54	2,47	4,18
	CT3	29,38	41,49	2,56	2,74	4,09
	CT4	29,44	42,37	2,64	2,76	4,16

đầy đủ, búp đạt độ chín kỹ.

IV. Kết luận

- Kỹ thuật hái khác nhau đã ảnh hưởng đến các chỉ tiêu sinh trưởng của cây chè. Hái theo CT4 sửa tán liên tiếp sau 3- 4 lứa hái trên cả hai giống đều có chiều cao cây thấp, độ rộng tán, độ dày tán, hệ số lá của cây chè thấp nhất

- CT 2 có năng suất đạt cao nhất sản lượng TB 3 năm cao hơn so Đ/C 9,58 % trên giống PVT và 11,5 % trên giống KAT, biến động năng suất từng năm sai khác rõ so đối chứng. CT 2 có số lứa hái nhiều, thời gian giữa các lứa hái ngắn sẽ không đảm bảo an toàn trong việc cách ly thuốc BVTV.

- Công thức 3 không có biến động sai khác năng suất với đối chứng là cơ sở để áp dụng kỹ thuật hái chừa vụ xuân cách vết đón 10 cm sửa tán bằng máy nhằm bảo đảm an toàn trong việc cách ly thuốc BVT

- Hái theo CT4 sản lượng đạt bằng 96,14 % so Đ/C trên giống (KAT) và đạt 94,99 % (PVT) thời gian cách ly thuốc đảm bảo an toàn nhưng hệ số lá giảm chỉ bằng 86,72% so Đ/C trên giống(PVT) và 88,11%(KAT) sẽ không đảm bảo an toàn cho sinh trưởng, làm giảm khả năng

chống chịu đặc biệt làm tăng tỷ lệ vết nám bệnh của cây chè. □

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nguyễn Ngọc Kính, Giáo trình cây chè- NXBNN- 1979
2. Đỗ Văn Ngọc, Nguyễn Thị Ngọc Bình- Kỹ thuật hái trên nương chè PHI năng suất cao ở Phú Hộ, Kết quả nghiên cứu khoa học và triển khai công nghệ về cây chè-NXBNN-1994, tr 90- 99
3. Đỗ Văn Ngọc, Nguyễn Thị Ngọc Bình, Đỗ Thị Trâm- Các biện pháp kỹ thuật nhằm sử dụng có hiệu quả nương chè 20-30 tuổi, Kết quả nghiên cứu khoa học và triển khai công nghệ về cây chè- NXBNN-1994, tr 100- 110
4. Nguyễn Thị Ngọc Bình, Nguyễn Văn Niệm- Xác định chu kỳ hái tối ưu đối với giống 1A, Tạp chí hoạt động khoa học. Phụ chương số 8, 1996 tr 13-15
5. Đỗ Văn Ngọc, Nguyễn Thị Ngọc Bình Nghiên cứu một số biện pháp trồng trọt, chế biến để nâng cao chất lượng, hiệu quả kinh tế giống chè PHI ở Phú Hộ. Tạp chí hoạt động khoa học. 8, 1996 tr 319-320
6. Nguyễn Văn Hùng, Nguyễn Văn Tạo- Quản lý cây chè tổng hợp-NXBNN- 2006.
7. Phạm Chí Thành, Phương pháp thí nghiệm đồng ruộng , NXBNN, Hà Nội- 1986
8. Nguyễn Văn Tạo, các phương pháp thí nghiệm đồng ruộng chè (phần nông học), tuyển tập các công trình nghiên cứu về chè (1988-1997)-NXBNN-1998

BƯỚC ĐẦU NGHIÊN CỨU KỸ THUẬT NHÂN GIỐNG IN VITRO LOÀI LAN KIM TUYẾN (*Anoectochilus setaceus* Blume)

Lê Thị Mận

Khoa Nông - Lâm - Ngư

Trường Đại học Hùng Vương, Phú Thọ

Nguyễn Thị Hồng Gấm

Khoa Lâm học - Trường Đại học Lâm nghiệp

TÓM TẮT

Lan Kim Tuyến (*Anoectochilus setaceus* Blume) là một trong những loài cây dược liệu quý có tác dụng phòng và chữa ung thư. Trong khuôn khổ bài báo đưa ra kết quả nghiên cứu giai đoạn đầu của quy trình nhân giống đó là các bước tạo mẫu sạch, tái sinh tạo thể chồi, nhân thể chồi và tạo chồi từ thể chồi góp phần tạo cây hoàn chỉnh. Kết quả này đã góp phần xây dựng hướng nhân giống mới, hiệu quả cho loài lan quý hiếm này.

1. Mở đầu

Lan Kim tuyến là loài cây thuốc đặc biệt có tác dụng tăng cường sức khỏe, phòng bệnh, có tính kháng khuẩn, chữa các bệnh viêm khí quản, chống tăng huyết áp, đau nhức khớp xương... Đặc biệt có khả năng phòng và chống ung thư. Hiện nay, ở Việt Nam số lượng loài này trong tự nhiên được phát hiện còn rất ít. Lan Kim tuyến được xếp trong nhóm IA của Nghị định 32/2006/CP; và nhóm thực vật đang nguy cấp EN A1a, c, d trong Sách Đỏ Việt Nam 2007. Việc nghiên cứu kỹ thuật nhân giống in vitro loài lan này vừa có ý nghĩa lý luận vừa có ý nghĩa thực tiễn to lớn góp phần vào công cuộc bảo tồn cũng như tận dụng tiềm năng to lớn về mặt y học của loài lan quý này.

2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu:

2.1. Đối tượng nghiên cứu:

Đối tượng nghiên cứu của đề tài: loài lan Kim tuyến (*Anoectochilus setaceus* Blume) được lấy từ Vườn Quốc gia Ba Vì – Hà Nội.

Vật liệu sử dụng: Phôi hạt của loài lan Kim tuyến (*Anoectochilus setaceus* Blume).

2.2. Phương pháp nghiên cứu:

2.2.1. Phương pháp bố trí thí nghiệm

* Khử trùng đưa mẫu vào nuôi cấy in vitro

Thí nghiệm 1: Tiến hành qua các bước:

- Rửa mẫu vật bằng chất tẩy nhẹ, rồi làm sạch dưới vòi nước chảy

- Khử trùng bằng cồn 70°, Clorua thủy ngân ($HgCl_2$), Natri hypoclorit ($NaOCl$) ở các nồng độ và thời gian khác nhau được thể hiện trong bảng 3.1, sau đó tráng lại bằng nước cất vô trùng 3-5 lần.

- Cây mẫu vào môi trường tái sinh thể chồi ban đầu trong điều kiện vô trùng

* Tạo và nhân nhanh thể chồi

- Tái sinh mẫu cây

Thí nghiệm 2: Nghiên cứu ảnh hưởng của môi trường hóa học đến khả năng tái sinh của mẫu cây. Hai loại môi trường cơ bản được thử nghiệm: Knud*, Hyponex. Kết quả tái sinh được thu thập sau 4 tuần nuôi cấy

Thí nghiệm 3: Nghiên cứu ảnh hưởng chất điều hòa sinh trưởng (ĐHST) đến khả năng tái sinh của mẫu cây. Phôi hạt được cấy vào môi trường cơ bản phù hợp nhất (tìm được ở thí nghiệm 2) có bổ sung các chất phụ gia và các chất ĐHST như ở bảng 3.3

- Nhân nhanh thể chồi

Thí nghiệm 4: Nghiên cứu ảnh hưởng của độ tuổi thể chồi đến khả năng nhân nhanh thể

Bảng 3.1. Ảnh hưởng của biện pháp khử trùng đến tỷ lệ mẫu sạch và tái sinh của mẫu cấy

Vật liệu	Công thức khử trùng	Tỷ lệ mẫu sạch (%)	Tỷ lệ mẫu tái sinh (%)	Thời gian mẫu bắt đầu tái sinh (ngày)
Quả	KQ1: 1 phút cồn 70% + 5 phút HgCl_2 0,1% + 10 phút NaOCl 20%	66,67	66,67	14 ngày
	KQ2: 1 phút cồn 70% + 7 phút HgCl_2 0,1% + 10 phút NaOCl 20%	100	88,89	14 ngày
	KQ3: 3 phút cồn 70% + 5 phút HgCl_2 0,1% + 10 phút NaOCl 20%	100	66,67	14 ngày
	KQ4: 3 phút cồn 70% + 7 phút HgCl_2 0,1% + 10 phút NaOCl 20%	100	44,44	20 ngày

chồi lan Kim tuyến in vitro. Các thể chồi độ tuổi khác nhau (6 tuần, 8 tuần, 10 tuần) được sử dụng để đánh giá khả năng nhân nhanh.

Thí nghiệm 5: Nghiên cứu ảnh hưởng của chất ĐHST đến khả năng nhân nhanh thể chồi:

Thí nghiệm được tiến hành trên môi trường cơ bản thích hợp thu được từ thí nghiệm 3 bổ sung (100ml/l ND + 100 g/l khoai tây + 20 g/l sucrose + 7 g/l agar) và các loại chất ĐHST có hàm lượng khác nhau như bảng 3.5:

Chỉ tiêu thu thập: hệ số nhân nhanh thể chồi, đặc điểm thể chồi. Sau 4 tuần cấy chuyên.

Thí nghiệm 6: Nghiên cứu ảnh hưởng của chế độ nuôi cấy đến khả năng nhân nhanh thể chồi: Thể chồi có cùng độ tuổi được cấy trên môi trường nhân nhanh thể chồi tốt nhất có bổ sung agar và không bổ sung agar.

* Phát sinh chồi từ thể chồi

Thí nghiệm 7: Nghiên cứu ảnh hưởng của hàm lượng đường đến khả năng phát sinh chồi từ thể chồi. Thể chồi cùng độ tuổi được cấy vào môi trường nhân nhanh thể chồi tốt nhất (tìm ra ở thí nghiệm 5), bổ

sung thêm đường sucrose hàm lượng khác nhau (10g/l, 20g/l, 30g/l, 40g/l). Kết quả được đánh giá sau 4 tuần nuôi cấy.

2.2.2. Phương pháp xử lý số liệu:

Các số liệu được tính toán theo phương pháp phân tích thống kê toán học. Quá trình xử lý số liệu được thực hiện trên máy tính với ứng dụng Data Analysis của chương trình Excel 5.0. Dùng hàm thống kê Anova để phân tích phương sai một nhân tố và hai nhân tố với ba lần lặp.

3. Kết quả nghiên cứu:

3.1. Ảnh hưởng của biện pháp khử trùng đến tỷ lệ mẫu sạch và khả năng tái sinh của mẫu cấy:

Đây chính là giai đoạn khó nhất và đóng vai trò quan trọng trong sự thành công của quy trình nhân giống in vitro. Trong thí nghiệm này Quả được tiến hành khử trùng kép với cồn 70° trong thời gian 1 phút/3 phút cồn 70% kết hợp với 5 phút/7 phút HgCl_2 0,1% và 10 phút NaOCl 20%.

Kết quả cho thấy các công thức đều có thể sử dụng để tạo mẫu sạch tuy nhiên tỷ lệ tái sinh có sự khác biệt giữa

các công thức. Trong đó công thức KQ2 (1 phút cồn + 7 phút HgCl_2 0,1% và 10 phút NaOCl) là phù hợp nhất cho khử trùng quả. Vừa cho tỷ lệ mẫu sạch cao 100%, tỷ lệ mẫu tái sinh là 88,89 %. Thời gian mẫu tái sinh ngắn (14 ngày).

Mặt khác, kết quả khử trùng mẫu như trên là cao. Ngoài nguyên nhân là do hiệu quả khử trùng của hoá chất, nguyên nhân khác do phôi hạt được bao bọc trong quả kín vô trùng (trái không bị nứt) do vậy tạo thuận lợi cho việc loại bỏ tác nhân gây nhiễm mẫu bên ngoài.

3.2. Ảnh hưởng của môi trường nuôi cấy đến khả năng tái sinh của mẫu cấy:

3.2.1. Nghiên cứu ảnh hưởng của môi trường hóa học đến khả năng tái sinh mẫu cấy:

Trong nuôi cấy in vitro, môi trường nuôi cấy đóng vai trò quan trọng: vừa phải cung cấp chất dinh dưỡng cho mẫu vừa phải biệt hoá mẫu theo những hướng xác định. Do đó nghiên cứu lựa chọn môi trường nuôi cấy cho tỷ lệ mẫu tái sinh cao. Với kết quả thử nghiệm trên hai loại môi trường cơ bản Knudson cải tiến (Knud*) và

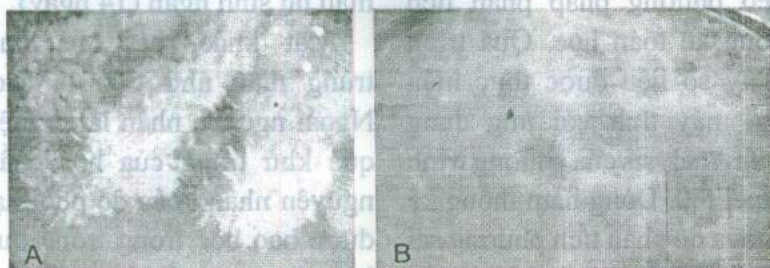
Bảng 3.2. Ảnh hưởng của môi trường hóa học đến khả năng tái sinh của phôi hạt.

Môi trường	Tỷ lệ tái sinh phôi sau 4 tuần (%)	Đặc điểm thể chồi sau 4 tuần nuôi cấy
Knud*	100	Thể chồi nhiều, tròn đều, màu vàng, thể chồi mập
Hyponex	33,33	Thể chồi ít và nhỏ hơn

Bảng 3.3. Ảnh hưởng của hàm lượng chất điều hoà sinh trưởng đến khả năng tái sinh của phôi hạt lan Kim tuyến

CTNC	Chất ĐHST (mg/l)			Tỷ lệ mẫu tái sinh (%)	Đặc điểm thể chồi sau 4 tuần nuôi cấy
	IAA	Kinetin	BAP		
ĐC	-	-	-	88,89	Thể chồi rất nhỏ, hơi vàng, sinh trưởng chậm
CK ₁	0,1	0,5	0,5	100	Thể chồi vàng, tròn, một số tạo mô sẹo, tái sinh sau 4 tuần
CK ₂	0,3	0,5	0,5	100	Thể chồi mập, sinh trưởng nhanh, tái sinh sau 2 tuần
CK ₃	0,5	0,5	0,5	88,89	Thể chồi nhỏ, hơi vàng

ĐC: Knud* + 100ml/l ND + 100g/l khoai tây + 20 g/l sucrose + 7 g/l agar



Hình 3.2. Thể chồi tái sinh trên môi trường Knud* (A) và trên môi trường Hyponex (B)

môi trường Hyponex được thể hiện trên bảng 3.2 và hình 3.2 cho thấy: môi trường cơ bản Knud* là phù hợp để tái sinh phôi hạt, thể chồi tái sinh trong môi trường này mập, tròn đều, màu vàng, thể chồi. Đồng thời cũng cho thấy hàm lượng khoáng thấp trong môi trường Hyponex có ảnh hưởng nhất định đến sự tái sinh của phôi hạt lan Kim tuyến cụ thể theo chiều hướng chưa thật có lợi, phôi nhỏ, ít.

3.2.2. Ảnh hưởng của chất điều hòa sinh trưởng đến khả năng tái sinh của mẫu cấy:

Chất điều hoà sinh trưởng không những là công cụ hữu

ích giúp chúng ta nghiên cứu sâu hơn về sự phát sinh hình thái thực vật mà còn giúp ta chủ động định hướng cho sự phát triển của thực vật trong ống nghiệm. Đặc biệt với mục đích nhân giống tạo số lượng lớn trong thời gian ngắn thì việc sử dụng các loại chất ĐHST ở nồng độ khác nhau cho tỷ lệ mẫu tái sinh lớn nhất là tất yếu.

Số liệu thu thập được thống kê trong bảng 3.3. Từ kết quả này chúng ta có thể thấy rằng môi trường Knud* có bổ sung 0,3 mg/l IAA + 0,5 mg/l Kinetin và 0,5 mg/l BAP là môi trường thích hợp nhất

được sử dụng cho mục đích tái sinh thể chồi. Ở nghiệm thức này tỷ lệ mẫu tái sinh cao và thời gian bắt đầu tái sinh ngắn.

3.3. Ảnh hưởng của độ tuổi thể chồi đến khả năng nhân nhanh thể chồi lan Kim tuyến in vitro.

Khả năng nhân nhanh thể chồi trong nhân giống lan được đánh giá là yếu tố quyết định hệ số nhân của cả quy trình. Đây là bước tạo nguồn vật liệu dồi dào cho quá trình tạo chồi, cây hoàn chỉnh về sau.

Thể chồi ở 6 tuần tuổi, 8 tuần tuổi và 10 tuần tuổi (được tính từ khi hạt được bắt đầu gieo vào môi trường) được cấy vào công thức môi trường nhân nhanh thể chồi: Knud* + 0,5 mg/l BAP + 0,3 mg/l Kinetin + 0,1 mg/l NAA + 100ml/l ND + 100g/l khoai tây + 20 g/l sucrose + 7 g/l agar. Kết quả cho thấy thể chồi có độ tuổi 8 tuần là nguyên liệu thích hợp nhất để nhân nhanh thể chồi.

Như vậy có thể rút ra rằng, với A. setaceus thì độ tuổi thích hợp nhất cho nhân nhanh là 8 tuần tuổi do hệ số nhân nhanh cao đồng thời thể chồi tạo ra có chất lượng tốt do vậy thuận lợi cho việc phát sinh hình thái mẫu về sau.

3.4. Ảnh hưởng của loại và nồng độ chất điều hoà sinh trưởng và chế độ nuôi cấy đến

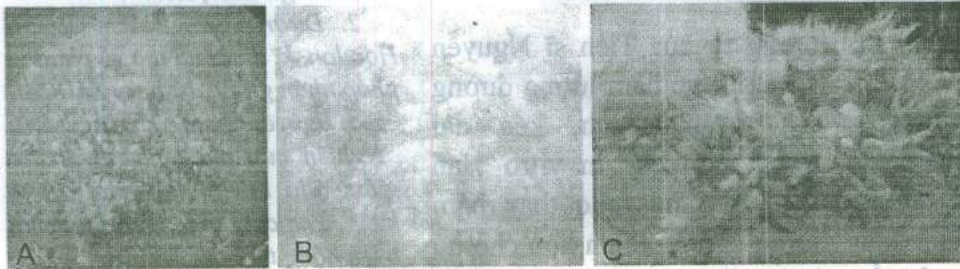
Bảng 3.4. Ảnh hưởng của độ tuổi thể chồi đến khả năng nhân nhanh thể chồi

Độ tuổi thể chồi	Đặc điểm	Hệ số nhân thể chồi (lần)
6 tuần	Thể chồi khá nhiều, nhỏ, trắng hơi xanh	4,00
8 tuần	Thể chồi nhiều, mập, khá xanh, xuất hiện một số lông tơ mọc từ gốc thể chồi	5,33
10 tuần	Thể chồi nhiều, mập, có lông tơ xuất hiện. Xanh đậm hơn thể chồi 8 tuần tuổi.	3,33

Bảng 3.5. Ảnh hưởng của các chất ĐHST đến khả năng nhân nhanh thể chồi

CTTN	Lượng chất ĐHST (mg/l)			Hệ số nhân thể chồi (lần)	Chất lượng thể chồi
	BAP	Kinetin	NAA		
CTTN1	0,3	0,3	0,1	2,11	+
CTTN2	0,3	0,3	0,3	1,78	++
CTTN3	0,5	0,3	0,1	5,33	+++
CTTN4	0,5	0,3	0,3	4,11	++
CTTN5	0,3	0,5	0,1	1,67	+
CTTN6	0,3	0,5	0,3	2,00	++
CTTN7	0,5	0,5	0,1	4,00	+++
CTTN8	0,5	0,5	0,3	3,22	++

Ghi chú: (+) Chất lượng thể chồi trung bình
(++) Chất lượng thể chồi khá
(+++) Chất lượng thể chồi tốt.



Hình 3.3. Thể chồi lan Kim tuyến với độ tuổi khác nhau: 6 tuần (A), 8 tuần (B), 10 tuần (C)

khả năng nhân nhanh thể chồi:

3.4.1. Ảnh hưởng của loại và nồng độ chất điều hoà sinh trưởng đến khả năng nhân nhanh thể chồi.

Thể chồi 8 tuần tuổi được lựa chọn làm vật liệu cho thí nghiệm này. Thể chồi được cấy vào môi trường: Knud* + 100ml/l ND + 100g/l khoai tây + 20 g/l sucrose + 7 g/l agar bổ sung thêm các chất điều hoà sinh trưởng với hàm lượng khác nhau. Kết quả thu được ở

bảng 3.5.

Như vậy, qua kết quả trên thấy rằng hàm lượng BAP thích hợp bổ sung vào trong môi trường nhân thể chồi là 0,5 mg/l, NAA là 0,1 mg/l và 0,3 mg/l Kinetin. Ở công thức này không những cho hệ số nhân chồi cao mà thể chồi tạo ra còn có chất lượng tốt.

3.4.2 Ảnh hưởng của chế độ nuôi cấy đến khả năng nhân nhanh thể chồi:

Trong thí nghiệm này chúng tôi tiến hành cấy chuyển

thể chồi ở cùng độ tuổi (8 tuần tuổi) trên môi trường nhân thể chồi: Knud* + 0,5 mg/l BAP + 0,3mg/l Kinetin + 0,1 mg/l NAA + 100ml/l ND + 100 g/l khoai tây + 20 g/l sucrose có bổ sung 7g/l agar (môi trường đặc) và không bổ sung agar (môi trường lỏng). Đối với môi trường lỏng, sau khi cấy thể chồi vào phải nuôi ở điều kiện máy lắc 50 vòng/phút để giúp cho quá trình thông khí trong môi trường diễn ra tốt, mẫu không bị chết do thiếu khí.

Hệ số nhân thể chồi trong môi trường lỏng kết hợp nuôi cấy lắc là 6,33 lần. Trong môi trường đặc thì hệ số này là 5,33 lần. Nguyên nhân của sự khác biệt này có thể được giải thích là do khi nuôi cấy trong môi trường lỏng có máy lắc thì khả năng tiếp xúc của mẫu

với môi trường nuôi cấy nhiều hơn do vậy khả năng hấp thụ chất dinh dưỡng nhiều hơn, đồng thời các chất ức chế sản xuất ra trong quá trình sinh trưởng của mẫu cây sẽ được khuếch tán vào trong môi trường.

3.5. Ảnh hưởng của hàm lượng đường đến khả năng phát sinh chồi từ thể chồi.

Sau khi đã tạo được một nguồn nguyên liệu nhất định cho nhân giống, chúng tôi đồng thời tiến hành kích thích

Bảng 3.6: Ảnh hưởng của chế độ nuôi cấy đến khả năng nhân nhanh thể chồi

Chế độ nuôi cấy	Hệ số nhân thể chồi sau 6 tuần (lần)	Chất lượng thể chồi	Màu sắc thể chồi
Đặc	5,33	++	Xanh
Lông, lác	6,33	+++	Trắng - xanh nhạt

Ghi chú: (++) Chất lượng thể chồi khá
(+++) Chất lượng thể chồi tốt.

Bảng 3.7: Ảnh hưởng của hàm lượng đường đến khả năng phát sinh chồi từ thể chồi

Hàm lượng đường	Tỷ lệ phát sinh chồi sau 2 tuần (%)	Tỷ lệ phát sinh chồi sau 4 tuần (%)	Chất lượng chồi sau 4 tuần
10 g/l	10	19,17	+
20 g/l	26,67	51,67	++
30 g/l	40	95,83	+++
40 g/l	39,17	95,83	+++



Hình 3.5: Chồi lan Kim tuyến phát sinh trên môi trường bổ sung 30 g/l (A) và 20 g/l (B) đường sucrose sau 4 tuần nuôi cấy

phát sinh chồi từ thể chồi để tạo cây

Theo bảng 3.7: Cho thấy tỷ lệ chồi phát sinh có xu hướng tăng khi hàm lượng đường trong môi trường tăng lên, điều này cho thấy đường là một yếu tố cần thiết cho sự phát triển biệt hoá của thể chồi để tạo thành chồi. Khi hàm lượng đường thấp (10 g/l) thì tỷ lệ chồi hình thành thấp (10% sau 2 tuần và 19,17% sau 4 tuần). Điều này chứng tỏ hàm lượng đường thấp đã tạo ra một giới hạn dưới cho sự phát sinh chồi từ thể chồi.

Như vậy qua thí nghiệm trên đã cho ta thấy hàm lượng đường 30 g/l được bổ sung vào môi trường là thích hợp nhất cho quá trình phát sinh chồi từ thể chồi. Nghiên cứu

tương tự của Tiến sĩ Nguyễn Văn Kết về hàm lượng đường cho nhân nhanh, kéo dài trong nuôi cấy in vitro lan A. fomesanus cho thấy hàm lượng đường thích hợp cho đó là 20 g/l.

4. Kết luận:

Bài báo đã giới thiệu bước đầu của quy trình nhân giống in vitro cho loài lan Kim tuyến *Anoetochilus setaceus*. Trong đó, với loài lan này phương pháp tạo mẫu sạch in vitro hiệu quả nhất được tìm ra đó là sử dụng cồn 70% trong thời gian 1 phút kết hợp với HgCl_2 0,1% trong 7 phút và NaOCl 20% 10 phút. Môi trường Knud* có bổ sung 0,3mg/l IAA kết hợp 0,5 mg/l BAP và 0,5 mg/l Kinetin là thích hợp nhất cho tái sinh mẫu. Trong đó độ tuổi

thể chồi được lựa chọn để nhân nhanh đó là chồi có độ tuổi 8. Môi trường nhân nhanh thể chồi là môi trường Knud* có bổ sung 0,5 mg/l BAP kết hợp 0,3 mg/l Kinetin và 0,1 mg/l NAA. Môi trường lỏng lác cho hiệu quả nhân nhanh cao hơn trên môi trường đặc. Hàm lượng đường thích hợp nhất cho phát sinh chồi từ thể chồi là môi trường bổ sung 30 g/l đường với tỷ lệ phát sinh chồi là 95,83%. □

Tài liệu tham khảo:

1. Brumitt R. K. (1992), "Vascular Plant families and genera, Royal botanical garden", Kew.
2. Dương Công Kiên (1993), Hoa lan, kỹ thuật lai tạo và phương pháp nhân giống, Nxb trẻ TpHCM.
3. Nguyễn Quang Thạch (2004), "Nghiên cứu nhân nhanh invitro giống địa lan thương mại "miss kim", Tạp chí nông nghiệp và phát triển nông thôn, số 2/2004.
4. Nguyễn Đức Thành (2000), Nuôi cấy mô - tế bào thực vật nghiên cứu và ứng dụng. Nxb Hà Nội.
5. Nantiva vadtanaphuti, "A field guide to the wild orchid of Thai lan".
6. He CN, Wang CL, Guo SX, Yang JS, Xiao PG. Study on chemical constituents in herbs of *Anoetochilus roxburghii*
7. Van Ket Nguyen, (2003). "Effect of Environmental Conditions on invitro and Ex. Invitro growth of Jewel Orchid (*Anoetochilus fomesanus* Hataya)". There is for the Degree of Doctor of Philosophy in Agryculture, The graduate School of Chungbuk National University.

MỨC ĐỘ Ô NHIỄM VI SINH VẬT TRONG SỮA BÒ TƯƠI TẠI TỈNH VINH PHÚC

Nguyễn Văn Minh - Chi cục Thú y Vĩnh Phúc
Nguyễn Ngọc Minh Tuấn - Đại học Hùng Vương
Nguyễn Quang Tuyên
Viện Khoa học sự sống - Đại học Thái Nguyên
Phạm Thị Ngọc - Viện Thú y

TÓM TẮT

Kiểm tra vi khuẩn vú phi lâm sàng bằng phương pháp CMT cho thấy: trong số 184 mẫu sữa núng vú được kiểm tra có 55 mẫu dương tính, chiếm tỷ lệ 29,89%.

Kết quả phân lập và giám định vi khuẩn cho thấy: Vi khuẩn *Staphylococcus aureus* chiếm tỷ lệ 31,52%, *Streptococcus agalactiae*: 22,28%, và *E.coli*: 19,02% trong 184 mẫu sữa bò tươi thu thập từ một số trại bò sữa trên địa bàn tỉnh Vĩnh Phúc.

Những nguyên nhân có thể dẫn đến sự xuất hiện các vi khuẩn trên đó là: Những sai sót trong quy trình vệ sinh vắt sữa, vệ sinh chuồng trại, điều trị cận sữa và các tác nhân gây bệnh khác. Sự có mặt của vi khuẩn gây bệnh trong sữa tươi là một trong các tác nhân gây ngộ độc sữa, ảnh hưởng đến sức khoẻ người tiêu dùng.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Trong những năm gần đây, vệ sinh an toàn thực phẩm được Đảng, Chính phủ đặc biệt quan tâm, trong đó có vệ sinh an toàn sữa và các sản phẩm từ sữa. Sữa bò là loại thực phẩm có giá trị dinh dưỡng cao, bổ cho sức khoẻ cho con người, nhất là trẻ em và người già. Tuy vậy, các thành phần dinh dưỡng có trong sữa cũng là điều kiện lý tưởng cho sự phát triển và sản sinh độc tố gây ngộ độc thực phẩm của nhiều loài vi khuẩn. Vì vậy, quá trình chăn nuôi bò sữa, thu gom, bảo quản, chế biến sữa luôn phải đảm bảo không để vi khuẩn xâm nhập dẫn đến tình trạng ngộ độc thực phẩm. Vụ ngộ độc thực phẩm ở Nhật Bản vào tháng 6/2003 làm hơn 9.000 người do uống sữa tươi Snow nhiễm *Staphylococcus aureus*.

Chính vì vậy, chúng tôi đã tiến hành kiểm tra chất lượng sữa và giám định một số vi

khẩn có mặt trong sữa được lấy từ bò sữa nuôi tại tỉnh Vĩnh Phúc để có biện pháp không chế góp phần đảm bảo an toàn thực phẩm cho người tiêu dùng.

II. NỘI DUNG, NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nội dung:

- Xác định tỷ lệ viêm vú phi lâm sàng trên một số trại bò sữa thuộc tỉnh Vĩnh phúc.

- Thu thập mẫu sữa từ đàn bò HF, F1, F2, F3 nuôi tại huyện Lập Thạch, Vĩnh Tường và Yên Lạc tỉnh Vĩnh Phúc. Phân lập và giám định vi khuẩn ô nhiễm.

2.2. Nguyên liệu

- Trang thiết bị, dụng cụ phòng thí nghiệm, môi trường và hóa chất dùng trong nuôi cấy, phân lập vi khuẩn.

2.3. Phương pháp nghiên cứu

- Phương pháp thu thập mẫu sữa, xử lý mẫu sữa được tiến hành theo quy trình chuyên giao

của dự án JICA.

- Các phương pháp nuôi cấy, phân lập, giám định vi khuẩn theo phương pháp của Nhật do dự án JICA – Bộ môn Vệ sinh thú y chuyên giao.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Kết quả kiểm tra bò bị viêm vú phi lâm sàng bằng phương pháp CMT

Để xác định tỷ lệ viêm vú phi lâm sàng của đàn bò sữa, chúng tôi tiến hành dùng thuốc thử CMT để thử với từng mẫu sữa được lấy trực tiếp từ núm vú và các mẫu sữa sau khi vắt để tiến hành thí nghiệm. Kết quả được trình bày ở bảng 1.

Kết quả bảng 1 cho thấy: Các mẫu sữa núm vú có tỷ lệ dương tính là 29,89%. So sánh kết quả của chúng tôi với kết quả nghiên cứu của tác giả như: Nguyễn Ngọc Nhiên & cs (1999)[4], kiểm tra trên đàn bò sữa nuôi tại Ba Vì và ngoại thành Hà Nội là

Bảng 1: Kết quả kiểm tra bò bị viêm vú phi lâm sàng bằng phương pháp CMT

Địa điểm (huyện)	Kết quả phản ứng CMT ($\Sigma n = 184$)		
	Số mẫu kiểm tra	Số mẫu dương tính (+)	Tỷ lệ (%)
Lập Thạch	48	18	37,50
Vĩnh Tường	80	23	28,75
Yên lạc	56	14	25,00
Cộng	184	55	29,89

45,92% thì kết quả của chúng tôi thấp hơn. Nguyên nhân của sự sai khác trên có thể do thời điểm kiểm tra khác nhau. Mặt khác, kinh nghiệm chăm sóc, khai thác bò sữa của người chăn nuôi được nâng cao thông qua các hình thức tuyên truyền, tập huấn về kỹ thuật chăm sóc, nuôi dưỡng của các tổ chức thú y trong và ngoài nước, vì vậy tỷ lệ viêm vú bò sữa ở dạng phi lâm sàng ngày càng được giảm dần.

3.2. Kết quả phân lập và giám định các loại vi khuẩn có trong mẫu sữa

Nhằm mục đích tìm ra các mầm bệnh lưu hành trong bò sữa tại địa bàn nghiên cứu, từ đó đề xuất giải pháp phòng chống hiệu quả, tránh thiệt hại kinh tế cho chủ trang trại, nông hộ và đảm bảo an toàn sữa tươi, nhóm nghiên cứu đã tiến hành phân lập vi khuẩn từ 184 mẫu sữa thu thập tại huyện Lập Thạch, Vĩnh Tường và Yên lạc. Kết quả được trình bày ở bảng 2.

- Tại bảng 2 cho thấy vi khuẩn *Staphylococcus* spp phân lập được ở 58/184 mẫu = 31,52% chiếm tỷ lệ cao nhất. Tại các địa điểm nghiên cứu, vi khuẩn này phân lập được cao nhất ở huyện Lập Thạch (33,33%), tiếp sau là Vĩnh Tường (31,25%) và thấp nhất ở Yên Lạc (30,35%).

- Vi khuẩn *Streptococcus* spp phân lập được ở

41/184 mẫu = 22,28%. Tỷ này ở các cơ sở là tương đương nhau, cụ thể ở Lập Thạch là 22,92%, ở Vĩnh Tường là 21,25% và Yên Lạc là 23,21%.

- Vi khuẩn *E.coli* phân lập được 35/184 mẫu, chiếm tỷ lệ 19,02%, ở các địa điểm nghiên cứu có sự chênh lệch nhau là không đáng kể, cao nhất là ở Vĩnh Tường là 20,00%, tiếp sau là Lập Thạch (18,75%) và thấp nhất là ở Yên Lạc (17,85%).

- Nhóm vi khuẩn khác không xác định chiếm tỷ lệ thấp (16,85%).

Với kết quả trên, bệnh viêm vú bò sữa xảy ra ở các trang trại, nông hộ chăn nuôi bò sữa tại Vĩnh Phúc là do ba loại vi khuẩn phân lập được kể trên là chủ yếu. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cũng tương đồng với kết quả nghiên cứu của các tác giả như Nguyễn Ngọc Nhiên và cs (1997)[4]; Nguyễn Quang Tuyên (2009)[5].

3.3. Kết quả phân loại một số vi khuẩn có trong mẫu sữa

3.3.1. Kết quả phân loại vi khuẩn *Staphylococcus* spp theo các cơ sở lấy mẫu

Sử dụng phản ứng Coagulaza phân loại *Staphylococcus* spp,

kết hợp với các đặc tính sinh hoá để phân biệt các chủng vi khuẩn *Staphylococcus*. Kết quả được trình bày ở bảng 3.

Kết quả tại bảng 3 cho thấy:

- Chủng vi khuẩn SA - *Staphylococcus aureus* (Tụ cầu vàng) xuất hiện trong các mẫu sữa với tỷ lệ cao nhất, tỷ lệ nhiễm SA của bò sữa nuôi tại Lập Thạch, Vĩnh Tường, Yên Lạc lần lượt là 50,00%, 48,00% và 52,94%. Theo Watts, L. J. (1990) N.M.C. (1996) và Akira Anri (2004) thì SA sau khi xâm nhập vào bầu vú chúng nhân lên nhanh chóng và sản sinh ra nhiều loại độc tố gây hoại tử mô tiết sữa tạo thành sẹo và một khi chúng ứ đọng trong mô sẹo thì khó có loại kháng sinh nào có thể tiêu diệt được chúng.

- Chủng vi khuẩn *Sta. epidermidis* phân lập được ở Lập Thạch (31,25%), Vĩnh Tường (32,00%) và Yên Lạc là 29,41%.

- Các chủng vi khuẩn *Sta. khác* phân lập được ở Lập Thạch (18,75%), Vĩnh Tường (20,00%) và Yên Lạc (17,65%).

Trong tổng số 58 mẫu sữa phân lập được *Staphylococcus* spp qua phân loại thấy *Sta. aureus* chiếm tỷ lệ 50,00%, cao hơn nhiều so với các *Staphylococcus* khác. Điều này chứng tỏ *Sta. aureus* thường

Bảng 2: Kết quả phân lập các loại vi khuẩn trong mẫu sữa nũm vú

Loại vi khuẩn	Địa điểm lấy mẫu							
	Lập Thạch (n = 48)		Vĩnh Tường (n = 80)		Yên lạc (n = 56)		Tổng số ($\Sigma n = 184$)	
	(+)	(%)	(+)	(%)	(+)	(%)	(+)	(%)
<i>Staphylococcus</i> spp	16	33,33	25	31,25	17	30,35	58	31,52
<i>Streptococcus</i> spp	11	22,92	17	21,25	13	23,21	41	22,28
<i>E. coli</i>	9	18,75	16	20,00	10	17,85	35	19,02
Các VK chưa phân loại	8	16,67	14	17,50	9	16,07	31	16,85

Bảng 3. Kết quả phân loại vi khuẩn *Staphylococcus* spp

Địa điểm lấy mẫu	Tổng số mẫu (+) <i>Staphylococcus</i> spp	Loại vi khuẩn					
		<i>Sta. aureus</i>		<i>Sta. epidermidis</i>		Các <i>Sta.</i> khác	
		n	%	n	%	n	%
Lập Thạch	16	8	50,00	5	31,25	3	18,75
Vĩnh Tường	25	12	48,00	8	32,00	5	20,00
Yên lạc	17	9	52,94	5	29,41	3	17,65
Tính chung	58	29	50,00	18	31,03	11	18,96

Bảng 4. Kết quả phân loại vi khuẩn *Streptococcus* spp

Địa điểm lấy mẫu	Tổng số mẫu (+) <i>Streptococcus</i> spp.	Loại vi khuẩn					
		<i>Strep. agalactiae</i>		<i>Strep. dysgalactiae</i>		Các <i>Strep.</i> khác	
		n	%	n	%	n	%
Lập Thạch	11	6	54,55	3	27,27	2	18,18
Vĩnh Tường	17	9	52,94	5	29,41	3	17,65
Yên lạc	13	7	53,86	3	23,07	3	23,07
Tính chung	41	22	53,65	11	26,83	8	19,51

xuyên có mặt và là nguyên nhân chính gây bệnh viêm vú bò sữa nuôi tại tỉnh Vĩnh Phúc. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cũng phù hợp với kết quả nghiên cứu của Nguyễn Ngọc Nhiên và cs (1997)[4]; Nguyễn Quang Tuyên (2009)[5].

3.3.2. Kết quả phân loại vi khuẩn *Streptococcus* spp theo các cơ sở lấy mẫu

Chúng tôi sử dụng phản ứng CAM để phân loại *Streptococcus* spp phân lập được từ các mẫu sữa bò. Kết quả được trình bày ở bảng 4.

Kết quả tại bảng 4 cho thấy: *Strep. agalactiae* chiếm tỷ lệ cao nhất (53,65%), tiếp theo là *Strep. dysgalactiae* (26,83%) và *Streptococcus* khác (19,51%). Kết quả này cũng phù hợp với kết quả của Nguyễn Quang Tuyên (2009)[5], Phạm Bảo Ngọc và cs (2009)[3] và một số tác giả

khác cho rằng *Strep. agalactiae* là một trong những nguyên nhân chính gây bệnh viêm vú ở bò sữa, các loài *Streptococcus* này thường là những vi khuẩn môi trường, chúng có mặt ở trong sữa do nhiều nguyên nhân khác nhau, nhưng chủ yếu là do vệ sinh, khai thác, vận chuyển sữa chưa đảm bảo vệ sinh.

3.4. Kết quả kiểm tra độc lực của một số chủng vi khuẩn phân lập được

Sử dụng phương pháp tiêm truyền cho chuột bạch với liều 0,2ml canh khuẩn, theo dõi chuột sau khi tiêm, xác định số chuột chết, thời gian chết. Kết quả được trình bày ở bảng 5.

Kết quả bảng 5 cho thấy: các chủng vi khuẩn gây bệnh có mặt trong sữa tươi là *Sta. aureus*, *Strep. agalactiae* đều có độc lực gây chết chuột bạch và *Sta. aureus* có tỷ lệ từ 36,36%

đến 58,63% giết chết 100% chuột; *Strep. agalactiae* có tỷ lệ từ 31,03% đến 45,45% số chuột giết chết 50% chuột sau thời gian từ 18 - 36 giờ và tỷ lệ không giết chết chuột là từ 10,43% đến 18,19%. Các chuột chết đều phân lập lại được vi khuẩn. Kết

quả này cũng phù hợp với Trần Thị Hạnh và cs (2003)[1], Phạm Bảo Ngọc và cs (2009)[3].

IV. KẾT LUẬN

- Phân lập vi khuẩn từ 184 mẫu sữa bò nuôi tại tỉnh Vĩnh Phúc cho kết quả: nhóm vi khuẩn *Staphylococcus* spp chiếm tỷ lệ cao nhất (31,52%), tiếp theo là nhóm vi khuẩn *Streptococcus* spp (22,28%) và thấp nhất là nhóm vi khuẩn *E. coli* (19,02%). Các vi khuẩn chưa phân loại chiếm tỷ lệ 16,85%.

- Kết quả phân loại vi khuẩn cho thấy: chủng *Staphylococcus aureus* chiếm tỷ lệ 50,00%, *Streptococcus agalactiae* tỷ lệ 53,65% trong tổng số *Staphylococcus* spp, *Streptococcus* spp phân lập được. Đây là những chủng vi khuẩn phổ biến được tìm thấy trong các mẫu sữa bò đã xét

Bảng 5. Kết quả kiểm tra độc lực của một số chủng vi khuẩn phân lập

Loại vi khuẩn	Số chủng có khả năng giết chuột				Không giết chuột	Số lượng chủng được thí nghiệm		Thời gian chuột chết
	Giết 2/2 chuột TN		Giết 1/2 chuột TN			Số chủng		
	Số chủng	%	Số chủng	%	Số chủng	%	Số chủng	Giờ
<i>Sta. aureus</i>	17	58,63	9	31,03	3	10,34	29	18 - 24
<i>Strep. agalactiae</i>	8	36,36	10	45,45	4	18,19	22	18 - 36

nghiệm và có các đặc tính sinh hoá đặc trưng, đồng thời các vi khuẩn này đều có khả năng sinh độc tố và có độc lực cao. Vì vậy, cần phải đảm bảo vệ sinh trong các khâu của quá trình sản xuất, chế biến, bảo quản sữa nhằm đảm bảo vệ sinh an toàn thực phẩm cho người tiêu dùng.

- Kết quả kiểm tra độc lực của các chủng vi khuẩn *St. aureus*, *Strep. agalactiae* trên chuột nhắt trắng, cho thấy các chủng vi khuẩn này đều gây chết chuột thí nghiệm. □

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Trần Thị Hạnh, Lưu Quỳnh Hương. Xác định một số vi khuẩn

trong sữa tươi và yếu tố gây độc của chúng. *Tạp chí KHKTYY. Tập X. Số 4 - 2003: 43 - 48.*

2. Nguyễn Hoa Lý. Một số loại vi khuẩn gây bệnh chủ yếu trong sữa tươi. *Tạp chí KHKTYY. Tập V. Số 1 - 1998: 85 - 88.*

3. Phạm Bảo Ngọc, Đỗ Ngọc Thúy, Cù Hữu Phú, Văn Thị Hương, Trần Việt Dũng Kiên, Nguyễn Xuân Huyền, Phạm Thị Thanh. Kiểm tra chất lượng sữa và giám định một số loại vi khuẩn gây bệnh có trong sữa tươi trên địa bàn Hà Nội và các vùng lân cận. *Tạp chí KHKTYY. Tập XVI. Số 4 - 2009: 74 - 78.*

4. Nguyễn Ngọc Nhiên, Cù Hữu Phú, Phạm Bảo Ngọc. Kết quả phân lập vi khuẩn từ bò sữa bị viêm

vú, thử kháng sinh đồ và điều trị thử nghiệm. *Tạp chí KHKTYY. Tập VI. Số 1 - 1999: 43 - 48.*

5. Nguyễn Quang Tuyên. Kết quả phân lập, xác định một số đặc tính sinh hóa học của vi khuẩn gây bệnh viêm vú tại tỉnh Thái Nguyên. *Tạp chí KHKTYY. Tập XVI. Số 1 - 2009: 30 - 35.*

6. Akira, A. (1996), *Current concept and practice on Mastitis control program in Hokkaido, Japan*, pp.28 - 35.

7. James, C., Tyler, J. W and Ruffin, D.C (1993), "Immunization and immunotherapy for mastitis veterinary clinics of North Animal food animal" practice 9, pp.537 - 549.

MỘT SỐ VẤN ĐỀ...

(Tiếp trang 35)

ách tắc giao thông, thiếu hụt về nước, năng lượng,... đồng thời tạo ra sự không ổn định về việc làm cho người lao động.

Việc xây dựng các cơ sở vật chất kỹ thuật phục vụ du lịch cộng đồng có thể là nguyên nhân của việc di chuyển chỗ ở và tái định cư ngoài ý muốn của người dân địa phương. Các tác động do thiết kế, xây dựng các cơ sở phục vụ du lịch cộng đồng có thể làm nảy sinh sự thiếu hài hoà về cảnh quan và về văn hoá - xã hội.

Các giá trị văn hoá truyền thống có thể bị xói mòn. Do có sự vượt trội trong một số đặc trưng văn hóa xa lạ được du khách mang đến so với nền văn hóa bản địa, nên giá trị văn hóa truyền thống có thể bị suy giảm, do xu hướng thị trường hoá các hoạt động văn hoá, do mâu thuẫn nảy sinh khi phát triển du lịch cộng đồng hoặc do tương phản về lối sống.

Hoạt động du lịch cộng đồng

còn có khả năng làm lây lan các bệnh truyền nhiễm (HIV, AIDS, SARS, H1N1,...), các tệ nạn xã hội (cờ bạc, mại dâm, ma túy, văn hóa phẩm đồi trụy phản động,...) từ đó làm gia tăng tội phạm.

3. KẾT LUẬN

Du lịch cộng đồng, một loại hình du lịch mới xuất hiện nhưng đã trở thành nét văn hoá, tính nhân văn trong đời sống của con người. Du lịch cộng đồng khơi dậy tinh thần tự hào dân tộc, giáo dục tính nhân văn cho các thế hệ trẻ và góp phần làm sinh động, đa dạng các hoạt động du lịch nói chung. Nghiên cứu một số vấn đề lý luận về du lịch cộng đồng đã đưa ra được hệ thống khái niệm về du lịch cộng đồng; đặc điểm, vai trò của du lịch cộng đồng; phân biệt sự khác nhau giữa du lịch cộng đồng với một số loại hình du lịch khác; đồng thời phân tích và làm rõ được tác động của du lịch cộng đồng

đến sự phát triển kinh tế - xã hội.

Vận dụng những kết quả nghiên cứu lý luận về du lịch cộng đồng nêu trên, chúng ta sẽ phân tích được toàn cảnh thực trạng du lịch cộng đồng ở một địa phương cụ thể. Từ đó sẽ tìm ra những hạn chế, nguyên nhân và xây dựng được hệ thống giải pháp nhằm phát triển du lịch cộng đồng, góp phần phát triển kinh tế - văn hoá, xã hội và sử dụng bền vững tài nguyên, môi trường ở địa phương đó. □

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Thương tọa Thích Đạt Đạo (2010), *Hoàng pháp với vấn đề du lịch tâm linh*, Tham luận Hội thảo Hoàng pháp toàn quốc năm 2010 tại Kiên Giang.

2. Nguyễn Văn Đình (2008), *Giáo trình Kinh tế du lịch*, Nxb ĐH Kinh tế Quốc dân, Hà Nội.

3. Trần Thị Thuý Lan (2007), *Giáo trình Tổng quan Du lịch*, Nxb Hà Nội.

4. Trần Thị Mai (2009), *Giáo trình Tổng quan du lịch*, Nxb Lao động, Hà Nội.

Dayid A. Fennell, *Introduction to Ecotourism* (Du lịch sinh thái),