

ĐÁNH GIÁ IN VITRO TÁC DỤNG CỦA DUNG DỊCH NƯỚC THUỐC LÁ NICOTIANA TABACUM TRÊN CÁC GIAI ĐOẠN PHÁT TRIỂN CỦA VE CHÓ RHIPICEPHALUS SANGUINEUS

Phan Thị Tuyết Giang^{1*}

IN VITRO EVALUATION OF EFFECTS OF AQUEOUS NICOTIANA TABACUM EXTRACT ON THE DEVELOPMENT STAGES OF BROWN DOG TICK RHIPICEPHALUS SANGUINEUS

Phan Thi Tuyet Giang^{1*}

Tóm tắt – Nghiên cứu đánh giá tác dụng diệt ve của dung dịch nước thuốc lá *Nicotiana tabacum* trên ve chó *Rhipicephalus sanguineus* ở các giai đoạn sinh trưởng được tiến hành trong điều kiện in vitro. Với phương pháp nhúng ve vào dung dịch thí nghiệm ở các nồng độ 25%, 50%, 75% và theo dõi sau 48 giờ, nghiên cứu đã tiến hành so sánh, đối chiếu với chế phẩm thương mại Hantox (hoạt chất Deltamethrine) và nước cất. Tất cả nồng độ của dung dịch nước thuốc lá *Nicotiana tabacum* đều có hiệu lực tiêu diệt ve ở các giai đoạn sinh trưởng ($P < 0,001$). Nồng độ 25% có tỉ lệ chết là thấp nhất so với các nồng độ còn lại ở từng giai đoạn sinh trưởng và sau mỗi thời điểm tiếp xúc. Nồng độ 75% có thời gian gây chết 100% ve trưởng thành là 5,33 ngày, và tỉ lệ chết sau 48 giờ tiếp xúc là 72,22%. Dẫn xuất từ nước của lá thuốc lá *Nicotiana tabacum* cho thấy có tác dụng tiêu diệt ve và tiềm năng ứng dụng kiểm soát ve chó *Rhipicephalus sanguineus*.

Từ khóa: lá thuốc lá, *Nicotiana tabacum*, tác dụng diệt ve, ve nâu chó (*Rhipicephalus sanguineus*).

Abstract – This study aimed to evaluate the acaricidal property of the aqueous leaf extract of *Nicotiana tabacum* on brown dog tick

Rhipicephalus sanguineus at the different growth stages under the in vitro condition. Using the method of dipping ticks into the experimental solution at three different concentrations of 25%, 50%, 75%, and monitoring after 48 hours, compared with the commercial product Hantox (active ingredient is Deltamethrine) and distilled water. The concentrations were found to have a significant effect on the mortality of all the development stages of treated ticks, $P < 0.001$. The extract at 25% concentration had the lowest mortality rate compared to the remaining concentrations at each growth stage and after each time of exposure. Aqueous extract of leaves of *Nicotiana tabacum* caused 100% mortality in adult ticks on 5.33th day of exposure at the concentration of 75%, and the mortality rate after the 48 hours of exposure was 72.22%. The extract of the aqueous leaf of *Nicotiana tabacum* was shown to have an acaricidal effect and a potential for application in controlling the dog tick *Rhipicephalus sanguineus*.

Keywords: acaricidal effect, brown dog tick, *Nicotiana tabacum*, *Rhipicephalus sanguineus*, tobacco leaves.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Trong các khảo sát về tình hình nhiễm ngoại kí sinh trùng trên chó, tỉ lệ chó nhiễm *Rhipicephalus sanguineus* là cao nhất [1, 2]. Các giai đoạn phát triển của ve đều cần đến vật chủ để hút máu, điều này không chỉ ảnh hưởng đến sự sinh trưởng phát triển mà còn làm tổn thương da, nguy cơ nhiễm

¹Trường Cao đẳng Kiên Giang, Việt Nam

Ngày nhận bài: 17/5/2024; Ngày nhận bài chỉnh sửa: 21/8/2024; Ngày chấp nhận đăng: 26/9/2024

*Tác giả liên hệ: pttgiang@kgc.edu.vn

¹Kien Giang College, Vietnam

Received date: 17th May 2024; Revised date: 21st August 2024; Accepted date: 26th September 2024

*Corresponding author: pttgiang@kgc.edu.vn

trùng gây viêm da. Điều đáng quan tâm hơn nữa là loài ve *R. sanguineus* còn là vector truyền tác nhân gây bệnh nguy hiểm cho chó như *Babesia spp*, *Anaplasma spp*, *Ehrlichiosis*... Nhiều loại thuốc khác nhau đã được sử dụng để điều trị ve. Nhóm thuốc Afoxolaner, Fluralaner có hiệu quả phòng trừ cao nhưng giá thành rất đắt; nhóm tổng hợp như Deltamethrin, Fipronil, Amitraz có tác dụng nhanh nhưng dễ gây hiện tượng kháng thuốc. Trong khi đó, Dipterex đã bị cấm sử dụng vì gây hại cho sức khỏe của người và chó. Những năm gần đây, các sản phẩm từ thực vật được chú trọng ứng dụng rộng rãi trong nhiều lĩnh vực. Một số chiết xuất từ thực vật đã được sử dụng để kiểm soát côn trùng, sâu bọ hại trong nông nghiệp như lá thuốc lá, dây thuốc cá, cúc vạn thọ, tỏi hoặc cây ngũ sắc... Tinh dầu tỏi, sả, quế đã được chứng minh là có tác dụng, trong đó tỏi cho thấy hiệu quả và được coi là ứng cử viên tốt nhất để điều trị ngoại ký sinh trùng trên gà [3]. Các chiết xuất từ vỏ cam đã cho thấy tác dụng tiêu diệt ve chó *R. sanguineus* trong *in vitro* [4]. Một số nghiên cứu đã xác nhận nước chiết từ lá thuốc lá *Nicotiana tabacum* có hoạt tính diệt ve và cũng thân thiện với môi trường [5–7]. Vì vậy, nghiên cứu này được thực hiện nhằm đánh giá ảnh hưởng của dung dịch nước thuốc lá *Nicotiana tabacum* ở các nồng độ khác nhau trên sức sống của ve nâu chó *R. sanguineus* ở các giai đoạn sinh trưởng khác nhau trong điều kiện *in vitro*.

II. TỔNG QUAN NGHIÊN CỨU

Theo Đỗ Tất Lợi [8], cây thuốc lá *Nicotiana tabacum* thuộc họ Cà (Solanaceae), được trồng phổ biến nhất trong chi Thuốc lá (*Nicotiana*). Cây cao 1–2 m, thân mọc đứng, có nhiều lông. Phiến lá to, dài 60–75 cm, rộng 30–50 cm, không cuống, một mẫu lá phía dưới ôm vào thân. Tất cả các loài trong chi *Nicotiana* đều chứa một lượng nhỏ alkaloid (ít nhất là 10 $\mu\text{g/g}$), riêng *Nicotiana tabacum* là 13 mg/g (tính trên khối lượng lá khô), thấp hơn so với thuốc lào *Nicotiana rustica* (25,6 mg/g). Có 04 loại alkaloid: nicotine, nornicotine, anabasine và anatabine, trong đó tỉ lệ nicotin trong cây thuốc lá chiếm 95% [9]. Đó là một alkaloid bay hơi mạnh, có tính kiềm, chứa vòng pyridin và nhân N-metyl pyonidin. Ở nhiệt độ thường, nicotin ở thể lỏng, không màu, sánh (tỉ

trọng 1,027), mùi hắc, vị nóng cay. Dạng tinh khiết thì không có màu nhưng khi tiếp xúc ánh sáng và không khí thì ngả màu nâu, dễ bị hỏng. Trúng độc nicotin làm tăng cường vận động, gây co giật, co cơ, đặc biệt là các cơ vận động, do đó gây liệt cơ (do gia tăng Acetylcholinesterase), là nguyên nhân gây chết động vật [10].

Sandra et al. [11] đã nghiên cứu về tác động diệt một số ký sinh trùng của dịch chiết từ lá của các giống thuốc lá khác nhau (*N. glutinosa*, *N. glauca*, *N. debneyi* và *N. tabacum*). Kết quả cho thấy tất cả dịch chiết có tác dụng xua đuổi *R. sanguineus* một cách có ý nghĩa. So sánh giữa các alkaloid trong thuốc lá, nicotin được đánh giá là có tác dụng tiêu diệt tất cả ve một cách nhanh chóng và hiệu quả ở các giai đoạn sinh trưởng.

Trong điều kiện *in vitro*, dịch nước chiết từ lá thuốc lá sấy khô *Nicotiana tabacum* ở 02 nồng độ 50% và 100% đều gây chết 100% ve trưởng thành *R. sanguineus* vào ngày thứ 10 tiếp xúc và ngăn cản ve cái đẻ và ấp trứng sau 02 tuần [6].

Chikomola et al. [12] đã kết luận rằng chiết xuất của thuốc lá trong dung môi nước cất (nồng độ 2%) hoặc ethanol (nồng độ 5%) đều có khả năng giết chết ve *Rhipicephalus appendiculatus* và nó có thể đạt tỉ lệ 100% nếu không pha loãng (0,99 ml/ml). Xà phòng làm giảm hoạt tính của chiết xuất nếu dùng ở dạng kết hợp.

Sharma et al. [7] đã nghiên cứu hiệu lực diệt ve trong *in vitro* của dịch chiết từ lá thuốc lá *Nicotiana tabacum* trên giai đoạn thiếu trùng và trưởng thành của ve *Rhipicephalus microplus* ở lần lượt nồng độ 15%, 30%, 45% và 60% với khoảng cách 12 giờ. Kết quả cho thấy tất cả ve ở giai đoạn thiếu trùng và trưởng thành có tỉ lệ chết 100% ở tất cả nồng độ sau 48 giờ xử lí, tỉ lệ chết tăng tương ứng với nồng độ dung dịch.

Nguyễn Thị Kim Lan và cộng sự [13] đã khảo sát hoạt tính diệt ve từ dịch chiết lá thuốc lào *Nicotiana rustica* trên ve *R. sanguineus* giai đoạn trưởng thành ở các môi trường và thời gian ngâm khác nhau. Kết quả cho thấy dịch chiết thuốc lào ngâm 24 giờ trong dung môi NaOH 5% cho tác dụng diệt ve cao nhất trong điều kiện *in vitro*.

Tóm lại, đặc tính diệt ve của dịch chiết từ *Nicotiana tabacum* đã được xác nhận trong nhiều nghiên cứu *in vitro* trên ve *Rhipicephalus spp*. Các loại dung môi được dùng để chiết xuất nicotin trong lá thuốc lá *Nicotiana tabacum* bao

gồm nước cất, ethanol, dung dịch NaOH 5%. Nồng độ tối thiểu cho tác động diệt ve của dịch thuốc lá trong dung môi nước cất là 2%. Tuy nhiên, chưa có nhiều nghiên cứu đánh giá trên cả 03 giai đoạn sinh trưởng của ve *R. sanguineus* mà chỉ quan sát ở 01 giai đoạn (giai đoạn trưởng thành) hoặc 02 giai đoạn sinh trưởng (giai đoạn trưởng thành và ấu trùng, hoặc giai đoạn thiếu trùng và trưởng thành).

III. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

A. Thời gian và địa điểm bố trí thí nghiệm

Thí nghiệm được thực hiện từ tháng 2 đến tháng 9 năm 2023 tại phòng thí nghiệm của Khoa Nông nghiệp Môi trường, Trường Cao đẳng Kiên Giang.

B. Vật liệu nghiên cứu

Chế tạo nước sắc thuốc lá: Thuốc lá thành phẩm (lá thuốc lá đã được sấy khô, cắt sợi và đóng thành bánh) được thu mua tại chợ địa phương. Cân 100 g thuốc lá khô, tẩm ướt bằng 10 ml nước cất trong 1 giờ. Sau đó, cho tiếp 90 ml nước cất ngâm tiếp trong 23 giờ. Lọc, thu dịch chiết, cho thêm nước cất vào bã, vắt lọc sao cho thu được dịch lọc vừa đủ 100 ml. Dịch chiết này quy ước có nồng độ 100%, sau đó pha thành các dung dịch có nồng độ 25%, 50%, 75% theo công thức sau:

$$V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2 \Rightarrow V_1 = (V_2 \times N_2) / N_1$$

Trong đó:

V_1 : thể tích dung dịch gốc

N_1 : nồng độ dung dịch gốc

V_2 : thể tích dung dịch cần pha

N_2 : Nồng độ dung dịch cần pha

Sau khi pha xong, cho các dung dịch vào bình chứa có nắp đậy kín để tránh bay hơi và bảo quản ở 4°C.

Ve chó thí nghiệm: dùng kẹp để bắt ve trên các bộ phận cơ thể (4 chân, 2 tai, vùng cổ, đầu và thân) của những chó bị bệnh ở địa phương hoặc đem đến điều trị ở Bệnh xá Thú y của Trường Cao đẳng Kiên Giang. Các mẫu thu được nhanh chóng bảo quản và đưa về phòng thí nghiệm để phân loại.

Bảo quản mẫu: bắt ve cho vào đĩa petri, phía dưới đặt một miếng giấy lọc. Cho các đĩa vào hộp

hình trụ, để nơi thoáng và nhanh chóng chuyển về phòng thí nghiệm. Đối với ấu trùng và thiếu trùng, dùng băng keo chuyên dụng 3M Micropore dán bên ngoài đĩa petri.

Định danh loài: dùng kính hiển vi xem đặc điểm hình thái hai mặt để định loại. Định loại căn cứ vào những đặc điểm hình thái của ve *R. sanguineus* theo khoá định loại của Phan Trọng Cung và cộng sự [14].

Phân loại ấu trùng, thiếu trùng, trưởng thành của ve dựa vào các đặc điểm về hình thái bên ngoài của ve theo tài liệu của Phạm Văn Khuê và cộng sự [15].

C. Bố trí thí nghiệm

Thực hiện 03 thí nghiệm tương ứng với 03 giai đoạn phát triển của ve chó *R. sanguineus*. Mỗi thí nghiệm có 05 nghiệm thức, mỗi nghiệm thức được lặp lại 03 lần. Số ve ở mỗi lần lặp lại là 30 con.

Nghiệm thức 1: dung dịch nước thuốc lá nồng độ 25%.

Nghiệm thức 2: dung dịch nước thuốc lá nồng độ 50%.

Nghiệm thức 3: dung dịch nước thuốc lá nồng độ 75%

Đối chứng (+): dung dịch chế phẩm thương mại Hantox (hoạt chất Deltamethrin) nồng độ 0,25%.

Đối chứng (-): nước cất.

Cách tiến hành: Mỗi đĩa petri có 30 con ve cùng giai đoạn phát triển (ấu trùng hoặc thiếu trùng hoặc trưởng thành) đã được rửa sạch bằng nước cất. Chuẩn bị giấy lọc có tẩm sẵn dung dịch với nồng độ thử nghiệm, cho vào một đĩa petri khác. Nhúng ướt hết mình ve trong 30 ml dung dịch thử nghiệm, sau đó cho ve vào đĩa petri có giấy tẩm.

D. Các chỉ tiêu theo dõi

Theo dõi các biểu hiện của ve sau khi tiếp xúc với dung dịch thử nghiệm: sự di chuyển, cử động của các chi.

Thời gian gây chết 50%, thời gian gây chết 100% ve chó thí nghiệm là thời gian có 50% và có 100% số ve chó thí nghiệm bị chết do dung dịch thử nghiệm.

Số ve chết sau tiếp xúc, số ve chết sau 24 giờ tiếp xúc, số ve chết sau 48 giờ tiếp xúc, đơn vị: con

Tỉ lệ chết được tính theo công thức:

$$(\text{Số lượng ve chết: tổng số ve}) \times 100$$

E. Phương pháp xử lý số liệu

Tất cả số liệu thô được xử lý bằng phần mềm Excel 2013, so sánh sự khác biệt giữa các trung bình nghiệm thức bằng kiểm định Tukey và trắc nghiệm Chi bình phương của phần mềm Minitab 16.

IV. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

A. Tỉ lệ chết ve *R. sanguineus* ở các giai đoạn ấu trùng, thiếu trùng, trưởng thành

Ở các nghiệm thức đối chứng, nghiên cứu nhận thấy nước cất không gây chết ve khi bị nhúng vào. Ve di chuyển và có phản xạ, các chi vẫn bình thường. Tỉ lệ chết sau tiếp xúc với nước cất ở các giai đoạn sinh trưởng là 0%, phù hợp với nghiên cứu của Sharma et al. [7] và Jeyathilakan et al. [6]. Trong khi đó, biểu hiện của ve sau khi bị nhúng vào các dung dịch thí nghiệm là: cử động chậm chạp hơn bình thường, các chi có cử động nhưng ve không di chuyển, ve thu các chi vào thân và không di chuyển, ve nằm bất động hoặc chân duỗi thẳng... Những biểu hiện đó là do sự co giật ở các chi của ve. Hiện tượng co giật có thể được giải thích theo cơ chế tác động của nicotin. Nicotin sẽ giành vị trí của Acetylcholine trên kênh nAChR (nicotinic Acetylcholin receptor) trong dẫn truyền xung thần kinh ở xynapse, nó liên kết và kích hoạt thụ thể nAChR làm mở kênh màng sau xynapse, dẫn đến gia tăng quá mức AchE (Acetylcholinesterase), từ đó làm kích thích quá mức hệ thần kinh trung ương của ve, gây nên hiện tượng co giật. Sau khoảng vài phút, hiện tượng giật ở các chi sẽ giảm dần. Những ve nào qua được giai đoạn này thì các chi hoạt động lại bình thường. Còn những ve nào yếu thì sẽ liệt một phần, liệt hoàn toàn và chết. Ve chết là những con không cử động các chi, có các chi duỗi thẳng. Hiệu lực diệt ve *R. sanguineus* được trình bày qua Bảng 1.

Bảng 1: Tỉ lệ chết ve thí nghiệm của dung dịch nước thuốc lá tại các thời điểm

Giai đoạn sinh trưởng của ve	Nghiệm thức	Tỉ lệ chết sau tiếp xúc 0 giờ (%)	Tỉ lệ chết sau tiếp xúc 24 giờ (%)	Tỉ lệ chết sau tiếp xúc 48 giờ (%)
Ấu trùng	25%	36,67 ^a	65,56 ^a	76,67 ^b
	50%	41,11 ^a	67,78 ^a	86,67 ^{ab}
	75%	34,45 ^a	82,22 ^a	96,67 ^a
	Hantox	35,56 ^a	73,33 ^a	93,34 ^a
	Đối chứng	0,00 ^b	0,00 ^b	43,34 ^c
Thiếu trùng	25%	24,44 ^b	30,00 ^c	50,00 ^d
	50%	37,78 ^a	51,11 ^b	66,67 ^c
	75%	40,00 ^a	63,34 ^{ab}	75,56 ^b
	Hantox	44,44 ^a	75,56 ^a	96,67 ^a
	Đối chứng	0,00 ^c	3,33 ^d	4,44 ^e
Trưởng thành	25%	14,44 ^c	25,56 ^d	51,11 ^c
	50%	24,44 ^b	38,89 ^c	65,56 ^b
	75%	28,89 ^b	55,56 ^b	72,22 ^b
	Hantox	45,56 ^a	83,34 ^a	94,44 ^a
	Đối chứng	0,00 ^d	5,56 ^e	7,78 ^d

Ghi chú: Cùng một chỉ tiêu, các giá trị trung bình mang chữ cái khác nhau, sai khác có ý nghĩa thống kê ($P < 0,001$)

Theo Bảng 1, tất cả nồng độ của dung dịch nước thuốc lá đều có hiệu lực tiêu diệt ve *R. sanguineus* ở tất cả giai đoạn sinh trưởng ($P < 0,001$). Tỉ lệ chết ve thí nghiệm ở nồng độ 25% là thấp nhất so với nồng độ khác ở mỗi giai đoạn sinh trưởng của ve và sau mỗi thời điểm tiếp xúc. Nồng độ 50% và nồng độ 75% được quan sát là có hiệu lực như nhau trên ve giai đoạn ấu trùng và trưởng thành sau tiếp xúc 48 giờ. Tỉ lệ gây chết ve thí nghiệm tại mỗi thời điểm trên từng giai đoạn ve cụ thể như sau:

Giai đoạn ấu trùng: Các nồng độ của dung dịch nước thuốc lá *Nicotiana tabacum* đều có tác dụng lên ấu trùng *R. sanguineus* ($P < 0,001$). Sau khi nhúng vào dung dịch, từ nồng độ thấp 25% đến nồng độ cao nhất là 75% đều gây chết liên ve với tỉ lệ hơn 30%. Theo Phạm Văn Khuê và cộng sự [15], vỏ kitin có thể mềm, cứng khác nhau tùy theo vị trí trên cơ thể và tuổi của ve. Ve ở giai đoạn ấu trùng có lớp vỏ kitin mỏng, sẽ tạo điều kiện cho nicotin thấm nhanh qua lớp vỏ vào tế bào bên trong cơ thể. Cùng với sự xâm nhập qua đường tiêu hoá và hô hấp, hoạt chất nicotin trong dung dịch nước thuốc lá sẽ tác động nhanh và mạnh hơn vào hệ thần kinh, dẫn đến co giật, liệt chi và chết. Quan sát dưới kính hiển vi, ấu trùng

sau tiếp xúc dung dịch nước thuốc lá không di chuyển nhiều, một số con di chuyển chậm chạp trong phạm vi giới hạn, một số con thì đứng yên với các chi co giật, có một số con thì bất động. Khả năng tiêu diệt ve kéo dài đến 48 giờ, tỉ lệ chết đạt cao nhất là 96,67% với nồng độ 75%. Kết quả cho thấy nồng độ càng cao thì tỉ lệ chết càng cao.

Giai đoạn thiếu trùng: Trong quá trình theo dõi 48 giờ kể từ khi nhúng vào dung dịch, kết quả cũng cho thấy các nồng độ 25%, 50% và 75% của dung dịch nước thuốc lá *Nicotiana tabacum* đều có tác dụng gây chết thiếu trùng *R. sanguineus* ($P < 0,001$). Tương tự ấu trùng, lớp vỏ kitin của thiếu trùng vẫn chưa hoàn chỉnh, cũng còn mỏng, cho nên thuốc thấm nhanh và tác động nhanh lên hệ thần kinh. Nồng độ càng tăng thì tỉ lệ chết càng tăng. Ở từng thời điểm theo dõi, tỉ lệ chết ở nồng độ 25% so với các nồng độ 50% và 75% khác biệt rất có ý nghĩa. Sự khác nhau về tỉ lệ chết ve thí nghiệm của nồng độ 50% và 75% thể hiện rõ ở thời điểm 48 giờ sau khi tiếp xúc, nồng độ 75% có tỉ lệ chết là 75,56% cao hơn nồng độ 50% (66,67%), $P < 0,001$.

Giai đoạn trưởng thành: Các nồng độ của dung dịch nước thuốc lá *Nicotiana tabacum* đều có tác động lên ve trưởng thành ($P < 0,001$). Tuy nhiên, ở mỗi nồng độ, hiệu lực gây chết lại khác nhau, có sự chênh lệch về số ve chết sau tiếp xúc 0 giờ và mỗi 24 giờ tiếp theo. Nồng độ 25% có tỉ lệ chết ở mỗi thời điểm đều thấp so với 02 nồng độ còn lại ($P < 0,001$). Tỉ lệ ve trưởng thành chết sau tiếp xúc 0 giờ không cao như ve ở giai đoạn thiếu trùng và ấu trùng. Ở từng thời điểm theo dõi, số ve chết tăng lên cũng không nhiều, chỉ có nồng độ 75% đạt tỉ lệ chết 50% sau 24 giờ, còn nồng độ 25% và nồng độ 50% chỉ đạt tỉ lệ chết hơn 50% sau 48 giờ. Điều này cho thấy dung dịch nước thuốc lá *Nicotiana tabacum* có thời gian tác động chậm trên ve trưởng thành. Giai đoạn này, ve có lớp vỏ kitin dày hơn cho nên thuốc chậm thấm qua lớp vỏ mà chủ yếu tác động vào được hô hấp và tiêu hoá nên tác dụng có thể chậm hơn so với 02 giai đoạn sinh trưởng trước. Vì vậy, tác dụng gây liệt và chết diễn ra chậm hơn.

Hiệu lực tiêu diệt ve *R. sanguineus* của dung dịch nước thuốc lá ở tất cả nồng độ đều thấp hơn so với dung dịch Hantox (hoạt chất Deltamethrine). Hantox cho thấy sự khác biệt

rất rõ về hiệu lực tiêu diệt ve ở giai đoạn trưởng thành so với các nồng độ của dung dịch nước thuốc lá *R. sanguineus*. Deltamethrine trong Hantox là một hoạt chất diệt côn trùng thuộc họ Pyrethroid – một nhóm cúc tổng hợp, gây độc chức năng và kích thích quá mức hệ thần kinh qua kênh muối. Do đây là chất diệt ve tổng hợp nên tác động của nó có thể mạnh hơn so với hoạt chất nicotine có trong thuốc lá sậy khô (nguồn gốc thực vật).

Theo Nguyễn Thị Kim Lan và cộng sự [13], dẫn xuất nồng độ 20% nước thuốc lá *Nicotiana rustica* L. trong dung môi NaOH 5% đạt tỉ lệ chết 50% ve thí nghiệm sau 35 phút, được cho là nồng độ tác động hiệu quả nhất trên ve nâu chó.

Trong nghiên cứu của Chikomola et al. [12], nồng độ 2% trong dung môi nước cất của thuốc lá là nồng độ thấp cần thiết để đạt đến hiệu quả diệt ve. Hoạt tính diệt ve của các dẫn xuất thuốc lá *Nicotiana tabacum* phụ thuộc vào thời gian và nồng độ.

Theo Sharma et al. [7], dung dịch nước thuốc lá *Nicotiana tabacum* ở nồng độ 60% có tỉ lệ chết ve sau 24 giờ tiếp xúc là 50% đối với ve giai đoạn trưởng thành và 78,57% đối với ve giai đoạn thiếu trùng. Còn sau 48 giờ thì tỉ lệ chết đạt 100% ở cả hai giai đoạn sinh trưởng. Kết quả này cao hơn so với nghiên cứu của chúng tôi.

Như vậy, kết quả trong nghiên cứu này phù hợp với các kết quả đã được công bố trong và ngoài nước về hoạt tính diệt ve, tính chất phụ thuộc vào nồng độ và thời gian tiếp xúc của dịch chiết từ lá thuốc lá *Nicotiana tabacum*. Nồng độ 75% cho thấy hiệu lực cao với tỉ lệ chết ve *R. sanguineus* ở các giai đoạn sinh trưởng thay đổi từ 72,22% đến 96,67%.

B. Kết quả về thời gian gây chết số ve thí nghiệm

Kết quả kiểm tra thời gian gây chết của các dung dịch nước thuốc lá 25%, 50% và 75% đối với ve *R. sanguineus* được trình bày ở Bảng 2.

Ở các nghiệm thức đối chứng, thời gian gây chết 100% số ve thí nghiệm ở các giai đoạn ấu trùng, thiếu trùng, trưởng thành của ve lần lượt là 6,33 ngày, 22,33 ngày và 28,33 ngày. Thời gian thực hiện thí nghiệm là khoảng thời gian mà ve không hút máu vật chủ, thể hiện khả năng nhện đói. Chúng tôi nhận thấy thời gian sống không

có vật chủ của ve kéo dài theo giai đoạn sinh trưởng. Ve trưởng thành có thời gian sống là lâu nhất (28,33 ngày) so với hai giai đoạn còn lại. Theo Phạm Văn Khuê và cộng sự [15], sau khi nở ra, ấu trùng sẽ bò lên cây cỏ chờ đợi cơ hội tiếp xúc với vật chủ, thời gian nhịn đói của ấu trùng có thể lên đến 8 tháng rưỡi. Trong khi đó, thiếu trùng có thể nhịn đói trên 6 tháng và ve trưởng thành là trên 19 tháng. Từ đó cho thấy, khả năng nhịn đói và thời gian sống ở bên ngoài môi trường dài là hai đặc điểm của ve *R. sanguineus* có ảnh hưởng đến hiệu quả điều trị ve ở trên chó. Điều này cho thấy tầm quan trọng của việc phòng bệnh và tiêu diệt ve ở ngoài môi trường.

Bảng 2: Thời gian gây chết ve thí nghiệm của dung dịch nước thuốc lá ở các nồng độ

Giai đoạn sinh trưởng của ve	Nghiệm thức	Thời gian gây chết 50% số ve thí nghiệm (ngày)	Thời gian gây chết 100% số ve thí nghiệm (ngày)
Ấu trùng	25%	1,00 ^b	3,00 ^b
	50%	1,00 ^b	3,00 ^b
	75%	1,00 ^b	2,67 ^b
	Hantox	1,00 ^b	3,00 ^b
	Đối chứng	3,33 ^a	6,33 ^a
Thiếu trùng	25%	2,33 ^b	5,67 ^b
	50%	1,33 ^{bc}	3,67 ^b
	75%	1,00 ^c	3,33 ^b
	Hantox	1,00 ^c	2,67 ^b
	Đối chứng	7,33 ^a	22,33 ^a
Trưởng thành	25%	3,33 ^b	12,67 ^b
	50%	2,00 ^c	6,33 ^c
	75%	1,33 ^c	5,33 ^c
	Hantox	1,00 ^c	3,33 ^d
	Đối chứng	7,67 ^a	28,33 ^a

Ghi chú: Cùng một chỉ tiêu, các giá trị trung bình mang chữ cái khác nhau, sai khác có ý nghĩa thống kê ($P < 0,001$)

Theo Bảng 2, dung dịch nước thuốc lá *Nicotiana tabacum* ở các nồng độ đều có tác dụng gây chết ở cả 03 giai đoạn sinh trưởng của ve với thời gian gây chết từ 1 đến 12,67 ngày, khác biệt rất có ý nghĩa so với nghiệm thức đối chứng ($P < 0,001$). Cụ thể là:

Ở giai đoạn ấu trùng: Thời gian gây chết 50% số ve thí nghiệm của tất cả dung dịch nước thuốc lá đều là 01 ngày. Thời gian gây chết 100% số ve thí nghiệm của dung dịch thuốc lá ở nồng độ 75% là 2,67 ngày, ngắn hơn so với nồng độ 25% và nồng độ 50% (03 ngày), tuy nhiên sự khác biệt này không có ý nghĩa.

Ở giai đoạn thiếu trùng: Thời gian gây chết

100% số ve thí nghiệm ở các nồng độ 25%, 50%, 75% lần lượt là 5,67 ngày, 3,67 ngày và 3,33 ngày. Nồng độ tăng dần thì thời gian gây chết có rút ngắn, nhưng sự khác biệt này không có ý nghĩa và chưa thấy rõ ảnh hưởng của nồng độ với thời gian gây chết.

Ở giai đoạn trưởng thành: Nồng độ 25% có thời gian gây chết 50% và 100% lần lượt là 3,33 ngày và 12,67 ngày, khác biệt rất có ý nghĩa so với nồng độ 50% (02 ngày và 6,33 ngày) và nồng độ 75% (1,33 ngày và 5,33 ngày). Nồng độ thấp thì thời gian gây chết số ve thí nghiệm bị kéo dài. Kết quả này cho thấy nồng độ có ảnh hưởng đến thời gian tác động đối với ve ở giai đoạn trưởng thành.

Kết quả của Hantox trên ve ở giai đoạn ấu trùng và thiếu trùng chưa thấy rõ khác biệt so với các nồng độ dung dịch nước thuốc lá. Đối với ve trưởng thành, Hantox cho thấy thời gian gây chết 50% là 01 ngày, kết quả này khá tương đồng với nghiên cứu của Nguyễn Thị Hồng Chiên [16], tỉ lệ chết 60% sau 24 giờ. Bên cạnh đó, nghiên cứu cũng ghi nhận được sự khác nhau rất có ý nghĩa về thời gian gây chết 100% số ve thí nghiệm của dung dịch Hantox với các nồng độ của dung dịch nước thuốc lá ở giai đoạn ve trưởng thành ($P < 0,001$).

Trong nghiên cứu của Jeyathilakan et al. [6], thời gian gây chết 100% ve thí nghiệm của *Nicotiana tabacum* ở nồng độ 50% trên ve trưởng thành *R. sanguineus* là 10 ngày. Kết quả này dài hơn so với kết quả của chúng tôi (6,33 ngày).

Trong nghiên cứu của Đỗ Thế Mạnh [17] về tác dụng của lá thuốc Lào tươi *Nicotiana rustica* L, kết quả cho thấy dẫn xuất 10% của lá thuốc Lào tươi với dung môi NaOH 5% cho tác dụng diệt ve trưởng thành tốt nhất so với các dung môi khác, với thời gian gây chết 50% và 100% số ve thí nghiệm lần lượt là 45 phút và 80 phút. Trong khi đó, tác dụng của dịch chiết thuốc Lào ngâm trong nước cất là rất thấp, kết thúc thời gian theo dõi (6 giờ) chỉ có 02 ve chết. Sự khác nhau về dung môi cho thấy khác nhau về tác dụng diệt ve của lá thuốc Lào và nước cất có tác dụng rất thấp. Điều này đã lí giải cho kết quả về thời gian gây chết ve kéo dài hơn. Bản chất nicotin là một alkaloid có tính kiềm, tồn tại dưới dạng muối của các axit hữu cơ trong lá. Dung dịch kiềm như NaOH được dùng để đẩy nicotin từ dạng liên kết

muối sang dạng bazo tự do, hoà tan vào dung môi. Nhờ đó, dịch chiết với dung môi NaOH có hàm lượng nicotin cao hơn so với dịch nước cất, từ đó tác dụng cũng hiệu quả hơn. Mặc dù hiệu quả không cao so với NaOH nhưng nước cất là một dung môi dễ tìm và an toàn để chế tạo dung dịch thuốc lá diệt ve.

Tóm lại, với dung môi là nước cất, dung dịch nước thuốc lá *Nicotiana tabacum* ở nồng độ 75% có kết quả về thời gian gây chết hoàn toàn ve trưởng thành *R. sanguineus* là 5,33 ngày.

V. KẾT LUẬN

Dung dịch nước thuốc lá *Nicotiana tabacum* với các nồng độ khác nhau được ghi nhận là có hiệu lực tiêu diệt ve *R. sanguineus* ở tất cả các giai đoạn sinh trưởng, trong đó nồng độ 75% có tỉ lệ gây chết cao nhất và thời gian gây chết ngắn nhất. Không có sự khác biệt về thời gian gây chết của các nồng độ ở ve giai đoạn ấu trùng và thiếu trùng, trong khi điều này thể hiện rõ ở ve giai đoạn trưởng thành.

Trong điều kiện *in vitro*, dung dịch nước thuốc lá *Nicotiana tabacum* đã cho thấy có hiệu quả kiểm soát ve nâu *R. sanguineus*, do đó các nghiên cứu cần tiếp tục được thực hiện để đánh giá tiềm năng điều trị trên chó, tác động của *Nicotiana tabacum* trên chó thực nghiệm.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Nguyễn Hồ Bảo Trân, Nguyễn Hữu Hưng. Tình hình nhiễm ngoại kí sinh trùng trên chó tại thành phố Cần Thơ. *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*. 2014;Số chuyên đề: Nông nghiệp(2): 69–73. [Nguyễn Ho Bao Tran, Nguyen Huu Hung. The prevalence of ectoparasites in domestic dogs in Can Tho City. *Can Tho University Journal of Science*. 2014;Special Issue: Agriculture(2): 69–73].
- [2] Nguyễn Hữu Hưng, Nguyễn Hồ Bảo Trân, Nguyễn Phi Bằng. Tình hình nhiễm ngoại kí sinh trên chó tỉnh An Giang và xác định chu trình phát triển của bò chét chó *Ctenocephalides*. *Tạp chí Phòng chống Bệnh sốt rét và các bệnh Ký sinh trùng*. 2018;2: 15–21. [Nguyễn Huu Hung, Nguyen Ho Bao Tran, Nguyen Phi Bang. Ectoparasite infestation in dogs and identification of the life cycle of *Ctenocephalides* in An Giang. *Malaria and Parasitic Diseases Control Journal*. 2018;2: 15–21].
- [3] Nguyen Thi Kim Lan, Pham Dieu Thuy, Dao Thi Huong, Dao Van Cuong. The effects of essential oils extracted from medicinal plants: *Allium sativum* L., *Cymbopogon* ssp., *Eupatorium fortune turcz*, *Cinnamomum cassia* BL on parasitic chiggers of chicken. *International Journal of Medical Research and Pharmaceutical Sciences*. 2016;3(7): 8–14. <https://doi.org/10.5281/zenodo.57858>.
- [4] Armugan V, Sundraraj YA, Saleh I. The effect of *Citrus sinensis* peel extract against *Rhipicephalus sanguineus*. *Malaysian Society of Applied Biology*. 2016;45(2): 119–123.
- [5] Avinash B, Santhipriya Ch, Kondaiah PM. Evaluation of acaricidal activity of *Nicotiana tabacum* extracts against *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. *International Journal of Science Environment and Technology*. 2017;6(1): 500–508.
- [6] Jeyathilakan N, Bini Sundar ST, Sangaran A, Latha BR. *In vitro* acaricidal effect of aqueous leaf extract of *Nicotiana tabacum* on brown dog tick, *Rhipicephalus sanguineus*. *Indian Veterinary Journal*. 2019;96(4): 17–18.
- [7] Sharma A, Jumde P, Kolte SW. Efficacy of *Nicotiana tabacum* as a biocontrol agent against cattle ticks. *Journal of Entomology and Zoology Studies*. 2020;8(6): 220–222.
- [8] Đỗ Tất Lợi. *Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam*. Hà Nội: Nhà Xuất bản Y học; 2004. [Do Tat Loi. *Vietnamese medicinal plants and herbs*. Hanoi: Medical Publishing House; 2004].
- [9] Sisson VA, Severson RF. Alkaloid composition of the *Nicotiana* species. *Contributions to Tobacco & Nicotine Research [Beiträge zur Tabakforschung International]*. 1990;14(6): 327–332.
- [10] Đậu Ngọc Hào. *Bệnh do chất độc ở gia súc, gia cầm, chó, mèo và thú cảnh*. Hà Nội: Nhà Xuất bản Nông nghiệp; 2007. [Dau Ngoc Hao. *Diseases caused by toxins in livestock, poultry, dogs, cats and pets*. Hanoi: Agricultural Publishing House; 2007].
- [11] Weber SS, Kaminski KP, Perret JL, Leroy P, Mazurov A, Peitsch MC, et al. Antiparasitic properties of leaf extracts derived from selected *Nicotiana* species and *Nicotiana tabacum* varieties. *Food and Chemical Toxicology*. 2019;132: 110660. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2019.110660>.
- [12] Chikomola S, Phoya RKD. *In vitro* evaluation of effects of tobacco remains and laundry soap combination on brown ticks. *Livestock Research for Rural Development*. 2019;31(6): Article #94. <http://www.lrrd.org/lrrd31/6/chiko31094.html> [Accessed 23rd October 2024].
- [13] Nguyen Thi Kim Lan, Pham Dieu Thuy, Dao Van Cuong, Nguyen Thi Thanh Ha, Do The Manh. A study on the acaricidal effects of extracts from *Nicotiana rustica* L. and *Stemona tuberosa* Lour on dog ticks. *Saudi Journal of Medical and Pharmaceutical Sciences*. 2016;2(12): 369–376.
- [14] Phan Trọng Cung, Đoàn Văn Thụ. *Động vật chí Việt Nam, Bộ ve bét Acarina, tập 11*. Hà Nội: Nhà Xuất

- bản Khoa học và Kỹ thuật; 2001. [Phan Trong Cung, Doan Van Thu. *Fauna of Vietnam, Acarina order, volume 11*. Hanoi: Science and Technics Publishing House; 2001].
- [15] Phạm Văn Khuê, Phan Lục. *Kí sinh trùng thú y*. Hà Nội: Nhà Xuất bản Nông nghiệp; 1996. [Pham Van Khue, Phan Luc. *Veterinary Parasitology*. Hanoi: Agricultural Publishing House; 1996].
- [16] Nguyễn Thị Hồng Chiên, Nguyễn Thị Lan, Nguyễn Văn Thọ. Bước đầu nghiên cứu áp dụng của hợp chất Pyrethroid đối với các giai đoạn phát triển của ve bò (*Boophilus microplus*) và ve chó (*Rhipicephalus sanguineus*). *Tạp chí Khoa học Nông nghiệp Việt Nam*. 2018;1: 18–25. [Nguyen Thi Hong Chien, Nguyen Thi Lan, Nguyen Van Tho. A preliminary study on the extirpation effect of pyrethroid compound on dog tick (*Rhipicephalus sanguineus*) and cattle tick (*Boophilus microplus*) at different developmental stages. *Vietnam Journal of Agricultural Science*. 2018;1: 18–25].
- [17] Đỗ Thế Mạnh. *Nghiên cứu một số đặc điểm dịch tễ bệnh ve chó ở huyện Đầm Hà và Hải Hà, tỉnh Quảng Ninh, thử nghiệm chiết xuất thuốc lao và bách bộ trị ve chó*. Luận văn thạc sĩ thú y. Thái Nguyên: Trường Đại học Nông Lâm, Đại học Thái Nguyên; 2015. [Do The Manh. *Study on some epidemiological characteristics of dog tick disease in Dam Ha and Hai Ha Districts, Quang Ninh Province, testing tobacco and fritillaria extracts to treat dog ticks*. Master's thesis in veterinary medicine. Thai Nguyen: Thai Nguyen University of Agriculture and Forestry; 2015].

