

TẠP CHÍ

**NÔNG NGHIỆP
& PHÁT TRIỂN NÔNG THÔN**

ISSN 1859 - 4581

NĂM THỨ HAI MƯƠI BA

**SỐ 462 NĂM 2023
XUẤT BẢN 1 THÁNG 2 KỲ**

**TỔNG BIÊN TẬP
TS. NGUYỄN THỊ THANH THỦY
ĐT: 024.37711070**

**PHÓ TỔNG BIÊN TẬP
TS. DƯƠNG THANH HẢI
ĐT: 024.38345457**

TOÀ SOẠN - TRỊ SỰ
Số 10 Nguyễn Công Hoan
Quận Ba Đình - Hà Nội
ĐT: 024.37711072
Fax: 024.37711073
E-mail: tapchinongnghiep@mard.gov.vn
Website: www.tapchinongnghiep.vn

Giấy phép số:
114/GP - BTTTT
Bộ Thông tin và Truyền thông
cấp ngày 6 tháng 4 năm 2023

**Chế bản tại Tạp chí Nông nghiệp và
PTNT. In tại Công ty CP Khoa học
và Công nghệ Hoàng Quốc Việt**

Giá: 50.000đ

**Phát hành qua mạng lưới
Bưu điện Việt Nam; mã ấn phẩm
C138; Hotline 1800.585855**

MỤC LỤC

❑ NGUYỄN THÚY KIỂU TIÊN, CHÂU THANH NHÃ, NGUYỄN KHẮC THẮNG, VÕ THANH TOÀN, TẠ HỒNG LĨNH, TRẦN NGỌC THẠCH, SHOBA VENKATANAGAPPA, VÕ THỊ TRÀ MY. Ứng dụng chỉ số chọn lọc kiểu hình trong chọn giống lúa năng suất cao	3-12
❑ TRẦN LAN ĐÀI, PHẠM THU HẰNG, NGUYỄN THỊ THU HÀ, NGUYỄN THANH HÀ, PHẠM XUÂN HỘI, NGUYỄN DUY PHƯƠNG. Nghiên cứu tính kháng bệnh bạc lá của các dòng lúa TBR225 đột biến promoter OsSWEET14	13-20
❑ NGÔ THỊ HẠNH, NGUYỄN THỊ HỒNG HẠNH, VŨ NGỌC HUY. Kết quả nghiên cứu chọn tạo và khảo nghiệm giống dưa lê vàng lai Happy 8	21-31
❑ LÊ THỊ THANH THỦY, LÊ NHƯ KIỂU, LƯƠNG ĐỨC TOÀN, NGUYỄN THỊ THU HẰNG, ĐỖ VĂN THUẬN, PHONEPASEUT SYHA. Phân lập, tuyển chọn các chủng vi sinh vật đối kháng và phân giải tinh bột từ các mẫu đất thu thập tại Lào	32-41
❑ CAO VĂN CHÍ, HÀ VIẾT CƯỜNG, NGUYỄN ĐỨC HUY, BÙI QUANG ĐĂNG, PHẠM HỒNG HIỂN, LƯƠNG THỊ HUYỀN, NGUYỄN VĂN TRỌNG, NGUYỄN THỊ BÍCH LAN, GIANG ĐỨC HIỆP. Nghiên cứu đặc điểm của virus, vi khuẩn gây suy thoái vùng cam tại Hà Giang	42-50
❑ MAI VĂN HẢO, NGUYỄN VĂN CHÍNH, PHẠM TRUNG HIẾU, PHAN CÔNG KIÊN, VÕ THỊ KIM TRÂM. Nghiên cứu xác định hiệu lực phòng trừ ruồi đục quả của một số loại thuốc tại tỉnh Ninh Thuận	51-55
❑ NGUYỄN THỊ HỒNG THẨM, PHAN THU BA, NGUYỄN THỊ LỆ NGỌC, NGUYỄN CÔNG HÀ, DƯƠNG NGỌC BÍCH. Ảnh hưởng của 3 axit amin histidine, cysteine, methionine lên hàm lượng ergothioneine sinh tổng hợp bởi nấm mốc <i>Aspergillus oryzae</i> trên môi trường phụ phẩm tinh bột gạo	56-63
❑ TRẦN QUANG NGỌC, ĐÀNG MAI THU THỦY, NGUYỄN THỊ QUANG, NGUYỄN THÀNH TRUNG, HỨA NGỌC PHÚC. Nghiên cứu xác định nguồn cacbon phù hợp làm nguyên liệu để nâng cao tỷ lệ chuyển hóa biofloc trong ao nuôi tôm thẻ siêu thâm canh	64-69
❑ LÊ THỊ GIANG, LƯU THỊ NGỌC DIỆU. Ứng dụng viễn thám và GIS nghiên cứu biến động đường bờ biển thành phố Nha Trang, tỉnh Khánh Hòa	70-78
❑ ĐÀO THU THỦY, NGUYỄN THỊ VÂN ANH. Nghiên cứu một số giải pháp quản lý nhằm hoàn thiện mô hình tổ chức quản lý, khai thác công trình cấp nước sạch nông thôn theo địa bàn	79-89
❑ HOÀNG DŨNG HÀ, TRẦN THỊ PHƯỢNG, NGUYỄN TIẾN DŨNG, TRẦN NAM THẮNG, NGUYỄN VĂN CHUNG, NGUYỄN THỊ HƯƠNG GIANG. Đánh giá tính dễ bị tổn thương và mức độ rủi ro do biến đổi khí hậu tại một số địa phương miền núi tỉnh Thừa Thiên Huế	90-100

**VIETNAM JOURNAL OF
AGRICULTURE AND RURAL
DEVELOPMENT**
ISSN 1859 - 4581

THE TWENTY THIRD YEAR
No. 462 - 2023

Editor-in-Chief
Dr. NGUYEN THI THANH THUY
Tel: 024.37711070

Deputy Editor-in-Chief
Dr. DUONG THANH HAI
Tel: 024.38345457

Head-office
No 10 Nguyenconghoan
Badinh - Hanoi - Vietnam
Tel: 024.37711072
Fax: 024.37711073
E-mail: tapchinongnghiep@mard.gov.vn
Website: www.tapchinongnghiep.vn

License No.114/GP - BTTTT issued by
the Ministry of Information and
Communication on April 6, 2023

Printing in Hoang Quoc Viet
technology and science
joint stock company

CONTENTS

❑ NGUYEN THUY KIEU TIEN, CHAU THANH NHA, NGUYEN KHAC THANG, VO THANH TOAN, TA HONG LINH, TRAN NGOC THACH, SHOBA VENKATANAGAPPA, VO THI TRA MY. Utilizing phenotypic selection indices for selecting high-yielding rice varieties	3-12
❑ TRAN LAN DAI, PHAM THU HANG, NGUYEN THI THU HA, NGUYEN THANH HA, PHAM XUAN HOI, NGUYEN DUY PHUONG. Evaluation of bacterial leaf blight disease resistance of OsSWEET14 promoter-edited TBR225 rice lines	13-20
❑ NGO THI HANH, NGUYEN THI HONG HANH, VU NGOC HUY. Results of breeding and testing of the yellow Oriental melon hybrid Happy 8	21-31
❑ LE THI THANH THUY, LE NHU KIEU, LUONG DUC TOAN, NGUYEN THI THU HANG, DO VAN THUAN, PHONEPASEUT SYHA. Isolation, selection antagonistic and starch decomposition microbial strains from land samples collected in Laos	32-41
❑ CAO VAN CHI, HA VIET CUONG, NGUYEN DUC HUY, BUI QUANG DANG, PHAM HONG HIEN, LUONG THI HUYEN, NGUYEN VAN TRONG, NGUYEN THI BICH LAN, GIANG DUC HIEP. Research on the characteristics of virus and bacteria causing the orange area degradation in Ha Giang	42-50
❑ MAI VAN HAO, NGUYEN VAN CHINH, PHAM TRUNG HIEU, PHAN CONG KIEN, VO THI KIM TRAM. The efficacy of some insecticides control fruit fly on jujube in Ninh Thuan province	51-55
❑ NGUYEN THI HONG THAM, PHAN THU BA, NGUYEN THI LE NGOC, NGUYEN CONG HA, DUONG NGOC BICH. Determination affecting of 3 acid amin histidine, cysteine, methionine on the biosynthesis of ergothioneine by the <i>Aspergillus oryzae</i> on rice flour by-products	56-63
❑ TRAN QUANG NGOC, DANG MAI THU THUY, NGUYEN THI QUANG, NGUYEN THANH TRUNG, HUA NGOC PHUC. Research to identify suitable carbon sources as raw materials to improve biofloc conversion rate in super-intensive vannamei ponds	64-69
❑ LE THI GIANG, LUU THI NGOC DIEU. Application of remote sensing and GIS to research coastline changes in Nha Trang city, Khanh Hoa province	70-78
❑ DAO THU THUY, NGUYEN THI VAN ANH. Solutions for implementing some management contents in finding the model of organization, management and management works by rural water supply projects by location	79-89
❑ HOANG DUNG HA, TRAN THI PHUONG, NGUYEN TIEN DUNG, TRAN NAM THANG, NGUYEN VAN CHUNG, NGUYEN THI HUONG GIANG. Assessment of vulnerability and risk associate with climate change in selected mountainous locations of Thua Thien Hue province	90-100

ỨNG DỤNG CHỈ SỐ CHỌN LỌC KIỂU HÌNH TRONG CHỌN GIỐNG LÚA NĂNG SUẤT CAO

Nguyễn Thúy Kiều Tiên¹, Châu Thanh Nhã^{2*}, Nguyễn Khắc Thắng¹,

Võ Thanh Toàn¹, Tạ Hồng Lĩnh³, Trần Ngọc Thạch¹,

Shoba Venkatanagappa⁴, Võ Thị Trà My⁵

TÓM TẮT

Chọn tạo giống lúa cao sản là góp phần vào mục tiêu an ninh lương thực trên toàn thế giới. Năng suất (NS) và các tính trạng liên quan đến NS rất khó dự đoán và cần phải qua những bước phân tích và khảo nghiệm thực tế để đánh giá chính xác hơn. Nghiên cứu sử dụng SI trên 27 dòng lúa ưu tú được chia sẻ từ IRRI - ASEAN RiceNet. Kết quả cho thấy, tất cả dòng lúa có sự khác biệt lớn về mặt di truyền. H_{ps}^2 được ghi nhận cho các tính trạng từ 23 - 93%. NS có mối tương quan thuận và ý nghĩa với tỷ lệ thụ phấn (TLTP). Phân nhóm hệ số di truyền chia thành 6 nhóm chính cho 8 tính trạng. Hệ số Path cho thấy, các tính trạng ảnh hưởng theo chiều hướng thuận và trực tiếp đến NS dao động từ 0,10 - 0,31. Phân tích SI tuyển chọn được 2 dòng lúa ưu tú có SI cao nhất 4,03 (SV1058) và 7,62 (SV1951), với NS trung bình 5,88 và 5,62 tấn/ha. Hai dòng này có thời gian sinh trưởng (TGST) thuộc nhóm A1 và chống chịu tương đối với sâu, bệnh hại chính trong điều kiện đánh giá thực tế trên đồng ruộng và có PACP chấp nhận được. Đây được xem nguồn vật liệu mới có thể dùng để làm vật liệu lai hoặc tiếp tục đánh giá thêm vụ kế tiếp và vùng sinh thái trước khi phóng thích.

Từ khóa: ASEAN RiceNet, chỉ số chọn lọc kiểu hình (SI), hệ số Path, IRRI.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Trong bối cảnh thị trường xuất khẩu gạo ngày càng cạnh tranh khốc liệt, đòi hỏi các nhà khoa học phải tiếp tục chọn ra những giống lúa mới có đặc tính vượt trội để bổ sung vào cơ cấu sản xuất. Trong đó, yêu cầu đối với cây lúa là phải gia tăng năng suất nhanh hơn để đáp ứng xu hướng dân số thế giới tăng vào năm 2050 [1]. Việc cải thiện năng suất lúa hiện nay là một trong những thách thức cho nhà chọn giống, vì liên quan đến các rào cản về mặt di truyền của tính trạng liên quan năng suất và đặc biệt thách thức biến đổi khí hậu. Tỷ lệ gia tăng năng suất lúa trên thế giới nói chung ~1%/năm, được xem là không đủ để thích ứng với

các thách thức trên [2]. Mục tiêu chung của các nhà chọn giống lúa phải cho ra đời được các giống lúa mới ưu tú hơn nữa với năng suất là mục tiêu trọng tâm [3].

Năng suất được điều hoà bởi nhiều tính trạng liên quan, phần lớn là các tính trạng số lượng được kiểm soát bởi nhiều gen khác nhau và chịu ảnh hưởng mạnh bởi các yếu tố môi trường [4]. Thông tin hữu ích về khác biệt và đóng góp kiểu hình của các tính trạng thường không đủ để nhà chọn giống đưa ra quyết định chính xác. Hơn nữa, các tính trạng có hệ số di truyền thấp làm chậm gia tăng năng suất [5]. Nhà chọn giống phải hướng đến việc quan sát và chọn lọc nhiều tính trạng trong cùng một thời điểm, để tìm ra các giống lúa mới ưu tú, ổn định và đặc biệt phải rút ngắn chu kỳ chọn giống. Vì vậy, chỉ số chọn lọc kiểu hình (SI) được xem là phù hợp nhất. SI được giới thiệu trên cây trồng [6] và động vật [7] để thực hiện dự đoán di truyền có lợi của tính trạng mục tiêu dựa trên một nhóm các tính trạng khác nhau. Trong phân

¹ Viện Lúa đồng bằng sông Cửu Long

² Trường Nông nghiệp, Trường Đại học Cần Thơ

³ Viện Khoa học Nông nghiệp Việt Nam

⁴ Viện Nghiên cứu Lúa Quốc tế

⁵ Viện Nghiên cứu Nông nghiệp Lộc Trời

*Email: chauthanhnhha26@gmail.com

tích SI, sau khi thực hiện phép tính giữa vector SI với ma trận kiểu gen và kiểu hình để có tiêu chí lựa chọn điểm theo chỉ số lựa chọn được xếp hạng. Do đó, dựa trên SI có thể giúp nhà chọn giống quyết định trong việc tuyển chọn giống lúa mang tiềm năng nhất.

Mục tiêu của nghiên cứu xác định mối liên hệ qua lại giữa năng suất và các tính trạng liên quan; tuyển chọn các dòng lúa dựa trên SI và hiệu quả tương đối trong việc cải thiện năng suất.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1. Vật liệu và thiết kế thí nghiệm

Vật liệu cho nghiên cứu nằm trong chương trình chọn giống lúa năng suất của Viện Nghiên cứu Lúa Quốc tế (IRRI - ASEAN RiceNet). Bộ gồm 27 dòng lúa ưu tú nhập nội từ IRRI và 5 giống lúa đối chứng của Viện Lúa đồng bằng sông Cửu Long (ĐBSCL) (OM) được đánh giá trong vụ đông xuân (ĐX) 2021 - 2022 tại Viện Lúa ĐBSCL (Bảng 1). Thí nghiệm được bố trí theo kiểu khối hoàn toàn ngẫu nhiên với 2 lần lặp lại. Diện tích mỗi khối là 10 m², khoảng cách cây 15 x 20 cm. Cây mạ sau 2 tuần tuổi được cấy sang ruộng và công thức phân bón được sử dụng cho vụ ĐX là 100 kg/ha N - 40 kg/ha K₂O - 30 kg/ha K₂O. Quản lý sâu, bệnh hại chính theo quy trình canh tác của Viện Lúa ĐBSCL.

Bảng 1. Danh sách 27 dòng lúa ưu tú nhập nội từ IRRI- ASEAN RiceNet và 5 giống lúa OM (CLRR) được đánh giá trong vụ ĐX 2021 - 2022

STT	Tên giống/dòng	Nguồn	STT	Tên giống/dòng	Nguồn
1	SV0360B	IRRI	17	SV1084	IRRI
2	SV0847	IRRI	18	SV1086	IRRI
3	SV0874	IRRI	19	SV1087	IRRI
4	SV0885	IRRI	20	SV1088	IRRI
5	SV0891	IRRI	21	SV1092	IRRI
6	SV0915	IRRI	22	SV1943	IRRI
7	SV0917	IRRI	23	SV1951	IRRI
8	SV0921	IRRI	24	SV0349	IRRI
9	SV1057	IRRI	25	IRRI 154	IRRI
10	SV1058	IRRI	26	IRRI 156	IRRI
11	SV1066	IRRI	27	IRRI 186	IRRI
12	SV1069	IRRI	28	OM11 (KRN)	Viện Lúa ĐBSCL
13	SV1074	IRRI	29	OM429 (KDO)	Viện Lúa ĐBSCL
14	SV1075	IRRI	30	OM468 (KBL)	Viện Lúa ĐBSCL
15	SV1076	IRRI	31	OM4900 (A2)	Viện Lúa ĐBSCL
16	SV1077	IRRI	32	OM5451 (A1)	Viện Lúa ĐBSCL

Ghi chú: KRN: kháng rầy nâu; KDO: kháng đạo ôn; KBL: kháng bạc lá; A1: nhóm lúa ngắn ngày (90-105 ngày); A2: nhóm lúa TGST trung bình (106-120 ngày).

2.2. Đánh giá kiểu hình

Dữ liệu các tính trạng gồm 8 tính trạng nông học như: Thời gian sinh trưởng lúc trổ 85% (TGST85) sau khi gieo, chiều cao cây (CC), số chồi/bụi (SC), chiều dài bông (DB), số hạt chắc/bông (HCB), số hạt lép/bông (HLB), tỉ lệ thụ phấn (TLTP), năng suất (NS), 2 tính trạng hình thái (đánh giá dạng hình (PACP), đổ ngã (ĐN) và 3 tính trạng sâu, bệnh hại chính (đạo ôn, bạc lá, rầy nâu). Quy trình và tiêu chuẩn đánh giá các tính trạng nông học, hình thái và sâu, bệnh thực hiện theo tiêu chuẩn của IRRI [8] như sau: TGST85: Số ngày được tính từ khi gieo mạ đến ngày trổ bông được 85% (ít nhất 85% số bụi/khối đã trổ); CC: Năm bụi/khối được xác định ngẫu nhiên để xác định chiều cao từ mặt đất đến đỉnh bông cao nhất (không bao gồm đuôi hạt lúa) và ở giai đoạn lúa trưởng thành $\geq 80\%$; SC: Năm bụi/khối được chọn ngẫu nhiên để xác định số bông/bụi trên khối; DB: Năm bông/khối được chọn ngẫu nhiên để xác định DB tính từ gốc đến đỉnh bông; HCB: Năm bông/khối được chọn ngẫu nhiên và hạt chắc được xác định bằng cách dùng ngón tay ấn lên hạt và ghi nhận hạt lúa có hạt bên trong. HCB và HLB được thực hiện theo đúng phương pháp lấy chỉ tiêu SES 2013 của IRRI; HLB: Năm bông/khối được chọn ngẫu nhiên và hạt lép/bông được xác định bằng cách dùng ngón tay ấn lên hạt và ghi nhận hạt lúa không có hạt; TL1000 hạt: Sau khi hạt được thu hoạch và phơi khô với độ ẩm (MC) hạt lúa đạt $\sim 14\%$, sau đó đếm 1.000 hạt và xác định khối lượng bằng cân điện tử; TLTP: Hạt chắc và lép/bông cũng được xác định và quy đổi thành tỉ lệ phần trăm; NS: Diện tích được thu hoạch $\sim 5,52 \text{ m}^2$ (khoảng 184 bụi/khối được), phơi khô, làm sạch và độ ẩm đạt $\sim 14\%$. NS trên mỗi khối được quy đổi thành tấn/ha theo công thức sau:

$$NS (\text{tấn/ha}) = \frac{NS/\text{khối} \times 10.000 \text{ m}^2 \times (100 - \frac{MC}{86})}{5,52 \text{ m}^2 \times 1.000 \text{ m}^2}$$

Đối với 2 tính trạng hình thái được đánh giá như sau: DH: Đánh giá tổng quan dòng/khối về dạng hình được chấp nhận chủ yếu theo các mục tiêu của nhà chọn giống, của nông dân địa phương và theo thị hiếu thị trường tiêu dùng. DH được

chấp nhận được phản ánh thông qua việc phân cấp 1, 3, 5, 7 và 9. ĐN: Xác định dựa trên phần trăm số bụi/khối bị nghiêng 45° hay với góc $>45^\circ$ từ mặt đất. Cấp ĐN được chia thành cấp từ 1 - 10.

Đối với 3 tính trạng sâu, bệnh được đánh giá như sau: Rầy nâu được đánh giá 15 ngày sau khi cấy. Đánh giá bệnh dựa trên dấu hiệu lá lúa bị vàng (một phần rõ rệt, tình trạng cây lúa còi cọc và nghiêm trọng là cây lúa héo khô đến chết). Cấp nhiễm rầy nâu được phân chia thành 1, 3, 5, 7 và 9. Bệnh đạo ôn được đánh giá ở giai đoạn lúa đẻ nhánh: Dựa trên vết bệnh thường bắt đầu ở gần đầu lá hoặc mép lá hoặc cả hai và kéo dài xuống mép ngoài. Vết bệnh mới xuất hiện có màu xanh nhạt đến xanh xám, về sau chuyển sang màu vàng xám hoặc chết. Cấp nhiễm bệnh đạo ôn được phân chia thành 1, 3, 5, 7 và 9. Bệnh bạc lá được đánh giá ở giai đoạn lúa đẻ nhánh: Vết bệnh thường bắt đầu ở gần đầu lá hoặc mép lá hoặc cả hai và kéo dài xuống mép ngoài. Vết bệnh mới xuất hiện có màu xanh nhạt đến xanh xám, sau chuyển màu vàng. Cấp nhiễm bệnh bạc lá được phân chia thành 1, 3, 5, 7 và 9.

2.3. Phân tích dữ liệu

Sử dụng phương pháp BLUP (best linear unbiased prediction) để tạo mô hình tuyến tính dựa trên các yếu tố ngẫu nhiên nhằm ước lượng giá trị trung bình và các thành phần phương sai thông qua gói phân tích lme4/R [9]. Phân tích hệ số tương quan và phân nhóm di truyền được phân tích dựa trên các gói phân tích Corplot/R [10] và Dendextend/R [11]. Phân tích hệ số di truyền theo nghĩa rộng (H^2_{bs}) được tính theo công thức: $H^2_{bs} = \sigma^2_G / (\sigma^2_G + \sigma^2_P/r)$. Trong đó: σ^2_G là phương sai kiểu gen; σ^2_P là phương sai kiểu hình; r là số lần lặp lại. Các bước tính toán H^2_{bs} được thực hiện trong gói phân tích lme4/R. Phân tích ANOVA một chiều và mô tả các số liệu thống kê cho các tính trạng được thực hiện dưới sự hỗ trợ gói phân tích Agricolae/R [12].

Phân tích hệ số Path dựa trên hệ số tương quan kiểu hình, ảnh hưởng trực tiếp và gián tiếp của các tính trạng được chọn để hướng đến tính trạng mục tiêu là năng suất được tính dựa trên gói phân tích Lavaan/R [13]. Phân tích này xác định

tính trạng NS như là một biến độc lập và 7/8 tính trạng nông học còn lại là các biến phụ thuộc trong các phép tính. Công thức hồi quy cho phép tính này có dạng sau: $NS \sim TGST85 + CC + SCB + HCB + HLB + TLTP + TL1000$. Trong đó: Dấu “~” là toán tử hồi quy. Các phép tính thống kê như giá trị p ($p \leq 0,05$) và số dư bình phương trung bình gốc được chuẩn hoá (SRMSR) được chú ý ở mức chấp nhận được nhỏ hơn 10%. Hai chỉ số này có thể được xem là chỉ số phù hợp tốt nhất. Thêm vào đó, một mô hình cấu trúc tuyến tính (SEM) được xây dựng để minh họa các mối quan hệ qua lại giữa các biến số tồn tại. Biểu đồ cho thấy, mối liên hệ giữa NS và các tính trạng liên quan (vì NS là tính trạng kinh tế quan trọng mà nghiên cứu hướng đến) và giữa các tính trạng còn lại với nhau để tìm các mối quan hệ đồng hay nghịch biến để có cái nhìn toàn diện hơn.

Để thu được chỉ số chọn lọc kiểu hình (SI), ma trận phương sai – đồng phương sai cho kiểu gen và kiểu hình của 8 tính trạng nông học được thực hiện trong các phép tính. Xử lý kinh tế của tính trạng được ký hiệu bằng 1 hay -1 được sử dụng để xác định hoạt động việc cải thiện di truyền theo mong muốn. Trong đó, 1 và -1 thể hiện cho khuynh hướng gia tăng/giảm của các tính trạng. Ngoài ra, việc ký hiệu có thể được thay thế bởi hệ số di truyền của từng tính trạng. Cường độ chọn lọc các dòng được chọn ở mức 5% và việc xếp hạng các dòng được chọn thực hiện như một chức năng của các giá trị chỉ số chọn lọc được dự đoán. Các ước lượng về cải thiện di truyền được thể hiện bằng phần trăm cải thiện di truyền thu được từ tính trạng năng suất, được giả định năng suất lớn nhất là 100% và được sử dụng để so sánh hiệu quả tương đối của các chỉ số lựa chọn khác. Các phép tính được đề cập trên được thực hiện thông qua gói phân tích Selection.index/R [14].

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Sự khác nhau giữa tính trạng và hệ số di truyền theo nghĩa rộng của các tính trạng

Từ kết quả phân tích ANOVA cho thấy, 6/8 tính trạng nông học có sự khác biệt có ý nghĩa về mặt di truyền giữa các dòng ở mức xác suất $p < 0,1 - 5\%$, ngoại trừ tính trạng SC và DB (Bảng 2).

TGST85 được ghi nhận từ 79 - 114 ngày, trung bình là 102,35 ngày. CC dao động từ 80,7 - 117 cm và trung bình là 103,2 cm. SC từ 8 - 13,33, trung bình là 11,32 chồi/bụi. Tất cả các giống được đánh giá có DB lớn hơn 20 cm (21,17 - 28,17 cm) và trung bình 24,33 cm. HCB và HLB được ghi nhận theo thứ tự là 110,16 - 178,66 hạt/bông (trung bình là 141,62 hạt/bông) và 6,66 - 53,16 hạt/bông (trung bình là 29,38 hạt/bông). TLTP dao động từ 70,75 - 96,65 và trung bình là 83% lớn hơn mức chấp nhận 80%. NS của các dòng được ghi nhận thấp nhất là 3,29 tấn/ha và cao nhất là 6,51 tấn/ha. Các kết quả này cho thấy, các dòng ưu tú IRRI có sự khác biệt về NS và các thành phần liên quan đến NS. Thêm vào đó, độ lệch chuẩn (SD) và sai số chuẩn (SE) ghi nhận theo thứ tự từ 0,68 - 18,12% và 0,16 - 2,31%. Kết quả này cho thấy, rằng sự thay đổi của các tính trạng trong thu thập ít bị phân tán.

Kết quả phân tích độ lệch và độ nhọn của các tính trạng cho thấy, tần suất đóng góp TGST85, CC, SC và NS bị lệch sang trái (-) và tập trung nhiều hơn về giá trị trung bình với độ nhọn dương, ngoài trừ SC với độ nhọn âm nên đạt đỉnh thấp hơn đóng góp bình thường. Trong khi đó, tần suất đóng góp của DB, HCB, HLB và TLTP bị lệch sang phải (+), ít tập trung nhiều hơn về giá trị trung bình với độ nhọn âm và đạt đỉnh thấp hơn đóng góp bình thường, ngoài trừ HCB. Điều này có thể giải thích các tính trạng năng suất và thành phần liên quan đến năng suất là do nhiều gen kiểm soát ngoài gen chính.

Hệ số biến thiên (CV) thấp hơn 25% được quan sát cho các tính trạng TGST85, CC, SC, HCB, TLTP và NS. Ngược lại, CV của DB và HLB được quan sát cao nhất trên 30%, điều này cho thấy, hai tính trạng dễ bị phân tán và lệch so với giá trị trung bình. Hệ số di truyền theo nghĩa rộng (H^2_{bs}) của 8 tính trạng được ước lượng trong vụ ĐX (Bảng 2). TGST85 và CC có hệ số di truyền cao lớn hơn 70%, DB, HCB, HLB, TLTP và NS có hệ số di truyền từ thấp đến trung bình (50 - 65%), ngược lại SC có hệ số di truyền thấp nhất 23%. Tính trạng TGST85, CC và CC có hệ số di truyền từ trung bình đến cao (65%, 72% và 92%). Điều này cho thấy, việc tuyển chọn ba tính trạng này sẽ phù hợp trong

vụ ĐX [3] [15]. Riêng các tính trạng còn lại nên mẫu và tăng số lần lặp lại có thể sẽ cải thiện hệ số được xem xét trong vụ kế tiếp, tăng diện tích lấy di truyền.

Bảng 2. Mô tả thống kê, phân tích ANOVA, hệ số di truyền theo nghĩa rộng cho 8 tính trạng nông học

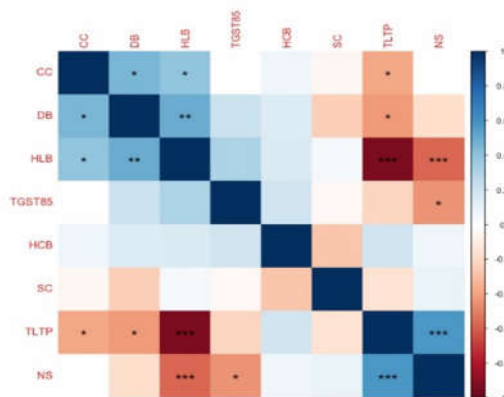
Tính trạng	Trung bình	Giá trị nhỏ nhất	Giá trị lớn nhất	Độ lệch chuẩn (SD)	Sai số chuẩn (SE)	Độ lệch	Độ nhọn	Hệ số di truyền (H^2_{bs})	CV (%)	Khác biệt kiểu gen
TGST85	102,35	79	114	6,93	0,88	-1,69	4,07	93	6,66	***
CC	103,2	80,7	117	6,68	0,85	-0,88	1,62	72	6,36	***
SC	11,32	8	13,33	1,28	0,16	-0,6	-0,24	23	11,08	ns
DB	24,33	21,17	28,17	1,5	0,19	0,2	-0,29	57	33,3	ns
HCB	141,62	110,16	178,66	18,12	2,31	0,14	0,59	59	12,81	*
HLB	29,38	6,66	53,16	11,14	1,41	0,16	-0,55	50	30,1	**
TLTP	83	70,75	96,65	5,57	0,71	0,16	-0,46	53	6,61	*
NS	5,03	3,29	6,51	0,67	0,09	-0,26	0,2	65	13,12	***

Ghi chú: *: có ý nghĩa thống kê ở mức 5%; **: có ý nghĩa ở mức 1%; ***: có ý nghĩa thống kê ở mức 0,1%; ns: không ý nghĩa

3.2. Phân tích hệ số tương quan Pearson và phân nhóm di truyền

Phân tích hệ số tương quan Pearson giữa 8 tính trạng cho 32 giống/dòng lúa được thể hiện trong trên bản đồ nhiệt (Hình 1). Hệ số tương quan thuận ($r > 0,6$) và có ý nghĩa từ $P < 0,1 - 5\%$ trên CC - DB, CC - HLB và NS - TLTP. Kết quả này đề nghị có thể xem là mục tiêu đồng thời trong tuyển chọn ở các thế hệ sớm. Ngược lại, TLTP - CC, TLTP - DB, TLTP - HLB, NS - HLB và NS -

TGST85 cho thấy, mối tương quan nghịch ($r < -0,6$) và có ý nghĩa từ $p < 0,1 - 5\%$. Đánh giá này cho thấy, nhà chọn giống phải đặc biệt chú ý khi muốn tăng năng suất mà vẫn giữ được các đặc tính mong muốn. Ngoài ra, cũng cần chú ý và quan sát thêm một vài mối tương quan thuận và nghịch nhưng chưa thể hiện được sự ý nghĩa ở ít nhất ở $p < 5\%$ của các tính trạng quan trọng như: TLTP - SC, TLTP - TGST85, NS - HCB và NS - SC.

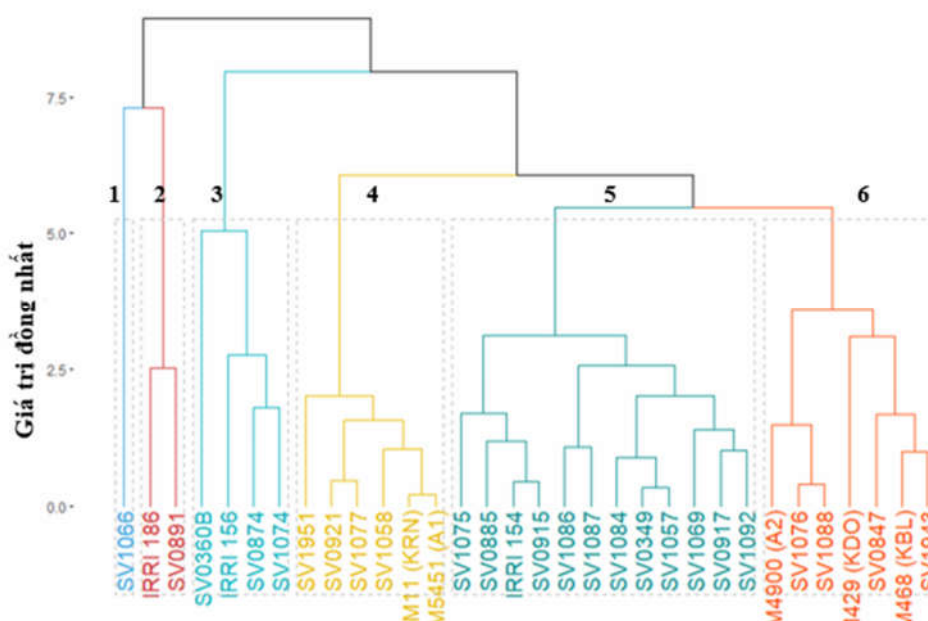


Hình 1. Hệ số tương quan Pearson của các 8 tính trạng nông học được đánh giá

Ghi chú: *: có ý nghĩa thống kê ở mức 5%; **: có ý nghĩa ở mức 1%; ***: có ý nghĩa thống kê ở mức 0,1%; ns: không ý nghĩa. Màu xanh dương tượng trưng cho tương quan dương và màu đỏ tượng trưng cho tương quan nghịch.

Kết quả phân nhóm di truyền phân chia 32 giống/dòng lúa ưu tú và 8 tính trạng thành 6 phân nhóm chính trong vụ ĐX (Hình 2). Dựa trên 3 giống lúa đối chứng IRRI và 5 giống lúa OM cho thấy có sự hiện diện của 8 giống đối chứng trên 5/6 nhóm chính. Dòng SV1066 (nhóm 1) đi theo tách biệt với nhóm còn lại nhưng có liên hệ di truyền gần với giống đối chứng IRRI 186 (nhóm

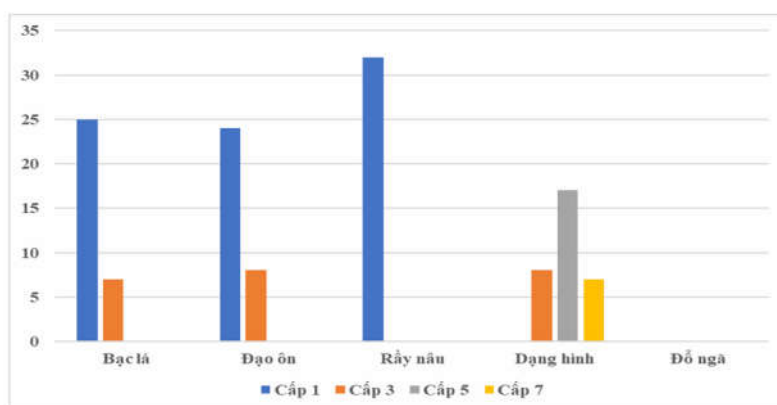
2), có thể dòng lúa này mang các tính trạng ưu tú khác hơn so với đối chứng. Phân tích này sẽ trợ giúp cho nhà chọn giống tuyển chọn được các dòng lúa ưu tú có đặc tính tương tự giống đối chứng và thích nghi với điều kiện sinh thái vùng, có thể dùng để quan sát tiếp hay dùng làm vật liệu lai trong các chương trình chọn giống lúa khác.



Hình 2. Phân nhóm di truyền 8 tính trạng nông học trên bộ 27 dòng lúa được đánh giá và 5 giống đối chứng

Theo quy trình canh tác thí nghiệm không sử dụng thuốc bảo vệ thực vật, kết quả cho thấy rằng tất cả các giống/dòng lúa đánh giá được ghi nhận chống chịu tương đối bệnh đạo ôn, bệnh bạc lá và rầy nâu (Hình 3). Chống chịu với bệnh đạo ôn cấp

1 chiếm 75% (24/32) và cấp 3 chiếm 25% (8/32); chống chịu bệnh bạc lá cấp 1 chiếm 78,1% (25/32) và cấp 3 chiếm 21,9% (7/32); chống chịu với rầy nâu cấp 1 chiếm 100% (32/32).



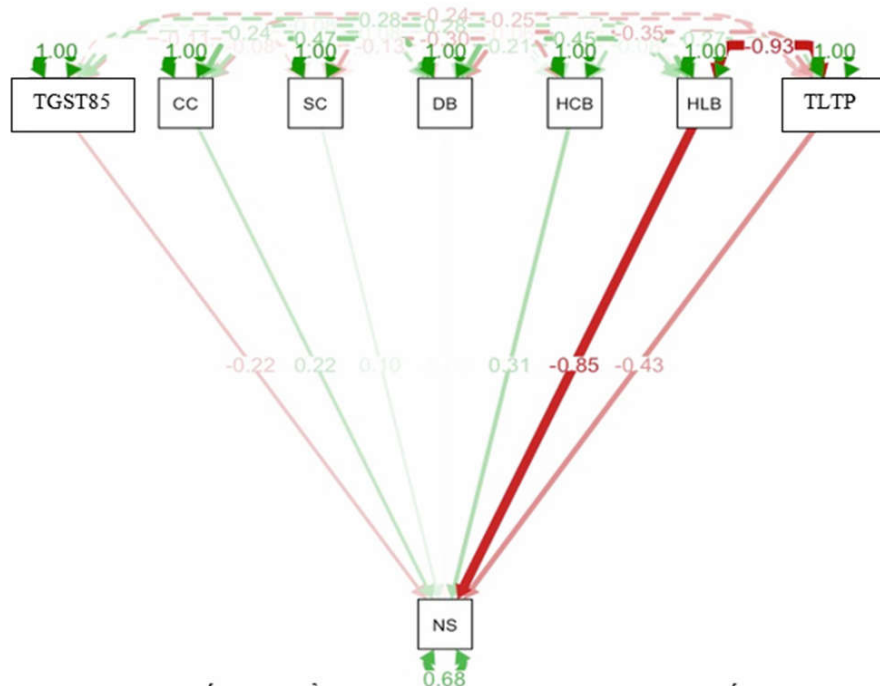
Hình 3. Ghi nhận tình hình rầy nâu, bệnh đạo ôn, bệnh bạc lá, đánh giá dạng hình và đổ ngã của 32 giống/dòng lúa ưu tú

Đánh giá tổng quan PACP của 32 giống/dòng lúa ở giai đoạn chín ~80% cho thấy phần lớn các dòng lúa có dạng hình được chấp nhận: Cấp 3 (8/32) và cấp 5 (17/32) (Hình 3). Bên cạnh đó, dạng hình cấp 7 (7/32) cho thấy các dòng này vẫn còn phân ly. Thí nghiệm còn đánh giá khả năng ĐN ở giai đoạn chín ~80% cho thấy tất cả các dòng không ĐN (Hình 3). Các kết quả đánh giá cho thấy, các dòng thể hiện tính thích nghi tốt trong vụ ĐX, vì đây là vụ có điều kiện thời tiết thuận lợi và là vụ mùa chính cho cây lúa ở ĐBSCL.

3.3. Phân tích hệ số Path

Phân tích hệ số Path trong nghiên cứu này nhằm mục đích xác định các ảnh hưởng trực tiếp và gián tiếp của các tính trạng khác nhau đến năng suất (Hình 4). Kết quả phân tích cho thấy, tất cả 7 tính trạng đều ảnh hưởng trực tiếp đến năng suất trong vụ ĐX. Giá trị ý nghĩa $p = 0,04$ ($p \leq 0,05$) và

số dư bình phương trung bình $SRMSR = 0,08$ ($< 0,1$) trong phân tích này phù hợp cho sự đánh giá các yếu tố độc lập và phụ thuộc. Trong đó, hệ số Path của CC, SC và HCB cho thấy ảnh hưởng thuận và trực tiếp đến NS ở mức 0,1 – 0,31. Ngược lại, TGST85, TLTP và HLB cho thấy ảnh hưởng nghịch và gián tiếp đến NS với hệ số Path theo thứ tự là -0,22, -0,43 và -0,85. Còn DB, kết quả cho thấy gần như không ảnh hưởng nhiều đến NS. Điều này sẽ giúp nhà chọn giống có cái nhìn tốt hơn về mối quan hệ giữa các tính trạng đánh giá và giúp xác định được vai trò các tính trạng khác nhau trong quá trình hình thành NS. Ngoài ra, xác định được ảnh hưởng trực tiếp hay gián tiếp của các tính trạng có thể liên quan đến đặc tính di truyền riêng của từng dòng lúa. Kết quả phân tích hệ số Path có thể được sử dụng để xây dựng tiêu chuẩn chọn tạo giống lúa năng suất cao.



Hình 4. Phân tích hệ số Path để xác định các ảnh hưởng trực tiếp và gián tiếp của 7 tính trạng nông học đến năng suất lúa. Màu xanh cho biết ảnh hưởng thuận (+), màu đỏ ảnh hưởng nghịch (-) và kích thước mũi tên cho biết độ lớn của ảnh hưởng

3.4. Chỉ số chọn lọc kiểu hình (SI)

Việc tuyển chọn dựa trên chỉ năng suất có thể dẫn đến việc bỏ sót một vài đặc tính quan trọng khác. Do đó, nhà chọn giống lúa hiện nay cần phải

chọn lọc trên nhiều tính trạng trong cùng một thời điểm và kết hợp với nhiều tính trạng khác nhau như: Phẩm chất, kháng sâu bệnh, thời gian sinh trưởng phù hợp và ứng phó thông minh với điều kiện thời tiết bất lợi. SI cao nhất sẽ giúp xác định

các giống lúa mang nhiều hứa hẹn nhất và rút ngắn được chu kỳ tuyển chọn. Do đó, SI dựa trên đánh giá kiểu hình được sử dụng giải quyết các vấn đề vừa nêu và có thể tính toán dựa trên nhiều tính trạng đánh giá nhằm mang lại hiệu quả kinh tế cao nhất [6]. Dựa trên kết quả phân tích SI cho thấy năng suất sử dụng thông tin từ 7 tính trạng nông học (TGST85, CC, SC, DB, HCB, HLB, TLTP) đã tuyển chọn ra được top 5 dòng lúa ưu tú được xếp hạng từ 1 tới 5, với cường độ chọn lọc ở mức 5% (Bảng 3). Trong đó, SI dao động từ thấp nhất 0,39% đến cao nhất 7,62% cùng với mức hiệu quả tương đối từ 4,88 - 94,76%. NS thực thu (BLUP) các dòng lúa ưu tú được chọn dao động từ thấp nhất 5,62 - 5,88 tấn/ha khi so sánh với đối

chứng IRRI (3,78 - 5,17 tấn/ha) và OM (4,89 - 5,86 tấn/ha). Trong đó, hai dòng ưu tú SV1951 và SV1058 cho năng suất cao nhất theo thứ tự SI = 7,62 (5,88 tấn/ha, phần trăm hiệu quả 94,76%) và SI = 4,03 (5,62 tấn/ha, phần trăm hiệu quả 50,13%), thuộc nhóm có TGST A1 và chống chịu tương đối rầy nâu theo kết quả phân nhóm di truyền. Kết quả cho thấy, SI có thể hỗ trợ giúp nhà chọn giống đưa ra quyết định trong việc chọn lựa thông qua sử dụng thông tin của nhiều tính trạng được đánh giá để làm cải thiện năng suất. Ngoài ra, để giúp cho việc chọn lọc và cải thiện các tính trạng chính xác hơn nên kết hợp kết quả SI với kết quả đánh giá bằng chỉ thị phân tử.

Bảng 3. Năm dòng lúa ưu tú được chọn từ SI được tính từ 8 tính trạng nông học với cường độ chọn lọc 5% và NS thực thu

STT	Tên giống	Chỉ số chọn lọc (SI) (%)	Hiệu quả tương đối (%)	NS thực thu (BLUP) (tấn/ha)	Xếp hạng
1	SV1951	7,62	94,76	5,88	1
2	SV1088	0,40	5,09	5,55	4
3	SV1077	0,39	4,88	5,57	5
4	SV1058	4,03	50,13	5,86	2
5	SV1086	0,89	11,13	5,62	3
	IRRI 154	-	-	4,88	-
	IRRI 156	-	-	5,17	-
	IRRI 186	-	-	3,78	-
	OM11 (KRN)	-	-	5,87	-
	OM429 (KDO)	-	-	5,43	-
	OM468 (KBL)	-	-	5,07	-
	OM4900 (A2)	-	-	4,89	-
	OM5451 (A1)	-	-	5,86	-

4. KẾT LUẬN

Qua kết quả đánh giá cho thấy có sự khác biệt ý nghĩa về mặt di truyền giữa các dòng lúa. Phân tích thống kê cho các tính trạng đơn lẻ và kết hợp nhiều tính trạng đã giúp nhà chọn giống tuyển chọn được hai dòng lúa ưu tú nhất là SV1951 và SV1058, với SI cao và các đặc tính nông học nổi trội như NS và TLTP cao trong vụ ĐX. Tuy nhiên, việc chỉ sử dụng các phân tích thống kê dựa trên kiểu hình là chủ yếu, có thể dễ bị nhiễu do tác động mạnh của các yếu tố môi trường ngoài. Vì vậy, các tính trạng nông học cần được quan sát và đánh giá thêm trong vụ kế tiếp để có cái nhìn bao quát hơn, tăng diện tích lấy mẫu và số lần lặp lại để nhằm giảm độ biến động trong phân tích. Đồng thời sử dụng kết hợp với các chỉ thị phân tử để thẩm định lại các dòng này một cách chắc chắn hơn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Foley JA, Ramankutty N, Brauman KA, Cassidy ES, Gerber JS, Johnston M, Mueller ND, O'Connell C, Ray DK, West PC. (2011). Solutions for a cultivated planet. *Nature* 478, 337–342.
2. Ray DK, Mueller ND, West PC, Foley JA. (2013) Yield Trends Are Insufficient to Double Global Crop Production by 2050. *PLoS ONE* 8(6): e66428. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0066428>.
3. Collard BCY, Gregorio GB, Thomson MJ, Islam MR, Vergara GV, Laborte AG., Nissila E, Kretschmar T, Cobb JN. (2019). Transforming rice breeding: re- designing the irrigated breeding pipeline at the International Rice Research Institute (IRRI). *Crop Breed Genet. Genomics* 1, 1-19.
4. Li R, Li M, Ashraf U, Liu S, Zhang J. (2019). Exploring the relationships between yield and yield-related traits for rice varieties released in China from 1978 to 2017. *Front. Plant Sci.* 10, 543.
5. Atlin G. (2003). Improving drought tolerance by selecting for yield. In: *Breeding rice for drought-prone environments*. International Rice Research Institute, Los Banos, Philippines, p. 14.
6. Smith HF. (1936). A discriminant function for plant selection. *Ann. Eugen.* 7, 240–250.
7. Hazel LN. (1943). The genetic basis for constructing selection indexes. *Genetics* 28, 476-490.
8. Standard Evaluation System for Rice (SES). (2013). International Rice Research Institute (IRRI). <http://www.knowledgebank.irri.org/images/docs/rice-standard-evaluation-system.pdf> (Ngày truy cập: 02-3-2022)
9. Lozano-Isla, F. (2023). inti: Tools and Statistical Procedures in Plant Science. The R Project for Statistical Computing. <https://CRAN.R-project.org/package=inti> (Ngày truy cập: 20-4-2023).
10. Wei T, Simko V. (2021). R package 'corrplot': Visualization of a Correlation Matrix. (Version 0.92). The R Project for Statistical Computing. <https://github.com/taiyun/corrplot> (Ngày truy cập: 10-2-2023).
11. Galili T. (2023). Introduction to dendextend. *Bioinformatics*. <https://cran.r-project.org/web/packages/dendextend/vignettes/dendextend.html> (Ngày truy cập: 05-3-2023).
12. Mendiburu F, and Yaseen M. (2020). agricolae: Statistical Procedures for Agricultural Research. The R Project for Statistical Computing. <https://myaseen208.github.io/agricolae/><https://cran.r-project.org/package=agricolae> (Ngày truy cập: 10-12-2022)
13. Rosseel Y. (2012). "lavaan: An R Package for Structural Equation Modeling." *Journal of Statistical Software*, 48(2), 1–36. doi:10.18637/jss.v048.i02.
14. Goyani Z. (2022). Data Analysis with selection.index. The R Project for Statistical Computing. <https://cran.rproject.org/web/packages/selection.index/vignettes/Examples.html> (Ngày truy cập: 15-5-2023).
15. Ata-Ul-Karim ST, Begum H, Lopena V, Borromeo T, Virk P, Hernandez JE, Gregorio GB, Collard BCY, Kato Y. (2022). Genotypic variation of yield-related traits in an irrigated rice breeding program for tropical Asia. *Crop and Environment*. Volume 1, Issue 3, September 2022, Pages 173-181. <https://doi.org/10.1016/j.crope.2022.08.004>.

**UTILIZING PHENOTYPIC SELECTION INDICES FOR SELECTING
HIGH-YIELDING RICE VARIETIES**

Nguyen Thuy Kieu Tien¹, Chau Thanh Nha², Nguyen Khac Thang¹,
Vo Thanh Toan¹, Ta Hong Linh³, Tran Ngoc Thach¹,
Shoba Venkatanagappa⁴, Vo Thi Tra My⁵

¹ *Cuu Long delta Rice Research Institute (CLRRI)*

² *College of Agriculture, Can Tho University (CTU)*

³ *Vietnam Academy of Agricultural Sciences (VAAS)*

⁴ *International Rice Research Institute (IRRI)*

⁵ *Loc Troi Agricultural Research Institute (LTARI)*

Summary

The selection of elite rice varieties with high yields is a mandatory criterion to ensure food security. Accurately assessing and predicting yield and yield-related traits in the development and release of new rice varieties is a challenging process that involves rigorous analytical and experimental procedures. In this study, the phenotypic selection index is employed to analyze a set of 27 elite rice lines obtained from the IRRI-ASEAN RiceNet project. The results revealed significant genetic variations among all the examined rice varieties. The H_{bs} ² exhibited a wide range of values, spanning from 23% to 93% across the varieties. The correlation coefficient analysis reveals a positive and significant relationship between spikelet fertility and grain yield. The cluster analysis demonstrates the division of the eight traits into six distinct major groups. The path analysis revealed that the traits influencing the positive and direct effect on grain yield exhibited values ranging from 0.10 to 0.31. Based on the SI, the study selected two elite lines, 4.03 (SV1058) and 7.62 (SV1951), with average yields of 5.88 and 5.62 tons/ha, respectively. The two chosen lines displayed relatively high tolerance for significant pests and diseases. They exhibited a short time duration to flowering of 85% (the A1 group), which was well-received in terms of their phenotypic characteristics. This valuable material can contribute to being a new source for crossbreeding new rice varieties, evaluating future ecological regions, and eventually releasing improved rice varieties.

Keywords: *ASEAN RiceNet, IRRI, Path analysis, phenotypic selection index (SI).*

Người phản biện: GS.TS. Bùi Chí Bửu

Ngày nhận bài: 25/5/2023

Ngày thông qua phản biện: 22/6/2023

Ngày duyệt đăng: 21/7/2023

NGHIÊN CỨU TÍNH KHÁNG BỆNH BẠC LÁ CỦA CÁC DÒNG LÚA TBR225 ĐỘT BIẾN PROMOTER *OsSWEET14*

Trần Lan Đài¹, Phạm Thu Hằng², Nguyễn Thị Thu Hà²,
Nguyễn Thanh Hà², Phạm Xuân Hội², Nguyễn Duy Phương^{2,*}

TÓM TẮT

Xanthomonas oryzae pv. *oryzae* (*Xoo*) gây ra bệnh bạc lá lúa thông qua tương tác đặc hiệu giữa các TAL effector (transcription activator-like effector) và trình tự EBE (effector binding element) nằm trên vùng promoter của các gen thuộc họ gen mã hóa protein vận chuyển đường SWEET (Sugars will eventually be exported transporter), trong đó có gen *OsSWEET14*. Sử dụng công cụ CRISPR/Cas9 để gây đột biến một số trình tự đặc hiệu trên promoter này có thể vô hiệu hóa tính độc của các TAL effector giúp cây trồng kháng được bệnh bạc lá lúa. Đây là hướng nghiên cứu đầy triển vọng để cải thiện tính kháng bạc lá phổ rộng của các giống lúa chủ lực của Việt Nam, đặc biệt là giống lúa nhạy cảm với bệnh bạc lá như TBR225. Trong nghiên cứu trước đây, đã tạo được một số dòng lúa TBR225 chỉnh sửa gen thể hệ T₁ mang đột biến tại vị trí EBE *AvrXa7/Tal5* trên promoter *OsSWEET14*. Trong nghiên cứu này, phân tích trên dòng lúa TBR225 chỉnh sửa gen ở thể hệ T₂ đã chứng tỏ các đột biến trên promoter *OsSWEET14* không làm thay đổi các chỉ tiêu nông học cơ bản của cây. Sáu dòng lúa TBR225 chỉnh sửa gen T₂ không thay đổi mức độ biểu hiện gen đích *OsSWEET14* khi được lây nhiễm với vi khuẩn *Xoo* và thể hiện tính kháng hoàn toàn với isolate VXO_11, kháng nhẹ hoặc không kháng với isolate VXO_80 và VXO_100. Kết quả thu được là tiền đề cho nghiên cứu phát triển giống lúa TBR225 kháng bạc lá trong tương lai.

Từ khóa: Bệnh bạc lá lúa, CRISPR/Cas9, *OsSWEET14*, TBR225, *Xanthomonas oryzae*.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Lúa (*Oryza sativa* L.) là một trong những loại cây trồng ngũ cốc quan trọng nhất thế giới, cung cấp thức ăn cho con người nhiều hơn bất kỳ cây trồng khác. Bệnh bạc lá do vi khuẩn *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* gây ra là một bệnh hại lúa rất phổ biến, làm sụt giảm nghiêm trọng năng suất lúa trên toàn thế giới [1], trong đó có giống lúa TBR225 của Việt Nam. Cho đến nay, chọn tạo và sử dụng giống lúa kháng bệnh vẫn là một cách tiếp cận kinh tế và hiệu quả nhất trong việc quản lý bệnh bạc lá lúa.

Khả năng gây bệnh của *Xoo* phụ thuộc vào một loại độc tố được gọi là “TAL effector”, hoạt động tương tự như các yếu tố điều hòa phiên mã ở

thực vật [2, 3]. Các TAL effector sau khi đi vào nhân tế bào cây chủ sẽ liên kết với promoter của các gen đặc hiệu trong hệ gen thực vật và hoạt hóa sự biểu hiện của chúng [4]. Hệ gen *Xoo* điển hình chứa số lượng gen *tal* rất khác nhau giữa các chủng ở các khu vực địa lý khác nhau (chủng *Xoo* châu Á có 15-26 gen, chủng *Xoo* châu Phi có 8-10 gen và chủng *Xoo* Bắc Mỹ không có gen *tal*) [5]. Các gen mục tiêu của TAL effector trong hệ gen lúa được coi là các gen “nhễm” (*S* gen-susceptibility genes), đóng vai trò là các yếu tố nhạy cảm chính trong quá trình tương tác giữa cây lúa và *Xoo*. Trong một số trường hợp, tính đa hình trong trình tự EBE (liên kết với TAL) nằm trên promoter của các gen “nhễm” tạo ra tính kháng bệnh cho cây [3, 6]. *OsSWEET14* thuộc họ gen vận chuyển đường *SWEET*, được biết đến như một trong các gen “nhễm” được hoạt hóa bởi TAL effector của *Xoo* [6, 7]. Bằng các công nghệ chỉnh sửa gen như TALEN và CRISPR/Cas9, các nhà

¹ Trường Đại học Quy Nhơn

² Viện Di truyền nông nghiệp

*Email: phuongnd.bio@gmail.com

nguyên cứu đã tạo ra đột biến trên vùng EBE của promoter *OsSWEET14* của giống lúa Kitaake và Bắc Thơm 7, kết quả là các dòng lúa mang đột biến này có khả năng kháng được các chủng *Xoo* châu Á và châu Phi [2, 8]. Điều này đã chứng minh tiềm năng của việc ứng dụng công nghệ chỉnh sửa hệ gen để tạo ra giống lúa TBR225 kháng bạc lá phổ rộng.

Nguyễn Duy Phương và cs (2019) đã chuyển cấu trúc biểu hiện phức hệ CRISPR/Cas9 chỉnh sửa EBE *AvrXa7/Tal5* trên promoter *OsSWEET14* và thu được một số dòng lúa mang cấu trúc T-DNA [9]. Trong nghiên cứu này, để xác định ảnh hưởng của các đột biến *OsSWEET14* tới kiểu hình của

TBR225, đã tiếp tục phân tích các đặc điểm nông học và đánh giá khả năng kháng bệnh bạc lá của các dòng lúa TBR225 ở thế hệ T_2 mang các đột biến *OsSWEET14* đồng hợp. Kết quả thu được của nghiên cứu này sẽ là nền tảng đầy đủ để tạo giống lúa TBR225 kháng bệnh bạc lá phổ rộng bằng công nghệ gen trong tương lai.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu

15 dòng lúa TBR225 đột biến *OsSWEET14* do Bộ môn Bệnh học phân tử, Viện Di truyền nông nghiệp cung cấp [10] (Bảng 1).

Bảng 1. Dòng lúa TBR225 đột biến *OsSWEET14* sử dụng trong nghiên cứu

Tên dòng	Loại đột biến ¹	Vị trí đột biến ²	Tên dòng	Loại đột biến ¹	Vị trí đột biến ²
D1.5.2.9	(-3) AAC	5	D1.12.37.19	(+1) A	17
D1.5.3.1	(-2) CC	18	D2.3.34.15	(+6)GCTTGA	20
D1.5.7.11	(-2) CC	18	D2.4.7.11	(-3) CCA	13
D1.5.7.19	(-3) AAC	5	D2.5.8.3	(-5) TGCTA	22
D1.7.20.1	(-6) CCAACC	13	D3.4.9.20	(+2) TG	19
D1.7.20.2	(-6) CCAACC	13	D3.6.22.10	(+1) C	21
D1.9.3.6	(+3) GAC	18	D3.12.25.2	(-3) TCC	12
D1.9.39.2	(+2) CT	19			

Ghi chú: ¹ Số Nu thay đổi trên *OsSWEET14*; (+/-) thêm/mất Nu; kí tự trong ngoặc thể hiện Nu thay đổi trên *OsSWEET14*; ² Vị trí của đột biến tính từ đầu 5' của EBE *AvrXa7*.

Các chủng vi khuẩn bạc lá VXO_11, VXO_80 và VXO_100 được phân lập năm 2013, 2016 và 2017 [11], lưu giữ tại Bộ môn Bệnh học phân tử, Viện Di truyền nông nghiệp.

2.2. Phương pháp

2.2.1. Đánh giá đặc điểm nông học của lúa

Hạt của các dòng lúa TBR225 chỉnh sửa gen *OsSWEET14* thế hệ T_1 được rửa bằng nước và khử trùng bằng Javen 2% trong 20 phút và rửa lại bằng nước cất, sau đó được ngâm trong nước và ủ ở 37°C trong 3 ngày. Hạt nảy mầm được trồng trên khay đất. Sau 14 ngày, cây con được chuyển sang trồng trong chậu đất lớn và chăm sóc trong điều kiện nhà lưới. Năm cây từ mỗi dòng lúa được chọn

ngẫu nhiên để đánh giá các chỉ tiêu nông học, bao gồm thời gian sinh trưởng, chiều cao, số nhánh, số hạt chắc/bông, năng suất cá thể. Dòng lúa TBR225 không chuyển gen được sử dụng làm đối chứng. Thí nghiệm được thực hiện trong điều kiện nhà lưới, vụ mùa năm 2020.

2.2.2. Đánh giá biểu hiện gen *OsSWEET14*

Thí nghiệm phân tích biểu hiện gen được thực hiện theo mô tả của Li và cs (2013) bằng phương pháp RT-PCR [12]. Ba cây lúa từ mỗi dòng được lựa chọn ngẫu nhiên cho thí nghiệm lấy nhiễm nhân tạo. Lá cây lúa 4 tuần tuổi được lấy nhiễm nhân tạo với vi khuẩn *Xoo* theo phương pháp cắt lá của Ke Y. và cs (2017) [13]. Lá lúa sau 48 giờ lấy nhiễm được sử dụng để tách chiết RNA tổng số

theo quy trình hướng dẫn của hãng Invitrogen. Một microgram RNA được sử dụng cho mỗi phản ứng RT-PCR sử dụng lần lượt mỗi oligo (dT) và cặp mỗi OsSWEET14-qPCR-F/ OsSWEET14-qPCR-R. *OsEF1a* được sử dụng làm gen nội chuẩn. Thí nghiệm RT-PCR được lặp lại 3 lần trên mỗi cây.

2.2.3. Đánh giá khả năng kháng vi khuẩn bạc lá *Xoo*

Thí nghiệm lây nhiễm *Xoo* và đánh giá tính kháng vi khuẩn bạc lá của các dòng lúa TBR225 chỉnh sửa gen được thực hiện theo phương pháp cắt lá, sử dụng chủng vi khuẩn bạc lá VXO_11, VXO_80 và VXO_100. Vi khuẩn *Xoo* được nuôi cấy trên môi trường PSA đặc để thu sinh khối và pha loãng trong dung dịch $MgCl_2$ 10 mM (OD_{600} đạt 0,5). Đầu phiến lá lúa (3 - 4 cm) được cắt bằng kéo đã được nhúng trong dung dịch vi khuẩn *Xoo*. Sau 14 ngày, chiều dài vết bệnh phát triển trên lá lúa được ghi lại. Khả năng kháng bạc lá được xếp theo thang điểm: kháng mạnh - R (vết bệnh < 8 cm), kháng vừa - MR (vết bệnh từ 8 - 12 cm) và miễn cảm - S (vết bệnh > 12 cm). Thí nghiệm được tiến hành lặp lại 3 lần, mỗi lần trên ít nhất 3 cây (lá thứ nhất và lá thứ hai trên mỗi nhánh của cây). Dòng

lúa TBR225 không chuyển gen được sử dụng làm đối chứng. Thí nghiệm được thực hiện trong điều kiện nhà lưới, vụ mùa năm 2020.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Đánh giá một số đặc điểm nông học của dòng lúa TBR225 đột biến *OsSWEET14*

Để đánh giá mức độ ảnh hưởng của đột biến trên promoter *OsSWEET14* đến một số đặc điểm nông học của các dòng lúa chỉnh sửa gen, 15 dòng lúa TBR225 ở thế hệ T_2 mang đột biến đồng hợp đã được phân tích, đánh giá các chỉ tiêu: Thời gian sinh trưởng, chiều cao cây, số nhánh, số hạt chắc/bông và năng suất cá thể khi trồng trong điều kiện nhà lưới. Phân tích kết quả thu được bằng kiểm định ANOVA và *t*-test cho thấy, không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các dòng lúa đột biến so với dòng lúa đối chứng không đột biến gen về tất cả các tính trạng nông học được quan sát (Bảng 2). Điều này chứng tỏ rằng các đột biến trên *OsSWEET14* được tạo ra bởi hệ thống CRISPR/Cas9 không gây ra ảnh hưởng tiêu cực đến các đặc điểm sinh trưởng phát triển của giống lúa TBR225.

Bảng 2. Kết quả đánh giá chỉ tiêu nông học của dòng lúa TBR225 đột biến *OsSWEET14*

Tên dòng	Thời gian sinh trưởng (ngày)	Chiều cao (cm)	Số nhánh	Số hạt chắc/bông	Năng suất cá thể (gam)
WT	107,10±5,34 ^a	115,25±3,54 ^a	6,90±1,02 ^a	79,40±1,03 ^a	21,05±0,54 ^a
1.5.2.9	105,30±3,05 ^a	112,35±4,10 ^a	6,92±1,40 ^a	79,25±1,40 ^a	21,27±0,33 ^a
1.5.3.1	107,55±5,34 ^{ac}	114,32±4,14 ^a	6,88±1,08 ^a	79,25±1,39 ^a	21,60±0,26 ^a
1.5.7.11	108,42±3,18 ^a	115,48±3,18 ^a	6,90±1,15 ^a	81,25±1,05 ^{ab}	22,63±0,42 ^{ab}
1.5.7.19	106,85±4,28 ^a	113,25±4,28 ^a	7,14±1,20 ^{ab}	79,35±1,06 ^a	21,35±1,53 ^a
1.7.20.1	107,25±2,46 ^a	114,15±3,56 ^a	7,00±0,80 ^{ab}	80,95±1,18 ^{ab}	21,24±1,17 ^a
1.7.20.2	108,33±2,46 ^a	115,25±4,76 ^a	6,90±1,05 ^a	79,85±0,78 ^a	21,18±1,19 ^a
1.9.3.6	108,52±4,45 ^a	115,30±4,25 ^a	6,89±0,88 ^a	80,90±0,88 ^{ab}	21,18±0,33 ^a

1.9.39.2	109,15±4,18 ^a	116,15±5,18 ^a	6,95±0,85 ^a	79,65±1,04 ^a	21,56±0,32 ^a
1.12.37.19	107,14±4,42 ^a	114,35±4,92 ^a	7,14±1,20 ^{ab}	78,95±0,98 ^a	21,90±0,50 ^a
2.3.34.15	108,15±4,25 ^a	115,20±5,25 ^a	6,80±0,97 ^a	79,65±0,72 ^a	21,45 ±0,88 ^a
2.4.7.11	107,34±4,53 ^a	114,36±4,93 ^a	6,90±0,95 ^a	80,75±0,97 ^{ab}	21,25 ±0,96 ^a
2.5.8.3	108,13±3,82 ^a	115,45±4,82 ^a	6,92±0,99 ^a	79,50±1,42 ^a	21,69±0,68 ^a
3.4.9.20	108,18±4,54 ^a	115,35±3,76 ^a	6,88±1,17 ^a	79,5±0,78 ^a	21,18±1,19 ^a
3.6.22.10	108,23±3,25 ^a	115,33±3,25 ^a	6,79±0,84 ^a	80,10±0,88 ^a	21,25±0,33 ^a
3.12.25.2	108,52±4,28 ^a	116,50±3,18 ^a	7,20±1,25 ^{ab}	79,25±1,04 ^a	21,16±0,32 ^a

*Ghi chú: *Các giá trị trung bình có cùng kí tự sai khác nhau không có ý nghĩa thống kê (HSD test, $p>0,05$)*

Các gen thuộc họ gen *SWEET* không những liên quan đến con đường cung cấp chất dinh dưỡng cho vi sinh vật gây bệnh mà còn có vai trò quan trọng đối với quá trình phát triển phần hoa và tạo hạt của cây chủ [1, 14]. Nghiên cứu của Yang và cs (2006) tạo dòng lúa kháng bạc lá sử dụng công nghệ iRNA để bất hoạt gen *Os8N3/OsSWEET11* đã dẫn đến sự phát triển bất thường của phần hoa [6]. Tuy nhiên, trong nghiên cứu này, các tính trạng nông học được đánh giá của dòng lúa TBR225 mang đột biến promoter *OsSWEET14* đều không có sự khác biệt đáng kể so với dòng lúa đối chứng trong điều kiện nhà lưới. Phát hiện này tương tự như kết quả nghiên cứu của Kim và cs (2019) khi gây đột biến gen *OsSWEET13* bằng CRISPR/Cas9 trên giống lúa Kitakee hay Oliva và cs (2019) tạo tổ hợp đột biến 3 promoter *OsSWEET11*, *OsSWEET13*, *OsSWEET14* và thu được dòng lúa kháng bệnh bạc lá mà không làm thay đổi các đặc điểm sinh trưởng, phát triển vốn có [15, 16]. Điều này có thể lý giải bởi một số giả thuyết khác nhau như do sự dư thừa hay hiện tượng bù đắp di truyền (genetic compensation) của các gen *SWEET* trong hệ gen lúa. Kết quả nghiên cứu này đã góp phần khẳng định rằng việc tạo ra các đột biến nhỏ trên vùng promoter của gen *OsSWEET14* bằng công nghệ CRISPR/Cas9 không ảnh hưởng đến sự sinh

trưởng, phát triển và năng suất của giống lúa TBR225.

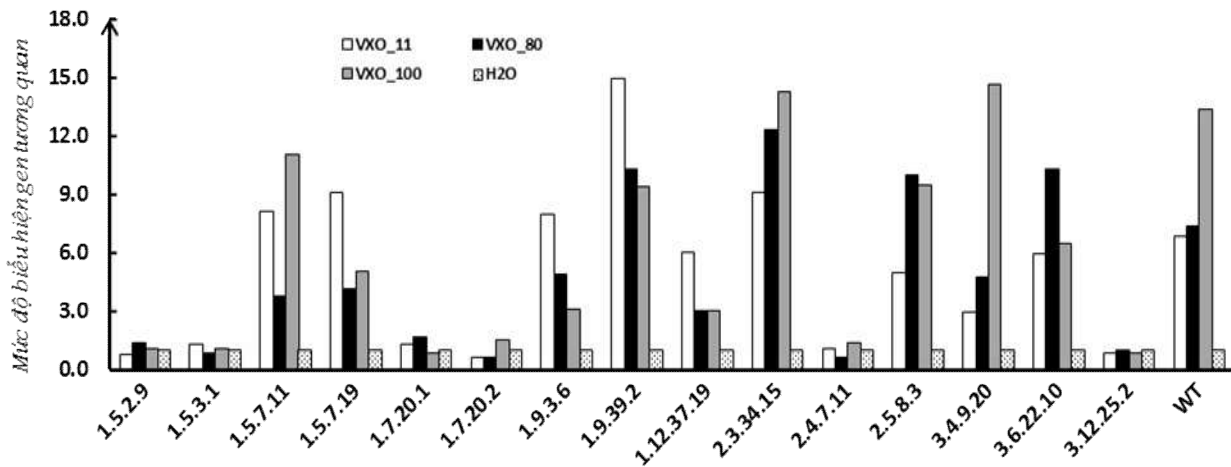
3.2. Nghiên cứu biểu hiện *OsSWEET14* trong các dòng lúa TBR225 đột biến

Các dòng lúa đột biến *OsSWEET14* được lây nhiễm nhân tạo với ba isolate *Xoo* đại diện (VXO_11, VXO_80 và VXO_100) và phân tích mức độ biểu hiện của gen *OsSWEET14* để xác định hiệu quả của các đột biến được tạo ra bằng hệ thống CRISPR/Cas9 đối với hoạt động của gen đích.

Sản phẩm RT-PCR sau khi phân tích bằng phần mềm ImageJ (Hình 1) cho thấy, mức độ biểu hiện gen của các dòng lúa đột biến *OsSWEET14* được chia thành 2 nhóm rõ rệt. Nhóm thứ nhất bao gồm 6 dòng lúa (1.5.2.9; 1.5.7.19; 1.7.20.1; 1.7.20.2; 2.4.7.11 và 3.12.25.2) hầu như không có sự thay đổi đáng kể nào về mức độ biểu hiện của gen đích khi được lây nhiễm với vi khuẩn *Xoo*. Nhóm thứ hai bao gồm 9 dòng lúa (1.5.3.1; 1.5.7.11; 1.9.3.6; 1.9.39.2; 1.12.37.19; 2.3.34.15; 2.5.8.3; 3.4.9.20 và 3.6.22.10) với mức độ biểu hiện gen *OsSWEET14* tăng đáng kể khi được lây nhiễm với cả 3 isolate *Xoo* đại diện, tương tự như dòng lúa TBR225 đối chứng không chỉnh sửa gen. Kết quả này chứng tỏ các đột biến khác nhau trên EBE có thể ảnh hưởng khác nhau tới liên kết của EBE trên promoter *OsSWEET* với protein TAL của *Xoo*. Giả

thuyết này cũng đã được Blanvillain–Baufumé và cs (2017) đề cập đến trong nghiên cứu đột biến EBE *TalF/Tal5* trên *OsSWEET14* của lúa Kitaake [2]. Các dòng lúa TBR225 chỉnh sửa gen không

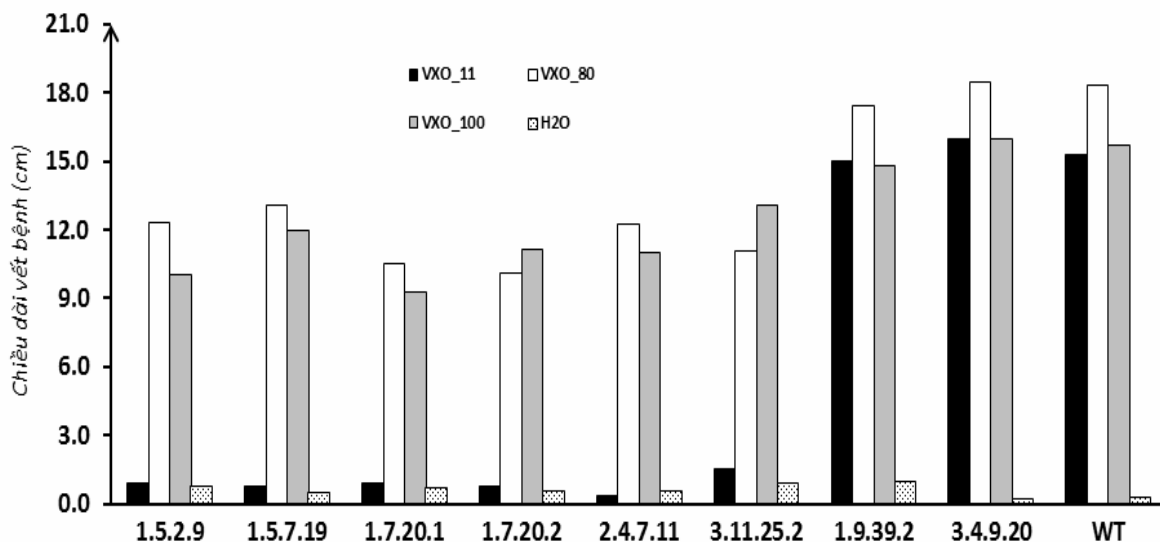
thay đổi biểu hiện gen *OsSWEET14* khi lây nhiễm *Xoo* được lựa chọn để đánh giá khả năng kháng bệnh bạc lá trong thí nghiệm tiếp theo.



Hình 1. Biểu hiện của *OsSWEET14* trong dòng lúa TBR225 đột biến

Ghi chú: Biểu hiện của *OsSWEET14* trên dòng lúa TBR225 đột biến *OsSWEET14* lây nhiễm isolate *Xoo* đại diện (VXO_11, 80 và 100) được phân tích bằng RT-PCR. Đồ thị thể hiện giá trị tương quan mức độ biểu hiện gen giữa các mẫu lúa; mức độ biểu hiện gen *OsSWEET14* của mẫu lúa không lây nhiễm *Xoo* (H₂O) có giá trị bằng 1; *OsEF1α* được sử dụng làm gen nội chuẩn; (WT) dòng lúa TBR225 không đột biến *OsSWEET14*. Giá trị thể hiện trên đồ thị là kết quả trung bình của 3 lần lặp lại thí nghiệm.

3.3. Đánh giá khả năng kháng bệnh bạc lá của dòng lúa TBR225 đột biến *OsSWEET14*



Hình 2. Đánh giá tính kháng bệnh bạc lá của dòng lúa TBR225 đột biến *OsSWEET14*

Ghi chú: Các dòng lúa đột biến *OsSWEET14* (1.5.2.9; 1.5.7.19; 1.7.20.1; 1.7.20.; 2.4.7.11; 3.11.25.2; 1.9.39.2 và 3.4.9.20) và không đột biến *OsSWEET14* (WT) được lây nhiễm nhân tạo các isolate *Xoo* đại diện (VXO_11, VXO_80 và VXO_100). (H₂O) thí nghiệm đối chứng âm (lây nhiễm dung dịch không chứa vi khuẩn *Xoo*).

Để chứng minh hiệu quả của công cụ CRISPR/Cas9 trong việc cải tiến tính kháng bệnh bạc lá cho giống lúa TBR225, sáu dòng lúa đột biến có mức độ biểu hiện *OsSWEET14* không thay đổi khi lây nhiễm *Xoo* (1.5.2.9; 1.5.7.19; 1.7.20.1; 1.7.20.2; 2.4.7.11 và 3.12.25.2) và hai dòng lúa đột biến có mức độ biểu hiện *OsSWEET14* thay đổi tương tự dòng lúa đối chứng khi lây nhiễm *Xoo* (1.9.39.2 và 3.4.9.20) được lựa chọn để đánh giá tính kháng với 3 isolate *Xoo* đại diện (VXO_11, VXO_80 và VXO_100) trong điều kiện nhà lưới (Hình 2).

Quan sát biểu hiện bệnh trên lá thu được sau 14 ngày lây nhiễm cho thấy hai dòng lúa đột biến *OsSWEET14* 1.9.39.2 và 3.4.9.20 không thể hiện tính kháng với tất cả các isolate *Xoo* được đánh giá. Kết quả này hoàn toàn phù hợp với kết quả phân tích biểu hiện gen thu được ở trên, trong đó *OsSWEET14* tăng cường biểu hiện rất mạnh khi các dòng lúa này được lây nhiễm nhân tạo với 3 isolate VXO_11, VXO_80 và VXO_100 (Hình 1). Ngược lại, sáu dòng lúa 1.5.2.9; 1.5.7.19; 1.7.20.1; 1.7.20.2; 2.4.7.11 và 3.12.25.2 thể hiện tính kháng rõ rệt với isolate VXO_11; chiều dài vết bệnh trung bình quan sát được từ 0,4 – 1,5 cm (Hình 2). Tuy nhiên, sáu dòng lúa đột biến này lại chỉ kháng nhẹ hoặc không kháng đối với hai isolate VXO_80 và VXO_100; trong khi gen đích *OsSWEET14* cũng hầu như không thay đổi biểu hiện trong thí nghiệm đánh giá biểu hiện gen với hai isolate này. Các kết quả này gợi ý rằng *OsSWEET14* là gen “nhiễm” duy nhất của đối với isolate VXO_11; trong khi hai isolate VXO_80 và VXO_100 có thể có ít nhất 2 đích tấn công trong hệ gen của TBR225.

Các gen thuộc họ *SWEET* được xác định là gen “nhiễm” của *Xoo*, do đó khi tác động gây đột biến các gen này sẽ góp phần vô hiệu hóa các protein “độc” TALE của *Xoo*; kết quả là cây trồng có khả năng kháng được bệnh bạc lá [16]. Nghiên cứu trước đây đã tiến hành gây đột biến *OsSWEET14* trên giống lúa Kitaake bằng công nghệ TALEN hay *OsSWEET11* bằng CRISPR/Cas9 và thu được dòng lúa kháng chủng *Xoo* biểu hiện protein TAL AvrXa7/PthXo3 hay

PthXo1 tương ứng. Tuy nhiên, tính kháng của dòng lúa Kitaake mang đột biến *AvrXa7/PthXo3* (*OsSWEET14*) và *PthXo1* (*OsSWEET11*) lại bị vô hiệu hóa bởi chủng *Xoo* mang protein đồng thời gen *tal* mã hóa AvrXa7/PthXo3 và PthXo2 [16]. Như vậy, tính kháng phụ thuộc vào sự có mặt của các EBE liên quan tới gen “nhiễm” được nhận biết bởi protein TAL tương ứng của quần thể *Xoo*. Trong nghiên cứu này, 6 dòng lúa 1.5.2.9; 1.5.7.19; 1.7.20.1; 1.7.20.2; 2.4.7.11 và 3.12.25.2 mang đột biến đồng hợp trên EBE *AvrXa7/Tal5/PthXo3* biểu hiện tính kháng isolate VXO_11 được tăng cường rõ rệt so với dòng lúa TBR225 đối chứng. Tính kháng không hoàn toàn/không kháng với các isolate còn lại có thể giải thích do sự có mặt của một/một vài EBE trên (các) gen “nhiễm” khác cũng được nhận biết bởi protein TAL khác của các isolate này.

Với các kết quả thu được như trên đã chứng minh triển vọng của công nghệ CRISPR/Cas9 trong việc cải tạo tính kháng bệnh bạc lá cho các giống lúa chủ lực của Việt Nam trong đó có giống lúa TBR225, đồng thời cũng chứng minh sự đa dạng về protein TAL của các chủng *Xoo* của Việt Nam. Trong tương lai, cần phải có những nghiên cứu đầy đủ và sâu hơn về TALome của các chủng vi khuẩn *Xoo* để có thể tạo ra tính kháng bạc lá phổ rộng cho các giống lúa trên.

4. KẾT LUẬN

Đột biến trên promoter *OsSWEET14* không gây ảnh hưởng tới một số đặc điểm nông sinh học chính của giống lúa TBR225, bao gồm các chỉ tiêu chiều cao cây, số nhánh, số hạt chắc trên bông, năng suất cá thể. Sáu dòng lúa TBR225 đột biến 1.5.2.9; 1.5.7.19; 1.7.20.1; 1.7.20.2; 2.4.7.11 và 3.12.25.2 có khả năng kháng vi khuẩn *Xoo* cao hơn so với dòng lúa đối chứng, thể hiện tính kháng hoàn toàn với isolate VXO_80, kháng nhẹ hoặc không kháng với isolate VXO_11 và VXO_100.

Kết quả thu được là cơ sở để tiếp tục nghiên cứu cơ chế phân tử quá trình xâm nhiễm của vi khuẩn *Xoo* trên giống lúa TBR225, từ đó phát triển tính kháng bệnh bạc lá phổ rộng cho giống lúa chủ lực này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Yang J., Luo D., Yang B., Frommer W. B. & Eom J. S. (2018). SWEET11 and 15 as key players in seed filling in rice. *New Phytologist*, 218(2): 604-615. <https://doi.org/10.1111/nph.15004>
2. Blanvillain-Baufumé S., Reschke M., Solé M., Auguy F., Doucoure H., Szurek B., Meynard D., Portefaix M., Cunnac S., Guiderdoni E., Boch J., Koebnik R. (2017). Targeted promoter editing for rice resistance to *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* reveals differential activities for SWEET14 inducing TAL effectors. *Plant Biotechnology Journal*, 15(3):306-317.
3. Hutin M., Perez-Quintero A. L., Lopez C. & Szurek B. (2015a). MorTAL Kombat: the story of defense against TAL effectors through loss-of-susceptibility. *Front Plant Science*, 6: 535.
4. Schornack S., Moscou M. J., Ward E. R. & Horvath D. M. (2013). Engineering plant disease resistance based on TAL effectors. *Annual Review of Phytopathology*, 51:383-406. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-082712-102255>
5. Erkes A., Reschke M., Boch J. & Grau J. (2017). Evolution of transcription activator-like effectors in *Xanthomonas oryzae*. *Genome Biology and Evolution*, 9(6) : 1599 - 1615. <https://doi.org/10.1093/gbe/evx108>
6. Yang B., Sugio A. & White F. F. (2006). Os8N3 is a host disease-susceptibility gene for bacterial blight of rice. *Proceeding of the National Academy of Science*, 103(27):10503–10508. <https://doi.org/10.1073/pnas.0604088103>
7. Chen L. Q., Qu X. Q., Hou B. H., Sosso D., Osorio S., Fernie A. R. & Frommer W. B. (2012). Sucrose efflux mediated by SWEET proteins as a key step for phloem transport. *Science*, 335(6065) : 207 - 211. <https://doi.org/10.1126/science.1213351>
8. Cao Lê Quyên, Vũ Hoài Sâm, Nguyễn Thanh Hà, Nguyễn Thị Thu Hà, Phùng Thị Thu Hương, Trần Tuấn Tú, Phạm Xuân Hội, Nguyễn Duy Phương (2021). Nghiên cứu đặc điểm di truyền đột biến promoter *OsSWEET14* trên các dòng lúa Bắc thơm 7 chỉnh sửa gen. *Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển nông thôn*, 18:74-81.
9. Nguyễn Duy Phương, Phạm Thu Hằng, Phùng Thị Thu Hương, Phạm Xuân Hội (2019). Chuyển cấu trúc chỉnh sửa promoter *OsSWEET14* vào giống lúa TBR225. *Tạp chí Công nghệ Sinh học*, 17(1): 1-7.
10. Trần Lan Đài, Phạm Thu Hằng, Cao Lê Quyên, Phạm Thị Vân, Phạm Xuân Hội, Nguyễn Duy Phương (2021). Nghiên cứu đặc điểm di truyền đột biến của các dòng lúa TBR225 chỉnh sửa promoter *OsSWEET14*. *Tạp chí Khoa học Nông nghiệp Việt Nam*, 20(5): 576-583.
11. Phạm Phương Ngọc, Trần Lan Đài, Đỗ Thị Hạnh, Nguyễn Quang Huy, Nguyễn Duy Phương (2021). Functional characterization of the *OsSWEET13* promoter involved in the infection of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* in rice cultivar TBR225. *Academia Journal of Biology*, 44(3):57-65.
12. Li T., Huang S., Zhou J., Yang B. (2013). Designer TAL effectors induce disease susceptibility and resistance to *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* in rice. *Molecular Plant*, 6(3): 781-789.
13. Ke Y., Hui S. & Yuan M. (2017). *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* inoculation and growth rate on rice by clipping method. *Bio-protocol*, 7(19): e2568.
14. Chen L. Q. (2014). SWEET sugar transporters for phloem transport and pathogen nutrition. *New Phytologist*, 201(4): 1150-1155.
15. Kim Y. A., Moon H & Park C. J. (2019). CRISPR/Cas9-targeted mutagenesis of Os8N3 in rice to confer resistance to *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. *Rice*, 12: 67.
16. Oliva R., Ji C., Atienza-Grande G., Huguet-Tapia J. C., Perez-Quintero A., Li T., Eom J. S., Li C., Nguyen H., Liu B., Auguy F., Sciallano C., Luu V. T., Dossa G. S., Cunnac S., Schmidt S. M., Slamet-Loedin I. H., Vera Cruz C., Szurek B., Frommer W. B., White F. F., Yang B. (2019). Broad-spectrum resistance to bacterial blight in rice using genome editing. *Nature Biotechnology*, 37(11): 1344-1350.

EVALUATION OF BACTERIAL LEAF BLIGHT DISEASE RESISTANCE OF *OsSWEET14* PROMOTER-EDITED TBR225 RICE LINES

Tran Lan Dai¹, Pham Thu Hang², Nguyen Thi Thu Ha²,
Nguyen Thanh Ha², Pham Xuan Hoi², Nguyen Duy Phuong²

¹*Quy Nhon University*

²*Agricultural Genetics Institute*

Summary

Xanthomonas oryzae pv. *oryzae* (*Xoo*) causes bacterial leaf blight through a specific interaction between the TAL effector (transcription activator-like effector) and the effector binding element (EBE) sequence located on the promoter region of the genes of the gene family encoding transport proteins SWEET (Sugars will eventually be exported transporter), which contains the *OsSWEET14* gene. Using the tool CRISPR/Cas9 to mutate some specific sequences on this promoter can neutralize the toxicity of TAL effectors to help plants resist the disease. This is a promising research direction to improve broad-spectrum blight resistance of Vietnam's elite rice varieties, especially the disease sensitive rice varieties such as TBR225. In the previous study, we have created a number of TBR225 rice lines with T1 gene editing that carry mutations at the EBE position *AvrXa7/Tal5* on the *OsSWEET14* promoter. In this study, analysis on the transgenic TBR225 rice line in the T2 generation showed that mutations in the *OsSWEET14* promoter did not change the basic agronomic traits of the plant. The six T2-edited TBR225 rice lines did not change the *OsSWEET14* target gene expression when infected with *Xoo* and exhibited complete resistance to isolates VXO_11, mild or no resistance to isolates VXO_80 and VXO_100. The obtained results are the premise for research and development of rice varieties TBR225 resistant to bacterial leaf blight in the future.

Keywords: *Bacterial leaf blight disease, CRISPR/Cas9, OsSWEET14, TBR225, Xanthomonas oryzae.*

Người phản biện: PGS.TS. Lê Tuấn Nghĩa

Ngày nhận bài: 5/01/2023

Ngày thông qua phản biện: 7/02/2023

Ngày duyệt đăng: 14/7/2023

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU CHỌN TẠO VÀ KHẢO NGHIỆM GIỐNG DƯA LÊ VÀNG LAI HAPPY 8

Ngô Thị Hạnh¹*, Nguyễn Thị Hồng Hạnh¹, Vũ Ngọc Huy¹

TÓM TẮT

Giống dưa lê vàng Happy 8 được chọn tạo từ tổ hợp lai (THL) P3-3-1/P17-11-7-6 có thời gian sinh trưởng 70 - 80 ngày, cho thu quả sớm sau trồng từ 60 - 65 ngày, sai quả đạt 4,7 - 6,5 quả/cây, khối lượng quả trung bình 470 - 526 g, năng suất cao trong cả vụ xuân hè và vụ thu đông trồng trong nhà màng đạt 30,8 - 34,2 tấn/ha. Quả hình trụ, màu vàng đậm sọc trắng đẹp, chất lượng quả ăn giòn, ngọt (tổng chất rắn hòa tan - TSS > 14⁰Brix), có mùi thơm. Giống có khả năng chịu nóng và chịu bệnh tốt, đặc biệt là bệnh phấn trắng. Giống dưa lê vàng Happy 8 thể hiện sự ổn định tại các mùa vụ và các điểm khảo nghiệm vùng sinh thái.

Từ khóa: Chọn tạo, dưa lê vàng, Happy 8, khảo nghiệm.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Dưa lê vàng (*Cucumis melo* L. var.makuwa) là cây rau ăn quả ngắn ngày, có chất lượng và giá trị kinh tế và giá trị dược lý cao trong nhóm cây rau họ bầu bí (Cucurbitaceae). Nếu so với các loại rau củ quả khác, dưa lê vàng có chứa nhiều vitamin, chất khoáng và năng lượng, do đó đây là một loại rau ăn quả có giá trị thực phẩm cao. Trong 100 g dưa lê chứa 6 mg canxi, 79 mg photpho, 3,2 mg sắt, 6 (RE) vitamin A, 21 mg vitamin C, phần ăn được cao đạt > 85%. Hơn nữa, dưa lê vàng có vị ngọt mát nên được coi là loại quả phổ biến vào mùa hè.

Tại Việt Nam, cây dưa lê là cây chịu nóng nên có thể trồng quanh năm tại các tỉnh phía Nam và thích hợp trồng trong vụ xuân hè, vụ hè và vụ thu tại các tỉnh phía Bắc. Theo số liệu thống kê năm 2021, tổng diện tích gieo trồng các chủng loại dưa nói chung (bao gồm dưa hấu, dưa lê và dưa lưới) là 58.800 ha với tổng sản lượng đạt 1.390.500 tấn. Trong đó, cây dưa lê và dưa lưới đạt 5.200 ha gieo trồng và đạt sản lượng là 105.200 tấn (chỉ chiếm khoảng 9% tổng diện tích gieo trồng và 7,6% về tổng sản lượng của cây dưa nói chung) [1].

Trong sản xuất hiện nay, mới có 3 giống dưa lê vàng được công nhận chính thức. Trong đó, một

giống dưa lê vàng Super 007 (giống nhập từ Hàn Quốc), đây là sản phẩm của chương trình hợp tác giữa Viện Khoa học Nông nghiệp Việt Nam và Tổng cục Nông nghiệp Hàn Quốc, được Viện Nghiên cứu Rau quả khảo nghiệm, đánh giá và công nhận giống cho phát triển mở rộng tại Việt Nam năm 2017 [2]. Hai giống dưa lê vàng lai F1 Happy 6 và Happy 7, được Viện Nghiên cứu Rau quả đã chọn tạo thành công giai đoạn 2010 - 2021 [3]. Ngoài ra, các giống dưa lê địa phương của thành phố Hà Nội, tỉnh Hải Dương có năng suất thấp, thịt quả mỏng, quả mềm, nhiều nước, chất lượng chưa cao. Các giống dưa lê nhập nội từ nước ngoài cho năng suất cao, tuy nhiên thường mắc cảm với bệnh phấn trắng [4].

Từ nguồn gen các giống dưa lê trong nước và nguồn gen dưa lê vàng nhập nội, Viện Nghiên cứu Rau quả đã sử dụng làm nguồn vật liệu khởi đầu trong công tác lai tạo giống dưa mới, trong đó có nguồn gen dưa lê vàng Hàn Quốc. Các giống dưa lê vàng Hàn Quốc có nhiều ưu điểm vượt trội so với các giống dưa lê hiện đang trồng đại trà ngoài sản xuất ở Việt Nam. Giống Super 007 đang được phát triển tại nhiều tỉnh, thành trong cả nước như: Hà Nội, Bắc Giang, Hải Dương, Vĩnh Phúc, Thái Bình, Thanh Hóa, Thái Nguyên ... [5]. Tuy nhiên, giá hạt giống nhập nội cao, nguồn hạt giống không ổn định. Để góp phần hạn chế nhập nội hạt giống, tăng khả năng thích ứng của giống, tăng hiệu quả cho người sản xuất, đáp ứng yêu cầu của thị

¹ Viện Nghiên cứu Rau quả
* Email: ngthanh@gmail.com

trường tiêu thụ trong nước, tiến tới xuất khẩu, việc nghiên cứu chọn tạo giống dưa lê vàng mới đáp ứng yêu cầu sản xuất trong nước là rất cần thiết.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

- 15 THL được lựa chọn từ thí nghiệm đánh giá khả năng kết hợp riêng của 8 dòng dưa lê vàng tự phối ưu tú: Ký hiệu từ THL1 đến THL15.

- 10 THL ưu tú được lựa chọn trong 15 THL trên, bao gồm: THL2, THL3, THL5, THL8, THL9, THL10, THL11, THL12, THL13, THL14.

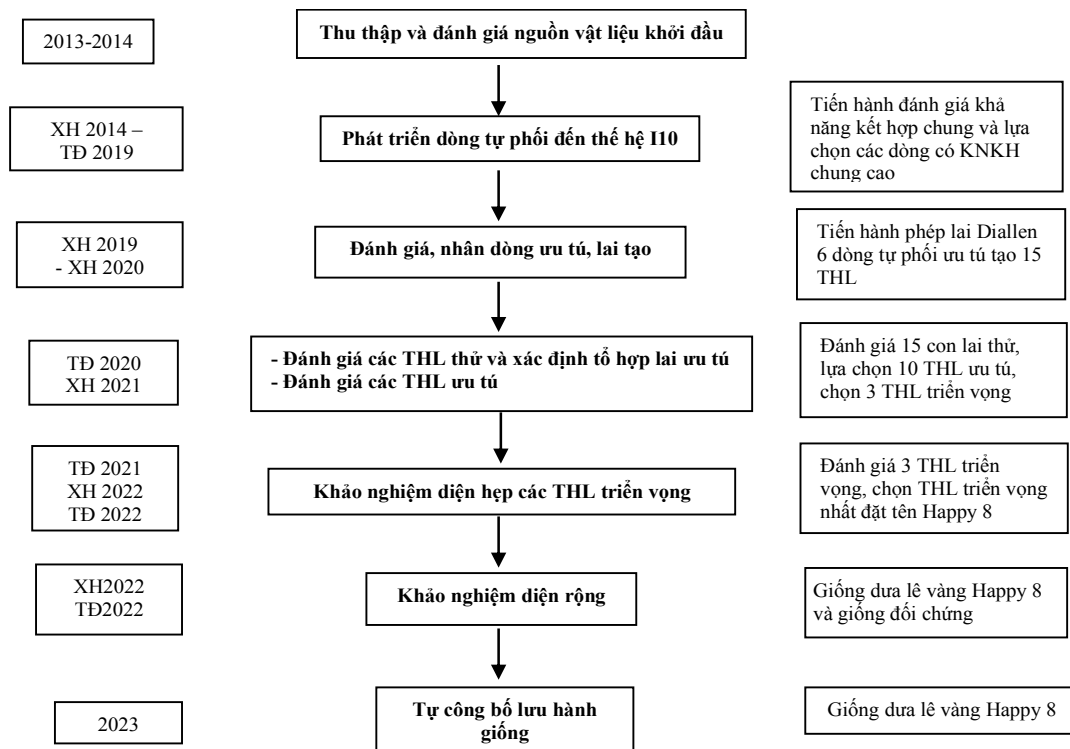
- 3 THL triển vọng được lựa chọn trong 10 THL tham gia khảo nghiệm diện hẹp bao gồm: THL9, THL12 và THL13.

- 1 THL triển vọng nhất là THL9 (đặt tên Happy 8) được lựa chọn khảo nghiệm diện rộng.

- Giống đối chứng: Giống Super 007 - dạng dưa lê vàng nhập nội từ Hàn Quốc; giống Ngân Huy - dạng dưa lê ta của Công ty Nông Hữu.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Sơ đồ chọn tạo giống dưa lê vàng Happy 8



2.2.2. Bố trí thí nghiệm đồng ruộng

- Các thí nghiệm so sánh đánh giá và khảo nghiệm diện hẹp các THL được bố trí theo khối ngẫu nhiên đầy đủ với 3 lần nhắc lại. Diện tích ô thí nghiệm là 15 m² (1,5 m x 10 m), trồng 2 hàng/luống, khoảng cách trồng 70 cm x 45 cm (mật độ 30.000 cây/ha), trong nhà màng.

- Các thí nghiệm khảo nghiệm diện rộng (vùng sinh thái): Được bố trí theo phương pháp ô lớn, diện tích khảo nghiệm 1.000 m²/giống, trong nhà màng.

Phương pháp khảo nghiệm theo TCCS 01: 2021/RGV-VQR [6].

- Biện pháp kỹ thuật: Áp dụng biện pháp kỹ thuật trồng, chăm sóc và phòng trừ sâu, bệnh theo Quy trình kỹ thuật sản xuất dưa lê vàng ứng dụng công nghệ cao của Viện Nghiên cứu Rau quả (2019) [7]. Phân bón cho 1 ha: Phân hữu cơ hoai mục 30 tấn/ha, NPK tan nhanh: N - P₂O₅ - K₂O = 150 + 70 + 180 (kg).

Các chỉ tiêu theo dõi:

Đặc điểm sinh trưởng, phát triển, đặc điểm ra

hoa và đậu quả, khả năng chống chịu bệnh, các yếu tố cấu thành năng suất, năng suất và chất lượng quả.

Theo dõi mức độ nhiễm bệnh sương mai (*Pseudoperonospora cubensis*) và phấn trắng (*Erysiphe cichoracearum*) bằng cách cho điểm theo TCCS 01: 2021/RGV-VQR [6].

- 0: Không có triệu chứng; 1: Nhẹ 1 - 19% diện tích lá bị nhiễm; 2: Trung bình 20 - 39% diện tích lá bị nhiễm; 3: Nặng 40 - 69% diện tích lá bị nhiễm; 4: Rất nặng >70% diện tích lá bị nhiễm.

Theo dõi tỷ lệ nhiễm bệnh do virus bằng cách tính % số cây bị hại:

$$\text{Tỷ lệ bệnh (\%)} = \frac{\text{Số cây bị hại/ô}}{\text{Tổng số cây/ô}} \times 100$$

Xử lý số liệu:

- Các số liệu thu thập ở các thí nghiệm so sánh giống được xử lý theo phương pháp thống kê sinh học IRRISTAT 5.0

- Tính ưu thế lai (UTL):

$$\text{UTL chuẩn: } H_s (\%) = \frac{F_1 - S_x}{S} \times 100$$

Trong đó: H_s là UTL chuẩn; F_1 là số đo tính trạng của con lai F_1 ; S là số đo tính trạng của giống đối chứng.

2.3. Thời gian và địa điểm nghiên cứu

Thí nghiệm so sánh, đánh giá các THL được thực hiện trong vụ thu đông, gieo hạt ngày 25 tháng 8 năm 2020 và vụ xuân hè, gieo hạt ngày 5 tháng 3 năm 2021, tại huyện Gia Lâm, thành phố Hà Nội.

Thí nghiệm khảo nghiệm diện hẹp các THL được thực hiện trong vụ thu đông gieo hạt ngày 25 tháng 8 năm 2021, xuân hè gieo hạt ngày 5 tháng 3 năm 2022 và vụ đông gieo hạt ngày 20 tháng 8 năm 2022, tại huyện Gia Lâm, thành phố Hà Nội.

Thí nghiệm khảo nghiệm diện rộng các THL được thực hiện trong vụ xuân hè gieo hạt ngày 5 tháng 3 năm 2022 và vụ đông gieo hạt ngày 25 tháng 8 năm 2022, tại xã Yên Thường, huyện Gia Lâm, thành phố Hà Nội và xã Phạm Trán, huyện Gia Lộc, tỉnh Hải Dương.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Kết quả lai tạo và đánh giá các THL

Trong nguồn vật liệu chọn tạo giống đưa lên tại Viện Nghiên cứu Rau quả đã lựa chọn được 6 dòng đưa lên vàng tự phối có độ thuần cao (thế hệ I10) để thử khả năng kết hợp riêng bằng phương pháp luân giao (diallel) theo sơ đồ Griffing 4 thu được 15 THL đưa lên vàng mới tham gia thí nghiệm so sánh đánh giá trong vụ đông năm 2020 tại huyện Gia Lâm, thành phố Hà Nội, được trình bày ở bảng 1.

Bảng 1. Các yếu tố cấu thành năng suất và năng suất của các THL đưa lên vàng trong vụ thu đông năm 2020 tại huyện Gia Lâm, thành phố Hà Nội

Tổ hợp lai	Số quả/cây	Khối lượng trung bình quả (g)	NSLT (tấn/ha)	NSTT (tấn/ha)
THL1	3,70	487,4	23,4	20,2
THL2	3,50	554,4	25,2	21,9
THL3	4,80	631,4	39,4	33,5
THL4	3,70	488,3	23,5	20,9
THL5	3,60	516,7	24,2	20,1
THL6	3,90	577,3	29,3	24,9
THL7	3,30	596,3	25,6	20,7
THL8	5,30	548,0	37,8	31,7

THL9	6,90	485,3	43,5	34,8
THL10	3,80	564,3	27,9	22,6
THL11	5,10	456,3	30,3	24,8
THL12	4,70	612,5	37,4	31,8
THL13	4,20	508,0	27,7	22,7
THL14	4,90	447,3	28,5	25,1
THL15	3,00	389,7	15,2	17,7
Super 007 (ĐC)	4,60	496,7	29,7	24,1
Ngân Huy (ĐC)	4,20	381,3	20,8	17,7
<i>CV (%)</i>	<i>7,7</i>	<i>8,6</i>		<i>13,4</i>
<i>LSD_{0,05}</i>	<i>0,47</i>	<i>9,75</i>		<i>1,4</i>

Ghi chú: NSLT là năng suất lý thuyết; NSTT là năng suất thực thu; ĐC là đối chứng.

Số quả trên cây và khối lượng quả là 2 chỉ tiêu quan trọng quyết định năng suất của giống. Số quả/cây từ 3,00 - 6,90 quả/cây. Các THL có số quả/cây cao và cao hơn đối chứng (ĐC) như: THL9 đạt 6,90 quả/cây; THL8 đạt 5,30 quả/cây, trong khi Super 007 (ĐC) đạt 4,60 quả/cây, Ngân Huy (ĐC) đạt 4,20 quả/cây. Khối lượng trung bình quả dao động từ 381,3 - 631,4 g, thấp nhất là giống

Ngân Huy (ĐC) đạt 381,3 g, cao nhất là THL3 đạt 631,4 g. Năng suất thực thu của các THL đạt từ 17,7 - 34,8 tấn/ha. Năng suất thực thu cao nhất thu được từ THL9 đạt 34,8 tấn/ha. Tất cả các THL cho năng suất thực thu cao hơn giống Ngân Huy (ĐC), trừ THL15. Các THL có năng suất cao hơn giống Super 007 (ĐC) đó là: THL3, THL8, THL9, THL11 và THL12.

Bảng 2. Giá trị ưu thế lai chuẩn (Hs) của tính trạng năng suất thực thu của các THL dưa lê vàng trong vụ thu đông năm 2020

Tổ hợp lai	Năng suất thực thu (tấn/ha)		
	Giá trị	Hs (so với Super 007)	Hs (so với Ngân Huy)
THL1	20,2	-16,2	14,1
THL2	21,9	-9,1	23,7
THL3	33,5	39,0	89,3
THL4	20,9	-13,3	18,1
THL5	20,1	-16,6	13,6
THL6	24,9	3,3	40,7
THL7	20,7	-14,1	16,9
THL8	31,7	31,5	79,1
THL9	34,8	44,4	96,6
THL10	22,6	-6,2	27,7

THL11	24,8	2,9	40,1
THL12	31,8	32,0	79,7
THL13	22,7	-5,8	28,2
THL14	25,1	4,1	41,8
THL15	17,7	-26,6	0,0
Super 007 (ĐC)	24,1		
Ngân Huy (ĐC)	17,7		

Giá trị ưu thế lai chuẩn Hs là chỉ tiêu quan trọng để đánh giá sự vượt trội của con lai về các tính trạng so giống đối chứng. Giá trị Hs có ý nghĩa thực tiễn nhằm xác định được các THL có ưu thế hơn so với giống hiện đang trồng phổ biến ngoài sản xuất. Đối với tính trạng năng suất thực thu, từ kết quả đánh giá khả năng kết hợp riêng và kết hợp cùng với các đặc điểm nông sinh học tốt

đã lựa chọn được 10 THL có khả năng sinh trưởng khỏe, cho năng suất cao như: THL2, THL3, THL5, THL8, THL9, THL10, THL11, THL12, THL13, THL14. 10 THL này được đưa vào so sánh ban đầu trong vụ xuân hè năm 2021.

3.2. Kết quả đánh giá so sánh các THL đưa lên vàng mới

Bảng 3. Đặc điểm nông sinh học của 10 THL đưa lên vàng mới trong vụ xuân hè năm 2021 tại huyện Gia Lâm, thành phố Hà Nội

TT	Tổ hợp lai	Dài quả (cm)	Đường kính quả (cm)	Dày thịt quả (cm)	TSS (°Brix)	Bệnh sương mai (điểm)	Bệnh phấn trắng (điểm)	Số quả/cây (quả)	Khối lượng quả (g)	Năng suất cá thể (g/cây)	Năng suất thực thu (tấn/ha)
1	THL2	15,7	9,25	2,00	12,7	2	2	4,9	460	2.254	24,3
2	THL3	15,2	8,80	2,03	12,9	1	2	4,2	480	2.016	21,5
3	THL5	16,5	9,73	2,13	13,8	2	2	5,2	510	2.652	28,7
4	THL8	15,4	8,90	2,03	13,1	2	1	4,4	430	1.892	21,6
5	THL9	17,7	9,76	2,30	13,5	1	1	6,0	470	2.820	30,5
6	THL10	16,7	9,73	2,16	13,2	2	1	5,1	440	2.244	25,4
7	THL6	13,8	8,37	1,92	13,3	2	2	4,8	490	2.352	26,0
8	THL12	17,5	9,75	2,31	13,7	1	1	6,6	490	3.234	31,7
9	THL13	16,9	8,67	2,29	14,0	1	1	6,5	480	3.120	30,3
10	THL14	17,5	9,73	2,16	13,9	1	1	5,8	490	2.842	29,8
11	Super 007 (ĐC)	16,6	8,43	2,12	13,2	2	2	5,0	452	2.260	25,2
	CV(%)	8,6	6,5	11,3				12,7	11,0		8,6
	LSD _{0,05}	0,63	0,4	0,76				0,2	8,3		3,2

Kết quả đánh giá về đặc điểm nông sinh học, khả năng chống chịu bệnh trên đồng ruộng và năng suất đã lựa chọn được 3 THL có triển vọng nhất đó là: THL9, THL12, THL13.

THL9 đạt 6,0 quả/cây, cho năng suất cá thể đạt 2,82 kg/cây và năng suất thực thu đạt 30,5 tấn/ha; THL12 đạt 6,6 quả/cây, cho năng suất cá thể đạt 3,23 kg/cây và năng suất thực thu đạt 31,7 tấn/ha; THL13 đạt 6,5 quả/cây, năng suất cá thể

đạt 3,12 kg/cây và năng suất thực thu đạt 30,3 tấn/ha.

Cả 3 THL: THL9, THL12, THL13 này đều có khả năng chống chịu trên đồng ruộng tốt với bệnh phấn trắng và bệnh sương mai và được lựa chọn để tham gia khảo nghiệm diện hẹp.

3.3. Kết quả khảo nghiệm diện hẹp cho các THL đưa lê vàng triển vọng

Bảng 4. Thời gian qua các giai đoạn sinh trưởng phát triển của các THL đưa lê vàng triển vọng qua các vụ khảo nghiệm tại huyện Gia Lâm, thành phố Hà Nội

TT	Tổ hợp lai	Trồng đến 50% ra hoa cái đầu (ngày)			Trồng đến thu quả đầu (ngày)			Trồng đến kết thúc thu (ngày)		
		Thu đông năm 2021	Xuân hè năm 2022	Thu đông năm 2022	Thu đông năm 2021	Xuân hè năm 2022	Thu đông năm 2022	Thu đông năm 2021	Xuân hè năm 2022	Thu đông năm 2022
1	THL9	31	33	30	63	65	62	70 - 75	75 - 80	70 - 75
2	THL12	29	32	30	58	64	60	70 - 75	75 - 80	70 - 75
3	THL13	30	33	30	59	65	60	70 - 75	75 - 80	70 - 75
4	Super 007 (ĐC)	29	32	30	65	65	62	70-75	75 - 80	70 - 75

Trong khảo nghiệm diện hẹp, thời gian sinh trưởng qua các giai đoạn của các THL đưa lê vàng mới không chênh lệch so với giống Super 007 (ĐC), chỉ trừ thời gian từ trồng đến thu quả đầu ở

vụ thu đông năm 2021. Các THL đưa lê vàng mới thu quả sớm hơn so với đối chứng từ 2 - 7 ngày. Trong vụ xuân hè các THL và giống đối chứng có thời gian sinh trưởng dài hơn so với vụ thu đông.

Bảng 5. Đặc điểm hình thái và chất lượng cảm quan của các THL đưa lê vàng triển vọng tại huyện Gia Lâm, thành phố Hà Nội

TT	Tổ hợp lai	Hình dạng quả	Màu sắc quả	Màu sắc thịt quả	Mùi thơm quả khi chín	TSS (°Brix)	Chất lượng cảm quan
1	THL9	Trụ khía nông	Vàng đậm, sọc trắng	Trắng kem	Thơm	14,7	Quả đặc, giòn ngọt
2	THL12	Trụ khía nông	Vàng đậm, sọc trắng	Trắng kem	Thơm	14,5	Quả đặc, giòn ngọt
3	THL13	Trụ khía nông	Vàng đậm, sọc trắng	Trắng kem	Thơm	14,2	Quả đặc, giòn ngọt
4	Super 007 (ĐC)	Trụ khía nông	Vàng, sọc trắng	Trắng kem	Thơm	13,5	Quả đặc, giòn ngọt

Về đặc điểm hình thái, các THL có hình dạng quả và màu sắc đẹp: Trụ, khía nông, quả vàng sọc trắng và vỏ có màu vàng đậm hơn so với giống đối chứng. Thịt quả của các THL và đối chứng đều có

màu trắng kem, thơm, tuy nhiên TSS của các THL đạt 14,2 - 14,7⁰Brix và cao hơn so với đối chứng đạt 13,5⁰Brix. Đây là các chỉ tiêu về chất lượng quả phù hợp với thị hiếu người tiêu dùng Việt Nam.

Bảng 6. Kích thước của các THL đưa lê vàng triển vọng qua các vụ khảo nghiệm tại huyện Gia Lâm, thành phố Hà Nội

TT	Tổ hợp lai	Dài quả (cm)			Đường kính quả (cm)			Dày thịt quả (cm)		
		Thu đông năm 2021	Xuân hè năm 2022	Thu đông năm 2022	Thu đông năm 2021	Xuân hè năm 2022	Thu đông năm 2022	Thu đông năm 2021	Xuân hè năm 2022	Thu đông năm 2022
1	THL9	17,55	18,1	17,8	9,25	9,1	9,3	2,0	2,2	2,0
2	THL12	17,80	18,6	18,1	8,65	8,2	8,8	2,3	2,3	2,2
3	THL13	17,56	18,3	17,7	9,41	9,0	9,5	2,2	2,2	2,2
4	Super 007 (ĐC)	16,50	17,2	16,2	8,32	8,2	8,1	2,1	2,1	2,1
	CV (%)	9,6	10,9	13,7	7,5	14,0	13,1	10,8	14,1	13,6
	LSD _{0,05}	0,53	0,34	1,30	0,36	0,68	1,30	0,66	0,18	0,30

Các THL đưa lê mới có chiều dài quả và đường kính quả cao hơn so với đối chứng. Độ dày thịt quả

của các THL và đối chứng không có sự chênh lệch nhiều từ 2,0 - 2,3 cm.

Bảng 7. Tình hình bệnh hại của các THL đưa lê vàng triển vọng qua các vụ khảo nghiệm tại huyện Gia Lâm, thành phố Hà Nội

TT	Tổ hợp lai	Bệnh sương mai (điểm)			Bệnh phấn trắng (điểm)		
		Thu đông năm 2021	Xuân hè năm 2022	Thu đông năm 2022	Thu đông năm 2021	Xuân hè năm 2022	Thu đông năm 2022
1	THL9	1	1	1	1	0	1
2	THL12	1	1	1	1	1	1
3	THL13	1	1	1	1	1	1
4	Super 007 (ĐC)	2	3	1	2	2	3

Trong cả 3 thời vụ, các THL đưa lê vàng đều thể hiện khả năng chống chịu bệnh phấn trắng và

bệnh sương mai trên đồng ruộng khá (nhiễm ở mức nhẹ điểm 1). Trong khi, giống đối chứng bị

nhễm bệnh sương mai và phấn trắng ở điểm 2 và sương mai ở điểm 1).
điểm 3 (trừ vụ thu đông năm 2022 bị nhiễm bệnh

Bảng 8. Các yếu tố cấu thành năng suất và năng suất của các THL đưa lê vàng triển vọng qua các vụ khảo nghiệm tại huyện Gia Lâm, thành phố Hà Nội

TT	Tổ hợp lai	Số quả/cây (quả)			Khối lượng quả (g)			Năng suất thực thu (tấn/ha)		
		Thu đông năm 2021	Xuân hè năm 2022	Thu đông năm 2022	Thu đông năm 2021	Xuân hè năm 2022	Thu đông năm 2022	Thu đông năm 2021	Xuân hè năm 2022	Thu đông năm 2022
1	THL9	6,5	5,9	6,3	470,0	495,6	510,0	32,3	33,2	33,1
2	THL12	6,8	5,3	6,5	480,0	476,2	520,0	31,6	31,9	32,2
3	THL13	6,4	5,2	6,1	475,0	494,9	490,0	30,2	31,7	31,5
4	Super 007 (ĐC)	5,1	4,6	4,7	455,0	486,5	470,0	24,4	26,4	26,2
	<i>CV(%)</i>	<i>7,1</i>	<i>8,4</i>	<i>9,2</i>	<i>11,2</i>	<i>11,7</i>	<i>12,3</i>	<i>8,6</i>	<i>9,0</i>	<i>9,1</i>
	<i>LSD_{0,05}</i>	<i>0,74</i>	<i>1,01</i>	<i>1,00</i>	<i>29,33</i>	<i>15,90</i>	<i>21,90</i>	<i>6,42</i>	<i>10,50</i>	<i>5,40</i>

Trong cả 3 vụ khảo nghiệm, các THL đưa lê vàng mới thể hiện khả năng sinh trưởng, phát triển và cho năng suất ổn định. Cả 3 THL đều cho số quả/cây cao hơn Super 007 (ĐC), tuy nhiên, khối lượng trung bình quả không có sự sai khác giữa tất cả các mẫu giống tham gia thí nghiệm. Về chỉ tiêu năng suất, 3 THL đưa lê vàng mới đều đạt năng suất cao, dao động từ 30,2 - 33,2 tấn/ha. Trong đó THL9 và THL12 cho năng suất cao nhất và cao hơn đối chứng. THL13 không có sự sai khác về năng suất so với giống đối chứng.

Qua kết quả khảo nghiệm diện hẹp tại huyện Gia Lâm, thành phố Hà Nội cho thấy: Các THL đưa lê vàng mới đều thể hiện khả năng sinh trưởng khỏe, cho năng suất, chất lượng tốt, chống chịu bệnh phấn trắng trên đồng ruộng khá. Trong đó, THL9 thể hiện nhiều ưu điểm vượt trội. THL9 được chọn từ cặp lai P3-3-1 x P 17-11-7-6 là THL triển vọng nhất và đặt tên là Happy 8 để tham gia khảo nghiệm diện rộng tại các vùng sinh thái.

3.4. Kết quả khảo nghiệm diện rộng của giống đưa lê lai triển vọng Happy 8

Bảng 9. Đặc điểm nông sinh học của giống đưa lê vàng lai Happy 8 tại các điểm khảo nghiệm sinh thái

Giống	Địa điểm	Thời gian từ trồng đến (ngày)		Thời gian sinh trưởng (ngày)	Bệnh giả sương mai (điểm)	Bệnh phấn trắng (điểm)
		Ra hoa cái đầu	Thu quả đầu			
Vụ xuân hè năm 2022						
Happy 8	Huyện Gia Lộc, tỉnh Hải Dương	32	65	80	1	1
Super 007 (ĐC)		32	65	75	2	2
Happy 8	Huyện Gia Lâm, thành phố Hà Nội	33	66	80	1	0
Super 007 (ĐC)		32	65	75	1	1

Vụ thu đông năm 2022						
Happy 8	Huyện Gia Lộc, tỉnh Hải Dương	31	65	80	1	1
Super 007 (ĐC)		29	65	75	1	2
Happy 8	Huyện Gia Lâm, thành phố Hà Nội	30	65	80	1	1
Super 007 (ĐC)		28	65	73	1	3

Giống dưa lê vàng Happy 8 thể hiện sinh trưởng, phát triển phù hợp với vùng trồng, ra hoa và cho thu hoạch quả sớm, chỉ sau trồng 65 - 66 ngày, tổng thời gian sinh trưởng 80 ngày. Giống Happy 8 có khả năng chống chịu bệnh trên đồng ruộng khá, không bị nhiễm hoặc nhiễm nhẹ với

bệnh sương mai và bệnh phấn trắng (điểm 1), trong khi giống Super 007 (ĐC) nhập khẩu bị nhiễm bệnh nặng hơn với bệnh sương mai điểm 2 (vụ xuân hè năm 2022 tại tỉnh Hải Dương) và bệnh phấn trắng điểm 3 (vụ thu đông năm 2022 tại thành phố Hà Nội).

Bảng 10. Đặc điểm quả của giống dưa lê vàng lai Happy 8 tại các điểm khảo nghiệm sinh thái

Giống	Địa điểm	Chiều dài quả (cm)	Chiều rộng quả (cm)	Màu sắc quả chín	TSS (°Brix)
Vụ xuân hè năm 2022					
Happy 8	Huyện Gia Lộc, tỉnh Hải Dương	18,1	9,0	Vàng đậm, sọc trắng	14,3
Super 007 (ĐC)		17,8	8,2	Vàng nhạt, sọc trắng	13,2
Happy 8	Huyện Gia Lâm, thành phố Hà Nội	17,9	8,6	Vàng đậm, sọc trắng	14,5
Super 007 (ĐC)		17,2	8,0	Vàng nhạt, sọc trắng	13,3
Vụ thu đông năm 2022					
Happy 8	Huyện Gia Lộc, tỉnh Hải Dương	17,6	9,1	Vàng đậm, sọc trắng	14,2
Super 007 (ĐC)		16,7	8,2	Vàng nhạt, sọc trắng	13,0
Happy 8	Huyện Gia Lâm, thành phố Hà Nội	17,9	8,9	Vàng đậm, sọc trắng	14,3
Super 007 (ĐC)		16,1	8,0	Vàng nhạt, sọc trắng	13,5

Tại các điểm khảo nghiệm cả giống Happy 8 và giống Super 007 (ĐC) đều có quả dạng trụ. Giống Happy 8 màu sắc quả khi chín vàng đậm, sọc trắng, trong khi Super 007 (ĐC) có quả màu

vàng nhạt, sọc trắng. Đặc biệt giống Happy 8 có TSS đều đạt 14,2 - 14,5°Brix, ngọt đậm, trong khi giống đối chứng ngọt dịu có TSS đạt 13,0 - 13,5°Brix.

Bảng 11. Yếu tố cấu thành năng suất, năng suất của giống dưa lê vàng lai Happy 8 tại các điểm khảo nghiệm sinh thái

Giống	Địa điểm	Số quả/cây (quả)	Khối lượng quả (g)	Năng suất thực thu (tấn/ha)	Chênh lệch về năng suất (%)
Vụ xuân hè năm 2022					
Happy 8	Huyện Gia Lộc, tỉnh Hải Dương	4,7	522	34,2	21,7
Super 007 (ĐC)		3,1	495	28,1	

Happy 8	Huyện Gia Lâm, thành phố Hà Nội	5,8	515	31,4	19,4
Super 007 (ĐC)		3,6	522	26,3	
Vụ thu đông năm 2022					
Happy 8	Huyện Gia Lộc, tỉnh Hải Dương	5,6	526	33,2	28,2
Super 007 (ĐC)		4,3	487	25,9	
Happy 8	Huyện Gia Lâm, thành phố Hà Nội	5,9	521	30,8	23,2
Super 007 (ĐC)		4,4	492	25,0	

Trong vụ xuân hè năm 2022, tại các điểm khảo nghiệm, năng suất của giống dưa lê vàng Happy 8 đạt 31,4 - 34,2 tấn/ha vượt 19,4 - 21,7% so với giống Super 007 (ĐC) nhập nội.

Tương tự như vụ xuân hè năm 2022, trong vụ thu đông năm 2022, tại các điểm khảo nghiệm, năng suất Happy 8 đạt 30,8 - 33,2 tấn/ha vượt giống đối chứng từ 23,2 - 28,2%.

Giống dưa lê vàng Happy 8 sinh trưởng cũng như cho năng suất ổn định tại các vùng sinh thái qua các năm khảo nghiệm. Giống đã được người sản xuất và người tiêu dùng tỉnh Hải Dương và thành phố Hà Nội đón nhận.

4. KẾT LUẬN

Giống dưa lê vàng lai F1 Happy 8 được lai tạo từ cặp lai cặp lai P3-3-1 x P 17-11-7-6. Giống có khả năng sinh trưởng, khả năng chống chịu bệnh giả sương mai và phấn trắng trên đồng ruộng khá (nhẹ tại điểm 1). Giống cho số quả/cây cao đạt 4,7 - 6,5 quả, khối lượng quả trung bình 470 - 526 g. Năng suất đạt 30,8 - 34,2 tấn/ha vượt hơn giống Super 007 (ĐC) nhập nội từ 19,4 - 21,7% (vụ xuân hè năm 2022) và 23,2 - 28,2% (vụ thu đông năm 2022). Quả dạng hình trụ, quả chín có màu vàng đậm sọc trắng đẹp, chất lượng quả ăn giòn, ngọt đậm và thơm, TSS đạt > 14^oBrix. Giống dưa lê vàng lai Happy 8 phù hợp với điều kiện sinh thái các vùng khảo nghiệm, được người sản xuất và người tiêu dùng đón nhận và đề nghị bổ sung vào bộ giống dưa thơm cho sản xuất.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Tổng cục Thống kê (2022). *Niên giám thống kê năm 2021*. Nxb Thống kê, Hà Nội.

2. Ngô Thị Hạnh, Lê Thị Tình, Trần Thị Hồng, Phạm Thị Minh Huệ, Hoàng Minh Châu (2017). Kết quả tuyển chọn và phát triển các giống dưa lê triển vọng của Hàn Quốc cho các tỉnh phía Bắc. *Tạp chí Nông nghiệp và PTNT*. Chuyên đề Giống cây trồng và vật nuôi, tập 2, tháng 12, 91 - 96.

3. Ngô Thị Hạnh, Nguyễn Thị Hồng Hạnh, Trần Thị Hồng, Phạm Thị Minh Huệ, Vũ Ngọc Huy (2020). Kết quả nghiên cứu chọn tạo giống dưa lê vàng lai. *Tạp chí Nông nghiệp và PTNT*. Chuyên đề Khoa học Công nghệ rau hoa quả phục vụ tái cơ cấu ngành nông nghiệp, tháng 3, 111 - 117.

4. Vũ Văn Liết, Hoàng Đăng Dũng (2012). Đánh giá sinh trưởng, phát triển và năng suất của một số giống dưa lê nhập nội từ Trung Quốc tại Gia Lâm, Hà Nội. *Tạp chí Khoa học và Phát triển*, tập 10 (số 2), 238 - 243.

5. Lê Kiều Oanh, Ngô Thị Hạnh, Trần Đình Hà (2018). Nghiên cứu khả năng sinh trưởng, năng suất và chất lượng một số giống dưa lê Hàn Quốc tại tỉnh Thái Nguyên. *Tạp chí Nông nghiệp và PTNT*. Chuyên đề Phát triển nông nghiệp bền vững khu vực Trung du miền núi phía Bắc, tháng 11, 74 - 81.

6. Tiêu chuẩn cơ sở TCCS 01: 2021/RGV-VQR về khảo nghiệm giá trị canh tác, giá trị sử dụng và chất lượng hạt giống cây dưa lê.

7. Viện Nghiên cứu Rau quả (2019). *Quyết định số 13/QĐ-VRQ-KH ngày 07 tháng 1 năm 2019 quy trình kỹ thuật sản xuất dưa lê vàng ứng dụng công nghệ cao*.

RESULTS OF BREEDING AND TESTING OF THE YELLOW ORIENTAL MELON HYBRID HAPPY 8**Ngo Thi Hanh¹, Nguyen Thi Hong Hanh¹, Vu Ngoc Huy¹***¹Fruit and Vegetable Research Institute***Summary**

The yellow Oriental melon variety Happy 8 was bred from the hybrid combination P3-3-1/P17-11-7-6, vigorous growth, total growing period ranging from 70 - 80 days. The first fruit harvest at 60 - 65 days after planting. Each plant bears 4.7 - 6.5 fruits, with the average fruit weight at 470 - 526 g. The cultivar can be cultivated in both spring - summer and autumn-winter season in greenhouses, yielding 30.8 - 34.2 tonnes/ha. The fruit is cylindrical shape, with beautiful dark yellow and white stripes, sweet and crispy flesh (SSC > 14⁰Brix), fragrant. The cultivar performs good heat and disease tolerance, especially powdery mildew. The yellow melon Happy 8 was recorded with high stability in different growing seasons and the ecological conditions.

Keywords: *Breeding, yellow Oriental melon, Happy 8, testing.*

Người phản biện: GS.TS. Trần Khắc Thi

Ngày nhận bài: 30/6/2023

Ngày thông qua phản biện: 26/7/2023

Ngày duyệt đăng: 31/7/2023

PHÂN LẬP, TUYỂN CHỌN CÁC CHỦNG VI SINH VẬT ĐỐI KHÁNG VÀ PHÂN GIẢI TINH BỘT TỪ CÁC MẪU ĐẤT THU THẬP TẠI LÀO

Lê Thị Thanh Thủy^{1,*}, Lê Như Kiều¹, Lương Đức Toàn¹,
Nguyễn Thị Thu Hằng¹, Đỗ Văn Thuận¹, Phonepaseut Syha²

TÓM TẮT

Mục tiêu của nghiên cứu là bổ sung các vi sinh vật hữu ích cho bộ sưu tập vi sinh vật của Việt Nam và Cộng hòa Dân chủ Nhân dân (CHDCND) Lào, phục vụ công tác nghiên cứu, sử dụng trong sản xuất nông nghiệp của hai nước. Bài báo trình bày kết quả phân lập và tuyển chọn các chủng vi khuẩn có khả năng đối kháng vi khuẩn *Ralstonia solanacearum*, nấm *Fusarium oxysporum* và phân giải tinh bột từ 150 mẫu đất thu thập tại tỉnh Sayaboury, Luangnamtha và Bokeo, CHDCND Lào. Kết quả đã lựa chọn được 17 chủng vi khuẩn có hoạt tính đối kháng, trong đó, 6 chủng ký hiệu SA21, SA35, BK50, LN06, LN07 và LN92 có hoạt tính cao nhất với đường kính vòng đối kháng đạt từ 14 - 19 mm đối với vi khuẩn *R. solanacearum* và từ 19 - 23 mm đối với nấm *F. oxysporum*. 6 chủng vi khuẩn này đồng thời có khả năng phân giải tinh bột với đường kính vòng phân giải đạt 22 - 26 mm. Các chủng vi khuẩn tuyển chọn có hiệu quả phòng trừ đạt 54,5-63,7% đối với bệnh do vi khuẩn *R. solanacearum* gây ra và 52,4 - 62% đối với bệnh do nấm *F. oxysporum* gây ra. Trong điều kiện sử dụng tổ hợp các vi sinh vật đối kháng tuyển chọn, hiệu quả phòng trừ đạt 81,8% đối với bệnh do vi khuẩn *R. solanacearum* và 71,4% đối với bệnh do nấm *F. oxysporum* gây ra. Các chủng vi khuẩn tuyển chọn được định danh là *Bacillus amyloliquefaciens* BK50; *Bacillus subtilis* LN06; *Bacillus subtilis* BK98; *Bacillus siamensis* LN07; *Bacillus subtilis* SA21, *Pseudomonas fluorescens* SA35 và được xác định thuộc nhóm vi khuẩn an toàn sinh học cấp độ 1, được phóng thích không hạn chế vào môi trường.

Từ khóa: Vi sinh vật đối kháng *R. solanacearum*, vi sinh vật đối kháng *F. oxysporum*, vi sinh vật phân giải tinh bột, định danh bằng kỹ thuật giải trình tự gen, kiểm soát sinh học.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Sử dụng vi sinh vật trong sản xuất phân bón hữu cơ/chế phẩm vi sinh phục vụ nông nghiệp theo hướng hữu cơ đã và đang trở thành xu hướng trên toàn cầu. Để đáp ứng nhu cầu trên, các nhà khoa học trên thế giới cũng như Việt Nam đã tập trung nghiên cứu tạo ra nhiều loại phân bón hữu cơ, chế phẩm sinh học có chất lượng tốt, an toàn sinh học, cung cấp dinh dưỡng và nhiều loại vi sinh vật có lợi cho đất, phòng trừ các tác nhân gây bệnh hại cây trồng, giúp cây phát triển tốt hơn, an

toàn với môi trường sinh thái, phù hợp với xu hướng an toàn nông nghiệp hiện nay [1-4]. Tuy nhiên, tại CHDCND Lào việc nghiên cứu, sản xuất và sử dụng phân hữu cơ còn rất hạn chế, trong khi đó nguyên liệu để sản xuất phân hữu cơ tương đối dồi dào như phân chuồng, than bùn, xác bã thực vật,... chưa được tận dụng hiệu quả. Trong sản xuất người dân thường sử dụng thuốc bảo vệ thực vật hóa học để phòng trừ bệnh cây trồng như bệnh héo dưa chuột, cà chua, ớt, dưa hấu, thối rễ cây trồng như cam, xoài.... và chưa có chế phẩm sinh học.

Những năm gần đây được sự giúp đỡ của Viện Thổ nhưỡng Nông hóa (Bộ Nông nghiệp và PTNT Việt Nam), Bộ Khoa học và Công nghệ Việt Nam, Phòng thí nghiệm nghiên cứu vi sinh vật nông

¹ Viện Thổ nhưỡng Nông hóa

² Sở Nông Lâm nghiệp tỉnh Sayaboury, Lào

*Email: lethuysfri@gmail.com

nghiệp tại tỉnh Sayaboury, CHDCND Lào đã được xây dựng với đầy đủ máy móc, trang thiết bị. Nghiên cứu phân lập, tuyển chọn các chủng vi khuẩn đối kháng *Ralstonia solanacearum*, *Fusarium oxysporum* và vi sinh vật phân giải tinh bột từ các mẫu đất thu thập tại tỉnh Sayaboury, Luangnamtha và Bokeo, CHDCND Lào đã được thực hiện với mục tiêu nâng cao trình độ cán bộ nghiên cứu của Lào và bổ sung các chủng vi sinh vật hữu ích vào bộ sưu tập của Việt Nam cũng như Lào, phục vụ công tác nghiên cứu và sử dụng trong sản xuất nông nghiệp của hai nước.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Vi khuẩn đối kháng được phân lập từ các mẫu đất trồng rau cải, cam, dưa hấu theo phương pháp 2 lớp thạch [5] và đánh giá hoạt tính đối kháng vi khuẩn *R. solanacearum* Smith theo TCVN 9300: 2014 [6], nấm *F. oxysporum* theo TCVN 8566: 2010 [7].

Hiệu quả phòng trừ bệnh được đánh giá thông qua thí nghiệm trong nhà lưới, nhắc lại 3 lần, mỗi lần nhắc 01 chậu chứa 15 kg đất đã khử trùng. Thí nghiệm gồm 8 công thức: CT1: Đối chứng (không nhiễm vi sinh vật); CT2: Nhiễm chủng SA21; CT3: Nhiễm chủng SA35; CT4: Nhiễm chủng BK50; CT5: Nhiễm chủng LN06; CT6: Nhiễm chủng LN07; CT7: Nhiễm chủng LN92; CT8: Nhiễm hỗn hợp 6 chủng SA21, SA35, BK50, LN06, LN07 và LN92. Hạt cà chua ngâm ủ đến khi nứt nanh được trộn với dịch vi khuẩn đối kháng có mật độ 10^8 cfu/ml. Gieo 10 hạt/chậu, tía bớt khi cây mọc để lại 5 cây/chậu và nhiễm bổ sung 70 ml dịch vi khuẩn đối kháng, mật độ 10^8 cfu/ml bằng cách tưới vào đất quanh vùng rễ cây. Khi cây có 4 - 5 lá thật (khoảng 20 ngày sau trồng), tiến hành lây bệnh nhân tạo bằng cách tưới 70 ml/cây dung dịch vi khuẩn *R. solanacearum*/nấm *F. oxysporum* chứa 10^8 cfu/ml vào xung quanh đất vùng rễ cây. Theo dõi, ghi chép số cây bị bệnh tại các thời điểm 15, 30, 45 và 60 ngày sau khi lây nhiễm bệnh nhân tạo và đánh giá % tỷ lệ bệnh (TLB), hiệu quả phòng trừ (HQPT) của các vi khuẩn đối kháng sau 60 ngày. Tỷ lệ bệnh và hiệu quả phòng trừ được tính theo công thức công thức dưới đây theo TCVN 12561: 2018 [8].

$$TLB (\%) = \frac{\text{Số cây bị bệnh}}{\text{Tổng số cây thí nghiệm}} \times 100$$

$$HQPT (\%) = \frac{DC - CT}{DC} \times 100$$

Trong đó: CT là TLB% ở công thức sử dụng vi sinh vật đối kháng và DC là TLB% ở công thức đối chứng. Số liệu thí nghiệm được xử lý thống kê bằng phần mềm Excel.

Hoạt tính phân giải tinh bột của các chủng vi sinh vật được kiểm tra, đánh giá theo Hà Thanh Toàn và cs (2008) [9], trong đó các chủng vi khuẩn có hoạt tính đối kháng vi khuẩn *R. solanacearum*/nấm *F. oxysporum* được nuôi cấy trên môi trường đặc có thành phần: NH_4Cl 9,0 g, K_2HPO_4 0,5 g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,5 g, CaCO_3 3,0 g, glucose 20,0 g, tinh bột tan 10,0 g, agar 20 g, pH = 7,0. Đánh giá và xác định hoạt tính phân giải tinh bột của các chủng vi sinh vật nghiên cứu sau 3 ngày nuôi cấy thông qua đường kính vòng phân giải (vòng trong suốt xung quanh khuẩn lạc khi được nhuộm dung dịch Gram's Iodine).

Các vi sinh vật tuyển chọn được định danh bằng kỹ thuật giải trình tự gen, theo đó 30 mg sinh khối vi khuẩn được cho vào ống eppendorf loại 2,0 ml chứa 50 μl NaOH 0,5 M, nghiền mẫu và tách ADN [10], giải trình tự gen với cặp mồi 27F (5'-AGAGTTTGATCMTGGCTCAG-3') và 1525R (5'-AAGGAGGTGATCCAGCC-3') theo Weisburg (1991) [11], phân tích trình tự và phá hệ được thực hiện với các phần mềm ClustalW2 và MEGA 6.0 [12].

Cấp độ an toàn sinh học của các chủng vi khuẩn tuyển chọn được đánh giá theo hướng dẫn về an toàn sinh học của Bộ Y tế Hoa Kỳ năm 2020 [13].

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Phân lập, tuyển chọn vi khuẩn đối kháng

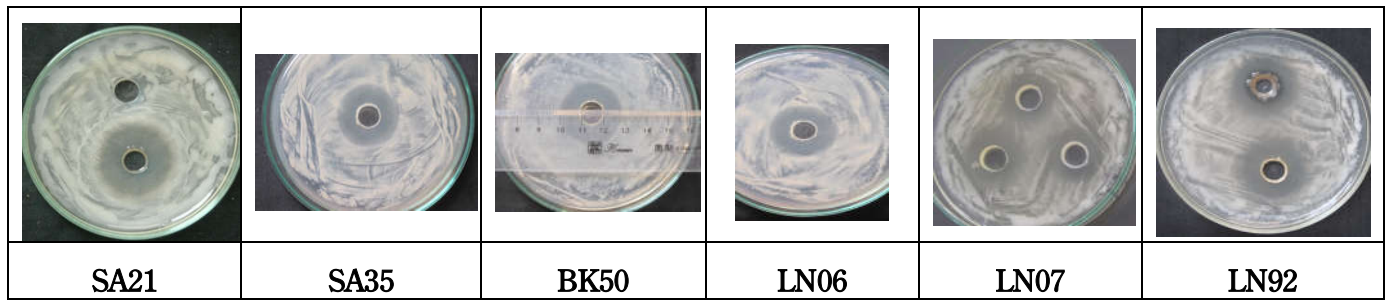
Kết quả phân lập, tuyển chọn các vi sinh vật đối kháng vi khuẩn *R. solanacearum* và nấm *F. oxysporum* từ 150 mẫu đất trồng thu thập tại 3 tỉnh Sayaboury, Luangnamtha, Bokeo, CHDCND Lào được tổng hợp trong bảng 1.

Bảng 1. Kết quả phân lập vi sinh vật đối kháng vi khuẩn, nấm bệnh từ đất trồng rau, cam và dưa hấu thu thập ở CHDCND Lào

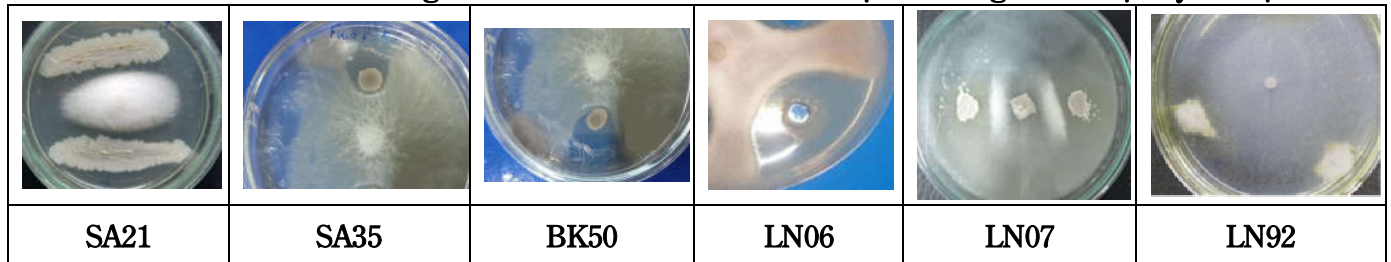
TT	Ký hiệu chủng	Địa điểm phân lập (bản, huyện, tỉnh)	Cây trồng	Đường kính vòng đối kháng (mm)	
				<i>R. solanacearum</i>	<i>F. oxysporum</i>
1	SA21	Houychuaoang, Hongsa, Sayaboury	Rau	19 ± 0,29	23 ± 0,30
2	SA26	Houydou, Hongsa, Sayaboury	Rau	18 ± 0,25	22 ± 0,15
3	SA35	Donmoune, Ngeun, Sayaboury	Rau	18 ± 0,31	22 ± 0,31
4	SA78	Nongbouaxay, Phieng, Sayaboury	Rau	18 ± 0,15	23 ± 0,21
5	SA80	Nongbouathong, Phieng, Sayaboury	Rau	18 ± 0,31	21 ± 0,26
6	SA100	Houa na, Xienghon, Sayaboury	Rau	17 ± 0,21	23 ± 0,36
7	BK50	Namxeo, Huoixai, Bokeo	Cam	18 ± 0,25	22 ± 0,15
8	BK58	Don kham, Houixai, Bokeo	Rau	18 ± 0,15	23 ± 0,29
9	BK67	Nongxai, Houixai, Bokeo	Cam	19 ± 0,21	23 ± 0,38
10	BK91	Don pao, Phaoudo, Bokeo	Rau	17 ± 0,10	22 ± 0,15
11	BK98	Mai, Phaoudo, Bokeo	Rau	18 ± 0,21	22 ± 0,29
12	LN04	Pakha, Sing, Luang Namtha	Rau	15 ± 0,15	21 ± 0,31
13	LN06	Houayluangkao, Sing, Luang Namtha	Rau	18 ± 0,10	22 ± 0,32
14	LN07	Houayluangkao, Sing, Luang Namtha	Dưa hấu	14 ± 0,25	19 ± 0,15
15	LN15	Don chai, Sing, Luang Namtha	Cam	15 ± 0,29	19 ± 0,10
16	LN59	Namkhem, Namtha, Luang Namtha	Cam	17 ± 0,15	21 ± 0,30
17	LN92	Thonglat, Viengphou, Luang Namtha	Cam	17 ± 0,31	22 ± 0,31

Số liệu ở bảng 1 cho thấy, trong tổng số 17 chủng vi sinh vật có khả năng đối kháng *R. solanacearum* và *F. oxysporum*, có 11 chủng phân lập được từ đất trồng rau cải, bao gồm các chủng ký hiệu SA21, SA26, SA35, SA78, SA80, SA100, BK58, BK91, BK98, LN04 và LN06 với đường kính vòng đối kháng đạt từ 15 ± 0,15 mm đến 19 ± 0,29 mm đối với vi khuẩn *R. solanacearum* và từ 21 ± 0,26 mm đến 23 ± 0,30 mm đối với nấm *F. oxysporum*; 01 chủng phân lập từ đất trồng dưa hấu ký hiệu LN07 với đường kính vòng đối kháng *R.*

solanacearum và *F. oxysporum* tương ứng 14 ± 0,25 mm và 19 ± 0,15 mm; 5 chủng phân lập từ đất trồng cam ký hiệu BK50, BK67, LN15, LN59 và LN92 với đường kính vòng đối kháng *R. solanacearum* và *F. oxysporum* tương ứng đạt 15 ± 0,29 mm - 19 ± 0,21 mm và 19 ± 0,10 mm - 23 ± 0,38 mm. Trong số 17 chủng vi sinh vật đối kháng phân lập, 6 chủng vi khuẩn ký hiệu SA21, SA35, BK50, LN06, LN07 và LN92 thể hiện hoạt tính đối kháng cao nhất (Hình 1, 2) và được sử dụng cho các nghiên cứu tiếp theo.



Hình 1. Hình ảnh đối kháng vi khuẩn *R. solanacearum* của một số chủng vi sinh vật tuyển chọn



Hình 2. Hình ảnh đối kháng nấm *F. oxysporum* của một số chủng vi sinh vật tuyển chọn

3.2. Khả năng phân giải tinh bột của các vi sinh vật đối kháng tuyển chọn

Bảng 2. Khả năng phân giải tinh bột của các chủng vi khuẩn đối kháng

TT	Chủng	Đường kính vòng phân giải tinh bột (mm)
1	SA21	$26 \pm 0,32$
2	SA35	$25 \pm 0,30$
3	BK50	$26 \pm 0,21$
4	LN06	$22 \pm 0,15$
5	LN07	$22 \pm 0,10$
6	LN92	$22 \pm 0,31$

Kết quả đánh giá khả năng phân giải tinh bột, nhằm lựa chọn các chủng có đa hoạt tính sinh học để sử dụng hiệu quả nhất trong sản xuất phân bón của 6 chủng vi sinh vật đối kháng tuyển chọn được tổng hợp trong bảng 2. Kết quả cho thấy, cả 6 chủng vi sinh vật đối kháng nghiên cứu đều có khả năng phân giải tinh bột với đường kính vòng phân giải đạt $26 \pm 0,32$ mm; $25 \pm 0,30$ mm; $26 \pm 0,21$ mm; $22 \pm 0,15$ mm; $22 \pm 0,10$ mm và $22 \pm 0,31$ mm, có thể sử dụng làm nguyên liệu sản xuất phân hữu cơ vi sinh vật.

3.3. Hiệu quả phòng trừ bệnh của các chủng vi sinh vật tuyển chọn

Kết quả theo dõi tỷ lệ bệnh và hiệu quả phòng trừ bệnh do vi khuẩn *R. solanacearum* và nấm *F. oxysporum* gây ra đối với cây cà chua trong thí nghiệm nhà lưới được tổng hợp trong bảng 3 và 4.

Bảng 3. Tỷ lệ bệnh và hiệu lực phòng trừ bệnh do vi khuẩn *R. solanacearum* gây ra của một số chủng vi sinh vật tuyển chọn

Công thức thí nghiệm	Số cây bị bệnh sau thời gian nhiễm bệnh nhân tạo (ngày)				Tỷ lệ bệnh và hiệu quả phòng trừ sau 60 ngày nhiễm bệnh nhân tạo (%)	
	15	30	45	60	Tỷ lệ bệnh	Hiệu quả phòng trừ
Đối chứng	-	5	7	11	73,3	-
Nhiễm chủng SA21	-	3	4	5	33,3	54,5
Nhiễm chủng SA35	-	-	3	4	26,6	63,7

Nhiễm chủng BK50	-	1	3	5	33,3	54,5
Nhiễm chủng LN06	-	2	4	5	33,3	54,5
Nhiễm chủng LN07	-	1	2	4	26,6	63,7
Nhiễm chủng LN92	-	2	3	4	26,6	63,7
Nhiễm hỗn hợp 06 chủng	-	1	2	2	13,3	81,8

Ghi chú: (-) không phát hiện.

Bảng 4. Tỷ lệ bệnh và hiệu quả phòng trừ bệnh do nấm *F. oxysporum* gây ra của một số chủng vi sinh vật tuyển chọn

Công thức thí nghiệm	Số cây bị bệnh sau thời gian nhiễm bệnh nhân tạo (ngày)				Tỷ lệ bệnh và hiệu quả phòng trừ sau 60 ngày nhiễm bệnh nhân tạo (%)	
	15	30	45	60	Tỷ lệ bệnh	Hiệu quả phòng trừ
Đối chứng	-	2	5	10	70,0	-
Nhiễm chủng SA21	-	1	3	5	33,3	52,4
Nhiễm chủng SA35	-	1	2	4	26,6	62,0
Nhiễm chủng BK50	-	-	3	5	33,3	52,4
Nhiễm chủng LN06	-	1	2	4	26,6	62,0
Nhiễm chủng LN07	-	1	4	5	33,3	52,4
Nhiễm chủng LN92	-	1	3	5	33,3	52,4
Nhiễm hỗn hợp 06 chủng	-	1	3	3	20,0	71,4

Ghi chú: (-) không phát hiện.

Kết quả tổng hợp tại bảng 3 và 4 cho thấy, tỷ lệ cây bị bệnh tại các công thức sử dụng vi sinh vật đối kháng đều thấp hơn có ý nghĩa so với đối chứng, giảm từ 73,3% xuống còn 26,6-33,3%, tương ứng với hiệu lực phòng trừ bệnh đạt 54,5-63,7% đối với bệnh do vi khuẩn *R. solanacearum* gây ra và giảm từ 70% xuống còn 26,6-33,3%, tương ứng với hiệu lực phòng trừ bệnh đạt 52,4-62% đối với bệnh do nấm *F. oxysporum* gây ra.

Kết quả thí nghiệm đồng thời cũng xác nhận công thức sử dụng hỗn hợp cả 6 chủng vi sinh vật tuyển chọn có tỷ lệ bệnh thấp nhất là 13,3% đối với vi khuẩn *R. solanacearum* và 20% đối với nấm *F. oxysporum*. Hiệu quả phòng trừ bệnh do vi

khuẩn *R. solanacearum* và *F. oxysporum* gây ra của hỗn hợp các vi sinh vật đối kháng đạt 81,8% và 71,4%.

3.4. Định danh các chủng vi khuẩn tuyển chọn

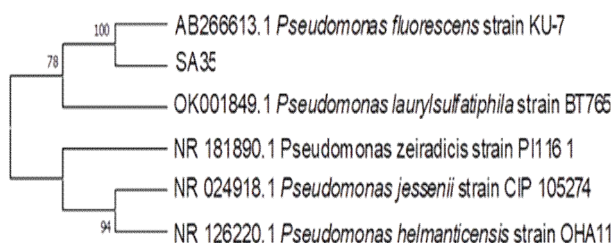
Kết quả giải trình tự gen 6 chủng vi sinh vật tuyển chọn và so sánh với ngân hàng gen quốc tế đã công bố tổng hợp trong bảng 5 xác định 5 chủng vi khuẩn ký hiệu BK50, LN06, LN92, LN07, SA21 có tỷ lệ tương đồng đạt 99% với các loài *Bacillus amyloliquefaciens* strain LSC04, *Bacillus subtilis* strain AQ1, *Bacillus subtilis* strain, *Bacillus siamensis* KCTC 13613 strain PD-A10. Chủng SA35 có tỷ lệ tương đồng đạt 100% với loài *Pseudomonas fluorescens* strain KU-7.

Bảng 5. Mức độ tương đồng của các chủng vi khuẩn lựa chọn với các loài vi sinh vật đã công bố

TT	Ký hiệu chủng	Loài vi sinh vật gần nhất	Mã số ngân hàng gen	Độ tương đồng số trình tự so sánh (%)	Độ tương đồng cao nhất (%)	Chiều dài đoạn AND (bp)
1	BK50	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> strain LSC04	EF176772.1	100	99	1.541
2	LN06	<i>Bacillus subtilis</i> strain AQ1	FJ644629.1	100	99	1.513
3	LN92	<i>Bacillus subtilis</i> strain EDR4	EF502020.1	100	99	1.543
4	LN07	<i>Bacillus siamensis</i> KCTC 13613 strain PD-A10	NR 117274.1	100	99	1.427
5	SA21	<i>Bacillus subtilis</i> strain bs24	GQ213991.1	99	99	1.333
6	SA35	<i>Pseudomonas fluorescens</i> strain KU-7	AB266613.1	100	100	1.423

Trên cơ sở xây dựng cây phát sinh chủng loại của 6 chủng vi khuẩn tuyển chọn thể hiện tại các hình 3-8, các chủng vi sinh vật tuyển chọn được định danh là *Bacillus amyloliquefaciens* BK50;

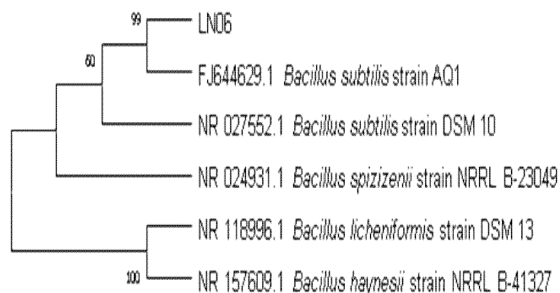
Bacillus subtilis LN06; *Bacillus subtilis* BK98; *Bacillus siamensis* LN07; *Bacillus subtilis* SA21 và *Pseudomonas fluorescens* SA35.



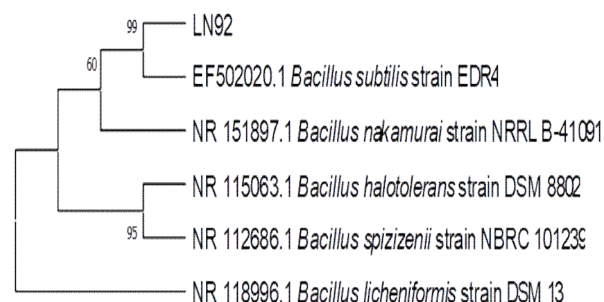
Hình 3. Cây phát sinh chủng loại vi khuẩn SA35



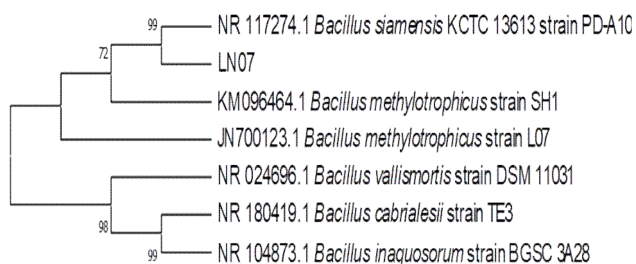
Hình 4. Cây phát sinh chủng loại vi khuẩn BK50



Hình 5. Cây phát sinh chủng loại vi khuẩn LN06



Hình 6. Cây phát sinh chủng loại vi khuẩn LN92



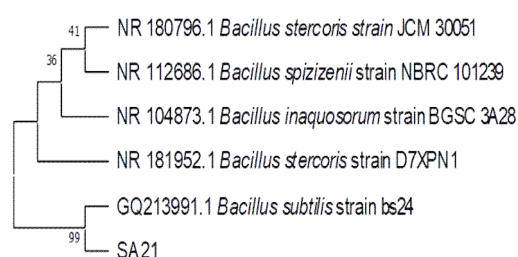
Hình 7. Cây phát sinh chủng loại vi khuẩn LN07

Kết quả đánh giá cấp độ an toàn sinh học của 6 chủng vi sinh vật tuyển chọn theo hướng dẫn về an toàn sinh học của Bộ Y tế Hoa Kỳ năm 2020 [13], xác định tất cả 6 chủng vi sinh vật tuyển chọn đều thuộc nhóm vi sinh vật an toàn sinh học cấp độ 1, được phóng thích không hạn chế vào môi trường (Bảng 6).

Bảng 6. Cấp độ an toàn sinh học của các chủng vi khuẩn lựa chọn

TT	Ký hiệu chủng	Loài gần nhất	Cấp độ an toàn
1	BK50	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	1
2	LN06	<i>Bacillus subtilis</i>	1
3	BK98	<i>Bacillus subtilis</i>	1
4	LN07	<i>Bacillus siamensis</i>	1
5	SA21	<i>Bacillus subtilis</i>	1
6	SA35	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	1

Nghiên cứu này đã phân lập, tuyển chọn được 6 chủng vi khuẩn đối kháng thuộc 2 chi *Pseudomonas* và *Bacillus* là những tác nhân sinh học được sử dụng phổ biến trong sản xuất thuốc bảo vệ thực vật sinh học phòng trừ bệnh hại thực vật có nguồn gốc từ đất [14], [15], [2]. Nhiều loài thuộc chi *Bacillus* như *B. amyloliquefaciens*, *B. subtilis*, *B. pasteurii*, *B. pumilus*, *B. mycoides* và *B. sphaericus* vừa có khả năng kích thích sinh



Hình 8. Cây phát sinh chủng loại vi khuẩn SA21

trưởng thực vật, vừa có khả năng đối kháng đối với nhiều loại tác nhân gây bệnh trên nhiều loại cây trồng khác nhau [16]. Một trong những đặc điểm quan trọng của *B. subtilis* là khả năng tạo bào tử trong những điều kiện nhất định và hình thành bào tử theo chu trình phát triển tự nhiên, hoặc khi gặp điều kiện bất lợi. Trong các bào tử tự do không tồn tại sự trao đổi chất, vì vậy bào tử có thể tồn tại ở trạng thái tiềm sinh trong nhiều năm [17]. Lê Như Kiều và cs (2009) [3] cho biết, sử dụng chế phẩm chứa vi khuẩn đối kháng chi *Bacillus* và *Pseudomonas* làm giảm tỉ lệ bệnh héo xanh lạc, vùng 65 - 67% so với đối chứng. Abdllwareth và cs (2012) [18] đã phân lập được 200 chủng *Bacillus* từ vùng rễ cây cà chua và khoai tây có khả năng đối kháng với *R. solanacearum* T-91 và tuyển chọn được 4 chủng AM1, D16, D29, H8 có khả năng sử dụng để sản xuất chế phẩm phòng bệnh héo xanh cà chua. Mohamed A. S. và cs (2014) [19] thông qua thí nghiệm đã xác định tỷ lệ bệnh héo xanh trên cà chua đã giảm 57,9% khi sử dụng *P. fluorescens*, giảm 51,63% khi sử dụng *P. putida*, giảm 52,63% khi sử dụng *B. subtilis* và giảm 47,37% khi sử dụng *E. aerogenes*.

Kết quả nghiên cứu đã lựa chọn 6 chủng vi khuẩn vừa có khả năng đối kháng vừa có khả năng phân giải tinh bột cao, phù hợp với nhiều nghiên cứu về khả năng tổng hợp đa hoạt tính sinh học của một số chủng vi sinh vật. Choubane S. và cs (2016) [20], Geetha K. và cs (2014) [21] cho biết, nhiều vi khuẩn vùng rễ (*Bacillus* sp.) vừa có khả năng đối kháng vừa có khả năng tổng hợp enzym amylaza phân giải tinh bột, đóng vai trò quan trọng trong sự phân giải các xác bã thực vật trong đất. Kết quả nghiên cứu trình bày ở trên cho thấy, tỉ lệ bệnh héo xanh trên cây cà chua ở công thức đối

chứng không nhiễm vi sinh vật đối kháng là 73,3% sau khi lây bệnh nhân tạo 60 ngày, sử dụng đơn lẻ các chủng vi khuẩn đối kháng SA21, SA35, BK50, LN06, LN07, LN92, tỉ lệ bệnh do vi khuẩn *R. solanacearum* giảm xuống còn 26,6 - 33,3%, tương ứng hiệu quả phòng trừ đạt 54,5 - 63,7% và khi sử dụng hỗn hợp các chủng vi khuẩn, tỉ lệ bệnh chỉ còn 13,3%, tương ứng hiệu quả phòng trừ đạt 81,8%. Kết quả tương tự cũng được xác định đối với bệnh do nấm *F. oxysporum* gây ra. Kết quả này phù hợp nhiều nguyên cứu về vai trò của *Bacillus* là tác nhân kiểm soát sinh học đã làm giảm quần thể *R. solani* và một số nấm bệnh khác trong đất [22], [1], [23], [4].

4. KẾT LUẬN

Từ 150 mẫu đất thu thập tại CHDCND Lào đã tuyển chọn được 17 chủng vi khuẩn có hoạt tính đối kháng vi khuẩn *R. solanacearum* và nấm *F. oxysporum*, trong đó 6 chủng ký hiệu SA21, SA35, BK50, LN06, LN07 và LN92 có hoạt tính đối kháng cao với đường kính vòng đối kháng đạt từ 14 - 19 mm đối với vi khuẩn *R. solanacearum* và từ 19 - 23 mm đối với nấm *F. oxysporum*. 6 chủng vi khuẩn này đồng thời có khả năng phân giải tinh bột với đường kính vòng phân giải đạt 22 - 26 mm. Các chủng vi khuẩn tuyển chọn có hiệu quả phòng trừ bệnh đạt 54,5 - 63,7% đối với bệnh do vi khuẩn *R. solanacearum* gây ra và 52,4 - 62% đối với bệnh do nấm *F. oxysporum* gây ra.

Trong điều kiện sử dụng tổ hợp các vi sinh vật đối kháng tuyển chọn, hiệu quả phòng trừ đạt 81,8% đối với bệnh do vi khuẩn *R. solanacearum* và 71,4% đối với bệnh do nấm *F. oxysporum* gây ra. Các chủng vi khuẩn tuyển chọn được định danh là *Bacillus amyloliquefaciens* BK50; *Bacillus subtilis* LN06; *Bacillus subtilis* BK98; *Bacillus siamensis* LN07; *Bacillus subtilis* SA21, *Pseudomonas fluorescens* SA35 và được xác định thuộc nhóm vi khuẩn an toàn sinh học cấp độ 1, được phóng thích không hạn chế vào môi trường.

LỜI CẢM ƠN

Các tác giả xin chân thành cảm ơn Nhiệm vụ Nghị định thư: "Hợp tác nghiên cứu và hoàn thiện công nghệ vi sinh vật phục vụ sản xuất nông

ng nghiệp cho các tỉnh Sayaboury, Luang Namtha và Bokeo, Cộng hòa Dân chủ Nhân dân Lào" cung cấp kinh phí và tạo điều kiện để hoàn thành nghiên cứu này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Araujo R., Dunlap C., Barnett S., and Franco C. M. M. (2019). Decoding wheat endosphere-rhizosphere microbiomes in rhizoctonia solani-infested soils challenged by streptomyces biocontrol agents. *Front. Plant Sci.* 10:1038. doi: 10.3389/FPLS.2019.01038/BIBTEX.
2. Fan H., Zhang Z., Li Y., Zhang X., Duan Y., Wang Q. (2017). Biocontrol of bacterial fruit blotch by *Bacillus subtilis* 9407 via surfactin-mediated antibacterial activity and colonization. *Front Microbiol* 8:1973. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01973>.
3. Lê Như Kiều, Lê Thị Thanh Thủy, Trần Quang Minh, Nguyễn Thị Kim Thoa, Trần Thị Lua, Nguyễn Văn Huân (2009). Ảnh hưởng của chế phẩm vi sinh đối kháng tới bệnh héo xanh và năng suất lạc, vùng trong nhà lưới và ngoài đồng ruộng. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Nông nghiệp Việt Nam*, số 2, tr. 54-60.
4. Phạm Văn Toàn (2003). Khả năng sử dụng hỗn hợp vi sinh vật làm phân bón chức năng cho một số cây trồng nông nghiệp, công nghiệp và lâm nghiệp, *Hội nghị Công nghệ Sinh học toàn quốc*, tr. 127-131.
5. Rupela, O.P., Gopalakrishnan, S., Krajewski, M. M. Sriveni (2003). A novel method for the identification and enumeration of microorganisms with potential for suppressing fungal plant pathogens. *Biol Fertil Soils* 39, 131-134.
6. TCVN 9300: 2014: Vi sinh vật - Phương pháp đánh giá hoạt tính đối kháng của vi sinh vật đối kháng với vi khuẩn *Ralstonia solanacearum* Smith gây bệnh héo xanh trên cây trồng cạn.
7. TCVN 8566 : 2010: Phân bón vi sinh vật - Phương pháp đánh giá hoạt tính đối kháng nấm gây bệnh vùng rễ cây trồng cạn.

8. TCVN 12561 : 2018: Thuốc Bảo vệ thực vật - Khảo nghiệm hiệu lực sinh học của thuốc trên đồng ruộng. Pesticides - Bioefficacy field trials.
9. Hà Thanh Toàn, Bùi Thế Vinh, Mai Thu Thả, Nguyễn Thu Phương, Trần Lê Kim Ngân và Cao Ngọc Diệp (2008). Phân lập vi khuẩn phân giải xenlulo, tinh bột và protein trong nước rỉ từ bãi rác ở thành phố Cần Thơ. *Tạp chí Khoa học, Trường Đại học Cần Thơ*, tr. 195-202.
10. Wang H., Meiqing Q. and Adrian J. C. (1993). A simple method of preparing plant samples for PCR, *Nucleic Acids Research*, 21 (17): 4153-4154.
11. Weisburg W. G, Barns S. M., Pelletier D. A., Lane D. J. (1991). 16S ribosomal DNA amplification for phylogenetic study, *J Bacteriol*, 1991 Jan; 173(2):697-703.
12. Koichiro T., Glen S., Daniel P., Alan F., Sudhir K. (2013). MEGA 6: molecular evolutionary genetics analysis version 6.0, *Molecular Biology and Evolution*, 30(12), pp.2725-2729.
13. U.S. Department of Health and Human Services (2020). Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, 6th Edition, June 2020. <https://www.usa.gov>
14. Cao Y., Pi H., Chandransu P., Li Y., Wang Y., Zhou H. (2018). Antagonism of two plant-growth promoting *Bacillus velezensis* isolates against *Ralstonia solanacearum* and *Fusarium oxysporum*. *Sci. Rep.* 8:4360. doi: 10.1038/s41598-018-22782-z.
15. Abbas A., Khan S. U., Khan W. U., Saleh T. A., Khan M. H. U., Ullah S. (2019). Antagonist effects of strains of *Bacillus* spp. against *Rhizoctonia solani* for their protection against several plant diseases: Alternatives to chemical pesticides. *Comptes Rendus Biol.* 342, 124-135. doi: 10.1016/j.crv.2019.05.002.
16. Joseph W. K., Choong M. R., and Shouan Z. (2004). Induced Systemic Resistance and Promotion of Plant Growth by *Bacillus* spp. *Article in Phytopathology*. December 2004 DOI: 10.1094/PHYTO.2004.94.11.1259. Source: PubMed.
17. Zaki A. S. (2006). Prospective Biocontrol Agents of Plant Pathogens In book: PGPR: *Biocontrol and Biofertilization*, pp.111-142.
18. Abdllwareth A. A., Xie1 G. L., Tian W. X., Xu L. H., Zhang G. Q. and Muhammad I. (2012). Characterization and evaluation of *Bacillus* isolates for their potential plant growth and biocontrol activities against tomato bacterial wilt, *African Journal of Biotechnology* Vol. 11(28), pp. 7193-7201.
19. Mohamed A S., Kamal A A., Elyousr A., Alal A., Mohamed and Hanan A A. (2014). Peroxidase and Polyphenoloxidase Activities as Biochemical Markers for Biocontrol Efficacy in the Control of Tomato Bacterial Wilt, *J Plant Physiol Pathol*, 2:1.
20. Choubane S., Cheba B.A., Benourrad A. (2016). Screening and Phenotypic Diversity of Amylase Producing Rhizospheric Bacteria from Some North African Plants. *Procedia Technology* 22 (2016) 1197-1204.
21. Geetha K., Venkatesham E., Hindumathi A., and Bhadraiah B. (2014). Isolation, screening and characterization of plant growth promoting bacteria and their effect on *Vigna radita* (L.) R. Wilczek. *Original Research Article*. 6: 799-809.
22. Hameeda B., Rupela O.P. and Reddy G. (2006). Antagonistic activity of bacteria inhabiting composts against soil-borne plant pathogenic fungi. *Indian Journal of Microbiology*, 46 (4). pp. 389-396. ISSN 0046-8991.
23. Zhiqiang H., Bowen L., Yong Y., Fang L., Deshan X., Tiantian H., Yongzeng L., Bin Y., Qian L., Yong H., Qing L. (2021). Impact of biocontrol microbes on soil microbial diversity in ginger (*Zingiber officinale* Roscoe). *Pest Manag. Sci.* 77, 5537-5546. doi: 10.1002/PS.6595.

**ISOLATION, SELECTION ANTAGONISTIC AND STARCH DECOMPOSITION MICROBIAL STRAINS
FROM LAND SAMPLES COLLECTED IN LAOS**

Le Thi Thanh Thuy, Le Nhu Kieu, Luong Duc Toan,
Nguyen Thi Thu Hang, Do Van Thuan, Phonepaseut Syha

¹ *Soils and Fertilizers Research Institute*

² *Department of Agriculture and Forestry of Sayaboury province, Lao PDR*

Summary

The objective of the mission is to add useful microorganisms to the collection of microorganisms of Vietnam as well as the People's Democratic Republic of Laos (PDR) for serving research and use in agricultural production of the two countries. This paper presents the results of isolation and selection of bacterial strains capable of antagonizing *Ralstonia solanacearum*, *Fusarium oxysporum* and starch degrading from 150 soil samples collected in Sayaboury, Luangnamtha and Bokeo provinces, Lao PDR. As a result, 17 strains of bacteria with antagonistic activity were selected, in which, 06 strains with symbols SA21, SA35, BK50, LN06, LN07 and LN92 had the highest activity with the antagonist ring diameter from 14 mm to 19 mm against *R. solanacearum* bacteria and from 19 mm to 23 mm against fungus *F. oxysporum*. These 6 strains of bacteria are also able to degrade starch with a resolution ring diameter of 22-26 mm. The selected bacterial strains were effective in disease control, reaching 54.5-63.7% for diseases caused by *R. solanacearum* and 52.4-62% for diseases caused by *F. oxysporum*. In the condition of using a mix of selective antagonistic microorganisms, the effectiveness of disease control reached 81.8% for diseases caused by *R. solanacearum* and 71.4% for diseases caused by *F. oxysporum*. The selected bacterial strains were identified as *Bacillus amyloliquefaciens* BK50; *Bacillus subtilis* LN06; *Bacillus subtilis* BK98; *Bacillus siamensis* LN07; *Bacillus subtilis* SA21, *Pseudomonas fluorescens* SA35 and identified as biosafety level 1 bacteria, are released unrestricted into the environment.

Keywords: *R. solanacearum* antagonistic microorganisms, *F. oxysporum* antagonistic microorganisms, starch-degrading microorganisms, identified by gene sequencing, biological control.

Người phản biện: GS.TS. Phạm Văn Toàn

Ngày nhận bài: 19/4/2023

Ngày thông qua phản biện: 10/5/2023

Ngày duyệt đăng: 18/7/2023

NGHIÊN CỨU ĐẶC ĐIỂM CỦA VIRUS, VI KHUẨN GÂY SUY THOÁI VÙNG CAM TẠI HÀ GIANG

Cao Văn Chí^{1*}, Hà Viết Cường³, Nguyễn Đức Huy³,
Bùi Quang Đăng², Phạm Hồng Hiến², Lương Thị Huyền¹,
Nguyễn Văn Trọng¹, Nguyễn Thị Bích Lan¹, Giang Đức Hiệp⁴

TÓM TẮT

Để nghiên cứu đặc điểm của virus và vi khuẩn gây suy thoái vùng cam tại Hà Giang, đã tiến hành thu thập các mẫu rễ và lá cam tại 3 huyện trồng cam của tỉnh Hà Giang là Vị Xuyên, Quang Bình và Bắc Quang. Kết quả nghiên cứu cho thấy, khi kiểm tra bằng PCR và RT - PCR trên 42 mẫu có triệu chứng thu thập tại 3 huyện Bắc Quang, Vị Xuyên và Quang Bình, tỉnh Hà Giang đã xác định được 24 mẫu (51,7%) nhiễm Ca.Las và 6 mẫu (14,3%) nhiễm Citrus *tristeza* virus (CTV). Ca.Las là nguyên nhân quan trọng cản trở sản xuất cam tại Hà Giang; Ca.Las được phát hiện thấy trên tất cả các giống cây ăn quả có múi tại 3 huyện (Bắc Quang, Vị Xuyên và Quang Bình), gồm cam chín sớm CS1, cam chín muộn V2 và chanh ta nhiễm 100%; cam Xã Đoài nhiễm 66,7%, cam Sành nhiễm 50%, chỉ có giống quýt chum không bị nhiễm. Tại điểm thu mẫu thuộc huyện Quang Bình, mức độ nhiễm Ca.Las là 16,7%, thấp hơn nhiều so với các điểm thu mẫu thuộc 2 huyện còn lại (50 - 80%).

Từ khóa: Vùng cam Hà Giang, bệnh Greening, bệnh Tristeza, bệnh vàng lá thối rễ.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Một trong các bệnh nguy hiểm trên cây có múi là bệnh tàn lụi do Citrus *tristeza* virus (CTV) gây ra. Bệnh tàn lụi làm giảm sinh trưởng cây cam, giảm năng suất, chất lượng quả, gây thoái hóa giống, đặc biệt có những giống có nguy cơ bị hủy bỏ. CTV từng được ghi nhận là 1 trong 10 virus thực vật nguy hiểm nhất trên thế giới. CTV là virus RNA, lan truyền ngoài tự nhiên nhờ rệp muội và nhân giống vô tính. Giống như các virus thực vật khác, hiện không có thuốc tiêu diệt trực tiếp CTV trong cây bệnh. Biện pháp phòng trừ chủ yếu hiện nay là phòng trừ tổng hợp bắt đầu từ khâu cây giống sạch bệnh.

Bệnh vàng lá gân xanh (tên tiếng Anh là *Huanglongbing*, hay cũ hơn là *Greening*) do vi khuẩn biệt dưỡng *Candidatus Liberibacter*

asiaticus (Ca.Las) gây ra, là bệnh nguy hiểm nhất trên cây ăn quả có múi tại châu Á, đặc biệt trên cây cam. Tương tự, tại Việt Nam, bệnh là một trong các nguyên nhân chính cản trở việc phát triển sản xuất cây ăn quả có múi trên khắp cả nước. Cây bị bệnh vàng lá gân xanh sinh trưởng rất còi cọc; bộ lá, đặc biệt là lá non bị biến vàng; quả nhỏ, lệch, bị biến vàng phần cuống trước khi chín, không có giá trị sử dụng. Tác nhân gây bệnh Ca.Las thuộc nhóm vi khuẩn biệt dưỡng nên không thể nuôi cấy được trên môi trường nhân tạo. Vi khuẩn lan truyền ngoài tự nhiên qua ghép và rầy chổng cánh (*Diaphorina citri*). Các chiến lược quản lý bệnh chủ yếu trên thế giới dựa vào: (i) sử dụng vật liệu giống sạch bệnh, (ii) loại bỏ sớm cây bệnh, (iii) phòng chống vector và (iv) tạo giống kháng bệnh.

Do tầm quan trọng của cây cam tại Hà Giang, mục tiêu của nghiên cứu này nhằm phát hiện sự có mặt và mức độ nhiễm của 2 tác nhân gây bệnh nghiêm trọng, Ca.Las và CTV trên cam tại một số vùng trồng cam chính của tỉnh Hà Giang.

¹ Trung tâm Nghiên cứu và Phát triển Cây có múi

² Viện Khoa học Nông nghiệp Việt Nam

³ Học viện Nông nghiệp Việt Nam

⁴ Chi cục Trồng trọt và Bảo vệ thực vật tỉnh Hà Giang

*Email: caovanchicitrus@gmail.com

2. ĐỐI TƯỢNG, VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng, vật liệu nghiên cứu

- Cây ăn quả có múi: cam Sành, cam CS1, cam V2, cam Xã Đoài, quýt chum, chanh ta... tại 3

huyện: Vị Xuyên, Quang Bình và Bắc Quang của tỉnh Hà Giang.

- Các mẫu sử dụng trong nghiên cứu được trình bày ở bảng sau:

Đích	Mẫu	Trình tự (5'-3')	Kích thước (bp)	Nguồn gốc
CTV	CTV-CP-F1	AGAGGATCCATGGACGACGARACAAAGAAAT	690	Nghiên cứu này
	CTV-CP-R1	TCTGAGCTC TCAACGTGTGYTRAATTTCC		
Ca.Las	OMP-N5	AGCGGATCCCAATTGAAGATGATAGTTCGC	903	Nghiên cứu này
	OMP-N3m	TCTGAGCTCTTACACATAATCGGATACATCA		
	A2	ACGAGACAAGGATGTTGGCA	703	[1]
	J5	CCAATTGTGCTGACACTACC		

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Xử lý và bảo quản mẫu

Các mẫu sau khi thu thập, được xử lý bằng 2 cách:

Ngâm ethanol 96% [2]: Mô gân lá và mô rễ của cây bệnh được ngâm 24 giờ trong ống ly tâm eppendorf 2.0 mL có chứa ethanol 96%, ethanol mới được thay thế thường xuyên, sau đó các mẫu được bảo quản ở nhiệt độ 4°C để phục vụ cho các thí nghiệm tiếp theo.

Xử lý khô: Các mẫu lá của cây bệnh được cho vào trong hộp kín có chứa silicagel tự chỉ thị để làm khô, sau đó các mẫu được bảo quản ở nhiệt độ 4°C để phục vụ cho các thí nghiệm tiếp theo.

2.2.2. Chiết ARN tổng số

Chiết ARN từ mô cây bằng CTAB theo phương pháp đã được mô tả bởi Chang và cs (1993) [3]. Khoảng 100 mg mẫu (gồm 4 mẫu gân lá + mẫu rễ) sau khi được làm khô ethanol, được nghiền với 1 mL đệm CTAB (đã bổ sung Beta-mercaptethanol). Dịch nghiền được ly tâm 13.000 g (gravity, sức hút trái đất) trong 5 phút để loại bỏ tàn dư. Dịch trên tủa được chiết với 1 thể tích tương đương Chloroform : isoamyl alcohol (24 : 1) và pha trên tủa được tách bằng ly tâm 13.000 g

trong 10 phút. ARN tổng số trong dịch trên tủa được kết tủa bằng bổ sung 25% thể tích LiCl 10 M và ủ qua đêm ở -20°C, sau đó được ly tâm 13.000 g trong 15 phút. Cặn ARN được rửa 2 lần với ethanol 70%. Cặn được làm khô tự nhiên trong tủ sấy và được hòa với nước không chứa nuclease.

ARN từ mô cây cũng được chiết bằng kit chiết Easy-BLUE™ Total ARN Extraction Kit (iNtRON BIO) theo hướng dẫn của nhà sản xuất.

2.2.3. Chiết ADN tổng số

Chiết ADN từ mô cây bằng CTAB theo phương pháp được mô tả bởi Doyle (1991) [4]. Khoảng 100 mg mẫu (gồm 4 mẫu gân lá + mẫu rễ) sau khi được làm khô ethanol, được nghiền với 1 mL đệm CTAB (đã bổ sung Beta-mercaptethanol). Dịch nghiền được ly tâm 13.000 g trong 5 phút để loại bỏ tàn dư. Dịch trên tủa được chiết với 1 thể tích tương đương Chloroform : isoamyl alcohol (24 : 1) và pha trên tủa được tách bằng ly tâm 13.000 g trong 10 phút. ADN tổng số trong dịch trên tủa được kết tủa bằng bổ sung 1 thể tích tương đương propanol 100% ủ qua đêm ở -20°C, sau đó được ly tâm 13.000 g trong 15 phút. Cặn ADN được rửa 2 lần với ethanol 70%. Cặn ADN được làm khô tự nhiên trong tủ sấy và được hòa với nước không chứa nuclease.

2.2.4. Phản ứng PCR

Phản ứng PCR với tổng thể tích phản ứng 20 μL được thực hiện trong tube PCR loại 0,2 mL chứa 10 μL 2X MyTaq™ HS Mix, 0,5 μL mỗi loại mỗi (20 μM), 0,5 μL ADN. Phản ứng PCR được thực hiện với các bước sau: (1) khởi đầu biến tính 95°C trong 20 giây, (2) lặp lại 35 chu trình phản ứng gồm biến tính 95°C trong 10 giây, gắn mỗi với nhiệt độ 56°C, kéo dài mỗi ở 72°C trong 50 giây, và (3) kết thúc phản ứng ở 72°C trong 5 phút.

Kết quả phản ứng PCR được kiểm tra bằng điện di agarose 1% trong đệm TAE.

2.2.5. Phản ứng RT-PCR

Phản ứng RT-PCR được thực hiện theo 2 bước, trong đó phản ứng tổng hợp sợi cDNA và phản ứng PCR được thực hiện riêng rẽ.

- Tổng hợp sợi cDNA:

Sợi cDNA được tổng hợp trong tube PCR loại 0,2 mL. Đầu tiên hỗn hợp phản ứng 10 μL chứa 2 μL RNA, 1 μL dNTPs (10 mM mỗi loại A, T, G, C), 2 μL mỗi CTV-CP-R1 (20 μM) và 5 μL nước sạch nuclease được ủ ở 65°C trong 3 phút để biến tính RNA và được để trong khay lạnh tối thiểu 2 phút. Tiếp theo, hỗn hợp phản ứng được bổ sung 2 μL đệm phản ứng phiên mã ngược (10X M-MuLV RT buffer), 1 μL enzyme phiên mã ngược (M-MuLV RT, 200 đơn vị enzyme/ μL), 0,2 μL chất ức chế enzyme RNA nuclease (RNase inhibitor, 40 đơn vị enzyme/ μL) và 6,8 μL nước sạch nuclease. Tổng thể tích phản ứng cuối cùng là 20 μL . Tube phản

ứng được ủ ở 42°C trong 1 giờ và enzyme được bất hoạt ở 65°C trong 20 phút.

- Phản ứng PCR:

Phản ứng PCR được thực hiện như mô tả ở mục 2.2.4.

2.3. Thời gian và địa điểm nghiên cứu

Thời gian nghiên cứu: Từ tháng 3 năm 2021 đến tháng 3 năm 2022.

Địa điểm nghiên cứu: Vùng trồng cam tại huyện Vị Xuyên, Quang Bình và Bắc Quang của tỉnh Hà Giang.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Phát hiện vi khuẩn Ca.Las bằng PCR và CTV bằng RT-PCR

Kết quả phát hiện Ca.Las bằng PCR và CTV bằng RT-PCR được trình bày ở bảng 1 và điện di kết quả PCR/RT-PCR được trình bày ở hình 1, 2 và 3.

Trong số 42 mẫu được thu thập và kiểm tra, chỉ 6 mẫu (14,3%) nhiễm CTV gồm 3 mẫu được thu thập trực tiếp tại điểm thu mẫu (mẫu số 15, 17 và 28) và 3 mẫu do người trồng cam cung cấp (mẫu ký hiệu S1, S3, S4). Đáng chú ý, có 4/6 mẫu cùng bị nhiễm Ca.Las.

Phản ứng PCR cũng phát hiện 24 mẫu (57,1%) nhiễm Ca.Las. Kết quả này cho thấy, Ca.Las là một trong các nguyên nhân quan trọng gây hiện tượng vàng lá trên cây cam tại Hà Giang.

Bảng 1. Kết quả PCR phát hiện vi khuẩn Ca.Las gây bệnh vàng lá gân xanh (*Greening*) và RT-PCR phát hiện virus CTV gây bệnh tàn lụi trên cây ăn quả có múi tại Hà Giang

Mẫu (cây)	Giống cây ăn quả có múi	Tuổi cây (năm)	Vị trí vườn	Địa điểm (xã - huyện)	Phản ứng PCR/RT-PCR			
					Ca.Las		CTV	
					OMP-CP-F1/R1	A2/J5	CTV-CP-F1/R1 (lần 1)	CTV-CP-F1/R1 (lần 2)
1	Cam CS1	4	Đồi	Vĩnh Hảo - Bắc Quang	+	KT	-	KT
2	Cam Sành	25	Đồi	Vĩnh Hảo - Bắc Quang	-	-	-	KT

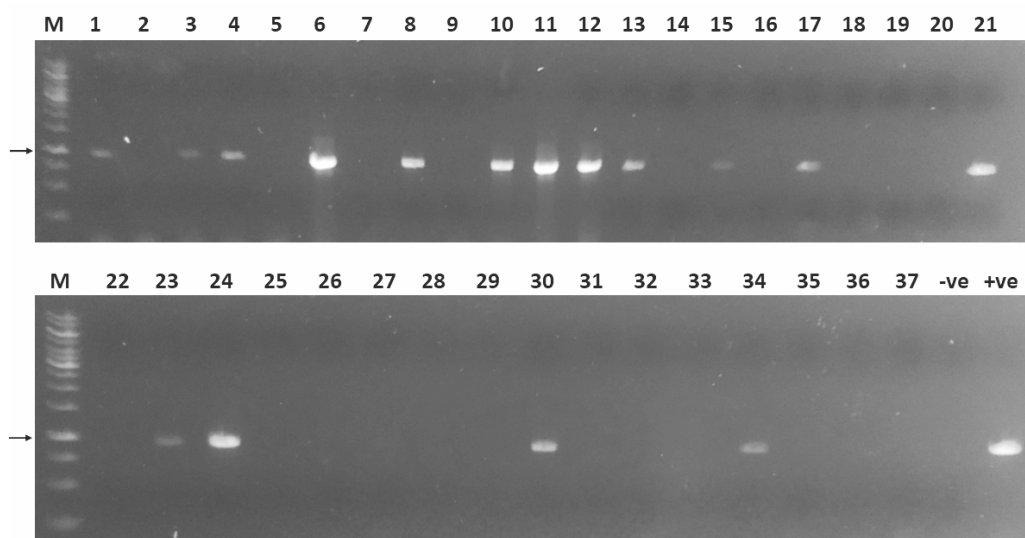
KHOA HỌC CÔNG NGHỆ

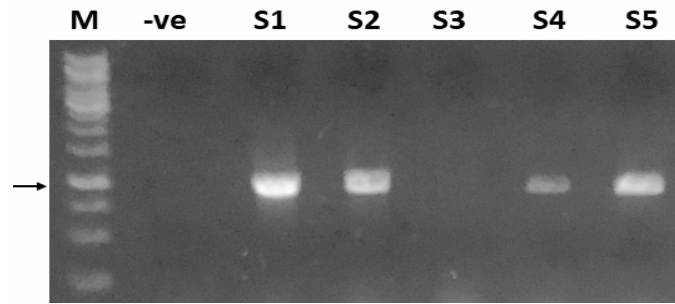
3	Cam V2	4	Đồi	Vĩnh Hảo - Bắc Quang	+	KT	-	KT
4	Cam V2	4	Đồi	Vĩnh Hảo - Bắc Quang	+	KT	-	KT
5	Cam Sành	25	Đồi	Vĩnh Hảo - Bắc Quang	-	+	-	KT
6	Cam Sành	7	Đồi	Vĩnh Hảo - Bắc Quang	+	KT	-	KT
7	Cam Sành	12	Đồi	Vĩnh Hảo - Bắc Quang	-	-	-	KT
8	Cam Sành	16	Bờ sông	Vĩnh Hảo - Bắc Quang	+	KT	-	KT
9	Cam Xã Đoài	6	Bờ sông	Vĩnh Hảo - Bắc Quang	+	-	-	KT
10	Cam Xã Đoài	6	Bờ sông	Vĩnh Hảo - Bắc Quang	-	KT	-	KT
11	Cam Sành	6	Bờ sông	Vĩnh Hảo - Bắc Quang	+	KT	-	KT
12	Cam Xã Đoài	6	Bờ sông	Vĩnh Hảo - Bắc Quang	+	KT	-	KT
13	Cam Sành	8	Đồi	Hùng An - Bắc Quang	+	KT	-	KT
14	Cam Sành	8	Đồi	Hùng An - Bắc Quang	-	-		-
15	Cam Sành	7	Đồi	Trung Thành - Vị Xuyên	+	KT	+	+
16	Cam Sành	7	Đồi	Trung Thành - Vị Xuyên	-	+	-	KT
17	Cam Sành	7	Đồi	Trung Thành - Vị Xuyên	+	KT		+
18	Cam Sành	7	Đồi	Trung Thành - Vị Xuyên	-	-	-	KT
19	Cam Sành	7	Đồi	Trung Thành - Vị Xuyên	-	-	-	KT
20	Cam Sành	7	Đồi	Trung Thành - Vị Xuyên	-	-	-	KT
21	Cam Sành	7	Đồi	Trung Thành - Vị Xuyên	+	-	-	KT
22	Cam Sành	7	Đồi	Trung Thành - Vị Xuyên	+	KT	-	KT
23	Cam CS1	7	Đồi	Trung Thành - Vị Xuyên	+	KT	-	KT
24	Cam CS1	7	Đồi	Trung Thành - Vị Xuyên	+	-	-	KT
25	Cam Sành	9	Đồi	Hương Sơn - Quang Bình	-	-	-	KT
26	Cam Sành	9	Đồi	Hương Sơn - Quang Bình	-	-	-	KT
27	Cam Sành	9	Đồi	Hương Sơn - Quang Bình	-	-		-

KHOA HỌC CÔNG NGHỆ

28	Cam Sành	9	Đôi	Hương Sơn - Quang Bình	-	-		+
29	Cam Sành	9	Đôi	Hương Sơn - Quang Bình	-	KT	-	KT
30	Cam Sành	9	Đôi	Hương Sơn - Quang Bình	+	+	-	KT
31	Cam Sành	9	Đôi	Hương Sơn - Quang Bình	-	-	-	KT
32	Quýt chum	8	Đôi	Hương Sơn - Quang Bình	-	-	-	KT
33	Cam Sành	8	Đôi	Hương Sơn - Quang Bình	-	KT		-
34	Cam Sành	8	Đôi	Hương Sơn - Quang Bình	+	+		-
35	Cam Sành	8	Đôi	Hương Sơn - Quang Bình	-	-	-	KT
36	Cam Sành	8	Đôi	Hương Sơn - Quang Bình	-	-		-
37	Chanh Ta	6	Đôi	Trung Thành - Vị Xuyên	-	+	-	KT
S1	Cam Sành	9	Bằng	Liên Hiệp - Bắc Quang	+	KT	+	KT
S2	Cam Sành	9	Bằng	Liên Hiệp - Bắc Quang	+	KT	-	KT
S3	Cam Sành	9	Bằng	Liên Hiệp - Bắc Quang	-	KT	+	KT
S4	Cam Sành	9	Bằng	Liên Hiệp - Bắc Quang	+	KT	+	KT
S5	Cam Sành	9	Bằng	Liên Hiệp - Bắc Quang	+	KT	-	KT
Tổng số mẫu nhiễm (tỷ lệ)					24 (57,1%)		6 (14,3%)	

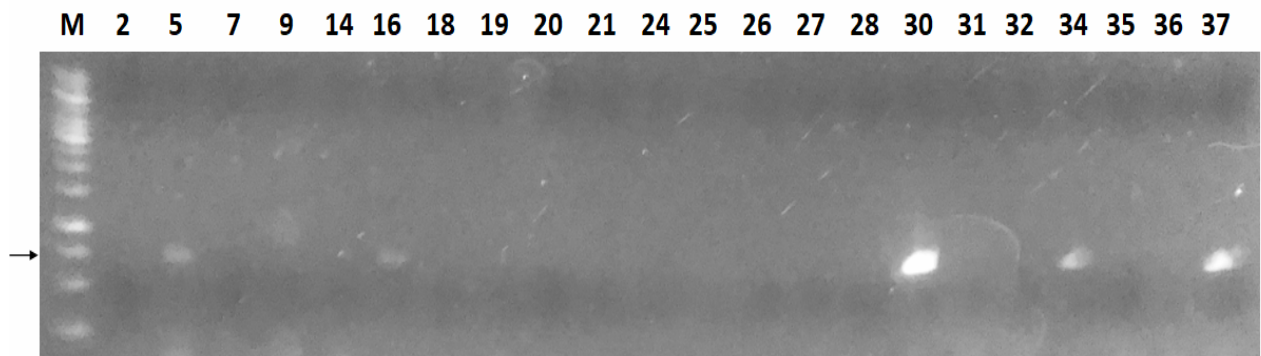
Ghi chú: KT (không thử). Các mẫu từ 1 - 37 được thu thập trực tiếp tại vườn; các mẫu từ S1 đến S5 do ông Đào Xuân Sinh (thôn Trung Tâm, xã Liên Hiệp, huyện Bắc Quang cung cấp - mẫu cành lá).





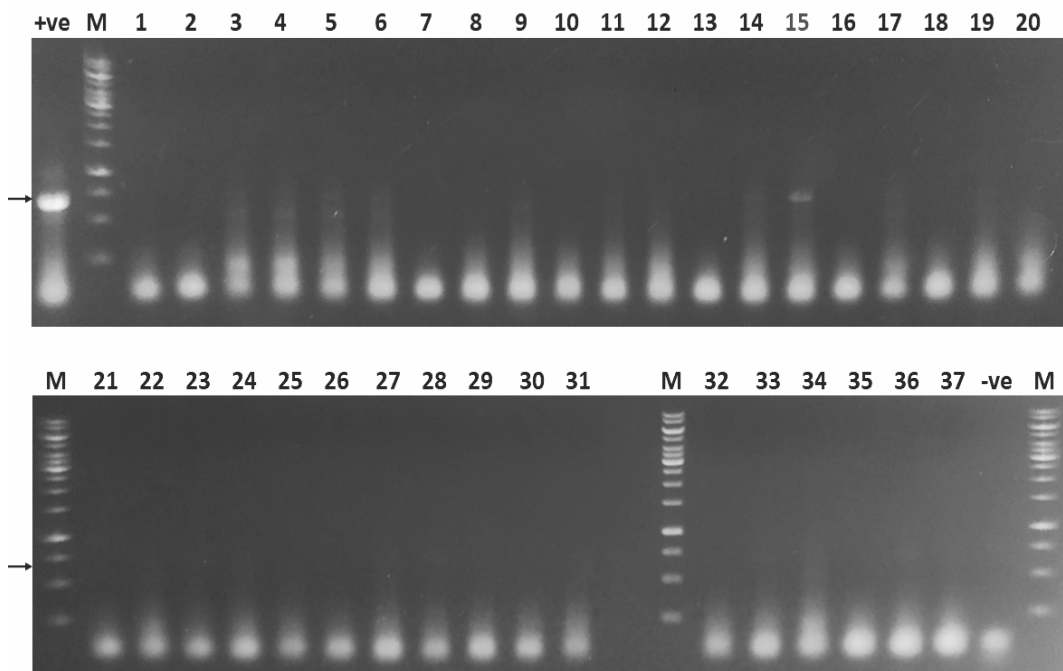
Hình 1. PCR phát hiện Ca.Las bằng cặp mồi OMP-N5 và OMP-N3m

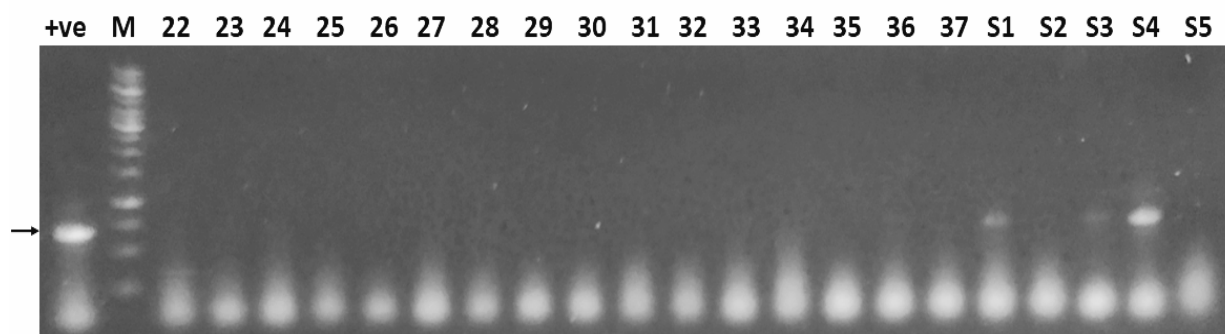
M là thang ADN 1 kb (GeneRuler 1 kb, Thermo). Số trên các giếng tương ứng số cây. Mùi tên chỉ kích thước sản phẩm PCR mong muốn 903 bp



Hình 2. PCR phát hiện Ca.Las bằng cặp mồi A2 và J5

M là thang ADN 1 kb (GeneRuler 1 kb, Thermo). Số trên các giếng tương ứng số cây. Mùi tên chỉ kích thước sản phẩm PCR mong muốn 703 bp





Hình 3. RT-PCR phát hiện CTV bằng CTV-CP-F1 và CTV-CP-R1

M là thang ADN 1 kb (GeneRuler 1 kb, Thermo). Số trên các giếng tương ứng số cây. Mũi tên chỉ kích thước sản phẩm PCR mong muốn 690 bp

3.2. Đánh giá mức độ nhiễm Ca.Las và CTV theo giống

Đánh giá mức độ nhiễm Ca.Las và CTV theo các giống cam được trình bày ở bảng 2.

Bảng 2. Đánh giá mức độ nhiễm Ca.Las và CTV theo giống

TT	Giống	Tuổi cây	Địa điểm	Số cây	Ca.Las		CTV	
					Số cây PCR (+)	Phần trăm (%)	Số cây RT-PCR (+)	Phần trăm (%)
1	Cam Sành	2 - 25	Vinh Hảo, Hùng An, Liên Hiệp - Bắc Quang; Trung Thành - Vị Xuyên; Hương Sơn - Quang Bình	32	16	50	6	18,8
2	Cam CS1	4 - 7	Vinh Hảo - Bắc Quang; Trung Thành - Vị Xuyên	3	3	100	0	0
3	Cam V2	4	Vinh Hảo - Bắc Quang	2	2	100	0	0
4	Cam Xã Đoài	6	Vinh Hảo - Bắc Quang	3	2	66,7	0	0
5	Chanh ta	8	Trung Thành - Vị Xuyên	1	1	100	0	0
6	Quýt chum	8	Hương Sơn - Quang Bình	1	0	0	0	0

Kết quả kiểm tra PCR (Bảng 2) cho thấy, tất cả các giống kiểm tra, ngoại trừ giống quýt chum đều nhiễm Ca.Las ở các mức độ khác nhau. Trên tổng số 32 mẫu cam Sành thu thập có 16 mẫu bị nhiễm Ca.Las, chiếm 50% số mẫu thu thập, đáng chú ý trong 16 mẫu trên có 6 mẫu cùng nhiễm CTV. Các giống cây có múi khác bị nhiễm Ca.Las

ở mức cao so với số mẫu thu thập như cam chín sớm CS1 (100%), cam chín muộn V2 (100%), cam Xã Đoài (66,7%), chanh ta (100%). Tuy nhiên, không thể kết luận về tính chống chịu của giống quýt chum vì số lượng mẫu không đủ (n=1). Như vậy, bệnh *Greening* và bệnh *Tristeza* là một trong những nguyên nhân gây suy thoái vùng cam, kết

quả này phù hợp với kết quả nghiên cứu của Nehela Y. và Killiny N. (2020) [5], Wu F và cs (2021) [6].

3.3. Đánh giá mức độ nhiễm Ca.Las và CTV theo địa điểm

Bảng 3. Đánh giá mức độ nhiễm Ca.Las và CTV theo địa điểm

Huyện	Xã	Giống	Tuổi	Số cây	Ca.Las		CTV	
					Số cây PCR (+)	Phần trăm (%)	Số cây RT-PCR (+)	Phần trăm (%)
Bắc Quang	Vĩnh Hảo	Cam Sành, cam Xã Đoài, cam chín muộn V2, cam chín sớm CS1	4 - 25	12	9	75,0	0	0
	Liên Hiệp	Cam Sành	8 - 10	5	4	80,0	3	60,0
	Hùng An	Cam Sành	8	2	1	50,0	0	0
Vị Xuyên	Trung Thành	Cam Sành, cam chín sớm CS1, chanh ta	7	11	8	72,7	2	18,2
Quang Bình	Hương Sơn	Cam Sành, quýt chum	8 - 9	12	2	16,7	1	8,3

Kết quả ở bảng 3 cho thấy, Ca.Las đều được phát hiện tại cả 3 huyện Bắc Quang, Vị Xuyên và Quang Bình. Tại điểm thu mẫu ở huyện Quang Bình, mức độ nhiễm Ca.Las là 16,7%, thấp hơn nhiều so với các điểm thu mẫu thuộc hai huyện còn lại (50 - 80%). Tỷ lệ nhiễm thấp tại điểm huyện Quang Bình cũng được phản ánh tại tình trạng cây trong vườn. Cây trong vườn có tỷ lệ bị vàng lá < 1% và được chăm sóc rất tốt. Kết quả nghiên cứu này phù hợp với kết quả nghiên cứu của Kumar và cs (2018) [7], theo đó khi cung cấp dinh dưỡng hợp lý đảm bảo bộ rễ phát triển tốt là nguyên nhân dẫn tới tỷ lệ bệnh thấp tại điểm này, vì Ca.Las đã được chứng minh ảnh hưởng rất lớn tới bộ rễ.

4. KẾT LUẬN

Kiểm tra bằng PCR và RT - PCR trên 42 mẫu có triệu chứng thu thập tại 3 huyện Bắc Quang, Vị Xuyên và Quang Bình, tỉnh Hà Giang đã xác định được 24 mẫu (51,7%) nhiễm Ca.Las và 6 mẫu (14,3%) nhiễm CTV. Kết quả cho thấy, Ca.Las là nguyên nhân quan trọng cản trở sản xuất cam tại tỉnh Hà Giang.

Ca.Las được phát hiện thấy trên tất cả các giống cây ăn quả có múi tại 3 huyện (Bắc Quang, Vị Xuyên và Quang Bình) gồm cam Sành (50%), cam chín sớm CS1, cam chín muộn V2 và chanh ta nhiễm 100%; cam Xã Đoài nhiễm 66,7%; chỉ có giống quýt chum không bị nhiễm. Tại điểm thu mẫu ở huyện Quang Bình, mức độ nhiễm Ca.Las là 16,7%, thấp hơn nhiều so với các điểm thu mẫu thuộc hai huyện còn lại (50 - 80%).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Hocquellet A., Toorawa P., Bove J.-M. and Garnier M. (1999). Detection and identification of the two *Candidatus liberobacter* species associated with citrus huanglongbing by pcr amplification of ribosomal protein genes of the operon. *Molecular and cellular probes*. 13(5): 373-379.
- Mangeot-Peter L., Legay S., Hausman J.-F. and Guerriero G. (2016). How to store plant tissues in the absence of liquid nitrogen? Ethanol preserves the RNA integrity of *Cannabis sativa* stem tissues. *AIMS Molecular Science*. 3(4): 560-566.

3. Chang S., Puryear J. and Cairney J. (1993). A simple and efficient method for isolating RNA from pine trees. *Plant molecular biology reporter*. 11(2): 113-116.
4. Doyle J. (1991). DNA protocols for plants. In: *Molecular techniques in taxonomy*. Springer: 283-293 pages.
5. Nehela Y. and Killiny N. (2020). Revisiting the complex pathosystem of huanglongbing: Deciphering the role of citrus metabolites in symptom development. *Metabolites*. 10(10): 409.
6. Wu F., Huang M., Fox E. G., Huang J., Cen Y., Deng X. and Xu M. (2021). Preliminary Report on the Acquisition, Persistence, and Potential Transmission of Citrus tristeza virus by *Diaphorina citri*. *Insects*. 12(8): 735.
7. Kumar N., Kiran F. and Etxeberria E. (2018). Huanglongbing-induced anatomical changes in citrus fibrous root orders. *HortScience*. 53(6): 829-837.

RESEARCH ON THE CHARACTERISTICS OF VIRUS AND BACTERIA CAUSING THE ORANGE AREA DEGRADATION IN HA GIANG

Cao Van Chi¹, Ha Viet Cuong³, Nguyen Duc Huy³,
Bui Quang Dang², Pham Hong Hien², Luong Thi Huyen¹,
Nguyen Van Trong¹, Nguyen Thi Bich Lan¹, Giang Duc Hiep⁴

¹*Citrus Research and Development Centre*

²*Vietnam Academy of Agricultural Sciences*

³*Vietnam National University of Agriculture*

⁴*Ha Giang province Plant Protection and Cultivation Sub-Department*

Summary

To study the characteristics of virus and bacteria causing the orange degradation in Ha Giang, we collected samples of orange roots and leaves from 3 orange-growing districts in Ha Giang province (Vi Xuyen, Quang Binh and Bac Quang). The results of the study show that out of 42 symptomatic samples tested by PCR and RT-PCR, which are collected in the 3 districts of Bac Quang, Vi Xuyen and Quang Binh in Ha Giang province, 24 (51.7%) samples are identified with Ca.Las and 6 (14.3%) samples are infected with CTV. Ca.Las is an important factor hindering orange production in Ha Giang; Ca.Las is found on all citrus fruit varieties in the 3 districts (Bac Quang, Vi Xuyen and Quang Binh) including oranges Sanh (50%); early-ripening oranges CS1, late-ripening oranges V2 and 100% infected lemons; oranges Xa Doai (66.7%); Only the tangerine variety is not infected. At the sampling point in Quang Binh district, the infection rate of Ca.Las infection is 16.7%, much lower than that of the other two districts (50 - 80%).

Keywords: *Ha Giang orange areas, Greening disease, Tristeza disease, yellow leaf root rot disease.*

Người phản biện: TS. Nguyễn Thị Thu Thủy

Ngày nhận bài: 3/4/2023

Ngày thông qua phản biện: 28/4/2023

Ngày duyệt đăng: 10/7/2023

NGHIÊN CỨU XÁC ĐỊNH HIỆU LỰC PHÒNG TRỪ RUỒI ĐỤC QUẢ CỦA MỘT SỐ LOẠI THUỐC TẠI TỈNH NINH THUẬN

Mai Văn Hào^{1,*}, Nguyễn Văn Chính¹,
Phạm Trung Hiếu¹, Phan Công Kiên¹, Võ Thị Kim Trâm¹

TÓM TẮT

Nội dung nghiên cứu được thực hiện trong phòng thí nghiệm và ngoài đồng ruộng năm 2021 tại tỉnh Ninh Thuận. Kết quả nghiên cứu đã xác định được 4 loại thuốc có hiệu lực phòng trừ ruồi đục quả táo gồm: Lufenuron (Match® 050 EC có hiệu lực 90,1%), tiếp đến là các công thức Abamectin (Abatimec 1.8 EC có hiệu lực 83,3%), Emamectin benzoate (Actimax 50 WG có hiệu lực 81,0%) và Chlorantraniliprole (DupontTMPrevathon 5 SC có hiệu lực 80,6%) sau 14 ngày xử lý. Do đó, trong sản xuất nếu vườn táo bị ruồi đục quả gây hại với tỷ lệ khoảng 5% thì tiến hành sử dụng một trong các loại thuốc có hoạt chất Lufenuron, Abamectin, Emamectin benzoate và Chlorantraniliprole để phòng trừ. Chỉ sử dụng thuốc bảo vệ thực vật nằm trong danh mục thuốc được phép sử dụng tại Việt Nam và được đăng ký sử dụng trên cây táo của Bộ Nông nghiệp và PTNT.

Từ khóa: Cây táo, ruồi đục quả, thuốc trừ ruồi, *Ziziphus mauritiana*.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cây táo (*Ziziphus mauritiana* L.) là cây ăn quả nhiệt đới, chịu hạn, có thể trồng ở nhiều vùng sinh thái khác nhau, sinh trưởng được ở những vùng đất có điều kiện thiên nhiên khắc nghiệt. Tại tỉnh Ninh Thuận, cây táo đã và đang trở thành một trong những cây trồng chủ lực, góp phần nâng cao đời sống cho người dân cũng như nâng cao hiệu quả kinh tế. Nguồn thu nhập từ việc bán táo hàng năm đạt trung bình 500 triệu đồng/ha, chỉ đứng sau nho và cao gấp 3 - 4 lần so với trồng chuối. Nhờ hiệu quả kinh tế mang lại, diện tích trồng táo của tỉnh Ninh Thuận không ngừng được mở rộng từ 793 ha năm 2010 lên 1.008 ha năm 2021 [1].

Ruồi đục quả là đối tượng gây hại đối với nhiều loại cây ăn quả như: Xoài, mận (roi), ổi, thanh long, dưa chuột, mướp đắng, mướp... [2], [3]. Chúng xuất hiện và gây hại làm giảm chất lượng quả, gây thối hỏng trên vườn, giảm năng suất, giá trị quả. Theo kết quả khảo sát thiệt hại do ruồi đục quả gây ra trên cây táo dao động 40 - 50%; đặc biệt có những vườn bị hại tới 70 - 80%. Để có thể phòng trừ ruồi đục quả hiệu quả cần phải áp dụng các biện pháp quản lý tổng hợp. Bên cạnh đó, cần phải nghiên cứu xác định một số thuốc bảo

vệ thực vật có hiệu quả cao trong quản lý ruồi đục quả. Chính vì vậy, nghiên cứu xác định hiệu lực phòng trừ ruồi đục quả của một số loại thuốc tại tỉnh Ninh Thuận là rất cần thiết.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu và điều kiện nghiên cứu

2.1.1. Vật liệu nghiên cứu

- Vườn táo ở khu vực trồng táo tập trung tại xã Nhơn Sơn, huyện Ninh Sơn, tỉnh Ninh Thuận, vườn táo có diện tích 2.500 m².

- Các loại thuốc: Actimax 50 WG (Emamectin benzoate), Radiant 60 SC (Spinetoram), Abatimec 1.8 EC (Abamectin), Match® 050 EC (Lufenuron), Vineem 1.500 EC (Azadirachtin), Pesieu 500 SC (Difenthiuron), Limater 7.5 EC (Rotenone), DuPontTM Prevathon® 5 SC (Chlorantraniliprole), Movento 150 OD (Spirotetramat), Lutex 5.5 WG (Methylamine avermectin), Dầu Trâu Bicilus 18 WP (*Bacillus thuringiensis* var.kurstaki), Akasa 25 SC (Spinosad).

2.1.2. Điều kiện thí nghiệm

- Đặc điểm đất đai: Cây táo được trồng trên đất phù sa ven sông, trung tính (pH H₂O = 6,0); lượng hữu cơ trong đất, lân dễ tiêu, kali trao đổi và đạm tổng số trung bình. Đất có khả năng thoát nước tốt.

¹ Viện nghiên cứu Bông và Phát triển Nông nghiệp Nha Hồ
* Email: haomaivan@gmail.com

- Điều kiện khí hậu - thời tiết: Lượng mưa trung bình trong năm từ 1.200 – 1.600 mm, tập trung chủ yếu từ tháng 8 đến tháng 11 trong năm; nhiệt độ trung bình năm 27,7°C, nhiệt độ trung bình tháng cao nhất 30,1°C và tháng thấp nhất 25,2°C; số giờ nắng trung bình 2.900 giờ; ẩm độ trung bình 76% [4].

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Phương pháp thực hiện thí nghiệm được áp dụng theo phương pháp chung của ngành bảo vệ thực vật [5] có điều chỉnh cho phù hợp với cây táo.

2.2.1. Thí nghiệm trong phòng được thực hiện tại phòng thí nghiệm Viện Nghiên cứu Bông và Phát triển nông nghiệp Nha Hồ

Thí nghiệm gồm 13 công thức, 3 lần nhắc lại, mỗi lần nhắc lại bố trí trên 4 hộp, mỗi hộp đựng 10 quả có ấu trùng ruồi đục quả tuổi 1 - 2.

Công thức (CT) 1: Actimax 50 WG (Emamectin benzoate), nồng độ 0,6‰.

CT 2: Radiant 60 SC (Spinetoram), nồng độ 1,0‰.

CT 3: Abatimec 1.8 EC (Abamectin), nồng độ 1,0‰.

CT 4: Match® 050 EC (Lufenuron), nồng độ 1,3‰.

CT 5: Vineem 1.500 EC (Azadirachtin), nồng độ 2,8‰.

CT 6: Pesieu 500 SC (Diafenthiuron), nồng độ 1,3‰.

CT 7: Limater 7.5 EC (Rotenone), nồng độ 1,3‰.

CT 8: DuPont™ Prevathon® 5 SC (Chlorantraniliprole), nồng độ 1,3‰.

CT 9: Movento 150 OD (Spirotetramat), nồng độ 1,0‰.

CT 10: Lutex 5.5 WG (Methylamine avermectin), nồng độ 1,0‰.

CT 11: Đầu Trâu Bicilus 18 WP (*Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*), nồng độ 2,5‰.

CT 12: Akasa 25SC (Spinosad), nồng độ 3,1‰.

CT 13: Đối chứng (phun nước lã).

- Phương pháp xử lý: Nhúng những quả táo có ấu trùng ruồi đục quả trong dung dịch nước thuốc 15 giây rồi vớt ra để ráo trong mát rồi cho vào hộp nuôi còn trùng theo dõi.

- Thu thập và xử lý số liệu: Theo dõi đường số lượng ấu trùng ruồi chết sau 1, 3, 5 ngày sau xử lý, mỗi lần theo dõi trên 10 quả ở mỗi lần nhắc để đếm tổng số ấu trùng ruồi còn sống.

2.2.2. Thí nghiệm ngoài đồng được thực hiện tại xã Nhơn Sơn, huyện Ninh Sơn, tỉnh Ninh Thuận

Chọn 5 loại thuốc có hiệu lực phòng trừ ruồi đục quả táo cao nhất ở trong phòng gồm Actimax 50 WG, Radiant 60 SC, Abatimec 1.8 EC, Match® 050 EC và DuPont™ Prevathon® 5 SC để bố trí ngoài đồng ruộng. Phun thuốc khi phát hiện ấu trùng của ruồi đục quả hại táo. Phun thuốc lần 2 sau lần thứ nhất 7 ngày. Phun với lượng nước thuốc từ 600 lít/ha.

CT 1: Actimax 50 WG (Emamectin benzoate), liều lượng 10 g/bình 16 lít.

CT 2: Radiant 60 SC (Spinetoram), liều lượng 15 ml/bình 16 lít.

CT 3: Abatimec 1.8 EC (Abamectin), liều lượng 16 ml/bình 16 lít.

CT 4: Match® 050 EC (Lufenuron), liều lượng 20 ml/bình 16 lít.

CT 5: DuPont™ Prevathon® 5 SC (Chlorantraniliprole), liều lượng 20 ml/bình 16 lít.

CT 6: Đối chứng (phun nước lã).

Thời kỳ theo dõi: Xác định tỷ lệ quả bị hại ở các thời điểm trước phun, sau phun lần thứ nhất 3, 7 và 14 ngày.

Phương pháp điều tra: Mỗi ô chọn 10 điểm trên 2 đường chéo góc, mỗi điểm theo dõi 3 quả. Ở mỗi định kỳ theo dõi thu 30 quả ngẫu nhiên/ô về phòng thí nghiệm kiểm tra số ấu trùng còn sống trong quả táo. Điểm thu mẫu phải cách mép ô tối thiểu 1 m.

Hiệu quả phòng trừ của thuốc: $HQPT (\%) = (1 - (Ta \times Cb / Ca \times Tb)) \times 100$

Trong đó: Tb là số con còn sống ở công thức trước xử lý; Ta là số con còn sống ở công thức sau xử lý; Cb là số con còn sống ở công thức đối chứng trước xử lý; Ca là số con còn sống ở công thức

2.2.3. Chỉ tiêu theo dõi

- Diễn biến tỷ lệ % quả bị ruồi đục quả.

- Mật độ ấu trùng (con/100 quả).

- Hiệu lực (%) của thuốc đối với ruồi đục quả.

2.2.4. Phương pháp xử lý số liệu

Số liệu thu thập được xử lý thống kê trên các phần mềm chuyên dụng như: MSTATC 2.0, Microsoft Excel...

2.3. Thời gian và địa điểm nghiên cứu

- Thời gian: từ tháng 1/2021 - 12/2021.
- Địa điểm: tại tỉnh Ninh Thuận.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Kết quả khảo nghiệm một số loại thuốc bảo vệ thực vật để quản lý ruồi đục quả táo trong phòng thí nghiệm

3.1.1. Mật độ ruồi đục quả táo trên các công thức thí nghiệm trong phòng

Bảng 1. Diễn biến mật độ ruồi đục quả táo trên các công thức thí nghiệm trong phòng tại Viện Nghiên cứu Bông và Phát triển nông nghiệp Nha Hố, năm 2021

Công thức	Mật độ ấu trùng ruồi đục quả trên các công thức thí nghiệm (con/quả)			
	TP	1 NSP	3 NSP	5 NSP
CT 1	11,3	4,4 ^d	2,7 ^{ef}	1,7 ^g
CT 2	13,8	4,6 ^d	3,8 ^e	2,8 ^f
CT 3	11,1	3,7 ^{de}	2,2 ^f	1,4 ^h
CT 4	12,9	3,3 ^e	2,2 ^f	1,0 ^h
CT 5	12,4	8,3 ^b	5,2 ^{cd}	4,0 ^f
CT 6	12,4	7,2 ^c	5,3 ^{cd}	4,7 ^{de}
CT 7	11,5	6,8 ^c	5,1 ^d	4,5 ^{de}
CT 8	12,7	6,5 ^{cd}	3,1 ^{ef}	1,8 ^g
CT 9	10,8	8,2 ^b	5,7 ^{cd}	3,8 ^e
CT 10	11,4	8,0 ^{bc}	6,2 ^c	4,1 ^e
CT 11	12,3	8,4 ^b	5,4 ^{cd}	4,0 ^e
CT 12	11,9	8,3 ^b	6,0 ^c	4,3 ^{de}
CT 13 (Đ/C)	12,9	10,3 ^a	12,0 ^a	10,0 ^a
CV (%)	11,9	11,9	15,7	19,9
LSD _{0,05}	ns	1,4	1,3	1,2

Ghi chú: TP = trước phun; NSP = ngày sau phun; chữ cái khác nhau trong cùng một cột biểu thị sai khác có ý nghĩa ở mức $\alpha=0,05$.

Mật độ ấu trùng ruồi đục quả trên các công thức thí nghiệm trước phun từ 10,8 - 13,8 con/quả, tuy nhiên sự sai khác này không có ý nghĩa thống kê.

Mật độ ấu trùng trên các công thức thí nghiệm ở các định kỳ theo dõi 1, 3 và 5 ngày sau phun thuốc đều thấp hơn có ý nghĩa so với CT 13 (Đ/C) và mật độ ấu trùng ruồi đục quả giảm dần từ định kỳ theo dõi 1 ngày đến 5 ngày sau phun thuốc. Trong đó, mật độ ấu trùng ruồi đục quả trên CT4 giảm mạnh nhất, tiếp đến là CT 3, CT 1, CT 8 và CT 2.

3.1.2. Hiệu lực phòng ruồi đục quả táo của một số loại thuốc trong phòng thí nghiệm

Hiệu lực phòng trừ ấu trùng ruồi đục quả táo trên các công thức thí nghiệm biến động khá lớn từ 49,2 - 90,1% ở kỳ theo dõi 5 ngày sau phun thuốc. Các thuốc có hiệu lực phòng trừ ấu trùng sâu đục quả tăng dần từ 1 ngày sau phun đến 5 ngày sau phun. Trong đó, CT 1, CT 2, CT 3, CT 4 và CT 8 có hiệu lực cao trên 72% ở kỳ theo dõi 5 ngày sau phun.

Bảng 2. Hiệu lực của một số loại thuốc đối với ruồi đục quả táo trong phòng thí nghiệm tại Viện Nghiên cứu Bông và Phát triển nông nghiệp Nha Hố, năm 2021

Công thức	Hiệu lực của các công thức thí nghiệm (%)		
	1 NSP	3 NSP	5 NSP
CT 1	50,3	73,4 ^{ab}	80,6 ^{ab}
CT 2	56,2	69,2 ^{ab}	72,7 ^b
CT 3	58,2	79,1 ^a	83,3 ^{ab}
CT 4	67,4	81,7 ^a	90,1 ^a
CT 5	15,2	53,2 ^{bc}	57,5 ^c
CT 6	29,4	52,3 ^{bc}	50,9 ^c
CT 7	27,7	50,0 ^{bc}	49,2 ^c
CT 8	33,2	73,2 ^{ab}	80,6 ^{ab}
CT 9	7,3	41,5 ^{cd}	53,5 ^{cd}
CT 10	14,4	40,3 ^{cd}	54,7 ^{cd}
CT 11	20,8	51,1 ^c	57,6 ^c
CT 12	11,4	43,0 ^{cd}	53,1 ^{cd}
CV (%)	35,2	14,1	11,8
LSD _{0,05}	19,5	14,1	13,1

Ghi chú: NSP = ngày sau phun; chữ cái khác nhau trong cùng một cột biểu thị sai khác có ý nghĩa ở mức $\alpha=0,05$.

3.2. Kết quả khảo nghiệm một số loại thuốc bảo vệ thực vật để quản lý ruồi đục quả táo ngoài đồng

3.2.1. Mật độ ấu trùng còn sống sau khi xử lý quả bị hại bằng thuốc bảo vệ thực vật có trong các công thức

Bảng 3. Mật độ ấu trùng còn sống sau xử lý quả bị hại bằng thuốc bảo vệ thực vật tại tỉnh Ninh Thuận, năm 2021

Công thức	Mật độ (con/quả)			
	TP1	3 NSP1	7 NSP1	14 NSP1
CT 1	11,4	4,4 ^{ef}	2,7 ^c	1,7 ^{de}
CT 2	13,7	4,6 ^{de}	3,8 ^{bc}	2,8 ^c
CT 3	11,1	3,7 ^{ef}	2,2 ^c	1,4 ^{de}
CT 4	12,9	3,3 ^f	2,2 ^c	1,0 ^e
CT 5	12,7	6,5 ^{bc}	3,1 ^c	1,8 ^d
CT 6 (Đ/C)	12,9	9,6 ^a	11,7 ^a	10,0 ^a
CV(%)	11,6	12,5	21,9	13,1
LSD _{0,05}	ns	1,2	1,7	0,8

Ghi chú: TP1: Trước phun lần 1; NSP1: Ngày sau phun lần 1; chữ cái khác nhau trong cùng một cột biểu thị sai khác có ý nghĩa ở mức $\alpha=0,05$.

Bảng 3 cho thấy, trước ngày phun thuốc, mật độ ấu trùng ruồi đục quả có trong quả táo ở tất cả các công thức thí nghiệm đều khá cao, mật độ ấu trùng trung bình dao động từ 11,1 – 13,7 con/quả, nhưng sự sai khác này không có ý nghĩa thống kê. 3 ngày sau phun thuốc, mật độ ấu trùng ruồi đục quả của tất cả các công thức phun thuốc trong thí nghiệm đều giảm và thấp hơn có ý nghĩa thống kê so với công thức đối chứng. Mật độ ấu trùng trung bình trên các công thức đều giảm và dao động từ 3,3 – 9,6 con/quả. Trong đó, mật độ ấu trùng ruồi đục quả giảm mạnh nhất ở CT 4 với mật độ ấu trùng trung bình là 3,3 con/quả, tiếp đến là CT 3 (4,4 con/quả). 7 ngày sau phun thuốc, mật độ ấu trùng ruồi đục quả ở tất cả các công thức phun thuốc tiếp tục giảm. Mật độ ấu trùng trung bình sau 7 ngày phun thuốc ở các công thức phun thuốc dao động từ 2,2 – 11,7 con/quả. Tất cả các công thức phun thuốc đều có mật độ ấu trùng thấp hơn có ý nghĩa so với đối chứng. Trong đó, CT 4, CT 3, có mật độ ấu trùng ruồi đục quả thấp nhất. 14 ngày sau khi phun thuốc, mật độ ấu trùng ruồi đục quả ở tất cả các công thức phun thuốc tiếp tục giảm.

Mật độ ấu trùng trung bình của các công thức thí nghiệm dao động từ 1,0 – 10,0 con/quả. Tất cả các công thức phun thuốc có mật độ ấu trùng ruồi đục quả thấp hơn có ý nghĩa thống kê so với công thức đối chứng phun nước lã. Trong đó, CT 4 có mật độ ấu trùng ruồi thấp nhất, tiếp đến là CT 3,

3.2.2. Hiệu lực trong phòng của các thuốc bảo vệ thực vật trong phòng trừ ruồi đục quả táo

Bảng 4. Hiệu lực phòng ấu trùng sâu đục quả của các loại thuốc bảo vệ thực vật tại tỉnh Ninh Thuận, năm 2021

Công thức	Hiệu lực (%)		
	3 NSP1	7 NSP1	14 NSP1
CT 1	47,2 ^c	73,6 ^{bc}	81,0 ^b
CT 2	54,5 ^b	68,3 ^c	74,0 ^c
CT 3	55,0 ^b	78,0 ^{ab}	83,3 ^b
CT 4	64,7 ^a	81,0 ^a	90,1 ^a
CT 5	29,2 ^{de}	72,3 ^{bc}	80,6 ^{bc}
CV(%)	9,5	5,71	5,4
LSD _{0,05}	6,9	6,5	6,6

Ghi chú: NSP1: Ngày sau phun lần 1; chữ cái khác nhau trong cùng một cột biểu thị sai khác có ý nghĩa ở mức $\alpha=0,05$.

Bảng 4 cho thấy, 3 ngày sau phun thuốc, các công thức xử lý đều có hiệu lực trừ ruồi đục quả táo dao động từ 29,2 - 64,7%. CT 4 có hiệu lực cao nhất là 64,7%, tiếp đến là CT 3 (55,0%), CT 2 (55,5%).

Sau 7 ngày xử lý, hiệu lực phòng trừ ruồi đục quả trung bình của các công thức xử lý thuốc dao động từ 68,3 - 81,0%. CT 4 có hiệu lực phòng trừ ruồi cao nhất, tiếp đến là CT 3, CT 1, CT 5 và CT 2.

14 ngày sau phun, hiệu lực phòng trừ ruồi đục quả của các công thức xử lý thuốc cao và dao động từ 74,0 - 90,1%. Trong đó, CT 4 có hiệu lực cao nhất và cao hơn có ý nghĩa so với các công thức còn lại, tiếp đến lần lượt là CT 3, CT 1, CT 5 và CT 2.

4. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

4.1. Kết luận

Đã xác định được 4 loại thuốc có hiệu lực phòng trừ ruồi đục quả táo sau 14 ngày xử lý gồm: Match® 050 EC (Lufenuron) với nồng độ 1,3‰ đạt hiệu lực 90,1%; Abamectin (Abatimec 1.8 EC) với nồng độ 1,0‰ đạt hiệu lực 83,3%, Emamectin benzoate (Actimax 50 WG) với nồng độ 0,6‰ đạt hiệu lực 81,0% và Chlorantraniliprole

(DupontTMPrevathon 5 SC) với nồng độ 1,3% đạt hiệu lực 80,6%.

4.2. Đề nghị

Khi thấy quả táo bị ruồi đục quả gây hại thì sử dụng luân phiên các thuốc Lufenuron (Match® 050 EC), Abatimec 1.8 EC (Abamectin), Actimax 50 WG (Emamectin benzoate) và Dupont TMPrevathon 5 SC (Chlorantraniliprole) để phòng trừ. Chỉ sử dụng thuốc bảo vệ thực vật nằm trong danh mục thuốc được phép sử dụng tại Việt Nam và được đăng ký sử dụng trên cây táo của Bộ Nông nghiệp và PTNT.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này đã nhận được tài trợ từ nguồn kinh phí của đề tài “Nghiên cứu quản lý tổng hợp ruồi đục quả và một số sâu, bệnh hại chính trên cây táo tại tỉnh Ninh Thuận và một số tỉnh Nam Trung bộ”

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Sở Nông nghiệp và PTNT tỉnh Ninh Thuận (2022). Báo cáo tổng kết năm 2021 và triển khai kế hoạch năm 2022 ngành nông nghiệp và PTNT. Tài

liệu phục vụ Hội nghị sơ kết ngành Nông nghiệp và PTNT tỉnh Ninh Thuận.

2. Lê Đức Khánh, Nguyễn Thị Thanh Hiền, Trần Thanh Toàn, Vũ Thị Thùy Trang, Lê Quang Khải, Vũ Văn Thanh, Đặng Đình Thắng, Trần Thị Thúy Hằng (2010). Thành phần ruồi hại quả họ Tephritidae và ký chủ của chúng tại một số vùng sinh thái ở Việt Nam. *Tạp chí Bảo vệ thực vật*, (3), tr. 10 - 16.

3. Nguyễn Thị Thanh Hiền, Lê Đức Khánh, Lê Quang Khải (2011). Thành phần ruồi đục quả (tephritidae: diptera) và ký chủ của chúng tại vùng thanh long Bình Thuận. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Việt Nam*, số 09 (21), tr. 41 - 44.

4. Cục Thống kê tỉnh Ninh Thuận (2022). *Niên giám thống kê năm 2021*. Nxb Thống kê, tr. 35 – 38.

5. Tiêu chuẩn ngành 10TCN 581: 2003 Quy phạm khảo nghiệm trên đồng ruộng hiệu lực phòng trừ sâu đục quả (*conopomorpha sinensis* Bradley) hại nhãn, vải của các thuốc trừ sâu.

THE EFFICACY OF SOME INSECTICIDES CONTROL FRUIT FLY ON JUJUBE IN NINH THUAN PROVINCE

Mai Van Hao¹, Nguyen Van Chinh¹,

Pham Trung Hieu¹, Phan Cong Kien¹, Vo Thi Kim Tram¹

¹Nha Ho Research Institute for Cotton and Agriculture Development

Summary

The research content was carried out both in the laboratory and in the field in 2021 in Ninh Thuan province. Selected there vers 4 insecticides that had high effectiveness to control fruit flies on jujube including Lufenuron (Match® 050 EC with 90.1% effectiveness), followed by Abamectin formulations (Abatimec 1.8 EC with effectiveness 83.3%), Emamectin benzoate (Actimax 50 WG with effectiveness 81.0%) and Chlorantraniliprole (DupontTMPrevathon 5 SC with effectiveness 80.6%) after 14 days of treatment. Therefore, in production, if the jujube orchard is damaged by fruit flies with a harmful rate of about 5%, one of the drugs with active ingredients Lufenuron, Abamectin, Emamectin benzoate and Chlorantraniliprole should be used to prevent it. Only use pesticides on the list of drugs permitted for use in Vietnam and registered for use on jujube by the Ministry of Agriculture and Rural Development.

Keywords: *B. dorsalis, B. correcta, Ziziphus mauritiana, Fruit fly, jujube, ber.*

Người phản biện: GS.TS. Nguyễn Văn Đỉnh

Ngày nhận bài: 14/5/2023

Ngày thông qua phản biện: 18/5/2023

Ngày duyệt đăng: 26/6/2023

ẢNH HƯỞNG CỦA 3 AXIT AMIN HISTIDINE, CYSTEINE, METHIONINE LÊN HÀM LƯỢNG ERGOTHIONEINE SINH TỔNG HỢP BỞI NẤM MỐC *ASPERGILLUS ORYZAE* TRÊN MÔI TRƯỜNG PHỤ PHẨM TINH BỘT GẠO

Nguyễn Thị Hồng Thắm¹, Phan Thu Ba²,

Nguyễn Thị Lệ Ngọc², Nguyễn Công Hà², Dương Ngọc Bích³

TÓM TẮT

Aspergillus oryzae là loài vi sinh vật khá quen thuộc với con người, đặc biệt, chúng tiết ra hợp chất ergothioneine (ESH), với khả năng chống oxy hóa, kháng viêm, chống lại tác động của tia UV, tia phóng xạ và có vai trò trong nhiều bệnh lý. Sử dụng phương pháp bề mặt đáp ứng (RSM) để bố trí thí nghiệm nhằm xác định ảnh hưởng của nồng độ các chất cảm ứng bổ sung vào môi trường nuôi cấy sinh tổng hợp. Nghiên cứu được thực hiện trên môi trường phụ phẩm tinh bột gạo, nhằm nâng cao hàm lượng ergothioneine được sinh tổng hợp bởi *Aspergillus oryzae* yếu tố ảnh hưởng đến quá trình sinh tổng hợp được khảo sát gồm: Tỷ lệ ba axit amin cảm ứng là histidine, cysteine, methionine với hàm lượng dao động từ 0 - 120 mg/20 g mẫu. Kết quả cho thấy, khi bổ sung 3 axit amin histidine, cysteine, methionine với tỷ lệ tương ứng là 120; 54,38 và 83,04 mg tạo hàm lượng ESH tối ưu 446,03 mg/100 g chất khô sau khi sinh tổng hợp bằng *A. oryzae*.

Từ khóa: Ergothioneine, chống oxy hoá, sinh tổng hợp, *Aspergillus oryzae*.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Ergothioneine (ESH) là một axit amin thio-histidine betaine bất thường có các hoạt động chống oxy hóa mạnh. Được tổng hợp bởi nhiều loại vi sinh vật, đặc biệt là nấm (bao gồm cả trong quả thể nấm) và vi khuẩn, nhưng không được tổng hợp bởi thực vật và động vật thu nhận thông qua đất và chế độ ăn uống của chúng [1]. Ergothioneine có đặc tính chống oxy hóa, bảo vệ tế bào mạnh mẽ trong ống nghiệm [2]. ESH chống lại các bệnh tim mạch, tình trạng viêm mãn tính, tổn thương bức xạ tia cực tím và tổn thương tế bào thần kinh [3]. Ergothioneine có nhiều ứng dụng trong khoa học thực phẩm như một chất chống

oxy hóa mạnh. Ergothioneine có chứa lưu huỳnh tự nhiên, ngăn ngừa tổn thương oxy hóa phụ thuộc vào đồng đối với các đại phân tử sinh học bằng cách hình thành phức hợp ergothioneine-đồng oxy hóa khử [4]. Cho đến nay, không có sự tổng hợp ergothioneine nào được phát hiện ở động thực vật bậc cao, kể cả con người [5]. ESH đã được sinh tổng hợp bởi *Aspergillus oryzae* (*A. oryzae*), *Saccharomyces cerevisiae*. *Aspergillus oryzae* được công nhận là an toàn để sản xuất dược phẩm, thực phẩm, được sử dụng cho việc sản xuất ESH sinh tổng hợp [6]. Có 2 phản ứng chính trong sinh tổng hợp ESH (là hình thành liên kết C-S oxy hóa và phản ứng phân cắt liên kết C-S tiếp theo, dẫn đến chuyển nguyên tử lưu huỳnh từ cysteine hoặc γ -glutamyl cysteine sang chuỗi bên imidazole của histidine) [7]. Sinh tổng hợp ESH ở *Escherichia coli* (*E. coli*) khi tăng cường histidine, glutamate, cysteine và methionine ở *E. coli* plasmid (chứa egtD, egtB, và egtE/egtC được thu nhận từ *Mycobacterium smegmatis*) kết quả thu được 24

² Trung tâm Công nghệ Sau thu hoạch - Khoa Nông nghiệp Thủy sản – Trường Đại học Trà Vinh

² Viện Công nghệ Sinh học và Thực phẩm- Trường Đại học Cần Thơ

³ Trung tâm học liệu – Phát triển dạy và học - Trường Đại học Trà Vinh

Email: thamnguyentvu@gmail.com

mg/L môi trường nuôi cấy. Con đường sinh tổng hợp ESH ban đầu phát hiện trong *Mycobacteria*, con đường tạo ESH của nấm thì cysteine làm cơ chất cho lưu huỳnh. Có sự bất ngờ là, ESH cũng được tổng hợp theo phương pháp yếm khí [8]. ESH quét các gốc hydroxyl để ngăn chặn sự phá hủy ADN và sự hình thành peroxyde lipid [9]. ESH giúp thải các ion kim loại hóa trị II [10], với các cation kim loại hóa trị hai bao gồm Cu^{2+} , Hg^{2+} , Zn^{2+} , Cd^{2+} , Co^{2+} , Fe^{2+} và Ni^{2+} , ESH được chứng minh làm giảm thiệt hại oxy hóa ở nhiều loại động vật có vú [11; 12]. Khả năng chống oxy hóa của ESH thông qua nhiều cơ chế, bao gồm: Loại bỏ các gốc tự do, kìm hãm các ion kim loại hóa trị II, gây trở ngại cho việc hình thành các cytokine tiền viêm (cytokine là một nhóm các protein và peptide, được các cơ quan tổ chức cơ thể sử dụng như những hỗn hợp các tín hiệu), ảnh hưởng đến quá trình oxy hóa của hemoprotein như hemoglobin và myoglobin. ESH có thể đại diện cho một loại vitamin mới có vai trò sinh lý bao gồm bảo vệ tế bào chống oxy hóa [13]. Do đó, để sinh tổng hợp ESH có hiệu quả cần xác định các yếu tố ảnh hưởng lên quá trình sinh tổng hợp ergothioneine bởi nấm mốc *Aspergillus Oryzae* nhằm tạo điều kiện tốt nhất cho quá trình sinh tổng hợp tạo sản phẩm, trong đó 3 axit amin histidine, cysteine, methionine đóng một vai trò rất quan trọng. Quá trình sinh tổng hợp được nghiên cứu trên môi trường phụ phẩm tinh bột gạo nhằm tận dụng nguồn cơ chất rẻ tiền giàu dinh dưỡng.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

2.1.1. Vật liệu thí nghiệm (nước gạo)

Phụ phẩm (cặn bột gạo) từ quy trình sản xuất tinh bột gạo được thu nhận cơ sở sản xuất bột Từ

Nương (số 91, khóm 2, phường 2, thành phố Sa Đéc, tỉnh Đồng Tháp).

Thành phần hóa học phụ phẩm tinh bột gạo (tính theo căn bản ướt)

Thành phần	Hàm lượng (%)
Đạm tổng	$11,89 \pm 0,11$
Gluxit	$33,01 \pm 0,03$
Chất béo	$0,51 \pm 0,09$
Tro	$0,23 \pm 0,06$
Xơ	0,18
Muối khoáng	0,54

Vỏ trấu của lúa IR 50404 được mua từ Viện Lúa đồng bằng sông Cửu Long.

Bào tử *Asperillus oryzae* (Koji spores -15 g/gói) được mua từ Nhật Bản có mật số 5×10^6 CFU/g.

2.1.2. Hóa chất

Histidine (Ấn Độ), Methionine (Đức), Cysteine, $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ 30%, Na_2SO_4 , KH_2PO_4 , H_3PO_4 , HNO_3 (Công ty Xilong Scientific Co., Ltd; Guangdong, Trung Quốc), Fehling A (CuSO_4 tinh thể 69,28 g định mức đến 1.000 mL), Fehling B (Kali natri tartrate 346 g định và NaOH mức đến 1.000 mL), Trolox (6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic axit), DTT (Dithiothreitol), Serine, Ethanol, Acetic axit (CH_3COOH), Natrihydroxide (NaOH), Axit chlohydride (HCl), Chuẩn H_2SO_4 (Merck, Đức) (Merck, Đức), Acetonitrile (CH_3CN) (Fisher, Mỹ), Methanol (Công ty TNHH Giải pháp Hóa học Vi Na, thành phố Hồ Chí Minh).

2.1.3. Thiết bị và dụng cụ thí nghiệm

Bộ phân tích HPLC (shimadzu, Nhật), tủ ủ (Ehret), máy khuấy từ (Heidolph, Germany), máy đo pH (inoLab), bếp điện, cân phân tích, buồng cấy vi sinh vật, máy lắc ủ (Heidolph, Germany), thiết bị khử trùng...

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Bảng 1. Kế hoạch thực hiện thí nghiệm theo RSM

Mẫu	HL histidine (mg/20 g)	HL cysteine (mg/20 mg)	HL methionine (mg/20 mg)
1	60	60	60
2	60	120	0
3	120	120	60
4	120	0	60
5	60	0	0
6	120	60	0
7	60	60	60
8	60	120	120
9	60	60	60
10	0	60	120
11	60	0	120
12	120	60	120
13	0	60	0
14	0	120	60
15	0	0	60
16	60	60	60

2.3. Phương pháp chuẩn bị mẫu

Nguyên liệu sau khi thu nhận về phòng thí nghiệm được trữ đông ở nhiệt độ $-18^{\circ}\text{C} \pm 2$, xác định độ ẩm nguyên liệu bằng phương pháp sấy đến khối lượng không đổi. Được bổ sung nước để điều chỉnh độ ẩm đến 56% và thay đổi pH bằng NaOH 1M. Tiếp theo, bột được gia nhiệt bằng bể điều nhiệt ở nhiệt độ 85°C khoảng 60 phút đến khi hồ hóa tinh bột (bột chín) cho thêm 20 - 25% trấu vào môi trường để tạo độ xốp và tạo nên những khoảng trống để không khí lưu thông bên trong môi trường một cách dễ dàng [14], thử nghiệm thăm dò đã thực hiện với kết quả 25% trấu trộn bột tạo thành cơ chất nuôi cấy. Sau đó, cân mẫu với khối lượng 20 g/mẫu (sử dụng keo thủy tinh dung tích 250 ml) tiến hành tiệt trùng ở nhiệt độ $121^{\circ}\text{C}/15$ phút, tiếp tục để nguội đến khoảng 35°C cấy chủng nấm mốc và bổ sung 3 chất cảm ứng tiến hành nuôi cấy trong môi trường tĩnh, ở nhiệt độ 30°C trong thời gian 48 giờ (Đồng Thị Thanh Thu (2003) [15] thời gian nuôi mốc từ 40 – 48 giờ thì mốc có màu vàng xanh) hay quá trình ủ Koji bằng chủng nấm mốc *A.oryzae* với thời gian 2 ngày khuẩn ty phát triển tốt nhất, thực hiện thu hồi mẫu làm mẫu thử để phân tích các chỉ tiêu.

2.4. Phương pháp phân tích

ESH được định lượng bằng sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC). Hàm lượng Ergothioneine được xác định theo phương pháp của Wi Young Lee, (2009) [16] và Yeongseon Jang và cs. (2016) [17] với những sửa đổi nhỏ. Đầu tiên, 3 gam mẫu được chiết xuất với 27 ml etanol lạnh 70% (chứa 0,1 mM DTT). Và 1 mL 1.000 ppm MMI đã được thêm vào làm chất chuẩn nội. Hỗn hợp được đồng nhất với tốc độ 400 vòng/phút trong 3 phút (giữ ở nhiệt độ thấp). Sau đó, huyền phù được làm lạnh trong 30 phút và ly tâm ở 20.000 xg, 4°C trong 20 phút. Tiếp theo, phần nổi phía trên được làm bay hơi ở 50°C đến khô. Sau đó, phần cặn được hòa tan với 1 mL nước khử ion và 1 mL chì axetat 15% cơ bản, thêm vào 1 mL hexan. Tiếp theo, hỗn hợp tiếp tục được giữ lạnh trong 30 phút và ly tâm ở 20.000 x g, 4°C trong 20 phút. Cuối cùng, phần nổi phía trên được phân tích trên hệ thống HPLC Shimadzu được trang bị đầu dò UV-Vis trên hai cột (cột 1: Supelco C18, 250 mm x 4,6 mm x 5 μm và cột 2: Lichrospher RP-C18 250 mm x 4 mm x 5 μm), được phát hiện ở bước sóng 254 nm, 40°C . Rửa giải đẳng dòng, tốc độ dòng 0,7 mL/phút, pha động được sử dụng gồm có (A) là axit axetic (2,5% thể tích) và (B) nước khử ion (theo tỉ lệ 50:50) các

dung môi được trộn ở áp suất thấp, thời gian rửa giải cho mỗi mẫu là 40 phút. Ergothioneine tinh khiết được sử dụng làm chất chuẩn để hiệu chuẩn.

Khả năng khử gốc tự do DPPH của dịch chiết được xác định theo phương pháp của Fu and Shieh (2002) [18] với một vài hiệu chỉnh nhỏ, 3 g mẫu được trích ly qua đêm ở -18°C với 27 mL methanol. Sau đó thêm vào 1 ml dung dịch DPPH 0,1 mM (pha trong methanol 99,5%), lắc đều và để yên trong bóng tối 30 phút. Mẫu luôn được giữ tránh ánh sáng trực tiếp trong suốt quá trình phân tích bằng cách học kín các dụng cụ bằng giấy bạc và không mở đèn khi thao tác trong phòng thí nghiệm. Độ hấp thụ quang học được đo ở bước sóng 517 nm. Khả năng khử gốc tự do DPPH được xác định theo công thức sau:

$$\text{DPPH (\%)} = 100 \times (\text{ACT} - \text{ASP}) / \text{ACT}$$

Trong đó: ACT là độ hấp thụ quang học của mẫu trắng không chứa dịch chiết; ASP là độ hấp thụ quang học của mẫu có chứa dịch chiết [19]. Kết quả thu được bởi giá trị IC₅₀ là nồng độ dịch chiết cho khả năng khử gốc tự do DPPH là 50%.

Từ tỉ lệ % hoạt tính bắt gốc tự do DPPH, phương trình tương quan tuyến tính được xây dựng, từ đó xác định giá trị IC₅₀ để làm cơ sở so

sánh khả năng kháng oxy hóa giữa các mẫu. Mẫu mà có giá trị IC₅₀ càng thấp thì hoạt tính kháng oxy hóa càng cao.

2.5. Phân tích dữ liệu

Các số liệu được xử lý bằng phần mềm Excel và phần mềm thống kê Statgraphics Centurion XVI.

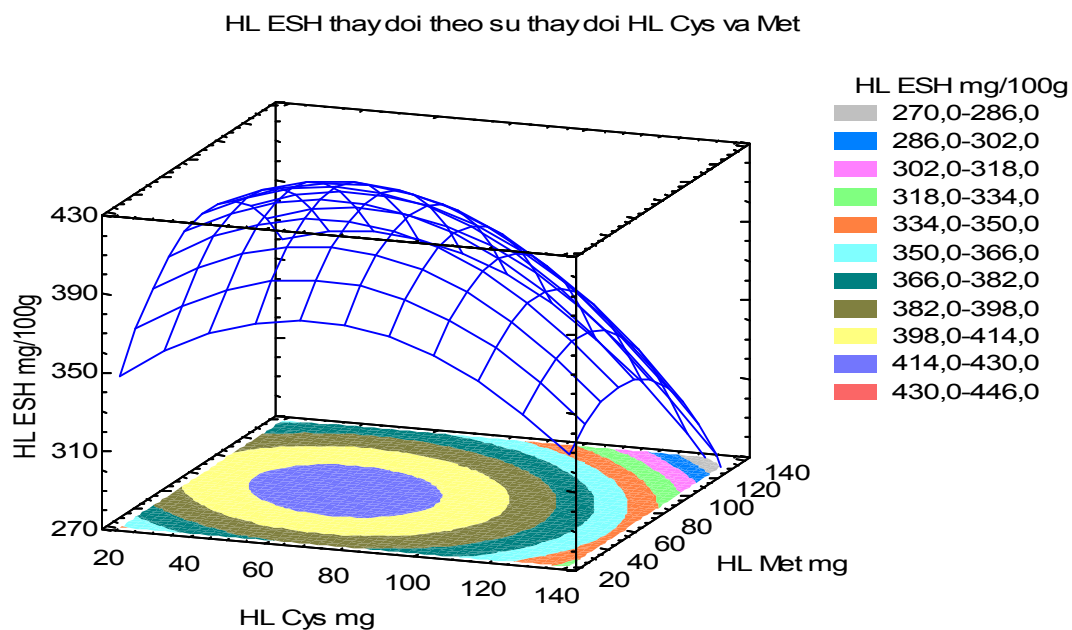
3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

Ảnh hưởng của nồng độ ba axit amin (histidine, cysteine, methionine) lên khả năng sinh tổng hợp ESH của *A. oryzae*

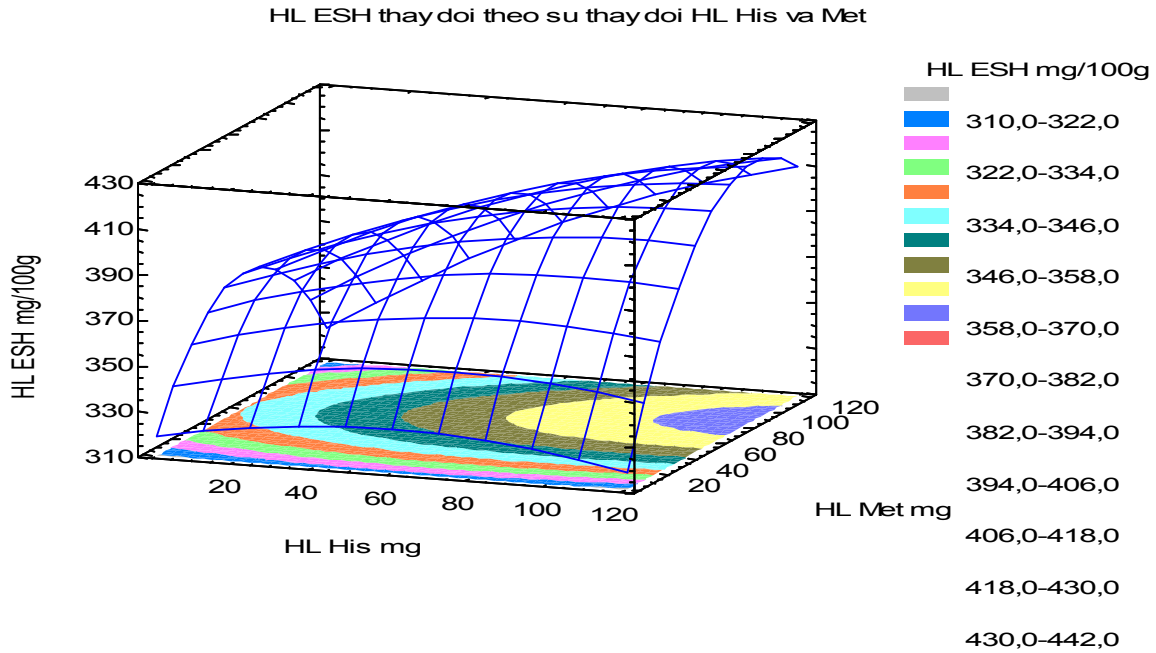


Hình 1. Sự phát triển nấm mốc *A. oryzae* trên môi trường phụ phẩm tinh bột gạo

(a: môi trường trước nuôi cấy; b: môi trường sau nuôi cấy)



Hình 2. Ảnh hưởng của nồng độ hai axit amin (Cys và Met) lên sự thay đổi hàm lượng ESH (mg/100 g)

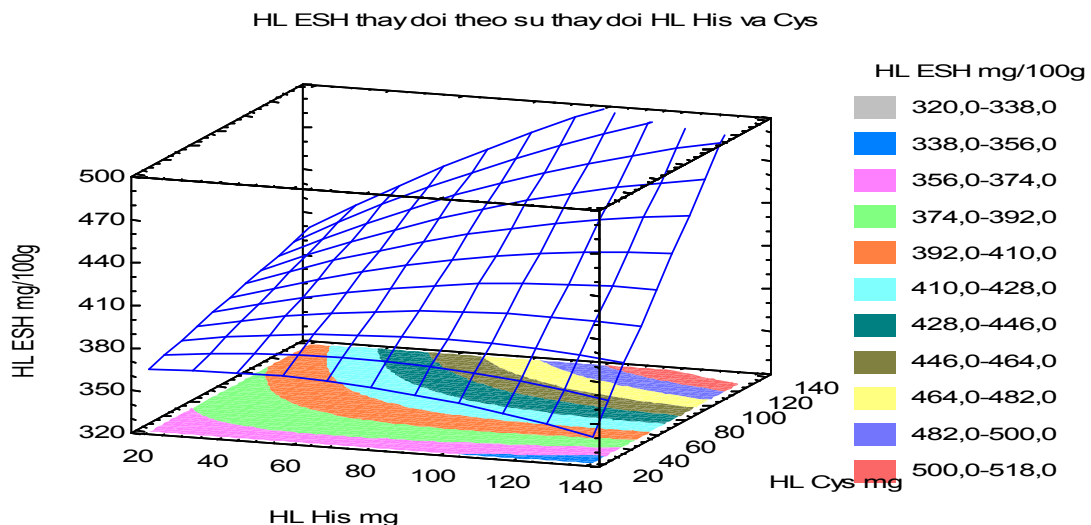


Hình 3. Ảnh hưởng của nồng độ hai axit amin (His và Met) lên sự thay đổi hàm lượng ESH (mg/100 g)

Hàm lượng axit amin histidine, cystein và hàm lượng methionine có giá trị từ 0 - 120 mg có tác động đến khả năng sinh tổng hợp hàm lượng ESH khi nuôi cấy nấm mốc *A. oryzae* trên môi trường phụ phẩm tinh bột gạo có sự khác biệt có ý nghĩa ở mức 5% và ảnh hưởng đến khả năng sinh tổng hợp ESH từ nấm mốc *A. oryzae*, cùng với việc tăng hàm lượng Histidin thì việc tăng hàm lượng methionine cũng làm tăng hàm lượng ESH, tương tự với kết quả nghiên cứu của Wi Young Lee và cs (2009) [16] ESH đạt giá trị cao nhất với các tỉ lệ 3

axit amin histidine: cysteine: methionine tương ứng là 120 mg: 52,51 mg: 90,80 mg tạo ra hàm lượng ESH 446,79 mg/100g (hình 2 và 3).

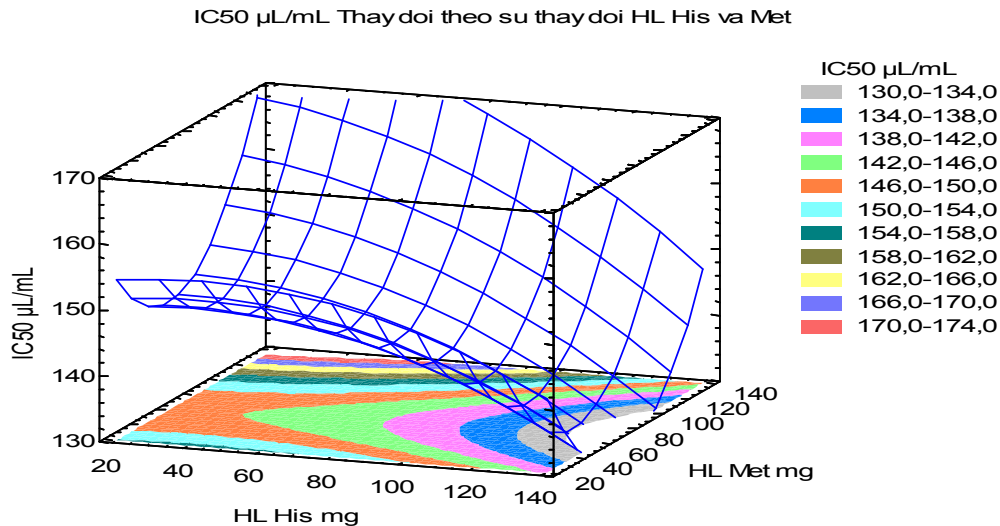
Hình 3 cho thấy, khi hàm lượng histidine càng tăng thì hàm lượng ESH được sinh ra tăng dần từ 314,08 mg/100 g lên 395,62 mg/100 g (1,26 lần ở mức histidine 0 mg), tăng từ 300,74 mg/100 g lên 429,79 mg/100 g (1,43 lần ở mức histidine 60 mg), tăng từ 351,44 mg/100 g lên 460,96 mg/100 g (1,31 lần ở mức histidine 120 mg).



Hình 4. Ảnh hưởng của nồng độ hai axit amin (His và Cys) lên sự thay đổi hàm lượng ESH (mg/100 g)

Hình 4 cho thấy, dù tăng hàm lượng Histidin nhưng nếu hàm lượng Cystein thấp thì hàm lượng ESH cũng thấp, do đó để tăng hàm lượng ESH cần tăng axit amin Cystein. Tuy nhiên, nếu tăng hàm

lượng Cystein quá cao cùng với sự thay đổi hàm lượng Methionin thì hàm lượng ESH đạt cực đại ở hàm lượng cysteine: methionine tương ứng là 52,51 mg: 90,80 mg, sau đó sẽ giảm (hình 2).



Hình 5. Ảnh hưởng của nồng độ hai axit amin (His và Met) lên sự thay đổi giá trị IC_{50} $\mu\text{L/mL}$

Hình 5 cho thấy, khi hàm lượng histidine càng tăng thì khả năng kháng oxy hóa tăng dần thể hiện ở giá trị IC_{50} giảm dần (khả năng kháng oxy hóa càng cao thì lượng IC_{50} càng thấp) từ 171,13 $\mu\text{L/mL}$ đến 153,69 $\mu\text{L/mL}$ (1,11 lần ở mức histidine 0 mg) giảm từ 213,69 $\mu\text{L/mL}$ đến 129,36 $\mu\text{L/mL}$ (1,65 lần ở mức histidine 60 mg), giảm từ 156,99 $\mu\text{L/mL}$ đến 131,64 $\mu\text{L/mL}$ (1,19 lần ở mức histidine 120 mg). Khả năng kháng oxy hóa thể hiện qua giá trị IC_{50} từ nấm mốc *A. oryzae* có hàm lượng tối ưu ở nồng độ histidine: cysteine: methionine tương ứng là 120; 49,35 và 72,65 mg với giá trị IC_{50} là 120,22 $\mu\text{L/mL}$ với sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê ở mức 5%

Nhiều nghiên cứu cho thấy, con đường sinh tổng hợp ESH cần thiết có sự tham gia của 3 loại axit amin vào quá trình sinh tổng hợp. Theo Nguyễn Đức Lượng (2004) [14] cơ chất cảm ứng được xem như yếu tố rất quan trọng dùng để điều khiển quá trình sinh tổng hợp enzyme từ vi sinh vật. Khi cho cơ chất vào môi trường nuôi cấy với liều lượng tăng dần thì khả năng tổng hợp enzyme cảm ứng sẽ tăng dần, đến một lúc nào đó quá trình này sẽ dừng lại và thậm chí sẽ giảm do hiện tượng tăng áp suất thẩm thấu bởi cơ chất gây nên,

cho nên chất cảm ứng chỉ cần thiết ở một nồng độ nhất định.

4. KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

4.1. Kết luận

Kết quả khảo sát ảnh hưởng của nồng độ 3 axit amin (histidine, cysteine và methionine) bổ sung vào môi trường nuôi cấy sinh tổng hợp ESH từ nấm mốc *A. oryzae* đạt tối ưu ở nồng độ histidine: cysteine: methionine tương ứng là 120, 54,38 và 83,04 mg, nồng độ tối ưu của 3 axit amin này được sử dụng làm chất cảm ứng để tạo ra hàm lượng ESH là 446,03 mg/100 g chất khô.

4.2. Kiến nghị

Nên khảo sát khả năng sinh tổng hợp ESH trên các nguồn nguyên liệu khác và nhiều loài vi sinh vật khác nhau.

Ứng dụng bổ sung ergothioneine vào các sản phẩm thực phẩm để hạn chế oxy hóa của nhiều loại sản phẩm thực phẩm khác nhau.

LỜI CẢM ƠN

Chúng tôi xin gửi lời cảm ơn chân thành đến lãnh đạo, các đồng nghiệp và các bạn sinh viên Trường Đại học Trà Vinh và Trường Đại học Cần Thơ. Nghiên cứu này được tài trợ một phần bởi Dự

án Cải tạo Trường Đại học Cần Thơ VN14-P6, được hỗ trợ từ nguồn vốn vay ODA của Nhật Bản. Chương trình A15.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. I. Borodina *et al.*, (2020). The biology of ergothioneine, an antioxidant nutraceutical, *Nutr. Res. Rev.*, vol. 33, no. 2, pp. 190–217, doi: 10.1017/S0954422419000301.
2. B. Halliwell, I. K. Cheah, and R. M. Y. Tang (2018). Ergothioneine – a diet-derived antioxidant with therapeutic potential, *FEBS Lett.*, vol. 592, no. 20, pp. 3357–3366, doi: 10.1002/1873-3468.13123.
3. L. Servillo, N. D’Onofrio, and M. L. Balestrieri (2017). Ergothioneine Antioxidant Function: From Chemistry to Cardiovascular Therapeutic Potential, *J. Cardiovasc. Pharmacol.*, vol. 69, no. 4, pp. 183–191, doi: 10.1097/FJC.0000000000000464.
4. B.-Z. Zhu *et al.*, (2010). Ergothioneine Prevents Copper-Induced Oxidative Damage to DNA and Protein by Forming a Redox-Inactive Ergothioneine-Copper Complex, *Chem. Res. Toxicol.*, vol. 24, pp. 30–34, doi: 10.1021/tx100214t.
5. P. Kalač, Chapter 4 - Health-Stimulating Compounds and Effects (2016). P. B. T.-E. M. Kalač, Ed. Academic Press, pp. 137–153.
6. S. A. Van Der Hoek, B. Darbani, K. E. Zugaj, B. K. Prabhala, and I. Borodina (2019). Engineering the Yeast *Saccharomyces cerevisiae* for the Production of L- (+) -Ergothioneine, vol. 7, no. October, pp. 1–14, doi: 10.3389/fbioe.2019.00262.
7. L. Qin, X. Chen, and P. Liu (2014). Bioinformatic and Biochemical Characterizations of C – S Bond Formation and Cleavage Enzymes in the Fungus *Neurospora crassa* Ergothioneine Biosynthetic Pathway, pp. 10–13.
8. J. B. Hedges and K. S. Ryan (2020). Biosynthetic Pathways to Nonproteinogenic α -Amino Acids, *Chem. Rev.*, vol. 120, no. 6, pp. 3161–3209, doi: 10.1021/acs.chemrev.9b00408.
9. D. Akanmu, R. Cecchini, O. I. Aruoma, and B. Halliwell (1991). The antioxidant action of ergothioneine, *Arch. Biochem. Biophys.*, vol. 288, no. 1, pp. 10–16, doi: [https://doi.org/10.1016/0003-9861\(91\)90158-F](https://doi.org/10.1016/0003-9861(91)90158-F).
10. D. P. Hanlon (1971). Interaction of ergothioneine with metal ions and metalloenzymes, *J. Med. Chem.*, vol. 14, no. 11, pp. 1084–1087, doi: 10.1021/jm00293a017.
11. M. Deiana, A. Rosa, V. Casu, R. Piga, M. Assunta Dessì, and O. I. Aruoma (2004). Ergothioneine modulates oxidative damage in the kidney and liver of rats in vivo: studies upon the profile of polyunsaturated fatty acids, *Clin. Nutr.*, vol. 23, no. 2, pp. 183–193, doi: 10.1016/S0261-5614(03)00108-0.
12. I. K. Cheah and B. Halliwell (2012). Ergothioneine; antioxidant potential, physiological function and role in disease, *Biochim. Biophys. Acta - Mol. Basis Dis.*, vol. 1822, no. 5, pp. 784–793, doi: 10.1016/j.bbadis.2011.09.017.
13. B. D. Paul and S. H. Snyder (2010). The unusual amino acid L-ergothioneine is a physiologic cytoprotectant, *Cell Death Differ.*, pp. 1134–1140, doi: 10.1038/cdd.2009.163.
14. Nguyễn Đức lượng (2004). *Công nghệ enzyme*. Nxb Đại học Quốc gia, thành phố Hồ Chí Minh.
15. Đồng Thị Thanh Thu (2003). *Sinh hóa ứng dụng*. Nxb Đại học Quốc gia, thành phố Hồ Chí Minh.
16. W. Y. Lee, E.-J. Park, J. K. Ahn, and K.-H. Ka (2009). Ergothioneine Contents in Fruiting Bodies and Their Enhancement in Mycelial Cultures by the Addition of Methionine. *Mycobiology*, vol. 37, no. 1, p. 43, doi: 10.4489/myco.2009.37.1.043.
17. Y. Jang, J. Park, R. Ryoo, Y. Park, and K. Ka (2016). Ergothioneine Contents of Shiitake (*Lentinula edodes*) Fruiting Bodies on Sawdust Media with Different Nitrogen Sources, *Korean J. Mycol.*, vol. 44, no. 2, pp. 100–102, doi: 10.4489/kjm.2016.44.2.100.
18. H.-Y. Fu, D.-E. Shieh, And C.-T. Ho (2002). Antioxidant And Free Radical Scavenging Activities Of Edible Mushrooms, *J. Food Lipids*,

- vol. 9, no. 1, pp. 35–43, doi: 10.1111/j.1745-4522.2002.tb00206.x. mushrooms using different extractants, *Agric. Nat. Resour.*, vol. 50, no. 2, pp. 89–97, doi: 10.1016/j.anres.2015.07.002.
19. S. Boonsong and W. Klaypradit (2016). Antioxidant activities of extracts from five edible

DETERMINATION AFFECTING OF 3 ACID AMIN HISTIDINE, CYSTEINE, METHIONINE ON THE BIOSYNTHESIS OF ERGOTHIONEINE BY THE *Aspergillus oryzae* ON RICE FLOUR BY-PRODUCTS

Nguyen Thi Hong Tham¹, Phan Thu Ba²,

Nguyen Thi Le Ngoc², Nguyen Cong Ha², Duong Bich Ngoc³

¹ *Post Harvest Technology Center – School of Agriculture-Aquaculture – Tra Vinh University*

² *Institute Of Food and Biotechnology*

³ *Center of Excellence in Learning Resources and Innovation*

Summary

Aspergillus oryzae is a microorganism that is quite familiar to humans, especially it secretes ergothioneine (ESH) within the ability to Antioxidant, anti-inflammatory, anti-UV, anti-radiation and has a role in many diseases. Using response surface method (RSM) to set up the experiment to determine the effect of the concentration of additional inducers on the biosynthetic culture medium. The study was carried out on rice starch by-product medium, to improve the content of ergothioneine biosynthesized by *Aspergillus oryzae*, the factor affecting biosynthesis were investigated including the ratio of three inducer amino acids were histidine, cysteine, and methionine with concentrations ranging from 0 to 120 mg/20 g of sample. The results showed that when adding 03 amino acids histidine: cysteine: methionine with the corresponding ratio of 120 mg: 54.38 mg: 83.04 mg, the optimal ESH content was 446.03 mg/100 g dry matter after biosynthesis by *A.oryzae*.

Keywords: *Ergothioneine, antioxidant, Aspergillus oryzae, biosynthesize.*

Người phản biện: TS. Hoàng Thái Hà

Ngày nhận bài: 24/3/2023

Ngày thông qua phản biện: 24/4/2023

Ngày duyệt đăng: 4/5/2023

NGHIÊN CỨU XÁC ĐỊNH NGUỒN CÁC BON PHÙ HỢP LÀM NGUYÊN LIỆU ĐỂ NÂNG CAO TỶ LỆ CHUYỂN HÓA BIOFLOC TRONG AO NUÔI TÔM THẺ SIÊU THÂM CANH

Trần Quang Ngọc¹, Đàng Mai Thu Thủy¹,
Nguyễn Thị Quang¹, Nguyễn Thành Trung¹, Hứa Ngọc Phúc²

TÓM TẮT

Để giảm hệ số chuyển hóa thức ăn và giảm thiểu lượng chất thải, nguồn các bon tối ưu nhưng sẵn có và rẻ tiền cần được nghiên cứu để ứng dụng tạo sinh khối biofloc. Thí nghiệm xác định nguồn các bon phù hợp làm nguyên liệu gồm 2 nghiệm thức: NT1 dùng glycerol; NT2 dùng mật rỉ đường. Đối tượng nghiên cứu: tôm thẻ chân trắng, kích cỡ giống thả 1-1,2 g/con, diện tích ao thí nghiệm 1.250 m², mật độ 200 con/m², thời gian 60 ngày. Kết quả, kích cỡ tôm thu hoạch ở nghiệm thức 2 (22,17 g/con) cao hơn nghiệm thức 1 (21,83 g/con) sự khác biệt không có ý nghĩa ($p>0,05$). Tỷ lệ sống tôm nuôi đạt trên 92%, FCR < 1 và sự khác biệt giữa 2 nguồn nguyên liệu cung cấp các bon là không có ý nghĩa ($p>0,05$). Năng suất và sản lượng ở nghiệm thức 2 cao hơn nghiệm thức 1 nhưng sự khác biệt không có ý nghĩa ($p>0,05$). Do đó, khuyến cáo có thể sử dụng glycerol hoặc mật rỉ đường để bổ sung cho ao nuôi nhằm gây biofloc, liều lượng tùy thuộc vào lượng thức ăn cho tôm ăn. Tuy nhiên, mật rỉ đường là nguồn nguyên liệu sẵn có tại địa phương nhưng cần kiểm tra chất lượng mật rỉ đường (hàm lượng các bon >35%, không chứa tạp chất, không sử dụng hóa chất để tẩy màu trong quá trình sản xuất) trước khi sử dụng.

Từ khóa: Mật rỉ đường, nguồn các bon phù hợp, nuôi tôm thẻ siêu thâm canh.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Vào đầu những năm 2000, công nghệ biofloc (BFT) được nghiên cứu ứng dụng mục đích nuôi tôm nhằm hạn chế trao đổi nước trong các hệ thống nuôi tôm công nghiệp. Hơn nữa, biofloc còn là hỗn hợp giàu protein, do đó có thể như một nguồn thức ăn cho tôm nuôi [1]. So với công nghệ xử lý nước thông thường, BFT giảm chi phí xử lý nước khoảng 30%, hiệu quả sử dụng thức ăn giảm gấp đôi trong các hệ thống BFT khi so sánh với các ao thông thường và nó trở thành công nghệ ứng dụng trong nuôi tôm với chi phí thấp, phát triển bền vững nghề nuôi tôm [2]. Theo Nguyễn Thị Thu Hiền và cs (2014) [1]. BFT được hiểu là sự kết hợp nuôi vi khuẩn dị dưỡng, vi khuẩn và các vi sinh vật khác tập hợp thành khối, phát triển lơ lửng trong ao nuôi. Sinh khối vi sinh vật phát triển không chỉ nhờ vào chất thải hữu cơ (chất thải của

tôm nuôi và thức ăn thừa) mà còn có cả chất thải vô cơ (ammonia, nitrite, phosphate...). Các hợp chất dinh dưỡng trong nước được chuyển hóa vào vi sinh vật, loại bỏ dinh dưỡng thừa trong nước [3]. Ngoài ra, BFT còn làm giảm tối đa sự xuất hiện của dịch bệnh đốm trắng trong ao nuôi xuống dưới 5%, sản lượng tôm nuôi tăng từ 5 - 10%, kích cỡ tôm lớn hơn ít nhất 2 g/con, chi phí sản xuất thấp hơn từ 15 - 20%, các thông số môi trường rất ổn định khi thời tiết thay đổi so với áp dụng quy trình nuôi thông thường. Để giảm hệ số chuyển hóa thức ăn và giảm thiểu lượng chất thải, nguồn các bon tối ưu nhưng sẵn có và rẻ tiền cần được nghiên cứu và ứng dụng. Như vậy, để có nguồn cung cấp các bon tốt hơn, cần xem xét 2 vấn đề chính: (1) nghiên cứu xử lý tách bớt các tạp chất trước khi đưa vào sử dụng đối với nguồn các bon mật rỉ đường hoặc chọn loại mật rỉ đường chất lượng cao hơn; (2) Nghiên cứu sử dụng nguồn các bon thay thế glycerol.

¹ Công ty TNHH Thông Thuận

³ Viện Nghiên cứu Nuôi trồng Thủy sản III

Email: ngocinve@yahoo.com

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU**2.1. Vật liệu**

Tôm thẻ chân trắng có kích cỡ 1 - 1,2 g/con được thả với mật độ 200 con/m², diện tích ao thí nghiệm là 1.250 m² và thời gian thí nghiệm là 60 ngày.

Nguồn các bon khác nhau dùng trong thí nghiệm gồm: glycerol (nguồn gốc Trung Quốc), mật rỉ đường (nguồn gốc Việt Nam).

2.2. Bố trí thí nghiệm

Địa điểm: Khu nuôi tôm công nghệ cao thuộc Công ty TNHH Thông Thuận.

Bố trí thí nghiệm: Thí nghiệm gồm 2 nghiệm thức, glycerol và mật rỉ đường. Mỗi nghiệm thức được lặp lại 3 lần trong 3 ao nuôi.

Thời gian bắt đầu chuẩn bị nước cần sử dụng biofloc mỗi liên tục 5-7 ngày đến khi sinh khối biofloc đạt >5 mL/L thì bắt đầu thả tôm. Duy trì sinh khối biofloc trong ao từ 5 - 15 mL/L. Bổ sung nguồn các bon khác nhau bằng 20% lượng thức ăn hàng ngày.

Sinh khối biofloc ở 2 nghiệm thức sử dụng 2 loại nguyên liệu khác nhau là glycerol và mật rỉ đường để cung cấp nguồn các bon cho ao nuôi, đảm bảo tỷ lệ C/N = 12 cho kết quả sai khác không có ý nghĩa ($p > 0,05$). Phương pháp tính lượng các bon bổ sung để đạt tỷ lệ C/N = 12 là thêm 0,5-1 kg nguồn các bon khác nhau cho mỗi kg thức ăn được sử dụng [4].

2.2.1. Phương pháp gây biofloc mới

Sử dụng thùng phuy nhựa (200L) để ủ hỗn hợp gồm 150 L nước ao + 3 kg thức ăn No số 0 + 10 L nguồn các bon khác nhau + 5 L EM-1 + 50 g men NITRO. Sục khí mạnh hỗn hợp trong 24 giờ, khi thấy bọt trắng nổi đầy mặt thùng và mùi mật đường giảm đi nhiều thì bơm hỗn hợp xuống ao.

2.2.2. Phương pháp gây EM-1

Men EM - Gốc thành phần: (*Lactobacillus*, *Bacillus*), mật độ $1,5 \times 10^9$ (cfu/mL), không sử dụng EM - Gốc để tạt trực tiếp vào ao mà phải nhân sinh khối lên EM - 1 mới sử dụng.

Cách nhân sinh khối EM-1: 1 L EM - Gốc + 1 kg nguồn các bon khác nhau + 18 L nước. Đóng kín, ủ yếm khí hỗn hợp, sau 3 - 5 ngày thì có thể sử dụng.

Cách sử dụng: tạt trực tiếp EM-1 vào ao, liều dùng 10 L/1.000 m³.

*** Phương pháp duy trì biofloc:**

EM-1 (*Lactobacillus*, 10^6 cfu/mL, *Bacillus* sp., 10^6 cfu/mL), liều lượng: 10 L/1.000 m³/ngày;

Men NITRO (*Nitrosomonas*: 10^6 cfu/g), liều lượng: 100 g/1.000 m³;

Men BIO-BAC (*Bacillus* sp., 10^6 cfu/mL), liều lượng 100 g/1.000 m³.

2.2.3. Phương pháp xử lý sự cố biofloc

Sinh khối biofloc giảm <5 mL/L: Cần bổ sung biofloc mới và nguồn các bon khác nhau.

Sinh khối biofloc tăng >15 mL/L: Giảm thức ăn, tăng cường thay nước, ngưng bổ sung nguồn các bon khác nhau.

Dấu hiệu để nhận biết sinh khối biofloc ổn định trong ao là biên độ dao động pH sáng và chiều <0,2. Nếu biên độ dao động pH > 0,2 thì cần có bổ sung biofloc mới để tăng sinh khối biofloc và sử dụng EM-1 vào ban đêm để làm giảm mật độ tảo trong ao.

2.3. Phương pháp theo dõi biến động của các yếu tố môi trường

Các chỉ tiêu đánh giá: Điều kiện môi trường ao nuôi (pH, DO, nhiệt độ, độ kiềm, độ mặn, NH₃-N và sinh khối biofloc), các chỉ tiêu tăng trưởng, các chỉ tiêu kỹ thuật.

Tất cả các mẫu được cố định và chuyển về phòng thí nghiệm của Công ty TNHH Thông Thuận để phân tích các chỉ tiêu.

Kiểm tra thể tích biofloc (mL/L): Sử dụng phễu imhoff loại 1 L (lấy 1 L nước ao tại vị trí có sục khí; đặt phễu yên tĩnh trong 30 phút; xác định thể tích hạt flocc dựa vào thang đo trên phễu Imhoff). Sau 15 ngày nuôi, tiến hành kiểm tra tăng trưởng 10 ngày/lần, mỗi lần cân 30 con, lấy giá trị trung bình.

Bảng 1. Các chỉ tiêu môi trường ao nuôi

TT	Chỉ tiêu	Tần suất thu mẫu	Phương pháp phân tích mẫu
1	pH	2 lần/ngày	testkit pH
2	DO	2 lần/ngày	testkit SERA
3	Nhiệt độ	2 lần/ngày	Nhiệt kế rượu 0-50°C
4	Độ kiềm	7 ngày/lần	SMEWW 2320-B
5	Độ mặn	7 ngày/lần	Khúc xạ kế
6	NH ₃ -N	7 ngày/lần	SMEWW 4500-NH ₃ -F
7	Sinh khối biofloc	1 lần/ngày	Phễu imhoff

Tốc độ tăng trưởng tuyệt đối (DWG): $DWG (g/ngày) = \frac{W_c - W_d}{t}$

Tốc độ tăng trưởng tương đối (SGR): $SGR (\%/ngày) = \frac{\ln W_c - \ln W_d}{t} \times 100$

Trong đó:

W_d là khối lượng tôm ban đầu;

W_c là khối lượng tôm khi kết thúc thí nghiệm;

t là thời gian tiến hành thí nghiệm.

Tỷ lệ sống của tôm (%) = $\frac{(\text{Số tôm thu cuối thí nghiệm} + \text{Số tôm bị thu làm mẫu định kỳ})}{\text{Số tôm thả ban đầu}} \times 100$

Hệ số tiêu tốn thức ăn (Feed Consumption Rate):

$FCR = \frac{\text{Khối lượng thức ăn tôm (kg)}}{(\text{Khối lượng tôm thu hoạch} + \text{Khối lượng tôm chết}) - \text{Khối lượng tôm giống (kg)}}$

Năng suất (tấn/ha) = $\frac{\text{Sản lượng (tấn)}}{\text{Diện tích (ha)}}$

2.4. Xử lý số liệu

Các số liệu được tính toán giá trị trung bình, độ lệch chuẩn bằng phần mềm Excel; so sánh sự khác biệt giữa các nghiệm thức theo phương pháp phân tích ANOVA một nhân tố với phép thử LSD

bằng phần mềm SPSS 16.0 ở mức ý nghĩa (P<0,05).

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Điều kiện môi trường ao nuôi

Sau thời gian thí nghiệm, các kết quả theo dõi môi trường nước trong các ao nuôi được thể hiện ở bảng 2.

Bảng 2. Biến động của các yếu tố môi trường nước trong các ao nuôi thử nghiệm

Chỉ tiêu	Thời điểm	Nghiệm thức	
		Nghiệm thức 1	Nghiệm thức 2
pH	Sáng	7,7 - 8,4	7,8 - 8,3
	Chiều	7,8 - 8,4	7,7 - 8,2
Nhiệt độ (°C)	Sáng	29,56 ± 0,3	29,16 ± 0,3
	Chiều	30,18 ± 0,2	29,98 ± 0,7
DO (mg/L)	Sáng	4,6 ± 0,5	4,5 ± 0,5
	Chiều	5,3 ± 0,2	5,4 ± 0,4
S (‰)	Sáng	25,0 - 28,0	25,0 - 28,0
NH ₃ (mg/L)	Sáng	0,15 ± 0,007	0,10 ± 0,007
Độ kiềm (mg/L)	Sáng	127,4 ± 0,1	137,4 ± 0,1
	Chiều	135,1 ± 0,7	145,1 ± 0,7

Số liệu ở bảng là giá trị trung bình (M) ± sai số chuẩn (SE - Standard Error). Nghiệm thức 1: glycerol (nguồn gốc Trung Quốc); nghiệm thức 2: mật rỉ đường (nguồn gốc Việt Nam).

Hệ thống ao nuôi thí nghiệm được sử dụng chung nguồn cung cấp nước, chế độ chăm sóc và quản lý như nhau. Do đó, một số yếu tố môi trường như: pH (7,7 - 8,4), độ mặn (25 - 28 ppt), DO (5,0 - 5,9 mg/L), sai khác không có ý nghĩa ở các ao thí nghiệm. Các yếu tố môi trường đều nằm trong khoảng thích hợp cho tôm sinh trưởng, phát triển.

Động vật biến nhiệt (máu lạnh) không có cơ chế điều chỉnh nhiệt độ cơ thể. Do sống trong môi trường chất lỏng nên nhiệt độ cơ thể bị biến đổi (thụ động) theo nhiệt độ môi trường, mỗi loài thủy sản cũng có ngưỡng nhiệt độ tối ưu cho quá trình phát triển của chúng. Nhiệt độ thích hợp cho tôm từ 25 - 32°C [5].

Độ kiềm trong ao nuôi dao động 125,3 - 161,1 mg/L nằm trong ngưỡng thích hợp cho sự phát triển của tôm. Độ kiềm là tổng hàm lượng các chất

khoáng calci, magie, kali ... ở dạng muối carbonate (CO_3) và bicarbonate (HCO_3) trong đó quan trọng nhất là hai muối canxi carbonate (CaCO_3) magie carbonate (MgCO_3) buộc có trong nước ao hoặc trong thức ăn để làm cứng vỏ tôm trong quá trình lột xác và ổn định pH. Để tôm thể sống và phát triển tốt thì độ kiềm từ 120 - 160 mg/L. Khi độ kiềm < 60 mg/L hoặc >200 mg/L tôm sẽ khó lột xác hoặc không lột xác được [3].

3.2. Đánh giá các chỉ tiêu kỹ thuật về tăng trưởng và tỷ lệ sống, hệ số tiêu tốn thức ăn

Sau thời gian thí nghiệm, kích cỡ tôm thu hoạch ở nghiệm thức 2 (22,17 g/con) cao hơn nghiệm thức 1 (21,83 g/con), sai khác không có ý nghĩa ($p>0,05$). Kết quả đánh giá các chỉ tiêu kỹ thuật về tăng trưởng và tỷ lệ sống, hệ số tiêu tốn thức ăn được thể hiện ở bảng 3.

Bảng 3. Đánh giá các chỉ tiêu kỹ thuật ở thí nghiệm nguồn cung cấp các bon

Chỉ tiêu	Nghiệm thức 1	Nghiệm thức 2
Kích cỡ giống thả (g/con)	1,17 ± 0,06	1,17 ± 0,06
Kích cỡ thu hoạch (g/con)	21,83 ± 0,29	22,17 ± 0,29
DWG (g/ngày)	0,34 ± 0,006	0,35 ± 0,006
SGR (%/ngày)	4,88 ± 0,11	4,9 ± 0,11
Tỷ lệ sống (%)	93,00 ± 2,00	92,83 ± 0,76
FCR	0,96 ± 0,13	0,97 ± 0,03

Tốc độ tăng trưởng tuyệt đối và tốc độ tăng trưởng tương đối của tôm nuôi tại nghiệm thức 2 cao hơn nghiệm thức 1.

Tỷ lệ sống tôm nuôi đạt được 92,83 - 93,00%, sự khác biệt không ý nghĩa ($p>0,05$).

FCR của 2 nghiệm thức đạt 0,96 - 0,97, sự khác biệt không ý nghĩa ($p>0,05$).

So sánh các chỉ tiêu tăng trưởng, tỷ lệ sống và FCR giữa 2 nghiệm thức có sự khác biệt không ý nghĩa. Do đó, khuyến cáo có thể sử dụng glycerol hoặc mật rỉ đường để bổ sung cho ao nuôi nhằm gây biofloc, liều lượng tùy thuộc vào lượng thức ăn cho tôm ăn.

Liều lượng bổ sung cần phải được tính toán để đảm bảo tỷ lệ C/N = 12 (nguồn các bon được bổ sung định kỳ 3 ngày một lần (hoặc hàng tuần), nếu biofloc phát triển với nồng độ đậm đặc, có thể kéo dài thời gian bổ sung các bon có thể khoảng 2 tuần/lần. Đối với thức ăn độ đạm cao 42% protein,

bổ sung các bon với tần suất khoảng 3 ngày/lần), phù hợp với lượng thức ăn cung cấp cho tôm hàng ngày.

3.3. Đánh giá năng suất và sản lượng ở thí nghiệm nguồn cung cấp các bon

Kết quả theo dõi và đánh giá năng suất và sản lượng của ao nuôi ở các nghiệm thức được thể hiện ở bảng 4.

Bảng 4. Đánh giá năng suất và sản lượng ở thí nghiệm nguồn cung cấp các bon

Chỉ tiêu	Nghiệm thức 1	Nghiệm thức 2
Sản lượng (kg)	5.075±61	5.145±103
Năng suất (tấn/ha)	13,5	13,7

Sản lượng ở nghiệm thức 2 (5.145 kg) cao hơn nghiệm thức 1 (5.075 kg), sai khác không có ý nghĩa ($p>0,05$).

Tương tự như vậy, năng suất ở nghiệm thức 2 (13,7 tấn/ha) cao hơn nghiệm thức 1 (13,5 tấn/ha), sai khác không có ý nghĩa ($p>0,05$).

Mỗi nguồn nguyên liệu có những ưu, nhược điểm riêng:

- Glycerol: Nguyên liệu tinh khiết, nhập khẩu Trung Quốc; nhưng giá thành cao, vận chuyển khó khăn.

- Mật rỉ đường: Nguyên liệu sẵn có tại địa phương nhưng chất lượng không tinh khiết. Cần kiểm tra chất lượng mật rỉ đường trước khi sử dụng (hàm lượng các bon >35%, không chứa tạp chất, không sử dụng hóa chất để tẩy màu trong quá trình sản xuất).

3.4. Thảo luận

Kết quả nghiên cứu này cũng tương đồng với những chỉ số đã công bố tại báo cáo kết quả thực hiện đề tài "*Nghiên cứu ứng dụng công nghệ biofloc nuôi thâm canh tôm he chân trắng (Litopenaeus vannamei)*". Đề tài đã xác định được nguồn các bon hợp lý, tỉ lệ C/N = 12 thích hợp duy trì biofloc, qui trình theo dõi và bổ sung các bon; năng suất tôm nuôi đạt 17,6 tấn/ha/vụ; FCR giảm 20% so với qui trình nuôi thâm canh tại địa phương [1].

Thí nghiệm nghiên cứu sự đa dạng vi sinh vật hình thành trong biofloc, được sản xuất từ ba nguồn các bon (glucose, tinh bột và glycerol). Kết quả chỉ ra rằng nguồn các bon có thể ảnh hưởng đáng kể đến thành phần loài vi sinh vật, cấu trúc của biofloc và số lượng mầm bệnh. Do đó việc lựa chọn nguồn các bon được sử dụng trong công nghệ biofloc là rất quan trọng [6].

Việc nâng cao khả năng chuyển hóa, gia tăng mật độ và chất lượng biofloc sẽ làm giảm được thức ăn cho tôm nuôi dẫn tới giảm hệ số thức ăn ($FCR < 1$), đồng thời giảm thiểu chất thải.

Tỷ lệ C/N trong nuôi thâm canh tôm he chân trắng ứng dụng công nghệ biofloc là C/N = 12, nguồn các bon được sử dụng tốt nhất là mật rỉ đường [1]. Tuy nhiên, mật rỉ đường là sản phẩm phụ của các nhà máy nên đa số còn chứa nhiều tạp chất. Vấn đề cần được giải quyết là xử lý loại bỏ tạp chất hoặc chọn nguồn mật rỉ đường không có

tạp chất. Kiểm tra chất lượng mật đường trước khi sử dụng (hàm lượng các bon >35%, không chứa tạp chất, không sử dụng hóa chất để tẩy màu trong quá trình sản xuất).

Kết quả của công trình là có thể dùng mật rỉ đường thay thế nguồn các bon an toàn và có hiệu quả hơn glycerol.

4. KẾT LUẬN

Mật rỉ đường là nguồn các bon sẵn có, hiệu quả sử dụng không có sự khác biệt so với glycerol khi sử dụng làm nguyên liệu bổ sung nguồn các bon cho ao nuôi nhằm gây sinh khối biofloc do đó có thể làm nguồn các bon thay thế, tuy nhiên cần loại bỏ các tạp chất trước khi sử dụng. Liều lượng sử dụng tùy thuộc vào lượng thức ăn cho tôm ăn.

LỜI CẢM ƠN

Nội dung nghiên cứu của công trình nằm trong chương trình thực hiện Dự án: "Ứng dụng công nghệ nuôi đa cấp kết hợp công nghệ biofloc nuôi thâm canh tôm chân trắng (Litopenaeus vannamei)". Trong quá trình thực hiện dự án, nhóm nghiên cứu đã nhận được nhiều sự giúp đỡ của các tổ chức và cá nhân, xin chân thành cảm ơn sự giúp đỡ quý báu đó. Nhóm tác giả xin chân thành cảm ơn Bộ Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn, đã quan tâm chỉ đạo và tạo điều kiện thuận lợi để Dự án thực hiện đúng nội dung và tiến độ. Xin chân thành cảm ơn sự hỗ trợ, phối hợp của Ban Giám đốc Công ty TNHH Thông Thuận và các đồng nghiệp.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nguyễn Thị Thu Hiền, Nguyễn Quang Huy, Trần Thúy Hà, Bùi Văn Điền, Nguyễn Văn Huân, Trần Thị Nguyệt Minh, Nguyễn Việt Vương (2014). Nghiên cứu ứng dụng công nghệ biofloc nuôi thâm canh tôm he chân trắng (*Litopenaeus vannamei*). Báo cáo tổng kết đề tài cấp Nhà Nước thuộc chương trình công nghệ sinh học Thủy sản đến năm 2020. Tài liệu lưu trữ tại Cục Thông tin Khoa học và Công nghệ, Bộ Khoa học và Công nghệ.

2. Avnimelech (2007). *Feeding with microbial flocs by tilapia in minimal discharge bioflocs technology ponds*, Aquaculture 264, pp. 140–147.

3. Boyd, C. E. (1998). *Water quality in ponds for aquaculture. Research and Development*, series No. 43. International Center for aquaculture & aquatic environment. *Alabama agricultural experiment station, Auburn University*.
4. Hargreaves J. C., Adl M. S., Warman P. R. (2007). *A review of the use of composted municipal solid waste in agriculture*, Agriculture-Ecosystems and Environment, 123, pp. 1–14
5. Crab R; Chielens B; Wille M; Bossier P; Verstraete W (2010). *The effect of different carbon sources on the nutritional value of bioflocs, a feed for Macrobrachium rosenbergii postlarvae*. Aquaculture Research, Volume 41, Issue 4, pp. 559-567.
6. Wei Y, Wang A, Liao S, (2020). *Effect of different carbon sources on microbial community structure and composition of ex-situ biofloc formation*. Aquaculture, Volume 515, page 734492.

RESEARCH TO IDENTIFY SUITABLE CARBON SOURCES AS RAW MATERIALS TO IMPROVE BIOFLOC CONVERSION RATE IN SUPER-INTENSIVE VANNAMEI PONDS

Tran Quang Ngoc¹, Dang Mai Thu Thuy¹,

Nguyen Thi Quang¹, Nguyen Thanh Trung¹, Hua Ngoc Phuc²

¹Thong Thuan co.,ltd

²Research Institute for Aquaculture No.3

Summary

In order to reduce feed conversion ratio and minimize waste, an carbon source that optimal, available and inexpensive needs to be studied for the application of biofloc biomass. The experiment to determine the suitable carbon source for research included 2 treatments: (treatment 1 (NT1) using glycerol; treatment 2 (NT2) uses molasses. Research subjects: whiteleg shrimp, stocking size 1-1.2 g/individual, area of pond in experiment is 1,250 m², stocking density 200 individual/m², duration of 60 days. Result showed that, the size of harvested shrimp in treatment 2 (22.17 g/individual) was higher than in treatment 1 (21.83 g/individual) and there wasn't significant difference (P>0.05). The survival rate of shrimp reached over 92%, FCR < 1 and there was no difference between the 2 sources of carbon in the ponds. Productivity and quantity of shrimp in treatment 2 were higher than in treatment 1 but there was no significant difference (P>0.05). Therefore, it is recommended that glycerol or molasses can be used to supply to the ponds to induce biofloc, the dose depends on the amount of food that fed the shrimp. However, molasses is available material source at the local, but it is necessary to check the quality of molasses (need to be carbon content >35%, no impurities, no chemicals to bleach color in the production process) before use.

Keywords: *Molasses, suitable carbon source, Super-intensive white-leg shrimp farming.*

Người phản biện: GS.TS. Trương Quốc Phú

Ngày nhận bài: 20/6/2023

Ngày thông qua phản biện: 25/7/2023

Ngày duyệt đăng: 1/8/2023

ỨNG DỤNG VIỄN THÁM VÀ GIS NGHIÊN CỨU BIẾN ĐỘNG ĐƯỜNG BỜ BIỂN THÀNH PHỐ NHA TRANG, TỈNH KHÁNH HÒA

Lê Thị Giang^{1*}, Lưu Thị Ngọc Diệu²

TÓM TẮT

Nghiên cứu này nhằm mục đích đánh giá biến động đường bờ biển từ năm 2000 đến năm 2020 tại thành phố Nha Trang, tỉnh Khánh Hòa. Nghiên cứu đã sử dụng dữ liệu ảnh viễn thám Landsat 7, Landsat 8 và Sentinel 2B, đồng thời sử dụng phương pháp tạo ảnh tỷ số cùng với sự hỗ trợ của các chức năng phân tích không gian trong Hệ thống thông tin địa lý (GIS). Kết quả cho thấy, biến động đường bờ biển thành phố Nha Trang đang diễn ra cục bộ, diện tích bồi tụ tập trung lớn tại một số khu vực nhất định là do yếu tố nhân sinh. Phần lớn đường bờ biển còn lại hiện tượng xói lở có diễn ra nhưng không lớn, chủ yếu ở cấp độ trung bình, song song và đan xen với bồi tụ, tỷ lệ xói lở và bồi tụ gần xấp xỉ nhau và trải dọc theo đường bờ. Tuy nhiên, từ năm 2000 đến năm 2020 diện tích xói lở không ngừng tăng lên, diễn biến phức tạp. Đây là vấn đề đáng lưu tâm cho các nhà hoạch định chính sách.

Từ khóa: *Biến động đường bờ biển, viễn thám, GIS, Nha Trang.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Việt Nam là nước có đường bờ biển dài, có nhiều cửa sông lớn, là môi trường thích hợp cho sự phát triển của hệ sinh thái rừng ngập mặn. Vùng ven biển Việt Nam dài 3.260 km, trải dài qua của 24 tỉnh, thành phố, bao gồm 127 quận, huyện, thị xã và 6 thành phố. Tại đây diễn ra hàng loạt các quá trình tương tác giữa đất liền và biển, giữa động lực của sông và biển, giữa các quá trình tự nhiên và con người, ... Vùng ven biển Việt Nam cũng hứng chịu nhiều thiên tai, tác động đa chiều đến điều kiện tự nhiên và kinh tế - xã hội. Trong những thập kỷ gần đây, tình trạng xói lở và bồi tụ bờ biển ở ven biển Việt Nam diễn ra khá phức tạp, ở nhiều vùng, gây hậu quả nghiêm trọng [1]. Cường độ và mức độ xói mòn xảy ra ở mỗi tỉnh cũng khác nhau. Việc áp dụng các công nghệ hiện đại, trong đó có viễn thám cho phép giảm chi phí và tiết kiệm thời gian phát hiện biến động đường bờ.

Khai thác sự phân bố nước mặt bằng ảnh vệ tinh là một chủ đề quan trọng trong viễn thám.

Nhiều phương pháp khác nhau đã được áp dụng để phát hiện và lập bản đồ vùng nước, đặc biệt là do sự sẵn có của một loạt các cảm biến vệ tinh. Nói chung, việc phát hiện ra nước dựa trên thực tế là nước hấp thụ mạnh mẽ bức xạ tới ở các bước sóng gần và trung hồng ngoại.

Thành phố Nha Trang có đường bờ biển dài 44 km đang chịu những tác động lớn như biến đổi khí hậu, tình trạng ô nhiễm môi trường biển, xâm nhập mặn, xói lở bờ biển, nước biển dâng diễn ra ngày càng nhanh chóng.

Hiện nay, công nghệ tích hợp viễn thám và GIS là một trong những công nghệ hiện đại đang được ứng dụng rộng rãi trong nhiều lĩnh vực ở trên thế giới và ở Việt Nam. Các ứng dụng của viễn thám và GIS trong lĩnh vực giám sát tài nguyên và môi trường đã thể hiện nhiều ưu điểm hơn hẳn so với các phương pháp nghiên cứu truyền thống. Đặc biệt là đối với công tác nghiên cứu biến động, việc nghiên cứu bằng các phương pháp truyền thống để đánh giá sự biến động của các đối tượng tự nhiên với sự tác động của con người đòi hỏi chi phí rất lớn và mất nhiều thời gian. Nhờ độ trùm phủ không gian rộng lớn, dữ liệu đa thời gian, đa độ phân giải, chu kỳ lặp ngắn thì công nghệ viễn

¹ Học viện Nông nghiệp Việt Nam

² Chi nhánh Văn phòng Đăng ký đất đai tại huyện Diên Khánh, tỉnh Khánh Hòa

* Email: lethigiang@vnua.edu.vn

thám đã giúp tối ưu hóa và chính xác hóa các kết quả nghiên cứu trong lĩnh vực này, hỗ trợ đề xuất các giải pháp về quản lý sản xuất và phát triển bền vững, đem lại hiệu quả rất lớn về mặt kinh tế.

Nghiên cứu của Nguyễn Văn Trung và Nguyễn Văn Khánh (2016) [2], Trịnh Lê Hùng và Vũ Danh Tuyên (2013) [3] cho thấy, công nghệ viễn thám tích hợp với GIS là một trong những công nghệ hiện đại đang được ứng dụng để nghiên cứu biến động đường bờ biển tại Việt Nam. Phạm Quang Sơn và cs (2011) [4] đã sử dụng ảnh viễn thám phân tích diễn biến vùng ven biển cửa Thuận An (tỉnh Thừa Thiên Huế) trước và sau trận lũ lịch sử tháng 11/1999. Kết quả cho thấy, với sự trợ giúp của viễn thám đã dễ dàng và nhanh chóng thấy được sự xói lở xảy ra nghiêm trọng ở một số địa điểm cụ thể và xói lở bờ biển và bồi tụ luân lách ở các cửa sông Thuận An và Tư Hiền đe dọa sự ổn định tự nhiên của hệ đầm phá Tam Giang - Cầu Hai. Đào Đình Châm và cs (2013) [5], đã sử dụng ảnh Landsat phân tích sự biến động của bãi bồi vùng cửa sông Đáy. Kết quả cho thấy một cách định lượng tương đối về tốc độ và diện tích bồi tụ - xói lở, nhất là khu vực khó khăn về mặt đo đạc như vùng ven biển cửa sông Ba Lạt. Tuy nhiên, sự khác biệt của nghiên cứu này với các nghiên cứu trên chủ yếu là việc sử dụng phương pháp phân tích ảnh tỷ số qua các kênh ảnh để xác định sự biến động đường bờ biển. Mục đích là sử dụng ảnh viễn thám Landsat đa thời gian để phân tích diễn

biến đường bờ biển thành phố Nha Trang, tỉnh Khánh Hòa. Dựa trên tốc độ biến động của đường bờ theo thời gian, đã xây dựng được sơ đồ phân vùng xói lở và bồi tụ của thành phố Nha Trang, tỉnh Khánh Hòa.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Khu vực nghiên cứu

Thành phố Nha Trang, tỉnh Khánh Hòa có tổng diện tích tự nhiên là 25.428,45 ha; dân số 422.601 người với bờ biển dài 44 km. Đặc điểm địa hình thành phố Nha Trang đa dạng, phức tạp, bị chia cắt bởi các dãy núi ăn sát ra biển, ven biển là địa hình cồn cát, bãi cát... đã góp phần quy định diện mạo đường bờ khá phức tạp. Ngoài ra các đặc trưng thổ nhưỡng vùng ven biển và cơ chế sóng, gió, thủy triều, dòng chảy biển... cũng không ngừng tác động lên địa hình ven bờ làm thay đổi đường bờ.

Những năm gần đây, do ảnh hưởng của biến đổi khí hậu, mực nước biển dâng, đường bờ biển thành phố Nha Trang là đối tượng chịu tác động trực tiếp nhất.

2.2. Thu thập số liệu

Nghiên cứu đã thu thập ảnh Landsat 7, Landsat 8 và Sentinel 2B được cung cấp bởi USGS [6] (Bảng 1), các ảnh này đều có độ phủ mây 0 - 5% trên khu vực nghiên cứu.

Bảng 1. Thông tin dữ liệu ảnh đã thu thập

STT	Mã ảnh	Loại dữ liệu	Thời gian	Độ phân giải (m)
1	LE07_L1TP_123052_20001108_20170209_01_T1	Landsat 7	02:52:00 08/11/2000	30
2	LE07_L1TP_123052_20050412_20170115_01_T1	Landsat 7	02:51:17 12/4/2005	30
3	LE07_L1TP_123052_20100629_20161213_01_T1	Landsat 7	02:53:53 29/06/2010	30
4	LC08_L1TP_123052_20150923_20170403_01_T1	Landsat 8	03:01:44 23/9/2015	30
5	S2B_MSIL1C_20200507T030539_N0209_R075_T49PCP_20200507T064239	Sentinel 2B	03:29:21 07/5/2020	10 (Kênh 2, 3, 4, 8)

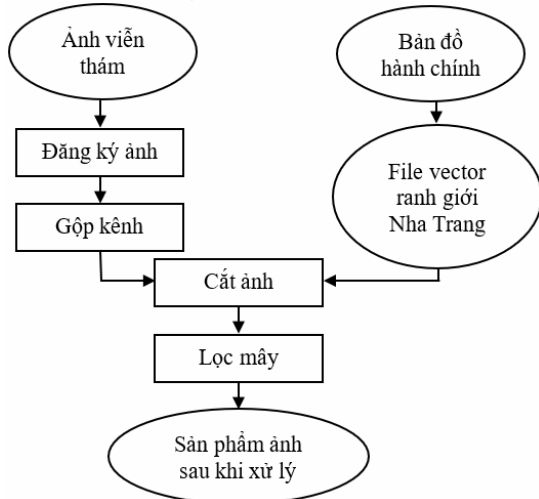
Các điểm GCP cho các năm 2000, 2005, 2015 và 2020 được chia thành 2 nhóm, trong đó nhóm 1 được sử dụng để phân lớp đất và nước theo phương pháp phân loại có kiểm định và nhóm 2 có được sử dụng để đánh giá độ chính xác kết quả ảnh phân loại. (Bảng 2)

Bảng 2. Số lượng các điểm GCP

Năm	Điểm GCP				Tổng
	Nhóm 1		Nhóm 2		
	Đất	Nước	Đất	Nước	
2000	67	100	100	120	387
2005	98	80	108	120	406
2015	100	80	104	130	414
2020	95	105	100	145	445

2.3. Xử lý ảnh

Tiến hành xử lý ảnh theo sơ đồ hình 2.



Hình 2. Sơ đồ các bước xử lý ảnh

Đăng ký ảnh

Nguồn ảnh thu thập được đã được nắn chỉnh hình học nên bước này được bỏ qua trong quá trình thực hiện của nghiên cứu.

Gộp các kênh ảnh

Dữ liệu ảnh tải về được lưu ở định dạng *.tif (geotiff) theo từng kênh phổ riêng biệt. Điều này sẽ gây khó khăn cho quá trình cắt ảnh khi phải thực hiện trên từng kênh của một cảnh gây tốn nhiều thời gian. Vì vậy, việc ghép các kênh ảnh lại thành một ảnh duy nhất là việc làm cần thiết. Dựa vào quá trình chiết tách đường bờ như đã nêu trong phần phương pháp, chỉ tiến hành gộp các kênh ảnh có phục vụ cho mục đích nghiên cứu cụ thể như sau:

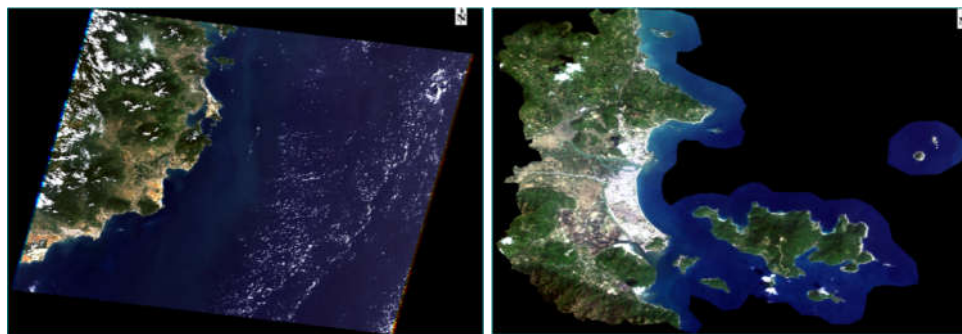
- Ảnh Landsat 7: Kênh 1, 2, 3, 4, 5.
- Ảnh Landsat 8: Kênh 2, 3, 4, 5, 6.
- Ảnh Sentinel 2B: Kênh 2, 3, 4, 8, 11.

Cắt ảnh theo khu vực nghiên cứu và lọc mây

Việc cắt ảnh giúp có được sản phẩm ảnh với dung lượng nhỏ hơn, giúp thao tác nhanh hơn và thể hiện tập trung nội dung thông tin cần nghiên cứu.

Trong các dữ liệu ảnh tải về có 2 cảnh năm 2005 và 2010 ảnh Landsat 7 bị lỗi sọc ảnh cần được sửa lỗi trước khi cắt. Lỗi này là do từ ngày 31/5/2003 thiết bị Scan Line Corrector, bộ phận sensor điều chỉnh hướng bay trên vệ tinh Landsat 7 đã gặp sự cố kỹ thuật, kết quả là tất cả các cảnh Landsat 7 ETM⁺ được thu nhận kể từ ngày 14/7/2003 đến nay đều ở chế độ “SLC-off” nghĩa là xuất hiện các vết sọc đen. Phía Cơ quan Hàng không và Vũ trụ Hoa Kỳ (NASA) đã cung cấp công cụ Gapfill trong phần mềm ENVI để khắc phục vấn đề này [1].

Để thực hiện cắt ảnh, tiến hành chồng file vector ranh giới hành chính Nha Trang lên các ảnh cần thực hiện sau đó thực hiện việc cắt ảnh với sự trợ giúp của phần mềm ENVI (Hình 3).



(a)

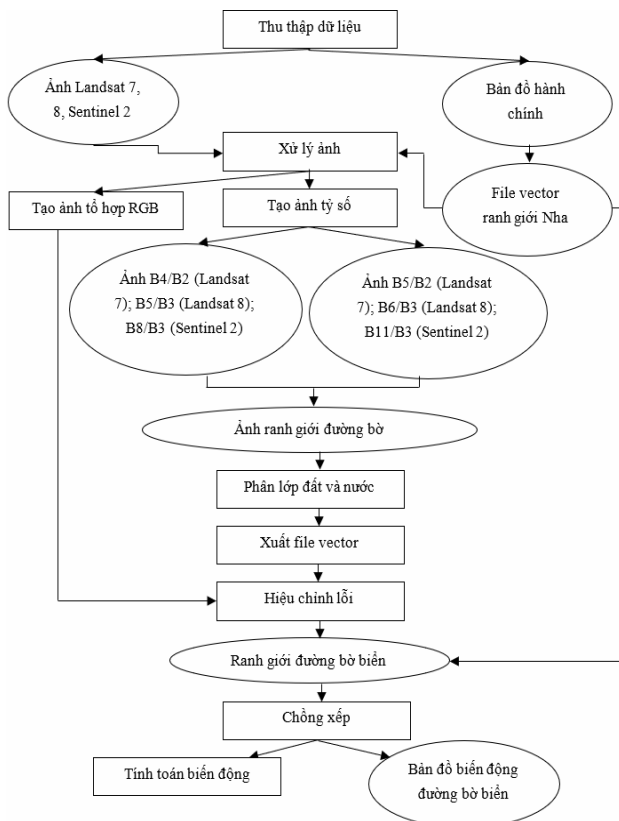
(b)

Hình 3. Hình ảnh trước khi cắt ảnh (a) và sau khi cắt ảnh (b)

Xử lý mây và bóng mây, theo thuật toán của Candra và cs (2016) [7]. Các ảnh vệ tinh sử dụng trong nghiên cứu được chia thành 2 nhóm chính: Nhóm các ảnh tham khảo (reference image - RI) và nhóm các ảnh mục tiêu (target image - TI). Các ảnh mục tiêu là các ảnh có chứa các pixels có mây và bóng mây, trong khi đó ảnh tham khảo là các ảnh không bị ảnh hưởng của mây và được sử dụng để thay thế các pixels có mây trong ảnh mục tiêu. Nói cách khác, các pixel không chứa mây trong ảnh tham khảo sẽ được sử dụng để thay thế cho các pixels có mây trong ảnh mục tiêu, với giả thiết rằng sự chênh lệch và biến đổi của bề mặt đệm giữa ảnh mục tiêu và ảnh tham khảo là không đáng kể.

Quy trình thành lập bản đồ biến động đường bờ biển

Việc thành lập bản đồ biến động đường bờ biển từ tư liệu viễn thám được thực hiện theo quy trình ở hình 1.



Hình 1. Quy trình thành lập bản đồ biến động đường bờ biển

Sử dụng phương pháp viễn thám để xử lý, phân tích các dữ liệu ảnh bằng phần mềm ENVI và

ArcGIS. Phương pháp chiết tách thông tin đường bờ là sử dụng tổ hợp ảnh tỷ số B4/B2 và B5/B2 – Landsat 7; B5/B3 và B6/B3 – Landsat 8; B8/B3 và B11/B3 – Sentinel 2B.

Hai đối tượng đất và nước sẽ được chiết tách từ các ảnh tỷ số này theo phương pháp phân loại có kiểm định và được đánh giá độ chính xác để thực hiện các bước tiếp theo: Phương pháp phân loại có kiểm định là hình thức phân loại mà các chỉ tiêu phân loại được xác lập thông qua các vùng mẫu và dùng luật quyết định dựa trên thuật toán xác suất cực đại (Maximum Likelihood):

$$g_i(x) = \ln p(\omega_i) - \frac{1}{2} \ln |\Sigma_i| - \frac{1}{2} (x - m_i)^T \sum_{i=1}^{-1} (x - m_i)$$

Trong đó: i là đối tượng phân loại; x là số kênh phổ; $p(\omega_i)$ là giá trị xác suất xảy ra khi đối tượng ω_i giống các đối tượng khác; $|\Sigma_i|$ là ma trận hiệp phương sai của đối tượng ω_i ; Σ_i^{-1} là ma trận nghịch đảo của đối tượng ω_i ; m_i là giá trị vector thay đổi phổ.

Sử dụng các điểm GCP để đánh giá độ chính xác về vị trí không gian. Tức là dựa vào độ chính xác toàn cục (Overall Accuracy) (T) và chỉ số Kappa (κ) nhằm đánh giá sự phù hợp giữa những kết quả xác định trên ảnh và thực tế.

Giả thiết n pixel được phân loại thành k loại, một ma trận sai số với k hàng và k cột dùng để thể hiện sự phù hợp giữa những loại thực trên mặt đất và những loại giải đoán.

Gọi 0_{ij} là giá trị thể hiện sự phù hợp ở hàng i và cột j của ma trận $k \times k$, khi đó tổng theo hàng là S_i , tổng theo cột là S_j ($i, j = 1, 2, 3, \dots, k$) sao cho: $\sum_{j=1}^k 0_{ij} = S_i$ loại thực tế; $\sum_{i=1}^k 0_{ij} = S_j$ loại giải đoán; $\sum_{i=1}^k \sum_{j=1}^k 0_{ij} = \sum_{i=1}^k S_i = \sum_{j=1}^k S_j = n$.

Độ chính xác toàn cục (T) được xác định theo John R Jensen (1996) [8]

$$T = \frac{\sum_{i=1}^k 0_{ii}}{n} \times 100$$

Chỉ số Kappa (κ) được xác định theo John R Jensen (1996) [8]

$$\kappa = \frac{T - E}{1 - E}$$

Trong đó: E là đại lượng thể hiện sự mong muốn (kỳ vọng toán học) phân loại, nghĩa là E góp phần ước tính khả năng phân loại chính xác trong quá trình phân loại thực sự.

Theo John R Jensen (1996) [8], giá trị chỉ số Kappa (κ) nằm trong khoảng từ 0 - 1 và được phân thành 6 ngưỡng tương ứng với 6 mức độ tin cậy, chi tiết được thể hiện ở bảng 3.

Bảng 3. Thang đánh giá độ tin cậy của chỉ số Kappa (κ)

Giá trị chỉ số Kappa	Độ tin cậy
$0,0 < \kappa < 0,2$	Độ tin cậy kém
$0,2 < \kappa < 0,4$	Độ tin cậy trung bình - kém
$0,4 < \kappa < 0,6$	Độ tin cậy trung bình
$0,6 < \kappa < 0,8$	Độ tin cậy tốt
$0,8 < \kappa < 1,0$	Độ tin cậy rất tốt
$\kappa = 1,0$	Độ tin cậy tuyệt đối

Kết hợp sử dụng ảnh tổ hợp màu thực (Red Green Blue - RGB) để kiểm tra và hiệu chỉnh nhằm hạn chế sai số một cách hiệu quả [9], [10], Sau khi đã chiết tách đường bờ của các giai đoạn, đã chồng xếp bản đồ với sự trợ giúp của phần mềm ArcGIS để tính toán biến động và thành lập bản đồ biến động các giai đoạn.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Xây dựng dữ liệu hiện trạng đường bờ biển

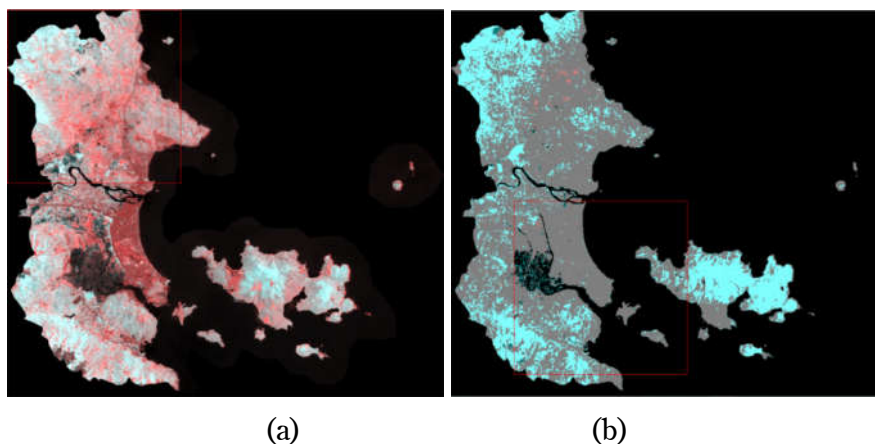
Đối với ảnh vệ tinh Landsat 7, các ảnh tỷ số B4/B2 được sử dụng cho khu vực bờ biển phủ thực vật và ảnh B5/B2 được sử dụng cho khu vực bờ biển phủ đất đá; ảnh vệ tinh Landsat 8 sẽ tương ứng là B5/B3 và B6/B3 và ảnh vệ tinh Sentinel 2B sẽ tương ứng là B8/B3 và B11/B3. Việc sử dụng duy nhất một kênh ảnh tỷ số sẽ đem lại thông tin đường bờ không đầy đủ, cho nên để khắc phục cần sử dụng kết hợp cả 2 kênh B4/B2 và B5/B2 đối với ảnh vệ tinh Landsat 7, B5/B3 và B6/B3 đối với ảnh vệ tinh Landsat 8 và B8/B3 và B11/B3 đối với ảnh vệ tinh Sentinel 2B sẽ thu được các thông tin đường bờ biển chính xác hơn cho tất cả các độ che phủ đất dọc theo bờ biển. Một thuật toán đã được sử dụng bằng việc kết hợp với 2 kênh ảnh tỷ số trên để giải quyết các vấn đề này [11] đó là:

- Landsat 7: If (b4/b2) $\geq$ 1 then 1 else if (b5/b2) $\geq$ 1 then 1 else 2.

- Landsat 8: If (b5/b3) $\geq$ 1 then 1 else if (b6/b3) $\geq$ 1 then 1 else 2.

- Sentinel 2B: If (b8/b3) $\geq$ 1 then 1 else if (b11/b3) $\geq$ 1 then 1 else 2.

Kết quả thu được ảnh đường bờ ở cả khu vực phủ thực vật và đất đá. Mặt khác, sẽ thu được kết quả tương tự khi sử dụng tổ hợp 2 kênh B4/B2 và B5/B2 đối với ảnh vệ tinh Landsat 7, B5/B3 và B6/B3 đối với ảnh vệ tinh Landsat 8 và B8/B3 và B11/B3 đối với ảnh vệ tinh Sentinel 2B bằng cách sử dụng công thức (B4/B2) + (B5/B2), (B5/B3) + (B6/B3) và (B8/B3) + (B11/B3) (Hình 4).



Hình 4. Ảnh tổ hợp năm 2010 (a) và 2015 (b)

So sánh độ chính xác các kết quả thể hiện ranh giới đường bờ biển của từng phương pháp, nghiên cứu nhận thấy 2 phương pháp trên có độ chính xác như nhau và cao hơn so với phương pháp chỉ sử dụng duy nhất một kênh ảnh tỷ số.

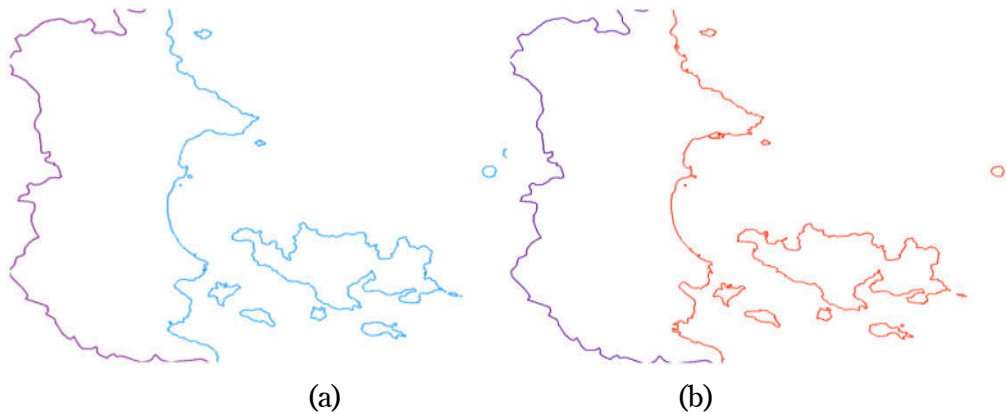
Thông tin đường bờ được chiết tách bằng cách phân loại đất và nước theo phương pháp phân loại phân loại có kiểm định dựa trên thuật toán xác suất cực đại (Maximum Likelihood). Đồng thời sử dụng các điểm GCP thuộc nhóm 1 để phân lớp đất và nước cho kết quả ảnh phân loại, các điểm GCP thuộc nhóm 2 được sử dụng để đánh giá độ chính xác về vị trí không gian của kết quả ảnh phân loại cho lớp đất và nước. Thấy rằng, kết quả đạt được đều có độ tin cậy tốt với chỉ số Kappa (κ) nằm trong khoảng từ 0,8 - 1, độ chính xác toàn cục (T) trên 90,00% (Bảng 4). Nguyên nhân ảnh hưởng đến kết quả đánh giá độ tin cậy và độ chính xác là

do chính bản chất của các đối tượng có sự tương đồng nhỏ dẫn đến nhầm lẫn nên bị suy giảm về độ chính xác.

Bảng 4. Kết quả đánh giá độ chính xác ảnh phân loại

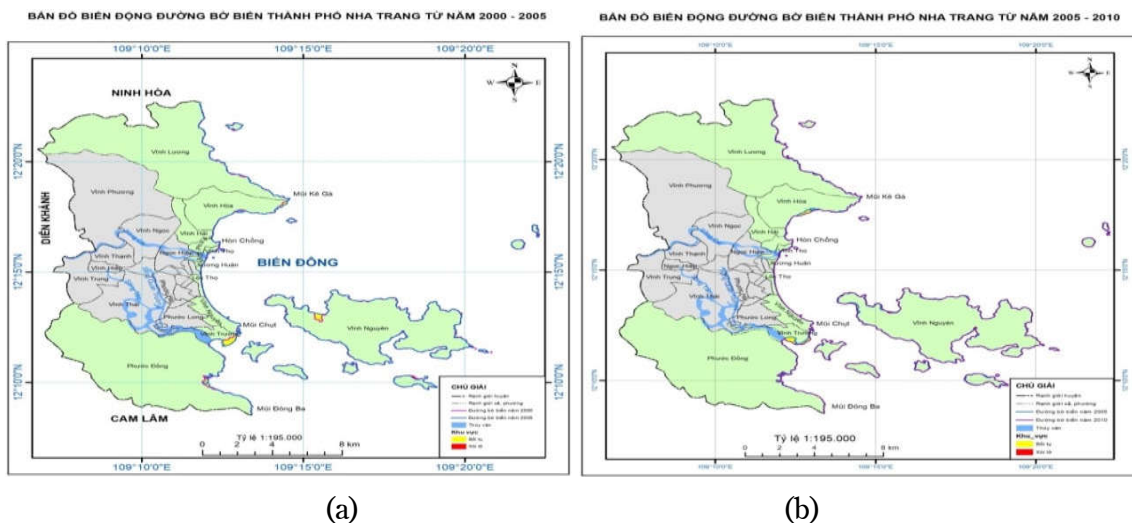
Năm	Kappa	Độ chính xác toàn cục (%)
2000	0,89	91,88
2005	0,90	92,24
2015	0,90	92,15
2020	0,91	93,43

Ảnh RGB được sử dụng để kiểm tra, sửa chữa khu vực thiếu thông tin và chưa chính xác, bản chất của quá trình này là sự kết hợp giữa chiết tách tự động và chiết tách thủ công. Kết quả xây dựng dữ liệu hiện trạng đường bờ biển thể hiện chi tiết ở hình 5.

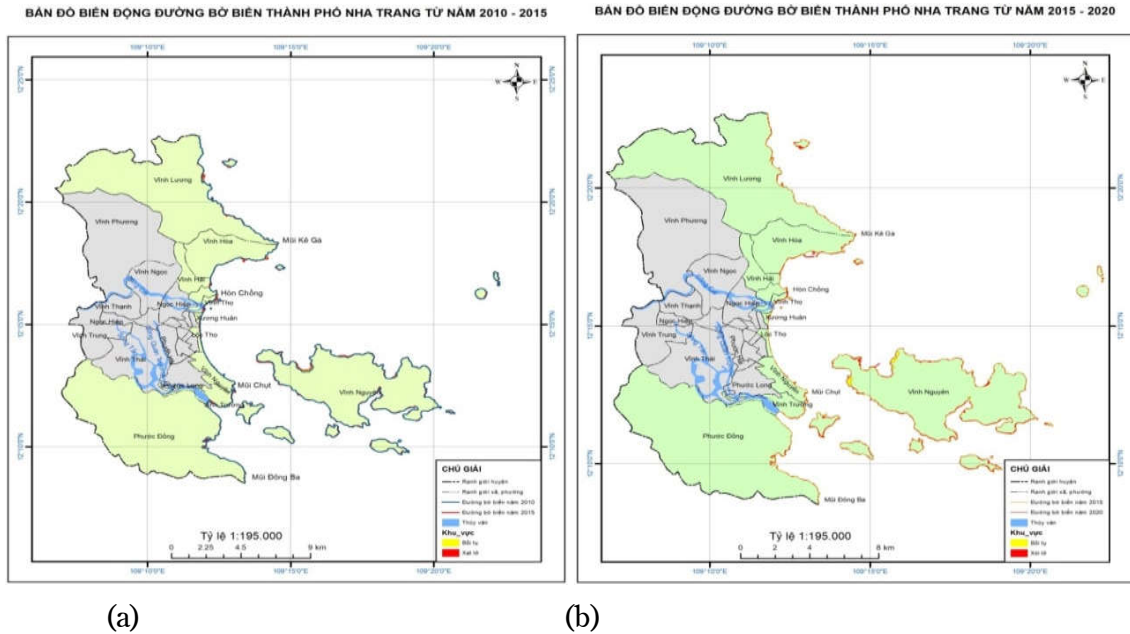


Hình 5. Đường bờ năm 2000 (a) và 2020 (b)

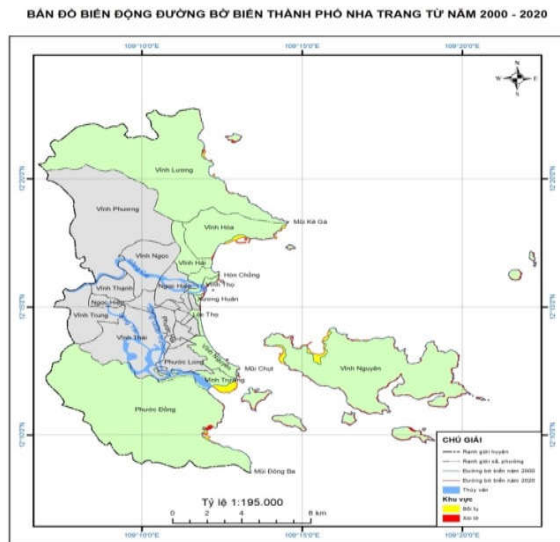
3.2. Thành lập bản đồ biến động đường bờ



Hình 6. Giai đoạn 2000 – 2005 (a) và 2010 – 2015 (b)



Hình 7. Giai đoạn 2010 – 2015 (a) và 2015 – 2020 (b)



Hình 8. Giai đoạn 2000 – 2020

Hình 6, 7, 8 cho thấy, những khu vực ven biển bị xói lở (thể hiện màu đậm) và bồi tụ (thể hiện màu nhạt) trên bản đồ xuất hiện ở các giai đoạn khác nhau có sự xuất hiện rải rác ở một số vị trí khác nhau.

3.3. Đánh giá biến động đường bờ biển khu vực nghiên cứu từ năm 2000 - 2020

Từ hình 6, 7, 8, với sự trợ giúp của công nghệ GIS, nghiên cứu đã thống kê được diện tích bồi tụ và xói lở đường bờ biển thành phố Nha Trang qua từng giai đoạn được tổng hợp ở bảng 5.

Bảng 5. So sánh diện tích bồi tụ và xói lở đường bờ biển thành phố Nha Trang qua từng giai đoạn

Giai đoạn	Xói lở		Bồi tụ	
	Diện tích (m ²)	Trung bình năm (m ² /năm)	Diện tích (m ²)	Trung bình năm (m ² /năm)
2000 - 2005	1.010.258,81	202.051,76	1.894.702,57	378.940,51
2005 - 2010	733.698,79	146.739,76	1.899.241,82	379.848,36
2010 - 2015	1.215.129,92	243.025,98	1.182.140,32	236.428,06
2015 - 2020	2.345.061,08	469.012,22	714.307,08	142.861,42
Tổng	5.304.148,61	265.207,43	5.690.391,80	284.519,59

Bảng 5 cho thấy, giai đoạn 2000 - 2005, hiện tượng xói lở xảy ra mạnh nhất tại phường Vĩnh Phước, Vĩnh Thọ và xã Phước Đồng, thành phố Nha Trang, sau đó giảm dần, tuy nhiên từ năm 2010 trở lại đây hiện tượng xói lở liên tục tăng.

Giai đoạn 2005 - 2010, phường Vĩnh Hải, thành phố Nha Trang, có diện tích xói lở lớn nhất. Khu vực này những năm tiếp theo là 1 trong những xã phường có diện tích xói lở ở mức cao trong khi diện tích bồi tụ luôn ở ngưỡng thấp.

Hai giai đoạn 2010 - 2015 và 2015 - 2020 hiện tượng xói lở tăng mạnh ở hầu hết các xã, phường ven biển. Trong khi giai đoạn 2010 - 2015, 6/10 xã phường có diện tích xói lở nhiều hơn bồi tụ thì đến 2015 - 2020, 10/10 xã phường ven biển đều có diện tích xói lở nhiều hơn bồi tụ. Đặc biệt, trong 5 năm 2015 - 2020 diện tích xói lở toàn thành phố đã tăng gần gấp đôi so với 5 năm trước đó (2010 - 2015).

3.4. Thảo luận

Việc ứng dụng công nghệ viễn thám và GIS trong nghiên cứu biến động đường bờ biển là một phương pháp ưu việt, tuy nhiên nó chỉ là công cụ để đánh giá biến động đường bờ. Để có kết quả chính xác, đầy đủ cần có kiến thức chuyên sâu về địa lý để phân tích, khảo sát kỹ về yếu tố ảnh hưởng đến quá trình biến động như địa hình, địa chất và thủy hải văn (cụ thể là sóng, dòng chảy và thủy triều). Từ đó xác định chính xác cơ chế và nguyên nhân biến động.

Sau khi phân tích biến động đường bờ và đề xuất giải pháp, cần đưa ra giải pháp cho từng khu vực, vị trí cụ thể. Để đưa ra các giải pháp phòng chống, khắc phục, giảm nhẹ tai biến cần đòi hỏi nhiều lĩnh vực chuyên môn nghiên cứu chuyên sâu.

Việc xác định đường bờ biển trên cơ sở là ranh giới giữa đất và nước tại thời điểm chụp ảnh sẽ tồn tại sai số về thủy triều và sóng, do đó cần phải có cách làm chi tiết và cụ thể để khắc phục sai số này.

Khi sử dụng ảnh viễn thám để đánh giá đường bờ, chất lượng ảnh là rất quan trọng. Ảnh viễn thám có độ phân giải càng cao thì độ chính xác sẽ càng cao. Nghiên cứu này đã sử dụng dữ liệu ảnh viễn thám miễn phí, có độ phân giải trung bình.

Nếu có điều kiện được tiếp tục nghiên cứu sẽ phải hoàn thiện hơn khi tiếp cận nguồn ảnh viễn thám độ phân giải cao như ảnh IKoNos (1 m) hoặc Quickbird (0,6 m).

4. KẾT LUẬN

Ứng dụng công nghệ viễn thám và GIS trong nghiên cứu biến động đường bờ biển là phương pháp ưu việt nhất hiện nay. Phương pháp xử lý, phân tích và chiết tách thông tin đường bờ là phù hợp với đặc điểm của khu vực nghiên cứu.

Tình hình xói lở và bồi tụ trên đường bờ biển thành phố Nha Trang từ năm 2005 - 2020 với diện tích xói lở không ngừng tăng lên với cường độ cao so với những năm trước đó, cụ thể là từ 202.051,76 m²/năm (năm 2000) lên đến 469.012,22 m²/năm (năm 2020). Như vậy trung bình mỗi năm sự xói lở diễn ra là 265.207,43 m²/năm. Trong khi đó tình hình bồi tụ diễn ra giảm dần theo giai đoạn từ 378.940,51 m²/năm (giai đoạn 2000 - 2005) xuống 142.861,42 m²/năm (giai đoạn 2015 - 2020). Nhìn chung, đường bờ biển thành phố Nha Trang hiện tượng xói lở diễn ra không lớn, chủ yếu ở cấp độ trung bình, tuy nhiên xói lở diễn ra trên phạm vi rộng, trải dọc theo đường bờ, cả trong những khu nghỉ dưỡng và diễn biến khá phức tạp.

Với tốc độ này thì dự báo trong những năm tiếp theo, mức độ xói lở gia tăng mạnh cùng với diễn tiến thời tiết thất thường và mực nước biển dâng sẽ diễn ra mạnh mẽ hơn. Vì vậy, cần thiết phải xây dựng được hệ thống giám sát và dự báo biến động đường bờ biển thành phố Nha Trang trong thời gian tới, từ đó xây dựng kịch bản xói lở cho từng khu vực để có các giải pháp thích hợp.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Vũ Văn Phái (2013). Nghiên cứu đánh giá biến động đường bờ biển các tỉnh Nam bộ dưới tác động của biến đổi khí hậu và mực nước biển dâng. Báo cáo tổng hợp đề tài nghiên cứu khoa học và công nghệ cấp Nhà nước. Mã số BĐKH.07. Trường Đại học Khoa học tự nhiên. Đại học Quốc gia Hà Nội.

2. Nguyễn Văn Trung, Nguyễn Văn Khánh (2016). Quan trắc sự biến động đường bờ sử dụng ảnh vệ tinh Landsat đa thời gian ở khu vực Cửa

Đại, sông Thu Bồn, Quảng Nam. *Tạp chí Khoa học Kỹ thuật Mỏ - Địa chất*, (57), 81 - 89.

3. Trịnh Lê Hùng, Vũ Danh Tuyên (2013). Nghiên cứu phương pháp xác định biến động đường bờ dựa trên kết quả phân loại ảnh viễn thám đa thời gian. *Tạp chí Khoa học Tài nguyên và Môi trường*, (01), 42 - 47.

4. Phạm Quang Sơn, Nguyễn Công Quân, Đặng Đình Đoàn (2011). Diễn biến vùng ven biển cửa Thuận An (Thừa Thiên Huế) trước và sau trận lũ lịch sử tháng 11/1999 qua phân tích thông tin viễn thám đa thời gian và GIS. *Tạp chí Các khoa học về trái đất*, 33 (3 ĐB), 10 - 17.

5. Đào Đình Châm, Nguyễn Thái Sơn, Nguyễn Quang Minh (2013). Ứng dụng công nghệ viễn thám và hệ thống thông tin địa lý trong đánh giá diễn biến bãi bồi ven biển cửa Đáy qua các thời kỳ (1966 - 2011). *Tạp chí Các Khoa học về trái đất*, 35 (4), 349 - 356.

6. USGS, Earthexplorer, <https://earthexplorer.usgs.gov/>, truy cập ngày 20/01/2021.

7. Candra D.S., S. Phinn, P. Scarth (2016). Cloud and cloud shadow masking using multitemporal cloud masking algorithm in tropical environmental. *The International Archives of the Photogrammetry, Remote Sensing and Spatial Information Sciences*, pp. 95 - 100.

8. John R Jensen (1996). *Introductory Digital Image Processing: A Remote Sensing Perspective*. 2nd Edition, Prentice Hall, Inc., Upper Saddle River, NJ

9. Doukakis E. (2005). Coastal vulnerability and risk parameters. *European Water* 11/12. E. W. Publications. 3 - 7.

10. Josep E. Pardo - Pascual, Elena Sánchez - García, Jaime Almonacid - Caballer (2018). Assessing the Accuracy of Automatically Extracted Shorelines on Microtidal Beaches from Landsat 7, Landsat 8 and Sentinel - 2 Imagery. *Remote Sens*, 10, 326.

11. Alesheikh A.A., Ghorbanali A., Nouri A. (2007), *Coastline change detection using remote sensing*, Int. J. Environ, Sci. Tech

APPLICATION OF REMOTE SENSING AND GIS TO RESEARCH COASTLINE CHANGES IN NHA TRANG CITY, KHANH HOA PROVINCE

Le Thi Giang¹, Luu Thi Ngoc Dieu²

¹ *Vietnam National University of Agriculture*

² *Branch of Land Registration Office in Dien Khanh district, Khanh Hoa province*

Summary

This Research use the Landsat 7, Landsat 8 and Sentinel 2B image data to process, analyze by Geography Information System (GIS) to rate on the coastline changes from 2000 to 2020 in Nha Trang city, Khanh Hoa province. The results show that the coastline changes in Nha Trang city take place locally, the large accretion areas concentrated in certain areas are due to human factors. In most of the rest of the coastline, erosion occurs, but not much, mostly average level, parallel and intertwined with accretion, erosion and accretion rates are approximately the same and spread along the coastline. However, from 2005 to 2020, the area of erosion is constantly increasing, the situation is complicated. This is a matter of concern for policy makers.

Keywords: *The coastline changes, remote sensing, GIS, Nha trang.*

Người phản biện: PGS.TS. Nguyễn Chu Hồi

Ngày nhận bài: 5/6/2023

Ngày thông qua phản biện: 3/7/2023

Ngày duyệt đăng: 26/7/2023

NGHIÊN CỨU MỘT SỐ GIẢI PHÁP QUẢN LÝ NHẪM HOÀN THIỆN MÔ HÌNH TỔ CHỨC QUẢN LÝ, KHAI THÁC CÔNG TRÌNH CẤP NƯỚC SẠCH NÔNG THÔN THEO ĐỊA BÀN

Đào Thu Thủy¹, Nguyễn Thị Vân Anh^{1,*}

TÓM TẮT

Quản lý, khai thác bền vững các công trình cấp nước sạch nông thôn (CTCNSNT) là một trong những giải pháp quan trọng nhằm đảm bảo mục tiêu cấp nước và hiệu quả đầu tư công trình góp phần đảm bảo an sinh xã hội, nâng cao đời sống người dân, tránh lãng phí và góp phần xây dựng nông thôn mới bền vững. Đến nay, tại các vùng nông thôn nước ta cơ bản đã hình thành một số loại mô hình tổ chức quản lý, khai thác CTCNSNT như: Đơn vị sự nghiệp, UBND xã, hợp tác xã, cộng đồng, doanh nghiệp/tư nhân. Tuy nhiên, do điều kiện kinh tế - xã hội mỗi địa bàn nông thôn khác nhau nên có sự phát triển các mô hình đặc thù, việc xác định và lựa chọn được mô hình tổ chức quản lý, vận hành CTCNSNT phù hợp điều kiện vùng miền, địa bàn là một trong những yếu tố quyết định đến hiệu quả công trình. Để phát triển cấp nước sạch nông thôn trong giai đoạn tới cần đánh giá và hoàn thiện các mô hình về giá nước sạch, giảm thiểu thất thoát, thất thu nước sạch thông qua quản lý đầu nối gắn với các chế tài xử lý vi phạm, kế hoạch sản xuất, kinh doanh, tiếp thị mở rộng đầu nối sử dụng nước và lộ trình chuyển đổi, tái cấu trúc tổ chức mô hình theo xu hướng phát triển của xã hội,...

Từ khóa: Mô hình quản lý, quản lý sau đầu tư, nước sạch nông thôn, cấp nước tập trung, tổ chức sản xuất, tái cấu trúc.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cấp nước phục vụ sinh hoạt khu vực nông thôn đến nay đã có nền tảng khá vững chắc với nhiều công trình được đầu tư, hệ thống cơ sở dữ liệu về cấp nước cũng đã được hình thành [1]. Tuy nhiên, việc lựa chọn được mô hình tổ chức quản lý, khai thác sau đầu tư đối với công trình cấp nước sạch nông thôn (CTCNSNT) còn gặp nhiều khó khăn do nhiều yếu tố liên quan đến đặc thù địa bàn. Địa bàn trung du, miền núi CTCNSNT thường do cộng đồng quản lý và người quản lý thường kiêm nhiệm, trông coi là chính do vậy công trình nhanh chóng xuống cấp. Ngược lại, địa bàn đồng bằng và địa bàn nông thôn cận đô thị, CTCNSNT sau đầu tư được tham gia đầu tư của nhiều thành phần kinh tế hơn nên phương thức hoạt động quản lý phong phú hơn, công trình hoạt động hiệu quả hơn,...[2]. Do đó, để đảm bảo công

trình bền vững lâu dài thì cần phải hoàn thiện hơn nữa mô hình tổ chức quản lý, khai thác CTCNSNT và phù hợp với đặc điểm mỗi địa bàn nông thôn.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu và phạm vi nghiên cứu

Các mô hình tổ chức quản lý, khai thác CTCNSNT sau đầu tư tại địa bàn đồng bằng, địa bàn nông thôn cận đô thị và địa bàn trung du, miền núi. Các chính sách, cơ chế liên quan đến việc quản lý, khai thác CTCNSNT.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

+ *Phương pháp khảo nghiệm mô hình thực tế:* Thực hiện thí điểm tại các công trình đại diện nhằm đưa ra đánh giá về hiện trạng quản lý, các tồn tại từ đó đề xuất giải pháp phù hợp để hoàn thiện về cơ cấu tổ chức, chính sách và cách thức quản lý kỹ thuật,...

+ *Phương pháp cho điểm từng tiêu chí để đánh giá các nội dung đã đề xuất và thực hiện thí điểm [3]:* Cho điểm từng tiêu chí để đánh giá mức độ hoạt động hiệu quả của mô hình tổ chức quản

¹ Trung tâm Tư vấn và Chuyển giao công nghệ Cấp nước và Vệ sinh môi trường, Trung tâm Quốc gia Nước sạch và Vệ sinh môi trường nông thôn

* Email: bienlang2801@gmail.com

lý, khai thác CTCNSNT. Trước khi cộng điểm của các tiêu chí phải nhân số điểm với các hệ số thể hiện mức độ quan trọng của từng tiêu chí. Trong 6 tiêu chí được trình bày ở bảng 1, trọng điểm các tiêu chí là như nhau và có ảnh hưởng trực tiếp đến sự phát triển bền vững của CTCNSNT. Tuy nhiên, qua phân tích có 4 tiêu chí từ 1 - 4 có mức độ quan trọng hơn.

Tổng điểm về hiệu quả quản lý bền vững của mô hình thí điểm được xác định theo công thức:

$$H = \sum_{i=1}^6 A_i \times B_i$$

Trong đó: H là tổng điểm thể hiện hiệu quả của các tiêu chí; A_i là hệ số của từng tiêu chí; B_i là giá trị điểm mức độ hiệu quả của từng tiêu chí.

Xác định các hệ số:

- Bền vững về nguồn nước khai thác: Hệ số 1.

Bảng 1. Tổng điểm đánh giá mức độ hiệu quả mô hình tổ chức quản lý, khai thác CTCNSNT

TT	Tiêu chí đánh giá	Rất hiệu quả	Hiệu quả	Kém hiệu quả	Không hiệu quả
1	Bền vững về tổ chức quản lý	8	6	4	2
2	Bền vững về quản lý tài chính	8	6	4	2
3	Bền vững nguồn nước khai thác	4	3	2	1
4	Bền vững hạ tầng kỹ thuật - vận hành hoạt động - chất lượng dịch vụ	8	6	4	2
5	Có sự tham gia của cộng đồng	8	6	4	2
6	Bền vững về công nghệ	4	3	2	1
	Tổng cộng	40	30	20	10

Theo bảng 1, phân tích điểm để đánh giá mức độ hiệu quả mô hình tổ chức quản lý, khai thác CTCNSNT như sau:

- Rất hiệu quả: H = 36 - 40 điểm, trong đó có ít nhất 3 tiêu chí là rất hiệu quả, các tiêu chí khác phải hiệu quả;

- Hiệu quả: H= 30 - 35 điểm, trong đó tất cả các tiêu chí phải hiệu quả hoặc 4 tiêu chí có điểm số rất bền vững còn 2 tiêu chí còn lại có thể là kém hiệu quả hoặc không có tiêu chí nào không hiệu quả;

- Kém hiệu quả: H= 18 - 29 điểm, trong đó có ít nhất 4 tiêu chí có điểm số không đạt mức không hiệu quả;

- Không hiệu quả: H<18 điểm.

- Bền vững về hạ tầng kỹ thuật - vận hành hoạt động - chất lượng dịch vụ: Hệ số 2.

- Bền vững về quản lý tài chính: Hệ số 2.

- Có sự tham gia của cộng đồng: Hệ số 2.

- Bền vững về công nghệ: Hệ số 1.

- Bền vững về tổ chức quản lý: Hệ số 2.

Xác định điểm mức độ hiệu quả:

Đánh giá mức độ hiệu quả theo 4 cấp: Rất hiệu quả, hiệu quả, kém hiệu quả và không hiệu quả.

- Mức 1: Rất hiệu quả: 4 điểm.

- Mức 2: Hiệu quả: 3 điểm.

- Mức 3: Kém hiệu quả: 2 điểm.

- Mức 4: Không hiệu quả: 1 điểm.

Điểm đánh giá mức độ hiệu quả theo 4 cấp được thể hiện tại bảng 1.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Một số bất cập chính sách trong công tác quản lý, khai thác CTCNSNT

- Thứ nhất, hình thức giao tài sản kết cấu hạ tầng cấp nước sạch cho doanh nghiệp có vốn nhà nước chưa thống nhất giữa các quy định của Quyết định số 22/2021/QĐ-TTg [4] và Nghị định số 43/2022/NĐ-CP [5], cụ thể: Theo quy định tại điểm b, Khoản 3, Điều 5 Nghị định số 43/2022/NĐ-CP [5]: Hình thức giao tài sản kết cấu hạ tầng cấp nước sạch cho doanh nghiệp có vốn nhà nước thực hiện theo hình thức ghi tăng vốn nhà nước tại doanh nghiệp. Tuy nhiên, theo quy định tại khoản 2, Điều 7, Quyết định số 22/2021/QĐ-TTg [4]: “Đối với các doanh nghiệp đã hoàn thành chuyển đổi sở hữu,

thoái vốn theo Quyết định số 58/2016/QĐ-TTg [6] thì không thực hiện tăng tỷ lệ vốn nhà nước tại doanh nghiệp để phù hợp với tiêu chí phân loại kèm theo quyết định này, trừ trường hợp do Thủ tướng Chính phủ phê duyệt hoặc pháp luật chuyên ngành quy định khác” và theo mục 2 (số thứ tự 86), phụ lục III kèm theo Quyết định số 1479/QĐ-TTg ngày 29/11/2022 [7]: “Đối với doanh nghiệp có kế hoạch giữ nguyên phần vốn nhà nước đến năm 2025 thì không thể ghi tăng vốn nhà nước tại doanh nghiệp khi giao tài sản kết cấu hạ tầng cấp nước sạch”.

Thứ hai, những quy định mới trong công tác theo dõi, đánh giá chất lượng nước sau xử lý theo quy định tại Thông tư số 41/2018/TT-BYT [8], số lượng chỉ tiêu nhiều, một số chỉ tiêu xét nghiệm có rất ít phòng kiểm nghiệm có đủ năng lực thực hiện và quy định về thực hiện lắp đặt thiết bị quan trắc chất lượng nguồn nước theo Thông tư số 17/2021/TT-BTNMT [9] (mặc dù tại một số địa phương, việc giám sát chất lượng nước đã được cơ quan chuyên môn, Chi cục Quản lý môi trường, Sở Tài nguyên và Môi trường, thực hiện thường xuyên theo đề án xây dựng mạng lưới quan trắc môi trường tỉnh giai đoạn 2019 - 2025 và định hướng đến năm 2030) đã làm tăng thêm chi phí sản xuất nước sạch, trong khi đó giá tiêu thụ nước sạch nông thôn trên một số địa bàn trong suốt nhiều năm không tăng, không được cấp bù theo quy định. Bên cạnh đó, theo Thông tư số 44/2022/TT-BTC [10], giá tiêu thụ nước sạch nông thôn nhỏ hơn giá tiêu thụ nước tại đô thị, trong khi đó suất đầu tư xây dựng công trình cấp nước tại nông thôn lớn hơn suất đầu tư xây dựng tại đô thị. Mặt khác, nước sạch tại nông thôn có nhiều rủi ro hơn, có tính hiệu quả xã hội hơn là hiệu quả kinh tế, đặc biệt ở những vùng khó khăn. Điều này có thể dẫn đến khó khăn tài chính cho các tổ chức, cá nhân quản lý vận hành các CTCNSNT có công suất nhỏ.

Thứ ba, thời hạn giấy phép gia hạn khai thác tài nguyên nước tại các công trình cấp nước tập trung là quá ngắn, 3 năm trong khi đó tuổi thọ công trình, thời gian hoạt động của một công trình cấp nước sạch khoảng 20 - 30 năm, bên cạnh đó, thời gian làm thủ tục xin gia hạn cấp phép mất nhiều thời gian (khoảng 6 tháng).

Thứ tư, theo Quyết định số 41/2017/QĐ-TTg [11] các trạm biến áp tại công trình cấp nước tập trung phải bàn giao cho ngành Điện lực quản lý, tuy nhiên trên thực tế việc bàn giao này gặp nhiều vướng mắc về thủ tục; đến nay, số trạm biến áp được bàn giao rất khiêm tốn và đơn vị quản lý vận hành công trình cấp nước vẫn phải thực hiện duy tu, sửa chữa.

Thứ năm, hạn mức tự chủ trong công tác đầu thầu mua sắm thiết bị, vật tư tại đơn vị sự nghiệp công lập tự chủ chi thường xuyên thấp (nhỏ hơn 100 triệu đồng từ quỹ phát triển đơn vị sự nghiệp công lập theo quy định của Nghị định số 60/2021/NĐ-CP [12]), tuy nhiên, thực tế chi phí mua sắm vật tư lớn hơn nhiều nên thủ tục mua sắm mất nhiều thời gian làm ảnh hưởng đến sản xuất, vận hành công trình.

Thứ sáu, để đơn vị quản lý vận hành được ưu đãi về chính sách đất, thuế thu nhập doanh nghiệp thì nhân sự quản lý tại mỗi công trình cấp nước tập trung phải có kỹ sư xây dựng, cấp nước trình độ đại học trở lên. Trong khi đó, các công trình cấp nước tập trung nông thôn quy mô nhỏ không đảm bảo kinh phí để trả lương cho nhân sự có trình độ kỹ sư trở lên.

Thứ bảy, chế tài xử lý vi phạm cấp nước được quy định trong nhiều văn bản pháp lý như Nghị định số 117/2007/NĐ-CP [13], Nghị định số 139/2017/NĐ-CP [14], Nghị định số 43/2022/NĐ-CP [5], tuy nhiên thực tế rất khó để xử lý vi phạm.

Thứ tám, theo nội dung Quyết định số 2147/2010/QĐ-TTg [15], chủ yếu đề cập quy mô công trình cấp nước lớn, cấp nước đô thị nên khó triển khai đối với các công trình cấp nước nông thôn, đặc biệt là đối với các công trình quy mô nhỏ.

3.2. Nội dung đề xuất hoàn thiện mô hình

3.2.1. Đối với địa bàn đồng bằng

Địa bàn đồng bằng có những yếu tố thuận lợi hơn so với các vùng khác về nhiều mặt như: Điều kiện tự nhiên, kinh tế - xã hội và khả năng tiếp cận công nghệ mới, nên việc đầu tư phát triển trong lĩnh vực cấp nước sạch nông thôn có sự vượt trội hơn hẳn. Quy mô CTCNSNT từ trung bình đến lớn, phạm vi cấp nước liên thôn, liên xã. Việc quản lý khai thác sau đầu tư cũng được nhiều nhóm đối

tượng tham gia đầu tư hơn và theo xu hướng dịch vụ, kinh tế thị trường.

Từ các tồn tại, khó khăn sau khi đánh giá phân tích một số mô hình tổ chức quản lý, khai thác CTCNSNT đang hoạt động tại địa bàn đồng bằng, đã đề xuất mô hình đơn vị sự nghiệp có thu làm đại diện cho địa bàn đồng bằng. Mô hình khó khăn về nguồn nhân sự kỹ thuật chất lượng cao, kiểm soát chất lượng nước. Xu hướng trong thời gian tới, mô hình Trung tâm Nước sạch và Vệ sinh môi trường nông thôn các tỉnh vùng đồng bằng chuyển đổi là đơn vị sự nghiệp công tự chủ thu chi. Vì vậy, hướng đề xuất như sau:

- Nâng cao năng lực tổ chức đảm bảo đủ chức năng tự thực hiện các hoạt động liên quan đến cấp nước sạch nông thôn

+ Đảm bảo năng lực lập dự án đầu tư xây dựng, nâng cấp, cải tạo công trình; lập đề án xin cấp phép hoặc gia hạn cấp phép khai thác nguồn nước, xả thải môi trường tại các công trình cấp nước do đơn vị đang quản lý, vận hành.

+ Kế hoạch giai đoạn sau năm 2025, Trung tâm “tự chủ cao hơn về tổ chức bộ máy, tài chính, có cơ chế gắn chặt với “sản phẩm”, bao gồm sản phẩm Nhà nước giao, sản phẩm nghiên cứu cụ thể và sản phẩm ứng dụng;

+ Xây dựng kế hoạch nâng cao năng lực chuyên môn cho cán bộ, công nhân viên, người lao động để chủ động đáp ứng với yêu cầu mới. Nghiên cứu định hướng đơn vị quản lý tự xây dựng được khung năng lực cho cán bộ. Xác định nhiệm vụ cụ thể, rõ ràng cho mỗi bộ phận, mỗi phòng, ban; đồng thời xây dựng cơ chế phối hợp giữa các bộ phận trong tổ chức để vận hành hệ thống hiệu quả.

- Kien toan cong tac quan ly van hanh cong trinh: Tieu chuan dich vu khach hang, kiem dinh chat luong cung ung dich vu theo huong thi truong tuong lai cong nghe 4.0; quan ly hop dong dau noi su dung nuoc, quan ly that thoat, that thu nuoc sach,...

- Xây dựng phương án sản xuất, kinh doanh dịch vụ nước sạch, kế hoạch cấp nước an toàn cho công trình.

- Hoàn thiện công tác dịch vụ khách hàng và quản lý hợp đồng nước sạch: Tiếp cận người tiêu dùng, thu thập ý kiến để bổ sung chất lượng cung ứng dịch vụ.

- Quản lý tốt các chi phí và chi phí quản lý: Quản lý những chi phí phát sinh đôi khi không thể kiểm soát được như: Chi phí đi lại, những khoản tu bổ, sửa chữa hỏng hóc trong các hệ thống cấp nước từ các trạm: Phân công đúng người đúng việc, phân phối cơ cấu lao động hợp lý, tránh tình trạng công nhân dư thừa để giảm chi phí về tiền lương, nhưng cũng cần đảm bảo đủ số lượng nhân công để đạt hiệu quả công việc cao nhất.

- Xây dựng các biện pháp tăng cường quản lý thất thoát nước ở những khu vực có tỷ lệ thất thoát nước cao; tiến tới ứng dụng công nghệ cao.

- Hỗ trợ xây dựng kế hoạch hoạt động của đơn vị

Xây dựng kế hoạch hoạt động theo từng giai đoạn (6 tháng, 1 năm, 5 năm). Chiến lược được hoạch định trên những mảng hoạt động quan trọng như: Chuẩn hóa bộ máy tổ chức; định hướng chuyển đổi theo xu hướng phù hợp quy định và điều kiện của đơn vị. Tiếp cận nguồn vốn lưu động để sẵn sàng mở rộng mạng cấp và nâng công suất khi cần thiết; lập và thực hiện duy tu bảo dưỡng công trình cấp nước. Nghiên cứu, tiếp cận và đổi mới công nghệ kỹ thuật phù hợp nhu cầu và định hướng của đơn vị. Có lộ trình giá phù hợp; duy trì hoạt động khuyến khích sự tham gia của khách hàng đầu nối và sử dụng nước sạch. Xây dựng và duy trì tốt hoạt động kiểm soát nội bộ đảm bảo công khai, minh bạch và quản lý tài chính hiệu quả.

3.2.2. Đối với địa bàn trung du, miền núi

Với địa hình đồi núi, đời sống người dân một số khu vực nông thôn khó khăn, các mô hình tổ chức quản lý, khai thác CTCNSNT mang tính chất an sinh xã hội nên đã đề xuất lựa chọn hoàn thiện mô hình Hợp tác xã. Đây là mô hình dễ tiếp cận thị trường, có được sự đồng thuận tham gia của cộng

đồng hưởng lợi. Với đề xuất hoàn thiện về các nội dung sau:

- Đề xuất điều chỉnh cơ chế giá nước sạch phù hợp với thị trường, quản lý tài sản theo quy định của Nhà nước; bảo toàn phát triển vốn, quản lý theo quy định. Phần chênh lệch giữa giá thành và giá tiêu thụ nước sạch được cấp bù từ ngân sách theo quy định.

- Cân đối kinh phí duy trì hoạt động từ nguồn thu tiền sử dụng nước.

3.1.3. Tại địa bàn nông thôn cận đô thị

Đây là địa bàn chuyển giao giữa nông thôn và đô thị nên khá thuận lợi phát triển cấp nước theo hướng thị trường. Một số đề xuất hoàn thiện mô hình tổ chức của doanh nghiệp có vốn Nhà nước theo hướng như sau:

- Củng cố tổ chức và thực hiện thoái vốn Nhà nước, đơn giản các thủ tục hành chính trong hoạt động, quyết định tái đầu tư.

- Thường xuyên đổi mới chất lượng, phát triển nguồn nhân lực, đẩy mạnh công tác quản lý

khách hàng; mở rộng mạng cấp nước; bảo dưỡng, bảo trì,...

- Ứng dụng công nghệ tiên tiến trong quản lý và xử lý nước tại các công trình.

- Lập kế hoạch, chiến lược quản lý và tiếp thị khách hàng hiệu quả.

3.3. Tiêu chí đánh giá mô hình

Mô hình tổ chức quản lý, khai thác CTCNSNT được đánh giá là phù hợp và bền vững khi: Mô hình được thành lập và được quy định rõ về chức năng, nhiệm vụ hoặc đăng ký hoạt động sản xuất, kinh doanh theo quy định của pháp luật. CTCNSNT do mô hình tổ chức quản lý, khai thác hoạt động hiệu quả, bền vững, thu đủ bù chi, phát huy hiệu quả xã hội và hiệu quả kinh tế tùy theo mục đích công trình và đặc thù vùng miền, địa bàn.

Bộ tiêu chí đánh giá tập trung vào phát triển bền vững của công trình cấp nước sạch dưới sự quản lý của mô hình tổ chức quản lý, khai thác phù hợp nhất [3]. Bộ tiêu chí đo lường được thể hiện ở bảng 2.

Bảng 2. Các tiêu chí đánh giá mô hình tổ chức quản lý, khai thác CTCNSNT

TT	Tiêu chí	Nội dung	Mức độ đánh giá
1	Bền vững về tổ chức quản lý	Bộ máy hoạt động có tư cách pháp lý, pháp nhân đủ năng lực được hỗ trợ về kỹ thuật, hệ thống luật pháp	- Đủ tư cách pháp nhân, đủ năng lực (có thể kiêm nhiệm với các công trình cấp nước 250 đầu nối trở xuống và chuyên trách với các công trình cấp nước từ 250 đầu nối trở lên); cán bộ, nhân viên quản lý, vận hành được đào tạo có giấy chứng nhận qua lớp đào tạo, bồi dưỡng nghiệp vụ về quản lý, vận hành công trình cấp nước - Được sự chấp thuận của cộng đồng sử dụng nước
2	Bền vững về quản lý tài chính	Thường xuyên đáp ứng được các chi phí, đặc biệt là chi phí cho vận hành và bảo dưỡng công trình	- Đảm bảo tổng thu lớn hơn tổng chi. Giá thu (hoặc phí dịch vụ dùng nước) phải đủ bù đắp phí vận hành, bảo trì - Mức độ sẵn sàng của kinh phí - Mức độ được cộng đồng chấp nhận - Đảm bảo nguyên tắc công khai minh bạch - Có dự phòng phương án xử lý nếu thiếu hụt thu
3	Bền vững nguồn nước khai thác	Nguồn nước cung cấp cho công trình phải ổn định, đảm bảo về số lượng, chất lượng, không bị khai thác quá	Công trình được đơn vị chức năng có thẩm quyền cấp giấy phép khai thác tài nguyên nước và cấp phép xả thải theo quy định

		mức, không làm xấu đi hoặc gây ô nhiễm môi trường tự nhiên	
4	Bền vững hạ tầng kỹ thuật - vận hành hoạt động - Chất lượng dịch vụ	Công trình hoạt động ổn định, đảm bảo về cung cấp nước sạch	- Thời gian ngừng hoạt động của hỏng hóc sự cố sớm được khắc phục - Thường xuyên bảo dưỡng theo định kỳ. - Chất lượng nước đạt tiêu chuẩn - Tỷ lệ thất thoát là thấp nhất - Tỷ lệ đầu nối đạt tối thiểu 60% so với công suất thiết kế sau 2 năm đưa vào sử dụng
5	Có sự tham gia của cộng đồng	Cộng đồng tham gia vào lập dự án, thiết kế, giám sát và vận hành công trình	- Sự nhất trí cao của cộng đồng trong việc lập kế hoạch, lựa chọn vị trí công trình, thiết kế, thi công - Đóng góp chi phí/chi trả tiền sử dụng dịch vụ cung cấp nước - Sự hiểu biết về nước sạch và thói quen sử dụng
6	Bền vững về công nghệ	Công nghệ lựa chọn phù hợp, hiệu quả lâu dài trong quá trình quản lý vận hành, bao gồm cả công nghệ xử lý nước, công nghệ trong quản lý vận hành	Công nghệ thích hợp với đặc điểm nguồn nước, hiệu quả cao, phù hợp với trình độ năng lực quản lý vận hành và bảo dưỡng

3.4. Triển khai thí điểm tại các mô hình

3.4.1. Đối với địa bàn đồng bằng

a) *Triển khai các nội dung đối với mô hình đơn vị sự nghiệp công lập: Trung tâm Nước sạch và Vệ sinh môi trường nông thôn tỉnh Vĩnh Long*

- Đề xuất chức năng, nhiệm vụ đơn vị để có đủ chức năng thực hiện các hoạt động dịch vụ tư vấn về nước sạch và vệ sinh. Hướng tới là một đơn vị sự nghiệp công lập tự chủ cao hơn về tổ chức bộ máy, tài chính, có cơ chế gắn chặt với sản phẩm, bao gồm sản phẩm Nhà nước giao, sản phẩm nghiên cứu cụ thể và sản phẩm ứng dụng cũng như các dịch vụ tư vấn. Chủ động thực hiện các nội dung lập hồ sơ đề án cấp phép khai thác, xả thải các công trình cấp nước do Trung tâm quản lý.

- Hỗ trợ kết nối với các đơn vị, tổ chức hoạt động trong cùng lĩnh vực và chia sẻ kinh nghiệm, các tài liệu: “Phòng chống thất thoát nước công trình cấp nước tập trung nông thôn”; “Truyền thông - Tiếp thị đầu nối công trình cấp nước tập trung nông thôn”; “Quản lý công trình cấp nước nông thôn”.

- Nghiên cứu định hướng xây dựng được kế

hoạch phát triển nhân sự.

b) *Giám sát và đánh giá kết quả*

Quá trình theo dõi, đánh giá được chia làm 6 đợt (từ tháng 10/2022 đến tháng 02/2023), một số nội dung đã triển khai như:

- Rà soát, quản lý hợp đồng nước sạch nhằm mục đích quản lý thất thoát, thất thu nước sạch, xử lý vi phạm khi tổ chức, cá nhân vi phạm hợp đồng;

- Lập dữ liệu phản hồi của khách hàng định kỳ hàng tuần, tháng; đề xuất phương án giải quyết tình huống khiếu nại;

- Tiếp cận cấp nước an toàn, nâng cao chất lượng dịch vụ đáp ứng sự hài lòng của người sử dụng nước. Kiện toàn các tiêu chí đánh giá chất lượng dịch vụ để kiểm định chất lượng cung ứng dịch vụ theo hướng thị trường, ứng dụng công nghệ 4.0;

- Lập kế hoạch - tổ chức các phương án tiếp thị mở rộng đầu nối sử dụng nước;

- Quản lý sử dụng hóa chất theo định mức trong xử lý nước;

Sau khi các nội dung theo dõi, đánh giá được thực hiện, thông qua phiếu và bộ tiêu chí đánh giá hiệu quả mô hình, điểm của mô hình đơn vị sự

nghiệp có thu (Trung tâm Nước sạch và Vệ sinh môi trường nông thôn tỉnh Vĩnh Long) đạt hơn 35 điểm và đánh giá đây là mô hình tổ chức quản lý, khai thác hiệu quả.

3.4.2. Đối với địa bàn trung du, miền núi

a) Triển khai các nội dung đối với mô hình Hợp tác xã Dịch vụ Cấp nước sinh hoạt và Vệ sinh môi trường Mỹ Yên

Hợp tác xã (HTX) Dịch vụ Cấp nước sinh hoạt và Vệ sinh môi trường Mỹ Yên hiện đang quản lý, khai thác công trình cấp nước sạch tập trung xã Mỹ Yên, huyện Đại Từ, tỉnh Thái Nguyên từ năm 2003 theo Quyết định thành lập số 956/2003/QĐ-UB [16].

Trong 20 năm qua, giá nước sạch tại công trình cấp nước tập trung xã Mỹ Yên đã được thay đổi, giai đoạn từ năm 2003 - 2018 giá thu tiền sử dụng nước do Hội đồng Nhân dân xã Mỹ Yên biểu quyết thông qua: Năm 2003 - 2010, áp mức giá 1.000 đồng/m³; năm 2011 - 2017, áp mức giá 2.000 đồng/m³. Đến năm 2018, HTX Dịch vụ Cấp nước

sinh hoạt và Vệ sinh môi trường Mỹ Yên lập phương án giá nước sinh hoạt nông thôn trên cơ sở Thông tư liên tịch số 75/2012/TTLT-BTC-BXD-BNNPTNT [17] với giá bán 4.000 - 5.000 đồng/m³ (đã bao gồm thuế VAT) tùy theo từng đối tượng sử dụng. Mức giá đó đã được UBND tỉnh Thái Nguyên phê duyệt tại Quyết định số 506/QĐ-UBND [18]. Tuy nhiên, giá nước sạch này chưa bao gồm chi phí khấu hao tài sản, phí bảo vệ môi trường đối với nước thải sinh hoạt, chi phí duy trì đầu nối, chi phí sửa chữa tài sản cố định, dụng cụ, công cụ, vật liệu dùng cho công tác kiểm tra thường xuyên...

Hiện nay, trên cùng địa bàn nông thôn của tỉnh Thái Nguyên, giá tiêu thụ nước sạch tại các CTCNSNT do Trung tâm Nước sạch và Vệ sinh môi trường nông thôn tỉnh Thái Nguyên quản lý, vận hành đang áp dụng theo Quyết định số 2560/QĐ-UBND [19]. Giá nước sạch tại quyết định này chưa bao gồm chi phí khấu hao tài sản, cụ thể mức giá như sau:

TT	Đối tượng sử dụng nước	Ký hiệu	Mức giá đề nghị thực hiện (chưa gồm thuế VAT) (đồng/m ³)
1	Sinh hoạt cho các hộ dân	SH	5.300
2	Cơ quan hành chính, sự nghiệp	HC, SN	6.900

Để HTX Dịch vụ Cấp nước sinh hoạt và Vệ sinh môi trường Mỹ Yên đảm bảo bù đắp đủ chi phí, có điều kiện phát triển mở rộng sản xuất, khuyến khích nâng cao chất lượng dịch vụ, đồng thời để đảm bảo chỉ có một mức giá nước sạch trong cùng một vùng nông thôn của tỉnh Thái Nguyên thì việc đề xuất áp dụng cơ chế giá tiêu thụ nước sạch cho HTX phù hợp với thực tế hiện nay là rất cần thiết (2 xã lân cận Mỹ Yên và Khôi Kỳ, huyện Đại Từ liên kề nhau, có điều kiện như nhau nhưng đang có 2 mức giá nước sinh hoạt khác nhau). Giá tiêu thụ nước sạch tại HTX cần được xác định theo Thông tư số 44/2022/TT-BTC [10] và định kỳ tăng theo lộ trình để đảm bảo hoạt động hiệu quả công trình.

Bên cạnh việc thực hiện cơ chế giá tiêu thụ nước sạch tại mô hình HTX, đã hỗ trợ hoàn thiện công tác tổ chức quản lý đầu nối sử dụng nước theo hợp đồng dịch vụ. Một trong những vấn đề về

quản lý hợp đồng dịch vụ cung cấp nước sạch hiện nay đó là xử lý vi phạm hợp đồng. Để thuận lợi trong công tác kiểm soát thất thoát nước do tình trạng đầu nối trước đồng hồ cần dịch chuyển vị trí đồng hồ đo nước ra ngoài phạm vi tường rào của hộ gia đình. Đồng thời, HTX phối hợp chặt chẽ với chính quyền xã để truyền thông nâng cao ý thức sử dụng nước sạch, ý thức bảo vệ nguồn nước, bảo vệ tài sản công của người dân, thông tin các quy định xử lý vi phạm, thực hiện xử lý vi phạm nếu có...

Để đảm bảo phát triển dịch vụ cấp nước tại HTX bền vững trước nhu cầu ngày một cao của người dân, yêu cầu kiểm soát chất lượng nước cấp mới của Bộ Y tế, cảnh báo ô nhiễm nguồn nước,... HTX cần thực hiện lập kế hoạch sản xuất kinh doanh hoàn chỉnh, phù hợp với thực tế, trong đó phải bao gồm cả việc đo lường và đánh giá các rủi ro có thể xảy ra để đảm bảo cấp nước an toàn.

Nghiên cứu đã hỗ trợ HTX thực hiện đánh giá và hoàn thiện kế hoạch sản xuất kinh doanh nước sạch giai đoạn đến năm 2025, đồng thời hỗ trợ chia sẻ một số thông tin về "*Hướng dẫn quản lý - vận hành công trình cấp nước sạch tập trung, Hướng dẫn tiếp thị thông tin - giáo dục - truyền thông về nước sạch nông thôn phù hợp với điều kiện vùng miền, địa bàn*".

b) Giám sát và đánh giá kết quả

Quá trình theo dõi, đánh giá các nội dung đề xuất tại mô hình được chia làm 6 đợt (từ tháng 10/2022 đến tháng 02/2023), các kết quả đạt được:

- Về tổ chức, HTX Dịch vụ Cấp nước sinh hoạt và Vệ sinh môi trường Mỹ Yên đã sắp xếp lại hoạt động cho phù hợp với quy định của Luật Hợp tác xã năm 2012. Bộ máy quản lý đã đáp ứng theo quy định, thực hiện phân công trách nhiệm theo vị trí việc làm của mỗi thành viên.

- HTX Dịch vụ Cấp nước sinh hoạt và Vệ sinh môi trường Mỹ Yên đã cùng phối hợp với các đơn vị chuyên môn trong ngành, cử các cán bộ tham gia các lớp đào tạo tập huấn, nâng cao năng lực quản lý vận hành công trình cấp nước sạch nông thôn. Tham gia các buổi khảo sát các mô hình có hiệu quả tại các địa phương để học hỏi kinh nghiệm thực tế từ các mô hình, nhờ đó nhận thức, trình độ năng lực quản lý vận hành công trình của các cán bộ quản lý vận hành được cải thiện.

- Hoàn thiện và ban hành quy trình quản lý vận hành kỹ thuật hệ thống cấp nước sạch tập trung tại công trình.

- Rà soát, bổ sung hoàn thiện và ban hành kế hoạch sản xuất kinh doanh nước sạch của HTX Dịch vụ Cấp nước sinh hoạt và Vệ sinh môi trường Mỹ Yên đến 2025.

- Phối hợp với UBND xã, truyền thông, tuyên truyền đến người sử dụng nước về nâng cao ý thức cộng đồng trong việc bảo vệ nguồn nước và ý thức sử dụng nước sạch; công tác quản lý hợp đồng nước sạch, quản lý thất thu nước sạch của HTX Dịch vụ Cấp nước sinh hoạt và Vệ sinh môi trường Mỹ Yên, kế hoạch dịch chuyển vị trí đồng hồ đo nước ra ngoài phạm vi hàng rào của hộ dân, xử lý vi phạm hợp đồng nước sạch...

- Về cơ chế giá tiêu thụ nước sạch, do tài sản công trình cấp nước sạch xã Mỹ Yên hiện thuộc quản lý của UBND xã Mỹ Yên nên HTX Dịch vụ Cấp nước sinh hoạt và Vệ sinh môi trường Mỹ Yên đã tiến hành soạn thảo văn bản đề xuất điều chỉnh giá tiêu thụ nước sạch trình UBND xã cho ý kiến, đồng thời gửi UBND huyện Đại Từ xin ý kiến trình UBND tỉnh chấp thuận.

Sau khi các nội dung theo dõi, đánh giá được thực hiện, thông qua phiếu và bộ tiêu chí đánh giá hiệu quả mô hình tổ chức quản lý, khai thác, số điểm của mô hình HTX Dịch vụ Cấp nước sinh hoạt và Vệ sinh môi trường Mỹ Yên đạt 34,75 điểm - Mô hình tổ chức quản lý, khai thác hiệu quả.

3.4.3. Đối với địa bàn nông thôn cận đô thị

a) Triển khai các nội dung đối với mô hình doanh nghiệp - Công ty Cổ phần Nước sạch và Vệ sinh nông thôn tỉnh Nam Định

Về công tác quản lý thất thoát nước và tiếp thị - dịch vụ khách hàng:

Thực hiện thí điểm tại Chi nhánh cấp nước Ý Yên, hỗ trợ chia sẻ các thông tin, tài liệu về “Phòng chống thất thoát; “Truyền thông - Tiếp thị đầu nối; quản lý công trình cấp nước nông thôn”. Trong đó, bao gồm các nội dung:

- + Lập dữ liệu phản hồi của khách hàng định kỳ;

- + Đề xuất phương án giải quyết tình huống khiếu nại;

- + Tiếp cận cấp nước an toàn - đáp ứng sự hài lòng của khách hàng;

- + Lập kế hoạch - tổ chức các phương án tiếp thị mở rộng mạng lưới dịch vụ;

Về kế hoạch tái đầu tư, thoái vốn tại doanh nghiệp:

Hỗ trợ Định hướng thực hiện các thủ tục tái đầu tư, thoái vốn tại doanh nghiệp vốn nhà nước. Việc thoái vốn tại doanh nghiệp có vốn nhà nước thực hiện theo chủ trương tái cấu trúc doanh nghiệp, có lộ trình và bước đi cụ thể.

Về định hướng hoạt động trong quá trình thực hiện Nghị định 43/2022/NĐ-CP [5]:

+ Thực hiện rà soát, phân loại tài sản kết cấu hạ tầng cấp nước sạch.

+ Phân loại doanh nghiệp có vốn Nhà nước thực hiện chuyển đổi sở hữu, sắp xếp lại, thoái vốn giai đoạn 2021 - 2025.

b) Giám sát và đánh giá kết quả

Quá trình theo dõi, đánh giá được chia làm 6 đợt (từ tháng 10/2022 đến tháng 02/2023), doanh nghiệp đã tham khảo tài liệu được chuyển giao, dựa vào điều kiện thực tế tại khu vực, sử dụng biện pháp giảm thất thoát, thất thu nước sạch bằng các phương pháp:

+ Khuyến khích cán bộ có chuyên môn trong đơn vị sáng tạo công cụ phát hiện điểm rò rỉ thất thoát nước ...;

+ Kết hợp tuyên truyền các hộ dân bảo vệ đường ống, công bố các chế tài, hành động pháp lý khi phát hiện cá nhân làm hỏng các thiết bị, tài sản của công trình...

Sau khi các nội dung được thực hiện hoàn thiện, thông qua phiếu và bộ tiêu chí đánh giá hiệu quả mô hình tổ chức quản lý, khai thác, tính được số điểm của mô hình doanh nghiệp (Chi nhánh cấp nước Ý Yên - Công ty Cổ phần Nước sạch và Vệ sinh nông thôn tỉnh Nam Định) là: 38 điểm - Mô hình quản lý hiệu quả. Chỉ số thất thoát nước của đơn vị dao động trong khoảng dưới 16% thấp hơn chỉ số thất thoát nước trước khi thực hiện thí điểm là trên 16,5%.

4. KẾT LUẬN, KIẾN NGHỊ

Đối với địa bàn nông thôn cận đô thị, phát triển mô hình doanh nghiệp và cần xem xét giải quyết vướng mắc trong công tác bàn giao tài sản, ghi tăng vốn tăng vốn Nhà nước trong doanh nghiệp có vốn Nhà nước. Giao cho doanh nghiệp quyết định giá nước sạch trên cơ sở UBND cấp tỉnh thẩm định phương án giá nước.

Đối với địa bàn đồng bằng, đây là khu vực tập trung đông dân cư, khả năng chi trả chi phí sử dụng nước sạch chưa đồng đều, vẫn có những khu vực, mức thu nhập người dân thấp, khu vực bãi ngang ven biển nên cấp nước vẫn có yếu tố đảm bảo an sinh xã hội, an ninh, quốc phòng do vậy mô hình tổ chức quản lý, khai thác phù hợp đối với địa

bàn là mô hình đơn vị sự nghiệp công lập (Trung tâm Nước sạch và Vệ sinh môi trường nông thôn tỉnh). Để đảm bảo tính bền vững trong công tác quản lý vận hành công trình cấp nước tập trung nông thôn cần: (i) Kéo dài thời gian triển khai lắp đặt thiết bị quan trắc nguồn nước, chỉ thực hiện lắp đặt thiết bị quan trắc tại những công trình có công suất từ 3.000 m³/ngày đêm trở lên; (ii) Thời gian hiệu lực của giấy phép gia hạn khai thác tài nguyên nước tăng lên từ 5 - 10 năm; (iii) Tháo gỡ những vướng mắc trong thủ tục bàn giao trạm biến áp cho đơn vị điện lực; (iv) Thực hiện xét nghiệm các chỉ tiêu mẫu nước điển hình tại địa bàn tránh lãng phí (phân chia theo quy mô công suất công trình); (v) Đề xuất đối với những công trình có công suất nhỏ hơn 1.000 m³/ngày đêm sử dụng nhân sự trình độ dưới đại học để xét ưu đãi về thuế và đất đai cho đơn vị quản lý vận hành;

Đối với địa bàn miền núi, trung du, đây là địa bàn điều kiện kinh tế - xã hội người dân còn nhiều khó khăn. Khu vực vùng sâu, vùng xa, biên giới, hải đảo cần có cơ chế chính sách và sự hỗ trợ đầu tư hoặc hỗ trợ giá nước nhằm đảm bảo quyền tiếp cận nguồn nước sạch của người dân nên công trình cấp nước sạch tập trung quy mô nhỏ do đó mô hình tổ chức quản lý, khai thác phù hợp là mô hình Hợp tác xã, đơn vị sự nghiệp công lập (Trung tâm Nước sạch và Vệ sinh môi trường nông thôn tỉnh). Đề xuất cơ chế giá tiêu thụ nước sạch phù hợp cho mỗi đơn vị khai thác; bên cạnh đó, để tối ưu hóa hiệu quả phục vụ của các công trình cấp nước cần có sự vào cuộc của Chính quyền địa phương và người hưởng lợi trong quá trình thực hiện công tác quản lý vận hành;

Để đảm bảo phát triển cấp nước bền vững ở bất kỳ địa bàn nào cũng cần có truyền thông hiệu quả đến người dân, sự vào cuộc của các cấp chính quyền địa phương và xác định mô hình tổ chức quản lý, khai thác sau đầu tư ngay từ giai đoạn chuẩn bị đầu tư.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Thủ tướng Chính phủ (2021). *Quyết định số 1978/QĐ-TTg ngày 24/11/2021 phê duyệt Chiến lược quốc gia cấp nước sạch và vệ sinh nông thôn đến năm 2030, tầm nhìn đến năm 2045.*

2. Trung tâm Quốc gia nước sạch và VSMT nông thôn (2022). Báo cáo tổng hợp dự án “Điều tra, đánh giá tổng thể thực trạng cấp nước nông thôn, tình hình thực hiện xã hội hóa và đề xuất các giải pháp phát triển bền vững phù hợp với đặc thù vùng, miền”.

3. Hoàng Thái Đại, Mạnh Quân Phúc (2007). Đánh giá sự phát triển bền vững của một số công trình cấp nước sạch tỉnh Bắc Giang. *Tạp chí Khoa học Kỹ thuật Thủy lợi và Môi trường*, số 16, 14 - 22.

4. Chính phủ (2021). Quyết định số 22/2021/QĐ-TTg ngày 02/7/2021 về tiêu chí phân loại doanh nghiệp nhà nước, doanh nghiệp có vốn nhà nước thực hiện chuyển đổi sở hữu, sắp xếp lại, thoái vốn giai đoạn 2021 - 2025.

5. Chính phủ (2022). Nghị định số 43/2022/NĐ-CP ngày 24/6/2022 quy định việc quản lý, sử dụng và khai thác tài sản kết cấu hạ tầng cấp nước sạch.

6. Chính phủ (2016). Quyết định số 58/2016/QĐ-TTg ngày 28/12/2016 về tiêu chí phân loại doanh nghiệp nhà nước, doanh nghiệp có vốn nhà nước và danh mục doanh nghiệp nhà nước thực hiện sắp xếp giai đoạn 2016 - 2020.

7. Chính phủ (2022). Quyết định số 1479/QĐ-TTg ngày 29/11/2022 phê duyệt kế hoạch sắp xếp lại doanh nghiệp nhà nước, doanh nghiệp có vốn nhà nước giai đoạn 2022 - 2025.

8. Bộ Y Tế (2018). Thông tư số 41/2018/TT-BYT ngày 14/12/2018 ban hành quy chuẩn kỹ thuật quốc gia và quy định kiểm tra, giám sát chất lượng nước sạch sử dụng cho mục đích sinh hoạt.

9. Bộ Tài nguyên và Môi trường (2021). Thông tư 17/2021-TT-BTNMT ngày 14/10/2021 quy định về giám sát khai thác, sử dụng tài nguyên nước.

10. Bộ Tài Chính (2022). Thông tư số 44/2022/TT-BTC ngày 21/7/2022 quy định quản lý và sử dụng kinh phí chi thường xuyên thực hiện chính sách, chế độ ưu đãi người có công với cách mạng, thân nhân của người có công với cách mạng và người trực tiếp tham gia kháng chiến do ngành Lao động - Thương binh và Xã hội quản lý.

11. Chính phủ (2017). Quyết định số 41/2017/QĐ-TTg ngày 15/9/2017 về quy định

trình tự, thủ tục điều chuyển công trình điện lực đầu tư bằng vốn nhà nước sang tập đoàn Điện lực Việt Nam quản lý.

12. Chính phủ (2021). Nghị định 60/2021/NĐ-CP ngày 21/6/2021 quy định cơ chế tự chủ tài chính của đơn vị sự nghiệp công lập.

13. Chính phủ (2007). Nghị định số 117/2007/NĐ-CP ngày 11/7/2007 về sản xuất, cung cấp và tiêu thụ nước sạch.

14. Chính phủ (2017). Nghị định số 139/2017/NĐ-CP ngày 27/11/2017 quy định xử phạt vi phạm hành chính trong hoạt động đầu tư xây dựng; khai thác, chế biến, kinh doanh khoáng sản làm vật liệu xây dựng, sản xuất, kinh doanh vật liệu xây dựng; quản lý công trình hạ tầng kỹ thuật; kinh doanh bất động sản, phát triển nhà ở, quản lý sử dụng nhà và công sở.

15. Chính phủ (2010). Quyết định số 2147/2010/QĐ-TTg ngày 24/11/2010 về phê duyệt Chương trình quốc gia chống thất thoát, thất thu nước sạch đến năm 2025.

16. Ủy ban Nhân dân huyện Đại Từ (2003). Quyết định số 956/2003/QĐ-UB ngày 14/8/2003 về việc công nhận HTX Dịch vụ Cấp nước sinh hoạt và vệ sinh môi trường Mỹ Yên.

17. Bộ Tài Chính - Bộ Xây Dựng - Bộ Nông nghiệp và PTNT (2012). Thông tư liên tịch số 75/2012/TTLT-BTC-BXD-BNNPTNT ngày 15/5/2012 về việc hướng dẫn nguyên tắc, phương pháp xác định và thẩm quyền định giá tiêu thụ nước sạch tại khu đô thị, khu công nghiệp và nông thôn.

18. Ủy ban Nhân dân tỉnh Thái Nguyên (2018). Quyết định số 506/QĐ-UBND ngày 13/02/2018 về việc phê duyệt giá bán nước sinh hoạt của HTX Dịch vụ Cấp nước sinh hoạt và Vệ sinh môi trường Mỹ Yên.

19. Ủy ban Nhân dân tỉnh Thái Nguyên (2017). Quyết định số 2560/QĐ-UBND ngày 24/8/2017 về việc phê duyệt giá bán nước sạch và nước thô tại các công trình cấp nước sinh hoạt nông thôn do Trung tâm Nước sạch và Vệ sinh môi trường nông thôn quản lý.

**SOLUTIONS FOR IMPLEMENTING SOME MANAGEMENT CONTENTS IN FINDING
THE MODEL OF ORGANIZATION, MANAGEMENT AND MANAGEMENT WORKS BY
RURAL WATER SUPPLY PROJECTS BY LOCATION**

Dao Thu Thuy¹, Nguyen Thi Van Anh¹

¹Center for consultation and technology transfer of clean water environment

Summary

Sustainable management and exploitation of rural clean water supply works is one of the important solutions to ensure water supply objectives and investment efficiency, contributing to social security, improving people's living standards, avoid waste and contribute to building a sustainable new countryside. Up to now, in rural areas of our country, there have been basically some types of organizational models for the management and exploitation of AI technology such as: non-business units, commune People's Committees, cooperatives, communities, enterprises/privates. However, due to different socio - economic conditions in each rural area, there is a development of specific models, the identification and selection of a model of organization, management and operation of AITs suitable to these conditions. Region and location is one of the factors that determine the effectiveness of the project. In order to develop rural clean water supply in the coming period, it is necessary to evaluate and complete models of clean water prices, minimize loss and loss of clean water revenue through connection management associated with sanctions for violations, production, business, marketing plans to expand connection to water use and a roadmap to transform and restructure the model organization according to the development trend of society,...

Keywords: *Management model, post - investment management, rural clean water, concentrated water supply, production organization, restructuring.*

Người phản biện: TS. Nguyễn Đình Ninh

Ngày nhận bài: 25/4/2023

Ngày thông qua phản biện: 19/5/2023

Ngày duyệt đăng: 27/7/2023

ĐÁNH GIÁ TÍNH DỄ BỊ TỔN THƯƠNG VÀ MỨC ĐỘ RỦI RO DO BIẾN ĐỔI KHÍ HẬU TẠI MỘT SỐ ĐỊA PHƯƠNG MIỀN NÚI TỈNH THỪA THIÊN HUẾ

Hoàng Dũng Hà^{1*}, Trần Thị Phụng^{1,2},
Nguyễn Tiến Dũng¹, Trần Nam Thắng¹,
Nguyễn Văn Chung¹, Nguyễn Thị Hương Giang³

TÓM TẮT

Nghiên cứu này đánh giá tác động và tính dễ bị tổn thương và mức độ rủi ro do biến đổi khí hậu (BĐKH) ở một số địa phương miền núi của tỉnh Thừa Thiên Huế. Tính dễ bị tổn thương được định lượng theo hướng dẫn của Thông tư số 01/2022/TT-BTNMT, của Bộ Tài nguyên và Môi trường. Nghiên cứu được thực hiện tại 5 xã thuộc 2 huyện miền núi của tỉnh Thừa Thiên Huế. Dữ liệu được thu thập từ cuộc khảo sát, phỏng vấn, tham vấn và hệ thống giám sát và đánh giá (GSDG) thích ứng BĐKH của tỉnh. Dữ liệu được chuẩn hóa và tính toán các chỉ số tổn thương và khả năng thích ứng. Các trọng số của từng nhóm chỉ số cấp 2 được xác định bằng phương pháp phân tích thứ bậc (AHP). Kết quả nghiên cứu cho thấy, các địa phương miền núi có mức rủi ro và hiểm họa từ BĐKH là rất cao, trong khi chỉ số tổn thương nằm ở mức trung bình. Tuy nhiên, chỉ số khả năng thích ứng tương đối tốt. Phát hiện này có thể hỗ trợ xây dựng chính sách nâng cao khả năng thích ứng và đối phó với tác động tiêu cực của địa phương miền núi tỉnh Thừa Thiên Huế.

Từ khóa: *Biến đổi khí hậu, miền núi, tính dễ bị tổn thương, năng lực thích ứng.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Những năm gần đây, BĐKH đã trở thành một vấn đề đáng lo ngại trên toàn cầu [1, 2]. Tác động của BĐKH không chỉ gây ảnh hưởng nghiêm trọng đến môi trường tự nhiên mà còn đặt ra những thách thức lớn cho con người và xã hội [3]. Việt Nam, đất nước ven biển có vùng miền núi rộng lớn và duyên hải dài, chịu sự tác động mạnh mẽ của BĐKH [4], trong đó tỉnh Thừa Thiên Huế không phải là ngoại lệ.

Tỉnh Thừa Thiên Huế có địa hình phức tạp và đa dạng về khí hậu. Với vị trí địa lý và đặc điểm địa hình đặc biệt, Thừa Thiên Huế trở thành một trong những khu vực dễ bị tổn thương nặng nề bởi BĐKH [5, 6]. Sự biến động bất thường của nhiệt độ, lượng mưa và sự gia tăng tần suất cũng như cường độ của các hiện tượng cực đoan đã gây ra

những tác động tiêu cực đáng kể đến cuộc sống và sinh kế của cộng đồng trong tỉnh [7]. Nông nghiệp và các ngành liên quan đến nông thôn chiếm phần lớn trong nền kinh tế và đời sống của Thừa Thiên Huế. Với hơn 70% dân số sống ở nông thôn và phụ thuộc mạnh mẽ vào điều kiện tự nhiên, cộng đồng này đang đối mặt với những rủi ro và tổn thương lớn do BĐKH [8].

Tại vùng miền núi của tỉnh Thừa Thiên Huế, những nghiên cứu gần đây đã cho thấy sự thay đổi không đều của môi trường và khí hậu đe dọa sự ổn định của nền kinh tế nông nghiệp và sinh kế của người dân mà đa số là cộng đồng các dân tộc thiểu số có đời sống khó khăn [9]. Đặc biệt, trong bối cảnh các hiện tượng cực đoan ngày càng tăng và không dễ dự đoán, khả năng ứng phó và phục hồi của nhóm cộng đồng dễ bị tổn thương này càng trở nên khó khăn hơn [9-11]. Vì vậy, việc đánh giá tính dễ bị tổn thương và rủi ro do BĐKH tại khu vực miền núi Thừa Thiên Huế là rất cần thiết [6]. Nghiên cứu sẽ mang lại thông tin quan trọng về tình trạng BĐKH và tác động của nó trong một số

¹ Trường Đại học Nông lâm, Đại học Huế

² Trung tâm Nghiên cứu Biến đổi khí hậu miền Trung

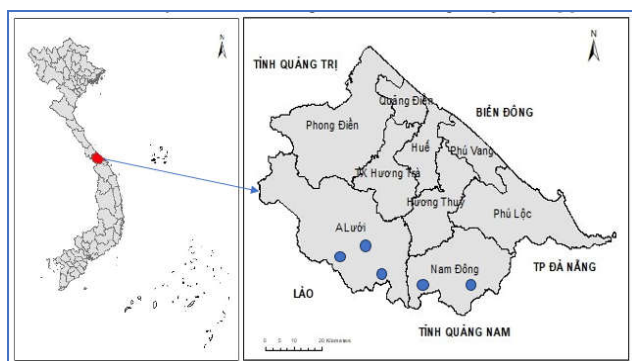
³ Viện Nông nghiệp và Tài nguyên, Trường Đại học Vinh

*Email: hoangdungha@huanf.edu.vn

địa phương miền núi của tỉnh Thừa Thiên Huế. Bằng cách kế thừa, thu thập và phân tích dữ liệu từ hệ thống giám sát, đánh giá thích ứng với BĐKH của tỉnh Thừa Thiên Huế, nghiên cứu nhằm cung cấp cái nhìn tổng quan về tình trạng BĐKH và tác động đến cộng đồng trong tỉnh. Nghiên cứu nhận diện và đánh giá được các yếu tố tổn thương và rủi ro do BĐKH và đóng vai trò quan trọng trong việc xác định cách thức ứng phó và giảm thiểu tác động của BĐKH trong khu vực miền núi của Thừa Thiên Huế. Kết quả của nghiên cứu sẽ cung cấp thông tin cần thiết để xây dựng và áp dụng các biện pháp ứng phó hiệu quả, nhằm giảm thiểu rủi ro và tăng cường khả năng thích ứng của cộng đồng trước BĐKH.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Phạm vi nghiên cứu đánh giá



Hình 1. Vị trí vùng nghiên cứu tỉnh Thừa Thiên Huế

Để làm rõ các tác động của BĐKH đến tự nhiên, kinh tế - xã hội của địa phương, đã chọn khảo sát và nghiên cứu sâu tại 5 xã A Roàng, Đông Sơn và Hồng Thước của huyện A Lưới và xã Thượng Lộ, Thượng Long thuộc huyện Nam Đông, đây là 2 huyện miền núi phía Tây của tỉnh Thừa Thiên Huế (Hình 1). Các điểm nghiên cứu trên thuộc vùng núi nơi bị tác động bởi các loại hình thiên tai khác nhau như lũ lụt, hạn hán, lạnh kéo dài... và cũng là nơi sinh sống của phần lớn đồng bào dân tộc thiểu số. Do các đặc điểm về kinh tế, xã hội và sinh kế, họ là nhóm dễ bị tổn thương do những tác động tiêu cực của BĐKH. Trong đó, nghiên cứu tập trung phân tích các nội dung chủ yếu như: Thách thức thiên tai lớn nhất

mà người dân phải đối mặt; một số ảnh hưởng của BĐKH đến một số lĩnh vực; sự thay đổi của khí hậu, thiên tai trong những năm gần đây... Ngoài ra, nghiên cứu còn khảo sát thông tin về các biện pháp giảm nhẹ và thích ứng BĐKH của cộng đồng.

Nghiên cứu sử dụng nguồn số liệu thu thập từ nhiều nguồn khác nhau: Số liệu thứ cấp liên quan đến thiên tai và BĐKH được thu thập tại các đơn vị có liên quan trong nhiều năm; hệ thống GSĐG thích ứng BĐKH của tỉnh Thừa Thiên Huế từ năm 2020 đến 2021 [12].

Nghiên cứu được triển khai trong 2 đợt, đợt một từ 10/01/2022 – 10/6/2022 và đợt 2 từ 15/12/2022 đến 10/4/2023 nhằm thu thập đầy đủ thông tin và có những số liệu quan sát cần thiết cho 2 mùa rõ rệt tại 2 huyện miền núi. Thông qua các đợt thu thập thông tin tại hiện trường, nghiên cứu đã thiết kế bộ chỉ số đánh giá dựa trên kế thừa và hiệu chỉnh một số tiêu chí của hệ thống GSĐG cho phù hợp với thực tiễn (Bảng 2). Ngoài ra, đã bổ sung thêm các số liệu thu thập từ cấp cộng đồng để làm rõ những tác động và giải pháp ứng phó của nhóm người dân, đặc biệt là cộng đồng dân tộc thiểu số tại địa phương.

2.2. Phương pháp thu thập số liệu

2.2.1. Phương pháp thu thập số liệu thứ cấp

Thu thập và sử dụng các số liệu và dữ liệu thống kê về khí hậu và thời tiết từ các trạm đo (A Lưới và Nam Đông) trong khu vực nghiên cứu. Dữ liệu mưa được thu thập dưới dạng chuỗi dữ liệu hàng ngày từ ngày 01/01/1979 đến 31/12/2019, với một chuỗi dữ liệu kéo dài 41 năm để đảm bảo tính tin cậy trong việc thống kê yếu tố khí hậu. Ngoài ra, sử dụng các báo cáo và tham khảo các kết quả nghiên cứu về BĐKH đã được phê duyệt và công bố bởi Ủy ban Nhân dân tỉnh và các cơ quan, ban ngành trên địa bàn tỉnh Thừa Thiên Huế trong những năm gần đây. Điều này cung cấp một cơ sở quan trọng để xây dựng nội dung nghiên cứu và tránh sự trùng lặp thông tin.

2.2.2. Phương pháp thu thập số liệu sơ cấp

Phương pháp điều tra khảo sát thực địa được áp dụng trong việc thu thập thông tin sơ cấp. Trong đó, các thông tin sơ cấp được thu thập từ cấp tỉnh đến cấp xã thông qua việc lựa chọn các điểm nghiên cứu và đối tượng cung cấp thông tin mang tính đại diện cho từng địa phương. Các phương pháp thu thập thông tin được chi tiết hoá như sau:

- Phỏng vấn sâu: Nhóm nghiên cứu phỏng vấn đại diện của Sở Tài nguyên và Môi trường, Sở Nông nghiệp và PTNT, Sở Du lịch, Ban chỉ huy Phòng chống thiên tai và Tìm kiếm cứu nạn, Đài Khí tượng Thủy văn tỉnh và một số chuyên gia, nhà khoa học nhằm thu thập những thông tin chung về diễn biến thiên tai, tình hình BĐKH trên địa bàn tỉnh và những kế hoạch, chiến lược nhằm ứng phó với BĐKH.

- Thảo luận nhóm tập trung (Focus Group Discussion - FGDs): Tại 5 xã nghiên cứu, tổ chức một buổi thảo luận nhóm tại mỗi xã với sự tham gia của 8-10 người dân địa phương. Các chủ đề thảo luận liên quan đến diễn biến của thiên tai, thời tiết cực đoan, tác động và các giải pháp thích ứng với BĐKH của cộng đồng.

- Phỏng vấn hộ: Đã tiến hành phỏng vấn 153 hộ, trong đó 80% là các hộ đồng bào dân tộc thiểu số tại các xã nhằm tìm hiểu sâu hơn các giải pháp thích ứng mà người dân đã lựa chọn và đề xuất cũng như tìm hiểu thêm khả năng cũng như động lực của các nông hộ tại các vùng sinh thái khác nhau trong việc lựa chọn giải pháp thích ứng với BĐKH theo hướng bền vững trong nông nghiệp và một số lĩnh vực khác.

2.3. Phương pháp đánh giá tính dễ bị tổn thương do BĐKH

Phương pháp nghiên cứu định lượng được sử dụng để phân tích, xử lý các bộ số liệu khí tượng quan trắc theo không gian, thời gian; bộ số liệu hệ thống giám sát hệ thống GSDG thích ứng với BĐKH và bộ số liệu điều tra phỏng vấn ở thực địa. Phương pháp này cung cấp một kết quả trực quan, giúp các nhà quản lý dễ dàng xác định các lĩnh vực

dễ bị tổn thương và các lĩnh vực cần chú ý trong quá trình đầu tư.

Thông thường, tính dễ bị tổn thương có thể được biểu thị dưới dạng hàm số của phơi bày E, độ nhạy S và khả năng thích ứng AC. Công thức tính như sau:

$$VI = f(E, S, AC)$$

Phân tích trên đã đưa ra quy trình cụ thể để thực hiện chỉ số tính dễ bị tổn thương (VI), đánh giá mức độ tổn thương gồm 6 bước và bộ chỉ số được lựa chọn dựa trên các nghiên cứu trên thế giới và tình hình thực tế tại điểm nghiên cứu. Trong nghiên cứu này áp dụng V để phân tích mức độ dễ bị tổn thương ở các địa phương mục tiêu. Tuy nhiên phương pháp tính toán có khác so với công thức của IPCC. Đã áp dụng bộ công thức theo hướng dẫn của Bộ Tài nguyên và Môi trường năm 2022 trong Thông thư 01/2022/BTNMT.

2.3.1. Phương pháp tính toán các chỉ số hiểm họa, mức độ phơi bày, mức độ nhạy cảm và khả năng thích ứng theo Thông tư 01/2022/TT-BTNMT

Việc đánh giá tác động của BĐKH là việc xác định mức độ ảnh hưởng tích cực, tiêu cực, ngắn hạn và dài hạn; tính dễ bị tổn thương, rủi ro và tổn thất, thiệt hại do BĐKH đến hệ thống tự nhiên, kinh tế - xã hội trong phạm vi không gian và thời gian xác định.

- Chuẩn hóa các chỉ số thành phần

Thuật ngữ “chuẩn hóa” đề cập đến việc chuyển đổi các giá trị chỉ số đo trên các thang đo và đơn vị tính khác nhau thành các giá trị không có đơn vị trên một thang đo chung. Phạm vi giá trị tiêu chuẩn thường sử dụng để chuẩn hóa là từ 0 đến 1.

Các chỉ số thành phần của mức độ nhạy cảm có quan hệ đồng biến (+) với chỉ số tính dễ bị tổn thương, tức là làm gia tăng tính dễ bị tổn thương; còn chỉ số thành phần của khả năng thích ứng lại có quan hệ nghịch biến (-) với chỉ số tính dễ bị tổn thương, tức là làm giảm tính dễ bị tổn thương. Các chỉ số thành phần của hiểm họa, mức độ phơi bày và tính dễ bị tổn thương đều có quan hệ đồng biến với chỉ số rủi ro.

Trong trường hợp tương quan giữa chỉ số thành phần của hiểm họa, mức độ phơi bày, mức độ nhạy cảm và khả năng thích ứng và chỉ số tính dễ bị tổn thương, hoặc chỉ số rủi ro là đồng biến, áp dụng công thức chuẩn hóa sau:

$$y_{ij} = \frac{(X_{ij} - X_{\min})}{(X_{\max} - X_{\min})} \quad (1)$$

Trong trường hợp tương quan giữa chỉ số thành phần của hiểm họa, mức độ phơi bày, mức độ nhạy cảm và khả năng thích ứng và chỉ số tính dễ bị tổn thương, hoặc chỉ số rủi ro là nghịch biến, áp dụng công thức chuẩn hóa sau:

$$y_{ij} = \frac{(X_{\max} - X_{ij})}{(X_{\max} - X_{\min})} \quad (2)$$

Trong đó: i là chỉ số chạy của các xã điều tra, j là chỉ số thành phần; y_{ij} là giá trị chuẩn hóa tại xã thứ i của chỉ số thành phần thứ j; X_{ij} là giá trị của chỉ số thành phần; $X_{\min}$ là giá trị nhỏ nhất của chỉ số thành phần thứ j của các xã điều tra; $X_{\max}$ là

giá trị lớn nhất của chỉ số thành phần thứ j của các xã điều tra.

- Tính trọng số các chỉ số thành phần

Sau khi thực hiện chuẩn hóa các chỉ số thành phần, trọng số của từng chỉ số thành phần cần được tính toán và áp dụng. Đã áp dụng phương pháp phân tích thứ bậc (Analytic Hierarchy Process – AHP) để tính trọng số cho các nhóm chỉ tiêu cấp 2 dựa trên kết quả phỏng vấn sâu các chuyên gia trong lĩnh vực BĐKH, tài nguyên môi trường, nông nghiệp, phòng chống giảm nhẹ thiên tai, các nhà khoa học và cán bộ quản lý cấp huyện. Đây là một phương pháp định lượng, dùng để đánh giá các phương án và chọn phương án thoả mãn các tiêu chí cho trước. Các chỉ số thành phần sẽ được so sánh với nhau theo từng cặp trong một ma trận và được tính toán bằng cách cộng tổng các giá trị của ma trận theo cột, sau đó lấy từng giá trị của ma trận chia cho số tổng của cột tương ứng. Trọng số của từng chỉ số thành phần tương ứng sẽ bằng bình quân các giá trị theo từng hàng ngang.

Bảng 1. Kết quả tính trọng số AHP cho nhóm tiêu chí

Nhóm tiêu chí	Chỉ số cấp 2	Trọng số
Hiểm họa - H	BĐKH	0,14
	Thiên tai	0,86
Độ phơi bày – E	Phơi bày tác động của thiên tai	0,54
	Phơi bày khu vực canh tác	0,07
	Phơi bày hoạt động của con người	0,25
	Phơi bày tài sản	0,14
Độ nhạy cảm – S	Tổn thương con người	0,41
	Tổn thương hạ tầng	0,17
	Tổn thương nông nghiệp	0,24
	Tổn thương thủy sản	0,11
	Tổn thương lâm nghiệp	0,05
	Tổn thương du lịch	0,03
Khả năng thích ứng – AC	Nguồn lực tự nhiên	0,28
	Nguồn lực con người	0,38
	Nguồn lực vật chất	0,08
	Nguồn lực tài chính	0,17
	Nguồn lực xã hội	0,08

2.3.2. Phương pháp tính toán các chỉ số hiểm họa, mức độ phơi bày, mức độ nhạy cảm và khả năng thích ứng

Sau khi tính chuẩn hóa và áp dụng trọng số đối với các chỉ số thành phần, các chỉ số tại các đơn vị không gian được tính toán theo công thức tổng quát sau:

$$M_i = \sum_{j=1}^n w_j y_{ij}, i=1,..m \quad (3)$$

Trong đó: M_i là chỉ số tính toán (hiểm họa (ký hiệu là H_i), mức độ phơi bày (ký hiệu là E_i), mức độ nhạy cảm (ký hiệu là S_i), khả năng thích ứng (ký hiệu là AC_i); i là chỉ số chạy của các xã điều tra; j là chỉ số chạy của chỉ số thành phần; n là tổng chỉ số thành phần; m là tổng số xã điều tra; w_j là trọng số của chỉ số thành phần thứ j trong các xã điều tra; y_{ij} là giá trị chuẩn hóa của chỉ số thành

phần thứ j , được tính theo công thức (1) hoặc công thức (2).

Tính toán tính dễ bị tổn thương tại các đơn vị không gian (ký hiệu là V_i):

$$V_i = \frac{S_i + (1 - AC_i)}{2} \quad (4)$$

Tính toán rủi ro tại các đơn vị không gian (ký hiệu là R_i):

$$R_i = \frac{H_i + E_i + V_i}{3} \quad (5)$$

Nguồn số liệu chính thức được sử dụng cho việc tính toán các chỉ số cũng như lập bản đồ tổn thương được lấy từ nguồn số liệu hệ thống giám sát và đánh giá thích ứng với BĐKH tỉnh Thừa Thiên Huế.

Bảng 2. Mức độ dễ bị tổn thương và khả năng thích ứng BĐKH

TT	Tiêu chí cấp 3	Tiêu chí cấp 2	Tiêu chí chính	Đơn vị tính	Hồng Thượng	A Roàng	Đông Sơn	Thượng Lộ	Thượng Long
					A Lưới			Nam Đông	
1	Độ lệch nhiệt độ trung bình năm thấp nhất	BĐKH (H1)	Hiểm họa (H) (↑)	°C	0,5	0,5	0,4	0,5	0,5
2	Độ lệch nhiệt độ trung bình năm cao nhất			°C	1,6	1,55	1,55	1,7	1,7
3	Độ lệch nhiệt độ trung bình năm			°C	0,50	0,50	0,50	0,54	0,54
4	Độ lệch lượng mưa trung bình năm thấp nhất			mm	43	42	43	44	43
5	Độ lệch lượng mưa trung bình năm cao nhất			mm	543	544	540	382	382
6	Độ lệch lượng mưa trung bình năm			mm	93,31	93,31	93,31	94,87	94,87
7	Số trận lụt xảy ra	Thiên tai (H2)		Trận/năm	3	5	4	2	4
8	Số cơn bão đổ bộ vào			Cơn/năm	3	3	4	3	4
9	Tổng số đợt hạn hán			Đợt/năm	1	1	1	3	1
10	Tổng số vụ sạt lở đất			Vụ/năm	2	5	1	2	1
11	Tổng số vụ cháy rừng			Vụ/năm	0	0	3	0	0
12	Tổng số ngày ngập lụt	Phơi bày tác động thiên tai (E1)	Mức độ phơi bày (E) (↑)	Ngày/năm	3	2	2	0	0
13	Thời gian xảy ra bão trung bình			Số ngày/cơn	1	1	2	2	1
14	Số cơn bão trên cấp 8 đổ bộ vào trong năm			Số cơn bão/năm	2	1	3	2	3
15	Mức khô hạn năm			1=Hơi khô;	1	2	2	3	3

KHOA HỌC CÔNG NGHỆ

				2=Khô; 3=Rất khô					
16	Tổng số ngày hạn hán			Ngày/năm	60	50	15	20	20
17	Tổng diện tích đất bị hạn hán			Ha/năm	2	7,5	20	100	10
18	Tổng chiều dài bị sạt lở đất			Km/năm	0,15	34	0,1	0	0
19	Tổng diện tích rừng bị cháy			Ha/năm	0	0	2,5	0	0
20	Diện tích rừng sản xuất	Phơi bày khu vực canh tác (E2)		Ha	2.230,86	2.394,31	1.273,21	1.493,2	519,06
21	Tổng số địa điểm tham quan du lịch			Số địa điểm	2	4	1	2	3
22	Diện tích đất trồng lúa			Ha	56,67	145	7922	33	56,66
23	Diện tích đất trồng hoa màu và cây hàng năm			Ha	100	183,34	20	116,6	51,62
24	Diện tích đất trồng cây lâu năm			Ha	20	187,31	161	40	108,27
25	Diện tích đất trồng cây công nghiệp			Ha	920	510	597	356	10
26	Tỷ lệ hộ nghèo	Phơi bày hoạt động con người (E3)		%	9,38	16,9	35,41	3,7	15
27	Tỷ lệ hộ cận nghèo			%	16,98	29,68	19,7	5	3
28	Tỷ lệ người già trên 60 tuổi			%	8,85	1,36	8	15	35
29	Tỷ lệ trẻ em dưới 15 tuổi			%	30,61	3,92	27,6	18	45
30	Số hộ có người bị khuyết tật			hộ	86	26	24	18	35
31	Tỷ lệ người dân tộc thiểu số			%	86,84	98,83	97,25	95	97,6
32	Số hộ không có nhà ở			Hộ	6	10	20	35	5
33	Tỷ lệ dân số khu vực nông thôn			%	80	100	99,6	98	100
34	Cơ cấu lao động nông nghiệp			%	70	70	100	85	5
35	Số cơ sở chăn nuôi gia súc tập trung	Phơi bày tài sản (E4)		Số cơ sở	4	1	1	2	3
36	Số cơ sở chăn nuôi gia cầm tập trung			Số cơ sở	4	1	2	2	1
37	Số người ốm đau do hạn hán	Độ nhạy cảm về con người (S1)	Mức độ nhạy cảm (S) (↓)	Số người	5	10	20	25	30
38	Số người chết, mất tích do bão			Số người	0	0	0	0	0
39	Số người bị thương do bão			Số người	2	2	0	1	0
40	Diện tích lúa bị thiệt hại do thiên tai	Độ nhạy cảm về nông nghiệp (S2)		Ha	31	45	20	0,5	1,2
41	Diện tích hoa màu và cây hàng năm bị thiệt hại do thiên tai			Ha	50	300	0	2.1	0
42	Diện tích đất trồng cây lâu năm bị thiệt hại do thiên tai			Ha	200	2	0	0	10
43	Số lượng gia súc bị chết do thiên tai, dịch bệnh			Con	150	200	283	15	10
44	Số lượng gia cầm bị chết do thiên tai, dịch bệnh			Con	1.000	560	200	300	3.400
45	Tổng giá trị sản xuất nông nghiệp bị thiệt hại năm			Triệu đồng/năm	200	1,4	54	50	0

KHOA HỌC CÔNG NGHỆ

46	Diện tích rừng bị thiệt hại do thiên tai	Độ nhạy cảm về lâm nghiệp (S3)		Ha	200	40	3	45	30
47	Tỷ lệ diện tích rừng bị thiệt hại do thiên tai			%	4,7	0,78	0,5	5	5
48	Diện tích cây công nghiệp bị thiệt hại do thiên tai			Ha	200	10	3	250	4
49	Tổng giá trị sản xuất lâm nghiệp bị thiệt hại do thiên tai			Triệu đồng/năm	5.950	300	165	4.000	50
50	Số địa điểm tham quan du lịch bị ảnh hưởng/thiệt hại do BĐKH	Độ nhạy cảm về du lịch (S4)		Số địa điểm	1	2	1	2	2
51	Tổng giá trị thiệt hại (cơ sở vật chất, doanh thu,...) do BĐKH			Triệu đồng	20	2000	20	30	20
52	Diện tích đất tự nhiên	Nguồn lực tự nhiên (AC1)	Khả năng thích ứng (AC)) (↓)	Ha	4.022,09	5.787,96	2.670,46	1.0643,5	5.067,99
53	Tỷ lệ diện tích đất chưa sử dụng			%	0,04	1,36	20,7	1,81	0,67
54	Diện tích rừng			Ha	0	5.078,75	1,5	1011	4.200,11
55	Diện tích rừng tự nhiên			Ha	0	5.078,75	2.670,46	0	2.688,88
56	Diện tích đất nông nghiệp bình quân đầu người hoặc hộ			Ha/người hoặc Ha/hộ	3	0,1	5,66	0,8	0,95
57	Tổng số dân	Nguồn lực con người (AC2)		người	2.881	2.929	1.566	1.461	2.916
58	Tỷ lệ hộ có nữ là chủ hộ			%	21,51	10,65	12,47	4	5
59	Tỷ lệ người biết chữ			%	99,68	60	100	100	90
60	Tỷ lệ đã tốt nghiệp tiểu học			%	99,96	55	100	86,47	85
61	Tỷ lệ lao động có việc làm			%	94,1	20	70	55	88
62	Diện tích đất ở bình quân đầu người	Nguồn lực khác (AC3)		m ² /người	108	98,87	0	68	74,6
63	Tỷ lệ thôn, bản có hệ thống loa truyền thanh			%	0	97	0	100	0
64	Tỷ lệ thôn có hệ thống cảnh báo thiên tai			%	0	100	0	0	100
65	Tổng giá trị sản xuất lâm nghiệp	Nguồn lực tài chính (AC4)		Triệu đồng/năm	8.500	400	1.983	7.000	600
66	Tổng giá trị sản xuất nông nghiệp			Triệu đồng/năm	150	3.000	5.738	9.000	300
67	Tổng số lễ hội du lịch được tổ chức	Nguồn lực xã hội (AC5)		Lễ hội	3	3	2	3	3
68	Số hợp tác xã, tổ hợp tác			Số cơ sở	1	1	1	1	1
69	Số tổ chức xã hội nghề nghiệp (nhóm sở thích, CLB khuyến nông,...)			Số cơ sở	1	2	1	2	1
70	Số doanh nghiệp nông nghiệp			Số cơ sở	2	1	1	2	1

Nguồn: Sở Tài nguyên và Môi trường tỉnh Thừa Thiên Huế [12] và điều tra thực tế 2022-2023.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Các hiểm họa



Hình 2. Kết quả tính toán các chỉ số

Kết quả tính toán các chỉ số đánh giá mức độ dễ bị tổn thương bao gồm H (Hiểm họa), E (Độ phơi bày), S (Mức độ nhạy cảm), AC (Khả năng thích ứng), V (Tính dễ bị tổn thương) và R (Rủi ro) được tổng hợp thành biểu đồ (Hình 2).

Chỉ số hiểm họa (H) được tích hợp bởi 2 nhóm chỉ số cấp 2 bao gồm thiên tai và BDKH. Chỉ số hiểm họa được tính toán từ 12 chỉ số cấp 3. Kết quả tính tại bảng hiểm họa cho thấy có sự khác nhau khá lớn giữa các địa phương được đánh giá. Ở khu vực đồi núi, Nam Đông và A Lưới có chỉ số hiểm họa khá cao. Chỉ số này đánh giá mức độ hiểm họa tại mỗi địa điểm. Các giá trị của H nằm trong khoảng từ 0,414 - 0,524. A Roàng có giá trị H cao nhất, cho thấy địa điểm này có mức độ hiểm họa cao hơn so với các địa điểm khác trong bảng số liệu và sự phân hóa mức độ hiểm họa của 5 xã nghiên cứu gây ra do BDKH là không quá khác biệt, dao động quanh mức trung bình, chỉ có xã A Roàng là mức độ hiểm họa cao hơn 4 xã còn lại.

3.2. Mức độ phơi bày

Mức độ phơi bày (E) được phân bố trong 4 nhóm chỉ tiêu cấp 2 bao gồm: Phơi bày thiên tai, khu vực canh tác, hoạt động con người và phơi bày

về tài sản. Đây là chỉ số để đánh giá mức độ bao phủ về tác động của thiên tai và BDKH tại điểm nghiên cứu. Nhìn chung, mức độ phơi bày do tác động của thiên tai và BDKH tại 2 huyện miền núi tỉnh Thừa Thiên Huế là khá cao và đồng nhất. Giá trị của E nằm trong khoảng từ 0,332 - 0,428. A Roàng lại có giá trị E cao nhất, cho thấy địa điểm này có khả năng tiếp xúc với các yếu tố gây tổn thương cao hơn so với các địa điểm khác.

Kết quả cho thấy phần lớn diện tích khu vực được đánh giá có chỉ số phơi bày khá cao, đó là những địa phương bị nguy cơ hạn hán và bão đổ bộ, bao gồm khu vực phía tây huyện A Lưới (A Roàng) và các xã còn lại có mức độ phơi bày khá cao như Thượng Lộ, Thượng Long, Đông Sơn và Hồng Thượng. Kết quả tại bảng 3 cho thấy, phần lớn các xã nghiên cứu đều có nguy cơ phơi bày tương đối đối với thiên tai, BDKH.

3.3. Mức độ nhạy cảm

Mức độ nhạy cảm (S) được tính toán dựa trên khá nhiều các chỉ số cấp 3, vì theo công thức tính chỉ số tổn thương thì S là một trong những chỉ số quan trọng, kết quả tính S sẽ ảnh hưởng rất lớn đến chỉ số tổn thương (V). Do đó, trong nghiên cứu này S rất được quan tâm và sàng lọc kỹ các chỉ

tiêu. Kết quả tính giá trị của S nằm trong khoảng từ 0,219 - 0,347. Mức độ nhạy cảm của các địa điểm trong bảng số liệu không có sự khác biệt lớn. Chỉ số nhạy cảm bao gồm nhiều chỉ số biểu thị cho độ nhạy cảm của các địa phương, các lĩnh vực như nông, lâm nghiệp, cơ sở hạ tầng, du lịch,... với các tác động của thiên tai và BĐKH.

Khu vực có độ nhạy cảm cao nhất là xã Hồng Thượng, khu vực này có hồ chứa nước cho đập thủy điện A Lưới. Đặc biệt các xã Thượng Long, Thượng Lộ thuộc huyện Nam Đông có độ nhạy cảm rất thấp. Tương tự, một số xã phía Tây Bắc của huyện A Lưới như A Roàng và Đông Sơn có độ nhạy cảm từ rất thấp đến thấp.

3.4. Khả năng thích ứng

Trong nghiên cứu này, khả năng thích ứng của các địa phương được đánh giá dựa vào các chỉ số được xếp vào 5 nhóm nguồn lực khác nhau bao gồm: Tự nhiên, con người, tài chính, xã hội và nguồn lực khác. Chỉ số này đánh giá khả năng thích ứng của mỗi địa điểm. Giá trị của AC nằm trong khoảng từ 0,481 - 0,569. Hồng Thượng có giá trị AC cao nhất, cho thấy địa điểm này có khả năng thích ứng tốt hơn so với các địa điểm khác trong bảng số liệu.

Kết quả biểu thị khả năng thích ứng ở các địa phương được đánh giá. Khả năng thích ứng được xem là các chỉ số quan trọng thể hiện khả năng thích ứng của hệ thống kinh tế - xã hội và con người, cơ sở hạ tầng, hệ thống sản xuất và tài sản tự nhiên. Nhìn chung, khả năng thích ứng của các địa phương được đánh giá là khá cao. Điểm đặc biệt là các địa phương miền núi - nơi thường bị tác động bởi thiên tai và BĐKH, tuy nhiên các xã này có chỉ số thích ứng khá cao như Đông Sơn, Hồng Thượng của huyện A Lưới và Thượng Long, Thượng Lộ của huyện Nam Đông. Ngược lại, A Roàng (huyện A Lưới) có mức độ thích ứng thấp.

Kết quả tính toán chỉ số mức độ khả năng thích ứng AC của 5 xã nghiên cứu gây ra do BĐKH cho thấy sự khác nhau không lớn giữa các xã.

3.5. Tính dễ bị tổn thương

Công thức tính chỉ số dễ bị tổn thương do Bộ Tài nguyên và Môi trường ban hành năm

2022, không bao gồm chỉ số độ phơi bày E, mà chỉ tích hợp các chỉ số S và AC để tính toán tính dễ bị tổn thương V, kết quả thể hiện trên bản đồ cho thấy sự chênh lệch khá lớn giữa các địa phương được đánh giá. Mặc dù là các xã thuộc 2 huyện miền núi khác nhau, tuy nhiên mức độ tổn thương do gây ra do BĐKH và thiên tai là khá tương đồng.

Các xã nghiên cứu thuộc hai huyện A Lưới và Nam Đông có mức độ tổn thương rất thấp. Giá trị của V nằm trong khoảng từ 0,335 - 0,390. Các địa điểm trong bảng số liệu không có sự khác biệt lớn về tính dễ bị tổn thương và sự phân hóa trên địa bàn của 5 xã nghiên cứu gây ra do BĐKH là không quá rõ ràng.

3.6. Rủi ro

Chỉ số này đánh giá mức độ rủi ro tại mỗi địa điểm. Giá trị của R nằm trong khoảng từ 0,375 - 0,447. A Roàng có giá trị R cao nhất, cho thấy địa điểm này có mức độ rủi ro cao hơn so với các địa điểm khác trong bảng số liệu. Mức độ rủi ro nghiêm trọng nhất chủ yếu thể hiện ở huyện A Lưới, các xã A Roàng, Đông Sơn có chỉ số rủi ro rất cao, trong khi các xã tại huyện Nam Đông có chỉ số rủi ro ở mức thấp đến trung bình.

Tổng quan, biểu đồ mô tả số liệu tính toán (Hình 2) cho thấy A Roàng là địa điểm có mức độ dễ bị tổn thương cao nhất, với các chỉ số H, E và R đạt giá trị cao. Trong khi đó, Hồng Thượng có khả năng thích ứng tốt nhất (có giá trị AC cao nhất) trong số các địa điểm được đánh giá.

4. KẾT LUẬN

BĐKH đang ảnh hưởng đến nhiều lĩnh vực trên địa bàn tỉnh Thừa Thiên Huế. Kết quả đánh giá tính dễ bị tổn thương cho thấy sự khác biệt giữa các địa phương, với chỉ số V dao động từ 0,33-0,39. Trong đó, hai huyện miền núi A Lưới và Nam Đông có mức độ dễ bị tổn thương từ cao đến rất cao.

Người dân tại miền núi tỉnh Thừa Thiên Huế đã đa dạng hóa các giải pháp thích ứng với BĐKH dựa trên các điều kiện sinh thái địa phương. Điều

này giải thích cho chỉ số khả năng thích ứng AC đạt mức đáng kể. Đây là cơ sở quan trọng để đề xuất các giải pháp thích ứng bền vững, tập trung vào hoạt động sinh kế và tạo thu nhập cho từng vùng sinh thái cụ thể và đáp ứng nhu cầu thay đổi của hộ gia đình và cộng đồng.

Đây là nghiên cứu áp dụng phương pháp tính toán theo thông tư mới nhất của Bộ Tài nguyên và Môi trường trên cơ sở sử dụng thông tin và dữ liệu từ hệ thống GSĐG, phương pháp nghiên cứu này cho thấy tính phù hợp, linh động và chính xác để phục vụ cho công tác nghiên cứu, đánh giá và xây dựng các chương trình phát triển kinh tế xã hội thích ứng với BĐKH tại tỉnh Thừa Thiên Huế.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được hỗ trợ bởi các khoản tài trợ (#169430, #194004) từ Chương trình Nghiên cứu của Thụy Sĩ về các vấn đề toàn cầu cho phát triển (Chương trình R4D), đồng tài trợ bởi Quỹ Khoa học Quốc gia Thụy Sĩ (SNF) và Cơ quan Hợp tác và Phát triển Thụy sĩ (SDC). Nhóm tác giả trân trọng cảm ơn sự hỗ trợ một phần của Đại học Huế thông qua đề tài khoa học công nghệ mã số DHH2023-02-178 và Trường Đại học Nông Lâm, Đại học Huế với đề tài DHL-2023-PTNT-01.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Niles, M. T. and J.D. Salerno (2018). *A cross-country analysis of climate shocks and smallholder food insecurity*. PLoS ONE. **13**(2): p. 1-14.
2. Thuc, T., Van Thang, N., Huong, H. T. L., Van Khiem, M., Hien, N. X. & Phong, D. H. (2016). Climate change and sea level rise scenarios for Vietnam. *Ministry of Natural resources and Environment. Ha Noi, Vietnam*.
3. Shameem, M. I. M., S. Momtaz and R. Rauscher (2014). *Vulnerability of rural livelihoods to multiple stressors: A case study from the southwest coastal region of Bangladesh*. Ocean & Coastal Management. 102, Part A: p. 79-87.

4. Thao, N.T.T., *et al.* (2019). Assessment of Livelihood Vulnerability to Drought: A Case Study in Dak Nong Province, Vietnam. *International Journal of Disaster Risk Science*. 10(4): p. 604-615.
5. Schmidt-Thome, P., *et al.* (2015). *Climate change in Vietnam*, in *Climate Change Adaptation Measures in Vietnam*, Springer. p. 7-15.
6. UBND tỉnh Thừa Thiên Huế (2022). *Quyết định số 3283/QĐ-UBND ngày 25/12/2022 về việc Ban hành kế hoạch thực hiện thoả thuận Paris về biến đổi khí hậu trên địa bàn tỉnh Thừa Thiên Huế*.
7. Ủy ban Nhân dân tỉnh Thừa Thiên Huế (2021). *Báo cáo tổng hợp đánh giá khí hậu tỉnh Thừa Thiên Huế*. https://stnmt.thuathienhue.gov.vn/UploadFiles/TinTuc/2021/8/5/00.00.h571789qdubnd2021pl2_1.pdf
8. Sở Tài nguyên và Môi trường tỉnh Thừa Thiên Huế (2021). *Báo cáo tổng kết xây dựng, cập nhật kế hoạch hành động ứng phó với biến đổi khí hậu trên địa bàn tỉnh Thừa Thiên Huế*.
9. Nguyễn Thị Lan (2021). Thách thức đối với cộng đồng dân tộc thiểu số ở Việt Nam hiện nay trong ứng phó với biến đổi khí hậu và suy thoái môi trường. *Tạp chí Khoa học Xã hội và Nhân văn*, Đại học Quốc gia Hà Nội. **7**(2b): p. 349-362.
10. Tong, T. M. T., R. Shaw and Y. Takeuchi (2012). *Climate disaster resilience of the education sector in Thua Thien Hue province, Central Vietnam*. Natural hazards. 63(2): p. 685-709.
11. Van, T. (2015). *Household's coping strategies and recoveries from shocks in Vietnam*. The Quarterly Review of Economics and Finance. 56: p. 15-29.
12. Sở Tài nguyên và Môi trường tỉnh Thừa Thiên Huế (2021). *Hệ thống giám sát đánh giá thích ứng biến đổi khí hậu 2020-2021*.

**ASSESSMENT OF VULNERABILITY AND RISK ASSOCIATE WITH CLIMATE CHANGE
IN SELECTED MOUNTAINOUS LOCATIONS OF THUA THIEN HUE PROVINCE**

Hoang Dung Ha¹, Tran Thi Phuong^{1, 2},

Nguyen Tien Dung¹, Tran Nam Thang¹,

Nguyen Van Chung¹, Nguyen Thi Huong Giang³

¹University of Agriculture and Forestry, Hue University

²Centre for Climate Change Study in Central Vietnam

³School of Agriculture and Natural Resources, Vinh University

Summary

This study assesses the impacts, vulnerability and risks to climate change in selected mountainous localities of Thua Thien Hue province. Vulnerability is quantified following the guidelines of Circular No. 01/2022/TT-BTNMT issued by the Ministry of Natural Resources and Environment. The research was conducted in five communes within two mountainous districts of the province. Data were collected through surveys, key informant interviews, focus group discussions, and the Climate Change Adaptation Monitoring and Evaluation system of the province. The data were normalized, and vulnerability and adaptive capacity indices were calculated. The weights for each second-level index group were determined using the Analytic Hierarchy Process (AHP) method. The study findings reveal high risks and hazards from climate change in the mountainous localities, while vulnerability indices are at a moderate level. However, the adaptive capacity indices are relatively good. These findings can support the development of policies to enhance adaptation and cope with the negative impacts of climate change in the mountainous areas of Thua Thien Hue province.

Keywords: *Climate change, mountainous regions, vulnerability, adaptive capacity.*

Người phản biện: TS. Nguyễn Đức Kiên

Ngày nhận bài: 16/6/2023

Ngày thông qua phản biện: 7/7/2023

Ngày duyệt đăng: 14/7/2023