

ĐẠI HỌC QUỐC GIA HÀ NỘI
TRƯỜNG ĐẠI HỌC KHOA HỌC TỰ NHIÊN

HỒ VIỆT HIẾU

NGHIÊN CỨU ĐẶC ĐIỂM SINH HỌC VÀ DI TRUYỀN
TẾ BÀO CỦA BỌ XÍT HÚT MÁU TRIATOMA
RUBROFASCIATA Ở KHU VỰC MIỀN TRUNG
VIỆT NAM

Chuyên ngành: Mô phôi và tế bào học

Mã số: 62420117

DỰ THẢO TÓM TẮT LUẬN ÁN TIẾN SĨ SINH HỌC

Hà Nội - 2020

Công trình được hoàn thành tại:
Trường Đại học Khoa học Tự nhiên - ĐHQGHN
Trường Đại học Duy Tân, Tp. Đà Nẵng

Người hướng dẫn khoa học: PGS.TS. Phạm Thị Khoa
PGS.TS. Ngô Giang Liên

Phản biện:

Phản biện:

Phản biện:

Luận án sẽ được bảo vệ trước Hội đồng cấp Đại học Quốc gia chấm luận
án tiến sĩ họp tại Trường Đại học Khoa học Tự nhiên - ĐHQGHN
vào hồi..... giờ ngày tháng năm 20...

Có thể tìm hiểu luận án tại:

- Thư viện Quốc gia Việt Nam;
- Trung tâm Thông tin - Thư viện, Đại học Quốc gia Hà Nội

Mở đầu

1. Lý do chọn đề tài

Bộ xét hút máu (BXHM) là trung gian truyền bệnh Chagas, do loài trùng roi đường máu *Trypanosoma cruzi* gây ra trên người. Bệnh Chagas được phát hiện năm 1909 ở các nước khu vực Mỹ La Tinh và đến nay được ví như đại dịch HIV mới tại khu vực châu Mỹ. Không chỉ phát triển ở châu Mỹ, bệnh đã lan rộng hầu khắp các châu lục với trên 6 triệu người nằm trong vùng dịch và 12.000 ca tử vong mỗi năm

Có 153 loài đã được xác định thuộc phân họ bộ xét hút máu, trong đó, *Triatoma rubrofasciata* (De Geer, 1773) phân bố toàn cầu, được phát hiện ở 45 quốc gia. Ngoài ký sinh trùng (KST) *Trypanosoma cruzi*, *T. rubrofasciata* còn truyền nhiễm các KST *Trypanosoma* khác như *Tryp. conorhini* và *Tryp. lewisi*, từ động vật sang người.

Đặc điểm hình thái của loài *T. rubrofasciata* đã được mô tả chi tiết từ năm 1979 bởi Lent. Trong những thập niên gần đây, các phương pháp mới như nghiên cứu di truyền tế bào và di truyền phân tử cũng được áp dụng vào phân loại. Các nghiên cứu về bộ nhiễm sắc thể (NST) của *T. rubrofasciata* xác định loài này có nguồn gốc từ Nam Mỹ. Tuy nhiên, ở Nam Mỹ, *T. rubrofasciata* chủ yếu phân bố ở vùng núi và nông thôn, còn ở nước ta, loài này đã thu thập được ở cả các thành phố lớn và trong các chung cư cao tầng.

Trong những năm gần đây, Việt Nam và nhiều quốc gia Đông Nam Á khác có sự xuất hiện bùng nổ của *T. rubrofasciata*. Ở nước ta, sự tấn công người của *T. rubrofasciata* đã được ghi nhận ở 25 tỉnh thành trên khắp các vùng miền. Việc bị BXHM tấn công sẽ làm ảnh hưởng đến sức khỏe, sinh hoạt và cuộc sống của người dân.

Thực tế đó cho thấy sự nghiên cứu đầy đủ về phân bố, đặc điểm sinh học và sinh học tế bào cũng như vai trò truyền bệnh của loài BXHM *T. rubrofasciata* nhằm cung cấp cơ sở khoa học cho việc ngăn ngừa, phòng chống và khống chế dịch bệnh ở nước ta là rất cần thiết. Với cơ sở địa lý và nguồn lực cho phép, chúng tôi thực hiện đề tài: “Nghiên cứu đặc điểm sinh học và di truyền tế bào của BXHM *Triatoma rubrofasciata* ở khu vực miền Trung Việt Nam”

2. Mục tiêu nghiên cứu

- Xác định sự phân bố và đặc điểm sinh học của BXHM *T. rubrofasciata* ở khu vực miền Trung, Việt Nam.
- Xác định được đặc điểm di truyền tế bào của BXHM *T. rubrofasciata* ở Miền trung, Việt Nam.

3. Ý nghĩa khoa học

Kết quả nghiên cứu của đề tài cung cấp những dẫn liệu khoa học về một số đặc điểm sinh học và di truyền tế bào tạo cơ sở khoa học cho các

nghiên cứu về vai trò y học và các phương pháp phòng chống sự bùng phát loài BXHM *T. rubrofasciata* tại khu vực Miền trung Việt Nam.

Ngoài ra kết quả cung cấp những thông tin mới và cập nhật về tình hình BXHM nhiễm KST khu vực miền Trung Việt Nam

4. Ý nghĩa thực tiễn

Cung cấp nền tảng khoa học về các đặc tính sinh học của BXHM *T. rubrofasciata* cho công tác phòng chống sự bùng phát của loài này.

Cung cấp thông tin dịch tễ của loài BXHM *T. rubrofasciata* ở khu vực Miền Trung, Việt Nam.

5. Nội dung nghiên cứu

- Điều tra sự phân bố của BXHM ở các tỉnh miền Trung, Việt Nam.
- Xác định một số đặc điểm hình thái, sinh trưởng và phát triển của BXHM như hình thái trứng và quá trình nở, quá trình lột xác và phát triển, hình thái của các giai đoạn thiếu trùng, con trưởng thành, kích thước của BXHM *T. rubrofasciata* theo độ tuổi.
- Xác định đặc điểm di truyền tế bào của các quần thể BXHM khu vực miền Trung, Việt Nam. Phân tích cấu trúc và số lượng bộ NST, nghiên cứu đặc điểm phân bào nguyên phân và giảm phân của quần thể BXHM.
- Đặc điểm sinh học phân tử và định danh loài bằng phương pháp sinh học phân tử: phân lập ADN tổng số, thiết lập chu trình nhiệt của phản ứng PCR, xác định đoạn trình tự các gen Cyto-B và COII của loài BXHM *T. rubrofasciata* ở miền Trung Việt Nam.
- Xác định tập tính sinh thái, sinh học của BXHM: nơi làm tổ, trú ẩn và khả năng di chuyển kiếm mồi; khả năng sinh sản, đốt mồi, khả năng nhện đói...
- Xác định tỷ lệ nhiễm KST *Trypanosoma spp.* tự nhiên và thời gian tồn tại của KST trong dạ dày của BXHM *T. rubrofasciata*.
- Thử nghiệm một số biện pháp xua đuổi và phòng chống BXHM với các loại hóa chất và tinh dầu.

Chương 1

TỔNG QUAN TÀI LIỆU

1.1. Tổng quan tình hình nghiên cứu về BXHM

1.1.1. Vị trí phân loại các nhóm BXHM

Phân họ BXHM Triatominae thuộc giới Động vật (Animalia), ngành Chân khớp (Arthropoda), lớp Côn trùng (Insecta), bộ cánh nửa Hemiptera, họ bọ xít bắt mồi Reduviidae, sống chủ yếu bằng máu của động vật có xương sống và con người. Trong số các loài BXHM đã biết, những loài thuộc 3 giống Triatoma, Panstrongylus và Rhodnius là những vector chính truyền bệnh Chagas.

1.1.2. Đặc điểm sinh học của phân họ BXHM Triatominae

Cả con đực, con cái và tất cả các giai đoạn phát triển của phân họ bọ xít này đều hút máu với vòng đời trên dưới một năm, phụ thuộc loài và điều kiện sống. Phân họ BXHM có tuổi thọ cao và nhiều lần lột vỏ trong chu kỳ phát triển. Khả năng truyền bệnh của BXHM rất lớn một khi chúng mang mầm bệnh.

1.2. Tình hình nghiên cứu về đặc điểm di truyền tế bào của BXHM

1.2.1. Đặc điểm di truyền tế bào ở các loài côn trùng.

Ở hầu hết những cá thể cùng loài, tất cả tế bào có cùng kiểu di truyền. Tuy nhiên, nhiều loài trông rất giống nhau về hình thái nhưng có kiểu nhân rất khác nhau. Nghiên cứu về kiểu nhân đã phát hiện ra những sai khác giữa nhiều loài có quan hệ gần gũi trong tự nhiên, bác bỏ quan điểm tiến hóa do lai tạo.

1.2.2. Nghiên cứu di truyền tế bào phân họ BXHM Triatominae

Phân tích về đặc điểm di truyền là một trong những công cụ quan trọng trong phân loại học đặc biệt nghiên cứu về quần thể và tiến hóa kiểu gen của phân họ BXHM Triatominae, đã được bắt đầu những năm 1940. Vì lý do kỹ thuật, hầu hết các nghiên cứu về kiểu nhân ở phân họ BXHM đều phân tích trên con đực, một số ít con cái đã được phân tích. Năm kiểu nhân ở con đực gồm: $18 + XY$, $20 + XY$, $20 + X1X2Y$, $20 + X1X2X3Y$, và $22 + XY$. Đến nay, 90 loài, trong 153 loài BXHM đã biết, đã được phân tích và xác định số lượng NST và kiểu nhân. Phân họ BXHM Triatominae có bộ NST lưỡng bội từ 21 đến 25 ở cá thể đực.

1.2.3. NST có tâm động lan tỏa ở phân họ BXHM

Có hai dạng phân chia NST nhờ sự liên kết của các sợi thoi vô sắc với tâm động (hay các tâm động) trong quá trình phân bào: sự phân chia nhờ đơn tâm động (monocentric) và sự phân chia nhờ đa tâm động (polycentric) hay còn gọi tâm động lan tỏa (holocentric)

1.2.4. Cơ chế giảm phân ở phân BXHM Triatominae

Quá trình giảm phân là hình thức phân bào diễn ra ở tế bào sinh dục thành thục, gồm 2 lần phân bào liên tiếp nhưng NST chỉ nhân đôi có 1 lần ở kỳ trung gian trước giảm phân I. Lần phân bào II (giảm phân II) diễn ra sau kỳ trung gian rất ngắn. Quá trình này bảo đảm cho sự tạo ra các giao tử đực và giao tử cái (tinh trùng và trứng) có bộ NST đơn bội.

Cho đến nay, trong số 92 loài BXHM ở phân họ bọ xít được phân tích về đặc điểm di truyền. Hầu hết những loài này được phân tích bộ NST trên cá thể đực.

1.2.5. Con đường tiến hóa kiểu nhân ở BXHM *T. rubrofasciata*

Loài *T. rubrofasciata* được Manna mô tả năm 1950, có bộ NST của con đực là $22+X1X2Y$. Đến nay, với 90 loài BXHM Triatominae được nghiên cứu, *T. rubrofasciata* là loài duy nhất có 22 NST thường và 3

NST giới tính là X1X2Y, đây là đặc điểm phân biệt loài này với các loài khác cùng phân họ.

1.2.6. Kỹ thuật sinh học phân tử trong phân loại BXHM

Với độ nhạy và tính đặc hiệu cao, kỹ thuật sinh học phân tử được ứng dụng rộng rãi trong phân loại và tiến hoá của các loài, trong đó có BXHM. Cây phát sinh chủng loại của 4 giống BXHM có vai trò y học quan trọng gồm *Triatoma*, *Rhodnius*, *Dipetalogaster* và *Psammolestes* đã được xây dựng, 17 loài bọ xít đã được giải trình tự gen. Những nghiên cứu khác cũng mô tả chi tiết chủng loại phát sinh của 3 giống *Triatoma*, *Panstrongylus* và *Rhodnius* dựa trên trình tự gen Cyto-B. Trình tự gen ở loài *T. rubrofasciata* thu thập được ở Quảng Châu, Trung Quốc; Hà Nội đã giải trình tự một phần gen COI và gen Cyto-B.

1.3. Vai trò y học của BXHM

1.3.1. Sự phát triển của KST ở BXHM

Chu kỳ phát triển của KST *Trypanosoma cruzi* (thuộc trùng roi) gồm 2 giai đoạn: Giai đoạn phát triển ở BXHM và giai đoạn phát triển trong các vật chủ (động vật có vú hay người).

1.3.2. Vai trò y học của KST ở BXHM

1.4. Các biện pháp kiểm soát BXHM

1.4.1. Biện pháp hóa học

Sự ra đời các hóa chất diệt côn trùng Pyrethroid tổng hợp là dấu mốc quan trọng trong việc kiểm soát, tiêu diệt phân họ BXHM Triatominae trong nhà. Nhóm hóa chất này dễ phân hủy, không tồn lưu trong môi trường, không gây mùi khó chịu, không làm mất thẩm mỹ ngôi nhà và có chi phí thấp.

1.4.2. Biện pháp vệ sinh môi trường

Thường xuyên dọn dẹp và kiểm tra nhà kho, chuồng nuôi động vật, để trữ củi xa nhà và hủy bỏ tổ của các động vật hoang dã gần nhà. Sửa chữa tất cả các lỗ, khe, kẽ do hư hại của ngôi nhà. Bịt kín các khoảng hở ở những lỗ khoan dọc theo các đường dẫn nước, dẫn điện và đường thải. Sử dụng đèn hiện nhà có ánh sáng ít thu hút đối với côn trùng, trang bị cửa lưới trống côn trùng ở những vị trí lấy gió và luôn đóng chặt cửa chính khi ra vào. Dùng màn chống muỗi cũng tránh bị bọ xít tấn công khi ngủ.

1.4.3. Biện pháp sinh học

Một số nghiên cứu sử dụng nấm làm thiên địch, các thuốc diệt côn trùng chiết xuất từ thực vật, thân thiện với môi trường và sức khỏe con người là những lựa chọn sáng giá và đáng lưu tâm. Nhiều chất chiết xuất từ thực vật có chứa các chất có tác dụng diệt côn trùng như muối, bao gồm một nhóm lớn các loại tinh dầu.

1.4.4. Các biện pháp phòng chống BXHM ở Việt Nam

Đến nay, chưa phát hiện BXHM nhiễm *Tryp. cruzi* ở Việt Nam. Vì thế, các biện pháp phòng chống chưa được chú trọng, chưa có chương trình cụ thể trong kiểm soát các vector, đặc biệt là *T. rubrofasciata*. Tuy nhiên, với sự phát triển của du lịch, Việt Nam đón lượng lớn du khách quốc tế, trong đó có những du khách đến từ vùng phân bố bệnh Chagas. Ngoài ra, cần có nhiều dữ liệu hơn về các tuyến đường di cư của các loài BXHM, vật chủ, tập tính, năng lực phân tán chủ động, thụ động và cơ chế của các đợt tấn công người.

1.4.5. Sự phân bố và vai trò truyền bệnh của *T. rubrofasciata*

T. rubrofasciata là loài phân bố rộng ở vùng nhiệt đới của Mỹ La Tinh và các châu lục khác trên thế giới. Trong phân họ BXHM Triatominae, loài *T. rubrofasciata* được ghi nhận phân bố rộng nhất trên toàn thế giới, chúng có mặt ở tất cả các châu lục với sự hiện diện ở 45 quốc gia trên thế giới. Donovan (1909) lần đầu tiên phát hiện ở BXHM *T. rubrofasciata* nhiễm KST *Tryp. conorhini*.

Loài *T. rubrofasciata* có mối liên quan mật thiết với chuột, vật chủ chính của các KST *Tryp. lewisi* và *Tryp. conorhini*. Loài *T. rubrofasciata* được xác định là vector chính lan truyền các KST từ chuột sang người. Ngoài ra còn phát hiện bị nhiễm *Tryp. cruzi* trong tự nhiên. Vì thế, sự gia tăng của quần thể loài *T. rubrofasciata* rất có thể làm tăng ổ chứa *Tryp. cruzi* và tăng nguy cơ lan truyền KST này sang người.

1.5. Tình hình nghiên cứu BXHM ở Việt Nam

1.5.1. Nghiên cứu BXHM ở các tỉnh Việt Nam

BXHM ở Việt Nam trước đây đã có những công trình nghiên cứu về sự phân bố, phân loại của các loài BXHM. Một số tác giả trong và ngoài nước đã ghi nhận sự có mặt của nhóm này ở Việt Nam. Từ những năm 2000, các nghiên cứu, xây dựng khóa định loại các loài thuộc giống *Triatoma* đã biết ở Việt Nam. Đồng thời đã đánh giá tổng quát sự đa dạng và mô tả hình thái của bộ xít bắt mồi Reduviidae ở các tỉnh miền Bắc và Bắc Trung bộ.

1.5.2. Nghiên cứu BXHM tại Miền trung Việt Nam

Đã có những ghi nhận về sự xuất hiện của BXHM ở nhiều tỉnh thành ở khu vực Miền trung, Việt Nam. Đặc biệt, hai Tp. Đà Nẵng và Quy Nhơn có sự xuất hiện số lượng lớn cá thể trưởng thành. Các tỉnh khác của khu vực ở Miền trung đến nay chưa được điều tra một cách đầy đủ.

Chương 2.

ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

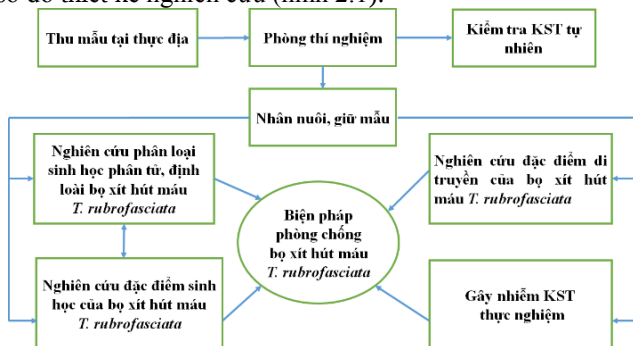
Đối tượng nghiên cứu là quần thể BXHM ở các tỉnh Miền trung, Việt Nam.

2.2. Địa điểm, thời gian nghiên cứu

Các nghiên cứu điều tra và thu thập mẫu được tiến hành ở các tỉnh Miền trung, Việt Nam gồm Nghệ An, Thừa Thiên Huế, Đà Nẵng, Quảng Nam, Quảng Ngãi, Bình Định và Khánh Hòa. Mỗi điểm nghiên cứu đều được định vị và tọa độ vị trí chính xác những nơi thu mẫu được ghi lại.

2.3. Thiết kế nghiên cứu

Đề tài nghiên cứu được thực hiện theo các bước cơ bản như mô tả trong sơ đồ thiết kế nghiên cứu (hình 2.1).



Hình 2.1. Sơ đồ thiết kế nghiên cứu

2.4. Phương pháp nghiên cứu

2.4.1. Phương pháp điều tra thực địa và thu mẫu

Điều tra và thu thập mẫu nghiên cứu được tiến hành theo phương pháp của Schuh. Quá trình điều tra được tiến hành tại các thành phố của các tỉnh nghiên cứu và tại một số quận, huyện được chọn. Ở mỗi thành phố, quận, huyện, các cụm dân cư được lựa chọn ngẫu nhiên cho nghiên cứu điều tra. Đơn vị điều tra là hộ gia đình hoặc ổ, hang, chuồng gia súc, gia cầm gắn liền với những vật chủ liên quan đến sự có mặt của BXHM

2.4.2. Phương pháp giữ mẫu, bảo quản và nuôi mẫu

Bọ xít ở thực địa được thu thập vào các hộp nhựa có lót giấy ăn với nắp hộp được đục lỗ và lót vải màn.

2.4.3. Phương pháp nghiên cứu đặc điểm hình thái

Phân loại hình thái của các loài BXHM được tiến hành với kính hiển vi soi nổi Stemi 508, AxioCam Erc 5s.

Hình thái của trứng trong quá trình phát triển:

Để nghiên cứu sự chuyển biến hình thái, màu sắc trong quá trình phát triển của trứng, các lô trứng nghiên cứu được chụp ảnh hàng ngày trên kính với độ phóng đại 20 X, ghi nhận và mô tả sự thay đổi về biểu hiện ngoài từ lúc trứng được đẻ ra đến khi trứng nở.

Hình thái các giai đoạn phát triển của bọ xít:

Để nghiên cứu hình thái các giai đoạn thiếu trùng, các cá thể ở giai đoạn phát triển khác nhau được gây mê bằng acetone trong các đĩa petri riêng biệt. Lần lượt từng giai đoạn được chụp hình dưới kính với chế độ sáng và độ phóng đại phù hợp. Ảnh chụp toàn thân ở cả trạng thái đói và trạng thái no của mỗi giai đoạn được ghi lại với độ phóng đại 1X, sử dụng cho tất cả các trường hợp. Để ghi lại sự khác biệt trong phát triển mầm cánh ở các giai đoạn, sử dụng độ phóng đại 100X cho thiếu trùng tuổi 1 và tuổi 2; 80X cho tuổi 3 là, 50X cho tuổi 4, và 25X cho tuổi 5. Ngoài ra, tất cả các giai đoạn được sắp xếp trên cùng một hộp sáng và được chụp lại.

2.4.4. Phương pháp nghiên cứu tập tính đốt môi

Gà và chuột được cố định trong lưới thép nhằm tránh việc chúng tấn công và ăn thịt bọ xít. Ngoài ra cố định nhưng không làm chết con vật. Cho gà và chuột vào trong thùng nuôi, quan sát quá trình đốt máu của bọ xít, ghi hình quá trình đốt môi trong thời gian 30’.

2.4.5. Theo dõi các chỉ số sinh học

Theo dõi thời gian phát triển của trứng và tỷ lệ trứng nở:

Trứng BXHM đẻ trong vòng 24 giờ được chuyển sang đĩa petri sạch, ghi nhãn, ngày tháng.

Quan sát quá trình nở của BXHM:

Trứng phát triển đến giai đoạn cuối (trứng đỏ) được chuyển lên kính hiển vi soi nổi và canh chừng thời điểm nở.

Theo dõi tỷ lệ lột xác:

Một trăm thiếu trùng bọ xít tuổi 1 được bắt ngẫu nhiên và chuyển nuôi nhốt riêng để theo dõi tỷ lệ lột xác qua các giai đoạn đến khi trưởng thành. Lô thí nghiệm được cung cấp máu gà làm thức ăn 2 lần mỗi tuần. Tỷ lệ bọ xít lột xác thành công, tỷ lệ chết qua mỗi giai đoạn được ghi chép. Thí nghiệm được lặp lại 3 lần với tổng số 300 bọ xít tuổi 1. Tỷ lệ chết qua từng giai đoạn được tính toán và hiển thị trên biểu đồ.

Nghiên cứu khả năng nhịn đói:

Thời gian nhịn đói của BXHM ở mỗi giai đoạn phát triển được tính từ lúc nở hoặc lột xác thành công đến khi chết trong điều kiện không được cho ăn.

Nghiên cứu khả năng sinh sản của con cái:

Mười cặp bọ xít trưởng thành mới lột xác thành công được chuyển nuôi trong 10 hộp nuôi riêng biệt, đánh số thứ tự từ 1 đến 10. Bọ xít được cho ăn hàng tuần với máu gà và máu chuột.

Nghiên cứu vòng đời của bọ xít:

Vòng đời của BXHM được theo dõi theo hai thiết kế thí nghiệm riêng biệt. Thiết kế thí nghiệm thứ nhất (gọi tắt là TN1) bắt đầu với ngày trứng được đẻ ra, tiếp tục với các cá thể bọ xít phát triển từ các lô trứng thí nghiệm và kết thúc khi con trưởng thành cuối cùng bị chết.

Thiết kế thí nghiệm thứ hai (TN2) sử dụng trứng hoặc bọt xít cùng tuổi để theo dõi thời gian cần thiết cho sự phát triển của từng giai đoạn, số liệu cộng dồn min, max hay trung bình của từng giai đoạn được coi là min, max hay trung bình của vòng đời ở bọt xít.

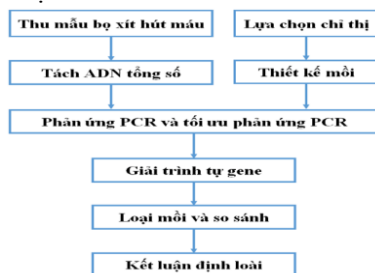
2.4.6. Phương pháp chuẩn bị tiêu bản NST BXHM

Phương pháp nhuộm băng C được tiến hành theo quy trình của Sumner và Panzera. Tinh hoàn bọt xít được cố định qua đêm trong dung dịch dung dịch cồn etylic - axit acetic với tỷ lệ 3:1 ở -20°C . Mẫu sau khi cố định được rửa sạch bằng nước cất và đưa lên lam kính tạo tiêu bản. Thủy phân bằng dung dịch HCl 1N trong 5 phút. Tiêu bản được rửa qua bằng nước cất và xử lý 5 phút trong $\text{Ba}(\text{OH})_2$ ở 50°C . Sau khi xử lý, tiêu bản được rửa lại bằng nước cất và ủ trong dung dịch đậm SSC 2X ở nhiệt độ 60°C trong 15 phút. Tiêu bản được nhuộm bằng dung dịch orcein - acetic 45% trong 5 phút. Để khô ở nhiệt độ phòng sau đó gắn lamen và cố định bằng Entellan và quan sát trên hệ kính hiển vi Olympus CKX41 kết nối camera Infinity.

2.4.7. Phương pháp Sinh học phân tử trong phân loại BXHM

Các bước phân tích định loài sử dụng phương pháp sinh học phân tử (SHPT) được trình bày theo hình 2.2, đồng thời các phương pháp cụ thể được trình bày trong phần này.

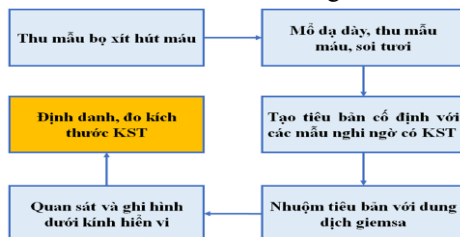
Các bước phân tích định danh loài sử dụng phương pháp sinh học phân tử được tóm lược và sơ đồ hóa như trình bày trong hình 2.8. Một cách gián lược, quy trình sử dụng các trình tự đặc trưng loài để định danh, phân loại và xây dựng cây phân loại bao gồm 4 bước. Bước 1: Lựa chọn những đoạn ADN giống nhau nhất ở nhóm loài nghi ngờ mẫu thuộc vào để thiết kế mồi. Bước 2: Tách chiết ADN từ mẫu thu thập và thực hiện phản ứng chuỗi trùng hợp (PCR). Bước 3: Giải trình tự và loại bỏ trình tự của các mồi để có được đoạn trình tự đem so sánh. Bước 4: So sánh trình tự thu được với các trình tự khác lấy về từ ngân hàng trình tự đã được công bố trước đây để định danh cá thể mẫu thuộc loài nào và xây dựng cây phân loại



Hình 2.2. Quy trình định loài BXHM bằng phương pháp SHPT

2.4.8. Phương pháp xác định KST ở BXHM

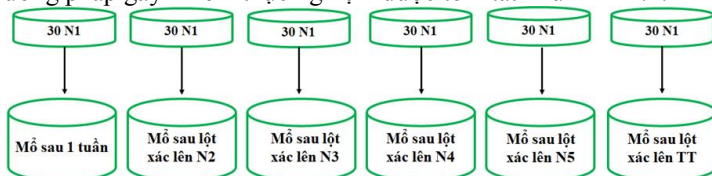
Các bước chính thực hiện theo sơ đồ trong hình 2.3.



Hình 2.3. Các bước chính trong định loại KST ở BXHM

2.4.9. Phương pháp gây nhiễm thực nghiệm xác định tỷ lệ KST

Phương pháp gây nhiễm thực nghiệm được tóm tắt như hình 2.4.



Hình 2.4. Sơ đồ thiết kế gây nhiễm thực nghiệm KST ở BXHM

2.4.10. Phương pháp thử nghiệm BXHM với hóa chất diệt

BXHM được thử nghiệm với hóa chất diệt theo phương pháp tiếp xúc với giấy thấm hóa chất của WHO (2007).

2.4.11. Phương pháp thử nghiệm BXHM với tinh dầu

Tiền hành thử nghiệm theo phương pháp của Ferrero, 2006 đối với hoạt tính xua đuổi. Lá của cây Quýt gai họ Cam chanh (*Severinia monophylla* Tanaka) được thu thập từ huyện Hòa Vang. Tinh dầu được chưng cất tại Trung tâm KST – Côn trùng, Trường Đại học Duy Tân. Hoạt tính sinh học của tinh dầu được thử nghiệm trên thiếu trùng tuổi 1, tuổi 2 của BXHM *T. rubrofasciata*.

2.4.12. Phương pháp xử lý số liệu

Số liệu về các đặc điểm sinh học, kích thước của các NST được thu thập và xử lý thống kê sử dụng phần mềm Excel hoặc Sigma Plot 14.0, các giá trị trung bình và độ lệch chuẩn được hiển thị thành bảng hoặc hình. Các hình ảnh được ghép lại từ các hình đơn lẻ sử dụng phần mềm Photoshop.

Chương 3.

KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Kết quả thu mẫu và phân bố của BXHM *T. rubrofasciata*

Từ tháng 7/2014 đến tháng 6/2016, mẫu đã được thu thập ở 22 địa điểm trên địa bàn 7 tỉnh dọc khu vực Miền trung (bảng 3.1). Trong đó có

15 điểm thuộc khu vực thành thị và 7 điểm thuộc khu vực nông thôn. Bộ xít trưởng thành thu thập được ở tất cả các điểm nghiên cứu. Số lượng cá thể bộ xít trưởng thành thu được nhiều nhất ở TP. Đà Nẵng (321 cá thể) và TP. Quy Nhơn (211 cá thể).



Hình 3.1. Hình thái chung các giai đoạn phát triển của BXHM *T. rubrofasciata*.

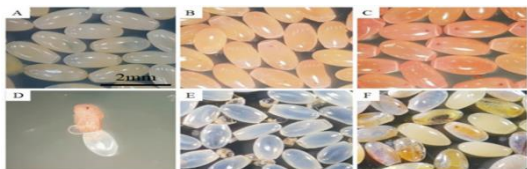
3.2.1. Hình thái trứng và quá trình nở của BXHM *T. rubrofasciata*

BXHM đẻ trứng rời rạc từng quả. Ở bên ngoài trứng BXHM *T. rubrofasciata* được bao bọc bởi lớp vỏ chitin nhẵn, khô. Trứng có hình bầu dục, đường kính trung bình của phần lớn nhất là $0,91 \pm 0,089$ mm và có chiều dài $1,79 \pm 0,139$ mm. Trứng mới đẻ có màu trắng sữa (hình

Bảng 3.1. Kết quả thu mẫu BXHM ở khu vực MT-VN							
Địa điểm	Trứng	N1	N2	N3	N4	N5	Trưởng thành
Đà Nẵng	476	79	23	33	28	79	321
Bình Định	324	38	22	4	6	22	211
Nghệ An	89	12	5	4	7	21	8
Huế	2	3	4	0	1	3	7
Quảng Nam	0	0	0	0	0	0	5
Quảng Ngãi	0	0	0	0	0	0	4
Khánh Hòa	0	0	0	0	0	0	3
Tổng cộng	891	132	54	41	42	125	559
N: Thiếu trùng							

3.2A), trứng đổi màu theo thời gian thành màu vàng cam ở ngày 3-4 (hình 3.2B) và sang màu hồng ở ngày thứ 7 (hình 3.2C). Mắt của bộ xít

có thể được nhìn thấy vào ngày thứ 3 và chuyển sang màu đỏ trước khi nở (ngày 10 trở đi). Trong quá trình nở, con non đẩy nắp trứng và thoát ra (hình 3.2D) để lại vỏ trứng trong suốt có nắp (hình 3.2E). Một lượng nhỏ trứng không hình thành được phôi hoặc phôi bị chết trong quá trình phát triển (hình 3.2F). Tỷ lệ nở của trứng là rất cao, đạt 98%



Hình 3.2. Các giai đoạn phát triển của trứng

3.2.2. Quá trình lột xác và phát triển của BXHM *T. rubrofasciata*

Thiếu trùng tuổi 1 của BXHM trải qua 5 lần lột xác để trưởng thành. Mầm cánh, kích thước là hai đặc điểm để phân biệt tuổi của thiếu trùng. Giữa mỗi lần lột xác, bọ xít cần được đốt máu. Khi bắt đầu lột xác, chúng nằm im, con non phá rách phần vỏ trên lưng của mảnh lưng-ngực theo một đường thẳng ở giữa, và chui ra ngoài. Trong quá trình chui ra của con non, một phần vỏ của đốt bụng tiếp giáp với mảnh lưng-ngực cũng bị rách (hình 3.3A). Thời gian lột xác diễn ra trung bình khoảng 7 phút, con non của tuổi mới sáng màu, từ hồng nhạt đến cam đỏ (hình 3.3B, trưởng thành mới lột xác), và chuyển dần sang màu nâu trong vòng 3-4 tiếng. Sau khi lột xác, con non nằm im trong thời gian ngắn, khoảng thời gian này dài hơn ở tuổi bọ xít cao hơn sau đó chúng đi chuyển và lần trốn.

Nhiều cá thể bọ xít không hoàn thành được quá trình lột xác (hình 3.3C).



Hình 3.3. Quá trình lột xác của thiếu trùng tuổi 5 lên trưởng thành

3.2.3. Hình thái con trưởng thành

Con trưởng thành có màu cam đỏ xung quanh đường rìa bên ngoài bụng (hình 3.4). Đốt ăng ten thứ nhất vượt qua đỉnh đầu. Có lông ngắn trên phần miệng và dần dần dài hơn ở đỉnh vôi. Vây hình khiên rộng, hình tam giác nhọn. Có màu cam đỏ ở phần ngực trước. Con đực có chiều dài trung bình là 17,9mm, và số đo này của con cái là 22,5mm.

So sánh với kết quả nghiên cứu của Claver, kích thước con cái *T. rubrofasciata* ở miền Trung Việt Nam lớn hơn ở 3 khu vực khác nhau

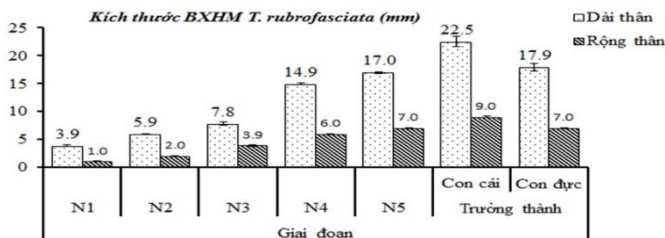
của Ấn độ với chiều dài lần lượt là 20,70 mm, 21,35 mm và 21,06mm. Hơn nữa, nghiên cứu của Gorla trên mẫu con cái trưởng thành từ nhiều khu vực khác nhau (Ả Rập, Ceylon, Trung Quốc, Malaya, Quần đảo Maldive, Okinawa, Siam, Tây Phi, Đài Loan, Honolulu, Thái Lan, Philipin, Ấn Độ và Brazil) cho thấy kích thước của BXHM *T. rubrofasciata* trưởng thành ở các khu vực khác nhỏ hơn (chỉ 19,75mm) so với *T. rubrofasciata* ở miền Trung Việt Nam.



Hình 3.4. Hình thái trưởng thành của BXHM *T. rubrofasciata*

3.2.4. Kích thước của BXHM *T. rubrofasciata* theo độ tuổi

Kích thước của BXHM *T. rubrofasciata* được thể hiện trong hình 3.5. Sự thay đổi lớn nhất quan sát được ở thiếu trùng tuổi 4 với chiều dài cơ thể gần gấp đôi so với thiếu trùng tuổi 3. Con cái có kích thước lớn nhất với chiều dài 22,5mm và chiều rộng 9 mm.



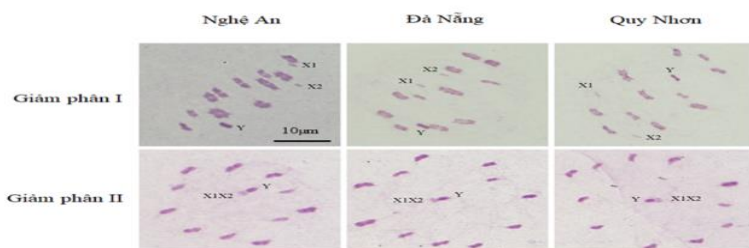
Hình 3.5. Kích thước các tuổi khác nhau của BXHM *T. rubrofasciata* theo milimet

3.3. Đặc điểm di truyền tế bào của BXHM *T. rubrofasciata*

3.3.1. Di truyền tế bào của các quần thể BXHM *T. rubrofasciata*

Trong kỳ giữa giảm phân I, các quần thể đều có 11 cặp NST thường với 1 cặp NST lớn nhất. Các quần thể cũng đều có 3 NST giới tính X1X2Y, chúng phân bố ngẫu nhiên, xen kẽ giữa các NST thường mà không liên kết với nhau (hình 3.6 hàng trên). Tất cả các tiêu bản không cho thấy sự khác biệt, không xuất hiện các NST phụ (B chromosome).

Phân tích kỳ giữa giảm phân II đã khẳng định bộ NST của *T. rubrofasciata* ở Miền Trung gồm 11 cặp NST thường và 3 NST giới tính (hình 3.6 hàng dưới). Giống như trong giảm phân I, không phát hiện sự khác biệt giữa các quần thể qua phân tích kỳ giữa giảm phân II. Kỳ giữa giảm phân II khác biệt với giảm phân I ở phân bố của các NST giới tính. Trong khi các NST này phân tán ngẫu nhiên như các NST thường khác ở kỳ giữa giảm phân I (hình 3.6 hàng trên), chúng luôn đi liền với nhau và luôn tập trung ở tâm của mặt phẳng xích đạo trong kỳ giữa giảm phân II (hình 3.6 hàng dưới). Sự phân bố của các NST giới tính trong hai kỳ giữa của giảm phân cho biết về cơ chế phân ly các NST này trong quá trình hình thành giao tử, và được phân tích kỹ hơn ở phần sau.



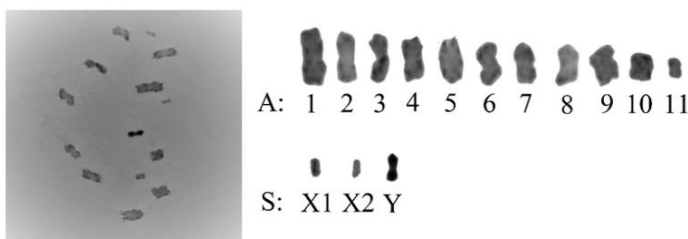
Hình 3.6. Kỳ giữa của giảm phân I và giảm phân II ở ba quần thể

3.3.2. NST đồ của BXMH *T. rubrofasciata* ở Miền Trung

Bộ NST ở con đực có $2n=25$, bao gồm 11 cặp NST thường và 3 NST giới tính X1, X2, Y.

Kết quả này giống kết quả nghiên cứu của các tác giả khác trên các quần thể *T. rubrofasciata* khác nhau và trên quần thể phân bố ở Hà Nội

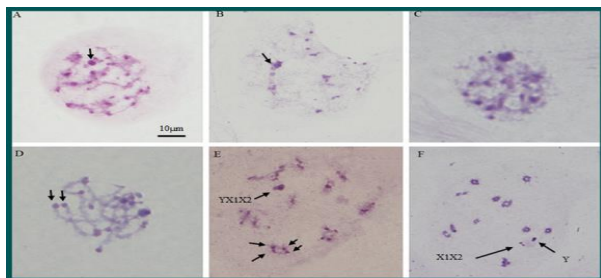
Hình 3.7. NST đồ của BXHM *T. rubrofasciata*



Kích thước của các NST dao động giữa các kỳ phân chia. Cuối kỳ giữa của giảm phân I, NST có kích thước ngắn nhất khi đạt độ xoắn cực đại. Kích thước từng NST ở kỳ này của 10 mẫu khác nhau đã được đo đạc và trình bày trong bảng 3.2. NST dài nhất là một trong các NST thường, với chiều dài 5,87 μ m. Chiều dài của 10 cặp NST thường còn lại dao động trong khoảng từ 5,37 μ m xuống đến 2,84 μ m. Hai NST giới tính X1 và X2 là hai NST ngắn nhất với chiều dài tương ứng là 1,99 μ m và 1,55 μ m, trong khi NST Y lớn hơn với độ dài 2,99 μ m. Như vậy, kích thước là một đặc điểm để phân biệt các NST giới tính với các NST thường.

3.3.3. Đặc điểm phân bào của BXHM *T. rubrofasciata*

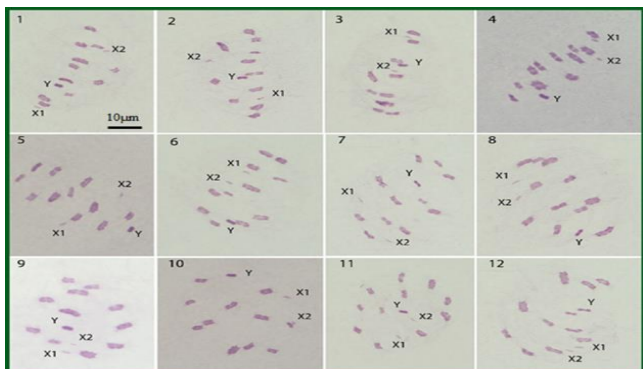
Trong số các kỳ, kỳ đầu giảm phân I phức tạp hơn cả. Sau giai đoạn trước kỳ đầu, kỳ đầu giảm phân I ở *T. rubrofasciata* diễn ra theo 5 giai đoạn, bao gồm Leptotene, Zygotene, Pachytene, Diplotene và Diakinesis (hình 3.8).



Hình 3.8. Giai đoạn trước kỳ đầu và trong kỳ đầu của giảm phân I

Kỳ giữa giảm phân I

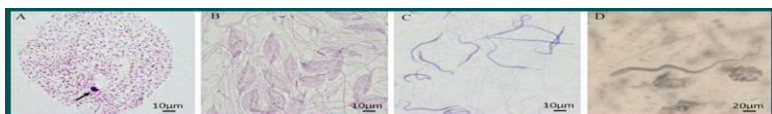
Sau khi kết thúc giai đoạn diakinesis, các NST ở dạng bộ 4 bước vào kỳ giữa I (thể tứ trị). Ở giai đoạn cuối kỳ giữa I của quá trình giảm phân, các bộ 4 của các cặp NST tập trung ở mặt phẳng xích đạo, NST co ngắn cực đại, số lượng và kích thước đặc trưng cho loài. Điểm đặc biệt của bộ NST loài *T. rubrofasciata* trong kỳ đầu giảm phân I được thấy ở các NST giới tính. Khác với các loài động vật bậc cao, các NST giới tính không ghép cặp (đi kèm) trong kỳ này mà phân bố ngẫu nhiên như những cặp NST thường khác nhưng ở trạng thái bộ đôi (hai nhiễm sắc tử chị em), khác với bộ 4 ở NST thường. Phân tích hình ảnh cho thấy vị trí tương đối của các NST giới tính so với các NST khác không đồng nhất giữa các tế bào (hình 3.9).



Hình 3.9. Sự phân bố của NST giới tính ở kỳ giữa giảm phân I.

3.3.4. Một số loại tế bào trong tinh hoàn *T. rubrofasciata*

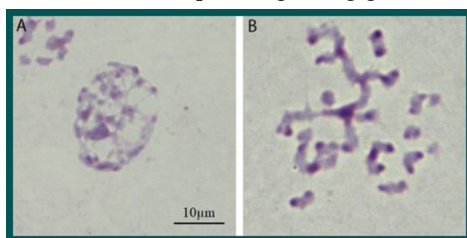
Trên mỗi tiêu bản tinh hoàn, xuất hiện đồng thời các dạng tế bào khác nhau (hình 3.10) như tế bào hỗ trợ, tế bào tinh tử và tế bào tinh trùng. Các tế bào hỗ trợ có nhân đa bội rất lớn (hình 3.10A) với một khối dị sắc đậm nét (mũi tên). Các tế bào hỗ trợ nằm trong thành ống sinh tinh, có vai trò cung cấp dinh dưỡng cho quá trình sinh tinh, các hoạt động tổng hợp của chúng thay đổi theo yêu cầu của sinh sản. Tinh tử của bọ xít có cấu tạo hai phần rõ rệt, gồm một đầu hình thoi lớn chứa nhân tế bào và một đuôi mảnh và dài (hình 3.10B). Khi biệt hóa thành tinh trùng, phần đầu của tế bào tinh tử kéo dài thành hình giun (thon dài).



Hình 3.10 Một số loại tế bào trong tinh hoàn bọ xít *T. rubrofasciata*

3.3.5. Đặc điểm phân bào nguyên phân của BXHM *T. rubrofasciata*

Đặc điểm di truyền tế bào trong nguyên phân đã được phân tích trên các tiêu bản tinh hoàn của BXHM *T. rubrofasciata*. Kỳ đầu nguyên phân (hình 3.11A) và kỳ giữa nguyên phân (3.11B) đã được ghi nhận trong nghiên cứu này. Các kỳ khác của quá trình nguyên phân không quan sát được, có thể do sự phức tạp trong phân bào không tơ, và sự diễn tiến của



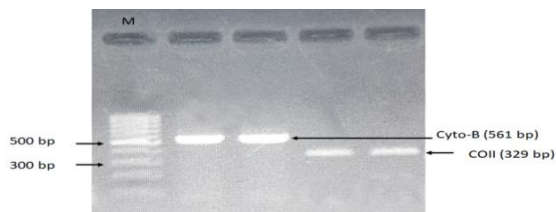
nhau chóng nguyên phân trùng.

Hình 3.11. Một số kỳ trong nguyên phân của bọ xít *T. rubrofasciata*:

(A) Kỳ đầu của nguyên phân; (B) Kỳ giữa nguyên phân.

3.4. Kết quả sinh học phân tử phân loại BXHM *T. rubrofasciata*

Sản phẩm PCR của Cyto-B có trình tự 561 bp, và COII có trình tự 329 bp (hình 3.12). Sau khi loại các trình tự môi từ hai đầu của các đoạn gen, đoạn gen Cyto-B còn lại 507 bp (bảng 3.2), và đoạn gen COII còn lại 276 bp.



Hình 3.12. Sản phẩm PCR với cặp mồi Cyto-B (561 bp) và COII (329 bp)

3.4.1. Trình tự Cyto-B của BXHM ở Miền Trung

Trình tự đoạn gen cytochrome B của BXHM *T. rubrofasciata* tại Miền Trung gồm 507 nucleotide được đưa ra trong bảng 3.2, và được gửi lưu trên genbank với số hiệu MN215889, đã được online ngày 15/3/2020 tại địa chỉ:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/MN215889?fbclid=IwAR1UGZybJ-YZ5GhdOnA0dg-YP3P5CH828dEizn7VZ5TpzCoeuo9efoNUB74>.

3.4.4. Trình tự đoạn gen COII của BXHM ở Miền Trung

Sau khi đã loại bỏ mồi, sản phẩm PCR tự của COII được nhân lên có chiều dài 276 nucleotide, được đưa ra trong bảng 3.3, và được gửi lưu trên genbank với số hiệu MN215890, đã được online ngày 15/3/2020.

https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/MN215890?fbclid=IwAR1YGV1D2eg1vgFJoF1RIrk-bTvZD6F5vFjKQuQ4UX4-2VcAEcJ0yYJ_XcL.

Kết quả lai, tìm kiếm các trình tự tương đồng trên ngân hàng dữ liệu gen Quốc Tế, NCBI, cho thấy đoạn trình tự này hoàn toàn giống với một đoạn trong hệ gen ty thể của *T. rubrofasciata* được Dong L. và cộng sự công bố và đăng ký với mã số MH934953.1 vào tháng 9 năm 2018.

3.5. Tập tính sinh thái, sinh học của BXHM *T. rubrofasciata*

3.5.1. Nơi làm tổ, trú ẩn và khả năng di chuyển kiếm mồi của *T. rubrofasciata*.

Nơi làm tổ của BXHM *T. rubrofasciata*

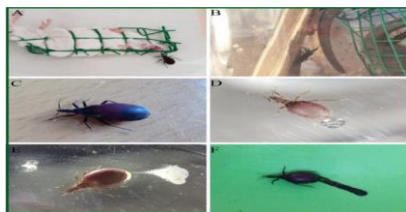
Trong 14 tổ bọ xít đã được tìm thấy có 2 tổ ở khe tường, 2 tổ ở sàn gỗ gác xếp nơi giường ngủ phòng trọ, 3 tổ ở các tòa nhà bỏ hoang và 7 tổ ở các đồng cùi gỗ. Số lượng bọ xít bắt được từ tổ tại các tòa nhà bỏ hoang là 227 cá thể, chiếm 63,67%, số bọ xít thu được tại đồng cùi là 100 cá thể chiếm 28,10% tổng số bọ xít thu thập.

Nơi trú ẩn tạm thời

Khi đói, bộ xít di chuyển tìm mồi xung quanh tổ của chúng, những cá thể trưởng thành có khả năng bay đi và tìm mồi xa hơn. Vị trí trú ẩn tạm thời của bộ xít thường là các đồ vật trong nhà như giường chiếu, chăn màn (22,22%), hoặc trên tường vách (16,66%) và nền nhà (16,66%).

Tập tính đốt mồi của BXHM

Khi đốt mồi, chúng thường bám vào những vị trí mà vật chủ khó phát hiện như vùng miệng, đuôi, chân và dưới hậu môn nơi có lớp da mỏng của động vật có vú (hình 3.13A, B). BXHM co vòi vào trong ngực khi rình mồi và di chuyển, khi đốt mồi thì vòi duỗi thẳng ra và cắm trực tiếp vào da của con mồi. Thời gian đốt mồi khoảng từ 10-20 phút. Khi đốt mồi no, chúng có kích thước lớn hơn rất nhiều (hình 3.13C), chúng lọc thải nước (hình 3.13D) từ máu con mồi, và thải phân (hình 3.13 E, F) và lúc này KST sẽ được phóng thích ra ngoài theo các chất thải.



Hình 3.13. Quá trình rình, đốt mồi của BXHM *T. rubrofasciata*

Tập tính giao phối và khả năng sinh sản của *T. rubrofasciata*

BXHM *T. rubrofasciata* có khả năng bắt đầu giao phối vào ngày thứ 3 sau lột xác và sinh sản vào ngày thứ 6 sau giao phối. Chúng thường giao phối vào ban đêm, khi giao phối con cái có khả năng cắn con đực di chuyển rất nhanh mà không ảnh hưởng đến quá trình giao phối. Thời gian giao phối diễn ra trong khoảng 5-10 phút. Hơn nữa, có sự cạnh tranh của con đực trong giao phối (hình 3.14).



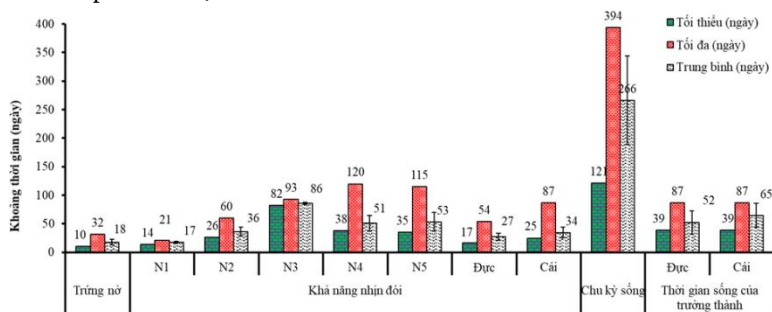
Hình 3.14. Sự giao phối của BXHM *T. rubrofasciata*

Khả năng nhện đói của BXHM *T. rubrofasciata*

Khi nghiên cứu khả năng nhện đói của các giai đoạn phát triển của bọ xít ở trong phòng thí nghiệm đã cho thấy khả năng nhện đói cao nhất của BXHM ở giai đoạn phát triển của thiếu trùng tuổi 4 là 120 ngày, thấp nhất là thiếu trùng tuổi 1 là 14 ngày. Trong quá trình nhện đói, trọng lượng cơ thể của chúng giảm dần và cuối cùng chúng chết. Khả năng nhện đói cao của *T. rubrofasciata*, cho phép chúng chờ đợi và tìm kiếm vật chủ. Đặc biệt, sự biến đổi hình thái, chuyển tuổi thiếu trùng chỉ yêu cầu một lần đốt máu, cho thấy khả năng sống sót của chúng rất lớn.

Vòng đời của BXHM

Thời gian từ trứng đến trưởng thành được ghi nhận tối thiểu là 82 ngày và tối đa là 256 ngày. Để hoàn thành một chu kỳ sống, từ lúc trứng được đẻ ra đến khi con trưởng thành chết đi, BXHM trong nghiên cứu này trải qua từ 121 đến 394 ngày (hình 3.15). Tỷ lệ đực /cái ở trưởng thành xấp xỉ 100 đực/113 cái.

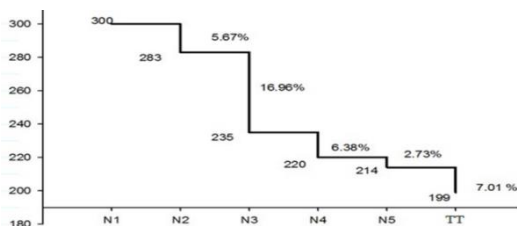


Hình 3.15. Khả năng nhện đói và vòng đời của BXHM

Tỷ lệ chết của các giai đoạn phát triển của BXHM

Số lượng cá thể chết trong thời gian phát triển và lột xác ở mỗi tuổi thiếu trùng rất thấp, dưới 10 %, ngoại trừ thiếu trùng tuổi 2. Ở tuổi thiếu trùng này, số lượng cá thể bị chết trong thời gian phát triển và lột xác lên thiếu trùng tuổi 3 là 16, 96% (hình 3.16).

Tỷ lệ tử vong cộng dồn cho cả quá trình phát triển từ thiếu trùng tuổi 1 lên bọ xít trưởng thành là 38, 75%. Tuy nhiên, so sánh trực tiếp số lượng cá thể trưởng thành phát triển từ số cá thể tuổi 1 bắt đầu theo dõi, tỷ lệ chết cho cả quá trình chỉ là 33, 67%.

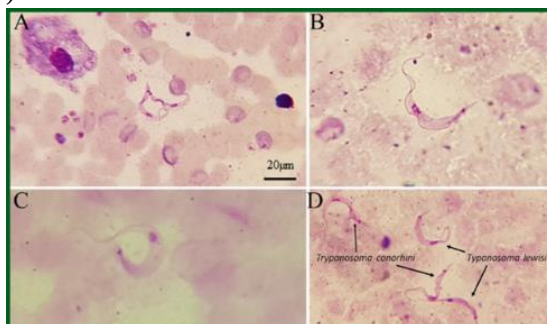


Hình 3.16. Tỷ lệ chết của BXHM *T. rubrofasciata*.

3.6. Đặc điểm dịch tễ học BXHM *T. rubrofasciata* ở miền Trung

3.6.1. Tỷ lệ nhiễm KST

Dựa vào các khóa phân loại hình thái, xác định được hai loài KST trong các mẫu máu từ dạ dày BXHM khu vực Miền Trung: loài *Tryp. lewisi* và loài *Tryp. conorhini*. Loài *Tryp. lewisi* có chiều dài khoảng 21 đến 36 μm . Có một kinetoplast (nhân động), hình bầu dục (đường kính 0,71 μm) nằm ở vị trí gần cực trước khoảng 5-8 μm và cách xa cực sau. Ổ dạng trứng thành, hình dạng KST có màng nhấp nhô ở bên ngoài, nhân lớn gần cực sau và có một roi dài (hình 3.17A và B). Loài *Tryp. conorhini* có chiều dài cơ thể 60 μm , có một kinetoplast (nhân động) lớn. Nhân có hình tròn, nằm ở giữa cơ thể. Không xuất hiện màng vây (hình 3.17C).



Hình 3.17. KST ở BXHM *T. rubrofasciata*

(A) Thể Epimastigote của KST *T. lewisi*; (B) KST trưởng thành *T. lewisi*;

(C) KST trưởng thành *T. conorhini*; (D) Cả hai loài nhiễm chung ở bộ xít

3.6.2. Kết quả gây nhiễm thực nghiệm

BXHM không truyền bệnh qua tuyến nước bọt như một số loài muỗi, chúng phòng thích trực tiếp KST theo phân khi chúng đốt mỗi, KST theo vết đốt xâm nhập vào cơ thể vật chủ. Kết quả gây nhiễm thực nghiệm cho thấy tất cả các tuổi thiếu trùng và trưởng thành đều có khả năng truyền bệnh. Vì vậy, khi phát hiện tổ BXHM, tiêu diệt tất cả các cá thể là việc cần thiết.

3.7. Kết quả nghiên cứu phòng chống BXHM *T. rubrofasciata*

3.7.1. Kết quả thử nghiệm với các hóa chất diệt

Các hóa chất đang được lưu hành trong phòng chống muỗi và côn trùng hút máu tại Việt Nam đã được sử dụng để thử độ độc trên thiếu trùng tuổi 2 và thiếu trùng tuổi 5 BXHM *T. rubrofasciata*.

Thiếu trùng tuổi 2 và tuổi 5 kháng với hóa chất Permethrin 50EC ở nồng độ 50% với tỷ lệ chết sau 24 giờ tiếp xúc tương ứng là 72% và 51%. Tuy nhiên, cả hai tuổi thiếu trùng (tuổi 2 và tuổi 5) còn nhạy cảm với Fendona 10SC, tỷ lệ chết sau 24 thử nghiệm tiếp xúc là 100%. Kết quả thử nghiệm với HANTOX 200 3EW cho thấy thiếu trùng tuổi 2 còn nhạy cảm với hóa chất này, nhưng sức chịu đựng của thiếu trùng tuổi 5 tăng cao rõ rệt. Đối với hóa chất MAPARSENAL 30EW, cả hai tuổi thiếu trùng (tuổi 2 và tuổi 5) đều còn nhạy cảm với tỷ lệ chết là 100% sau 1 ngày thử nghiệm tiếp xúc.

3.7.2. Kết quả thử nghiệm xua đuổi *T. rubrofasciata* bằng tinh dầu

Thử nghiệm hoạt tính xua đuổi BXHM của tinh dầu được tách chiết từ lá cây Quýt gai ở nồng độ 0,5% kết quả có hoạt tính xua đuổi. Hoạt tính xua đuổi BXHM của tinh dầu là 40% sau 1 giờ, 70% sau 24 giờ, 80% sau 48 giờ và 40% sau 72 giờ.

KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

KẾT LUẬN

1. Phân tích hình thái học và phân tích sinh học phân tử khẳng định quần thể BXHM ở khu vực miền Trung Việt Nam thuộc loài *Triatoma rubrofasciata* (De Geer, 1773), thuộc phân họ BXHM Triatominae Jeannel, 1919; họ Reduviidae Latreille, 1807. Chưa phát hiện những thay đổi di truyền ở quần thể này so với quần thể phân bố quanh khu vực Hà Nội.
2. Các đặc điểm sinh học đạt được trong nghiên cứu chứng minh rằng quần thể *T. rubrofasciata* ở miền Trung Việt Nam có sức sống và sinh sản rất mạnh mẽ, đặt ra yêu cầu không chế sự phân bố của loài này.
3. Bộ NST lưỡng bội của con đực loài BXHM *T. rubrofasciata* ở khu vực miền Trung, Việt Nam là $2n=25$ gồm 22 NST thường và 3 NST giới tính ($22A + X1X2Y$).
4. Phát hiện hai loại KST là *Trypanosoma conorhini* và *Trypanosoma lewisi* ký sinh ở BXHM *T. rubrofasciata*.
5. Tinh dầu lá cây Quýt gai có hoạt tính xua đuổi đối với BXHM *T. rubrofasciata* ở nồng độ 0,5%.
6. Chưa phát hiện KST *Trypanosoma cruzi* ký sinh ở BXHM *T. rubrofasciata* thu thập tại tất cả các điểm nghiên cứu ở khu vực miền Trung

KIẾN NGHỊ

Tiếp tục nghiên cứu chuyên sâu, phát triển kỹ thuật sinh học phân tử trong định loài KST nói chung và *T. lewisi* và *T. conorhini* nói riêng ở Việt Nam.

Tiếp tục nghiên cứu chuyên sâu về vai trò truyền bệnh của loài BXHM *T. rubrofasciata*, cung cấp thông tin đầy đủ và chính xác, đề xuất những biện pháp phòng chống chủ động và hiệu quả.

Tiếp tục nghiên cứu cơ chế giảm phân và bộ NST ở con cái, nghiên cứu quá trình phát triển phôi của *T. rubrofasciata*.

Mở rộng điều tra các hoạt chất thiên nhiên, đặc biệt là nhóm tinh dầu, nhằm tìm ra các chất ức chế quá trình lột xác và phát triển của BXHM mà không độc với con người.

Ngoài ra, tiếp tục triển khai thử nghiệm thực địa đối với tinh dầu cây Quýt gai.

DANH MỤC CÁC CÔNG TRÌNH KHOA HỌC CỦA TÁC GIẢ LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN ÁN

1. **Ho Viet Hieu**, Le Thanh Do, Nguyen Minh Hung, Pham Thi Khoa, (2016), “Biology of blood kissing bugs”, *52nd Annual Scientific Conference - Malaysian Society of Parasitology and Tropical Medicine, Kuala Lumpur*, 2-5/3, 2016.
2. **Hồ Viết Hiếu**, Lê Thành Đô, Tạ Phương Mai, Phan Quốc Toàn, Phạm Anh Tuấn, Ngô Giang Liên, Phạm Thị Khoa (2017), “Nghiên cứu đặc điểm di truyền tế bào của bọ xít hút máu *Triatoma rubrofasciata* ở miền Trung Việt Nam”, *Tạp chí khoa học Công nghệ Việt Nam* Tập 21- số 10, tr11-14.
3. **Hồ Viết Hiếu**, Lê Thành Đô, Phan Quốc Toàn, Tạ Mai Phương, Phạm Anh Tuấn, Phạm Thị Khoa, Ngô Giang Liên (2017), “Dịch tể bệnh Chagas và tình hình nghiên cứu Bọ xít hút máu *Triatoma rubrofasciata* ở Việt Nam”, *Tạp chí khoa học Công nghệ Việt Nam* Tập 60- số 02, tr13-20.
4. **Hieu Ho Viet**, Le Thanh Do, Pham Thi Khoa, Ngo Giang Lien (2018), “Chromosomal and biological characteristics of blood kissing bugs *Triatoma rubrofasciata* in Central Viet Nam. Oral presentation. Icopa 2018”, *14th Internation congress of Parasitology Exco, Daegu, Korea*, p: 81.
5. Prabodh Satyal, **Ho Viet Hieu**, Nguyen Thi Hong Chuong, Nguyen Huy Hung, Le Hoang Sinh, Pham Van The Thieu Anh Tai, Vu Thi Hien, William N. Setzer. (2019), “Chemical composition, mosquito larvicidal activity and repellent activity against *Triatoma rubrofasciata* of *Severinia monophylla* leaf essential oil from Vietnam”, *Parasitology Research*, Vol 118 (3): 733-742pp (SCI Q1, IF=2.558). <https://doi.org/10.1007/s00436-019-06212-1>.
6. **Ho Viet Hieu**, Le Thanh Do, Sebastián Pita, Hoang Ha, Pham Thi Khoa, Pham Anh Tuan, Ta Phuong Mai, Ngo Giang Lien, Francisco Panzera. (2019), “Biology attributes of the kissing bug *Triatoma rubrofasciata* from Vietnam”, *Parasites and Vector*, 12: 585. (SCI Q1, IF=3.1). <https://doi.org/10.1186/s13071-019-3844-6>