TẠP CHÍ
NÔNG NGHIỆP
& PHÁT TRIỂN NÔNG THÔN

ISSN 1859 - 4581

NĂM THỨ HAI MƯƠI HAI

SỐ 446 NĂM 2022
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
Email: tapchinongnghiep@mard.gov.vn
Website:www.tapchikhoahocnongnghiep.vn

VĂN PHÒNG ĐẠI DIỆN TẠP CHÍ TẠI PHÍA NAM
135 Pasteur
Quận 3 - TP. Hồ Chí Minh
ĐT/Fax: 028.38274089

Giấy phép số:
290/GP - BTTTT
Bộ Thông tin và Truyền thông
cấp ngày 03 tháng 6 năm 2016

Công ty CP Khoa học và Công nghệ Hoàng Quốc Việt
Địa chỉ: Số 18, Hoàng Quốc Việt,
Cầu Giấy, Hà Nội
ĐT: 024.3756 2778

Giá: 50.000đ

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

MỤC LỤC

- ĐOÀN VĂN SƠN, HOÀNG MINH TRANG, NGUYỄN THỊ HẢO, NGUYỄN THỊ HUÊ, VÕ THỊ MINH TUYỂN. Nghiên cứu, ứng dụng kỹ thuật chiếu xạ gamma, nguồn Co - 60 có hoạt độ 236 Ci, trong tạo nguồn vật liệu khởi đầu cho chọn tạo giống lúa — 3-10
- TRẦN THỊ THU HÀ, DƯƠNG THỊ NHUNG, CAO THỊ MAI PHƯƠNG. Nhân giống loài lan Kim Tuyến (*Anoectochilus setaceus* Blume) cần bảo tồn tại Thái Nguyên bằng công nghệ *in vitro* — 11-18
- KHUẤT THỊ MAI LƯƠNG, NGUYỄN THỊ MINH NGUYỆT, LÊ HÙNG LĨNH. Đánh giá đặc điểm hình thái và đa dạng di truyền của quần thể sâm Ngọc Linh (*Panax vietnamensis* Ha *et* Grushv.) tại vườn giống thuộc huyện Tu Mơ Rông, tỉnh Kon Tum — 19-28
- NGUYỄN THỊ THU HẰNG, DƯƠNG NGUYÊN XUÂN LÂM, NGUYỄN ĐỖ LÂM ĐIỀN, TRỊNH TÚY AN, VŨ THANH THẢO, TRẦN THỊ THU TRANG. Đặc điểm thực vật học và mã vạch ADN của cây Bìm mờ (*Ipomoea obscura* (L.) Ker Gawl.) họ khoai lang (Convolvulaceae) — 29-37
- BÙI THỊ XUÂN, NGUYỄN VĂN TÂM, TRẦN THỊ LAN, NGUYỄN QUANG TIN. Nghiên cứu ảnh hưởng của một số biện pháp kỹ thuật trồng đến khả năng sinh trưởng, phát triển, năng suất và chất lượng của cây Sâm cau (*Curculigo orchioides* Gaertn.) tại Tam Đảo, Vĩnh Phúc — 38-46
- NGUYỄN VĂN CHÍNH, PHẠM TRUNG HIẾU, TRẦN THỊ HỒNG, VÕ THỊ KIM TRÂM. Đánh giá khả năng kháng bệnh thán thư của một số giống nho tại Ninh Thuận — 47-54
- LƯU VĂN PHƯƠNG, LÊ THANH TOÀN. Hiệu quả của nấm *Trichoderma* sp. và *Penicillium* sp. trong phòng trừ bệnh thán thư do nấm *Colletotrichum* sp. trên cây ớt — 55-62
- NGUYỄN VĂN THÀNH, LÊ VĂN BÌNH, NGUYỄN MẠNH HÀ, NGUYỄN VĂN VIỆT, NGUYỄN THỊ MINH HẰNG, ĐÀO NGỌC QUANG, NGUYỄN MINH CHÍ. Côn trùng chích hút - véc tơ lây truyền bệnh tua mực hại cây quế ở vùng Nam Trung bộ — 63-69
- NGUYỄN THÀNH MẠNH, NGUYỄN THỊ TÚ ANH, NGUYỄN THỊ HẠNH, TRƯƠNG XUÂN LAM, HÀ NGỌC LINH, PHẠM HUY PHONG, NGUYỄN QUANG CƯỜNG. Giá trị dinh dưỡng của ấu trùng ngài sáp lớn *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae) — 70-75
- TRƯƠNG THỊ MỘNG THU, TRẦN THANH TRÚC, LÊ THỊ MINH THỦY. Nghiên cứu điều kiện tiền xử lý và chiết tách collagen từ hỗn hợp da và vảy cá lóc (*Channa striata*) bằng acetic acid — 76-84
- VŨ TIẾN THỊNH, NGUYỄN BÁ THẠCH, NGUYỄN CHÍ THÀNH, ĐỖ NGỌC DƯƠNG, PHAN VIẾT ĐẠI, HOÀNG VĂN HUY, NGUYỄN THỊ HÒA, NGUYỄN HỮU VĂN, GIANG TRỌNG TOÀN. Hiện trạng và giải pháp bảo tồn các loài gà nguy cấp, quý, hiếm tại Khu Bảo tồn Thiên nhiên Pù Hu — 85-93
- LÊ HOÀNG VIỆT, NGUYỄN CÔNG THUẬN, NGUYỄN VĂN DŨNG, NGUYỄN VÕ CHÂU NGÂN. Nghiên cứu một số thông số vận hành cột plasma lạnh xử lý nước ngầm phục vụ sinh hoạt nông thôn — 94-100
- ĐINH XUÂN TRỌNG. Nghiên cứu ảnh hưởng của hệ số không đều hạt đến độ nhạy xói ngầm của nền cát dưới cống qua đê vùng đồng bằng sông Hồng — 101-107
- NGUYỄN VĂN CÔNG, BÙI THỊ CHUYỀN, NGUYỄN CÔNG THUẬN. Nghiên cứu tác dụng của bèo tai tượng (*Pistia stratiotes* L.) xử lý nước thải biogas — 108-114
- BÙI THỊ THU TRANG, NGUYỄN THỊ HỒNG HẠNH, HOÀNG THỊ HUÊ, NGUYỄN THỊ HOÀI THƯƠNG, MAI VĂN TRỊNH, HỒ THÚY QUỲNH. Hiện trạng phát sinh và phân loại, thu gom, chuyển giao các chất thải nguy hại và chất thải tái chế trong sinh hoạt hộ gia đình tại huyện Đông Anh, thành phố Hà Nội — 115-124

VIETNAM JOURNAL OF AGRICULTURE AND RURAL DEVELOPMENT

ISSN 1859 - 4581

THE TWENTY SECOND YEAR

No. 446 - 2022

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
Email: tapchinongnghiep@mard.gov.vn
Website:www.tapchikhoahocnongnghiep.vn

Representative Office
135 Pasteur
Dist 3 - Hochiminh City
Tel/Fax: 028.38274089

Printing in Hoang Quoc Viet technology and science joint stock company

CONTENTS

- DOAN VAN SON, HOANG MINH TRANG, NGUYEN THI HAO, NGUYEN THI HUE, VO THI MINH TUYEN. Research and application of 60Co gamma irradiation with the source active at 236 Ci to create initial materials for rice breeding — 3-10
- TRAN THỊ THU HA, DUONG THI NHUNG, CAO THI MAI PHUONG. Propagation of *Anoectochilus setaceus* Blume need to conservation in Thai Nguyen with *in vitro* technology — 11-18
- KHUAT THI MAI LUONG, NGUYEN THI MINH NGUYET, LE HUNG LINH. Evaluation of morphological characteristics and genetic diversity of Ngoc linh ginseng (*Panax vietnamensis* Ha *et* Grushv.) at Tu Mo Rong, Kon Tum — 19-28
- NGUYEN THI THU HANG, DUONG NGUYEN XUAN LAM, NGUYEN DO LAM DIEN, TRINH TUY AN, VU THANH THAO, TRAN THI THU TRANG. The botanical characteristics and DNA barcode of *Ipomoea obscura* (l.) Ker Gawl. (Convolvulaceae) — 29-37
- BUI THI XUAN, NGUYEN VAN TAM, TRAN THI LAN, NGUYEN QUANG TIN. Effect of cultural practices on growth, yield and quality of black musli (*Curculigo orchioides* Gaertn.) in Tam Dao, Vinh Phuc — 38-46
- NGUYEN VAN CHINH, PHAM TRUNG HIEU, TRAN THI HONG, VO THI KIM TRAM. Assessment of the resistance to disease anthracnose of grape varieties in Ninh Thuan — 47-54
- LUU VAN PHUONG, LE THANH TOAN. Efficiency of *Trichoderma* sp. and *Penicillium* sp. to prevent anthracnose caused by *Colletotrichum* sp. on capsicum — 55-62
- NGUYEN VAN THANH, LE VAN BINH, NGUYEN MANH HA, NGUYEN VAN VIET, NGUYEN THI MINH HANG, DAO NGOC QUANG, NGUYEN MINH CHI. Sucking insects - the transmission vector of witches'- broom disease in *Cinnamomum cassia* in South - Central Vietnam — 63-69
- NGUYEN THANH MANH, NGUYEN THI TU ANH, NGUYEN THI HANH, TRUONG XUAN LAM, HA NGOC LINH, PHAM HUY PHONG, NGUYEN QUANG CUONG. Nutritional value of greater wax moth larvae *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae) — 70-75
- TRUONG THI MONG THU, TRAN THANH TRUC, LE THI MINH THUY. Extraction of acid-soluble collagen from snakehead fish (C*hanna striata*) skin and scales mixture — 76-84
- VU TIEN THINH, NGUYEN BA THACH, NGUYEN CHI THANH, DO NGOC DUONG, PHAN VIET DAI, HOANG VAN HUY, NGUYEN THI HOA, NGUYEN HUU VAN, GIANG TRONG TOAN. Status and solutions to conserve rare and endangered galliformes species in Pu Hu Nature Reserve — 85-93
- LE HOANG VIET, NGUYEN CONG THUAN, NGUYEN VAN DUNG, NGUYEN VO CHAU NGAN. Studying on operational parameters of cold plasma to treat groundwater for domestic use in rural area — 94-100
- DINH XUAN TRONG. Research on the effects of uniformity coefficient on the suffusion sensibility of sand foundation of the under-dike culverts in the Red river delta — 101-107
- NGUYEN VAN CONG, BUI THI CHUYEN, NGUYEN CONG THUAN. Study on the use of water lettuce (*Pistia stratiotes* L.) on biogas-wastewater treatment — 108-114
- BUI THI THU TRANG, NGUYEN THI HONG HANH, HOANG THI HUE, NGUYEN THI HOAI THUONG, MAI VAN TRINH, HO THUY QUYNH. Current status, classification, collection, transfer of hazardous and recycled solid waste of household in dong anh district, Ha Noi city — 115-124

NGHIÊN CỨU, ỨNG DỤNG KỸ THUẬT CHIẾU XẠ GAMMA, NGUỒN Co-60 CÓ HOẠT ĐỘ 236 Ci, TRONG TẠO NGUỒN VẬT LIỆU KHỞI ĐẦU CHO CHỌN TẠO GIỐNG LÚA

Đoàn Văn Sơn[1], Hoàng Minh Trang[1],
Nguyễn Thị Hảo[1], Nguyễn Thị Huê[1], Võ Thị Minh Tuyển[1,*]

TÓM TẮT

Gây đột biến là một trong những phương pháp thực nghiệm được áp dụng rộng rãi trên thế giới. Chọn giống đột biến đã góp phần đáng kể vào sản xuất lương thực tại Việt Nam. Trong nghiên cứu này, hạt khô và hạt ướt của giống lúa ST20 và VTNA6 được xử lý chiếu xạ bằng tia gamma (*Co-60*) có hoạt độ 236 Ci ở các liều chiếu xạ: 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450 và 500 Gy. Kết quả nghiên cứu cho thấy, liều chiếu xạ 300 và 350 Gy với hạt khô; 200 và 250 Gy với hạt ướt cho tần số biến dị cao, với nhiều biến dị có ý nghĩa trong chọn giống hơn so với các liều chiếu xạ khác. Đã chọn được 68 dòng đột biến ở thế hệ M5 có một số đặc điểm nông sinh học được cải tiến so với giống gốc. Trong đó có 10 dòng có thời gian sinh trưởng ngắn hơn, 9 dòng được cải tiến về chiều cao cây, 7 dòng có kiểu đẻ nhánh chụm, 9 dòng chống đổ tốt hơn giống gốc, 15 dòng được cải tiến về chiều dài hoặc chiều rộng lá đòng, 8 dòng có hạt xếp xít trên bông và 11 dòng được cải tiến về năng suất so với giống ban đầu.

Từ khóa: *Tia gamma (Co-60), liều chiếu xạ, đột biến, giống lúa, cải tiến.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Gây đột biến là một trong những phương pháp thực nghiệm được áp dụng rộng rãi trên thế giới. Chọn giống đột biến đã góp phần đáng kể vào sản xuất lương thực tại Việt Nam.

Ở Việt Nam, ứng dụng chiếu xạ chùm tia gamma trong chọn tạo giống lúa đã được nghiên cứu từ những năm 1968. Tuy nhiên, các nhà chọn giống thường sử dụng nguồn chiếu y tế từ các bệnh viện như: bệnh viện K, 198, 103..., hoặc các nguồn chiếu xạ công nghiệp được thiết kế để dùng trong bảo quản, khử trùng các sản phẩm nông nghiệp như tại Trung tâm Chiếu xạ Hà Nội, Trung tâm Ứng dụng Hạt nhân trong công nghiệp tại Đà Lạt (Lâm Đồng)...

Hiện nay, Viện Di truyền Nông nghiệp được trang bị máy chiếu xạ mới, được thiết kế để chiếu xạ, phục vụ cho mục tiêu chọn tạo và cải tiến giống cây trồng nông nghiệp. Đây là thiết bị chuyên dụng (dạng gamma cell) đầu tiên mà Viện Năng lượng Nguyên tử Việt Nam chuyển giao cho ngành nông nghiệp, góp phần thúc đẩy việc ứng dụng kỹ thuật hạt nhân trong các ngành kinh tế - xã hội ở Việt Nam. Tuy nhiên, việc sử dụng thiết bị mới với liều lượng, thời gian như thế nào để cho hiệu quả cao trong chọn giống lúa vẫn chưa được nghiên cứu cụ thể và bài bản. Do vậy *"Nghiên cứu, ứng dụng kỹ thuật chiếu xạ tia gamma, với nguồn Co-60 có hoạt độ 236 Ci, trong tạo nguồn vật liệu khởi đầu cho chọn tạo giống lúa"* là một trong những hướng nghiên cứu cần thiết.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

- Giống lúa VTNA6 được Viện Khoa học Kỹ thuật Nông nghiệp duyên hải Nam Trung bộ chọn tạo. Giống lúa VTNA6 là giống lúa thuần ngắn ngày, năng suất trung bình 65- 70 tạ/ha, chất lượng cơm mềm dẻo, hạt gạo trong. Giống lúa VTNA6 có nhược điểm: rất dễ đổ, hạt thóc không căng mẩy và bộ lá to, dài dễ bị nhiễm bệnh khô vằn và bạc lá.

- Giống lúa ST20 là giống lúa thuần, chất lượng do kỹ sư Hồ Quang Cua cùng các cộng sự chọn tạo. Giống lúa ST20 có thời gian sinh trưởng khoảng 135 - 140 ngày trong vụ xuân, đẻ nhánh khỏe, bộ lá nhỏ. Hạt gạo dài hơn 7 mm, trắng, trong, không bạc bụng, cơm thơm dẻo. Nhược điểm của giống ST20 là kiểu đẻ nhánh xòe, năng suất thấp, hạt trên bông xếp thưa, thời gian sinh trưởng dài ngày, cây mềm yếu.

[1] Viện Di truyền Nông nghiệp
[*]Email: minhtuyenagi@gmail.com

Chiếu xạ, gây đột biến trên 2 giống lúa trên với mục tiêu là cải tiến một số nhược điểm của chúng.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

- Xử lý chiếu xạ bằng tia gamma (Co-60) có hoạt độ 236 Ci.

- Liều lượng chiếu xạ: 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450 và 500 Gy.

- Dạng vật liệu: hạt khô và hạt ướt (hạt ngâm nước bão hòa trong 66 giờ), mỗi mẫu chiếu xử lý 1000 hạt và mẫu đối chứng không xử lý.

- Bố trí thí nghiệm: theo phương pháp tuần tự không lặp lại, có đối chứng xen kẽ.

- Phương pháp chọn lọc: theo phương pháp chọn lọc phả hệ.

- Các chỉ tiêu nghiên cứu theo IRRI (2013) [1].

- Xử lý số liệu: số liệu được xử lý trên phần mềm Excel 2007.

2.3. Thời gian và địa điểm nghiên cứu

- Thời gian nghiên cứu: từ tháng 01/2020 đến tháng 12/2022.

- Địa điểm thí nghiệm: Viện Di truyền Nông nghiệp và ruộng thí nghiệm tại xã Xuân Canh, huyện Đông Anh, thành phố Hà Nội.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Ảnh hưởng của liều lượng chiếu xạ đến sinh trưởng và phát triển của giống lúa thí nghiệm ở thế hệ M1

3.1.1. Ảnh hưởng của liều lượng chiếu xạ đến tỷ lệ nảy mầm của hạt giống ở thế hệ thứ nhất (M1)

Kết quả nghiên cứu cho thấy, liều lượng chiếu xạ có ảnh hưởng đáng kể đến tỷ lệ nảy mầm của hạt, liều xạ càng cao thì tỷ lệ nảy mầm càng thấp và ngược lại. Mức độ giảm tỷ lệ nảy mầm sau chiếu xạ tùy thuộc vào giống lúa và trạng thái của hạt khi chiếu xạ. Với cùng liều lượng, chiếu xạ hạt ướt cho tỷ lệ nảy mầm thấp hơn so với hạt khô, giống lúa ST20 cho tỷ lệ nảy mầm thấp hơn so với VTNA6. Điều này chứng tỏ hạt ướt mẫn cảm hơn so với hạt khô kết quả này phù hợp với nghiên cứu của Đỗ Hữu Ất (1995) [2], Đào Xuân Tân (1997) [3], giống ST20 mẫn cảm hơn so với VTNA6. Cụ thể, với liều xạ cao 400, 450 và 500 Gy khi chiếu vào hạt ướt của 2 giống ST20 và VTNA6 đều không thu được hạt nảy mầm. Với hạt khô, liều 400 Gy cho tỷ lệ sống sót thấp (5,7% với ST20 và 15,3% với VTNA6), liều 450 Gy chỉ thu được 1,3% hạt nảy mầm với giống VTNA6 còn ST20 không thu được hạt nảy mầm, liều 500 Gy toàn bộ hạt đem chiếu xạ đều không nảy mầm (chết) ở cả 2 giống lúa nghiên cứu.

Bảng 1. Ảnh hưởng của liều lượng chiếu xạ đến tỷ lệ nảy mầm ở dạng hạt khô và hạt ướt của giống lúa VTNA6 và ST20 ở thế hệ M1

Liều lượng chiếu xạ (Gy)		Tỷ lệ nảy mầm (%)								
		Đc (0)	150	200	250	300	350	400	450	500
Hạt khô	VTNA6	97,6	87,3	83,7	78,3	54,7	44,7	15,3	1,3	-
	ST20	97,1	83,3	75,3	67,7	41,3	38,1	5,7	-	-
Hạt ướt	VTNA6	96,7	73,3	57,7	45,3	18,6	3,3	-	-	-
	ST20	96,0	66,3	53,0	40,3	11,7	1,7	-	-	-

3.1.2. Ảnh hưởng của liều lượng chiếu xạ đến tỷ lệ sống sót ở thế hệ thứ nhất (M1)

Liều lượng chiếu xạ ảnh hưởng tới tỷ lệ sống sót của các giống lúa nghiên cứu được thể hiện ở bảng 2. Với các giống đối chứng (không chiếu xạ) tỷ lệ sống sót ở giai đoạn mạ, đẻ nhánh và trỗ chín khá cao, tương tự nhau và tương tự so với tỷ lệ nảy mầm. Ngược lại, ở tất cả các lô chiếu xạ đều có sự giảm rõ rệt tỷ lệ sống sót ở giai đoạn mạ so với tỷ lệ nảy mầm, tỷ lệ sống sót tiếp tục giảm ở các lô chiếu xạ tới giai đoạn đẻ nhánh và trỗ - chín. Điều này chứng tỏ tác dụng kéo dài của phóng xạ gamma tới sức sống của cá thể. Theo đó, tia gamma không chỉ có tác động gây chết tức thời đối với hạt lúa chiếu xạ mà hiệu quả gây chết còn kéo dài đến giai đoạn mạ, đẻ nhánh và trỗ - chín. Kết quả này phù hợp với nghiên cứu của Ramchadner S. và cs (2015) [4]

Bảng 2. Ảnh hưởng của liều lượng chiếu xạ đến tỷ lệ sống sót ở liều lượng chiếu xạ của giống lúa VTNA6 và ST20 ở thế hệ M1

Dạng hạt	Giai đoạn	Liều lượng chiếu xạ (Gy)	Tỷ lệ sống sót (%)								
			Đc (0)	150	200	250	300	350	400	450	500
Hạt khô	Mạ	VTNA6	95,1	79,3	71,7	65,3	47,7	31,7	8,4	0,5	-
		ST20	94,3	71,3	62,3	53,7	36,3	21,1	1,6	-	-
	Đẻ nhánh	VTNA6	94,3	77,4	69,8	63,6	41,5	25,6	5,2	-	-
		ST20	94,1	69,2	57,5	51,7	30,1	8,7	0,8	-	-
	Trỗ - chín	VTNA6	94,1	72,3	63,3	54,4	35,1	19,3	4,8		
		ST20	94,0	68,7	56,0	50,7	27,4	6,1	0,3		
Hạt ướt	Mạ	VTNA6	96,4	66,9	53,3	41,7	16,4	1,6	-	-	-
		ST20	96,0	60,2	49,7	35,1	9,8	0,8	-	-	-
	Đẻ nhánh	VTNA6	96,2	64,6	51,7	38,3	15,8	1,2			
		ST20	95,8	58,4	48,7	33,2	8,7	0,3			
	Trỗ - chín	VTNA6	95,3	60,0	48,5	34,7	11,7	1,1			
		ST20	95,6	56,0	42,6	29,2	5,2	0,2			

3.1.2. Ảnh hưởng của liều lượng chiếu xạ đến phát sinh các biến dị ở thế hệ thứ 2

Ở thế hệ thứ 2 (M2), đã thu nhận được nhiều thể biến dị thuộc 8 loại biến dị, xuất hiện rải rác ở các liều chiếu xạ khác nhau (Bảng 3). Ở thế hệ này, đối với chiếu xạ hạt khô ở công thức chiếu xạ liều 200 Gy và đối chứng không thu được biến dị, tần số biến dị tăng khi tăng liều lượng chiếu xạ từ 250 lên 350 Gy đối với hạt khô; với hạt ướt tần số biến dị tăng từ 150 lên 250 Gy sau đó giảm dần, dao động từ 0,8 - 5,6%. Các liều lượng có phổ biến dị rộng là 300 Gy (7/8 dạng), 350 Gy (7/8 dạng) đối với hạt khô và 200 Gy (7/8 dạng), 250 Gy (6/8 dạng) đối với hạt ướt.

Bảng 3. Ảnh hưởng của chiếu xạ đến tần số biến dị ở thế hệ M2 của giống lúa thí nghiệm

Đơn vị tính: %

TT	Dạng biến dị	Tên dòng	Đ/c	Liều lượng chiếu xạ (Gy)						
				Dạng hạt khô				Dạng hạt ướt		
				200	250	300	350	150	200	250
1	Chín sớm	VTNA6	-	-	-	0,41	0,41	-	0,42	0,31
		ST20	-	-	-	0,62	0,31	-	0,31	0,51
2	Chín muộn	VTNA6	-	-	0,20	-	0,41	0,21	-	-
		ST20	-	-	0,31	-	0,31	0,31	-	-
3	Cao cây	VTNA6	-	-	-	0,21	-	-	0,31	0,41
		ST20	-	-	-	0,61	-	-	0,62	0,51
4	Thấp cây	VTNA6	-	-	0,10	0,41	0,41	-	0,31	-
		ST20	-	-	0,41	0,52	0,31	-	0,21	-
5	Màu sắc hạt	VTNA6	-	-	-	0,21	0,31	-	0,52	0,2
		ST20	-	-	0,31	0,41	0,31	-	0,31	0,41
6	Dạng hạt	VTNA6	-	-	-	0,41	0,31	0,30	0,21	0,20
		ST20	-	-	0,20	0,52	0,51	-	0,31	0,20
7	Tăng số nhánh hữu hiệu	VTNA6	-	-	0,31	0,31	0,31	-	0,41	0,31
		ST20	-	-	0,10	0,52	0,41	-	0,62	0,41
8	Tăng số hạt/bông	VTNA6	-	-	-	0,20	0,31	-	0,42	0,31
		ST20	-	-	-	0,41	0,41	-	0,62	0,61
Tổng cộng			-	-	1,94	5,77	5,04	0,82	5,6	4,39

Quan sát, đánh giá trên đồng ruộng đã chọn lọc được 105 thể biến dị có ý nghĩa trong chọn tạo giống lúa mới như: chín sớm, thấp cây, tăng số nhánh hữu hiệu và tăng năng suất, các biến dị này tập trung chủ yếu ở các liều lượng chiếu xạ 300 và 350 Gy đối với hạt khô; 200 và 250 Gy đối với hạt ướt.

Với hạt khô, ở liều xạ 300 Gy thu được 26 thể biến dị, liều xạ 350 Gy thu được 22 thể biến dị. Với hạt ướt, liều xạ 200 Gy thu được 32 thể biến dị, liều xạ 250 Gy thu được 21 thể biến dị (Bảng 4).

Như vậy, qua đánh giá tỷ lệ nảy mầm, tỷ lệ sống sót qua các giai đoạn phát triển ở thế hệ M1 và tần số biến dị xuất hiện ở thế hệ M2 cho thấy, khi chiếu xạ bằng máy chiếu tại Viện Di truyền Nông nghiệp, nguồn Co-60 có hoạt độ 236 Ci thì chiếu xạ liều 300 và 350 Gy đối với hạt khô, liều 200 và 250 Gy với hạt ướt cho hiệu quả phát sinh biến dị cao với nhiều biến dị có ý nghĩa trong chọn giống hơn so với các liều chiếu xạ khác.

Các dòng biến dị được chọn về cơ bản có các đặc điểm hình thái, nông học tương tự so với giống gốc, chỉ khác biệt ở một hay một số đặc tính có biến dị. Điều này cho thấy, chiếu xạ tia gamma đã làm phát sinh (biến đổi) ở một hay một số đặc tính mà không làm thay đổi các đặc tính khác. Kết quả này phù hợp với nghiên cứu của Shua Q. Y và cs (2012) [5].

Bảng 4. Số lượng cá thể ưu tú mang những biến dị có lợi ở thế hệ M2

Đơn vị tính: cá thể

STT	Dạng biến dị	Tên dòng	Đ/c	Liều lượng chiếu xạ (Gy)							Tổng cộng
				Dạng hạt khô				Dạng hạt ướt			
				200	250	300	350	150	200	250	
1	Chín sớm	VTNA6	-	-	-	3	2	-	3	3	11
		ST20	-	-	1	4	3	-	4	4	16
2	Cao cây	VTNA6	-	-	-	3	2	-	3	2	10
		ST20	-	-	1	2	3	-	2	1	9
3	Thấp cây	VTNA6	-	-	-	2	-	-	3	1	6
		ST20	-	-	-	2	3	2	2	-	9
4	Kiểu đẻ nhánh	VTNA6	-	-	-	4	3	-	3	2	12
		ST20	-	-	-	2	2	-	4	3	11
5	Số hạt/bông	VTNA6	-	-	-	1	2	-	3	2	8
		ST20	-	-	-	3	2	-	4	3	12
Tổng cộng			-	-	2	26	22	2	32	21	105

3.2. Kết quả đánh giá, chọn lọc các đột biến ở M3

Ở thế hệ thứ 3, nhiều thể biến dị xuất hiện ở thế hệ M2 nhưng ở thế hệ M3 lại có biểu hiện tương tự so với giống gốc, đây là hiện tượng biến dị đột biến giả hay thường biến phóng xạ (hiện tượng biến đổi kiểu hình do ảnh hưởng của phóng xạ mà không biến đổi kiểu gen), hầu hết các biến dị còn lại có sự di truyền từ thế hệ M2 sang thế hệ M3. Các biến dị mà di truyền được thì được gọi là đột biến [6]. Kết quả này phù hợp với nghiên cứu của hầu hết các nhà khoa học nghiên cứu về đột biến khi cho rằng đột biến có thể di truyền được cho thế hệ sau [6]. Qua đánh giá sàng lọc, ở thế hệ M3, một số các đột biến mới về lá đòng, cách xếp hạt/bông, độ cứng cây đã được đánh giá trên đồng ruộng. 95 cá thể đột biến có ý nghĩa trong chọn giống thuộc 8 kiểu biến dị khác nhau (thời gian sinh trưởng, chiều cao cây, kiểu đẻ nhánh chụm, độ cứng cây, chiều dài và chiều rộng lá đòng) (Bảng 5) đã được chọn. Trong đó, các đột biến chủ yếu xuất hiện ở các liều chiếu xạ 200 và 250 Gy với hạt hạt ướt; 300 và 350 Gy với hạt khô.

Bảng 5. Số lượng cá thể mang các đột biến có lợi cho chọn giống ở thế hệ M3

Đơn vị tính: cá thể

STT	Dạng biến dị	Tên dòng	Đ/c	Liều lượng chiếu xạ (Gy)							Tổng cộng
				Dạng hạt khô				Dạng hạt ướt			
				200	250	300	350	150	200	250	
1	Thời gian sinh trưởng	VTNA6	-	-	-	3	1	-	3	4	11
		ST20	-	-	-	2	2	-	3	3	10
2	Chiều cao cây	VTNA6	-	-	-	-	1	-	2	-	3
		ST20	-	-	-	1	-	-	3	2	6
3	Kiểu đẻ nhánh	VTNA6	-	-	-	-	-	-	-	-	0
		ST20	-	-	1	2	2	-	3	2	10
4	Độ cứng cây	VTNA6	-	-	2	5	2	2	3	2	16
		ST20	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5	Chiều dài lá đòng	VTNA6	-	-	1	-	1	-	2	-	4
		ST20	-	-	-	2	-	-	1	-	3
6	Chiều rộng lá đòng	VTNA6	-	-	-	1	-	-	2	1	4
		ST20	-	-	-	1	-	1	1	-	3
7	Cách sắp xếp hạt trên bông	VTNA6	-	-	-	-	-	-	-	-	0
		ST20	-	-	-	4	3	-	4	3	14
8	Số hat/bông	VTNA6	-	-	-	-	2	-	-	3	5
		ST20	-	-	-	3	1	-	2	-	6
Tổng cộng			-	-	4	24	15	3	29	20	95

3.3. Kết quả đánh giá, chọn lọc các dòng lúa đột biến ở thế hệ M4

Ở thế hệ M4, đã chọn được 82 dòng đột biến mang ít nhất một đặc tính tốt, có ý nghĩa cải tiến giống gốc. Trong đó, 15 dòng cải tiến về thời gian sinh trưởng ngắn hơn so với giống gốc, 9 dòng về chiều cao cây, 11 dòng về kiểu đẻ nhánh chụm hơn so với giống đối chứng (ST20), 12 dòng có độ cứng cây tốt hơn so với giống (VTNA6), 7 dòng về chiều dài lá đòng ngắn hơn so với giống đối chứng, 8 dòng về chiều rộng lá đòng nhỏ hơn so với giống đối chứng, 10 dòng về cách xếp hạt trên bông xít hơn so với giống đối chứng (ST20) và 10 dòng cải tiến về năng suất lúa. Các dòng này chủ yếu chọn từ liều xạ 200 và 250 Gy với chiếu xạ hạt ướt, 300 và 350 Gy với chiếu xạ hạt khô, liều xạ 150 Gy với hạt ướt chỉ thu được 4 dòng, liều xạ 250 với hạt khô chỉ thu được 2 dòng (Bảng 6).

Bảng 6. Kết quả chọn lọc các dòng đột biến có ý nghĩa chọn giống ở thế hệ M4

Đơn vị tính: cá thể

STT	Các tính trạng đột biến có lợi	Tên dòng	Đ/c	Liều lượng chiếu xạ (Gy)							Tổng cộng
				Dạng hạt khô				Dạng hạt ướt			
				200	250	300	350	150	200	250	
1	Thời gian sinh trưởng	VTNA6	-	-	-	1	1	-	3	-	5
		ST20	-	-	-	2	2	-	3	3	10
2	Chiều cao cây	VTNA6	-	-	-	-	1	-	2	-	3
		ST20	-	-	-	1	-	-	3	2	6
3	Kiểu đẻ nhánh	VTNA6	-	-	-	-	-	-	-	-	0
		ST20	-	-	1	3	2	-	3	2	11
4	Độ cứng cây	VTNA6	-	-	-	4	2	2	3	1	12
		ST20	-	-	-	-	-	-	-	-	0
5	Chiều dài lá đòng	VTNA6	-	-	1	-	1	-	2	-	4
		ST20	-	-	-	2	-	-	1	-	3
6	Chiều rộng lá đòng	VTNA6	-	-	-	1	-	-	2	1	4
		ST20	-	-	-	1	-	2	1	-	4
7	Cách sắp xếp hạt trên bông	VTNA6	-	-	-	-	-	-	-	-	0
		ST20	-	-	-	3	2	-	3	2	10
8	Số hạt/bông	VTNA6	-	-	-	2	-	-	3	-	5
		ST20	-	-	-	2	1	-	2	-	5
Tổng cộng			-	-	2	22	12	4	31	11	82

3.4. Kết quả đánh giá, chọn lọc các dòng lúa đột biến ở thế hệ M5

Qua đánh giá và sàng lọc ở thế hệ M5 đã chọn được 68 dòng đột biến có ý nghĩa trong chọn giống. Ở thế hệ này, các dòng đột biến đã đồng đều về chiều cao cây và các đặc điểm nông, sinh học khác so với thế hệ M4. Chứng tỏ các dòng đột biến đã dần ổn định. Trong 68 dòng đột biến có 57 dòng có thời gian sinh trưởng tương tự so với các giống gốc, chỉ có 11 dòng có thời gian sinh trưởng ngắn hơn so với giống gốc (4 dòng từ VTNA6, 7 dòng từ ST20); 9 dòng có cây thấp hơn giống gốc (2 dòng từ VTNA6, 7 dòng từ ST20); 7 dòng có kiểu đẻ nhánh gọn hơn so với giống gốc (từ giống ST20); 8 dòng có cây cứng hơn giống gốc (từ giống VTNA6); 15 dòng cải tiến về chiều dài hoặc chiều rộng lá đòng; 8 dòng có hạt xếp xít trên bông (từ ST20) và 8 dòng cải tiến về năng suất lúa gạo (4 dòng từ VTNA6, 4 dòng từ ST20).

Bảng 7. Kết quả chọn lọc các dòng đột biến có ý nghĩa trong chọn giống ở thế hệ M5

Đơn vị tính: cá thể

STT	Các tính trạng đột biến có lợi	Tên dòng	Đ/c	Liều lượng chiếu xạ (Gy)							Tổng cộng
				Dạng hạt khô				Dạng hạt ướt			
				200	250	300	350	150	200	250	
1	Thời gian sinh	VTNA6	-	-	-	1	1	-	2	-	4

	trưởng	ST20	-	-	-	2	1	-	3	1	7
2	Chiều cao cây	VTNA6	-	-	-	-	1	-	1	-	2
		ST20	-	-	-	2	1	-	2	2	7
3	Kiểu đẻ nhánh	VTNA6	-	-	-	-	-	-	-	-	0
		ST20	-	-	1	2	1	-	2	1	7
4	Độ cứng cây	VTNA6	-	-	-	3	2	-	2	2	9
		ST20	-	-	-	-	-	-	-	-	0
5	Chiều dài lá đòng	VTNA6	-	-	1	2	1	-	2	-	5
		ST20	-	-	-	2	-	-	-	1	3
6	Chiều rộng lá đòng	VTNA6	-	-	-	1	-	-	2	-	4
		ST20	-	-	-	1	-	-	2	1	4
7	Cách sắp xếp hạt trên bông	VTNA6	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		ST20	-	-	-	2	1	-	3	2	8
8	Năng suất	VTNA6	-	-	-	2	-	-	2	-	4
		ST20	-	-	-	1	1	-	2	-	4
Tổng cộng			-	-	2	21	10	0	25	10	68

Trong 68 dòng đột biến được chọn có 33 dòng đột biến được chọn từ chiếu xạ dạng hạt khô. Trong đó có 22 dòng được chọn từ liều chiếu xạ 300 Gy, 9 dòng từ liều xạ 350 Gy, 2 dòng từ liều xạ 250 Gy. 35 dòng phát sinh từ chiếu xạ dạng hạt ướt. Trong đó có 24 dòng đột biến được chọn từ liều chiếu xạ 200 Gy, 10 dòng từ liều chiếu xạ 250 Gy. Các liều còn lại không thu được dòng đột biến nào có ý nghĩa trong chọn giống.

4. KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

4.1. Kết luận

Liều chiếu xạ cho tần số biến dị cao và xuất hiện nhiều đột biến có lợi cho chọn giống là liều chiếu 300 và 350 Gy đối với hạt khô và liều chiếu 200 và 250 Gy đối với hạt ướt (ngâm ủ đến thời điểm 66 giờ)

Đã chọn được 95 cá thể đột biến ở thế hệ M3 và 82 dòng đột biến ở thế hệ M4. Ở thế hệ M5 chọn lọc được 68 dòng đột biến mang một số tính trạng đột biến có lợi trong chọn giống. Trong đó 33 dòng đột biến được chọn từ chiếu xạ dạng hạt khô; 22 dòng được chọn từ liều chiếu xạ 300 Gy, 9 dòng từ liều xạ 350 Gy, 2 dòng từ liều xạ 250 Gy. 35 dòng phát sinh từ chiếu xạ dạng hạt ướt, trong đó có 24 dòng đột biến được chọn từ liều chiếu xạ 200 Gy, 10 dòng từ liều chiếu xạ 250 Gy.

4.2. Đề nghị

Cần tiếp tục nghiên cứu lặp lại các liều chiếu và ở các giống lúa khác nhau trên máy chiếu xạ bằng tia gamma nguồn Co-60 có hoạt độ 236 Ci tại Viện Di truyền Nông nghiệp để có kết luận chính xác và khách quan hơn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. IRRI (2013). Standard evaluation system for rice. (IRRI - Manila Philippines).

2. Đỗ Hữu Ất (1997). Nghiên cứu hiệu quả gây đột biến của tia Gamma (Co-60) ở các thời điểm khác nhau của chu kì gián phân đầu tiên trên hạt lúa nảy mầm của một số giống lúa đặc sản Việt Nam. Luận án Phó tiến sĩ Sinh học, Trường Đại học Sư phạm Hà Nội.

3. Đào Xuân Tân (1995). Sự phát sinh và di truyền một số đột biến trên lúa nếp do xử lý tia gamma (Co-60) vào hạt nảy mầm. Luận án Phó tiến sĩ Sinh học, Trường Đại học Sư phạm Hà Nội.

4. Ramchadner S., Ushakumari R ADN Arumugam M (2015). PillaiLethal dose fixation ADN sensitivity of rice varieties to gamma radiation. *Indian J. Agric. Res.*, 49 (1) 2015.

5. Shua Q. Y., Forster B. P and Nakagawa H (2012). Principles and Applications of Plant Mutation Breeding in Plant Mutation Breeding and BiotechnoloGy, pp.301-325.

6. Trần Duy Quý (1999). *Các phương pháp chọn tạo giống cây trồng*. Nhà xuất bản Nông nghiệp

RESEARCH AND APPLICATION OF 60Co GAMMA IRRADIATION WITH THE SOURCE ACTIVE AT 236 Ci TO CREATE INITIAL MATERIALS FOR RICE BREEDING

Doan Van Son[1], Hoang Minh Trang[1],
Nguyen Thi Hao[1], Nguyen Thi Hue[1], Vo Thi Minh Tuyen[1]
[1]Agriculture Genestic Institute

Summary

Mutagenesis, one of the experimental methods, has been widely applied plant breeding in the world. Mutation breeding has been significantly contributed to Vietnam's food production. In this study, dry and wet seeds of two rice varieties, ST20 and VTNA6, were irradiated by Cobalt-60 gamma rays with the source active at 236 Ci at the doses of 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450 and 500 Gy. The results showed that there was higher variation frequency and more significant variations at the doses of 300 Gy and 350 Gy irridiated on dry seeds, 200 Gy and 250 Gy irridiated on on wet seeds compared to the other irradiation doses. In M5 generation, 68 mutant lines with some improved agro-biological characteristics compared to the original varieties have been selected. In particularly, there have been 10 lines with shorter growth duration, 9 lines with improved stem length, 7 lines with culm erect, 9 lines with higher lodging, 15 lines with the improved length or width of the flag leaf, 8 lines with seeds lined up closely on the panical and 11 lines with higher yield.

Keywords: *Cobalt-60 gamma rays, irradiation dose, mutation, rice variety, improve.*

Người phản biện: GS.TSKH. Trần Duy Quý
Ngày nhận bài: 18/10/2022
Ngày thông qua phản biện: 4/11/2022
Ngày duyệt đăng: 11/11/2022

NHÂN GIỐNG LOÀI LAN KIM TUYẾN (*Anoectochilus setaceus* Blume) CẦN BẢO TỒN TẠI THÁI NGUYÊN BẰNG CÔNG NGHỆ *IN VITRO*

Trần Thị Thu Hà [1,*], Dương Thị Nhung[1], Cao Thị Mai Phương[1]

TÓM TẮT

Nguồn gen lan Kim tuyến (*Anoectochilus setaceus* Blume) thu thập từ rừng tự nhiên thuộc xã Quân Chu (Thái Nguyên) được tiến hành thử nghiệm nhân giống bằng phương pháp *in vitro*. Kết quả thí nghiệm vào mẫu từ đoạn thân khí sinh khử trùng bằng dung dịch 0,1% $HgCl_2$ trong thời gian 3 phút kết hợp 7 phút Javen 15%, ngâm 30 phút trong Cefotaxim 10% và nuôi cấy trên môi trường nuôi cấy khởi đầu MS cho tỷ lệ mẫu sạch bật chồi 83,33% sau 4 tuần. Hệ số nhân chồi trung bình đạt 9,8 lần sau 4 tuần nuôi cấy trên môi trường MS bổ sung 1,5 mg/LBAP, 100 ml/L nước dừa, 70 g/L dịch chiết chuối và 30 g/L sucrose. Tỷ lệ chồi ra rễ tạo cây hoàn chỉnh đạt 93,33% và trung bình 3,35 rễ/chồi sau 4 tuần nuôi cấy trên môi trường 1/2MS bổ sung 1,5 mg/L NAA, 20 g/L sucrose và 0,5 g/L than hoạt tính. Cây mầm mô được nuôi trồng ở nhà kính với công thức giá thể: Xơ dừa + trấu hun + đá perlite (7 : 2 : 1) có tỷ lệ sống rất cao chiếm 97%. Kết quả mở ra triển vọng bảo tồn và phát triển loài này ở Thái Nguyên.

Từ khoá: *Lan Kim tuyến, in vitro, nhân giống.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Lan Kim tuyến (*Anoectochilus setaceus* Blume) là cây dược liệu, có thành phần hóa học đa dạng bao gồm các chất như: quercetin, isoharmnetin - 3 - O - beta - D - glucopyranosid, kaempferol - 3 - O betaDglucopyranosi, 5 - hydroxy - 3’ - 4’ - 7’ - trimethoxyflavonol - 3 - O - beta - D - rutinosid và isorhamnetin - 3 - O - beta - D - rutinosid,.. [1]. Lan Kim tuyến nói chung là một loại thảo dược có giá trị, hỗ trợ điều trị các bệnh, như: Ung thư, tăng huyết áp, dạ dày, lao phổi,... [2]. Trong tự nhiên, khả năng tái sinh chồi của lan Kim tuyến từ thân, rễ và từ hạt kém, cây sinh trưởng rất chậm. Loài này đang bị đe doạ nghiêm trọng, rất có thể sẽ bị tuyệt chủng ngoài tự nhiên và đang được xếp trong nhóm IA của Nghị định 84/2021/NĐ - CP [3] và nhóm thực vật đang nguy cấp EN A1a, c, d. trong Sách Đỏ Việt Nam, cần bảo tồn các quần thể nhỏ còn sót lại cũng như cần nghiên cứu nhân giống để bảo tồn nguồn gen [4].

Loài lan Kim tuyến được tìm thấy ở khu vực núi Tam Đảo, thuộc xã Quân Chu, huyện Đại Từ, tỉnh Thái Nguyên với số cá thể còn lại rất ít. Vì vậy, nghiên cứu nhân giống bằng phương pháp nuôi cấy mô là rất cần thiết nhằm phục vụ cho chương trình bảo tồn và phát triển loài cây này của tỉnh Thái Nguyên nói riêng và khu vực nói chung.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu

Đoạn thân loài lan Kim tuyến mọc ở rừng tự nhiên xã Quân Chu (thuộc khu vực núi Tam Đảo, thuộc xã Quân Chu, huyện Đại Từ, tỉnh Thái Nguyên) được thu thập về phòng thí nghiệm của Viện Lâm nghiệp và Phát triển bền vững - Trường Đại học Nông lâm, Đại học Thái Nguyên.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Có 45 công thức thí nghiệm (CTTN) được bố trí trong việc hoàn thiện quy trình nhân giống *in vitro* loài lan Kim tuyến tại Phòng thí nghiệm Công nghệ sinh học (Bảng 1), gồm:

Thí nghiệm 1 (CT1 - CT8): Nghiên cứu chất khử trùng và thời gian khử trùng tạo nguồn mẫu *in vitro.* Chỉ tiêu theo dõi: Số mẫu sạch, tỷ lệ mẫu sạch, số mẫu mẫu sạch bật chồi, tỷ lệ mẫu bật chồi. Thời gian theo dõi 2 tuần.

Thí nghiệm 2 (CT9 - CT13): Nghiên cứu ảnh hưởng của chất điều hòa sinh trưởng BAP đến khả năng nhân nhanh chồi. Chỉ tiêu theo dõi sau 4 tuần nuôi cấy: Tổng số chồi mới, hệ số nhân chồi trung bình.

[1]Viện Lâm nghiệp và Phát triển bền vững - Trường Đại học Nông Lâm Thái Nguyên, Đại học Thái Nguyên
*Email: tranthithuhaptln@tuaf.edu.vn

Thí nghiệm 3 (CT14 - CT29): Nghiên cứu ảnh hưởng của dịch chiết chuối và nước dừa đến khả năng nhân nhanh, kích thích tăng trưởng chồi. Chỉ tiêu theo dõi: Tổng số chồi mới, hệ số nhân chồi trung bình, chất lượng chồi. Thời gian theo dõi 4 tuần.

Thí nghiệm 4 (CT30 - CT40): Nghiên cứu chất kích thích sinh trưởng NAA, IBA đến khả năng tạo rễ lan Kim tuyến. Chỉ tiêu theo dõi: Tỷ lệ chồi tạo rễ, số lượng rễ/cây và chiều dài rễ sau 3-5 tuần.

Thí nghiệm 5 (CT41 - CT45): Huấn luyện và ra ngôi cây ngoài nhà lưới. Chỉ tiêu theo dõi: Số lượng cây sống và chất lượng cây trồng sau 8 tuần theo dõi.

Thí nghiệm 1, 2, 3, 4 được bố trí theo kiểu hoàn toàn ngẫu nhiên với 3 lần nhắc lại, mỗi lần nhắc lại 10 mẫu. Điều kiện nuôi cấy: Ánh sáng: mẫu được nuôi cấy dưới ánh đèn neon với cường độ ánh sáng từ 2.000 - 2.500 lux, thời gian chiếu sáng 8 - 10 h/ngày. Nhiệt độ: nhiệt độ trong phòng duy trì $25^0C \pm 2^0C$.

Thí nghiệm 5: Được thực hiện trong nhà lưới có độ ẩm 70%, che tối 65%, duy trì nhiệt độ 20 - 25^0C.

Sử dụng excel phân tích phương sai để xử lý số liệu. Phân tích phương sai một nhân tố: FBAP (F thực nghiệm) > FCrit (F tra bảng) các công thức có sự khác nhau, có ý nghĩa thống kê, BAP có ảnh hưởng đến hệ số nhân chồi và ngược lại. Phân tích phương sai hai nhân tố: Fchuối (F thực nghiệm) > FCrit1 (F tra bảng), Fnước dừa (F thực nghiệm) > FCrit2 (F tra bảng), các công thức có sự khác nhau, có ý nghĩa thống kê, hàm lượng chuối, nước dừa có ảnh hưởng đến hệ số nhân chồi, chất lượng chồi và ngược lại. FChuối - Nước dừa (tương quan giữa 2 nhân tố thực nghiệm) > FCrit3 2 nhân tố thực nghiệm có tương quan và ảnh hưởng đến hệ số nhân chồi và ngược lại.

Bảng 1. Thành phần môi trường nuôi cấy

Môi trường	Thành phần môi trường
Nuôi cấy khởi đầu	Môi trường MS (Murashige and Skoog medium) + 30 g/l Lsucrose + 6 g/L agar. pH 5,8
Nhân nhanh chồi	MS (Murashige and Skoog medium) + 30 g/L sucrose + 6 g/L agar + (0 - 2,0 mg/L) BAP. pH 5,8
Nhân nhanh, kích thích tăng trưởng chồi	MS + (0,1 - 2,0 mg/L) BAP + 30 g/l sucrose + 6 g/L agar + (0 - 70g/L dịch chiết chuối + (50 - 100 ml/L) nước dừa. pH 5,8
Tạo rễ	½ MS + (0,5 - 2,5) NAA/IBA + 20 g sucrose + 0,5 g AC + 6 g/L agar. pH 5,8

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Tạo nguồn mẫu *in vitro*

Kết quả theo dõi 8 công thức thí nghiệm khử trùng với cùng loại hóa chất và thời gian khác nhau cho mẫu lan Kim tuyến cho thấy, công thức sử dụng kết hợp ba loại hóa chất khử trùng cho hiệu quả tạo mẫu sạch cao hơn rất nhiều so với công thức chỉ dùng hai loại hóa chất. Khử trùng đoạn thân bằng Javen 15% trong 7 phút, $HgCl_2$ 0,1% trong 3 phút và ngâm Cefotaxim 10% trong 30 phút cho tỷ lệ mẫu sạch đạt 90%, tỷ lệ mẫu bật chồi mới cao nhất (83,33%) (Bảng 2). Sau khi được khử trùng, mẫu được nuôi trên môi trường MS không bổ sung chất điều hòa sinh trưởng trong 3 - 4 tuần.

Bảng 2. Kết quả tạo mẫu sạch từ đoạn thân lan Kim tuyến

CTTN	Thời gian khử trùng (phút)			Chỉ tiêu đánh giá				
	Javen (15%)	$HgCl_2$ 0,1%	Cefotaxim 10%	Tổng số mẫu cấy	Số mẫu sạch	Tỷ lệ mẫu sạch (%)	Số mẫu sạch bật chồi	Tỷ lệ mẫu bật chồi mới (%)
CT1	5	0	30	30	5	16,67	4	13,33
CT2	7	0	30	30	6	20,00	5	16,67
CT3	0	3	30	30	10	33,33	9	30,00
CT4	0	5	30	30	16	53,33	12	40,00
CT5	5	3	30	30	20	66,67	20	66,67
CT6	5	5	30	30	18	60,00	16	53,33
CT7	7	3	30	30	27	90,00	25	83,33
CT8	7	5	30	30	26	86,67	22	73,33

Kết quả này có tính tương đồng với nghiên cứu của Trương Thị Bích Phượng và Phan Ngọc Khoa (2013) [5] khi nghiên cứu nhân giống *in vitro* cây lan Kim tuyến kết luận: Vật liệu nghiên cứu sử dụng là đỉnh sinh trưởng và đoạn thân mang chồi nách (2,0 - 3,0 cm). Khử trùng bằng dung dịch $HgCl_2$ 0,1% trong 10 phút là thích hợp nhất tỷ lệ mẫu sống 86,1% đối với đỉnh sinh trưởng và 84,77% với đoạn thân mang chồi nách. Kết quả nghiên cứu này cao hơn rất nhiều so với nghiên cứu của Nguyễn Trọng Quyền và cs (2020) [6] nhân giống loài *Anoectochilus formosanus* Hayata, khử trùng đoạn thân bằng $HgCl_2$ 0,1% trong thời gian 7 phút và nuôi cấy trên môi trường MS bổ sung 0,5 mg/L BAP, 30 g/L sucrose cho tỷ lệ mẫu sạch tái sinh chồi chỉ đạt 46,67% sau 4 tuần nuôi cấy.

3.2. Nhân nhanh chồi

Mẫu chồi *in vitro* có kích thước khoảng 0,5 cm được sử dụng làm nguồn mẫu ban đầu trong thí nghiệm này. Kết quả thí nghiệm được tiến hành với 5 công thức về ảnh hưởng của BAP (0 - 2,0 mg/L) đến hệ số nhân chồi cho thấy: F_{BAP}: 20,18 > F_{Crit}: 3,11, hiệu quả nhân nhanh chồi ở các nồng độ BAP khác nhau là khác nhau và có ảnh hưởng đến hệ số nhân chồi loài này, sử dụng BAP 1,5 mg/L cho hệ số nhân nhanh chồi cao nhất (5,37 lần/4 tuần) (Bảng 3).

Bảng 3. Ảnh hưởng của chất điều hòa sinh trưởng BAP đến khả năng nhân nhanh chồi

CTTN	BAP (mg/L)	Tổng số mẫu cấy	Tổng số chồi tái sinh	Hệ số nhân chồi trung bình (lần)
CT9	0	30	60	2,0 ± 0,12
CT10	0,5	30	145	4,83 ± 0,26
CT11	1,0	30	135	4,5 ± 0,23
CT12	1,5	30	161	5,37 ± 0,19
CT13	2,0	30	115	3,83± 0,35
F_{BAP}: 20,18 F_{Crit}: 3,11				

Một số nghiên cứu sử dụng BAP trước đây đã chỉ ra kết quả tạo chồi tối ưu khi bổ sung chất điều hòa sinh trưởng này. Nguyễn Thanh Mai và Mai Trường (2019) [7] nghiên cứu nuôi cấy lỏng lắc thu sinh khối lan Kim tuyến bản địa *Anoectochilus roxburghii* (Wall.) Lindl. sử dụng 1,5 mg/L BAP kết hợp 0,2 mg/L NAA cho kết quả tạo chồi tốt đạt 4,13 chồi/mẫu. Nhưng từ kết quả của thí nghiệm này cho thấy, nồng độ 1,5 mg/l BAP lại cho kết quả tạo chồi đạt 4,83 chồi/mẫu, hệ số nhân chồi tốt hơn đạt 5,37 lần/4 tuần.

3.3. Nhân nhanh chồi và kích thích tăng trưởng chồi

Sau giai đoạn nhân nhanh, tiếp tục chồi Lan kim tuyến thí nghiệm trên được cấy chuyển sang môi trường kích thích tăng trưởng chồi, thúc đẩy chiều cao và chất lượng chồi nhằm đạt đủ tiêu chuẩn tạo rễ.

Nước dừa được sử dụng rộng rãi như một thành phần thúc đẩy tăng trưởng trong môi trường nuôi cấy mô, một số loài thực vật, quá trình tái sinh được gia tăng bằng cách bổ sung nước dừa vào môi trường nuôi cấy. Ngoài ra, nước dừa là có khả năng làm tăng quá trình sinh trưởng và phát triển của hoa lan trong ống nghiệm do có sự liên quan đến sự hiện diện của một loại cytokinin.

Bột chuối có hàm lượng fructose, glucose và nitrat cao, khi được bổ sung vào môi trường nuôi cấy làm tăng hàm lượng đường cũng như hàm lượng khoáng của môi trường. Tác dụng kích thích của bột chuối hiệu quả do khả năng ổn định pH của môi trường nuôi cấy. Bổ sung bột chuối vào môi trường đóng vai trò như một chất kháng axit và trung hòa nồng độ axit. Ngoài ra, bột chuối có chứa một hàm lượng lớn như sắt, kali, vitamin B6, B12 và trypthophan thúc đẩy PLBs tăng trưởng.

Kết quả thí nghiệm được tiến hành với 16 công thức về ảnh hưởng của (1,5 mg/l)BA kết hợp với tổ hợp nước dừa (50 - 200 ml/L) và dịch chiết chuối (30 - 100 g/l) cho thấy: FChuối = 19,66 > Fcrit: 2,90; FNước dừa = 266,42 > Fcrit: 2,90; FNước dừa - Chuối = 36,80 > Fcrit = 2,18, hàm lượng chuối, nước dừa có tương tác với nhau và ảnh hưởng đến hệ số nhân chồi, chất lượng của chồi nuôi cấy. Hiệu quả nhân nhanh chồi ở các môi trường khác nhau là khác nhau, khi sử dụng (1,5 mg/l) BA kết hợp với 100

ml/L nước dừa và 70 g/L dịch chiết chuối cho hệ số nhân nhanh cao nhất đạt 9,8 lần/ 4 tuần nuôi cấy, chất lượng chồi tốt, lá xanh phát triển đều.

Bảng 4. Ảnh hưởng của dịch chiết chuối và nước dừa đến khả năng nhân nhanh, kích thích tăng trưởng chồi lan Kim tuyến

CTTN	Chất điều hoà sinh trưởng			Tổng số mẫu cấy	Tổng số chồi tái sinh	Hệ số nhân chồi trung bình (lần)	Chất lượng chồi
	BAP (mg/L)	Nước dừa (ml/l)	Chuối (g/l)				
CT14	1,5	50	30	30	194	5,37 ± 0,09	Chồi mập, lá xanh, phát triển đều
CT15		50	50	30	198	5,57 ± 0,20	Chồi mập, lá xanh, phát triển đều
CT16		50	70	30	201	6,1 ± 0,12	Chồi mập, lá xanh, phát triển đều
CT17		50	100	30	206	6,43 ± 0,15	Chồi mập, lá xanh, phát triển đều
CT18		100	30	30	215	7 ± 0,15	Chồi mập, lá xanh, phát triển đều
CT19		100	50	30	229	7,73 ± 0,12	Chồi mập, lá xanh, phát triển đều
CT20		100	70	30	264	9,8 ± 0,06	Chồi mập, lá xanh, phát triển đều
CT21		100	100	30	260	8,33 ± 0,09	Chồi mập, lá xanh, phát triển đều
CT22		150	30	30	255	8,2 ± 0,12	Chồi mập, lá xanh, phát triển đều
CT23		150	50	30	264	7,9 ± 0,11	Chồi mập, lá xanh, phát triển đều
CT24		150	70	30	248	7,37 ± 0,12	Chồi mập, lá xanh, phát triển đều
CT25		150	100	30	243	6,57 ± 0,18	Chồi mập, lá xanh, phát triển đều
CT26		200	30	30	236	6,53 ± 0,10	Chồi nhỏ, lá xanh nhạt, thân mọng nước
CT27		200	50	30	228	6,5 ± 0,12	Chồi nhỏ, lá xanh nhạt, thân mọng nước
CT28		200	70	30	225	6,43 ± 0,15	Chồi nhỏ, lá xanh nhạt, thân mọng nước
CT29		200	100	30	219	6,27 ± 0,12	Chồi nhỏ, lá xanh nhạt, thân mọng nước
		$F_{Nước\ dừa}$: 266,42 ; F_{crit}: 2,90					
		$F_{Chuối}$: 19,66, F_{crit}: 2,90					
		$F_{Nước\ dừa - Chuối}$: 36,80; F_{crit}: 2,19					

Kết quả nghiên cứu này tương đồng với một số nghiên cứu khác như: Nguyễn Thị Hồng Gấm và cs (2012) [8] kết luận nhân giống loài *Anoectochilus setaceus* sử dụng 100 ml/l nước dừa kết hợp 100 g/L dịch chiết khoai tây cho kết quả nhân chồi và chất lượng chồi tốt nhất. Phan Xuân Huyên và Nguyễn Thị Phượng Hoàng (2017) [9] nghiên cứu tái sinh chồi *in vitro* và nuôi trồng cây lan Gấm (*Anoectochilus formosanus* hayata) đưa ra môi trường MS bổ sung 1 mg/1 BA, 50 g/1 chuối, 1 g/1 than hoạt tỉnh. 30 g/1 sucrose, 9 g/1 agar là tốt nhất cho tái sinh chồi *in vitro*, với 5,2 chồi/mẫu. Nguyễn Thanh Mai và Mai Trường (2019) [7] tiến hành thí nghiệm nuôi cấy nhân nhanh chồi *in vitro* *Anoectochilus roxburghii* đã sử dụng môi trường bổ sung 1,5 mg/l BAP, 0,2 mg/l NAA và 150 ml/L nước dừa cho kết quả nhân chồi tốt. Tuy nhiên, kết quả nghiên cứu ở đây có tính vượt trội và khác biệt khi sử dụng hàm lượng nước dừa thấp hơn (100 ml/L) kết hợp 70 g/l dịch chiết chuối cho hệ số nhân chồi cao hơn (8,8 lần/ 4 tuần nuôi cấy), chất lượng chồi tốt, lá xanh phát triển đều.

3.4. Tạo rễ

Các mẫu chồi đạt tiêu chuẩn về chiều cao và số lá sẽ được cấy chuyển sang môi trường tạo rễ để tạo cây hoàn chỉnh. Môi trường ra rễ là môi trường cơ bản MS có bổ sung 20 g/L sucrose, 6 g/L agar và chất kích thích ra rễ (NAA, IBA) ở các nồng độ khác nhau. Sau 8 tuần nuôi cấy, kết quả thu được rất cao (Bảng 5).

Bảng 5. Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của NAA và IBA đến khả năng ra rễ của cây lan Kim tuyến *in vitro*

Công thức	Hóa chất	Nồng độ (mg/L)	Tổng số mẫu cấy	Tỷ lệ ra rễ (%)	Số rễ trung bình /chồi	Chiều dài rễ trung bình (cm)
CT30	IBA	0,5	30	33,33 ± 3,33	1,19 ± 0,10	1,55 ± 0,01
CT31		1,0	30	56,67 ± 3,33	1,30 ± 0,07	1,34 ± 0,00
CT32		1,5	30	70,00 ± 0,00	2,10 ± 0,13	1,28 ± 0,01
CT33		2,0	30	83,33 ± 3,33	2,72 ± 0,05	1,11 ± 0,07
CT34		2,5	30	63,33 ± 3,33	2,58 ± 0,05	1,33 ± 0,00
	F			115,31	6,53	1,70
	F crit			3,11		
CT35	NAA	0,5	30	43,33 ± 3,33	2,23 ± 0,02	0,52 ± 0,04
CT36		1,0	30	53,33 ± 3,33	2,44 ± 0,08	1,04 ± 0,01
CT37		1,5	30	93,33 ± 3,33	3,35 ± 0,08	1,21 ± 0,08
CT38		2,0	30	76,67 ± 3,33	3,17 ± 0,04	1,15 ± 0,05
CT39		2,5	30	50,00 ± 5,77	2,63 ± 0,19	0,97 ± 0,03
	F			75,13	4,38	4,07
	F crit			3,11		
CT40	ĐC	0	30	26,67	1,63	0,56

Với giá trị F > Fcrit do vậy ở các nồng độ IBA và NAA khác nhau cho kết quả tạo rễ khác nhau. Khi bổ sung chất điều hoà sinh trưởng IBA vào môi trường ra rễ đều cho tỷ lệ ra rễ của các chồi với tỷ lệ biến động từ 33,3% đến 83,3% cao hơn công thức đối chứng không bổ sung chất kích thích ra rễ. Với IBA

khi tăng nồng độ từ 0,5 đến 2,0 mg/L thì tỷ lệ ra rễ tăng từ 33,33% ± 3,33 lên 83,33% ± 3,33; tương tự số rễ/chồi cũng tăng lên từ 1,19 ± 0,1 rễ lên 2,72 ± 0,05 rễ. Nhưng khi nồng độ IBA tăng lên 2,5 mg/l thì tỷ lệ ra rễ, số rễ/chồi và chiều dài trung bình rễ đều giảm xuống tương ứng là 63,33 ± 3,33%; 2,58 ± 0,05 rễ.

Với chất ĐHST NAA khi tăng nồng độ từ 0,5 đến 1,5 mg/L thì tỷ lệ ra rễ tăng từ 43,33% ± 3,33 lên 93,33% ± 3,33; tương tự số rễ/chồi cũng tăng lên từ 2,23 ± 0,02 rễ lên 3,35 ± 0,08 rễ và chiều dài trung bình của rễ cũng tăng từ 0,52 cm ± 0,04 lên 1,21 cm ± 0,08. Tuy nhiên, khi nồng độ NAA tăng lên 2 mg/l và 2,5 mg/l thì tỷ lệ ra rễ, số rễ/chồi và chiều dài trung bình rễ đều giảm xuống.

Giữa hai chất ĐHST IBA và NAA ở các mức nồng độ nghiên cứu cho thấy bổ sung NAA 1,5 mg/L vào môi trường cho kết quả ra rễ tốt nhất với tỷ lệ ra rễ đạt 93,33%, số rễ/chồi là 3,35 rễ và chiều dài trung bình rễ là 1,59 cm. Kết quả này tương đồng với nghiên cứu của Nguyễn Trọng Quyền và cs (2020) về nhân giống loài *Anoectochilus formosanus* hayata có tỷ lệ chồi ra rễ tạo cây hoàn chỉnh đạt 100% và 3,64 rễ/chồi, chiều dài rễ trung bình 2,07 cm sau 6 tuần nuôi cấy trên môi trường MS bổ sung 1,5 mg/L NAA, 20 g/L sucrose và 2 g/L than hoạt tính [6].

3.5. Huấn luyện và trồng cây ở nhà lưới

Các thí nghiệm về giá thể đối với cây mầm với 5 công thức cho thấy: Thành phần giá thể khác nhau có ảnh hưởng tới tỷ lệ cây sống sau khi đưa ra nhà lưới (Bảng 6). Tỷ lệ cây sống đạt cao nhất sau 8 tuần trồng (97%); rễ dài có rất nhiều lông hút, rễ trắng, mập; cây cao 10 - 12 cm thân mập; lá dày, xanh đậm.

Bảng 6. Ảnh hưởng của giá thể trồng lan Kim tuyến đến tỷ lệ cây sống ở nhà lưới

CT	Thành phần giá thể	Số cây thí nghiệm	Tỷ lệ cây sống sau 8 tuần trồng (%)	Hình thái, chất lượng cây trồng
CT41	Rêu	100	86	Rễ trắng; cây cao 9 - 10 cm; lá dày, xanh non
CT42	Xơ dừa + trấu hun + đá perlite (7 : 2 : 1)	100	97	Rễ dài có rất nhiều lông hút, rễ trắng, mập; cây cao 10 - 12 cm thân mập; lá dày, xanh đậm
CT43	Xơ dừa + trấu hun + rêu (7 : 2 : 1)	100	92	Rễ dài, trắng, mập; cây cao 10 - 11 cm, mập; lá dày, xanh non
CT44	Xơ dừa + rêu (7 : 3)	100	90	Rễ trắng; cây cao 9 - 10 cm; lá xanh nhạt
CT45	Xơ dừa	100	70	Rễ đen; cây cao 9 - 10 cm; lá xanh nhạt

Cây mầm *in vitro* sau khi huấn luyện, đủ tiêu chuẩn đem trồng, được rửa sạch thạch và trồng trên giá thể là xơ dừa + trấu hun + đá perlite (7 : 2 : 1), khi áp dụng chế độ chăm sóc tưới 2 lần/ngày với lượng nước tưới 1 L/m^2/lần, đảm bảo độ ẩm 70% + che tối 65% ánh sáng, giúp cây trồng có khả năng sinh trưởng tốt nhất, sau 8 tuần trồng: Chiều cao cây tăng thêm 1 - 1,5 cm, hệ rễ phát triển; cây sinh trưởng tốt, thân cứng cáp, lá màu xanh tía.

A

B

C

D E F

Hình 1. Ảnh các giai đoạn chính trong quy trình nhân giống lan Kim tuyến *in vitro*

A: Cây lan Kim tuyến nguồn gốc từ Thái Nguyên; B: Đoạn thân khử trùng vào mẫu; C: Cụm chồi tái sinh trên môi trường 1,5 mg/L BAP + 100 ml/l nước dừa + 70 g/L dịch chiết chuối giai đoạn cây non; D: Cụm chồi tái sinh trên môi trường 1,5 mg/l BAP + 100 ml/l nước dừa + 70 g/L dịch chiết chuối giai đoạn cây trưởng thành đủ điều kiện cấy chuyển sang môi trường tạo rễ; E: Tái sinh rễ trên môi trường 1,5 mg/L NAA; F: Cây in vitro trồng tại nhà kính huấn luyện trước khi chuyển vào rừng.

4. KẾT LUẬN

Đã xây dựng được qui trình nhân *in vitro* loài lan Kim tuyến được từ đoạn chồi thu thập từ rừng tự nhiên của tỉnh Thái Nguyên. Giai đoạn nuôi nhân nhanh chồi trên môi trường MS có bổ sung 1,5 mg/L BAP và sau đó nuôi tăng trưởng chồi trên MS bổ sung 1,5 mg/LBAP, 70 g/L dịch chiết chuối, 100 mL/L nước dừa. Nuôi cấy tạo cây hoàn chỉnh trên môi trường MS½ bổ sung 1,5 mg/L NAA. Giá thể phù hợp để nuôi trồng loài lan Kim tuyến từ nhân giống *in vitro* là xơ dừa + trấu hun + đá perlite (7 : 2 : 1).

Kết quả nghiên cứu này tạo tiền đề cho nhân giống qui mô lớn. Đồng thời, kết quả có khả năng ứng dụng thực tiễn theo hướng bảo tồn ngoại vi nguồn gen lan Kim tuyến này và phục vụ cho tái tạo, phục hồi quần thể lan trong điều kiện tự nhiên.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Cheng S. F.& Chang D. C. N. (2009). Growth responses and changes of active components as influenced by elevations and orchid mycorrhizae on *Anoectochilus formosanus* Hayata. Botanical Studies 50, 459-466.

2. Võ Văn Chi (1999). *Từ điển cây thuốc Việt Nam*. NXB Y học.

3. Chính phủ (2021). *Nghị định số 84/2021/NĐ-CP ngày 22/9/2021 sửa đổi, bổ sung một số điều của Nghị định số 06/2019/NĐ-CP ngày 22/01/2019 của Chính phủ về quản lý thực vật rừng, động vật rừng nguy cấp, quý, hiếm và thực thi Công ước về buôn bán quốc tế các loài động vật, thực vật hoang dã nguy cấp.*

4. Bộ Khoa học và Công nghệ (2007). *Sách Đỏ Việt Nam* (phần II. Thực vật). NXB Khoa học Tự nhiên và Công nghệ, Hà Nội.

5. Trương Thị Bích Phượng, Phan Ngọc Khoa (2013). Nhân giống *in vitro* lan Kim tuyến *Anoectochilus setaceus* Blume (Wall.) Lindl. *Hue University Journal of Science: Agriculture and Rural Development* - Vol. 79, No. 1.

6. Nguyễn Trọng Quyền, Nguyễn Thị Thơ, Khuất Thị Hải Ninh, Bùi Văn Thắng, Hoàng Văn Sâm (2020). Nghiên cứu nhân giống *in vitro* loài lan Kim tuyến (*Anoectochilus formosanus* Hayata). *Tạp chí Nông nghiệp & PTNT,* số 17, tr: 39-47.

7. Nguyễn Thanh Mai, Mai Trường (2019). Nghiên cứu nuôi cấy lỏng lắc thu sinh khối lan Kim tuyến bản địa *Anoectochilus roxburghii* (Wall.) Lindl. *in vitro. Tạp chí Khoa học Đại học Mở Thành phố Hồ Chí Minh,* 14(1), 97-107.

8. Nguyễn Thị Hồng Gấm, Phùng Văn Phê, Hà Văn Huân, Bùi Văn Thắng (2012). Nhân giống lan Kim tuyến (*Anoectochilus setaceus* Blume) bằng kỹ thuật nuôi cấy *in vitro. Tạp chí Nông nghiệp và PTNT* - Chuyên san Giống số tháng 6/2012.

9. Phan Xuân Huyên, Nguyễn Thị Phượng Hoàng, 2017. Nghiên cứu tái sinh chồi *in vitro* và nuôi trồng cây lan Gấm (*Anoectochilus formosanus* Hayata). *Tạp chí Công nghệ sinh học 15* (3): 515-524.

PROPAGATION OF *Anoectochilus setaceus* Blume NEED TO CONSERVATION IN THAI NGUYEN WITH *IN VITRO* TECHNOLOGY

Tran Thi Thu Ha, Duong Thi Nhung, Cao Thi Mai Phuong

Summary

The gene source of *Anoectochilus setaceus* Blume collected in the natural forest of Quan Chu (Thai Nguyen province), was carried out experimentally propagated by in vitro culture method. The results indicated stem segment aerosols and rhizomes bearing dormant or apical shoots were sterilized with $HgCl_2$ 0.1% solution for 3 minutes, combined with 7 minutes of Javen 15%, soaked for 30 minutes in Cefotaxime 10% and cultured on MS starter culture for a high percentage of clean samples shoots (83.33%) after 4 weeks. Shoot multiplication factor reached 9.8 shoots/explant after 4 weeks for culturing on MS medium supplemented with 1.5 mg/l BAP, 100 mL/L coconut water, 70 g/l banana extract and 30 g/l sucrose. The rate of shoots rooting reached 93.33% (average 3.35 roots/bud) after 4 weeks of culture on 1/2MS medium supplemented with 1.5 mg/L NAA, 20 g/L sucrose and 0.5 g/L activated carbon. Tissue sprouts were grown in greenhouses with the medium formula: coir + rice husk + perlite (7: 2: 1) with a very high survival rate (97%). The results open up the prospect of conservation and development of this species in Thai Nguyen.

Key words: *Anoectochilus setaceus Blume, in vitro, propagation.*

Người phản biện: PGS.TS. Bùi Văn Thắng

Ngày nhận bài: 5/10/2022

Ngày thông qua phản biện: 5/11/2022

Ngày duyệt đăng: 28/11/2022

ĐÁNH GIÁ ĐẶC ĐIỂM HÌNH THÁI VÀ ĐA DẠNG DI TRUYỀN CỦA QUẦN THỂ SÂM NGỌC LINH (*Panax Vietnamensis* Ha *et* Grushv.) TẠI VƯỜN GIỐNG THUỘC HUYỆN TU MƠ RÔNG, TỈNH KON TUM

Khuất Thị Mai Lương[1,*], Nguyễn Thị Minh Nguyệt[1], Lê Hùng Lĩnh[1]

TÓM TẮT

Trong nghiên cứu này, đã tiến hành đánh giá một số đặc điểm hình thái và xây dựng bảng mô tả tính trạng của 120 cá thể sâm Ngọc Linh trong vườn giống gốc của Công ty Cổ phần Sâm Ngọc Linh Tu Mơ Rông Kon Tum. Mục tiêu nhằm đánh giá về độ đồng nhất, mức độ đa dạng của nguồn giống phục vụ công tác chọn tạo giống mới để đáp ứng tốt các nhu cầu trong sản xuất. Các mẫu giống sâm Ngọc Linh nghiên cứu rất đa dạng về chiều dài thân. Tính trạng chiều dài thân, chiều dài lá chét trung tâm, chiều dài cuống hoa có thể sử dụng như những đặc điểm hình thái quan trọng để đánh giá và chia bộ mẫu giống thành các phân nhóm nhỏ.

Từ khóa: *Đa dạng di truyền, đặc điểm hình thái, sâm Ngọc Linh, Kon Tum.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Sâm Ngọc Linh (*Panax vietnamensis* Ha *et* Grushv.) là loại cây đặc hữu của vùng núi Ngọc Linh thuộc 2 tỉnh Kon Tum và Quảng Nam. Đây là loài dược liệu có giá trị cao do có chứa nhiều hoạt chất tự nhiên quan trọng, có tác dụng dược lý nên sử dụng chủ yếu để làm thuốc [1]. Do công dụng rất tốt cho sức khỏe con người, giá trị kinh tế cao nên sâm Ngọc Linh đã bị khai thác cạn kiệt, gần như không còn thấy ngoài tự nhiên.

Hiện nay nhu cầu thị trường về sâm Ngọc Linh rất lớn, trong khi nguồn cung từ tự nhiên cạn kiệt, sản xuất chưa được nhiều, lượng cung không ổn định. Trước tình hình đó, ngày 01/02/2021, Thủ tướng Chính phủ đã ký Quyết định số 157/QĐ-TTg về việc ban hành Chương trình phát triển sản phẩm quốc gia "Sâm Việt Nam" đến năm 2030. Mục tiêu phát triển cây sâm Ngọc Linh trở thành cây kinh tế mạnh xứng tầm là sản phẩm Quốc gia và phát triển bền vững nguồn tài nguyên trên cơ sở sử dụng hiệu quả tiềm năng về điều kiện tự nhiên và xã hội. Việc giải quyết vấn đề sản xuất cây giống, biện pháp kỹ thuật trồng trọt là hết sức cần thiết và cấp bách để mở rộng thành vùng sản xuất. Cho đến nay đã có các đề tài, dự án nghiên cứu về sản xuất giống, kỹ thuật trồng sâm Ngọc Linh, tuy nhiên chưa đi sâu vào công việc tuyển chọn cây mẹ (cây giống gốc) sâm Ngọc Linh chất lượng đáp ứng tốt các nhu cầu trong sản xuất.

Vườn giống sâm Ngọc Linh nghiên cứu tại huyện Tu Mơ Rông với khoảng 10.000 cây sâm Ngọc Linh ở độ tuổi khác nhau, có khả năng cung cấp hạt ổn định để nhân giống phục vụ sản xuất. Vườn giống gốc đã được đánh giá và chọn lọc đúng loài sâm Ngọc Linh nhờ sử dụng chỉ thị phân tử. Xây dựng được vườn giống gốc chuẩn sẽ đảm bảo được nguồn cây giống có chất lượng tốt. Tuy nhiên, cho đến nay chưa có nghiên cứu đánh giá về đặc điểm hình thái của quần thể sâm Ngọc Linh trong vườn giống gốc làm cơ sở chọn lọc nguồn giống chất lượng, sinh trưởng và phát triển tốt. Việc nghiên cứu đa dạng quần thể sâm Ngọc Linh trong vườn giống gốc là yếu tố rất quan trọng nhằm đánh giá về độ đồng nhất, độ thuần của nguồn giống [2] hoặc đa dạng nguồn gen phục vụ công tác chọn tạo giống mới [3].

Đánh giá các đặc điểm hình thái là bước đầu tiên để đánh giá đa dạng di truyền quần thể sâm Ngọc Linh trong vườn giống gốc. Tuy nhiên, các loài sâm nói chung có hình thái hết sức đa dạng và phức tạp [4]. Bên cạnh đó, các đặc điểm hình thái của cây sâm rất dễ thay đổi do chế độ canh tác và điều kiện tự nhiên [5, 6]. Trong nghiên cứu này, đã thu thập đặc điểm hình thái của 120 cá thể sâm Ngọc Linh trong vườn giống gốc của tại huyện Tu Mơ Rông, tỉnh Kon Tum, sau đó đưa ra đánh giá về mức độ đa dạng làm

[1] Viện Di truyền Nông nghiệp
[*]Email: hoamoclantt_36@yahoo.com

căn cứ để chọn lọc và phát triển vườn giống cây đầu dòng.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Vật liệu: 120 cá thể sâm Ngọc Linh trên 6 năm tuổi được trồng trong vườn giống gốc của Công ty Cổ phần Sâm Ngọc Linh Tu Mơ Rông Kon Tum. 120 cá thể sâm Ngọc Linh được chọn lọc ngẫu nhiên với đặc điểm kiểu hình đa dạng, không bị sâu, bệnh hại.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

15 tính trạng liên quan đến hình thái thân, lá, hoa, quả của 120 cá thể sâm Ngọc Linh được đánh giá và phân loại dựa trên "Sổ tay hướng dẫn để tiến hành đánh giá độ khác biệt, tính đồng nhất và ổn định của nhân sâm *Panax ginseng* C. A., Mey" của Liên minh Bảo vệ các giống cây trồng mới (UPOV - International Union for the Protection of new Varieties of plants, 2017) [7].

Xử lý số liệu: số liệu được tổng hợp và xử lý bằng chương trình Excel 2010. Sơ đồ hình cây được xây dựng dựa trên khoảng cách Euclidean bằng phần mềm NTSYSpc 2.1, từ đó đánh giá được mức độ đồng nhất của quần thể sâm Ngọc Linh trong vườn giống gốc.

2.3. Thời gian và địa điểm nghiên cứu

Thời gian nghiên cứu: từ tháng 3/2022 đến tháng 10/2022.

Địa điểm nghiên cứu: vườn giống gốc sâm Ngọc Linh thuộc Công ty Cổ phần Sâm Ngọc Linh Tu Mơ Rông Kon Tum thuộc làng Mô za, xã Ngọc Lây, huyện Tu Mơ Rông, tỉnh Kon Tum.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Đánh giá các đặc điểm hình thái của cây sâm Ngọc Linh

Để đánh giá mức độ đa dạng di truyền dựa trên đặc điểm hình thái đặc trưng của cây Sâm Ngọc Linh làm cơ sở xây dựng bảng mô tả tính trạng, đã tiến hành thu thập số liệu về 12 đặc điểm hình thái của 120 cá thể sâm Ngọc Linh tại vườn giống gốc thuộc Công ty Cổ phần Sâm Ngọc Linh Tu Mơ Rông Kon Tum.

Tại điểm đánh giá, các mẫu giống gốc sâm Ngọc Linh trên 6 năm tuổi đều có các đặc điểm hình thái đặc trưng cho loài, như có lá kép hình chân vịt đa số gồm 4 - 5 lá kép (6 lá xuất hiện ở một số mẫu), kiểu mọc vòng; mỗi lá kép thường có 5 lá chét, dạng thuôn dài hay dạng bầu dục, nhọn ở hai đầu, mép lá đều có răng cưa, mặt lá có lông cứng ở cả hai mặt; mỗi cây có 1 cụm hoa kiểu chùm đơn; quả dạng bán nguyệt, hơi dẹt, có màu xanh, khi chín có màu đỏ và chấm đen phía đầu quả.

Mỗi mẫu giống gốc sâm Ngọc Linh sẽ khác nhau một số đặc điểm về chiều cao cây, màu sắc thân, lá, hình dạng lá, kích thước lá. Những đặc điểm này thể hiện mức độ sinh trưởng và phát triển của cây qua khả năng quang hợp, tổng hợp chất dinh dưỡng giúp cây phát triển tốt. Tuy nhiên, những đặc điểm trên chịu tác động của yếu tố môi trường như ánh sáng, độ ẩm, dinh dưỡng cũng như chăm sóc tại điểm đánh giá.

3.1.1. Đặc điểm về thân

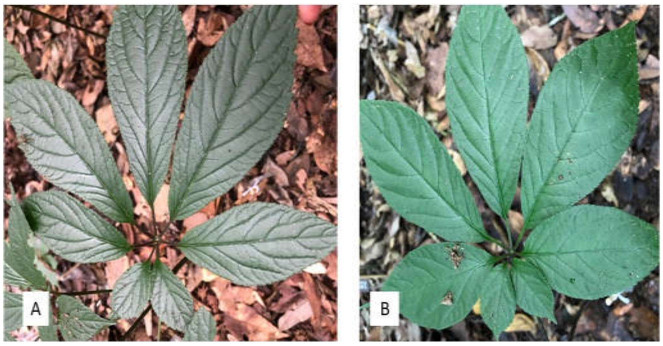
Thân cây sâm Ngọc Linh thuộc dạng thân khí sinh, tàn hàng năm do vậy đánh giá các đặc điểm thân cho biết khả năng sinh trưởng của cây ở cả mùa sinh trưởng trước và mùa sinh trưởng này, tuy nhiên còn phụ thuộc vào thời tiết và tình hình chăm sóc mỗi năm. Tại điểm đánh giá, chiều dài thân của cây trên 6 tuổi trong vườn giống gốc cũng rất đa dạng, dao động từ 15 - 66 cm, trung bình đạt 37,8 cm.

Mẫu giống số 3, 10, 173, 396, 9 và 19 thuộc nhóm thân ngắn với chiều dài thân dưới 20 cm. Mẫu giống số 107, 271, 289, 140, 257, 144, 167, 266, 117, 262, 269, 278, 383, 51, 114, 119 và 1 thuộc nhóm thân dài trên 50 cm, trong đó mẫu giống số 1 có thân dài nhất là 66 cm. Chiều dài thân cây phản ánh khả năng cạnh tranh ánh sáng, sự phát triển của cây, cây thân dài có tán lá cao, khả năng quanh hợp tốt cung cấp dinh dưỡng cho cây. Tuy nhiên, trong điều kiện tự nhiên có nhiều gió, gió to thì cây thân trung bình có ưu thế hơn so với cây thân dài. Ngoài ra, các mẫu có sự khác biệt về màu sắc thân, trong đó 18 mẫu giống (số 3, 9, 5, 10, 19, 152, 28, 6, 290, 8, 396, 113, 89, 56, 1, 90, 22, 130) có phần thân màu xanh lục, còn lại 102 mẫu giống có phần thân màu tím. Nhóm cây thân màu tím có sự khác nhau về cường độ màu sắc tím trên thân và được chia làm 3 nhóm gồm tím nhạt, đều, đậm trong đó ở 25 mẫu giống (số 15, 408, 136, 11, 194, 293, 109, 297, 312, 187, 163, 213, 53, 54, 311, 287, 301, 231, 196, 273, 234, 32, 257, 167 và 117) có thân màu tím nhạt, 20 mẫu giống (số 4, 7, 336, 462, 291, 309, 13, 14, 21, 33, 108, 2, 93, 20, 25, 337, 292, 91, 107 và 383) có thân màu tím trung bình, 57 mẫu giống còn lại có thân màu tím đậm. Phân bố màu sắc tím có tím

ở thân dưới có 37 mẫu giống và 65 mẫu giống phân bố tím đều toàn thân, còn lại 18 mẫu giống là màu sắc thân xanh.

3.1.2. Đặc điểm về lá

Lá cây là bộ phận có vai trò quan trọng của cây, vai trò chính của lá là quang hợp cung cấp dinh dưỡng cho cây phát triển; trên cây sâm lá còn giữ vai trò quyết định sự ngủ nghỉ của cây vì cây sâm Ngọc Linh chỉ rụng lá 1 lần trong năm. Các đặc điểm, trạng thái lá sẽ phản ánh rõ nhất sự sinh trưởng, phát triển của cây. Kết quả thu thập các đặc điểm về chiều dài cuống lá, chiều dài, chiều rộng lá chét trung tâm cho thấy, chiều dài cuống lá của các mẫu giống dao động từ 5 - 13 cm, trung bình đạt 8,4 cm. Chiều dài lá chét trung tâm dao động 7,3 - 15 cm, trung bình đạt 11,5 cm. Mẫu giống số 1 và 114 có cuống lá dài nhất, đạt 13 cm. Màu sắc của cuống lá thường cùng với màu sắc của thân nhưng đậm màu hơn (Hình 1).



Hình 1. Hình ảnh màu sắc lá và cuống lá sâm Ngọc Linh

Ghi chú: A. Mẫu giống có cuống lá màu tím đậm; B. Mẫu giống có cuống lá màu xanh

4 mẫu giống số 144, 113, 1 và 114 có chiều lá chét trung tâm dài nhất trên 14 cm. Chiều rộng lá chét trung tâm dao động 3 - 6 cm, trung bình đạt 4,3 cm. 6 mẫu giống số 119, 2, 270, 144, 114 và 1 có chiều rộng lá chét trung tâm lớn, trên 5 cm. Duy nhất 2 mẫu giống số 114 và 1 có cả 3 đặc điểm chiều dài cuống lá, chiều dài và chiều rộng lá chét trung tâm lớn nhất. Tuy nhiên, hình dạng lá chét trung tâm phụ thuộc vào tỷ lệ dài/rộng của lá cây sâm Ngọc Linh. Từ tỷ lệ này, hình dạng lá chét trung tâm của 120 cá thể đánh giá được chia làm 3 nhóm chính đó là hình elip, hình thìa và thuôn dài. Các mẫu giống chủ yếu có lá dạng hình elip và hình thìa, phình to ở gần cuối lá. Một số mẫu giống có hình dạng lá thuôn dài đó là mẫu số 2, 4, 5, 9, 11, 12, 14, 16, 17, 18, 20, 21, 22, 32, 33, 40, 51, 53, 56, 88, 91, 95, 108, 109, 110, 113, 114, 117, 119, 139, 140, 152, 153, 167, 187, 215, 220, 221, 257, 261, 262, 266, 267, 269, 270, 271, 273, 276, 285, 287, 290, 291, 292, 293, 297, 301, 307, 309, 311, 312, 320, 323, 329, 336, 337, 342, 383, 393, 396, 428, 456, 461, 462, 496, 497.

3.1.3. Đặc điểm về hoa, quả

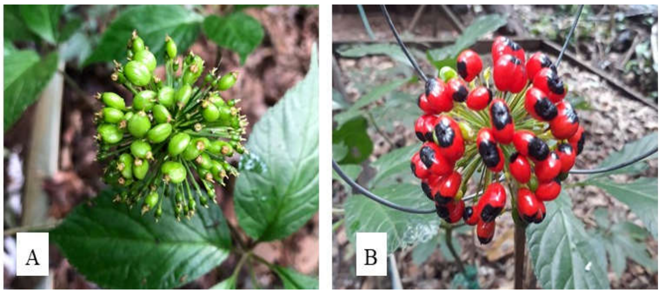
Thời gian mọc của các mẫu giống khác nhau dẫn tới thời gian ra hoa cũng khác nhau, mẫu giống sâm Ngọc Linh đánh giá bắt đầu ra hoa từ đầu tháng 4 kéo dài đến giữa tháng 6. Vì vậy có trường hợp có mẫu đã tạo quả chắc trong khi có mẫu đang nở hoa. Thời điểm ra hoa ảnh hưởng rất lớn đến khả năng thụ phấn tạo quả của cây. Quá trình thụ phấn chịu ảnh hưởng nhiều của yếu tố tự nhiên như nhiệt độ, gió, mưa, côn trùng thụ phấn. Theo nhận định của các hộ trồng sâm, thời điểm hoa nở tốt nhất vào tháng 5 - 6 có khả năng đậu quả cao. Trong 120 mẫu đánh giá, 46 mẫu giống sâm Ngọc Linh nở hoa sớm, thời gian trải đều từ đầu đến cuối tháng 4. Đó là các mẫu số 383, 397, 449, 496, 497, 462, 320, 28, 428, 32, 114, 141, 2, 113, 107, 215, 329, 408, 436, 233, 257, 386, 456, 51, 221, 287, 289, 323, 53, 196, 205, 270, 272, 309, 336, 342, 56, 95, 12, 40, 185, 22, 152, 25, 91 và 297, 60 mẫu giống nở hoa vào tháng 5. 14 mẫu giống còn lại nở hoa muộn vào đầu tháng 6 đó là số 261, 234, 33, 111, 138, 187, 173, 167, 163, 139, 57, 19, 25 và 18.

Tính trạng hình thái cụm hoa ít có sự đa dạng, kiểu chùm hoa là chùm đơn, khi nở có dạng hình cầu, chùm hoa nở từ ngoài vào trong (Hình 2). Chùm hoa phát triển với cuống hoa vươn cao vượt tán lá, chiều dài cuống hoa dao động từ 10 đến 30,5 cm, trung bình đạt 17,3 cm. 5 mẫu giống có chiều dài cuống hoa ngắn hơn 10 cm đó là mẫu số 10, 5, 141, 11 và 386. 3 mẫu giống có chiều dài cuống hoa dài hơn 25 cm, đó là mẫu số 93, 95 và 151. Trong đó, mẫu số 151 chiều dài cuống hoa đạt tới 30,5 cm.

Hình 2. Hình thái cụm hoa và chùm hoa nở

Ghi chú: A. Hình cụm hoa đơn; B. Chùm hoa nở từ ngoài vào trong

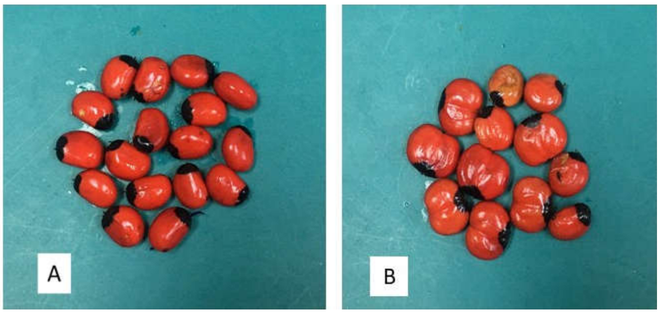
Thời gian tạo quả sau 20 - 30 ngày từ khi nở hoa, quả có màu xanh, khi chín có màu đỏ có chấm đen ở đầu quả, quả chín vào tháng 7 - 9 (Hình 3).



Hình 3. Hình ảnh quả sâm phát triển từ lúc quả xanh đến quả chín

Ghi chú: A. Hình quả xanh đang trong giai đoạn phát triển; B. Hình ảnh quả chín

Trong năm đánh giá, số quả thu được từ các mẫu giống đạt 7 – 20 quả, mỗi quả có từ 1 – 2 hạt, trung bình đạt 13,5 hạt/cây. 100% cá thể đánh giá cho quả chín màu đỏ có chấm đen phía đầu quả, đa số mẫu giống có quả đơn hình bán nguyệt, một số mẫu giống có quả đôi hoặc quả đơn và đôi đan xen (Hình 4).



Hình 4. Hình ảnh quả sâm Ngọc Linh khi chín

Ghi chú: A. Hình quả đơn hình bán nguyệt; B. Hình ảnh quả đôi hình số 8

3.2. Kết quả xây dựng bảng tính trạng hình thái và sơ đồ hình cây thể hiện mối quan hệ của 120 cá thể sâm Ngọc Linh đánh giá

Việc thu thập, đánh giá đặc điểm hình thái của 120 mẫu giống sâm Ngọc Linh giúp phân loại và chọn lọc các mẫu giống tốt, hình thái đẹp, có ưu thế sinh trưởng, phát triển tốt làm nguồn giống chuẩn phục vụ cho công tác bảo tồn lưu giữ, nghiên cứu di truyền, chọn tạo giống sau này. Dựa trên kết quả thu được đã tiến hành phân nhóm các tính trạng mô tả hình thái sâm Ngọc Linh. Đa dạng hình thái và tỷ lệ % mẫu giống trong các phân nhóm được thể hiện ở bảng 1. Các tính trạng hình thái đánh giá được chia làm 2 - 4 nhóm tùy tính trạng, cụ thể:

- Chiều dài thân cây sâm Ngọc Linh được phân làm 3 nhóm, trong đó nhóm thân ngắn có chiều dài thân từ 15,0 - 30 cm, chiếm tỷ lệ 24,2% trên tổng số cá thể đánh giá. Nhóm thân trung bình (từ 30,5 - 40 cm) có tỷ lệ cao nhất, chiếm 44,2%. Nhóm thân dài có chiều dài thân trên 40 cm chiếm 31,6%. Kết quả nghiên cứu của Trương Thị Hồng Hải và cs (2018) [8] cho thấy, chiều dài thân cây sâm Ngọc Linh 5 tuổi tại huyện Nam Trà My, tỉnh Quảng Nam nằm trong phạm vi 31 - 39 cm, thấp hơn nhóm thân dài của quần thể sâm Ngọc Linh trên 6 năm tuổi đánh giá tại huyện Tu Mơ Rông, tỉnh Kon Tum.

- Màu sắc thân cây sâm Ngọc Linh được phân làm 2 nhóm, trong đó nhóm thân xanh có tỷ lệ chiếm 15,0%. Nhóm thân tím có tỷ lệ cao, chiếm 85,0% trên tổng số cá thể đánh giá. Cũng theo kết quả nghiên cứu của Trương Thị Hồng Hải và cs (2018), khi đánh giá quần thể sâm Ngọc Linh tại Quảng Nam, cây 4 tuổi có sắc tố anthocyanin phân bố ở đỉnh thân, còn cây 5 năm tuổi không có sắc tố anthocyanin trên thân. Vì vậy, nên sử dụng cây Sâm Ngọc Linh 5 tuổi trở lên để nghiên cứu các đặc điểm hình thái điển hình cho loài sâm Ngọc Linh [8].

- Mức độ tím trên thân cây sâm Ngọc Linh được phân làm 4 nhóm, trong đó nhóm thân xanh không có màu tím chiếm có tỷ lệ 15,0%, nhóm thân màu tím nhạt chiếm tỷ lệ 20,8%. Tiếp đến, nhóm có thân màu tím trung bình chiếm 16,7%. Nhóm thân màu tím đậm chiếm tỷ lệ cao nhất, đạt 47,5% trên tổng số cá thể đánh giá.

- Phân bố màu sắc tím trên thân cây sâm Ngọc Linh được phân làm 3 nhóm, trong đó nhóm thân xanh không có màu tím chiếm tỷ lệ 15%. Nhóm có thân màu tím phân bố ở thân dưới chiếm tỷ lệ 30,8%. Nhóm có màu tím trên thân phân bố đều toàn thân chiếm tỷ lệ cao nhất, đạt 54,2%. Không có mẫu giống sâm Ngọc Linh đánh giá có màu tím trên thân phân bố phần thân trên của cây.

- Trung bình số lá chét/lá kép trên 1 cây sâm Ngọc Linh được phân làm 3 nhóm, trong đó nhóm có số lá chét/lá kép ít (< 5 lá) chiếm tỷ lệ 36,7% trên tổng số cá thể đánh giá. Nhóm trung bình có số lá chét/lá kép trên 1 cây = 5 lá, chiếm tỷ lệ 37,5%. Cuối cùng là nhóm có trung bình số lá chét/lá kép trên 1 cây nhiều >5 lá chiếm tỷ lệ 25,8%.

Bảng 1. Phân nhóm các tính trạng mô tả hình thái sâm Ngọc Linh trên 6 năm tuổi

TT	Phân nhóm tính trạng	Tỉ lệ số cá thể %	Mã hóa nhóm tính trạng
1	**Chiều dài thân**		
	Ngắn (15 - 30 cm)	24,2	1
	Trung bình (30,5 - 40 cm)	44,2	2
	Dài (> 40 cm)	31,6	3
2	**Màu sắc thân**		
	Xanh	15,0	0
	Tím	85,0	1
3	**Mức độ tím trên thân**		
	Xanh	15,0	0
	Nhạt	20,8	1
	Trung bình	16,7	2
	Đậm	47,5	3
4	**Phân bố màu sắc tím trên thân**		
	Xanh	15,0	0
	Tím ở thân dưới	30,8	1
	Tím đều toàn thân	54,2	2
5	**Trung bình số lá chét/kép**		
	Ít (< 5 lá)	36,7	1
	Trung bình (= 5 lá)	37,5	2
	Nhiều (> 5 lá)	25,8	3
6	**Chiều dài cuống lá**		
	Ngắn (5 - 7 cm)	26,7	1
	Trung bình (7,5 – 8,9 cm)	40,8	2
	Dài (9 - 13 cm)	32,5	3
7	**Chiều dài lá chét trung tâm**		
	Ngắn (7,3 – 10,5 cm)	30,8	1
	Trung bình (10,7 – 11,8 cm)	36,7	2
	Dài (≥ 12 cm)	32,5	3
8	**Chiều rộng lá chét trung tâm**		
	Nhỏ (3 – 3,9 cm)	32,5	1
	Trung bình (4 - 4,6 cm)	49,2	2
	Rộng (4,7 - 6 cm)	18,3	3
9	**Hình dạng lá**		
	Hình elip (2 – 2,6 cm)	36,7	1
	Hình thìa (2,7 – 2,9 cm)	46,7	2
	Hình thuôn dài (3,0 – 3,8 cm)	16,6	3
10	**Mép răng cưa**		
	Đều	82,7	1
	Không đều	17,3	2
11	**Chiều dài cuống hoa**		
	Ngắn (10 – 14,5 cm)	30,0	1
	Trung bình (14,6 – 19,5 cm)	45,8	2
	Dài (20 – 30,5 cm)	24,2	3
12	**Hình dạng cụm hoa**		
	Hình cầu	97,5	1

	Hình khác	2,5	2
13	**Thời gian nở hoa**		
	Sớm (trong tháng 4)	42,4	1
	Trung bình (trong tháng 5)	46,8	2
	Muộn (trong tháng 6)	10,8	3
14	**Màu sắc quả chín**		
	Màu đỏ có chấm đen	100	1
15	**Hình dạng quả**		
	Quả đơn hình bán nguyệt	45,2	1
	Quả đôi hình số 8	8,0	2
	Quả đơn và quả đôi	46,8	3

- Chiều dài cuống lá cây sâm Ngọc Linh được chia làm 3 nhóm, trong đó nhóm cuống lá ngắn (từ 5 - 6,9 cm) chiếm tỷ lệ 15,0% trên tổng số cá thể đánh giá. Tiếp đến, nhóm cuống lá trung bình (từ 7 - 8,9 cm) chiếm tỷ lệ 52,5%. Còn lại nhóm cuống lá dài (từ 9 - 13 cm) đạt 32,5%. Kết quả này tương đồng với kết quả nghiên cứu của Trương Thị Hồng Hải và cs (2018) [8], chiều dài cuống lá đặc trưng của cây sâm Ngọc Linh nằm trong khoảng trung bình, từ 8 cm đến 10 cm.

- Chiều dài lá chét trung tâm được phân làm 3 nhóm, trong đó nhóm lá chét ngắn (từ 7,3 - 10,5 cm) chiếm tỷ lệ 30,8%. Nhóm lá chét chiều dài trung bình (từ 10,7 - 11,8 cm) chiếm tỷ lệ 36,7%. Cuối cùng là nhóm lá chét dài với độ dài ≥ 12 cm, chiếm 32,5%. Kết quả này tương tự với kết quả nghiên cứu của Trương Thị Hồng Hải và cs (2018) [8], lá cây sâm Ngọc Linh 5 năm tuổi tại Quảng Nam có chiều dài dao động từ 10 cm đến 15 cm.

- Chiều rộng lá chét cây sâm Ngọc Linh được phân làm 3 nhóm, trong đó nhóm chiều rộng lá chét nhỏ từ 3 - 3,9 cm, chiếm 32,5%. Đa số cá thể có chiều rộng lá chét trung bình (từ 4 - 4,6 cm) chiếm tỷ lệ 45,0%. Nhóm cuối cùng có chiều rộng lá chét từ 5,6 - 6 cm, đạt 22,5%. Lá cây sâm Ngọc Linh trên 6 năm tuổi đánh giá tại huyện Tu Mơ Rông có chiều rộng lớn hơn lá 5 năm tuổi theo đánh giá của Trương Thị Hồng Hải và cs (2018) [8], chiều rộng lá dao động trong phạm vi 3 - 4 cm.

- Hình dạng lá chét cây Sâm Ngọc Linh được phân làm 3 nhóm, trong đó nhóm lá có dạng hình elip chiếm 36,7% trên tổng số cá thể đánh giá. Nhóm lá có dạng thìa, phình to ở gần cuối lá chiếm tỷ lệ 45,0%. Nhóm cuối cùng có lá thuôn dài chiếm tỷ lệ 16,6%.

- Mép răng cưa lá cây sâm Ngọc Linh đa số đều nhau, nhóm này chiếm tỷ lệ 82,7%, nhóm có mép răng cưa không đều chiếm tỷ lệ nhỏ, đạt 17,3%.

- Chiều dài cuống hoa cây sâm Ngọc Linh được phân làm 3 nhóm, trong đó nhóm cuống hoa ngắn có chiều dài từ 10 - 14,5 cm, chiếm tỷ lệ 30,0%. Nhóm chiều dài cuống hoa trung bình (từ 14,6 - 19,5 cm) chiếm tỷ lệ cao nhất, đạt 45,8%. Nhóm có cuống hoa dài từ 20 - 30,5 cm chiếm 24,2% trên tổng số cá thể đánh giá. Chiều dài cuống hoa cây sâm Ngọc Linh trên 6 năm tuổi đánh giá tại huyện Tu Mơ Rông dài hơn so với kết quả đánh giá của Trương Thị Hồng Hải và cs (2018) [8]. Cây sâm 5 năm tuổi có chiều dài cuống hoa nằm trong ngưỡng trung bình từ 11 cm đến 19 cm.

- Hình dạng cụm hoa sâm Ngọc Linh có duy nhất 1 nhóm hình cầu ở 100% cá thể đánh giá.

- Căn cứ vào thời điểm nở hoa, các mẫu giống sâm Ngọc Linh đánh giá được chia làm 3 nhóm. Trong đó nhóm nở sớm (trong tháng 4) chiếm tỷ lệ 42,4%. Nhóm thời gian nở trung bình (trong tháng 5) chiếm tỷ lệ 46,8%, còn lại 10,8% thuộc nhóm nở muộn (trong tháng 6).

- Tại điểm đánh giá, màu sắc quả sâm Ngọc Linh cũng là tính trạng không đa dạng, khi chín quả có màu đỏ và 100% có chấm đen phía đầu quả.

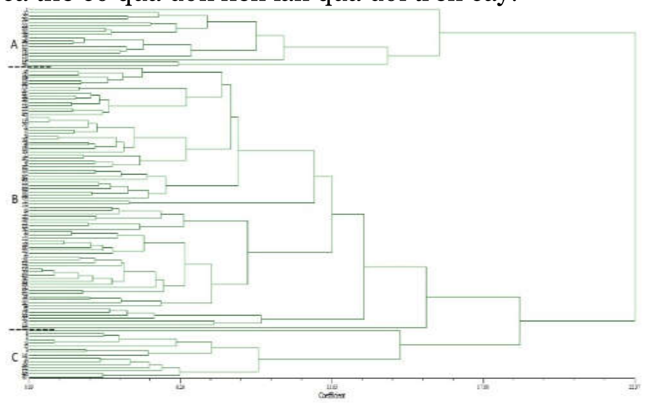
- Nhóm có quả đơn hình bán nguyệt chiếm tỷ lệ 45,2%, số cá thể có quả đôi chiếm 8,0%, còn lại 46,8% số cá thể có quả đơn xen lẫn một vài quả đôi trên cây.

Dựa trên bảng phân loại của 15 tính trạng về lá, thân, hoa và quả theo nhóm từ đó đưa ra ký hiệu mã hóa để sử dụng xây dựng sơ đồ cây phân loại của 120 mẫu giống sâm Ngọc Linh (Hình 5). Phương pháp phân cụm (cluster analysis) được xây dựng dựa trên khoảng cách Euclidean để đánh giá mối quan hệ của

các cá thể sâm Ngọc Linh nghiên cứu. Dựa trên sơ đồ hình cây về nối quan hệ của 120 mẫu giống sâm Ngọc Linh có thể chia thành 3 phân nhóm với các đặc điểm được tổng hợp trong bảng 2 như sau:

- Phân nhóm A có 19 cá thể, với các tính trạng chủ yếu như: thân dài (52,94 ± 5,05 cm), cá thể có thân màu xanh chiếm 5,3% số cá thể trong phân nhóm, màu tím chiếm 94,7%, trong đó 52,6% cá thể thân có màu tím đậm chủ yếu phần thân dưới, còn lại từ tím nhạt đến trung bình. Trung bình số lá chét/kép trên 1 cây đạt 4,96 ± 0,28, chiều dài cuống lá đạt trung bình 9,60 ± 1,63 cm. Chiều dài và chiều rộng lá chét trung tâm lần lượt đạt 12,01 ± 1,86 cm và 4,53 ± 0,64 cm. 63,2% số cá thể trong phân nhóm có hình dạng lá thuôn dài, còn lại 36,8% có dạng lá hình thìa. Mép răng cưa chủ yếu đều, chiếm 68,4%, không đều chiếm 31,6%. Chiều dài cuống hoa đạt 18,85 ± 3,15 cm, tất cả mẫu giống có cụm hoa hình cầu. 36,8% cá thể trong phân nhóm nở hoa sớm (trong tháng 4), đa số nở hoa vào tháng 5 (52,6%), còn lại 10,5% cá thể hoa nở muộn trong tháng 6. Quả chín tất cả có màu đỏ, chấm đen ở đầu quả, trong đó số quả đơn xen lẫn quả đôi trên cây chiếm 50% số cá thể, còn lại 20% cá thể có quả đơn và 30% số cá thể cho quả đôi.

- Phân nhóm B chiếm ưu thế với 85 cá thể, với các tính trạng chủ yếu như: chiều dài thân trung bình (36,62 ± 5,57 cm), cá thể có thân màu xanh chiếm 10,6% số cá thể trong phân nhóm, màu tím chiếm 89,4%, trong đó 49,4% cá thể thân có màu tím đậm, còn lại từ tím nhạt đến trung bình. Số cá thể có màu tím phân bố đều trên thân chiếm 57,6%, còn lại tím ở phần thân dưới. Trung bình số lá chét/kép trên 1 cây đạt 4,96 ± 0,38, chiều dài cuống lá đạt trung bình 8,05 ± 0,97 cm. Chiều dài và chiều rộng lá chét trung tâm lần lượt đạt 11,51 ± 1,11 cm và 4,22 ± 0,45 cm. 64,7% số cá thể trong phân nhóm có hình dạng lá thuôn dài, còn lại 31,8% có dạng lá hình thìa, 3,5% có dạng hình elip. Mép răng cưa chủ yếu đều, chiếm 85,9%, không đều chiếm 14,1%. Chiều dài cuống hoa đạt 17,91 ± 4,14 cm, tất cả mẫu giống có cụm hoa hình cầu. 42,9% cá thể trong phân nhóm nở hoa sớm (trong tháng 4), đa số nở hoa vào tháng 5 (48,8%), còn lại 8,3% cá thể hoa nở muộn trong tháng 6. Quả chín tất cả có màu đỏ, chấm đen ở đầu quả, trong đó số quả đôi chiếm ưu thế ở 48,4% cá thể, 43,5% cá thể có quả đơn, còn lại cá thể có quả đơn xen lẫn quả đôi trên cây.



Hình 5. Sơ đồ hình cây thể hiện mối quan hệ của 120 cá thể sâm Ngọc Linh dựa trên khoảng cách Euclidean

Ghi chú: A, B, C là các phân nhóm

Bảng 2. Đặc điểm hình thái của 3 phân nhóm trong 120 cá thể sâm Ngọc Linh đánh giá

Tính trạng	Phân loại nhóm		
	A	B	C
Số cá thể trong cụm	19	85	16
Chiều dài thân (cm)	52,94 ± 5,05	36,62 ± 5,57	21,25 ± 2,44
Màu sắc thân	Tím 94,7% Xanh 5,3%	Tím 89,4% Xanh 10,6%	Tím 50,0% Xanh 50,0%
Mức độ tím trên thân	Xanh 5,3% Nhạt 31,6% Trung bình 10,5% Đậm 52,6%	Xanh 10,6% Nhạt 21,2% Trung bình 18,8% Đậm 49,4%	Xanh 50,0% Nhạt 6,3% Trung bình 12,5% Đậm 31,2%
Phân bố màu sắc tím trên thân	Xanh 5,3% Tím ở thân dưới 57,9% Tím toàn thân 36,8%	Xanh 10,6% Tím ở thân dưới 32,9% Tím toàn thân 57,6%	Xanh 50,0% Tím ở thân dưới 0% Tím toàn thân 50,0%

Trung bình số lá chét/lá kép	4,96 ± 0,28	4,96 ± 0,38	5,08 ± 0,37
Chiều dài cuống lá (cm)	9,60 ± 1,63	8,05 ± 0,97	7,00 ± 1,08
Chiều dài lá chét trung tâm (cm)	12,01 ± 1,86	11,51 ± 1,11	9,84 ± 0,84
Chiều rộng lá chét trung tâm (cm)	4,53 ± 0,64	4,22 ± 0,45	3,7 ± 0,55
Hình dạng lá	Elip 0% Hình thìa 36,8% Thuôn dài 63,2%	Elip 3,5% Hình thìa 31,8% Thuôn dài 64,7	Elip 6,3% Hình thìa 37,5% Thuôn dài 56,2%
Mép răng cưa	Đều 68,4% Không đều 31,6%	Đều 85,9% Không đều 14,1%	Đều 75,0% Không đều 25,0%
Chiều dài cuống hoa (cm)	18,85 ± 3,15	17,91 ± 4,14	13,64 ± 2,65
Hình dạng cụm hoa	Hình cầu	Hình cầu	Hình cầu
Thời gian nở hoa	Sớm 36,8% Trung bình 52,6% Muộn 10,5%	Sớm 42,9% Trung bình 48,8% Muộn 8,3%	Sớm 62,5% Trung bình 12,5% Muộn 25,0%
Màu sắc quả	Màu đỏ có chấm đen	Màu đỏ có chấm đen	Màu đỏ có chấm đen
Hình dạng quả	Quả đơn 20,0% Quả đôi 30,0% Quả đơn và quả đôi 50%	Quả đơn 43,5% Quả đôi 48,4% Quả đơn và quả đôi 8,1%	Quả đơn 75,0% Quả đôi 0% Quả đơn và quả đôi 25%

- Phân nhóm C gồm 16 cá thể có tính trạng đặc trưng đó là: thân ngắn (21,25 ± 2,44 cm), chiều dài lá chét trung tâm ngắn (9,84 ± 0,84) và chiều dài cuống hoa ngắn (13,64 ± 2,65 cm). Các tính trạng khác không có nhiều khác biệt so với phân nhóm A và phân nhóm B. Cụ thể, các cá thể trong phân nhóm chiếm tỷ lệ đều nhau về tính trạng màu sắc thân, trong đó toàn bộ cá thể có thân màu tím đậm trên toàn thân. Trung bình số lá chét/kép trên 1 cây đạt 5,08 ± 0,37, chiều dài cuống lá đạt trung bình 7,00 ± 1,08 cm. Chiều dài và chiều rộng lá chét trung tâm lần lượt đạt 9,84 ± 0,84 cm và 3,7 ± 0,55 cm. 56,2% số cá thể trong phân nhóm có hình dạng lá thuôn dài, còn lại 37,5% có dạng lá hình thìa, 6,3% có dạng hình elip. Mép răng cưa chủ yếu đều, chiếm 75,0%, không đều chiếm 25,0%. Chiều dài cuống hoa ngắn đạt 13,64 ± 2,65 cm, tất cả mẫu giống có cụm hoa hình cầu. Đa số cá thể trong phân nhóm nở hoa sớm (trong tháng 4) chiếm 62,5%, nở hoa vào tháng 5 chiếm 12,5%, còn lại 25,0% cá thể hoa nở muộn trong tháng 6. Quả chín tất cả có màu đỏ, chấm đen ở đầu quả, trong đó số quả đơn chiếm ưu thế ở 75,0% cá thể, còn lại 25% cá thể có quả đơn xen lẫn quả đôi trên cây.

Hầu hết các tính trạng hình thái đánh giá không có sự khác biệt rõ ràng giữa các cá thể của cả 3 phân nhóm. 3 tính trạng chiều dài thân, chiều dài lá chét trung tâm và chiều dài cuống hoa có thể sử dụng như những đặc điểm hình thái quan trọng để đánh giá và chia bộ mẫu giống thành các phân nhóm nhỏ.

4. KẾT LUẬN

120 cá thể sâm Ngọc Linh trong vườn giống gốc của Công ty Cổ phần Sâm Ngọc Linh Tu Mơ Rông Kon Tum, tỉnh Kon Tum đã được mô tả và đánh giá 15 đặc điểm hình thái về thân, lá, hoa và quả.

- Đặc điểm về thân: chiều dài thân của cây trên 6 tuổi trong vườn giống gốc rất đa dạng, dao động từ 15 - 66 cm, trung bình đạt 37,8 cm và chia thành 3 nhóm: Nhóm thân ngắn chiếm tỷ lệ 24,2%, nhóm thân trung bình có tỷ lệ cao nhất chiếm 44,2% và nhóm thân dài chiếm 31,6%. Nhóm thân xanh chiếm tỷ lệ 15,0% và nhóm thân tím có tỷ lệ cao, chiếm 85,0% trên tổng số cá thể đánh giá. Nhóm thân màu

tím nhạt chiếm tỷ lệ 20,8%, nhóm có thân màu tím trung bình chiếm 16,7% và nhóm thân màu tím đậm chiếm tỷ lệ cao nhất, đạt 47,5% trên tổng số cá thể đánh giá. Nhóm có thân màu tím phân bố ở thân dưới chiếm tỷ lệ 30,8% và nhóm có màu tím trên thân phân bố đều toàn thân chiếm tỷ lệ cao nhất, đạt 54,2%.

- Đặc điểm về lá: nhóm có số lá chét/lá kép ít (< 5 lá) chiếm tỷ lệ 36,7%, nhóm trung bình (= 5 lá) chiếm tỷ lệ 37,5% và nhóm có trung bình số lá chét/lá kép trên 1 cây nhiều >5 lá chiếm tỷ lệ 25,8%. Nhóm cuống lá ngắn có tỷ lệ chiếm 15,0%, nhóm cuống lá trung bình chiếm tỷ lệ 52,5%, còn lại nhóm cuống lá dài đạt 32,5%. Nhóm lá chét trung tâm ngắn chiếm tỷ lệ 30,8%, nhóm lá chét chiều dài trung bình chiếm tỷ lệ 36,7% và nhóm lá chét dài chiếm 32,5%. Nhóm chiều rộng lá chét nhỏ chiếm 32,5%, đa số cá thể có chiều rộng lá chét trung bình chiếm tỷ lệ 45,0%. Nhóm có chiều rộng lá chét lớn chiếm 22,5%. Hình dạng lá chét cây sâm Ngọc Linh được phân làm 3 nhóm, trong đó nhóm lá có dạng hình elip chiếm 36,7%, nhóm lá có dạng thìa, phình to ở gần cuối lá chiếm tỷ lệ 45,0% và nhóm cuối cùng có lá thuôn dài chiếm tỷ lệ 16,6%. Mép răng cưa lá cây sâm Ngọc Linh đa số đều nhau, nhóm này chiếm tỷ lệ 82,7%, nhóm có mép răng cưa không đều chiếm tỷ lệ nhỏ, đạt 17,3%.

- Đặc điểm về hoa, quả: chiều dài cuống hoa cây sâm Ngọc Linh được phân làm 3 nhóm, trong đó nhóm cuống hoa ngắn chiếm tỷ lệ 30,0%, nhóm chiều dài cuống hoa trung bình chiếm tỷ lệ cao nhất, đạt 45,8% và nhóm có cuống hoa dài chiếm 24,2% trên tổng số cá thể đánh giá. Hình dạng cụm hoa sâm Ngọc Linh có duy nhất 1 nhóm hình cầu ở 100% cá thể đánh giá. Nhóm hoa nở sớm chiếm tỷ lệ 42,4%, nhóm thời gian nở trung bình chiếm tỷ lệ 46,8%, còn lại 10,8% thuộc nhóm nở muộn. Màu sắc quả sâm Ngọc Linh khi chín có màu đỏ và 100% có chấm đen phía đầu quả. Nhóm có quả đơn hình bán nguyệt chiếm tỷ lệ 45,2%, số cá thể có quả đôi chiếm 8,0%, còn lại 46,8% số cá thể có quả đơn xen lẫn một vài quả đôi trên cây.

120 mẫu giống sâm Ngọc Linh được phân thành 3 nhóm khi xây dựng cây phát sinh di truyền dựa trên 15 đặc điểm hình thái đánh giá, trong đó phân nhóm B là phân nhóm chiếm ưu thế với 85 cá thể, phân nhóm A có 19 cá thể, còn lại 16 cá thể thuộc phân nhóm C. Phân nhóm A thuộc nhóm thân dài với chiều dài đạt 52,94 ± 5,05 cm. Nhóm B có chiều dài thân trung bình, đạt 36,62 ± 5,57 cm. Phân nhóm C là nhóm thân ngắn (21,25 ± 2,44 cm), chiều dài lá chét trung tâm ngắn (9,84 ± 0,84) và chiều dài cuống hoa ngắn (13,64 ± 2,65 cm). Các đặc điểm hình thái khác không có sự khác biệt rõ ràng ở cả 3 phân nhóm. Tính trạng chiều dài thân, chiều dài lá chét trung tâm, chiều dài cuống hoa có thể sử dụng như những đặc điểm hình thái quan trọng để đánh giá và chia bộ mẫu giống thành các phân nhóm nhỏ.

LỜI CẢM ƠN

Nhóm tác giả xin chân thành cảm ơn Bộ Khoa học và Công nghệ đã tài trợ kinh phí cho nghiên cứu này. Đây là một trong những nội dung công việc của Dự án: Hoàn thiện quy trình ứng dụng chỉ thị phân tử và công nghệ phá ngủ nghỉ trong sản xuất giống ổn định, hiệu quả và canh tác sâm Ngọc Linh tập trung trong nhà màng. Mã số SPQG.12.04.DA.08/21.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Le T. H., Lee G. J., Vu H. K., Kwon S. W., Nguyen N. K., Park J. H., Nguyen M. D. (2015). Ginseng saponins in different parts of *Panax vietnamensis*. Chem Pharm Bull, 63 (11): 950-954.

2. Kim S., Park K. (2003). Effects of Panax ginseng extract on lipid metabolism in humans. Pharmacol Res., 48(5):511–513.

3. Jo I. H., Lee S. H., Kim Y. C., Kim D. H., Kim H. S., Kim K. H., Chung J. W., Bang K. H (2015). De novo transcriptome assembly and the identification of gene-associated single-nucleotide polymorphism markers in Asian and American ginseng roots. Mol Genet Genomics, 290(3):1055–1065.

4. Choi K. T. (2008). Botanical characteristics, pharmacological effects and medicinal components of Korean Panax ginseng C A Meyer. Acta Pharmacologica Sinica, 29(9), 1109–1118.

5. Bang K.H., *et al.* (2012). Variations of agronomic characteristics of cultivars and breeding lines in Korean ginseng (*Panax ginseng* C.A. Mey.). *Korean J. Med. Crop. Sci.*, 20 (4), pp .231-237.

6. Ryu K. R., Yeom M. H., Kwon S. S., Rho H. S., Kim D. H., Kim H. K., Yun K. W. (2012). Influence of air temperature on the histological characteristics of ginseng (*Panax ginseng* C. A. Meyer) in six regions of Korea. AJCS 6(12): 1637 – 1641.

7. International union for the protection of new varieties of plants (UPOV). Ginseng, 2017.

8. Trương Thị Hồng Hải, Trần Viết Thắng, Nguyễn Đức Phước, Võ Văn Tư (2018). Nghiên cứu xây dựng bảng mô tả tính trạng của cây Sâm Ngọc Linh tại huyện Nam Trà My, tỉnh Quảng Nam. *Tạp chí Khoa học Đại học Huế: Nông nghiệp và Phát triển nông thôn,* tập 127, số 3A, Tr. 19 - 36.

EVALUATION OF MORPHOLOGICAL CHARACTERISTICS AND GENETIC DIVERSITY OF NGOC LINH GINSENG (Panax Vietnamensis Ha et Grushv.) AT TU MO RONG, KON TUM

Khuat Thi Mai Lương[1], Nguyen Thi Minh Nguyet[1], Le Hung Linh[1]

[1]Agricultural Genetics Institute, VAAS

Summary

In this study, we evaluated morphological characteristics of 120 individuals Ngoc Linh ginseng of Tu Mo Rong Joint Stock Company, Kon Tum. The objective is to evaluate the homogeneity and diversity of seed sources for breeding - selecting new varieties and developing high-quality plants for production. The seed of Ngoc Linh ginseng studied was very diverse in length main stem. The main stem length, leaflet length, and peduncle length can be used as different morphological features to evaluate and divide plant varieties into sub-groups.

Keywords: *Ngoc Linh ginseng, morphological characteristics, genetic diversity, Kon Tum.*

Người phản biện: PGS.TS. Lã Tuấn Nghĩa

Ngày nhận bài: 29/9/2022

Ngày thông qua phản biện: 26/10/2022

Ngày duyệt đăng: 02/11/2022

ĐẶC ĐIỂM THỰC VẬT HỌC VÀ MÃ VẠCH ADN CỦA CÂY BÌM MỜ (*Ippomoea Obscura* [L.] Ker Gawl.), HỌ KHOAI LANG (Convolvulaceae)

Nguyễn Thị Thu Hằng[1, *], Dương Nguyên Xuân Lâm[1],
Nguyễn Đỗ Lâm Điền[1], Trịnh Túy An[2], Vũ Thanh Thảo[1], Trần Thị Thu Trang[1]

TÓM TẮT

Bìm mờ được sử dụng trong y học cổ truyền để chữa lở miệng. Nghiên cứu gần đây cho thấy dịch chiết lá Bìm mờ còn có tác dụng trên 3 dòng tế bào ung thư và ức chế sự nhân đôi của virus *Sar CoV - 2*. Khảo sát đặc điểm thực vật và trình tự ADN (ITS và *matK*) làm cơ sở cho việc định danh và kiểm nghiệm dược liệu là việc cần thiết cho việc phát triển cây thuốc này trong tương lai. Mô tả thực vật ghi nhận cây Bìm mờ: Dây leo, có nhựa trong. Lá có gốc hình tim. Hoa màu trắng ngà, mặt trong có vết màu tím sậm ở đáy. Hạt phấn hình cầu gai 60 - 70 µm. Đặc điểm giải phẫu đáng chú ý: Lông che chở và lông tiết. Libe quanh tủy. Ống nhựa mủ có đốt. Thành phần bột dược liệu đặc trưng: Lỗ khí kiểu song bào, tế bào mô cứng, sợi, thể cứng, khối chất nhựa màu vàng đậm. Phân tích mã vạch ADN vùng gen ITS và *matK* của mẫu nghiên cứu, đối chiếu với dữ liệu trên ngân hàng gen cho thấy mức độ tương đồng 100/100 với loài *Ipomoea obscura*. Trình tự gen ITS của mẫu Bìm mờ nghiên cứu cũng đã được công bố trên Genbank với mã số là OM841512.

Từ khóa: *Bìm mờ, Ipomoea obscura, hình thái, giải phẫu, bột dược liệu, mã vạch ADN.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Trong y học cổ truyền Việt Nam cây Bìm mờ (*Ipomoea obscura* (L.) Ker Gawl.) được dùng chữa lở miệng [1]. Dịch chiết toàn cây có tác dụng độc tế bào trên 3 dòng tế bào ung thư ở người (ung thư cổ tử cung, ung thư biểu mô thanh quản, ung thư phổi tế bào nhỏ) [2]. Dịch chiết ethanol của lá cây ức chế sự nhân lên của virus *Sar - CoV - 2* trong tế bào vật chủ [3]. Kết quả các nghiên cứu cho thấy Bìm mờ là một dược liệu tiềm năng và cần có thêm nhiều nghiên cứu tiếp theo. Trong nghiên cứu dược liệu, việc định danh chính xác đối tượng nghiên cứu rất quan trọng, tuy nhiên những nghiên cứu về đặc điểm thực vật học hay bột dược liệu Bìm mờ rất ít: Rajput K. S. và cs (2014) nghiên cứu sự phát triển của tượng tầng thặng dư (*successive cambia*) và libe 2 (gỗ 2) của *I. obscura* [4]; Trần Đức Bình và cs (2017) đã định danh, mô tả đặc điểm hình thái, sinh học, sinh thái, nơi phân bố của 13 loài làm thuốc thuộc chi *Ipomoea* ở Việt Nam [5]. Định danh thực vật bằng phương pháp hình thái so sánh chủ yếu dựa trên cơ quan sinh sản, tuy nhiên có những loài thực vật chỉ ra hoa quả vào một thời gian nhất định trong năm. Để khắc phục nhược điểm này định danh dựa vào mã vạch ADN (DNA barcode) ngày càng được nghiên cứu và phát triển. Ở Việt Nam chưa có công trình nào nghiên cứu về mã vạch ADN của cây Bìm mờ. Do vậy, nghiên cứu đặc điểm thực vật học và mã vạch ADN của cây Bìm mờ đã được thực hiện nhằm cung cấp cơ sở dữ liệu phục vụ cho việc xác định chính xác tên khoa học, kiểm nghiệm dược liệu.

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Mẫu cây tươi gồm thân, lá, hoa, quả và hạt của cây Bìm mờ.

2.2. Xác định tên khoa học

Dùng phương pháp so sánh đặc điểm hình thái và các tài liệu chuyên ngành [6], [7].

2.3. Nghiên cứu đặc điểm hình thái

Dùng kính soi nổi (Nikon C-LEDS, số hiệu: 219987) và kính hiển vi quang học (Nikon E200, số hiệu: 406413) để quan sát và các cơ quan thân, lá, hoa, quả, hạt. Mô tả và chụp hình minh họa các đặc điểm trên.

2.4. Nghiên cứu đặc điểm giải phẫu

Thân, phiến lá, cuống lá được cắt ngang thành lát mỏng bằng dao lam. Thân: Cắt ngang 5 đoạn cành

[1] Đại học Y Dược thành phố Hồ Chí Minh
* Email: nguyenthithuhang@ump.edu.vn
[2] Trung tâm Khoa học công nghệ Dược Sài Gòn, Đại học Y Dược thành phố Hồ Chí Minh

khác nhau có đường kính 0,15 - 0,25 cm. Phiến lá: Cắt ngang ở 1/3 phía đáy phiến của 5 lá trưởng thành khác nhau. Cuống lá: Cắt ngang đoạn giữa của 5 cuống lá của 5 lá trưởng thành khác nhau. Vi phẫu được nhuộm bằng thuốc nhuộm kép son phèn và lục iod. Quan sát vi phẫu trong nước bằng kính hiển vi quang học. Mỗi bộ phận quan sát từ 5 - 10 lát cắt. Mô tả và chụp hình đặc điểm giải phẫu của các bộ phận thân, phiến lá và cuống lá.

2.5. Nghiên cứu đặc điểm bột dược liệu

Bộ phận dùng của cây được cắt nhỏ và sấy ở nhiệt độ 60 - 70^{0}C đến khô, nghiền và rây qua rây số 32. Quan sát các thành phần của bột trong nước cất dưới kính hiển vi quang học. Mô tả và chụp hình các cấu tử bột.

2.6. Phân tích mã vạch ADN

ADN tổng số được tách chiết từ mẫu mô lá tươi bằng kit tách chiết ADN của Thermo Scientific™. Mẫu ADN tổng số được kiểm tra độ tinh sạch và xác định nồng độ bằng phương pháp đo quang. Trình tự 2 gen mục tiêu ITS và *matK* được khuếch đại bằng phản ứng PCR (Polymerase Chain Reaction) sử dụng kit i-Taq^{TM} ADN polymerase của iNtRON với chu trình nhiệt như sau: 95^{0}C trong 5 phút; 34 chu kỳ với ba giai đoạn gồm 95^{0}C trong 30 giây, 48^{0}C trong 40 giây, 72^{0}C trong 60 giây; 72^{0}C trong 10 phút. Sản phẩm PCR được điện di để kiểm tra kích thước và độ tinh sạch trên gel agarose 1%. Sản phẩm PCR của gen mục tiêu được giải trình tự hai chiều bằng phương pháp Sanger. Các trình tự gen ghi nhận được lắp ráp và so sánh đối chiếu với các trình tự trên GenBank (NCBI). Cây phát sinh loài được dựng bằng phần mềm MEGA 11 với phương pháp phân tích Neighbor joining, mô hình Kimura 2 parameter, số lần boothstrap là 1000.

Bảng 1. Các đoạn mồi dùng cho phản ứng PCR

Gen mã hóa	Tên mồi	Trình tự mồi (5'-3')	Tài liệu tham khảo
ITS	ITS-U1	GGAAGKARAAGTCGTAACAAGG	[8]
	ITS-U4	RGTTTCTTTTCCTCCGCTTA	
matK	matK-427F	CCCRTYCATCTGGAAATCTTGGTTC	[9]
	matK-1248R	GCTRTRATAATGAGAAAGATTTCTGC	

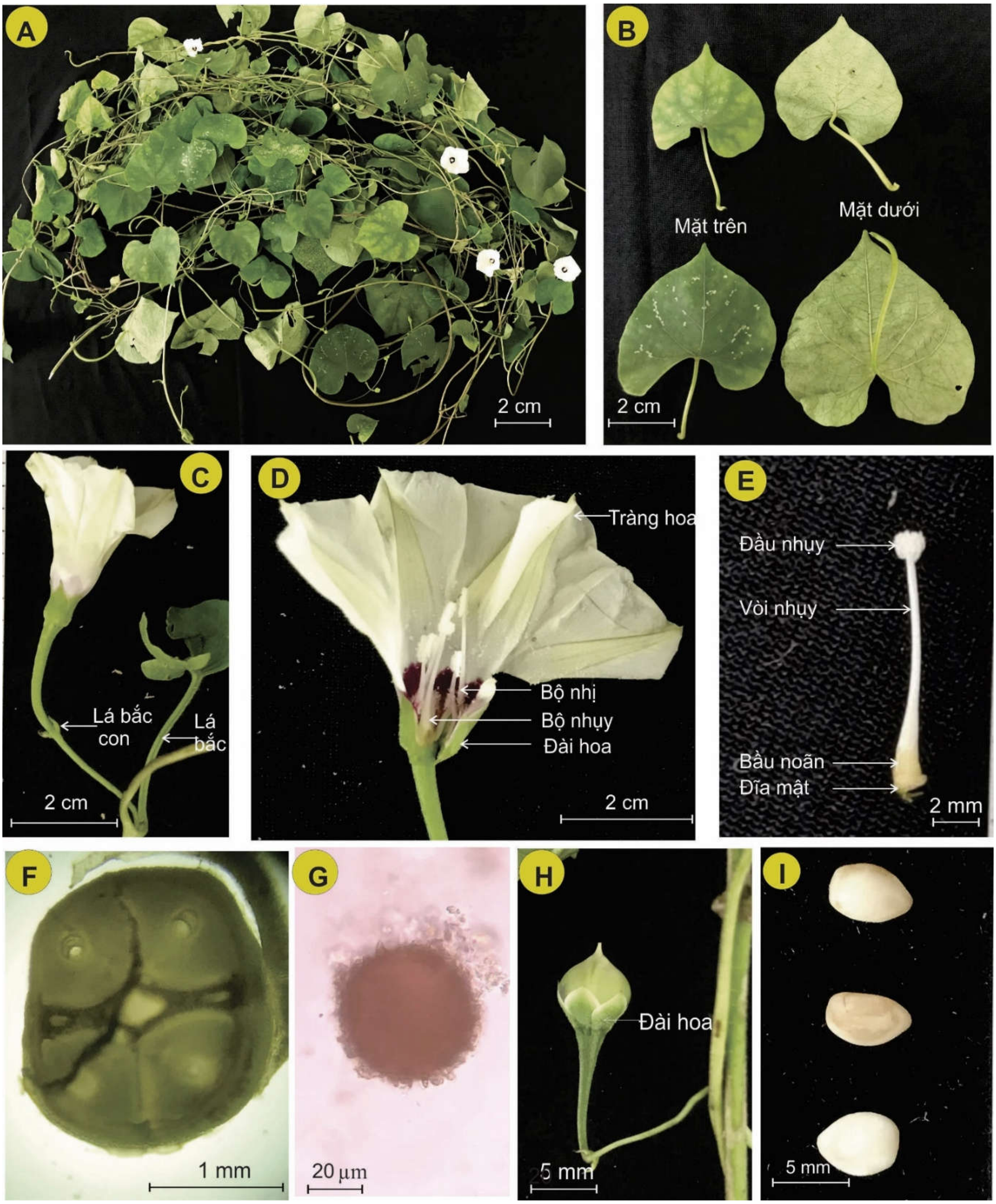
3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Đặc điểm hình thái

Dây leo bằng thân quấn; mảnh, màu xanh hoặc một mặt xanh một mặt tía, không lông hay phủ lông thưa đến nhiều lông, cây có nhựa trong. Lóng dài từ 4,5 - 10,5 cm. Cuống lá hình trụ, dài 2,5 - 5,5 cm; mặt trên phớt tía, có rãnh nông và nhiều lông (lá non) hoặc ít lông; mặt dưới xanh. Lá đơn, mọc cách không có lá kèm, bìa nguyên, gốc hình tim, đầu thuôn nhọn; dài 4 - 5,5 cm, rộng 4,5 - 5,5 cm; gân hình chân vịt với 7 gân chính; có rất ít lông (Hình 1.A-B).

Cụm hoa: Xim 2 ngả 3 hoa mọc ở kẽ lá. (Hình 1.C).

Hoa đều, lưỡng tính, mẫu 5, đường kính hoa nở 2,3 - 2,8 cm. Cuống hoa hình trụ mảnh, dài khoảng 0,8 - 1,2 cm, màu xanh lục nhạt hay xanh phớt tía. Lá bắc giống lá thường. Hai lá bắc con dạng vảy, đầu nhọn có màu tía. Lá bắc và lá bắc con tồn tại. 5 lá đài rời, gần đều; hình bầu dục đầu nhọn, hai mép mỏng; dài 4 - 5 mm, rộng 2 mm; màu xanh nhạt; tiền khai năm điểm, tồn tại. 5 cánh hoa xếp nếp trong nụ, dính nhau thành hình phễu cao 2,2 - 2,4 cm; tràng hoa màu trắng ngà, mặt ngoài có một dải hình tam giác màu vàng nhạt ở giữa, khi hoa nở các dải này hợp thành hình ngôi sao 5 cánh, mặt trong gốc cánh hoa có vết màu tím sậm; tiền khai vặn ngược chiều kim đồng hồ. 5 nhị rời, không đều, 2 nhị dài ở 2 bên và 3 nhị ngắn. Chỉ nhị màu trắng, gốc hơi phình, thuôn hẹp về phía trên; chỉ nhị của nhị ngắn cao 0,5 cm, chỉ nhị của nhị dài cao 1 cm. Bao phấn hình bầu dục, cao 1,5 - 2 mm, màu trắng ngà, 2 ô, nứt dọc, hướng trong, đính đáy. Hạt phấn rời, hình cầu gai, màu trắng, đường kính 60 - 70 µm. Hai lá noãn, bầu trên 2 ô, có vách giả chia thành bầu 4 ô, mỗi ô 1 noãn, đính noãn trung trụ gần đáy bầu. Bầu nhụy hình quả lê màu trắng ngà, cao khoảng 1,5 mm. Một vòi nhụy dạng sợi hơi phình ở gốc, màu trắng, dài khoảng 6 - 7 mm, đính ở đỉnh bầu. Đầu nhụy hình cầu màu trắng, chia 2 thùy nông. Đĩa mật dạng khoen màu vàng nhạt bao quanh đáy bầu. Quả nang, hình cầu đỉnh nhọn; quả non màu xanh đường kính 5 - 6 mm. Hạt 3 - 4, hình bầu dục, kích thước 4 x 3 mm, màu trắng, có ít lông rất ngắn (Hình 1.D-I).



Hình 1. Đặc điểm hình thái cây Bìm mờ

(A. Dạng sống, B. Lá, C. Cụm hoa, D. Hoa cắt dọc, E. Bộ nhụy, F. Bầu noãn cắt ngang, G. Hạt phấn, H. Quả, I. Hạt)

3.2. Đặc điểm giải phẫu

3.2.1. Thân

Vi phẫu cắt ngang thân non gần tròn, thân già hình trứng hay đa giác góc tù. Tỉ lệ vỏ và trung trụ là 1: 5.

Vùng vỏ: Biểu bì, 1 lớp tế bào hình chữ nhật hoặc đa giác, lớp cutin dày và có răng cưa. Lỗ khí ít. Lông che chở dài, đa bào (1 tế bào ngắn bên dưới và 1 tế bào dài bên trên). Mô dày góc, 3 - 4 lớp tế bào. Mô mềm đạo, 2 - 3 lớp tế bào (Hình 2-A-B-C).

Vùng trung trụ: Trụ bì, 1 - 3 lớp tế bào hóa mô cứng không liên tục. Hệ thống dẫn cấu tạo cấp 2 kiểu hậu thể liên tục. Libe 1 xếp từng cụm. Libe 2, tế bào hình chữ nhật hoặc đa giác. Gỗ 2; mạch gỗ 2 thường xếp thành từng dãy. Ở 2 đầu hoặc những chỗ lồi của vi phẫu có những mạch gỗ 2 kích thước lớn gấp 4 - 6 lần các mạch gỗ 2 khác. Mô mềm gỗ 2 vách tẩm gỗ. Gỗ 1 rải rác quanh vi phẫu, thường nối tiếp các dãy mạch gỗ 2. Mô mềm gỗ 1 vách cellulose. Tia tủy hẹp, 1 - 2 dãy tế bào. Libe quanh tủy. Mô mềm tủy đạo. Tinh thể calci oxalat nhiều trong vùng libe (đường kính 10 - 15 µm); rải rác trong mô mềm tủy và vỏ (đường kính 22,5 - 25 µm). Ống nhựa mủ có đốt rải rác trong mô mềm vỏ và tủy (Hình 2A-B-C-D-E).

3.2.2. Lá

Gân giữa có mặt trên lồi nhọn, mặt dưới lồi tròn. Biểu bì trên và biểu bì dưới 1 lớp tế bào, tế bào biểu bì trên lớn hơn tế bào biểu bì dưới. Lớp cutin mỏng, có răng cưa. Rất ít lông che chở cấu tạo như ở thân. Mô dày góc trên 6 - 7 lớp, mô dày góc dưới 3 - 4 lớp. Mô mềm đạo. Hệ thống dẫn cấu tạo cấp 1, xếp thành hình cung với gỗ ở trên, libe ở dưới. Phía trên gỗ 1 có những cụm libe quanh tủy. Ống nhựa mủ có đốt rải rác trong mô mềm (Hình 3.C).

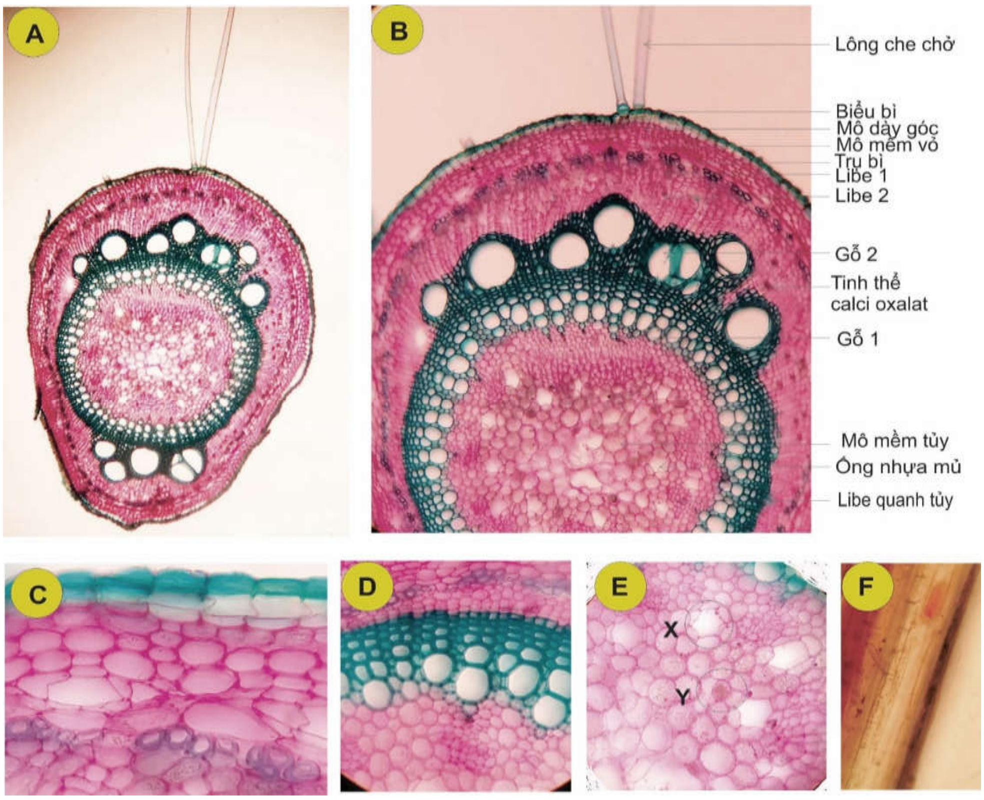
3.2.3. Phiến lá

Biểu bì trên và dưới, 1 lớp tế bào hình đa giác hay chữ nhật, kích thước gần như nhau. Lỗ khí nhiều hơn ở biểu bì dưới. Rất ít lông tiết chân đơn bào, đầu 8 tế bào ở hai lớp biểu bì. Mô mềm giậu, 1 - 2 lớp tế bào. Mô mềm khuyết, tế bào hình bầu dục hoặc hơi đa giác, vách hơi uốn lượn. Bó gân phụ với một vài mạch gỗ và ít tế bào libe.

Tinh thể calci oxalat hình cầu gai ít trong libe, mô dày, mô mềm và thịt lá; đường kính 12,5 - 15 µm. 15 µm (Hình 3.C1-C3).

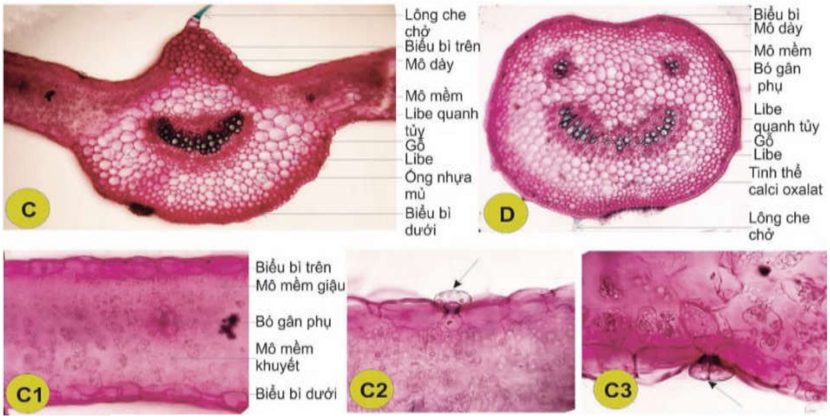
3.2.4. Cuống lá

Vi phẫu cắt ngang có mặt trên lõm với 2 tai tròn, mặt dưới lồi tròn. Biểu bì, 1 lớp tế bào; lớp cutin mỏng, có răng cưa. Lỗ khí ít. Rất ít lông tiết và lông che chở như ở phiến lá. Mô dày góc, 3 - 4 lớp tế bào. Mô mềm đạo. Hệ thống dẫn có cấu trúc tương tự gân giữa, phía trên hai đầu cung libe gỗ có thêm 2 bó gân phụ với gỗ ở trong libe ở ngoài. Tinh thể calci oxalat hình cầu gai đường kính 20 - 30 µm rải rác trong mô mềm. Ống nhựa mủ có đốt rải rác trong mô mềm (Hình 3.D).



Hình 2. Đặc điểm giải phẫu thân Bìm mờ

(A. Toàn vi phẫu thân, B. Một phần vi phẫu thân, C. Vùng vỏ, D. Vùng trung trụ, E. Vùng tủy (X. Ống nhựa mủ, Y. Tinh thể calci oxalat), F. Ống nhựa mủ trên vi phẫu dọc của thân trong dung dịch iod)



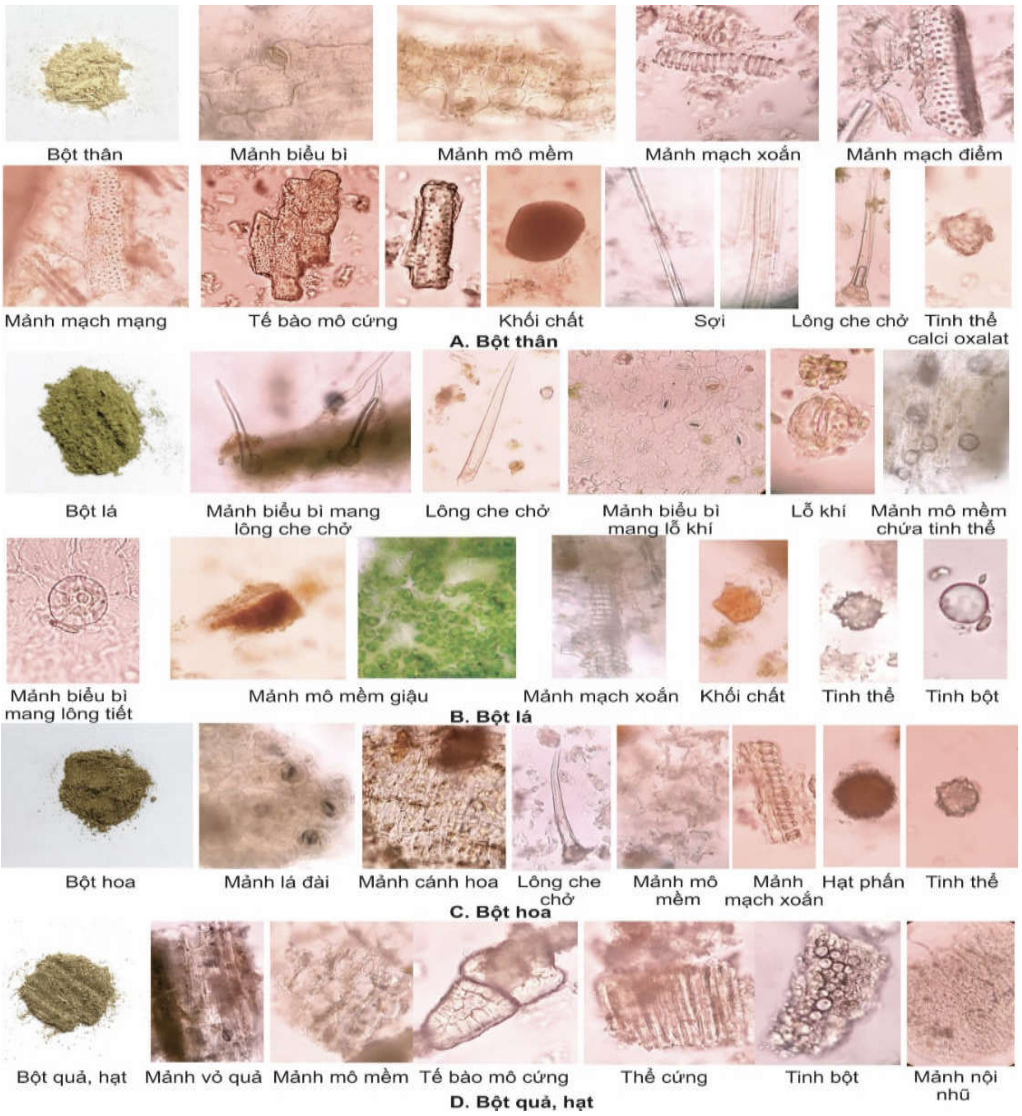
Hình 3. Đặc điểm giải phẫu lá và cuống lá Bìm mờ

(C. Vi phẫu lá; D. Vi phẫu cuống lá; C1. Vi phẫu một phần phiến lá; C2, C3. Lông tiết)

3.3. Đặc điểm bột dược liệu

3.3.1. Bột thân

Màu vàng nhạt, hơi thô, ít xơ, không mùi, không vị. Thành phần: Mảnh biểu bì mang lỗ khí kiểu song bào, lông che chở, mảnh mô mềm; mảnh mạch xoắn, mạch điểm, mạch mạng; tế bào mô cứng, sợi; khối chất nhựa màu vàng đậm, tinh thể calci oxalat hình cầu gai đường kính 17,5 µm (Hình 4.A).



Hình 4. Đặc điểm bột dược liệu Bìm mờ

3.3.2. Bột lá

Màu xanh rêu, mịn, không mùi, không vị. Thành phần: Mảnh biểu bì mang lông che chở, lông tiết. Lông che chở nguyên hoặc bị gãy. Mảnh biểu bì mang lỗ khí kiểu song bào. Mảnh mô mềm giậu. Mảnh mô mềm. Mảnh mạch xoắn. Khối chất nhựa màu vàng. Tinh thể calci oxalat hình cầu gai đường kính 12,5 - 15 µm. Rất ít hạt tinh bột hình tròn, tễ không rõ, đường kính 7,5 - 10 µm (Hình 4.B).

3.3.3. Bột hoa

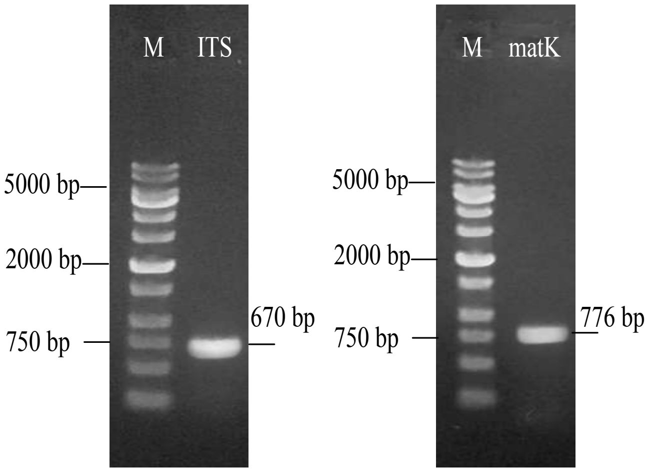
Màu vàng nâu, mịn, không mùi, không vị. Thành phần: Mảnh biểu bì lá đài mang lỗ khí. Mảnh biểu bì cánh hoa. Lông che chở. Mảnh mô mềm. Mảnh mạch xoắn. Hạt phấn hình cầu gai, 15 - 20 µm. Tinh thể calci oxalat hình cầu gai đường kính 10 - 12,5 µm (Hình 4.C).

3.3.4. Bột quả và hạt

Màu vàng xám, mịn, không mùi, không vị. Thành phần: Mảnh biểu bì vỏ quả. Mảnh mô mềm. Tinh thể calci oxalat hình cầu gai đường kính 10 - 12,5 µm. Tế bào mô cứng. Hạt tinh bột nhiều, hình tròn hoặc bầu dục, tễ dạng chấm hoặc vạch, kích thước 5 - 12,5 µm. Mảnh thể cứng ở vỏ hạt. Mảnh nội nhũ (Hình 4.D).

3.4. Phân tích mã vạch ADN

Mẫu ADN tổng số được kiểm tra độ tinh sạch với tỷ lệ $OD_{260/280}$ đạt 1,956 và nồng độ ADN chiết được là 46 ng/µL. Sản phẩm PCR của gen mục tiêu ITS và *matK* từ ADN tổng số được kiểm tra bằng phương pháp điện di, kết quả được thể hiện ở hình 5.



Hình 5. Kết quả điện di sản phẩm PCR của gen ITS và *matK. (M: marker)*

Trình tự gen ITS của mẫu Bìm mờ nghiên cứu đã được công bố trên Genbank với mã số là OM841512. Trình tự của gen ITS và *mat*K sau khi giải và lắp ráp các trình tự như sau:

>ITS_Bim mo

GGATCATTGTCGAAACCTGCACAGCAGAACGACCAGAGAACATGTTTGCTATTCACTATCCTCGTCC
GGGTCGCGTCCCCCTCCTCGGGGGCGGGCTCGTCTCGGCCGATCAACGAACCCCCGGCGCGGACTGC
GCCAAGGAATACTTTAATGAGATGGCCAGCCGCCCGTGCCCCGTTATTGCGGATCGTGCGGGAGGTGT
CGGTGTCCTACTTAATAAAAAACGACTCTCGGCAACGGATATCTCGGCTCTCGCATCGATGAAGAACGT
AGCGAAATGCGATACTTGGTGTGAATTGCAGAATCCCGTGAACCATCGAGTCTTTGAACGCAAGTTGCG
CCCGAAGCCGTCAGGCCGAGGGCACGTCTGCCTGGGCGTCACGCATCGCGTCGCCCCCCATACTCGAC
CATTTGTCGAGAATTGGGGAGCGGATGATGGCCTCCCGTGCTCCCACTAGGCGCGCGGTTGGCCCAAA
TGCGAGTCCCTGGCGACGGACGTCACGGCGAGTGGTGGTCGTACCCAGCGTGCATATCGTCGCGCCGT
GCCCCCGTCGCTCGCGGGAGAATGACCCTAACGAGCCCACTATAGTGCGGCTCTCCGACCGCGACCCC
AGGTCAGGCGGGATTA

> matK_Bim mo

AAACTCTTCACTATTGGGTGAAAGACGCTTCTTCTTTGCATCTATTACGATTCTTTCTCCACGAGTAT
TGCAATTTTCATAGTTTCATTACTCCAAAGAGGTCCCGTTCCCCTTTTTCAAAGATAAATCAAAGATTTTT
CTTCTTCTTATATAACTCTTATGTATGTGAATATGAATCCATTTTTTTATTTCTCCGTAACCAATCTCTTC
ATTTACGATCAACCAGTTTTGGAGCCCTTTTTGAACGAAACATTTTCTATGGAAAAATAGAATGCTTTGC
AAAAGTCTTTGCTAAGGATTTTAAGGCAAACCTATGTTTGCTCAAGGATGCGGATCTTTCCATGCATTAT
TTTAGGTATCGGGGAAAATCAATTCTGGCTTCAAAAGGAACGCTTCTTTTGATGTCTAAATGGAACTATT
ATTTTGTCAATTTTTGGCAATCTTCTTTTTGTTTGTGGTTCCATACTGGAAGAATCTATATAAGCCAACTA
TCCAGCCATTCCCTTGACTTTATGGGCTATCTTTCAAGTATTCCACTAACCCCCTCAACGGTACGGAGTC
AAATGCTAGAGAATTCTTTTTTAATCAATAATGCTATTAAGAAATTCGATACTATTGTTCCAATTATTCCT

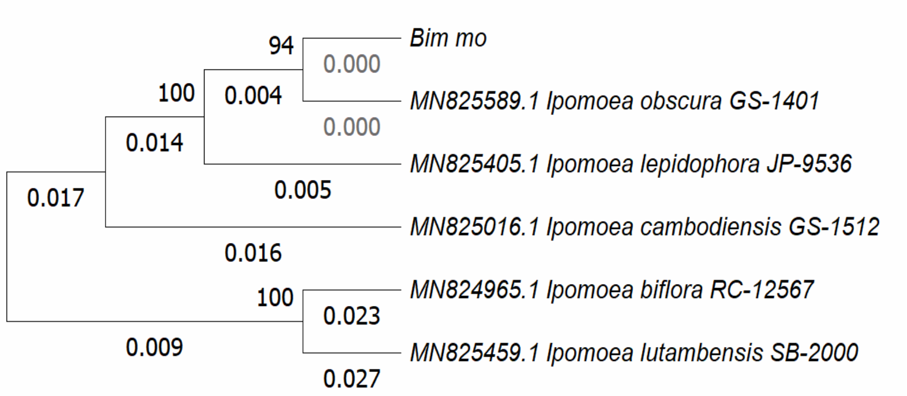
ATCATTGGATCATTAGCTAAAGCTAAATTTTGTAATGTGCTAGGGAATCCCATTAGTAAACCGGTTTGGG
CCGATTTATCAGATTCTGATATTATTGAACGG

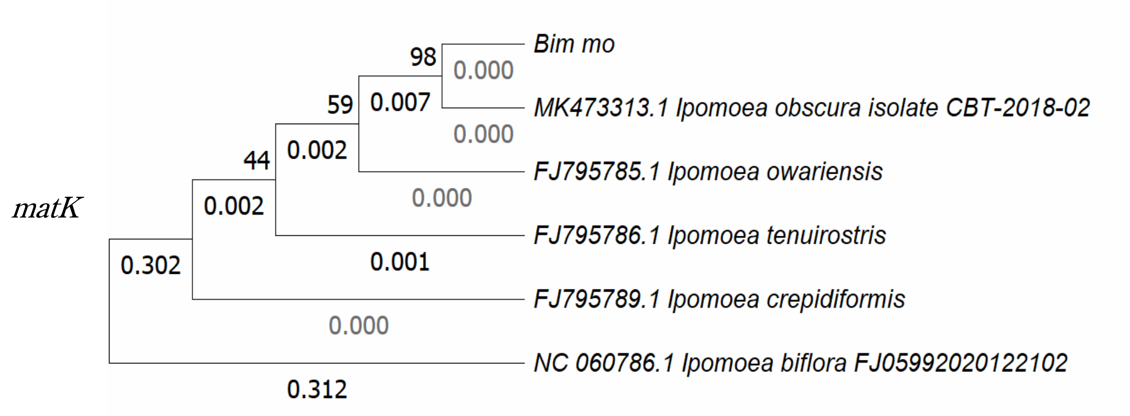
Các kết quả BLAST trình tự ITS và *matK* có tỷ lệ bao phủ (%)/mức độ tương đồng (%) cao nhất được trình bày ở bảng 2. Dựa trên dữ liệu mã vạch ADN cho thấy mẫu cây Bìm mờ thuộc loài *Ipomoea obscura*, với tỷ lệ bao phủ/mức độ tương đồng trình tự gen ITS và *matK* đạt 100/100. Cây phát sinh loài từ dữ liệu gen ITS và *matK* được xây dựng bằng phần mềm MEGA 11 theo phương pháp Neighbor-joining (Hình 6).

Bảng 2. Kết quả BLAST trình tự gen ITS và *matK* của Bìm mờ

Gen	Kết quả định danh	Trình tự tham chiếu	Tỷ lệ bao phủ (%)	Mức độ tương đồng (%)
ITS	*Ipomoea obscura* voucher GS-1401	MN825589	100	100
	Ipomoea obscura voucher TuTY1511	MH768121	100	100
	Ipomoea obscura voucher CW-5505	MN825588	100	99,84
	Ipomoea ochracea voucher WTS-39	MN825595	100	99,84
	Ipomoea ochracea voucher IB-9608	MN825594	100	99,84
matK	*Ipomoea obscura* isolate CBT-2018-02	MK473313	100	100
	Ipomoea obscura chloroplast	KF242499	100	100
	Ipomoea obscura maturase K	FJ795784	100	99,86
	Ipomoea obscura voucher TuTY2296	MH767822	99	100
	Ipomoea crepidiformis maturase K	FJ795789	100	99,46

ITS





Hình 6. Cây phát sinh loài được xây dựng dựa trên gen ITS và *matK*

3.5. Thảo luận

Lá Bìm mờ vừa có lông che chở và lông tiết, nhưng chưa thấy tài liệu nào đề cập đến. Ống nhựa mủ có đốt không chỉ có trong thân, mà còn trong phiến và cuống lá. Libe quanh tủy ở thân Bìm mờ là libe sơ cấp, tuy nhiên ở một số loài *Ipomoea* khác có cấu tạo cấp 2 [10].

Kết quả BLAST cho thấy, trình tự gen *matK* có mức độ tương đồng cao với các loài thuộc chi *Ipomoea*, nhưng vẫn cho phép phân biệt *Ipomoea obscura* với các loài cùng chi với tỷ lệ bao phủ/mức độ tương đồng đạt 100/100. Mức độ tương đồng trình tự gen ITS giữa các loài thuộc chi *Ipomoea* khá cao, đặc biệt giữa 2 loài *Ipomoea obscura* và *Ipomoea ochracea* với tỷ lệ bao phủ/mức độ tương đồng lần lượt là 100/100 và 100/99,84. Việc sử dụng tổ hợp gen *matK* và ITS để phân tích mã vạch ADN giúp tăng độ tin cậy của kết quả định danh. Trình tự gen ITS và *matK* của Bìm mờ đã được công bố trên GenBank (NCBI), góp phần bổ sung dữ liệu cho các nghiên cứu về sinh học phân tử và di truyền của loài *Ipomoea obscura* nói riêng và chi *Ipomoea* nói chung.

4. KẾT LUẬN

Mô tả thực vật ghi nhận cây Bìm mờ dạng dây leo, có nhựa trong. Lá có gốc hình tim. Hoa màu trắng ngà, mặt trong có vết màu tím sậm ở đáy. Hạt phấn hình cầu gai 60 - 70 µm. Đặc điểm giải phẫu đáng chú ý: Lông che chở và lông tiết. Libe quanh tủy. Ống nhựa mủ có đốt. Thành phần bột dược liệu đặc trưng: Lỗ khí kiểu song bào, tế bào mô cứng, sợi, thể cứng, khối chất nhựa màu vàng đậm. Phân tích mã vạch ADN vùng gen ITS và *matK* của mẫu nghiên cứu, đối chiếu với dữ liệu trên ngân hàng gen cho thấy mức độ tương đồng 100/100 với loài *Ipomoea obscura*.

LỜI CẢM ƠN

Nhóm nghiên cứu xin cảm ơn Đại học Y Dược thành phố Hồ Chí Minh đã hỗ trợ kinh phí để thực hiện đề tài này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Phạm Hoàng Hộ (2006). *Cây có vị thuốc ở Việt Nam*. Nxb Trẻ, thành phố Hồ Chí Minh: 450.

2. Srinivasan R., Senthil Rajan D., Ashok G., Kumarappan C. T. (2014). Cytotoxic and antimicrobial activity of Ipomoea obscura. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, 8 (1): 529 - 532.

3. Balamuralikrishnan Balasubramanian, Saravana Prabha Poochi, Murugesh Easwaran *et al.* (2020). *Employing bioactive compounds derived from Ipomoea obscura (L.) to evaluate potential inhibitor for SARS-CoV-2 main protease and ACE2 protein. Food Frontiers*, 1:168-179, DOI: 10.1002/fft2.29.

4. Kishore S. Rajput, Bharat D. Chaudhary & Vidya S. Patil (2014). Development of successive cambia and structure of secondary xylem of *Ipomoea obscura* (Convolvulaceae). *Polish Botanical Journal*, 59 (1): 55 - 61, 2014 DOI: 10.2478/pbj-2014-0009.

5. Trần Đức Bình, Dương Thị Hoàn, Nguyễn Thị Thanh Hương và cộng sự (2017). Những loài có giá trị làm thuốc thuộc chi Khoai lang (*Ipomoea* L.) họ Bìm bìm (Convolvulaceae Juss.) ở Việt Nam, Hội nghị khoa học về sinh thái và tài nguyên sinh vật lần thứ 7: 1116-1121.

6. Võ Văn Chi (2004). *Từ điển Thực vật thông dụng*. Quyển 2. Nxb Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội: 173-174.

7. Phạm Hoàng Hộ (2000). *Cây cỏ Việt Nam*. Quyển II. Nxb Trẻ, thành phố Hồ Chí Minh, tr. 450.

8. Cheng, T., Xu C., Lei L., Li C., Zhang Y., Zhou S. (2016). Barcoding the kingdom Plantae: new PCR primers for ITS regions of plants with improved universality and specificity. Moleculer Ecology Resources, 16 (1): 138 - 149.

9. Yu, J., Xue J. H., Zhou S. (2011). New universal matK primers for DNA barcoding angiosperms. *Journal of Systematics and Evolution*. 49 (3): 176 - 181.

10. Patil V. S., Rao K. S., Rajput K. S. (2009). *Development of intraxylary phloem and internal cambium in Ipomoea hederifolia* (Convolvulaceae). *The Journal of the Torrey Botanical Society*. 136: 423 - 432.

THE BOTANICAL CHARACTERISTICS AND DNA BARCODE OF *Ipomoea obscura* (L.) Ker Gawl. (Convolvulaceae)

Nguyen Thi Thu Hang[1, *], Duong Nguyen Xuan Lam[1],

Nguyen Do Lam Dien[1], Trinh Tuy An[2], Vu Thanh Thao[1], Tran Thi Thu Trang[1]

[1]Faculty of Pharmacy, University of Medicine and Pharmacy at Ho Chi Minh city

[2]Saigon Pharmaceutical Science and Technology Center

**Email: nguyenthithuhang@ump.edu.vn*

Summary

Ipomoea obscura is used in traditional medicine to treat mouth sores. Recently, the leaf extract of this plant showed the effect on 3 cancer cell lines and inhibits the replication of virus *Sar – CoV - 2*. It is neccesary to study the botanical characteristics and analyzed the ITS and matK gene sequences for identification this plant. Result of morphology: Herbs twining with milky juice. The leaves have base cordate. Corolla white, with a purple center. Pollen finely spiny 60 - 70 µm. Remarkable anatomy features: Trichomes and glandular trichomes. Inner phloem. The laticiferous cell. Remarkable herbal powder: Paracytic stomata, brachysclereids, filiform sclereids, macrosclereids, dark yellow mass. BLAST analysis of ITS and matK DNA barcode regions of the sample with the NCBI data, showed 100/100 similarity with Ipomoea obscura species accessions. The ITS sequence of the studied sample was also published on Genbank with codes OM841512.

Keywords: *Ipomoea obscura, morphology, anatomy, herbal powder, DNA barcode.*

Người phản biện: TS. Nguyễn Thị Lan Hoa

Ngày nhận bài: 24/10/2022

Ngày thông qua phản biện: 24/11/2022

Ngày duyệt đăng: 30/11/2022

NGHIÊN CỨU ẢNH HƯỞNG CỦA MỘT SỐ BIỆN PHÁP KỸ THUẬT TRỒNG ĐẾN KHẢ NĂNG SINH TRƯỞNG, PHÁT TRIỂN, NĂNG SUẤT VÀ CHẤT LƯỢNG CỦA CÂY SÂM CAU (*Curculigo orchioides* Gaertn.) TẠI TAM ĐẢO, VĨNH PHÚC

Bùi Thị Xuân[1], Nguyễn Văn Tâm[1, *], Trần Thị Lan[1], Nguyễn Quang Tin[2]

TÓM TẮT

Sâm cau (*Curculigo orchioides* Gaertn.) là một cây thuốc quý, có trong nhiều bài thuốc đông y của y học cổ truyền và đang có nguy cơ tuyệt chủng. Việc nghiên cứu các biện pháp kỹ thuật trồng và chăm sóc có ý nghĩa rất lớn trong việc bảo tồn và phát triển loài cây này. Thí nghiệm được bố trí theo kiểu khối ngẫu nhiên đầy đủ (RCB) với 3 lần nhắc lại tại Tam Đảo, Vĩnh Phúc. Kết quả của nghiên cứu cho thấy, thời vụ giữa xuân (tháng 3), cây Sâm cau có khả năng sinh trưởng và phát triển tốt và cho năng suất thực thu tốt nhất đạt 2,23 tấn/ha ở năm thứ 3. Khoảng cách trồng 10 x 20 cm cho hiệu quả kinh tế tốt nhất vì tiết kiệm quỹ đất, giảm công làm cỏ và cho năng suất thực thu năm thứ 3 đạt được 2,62 tấn/ha là tối ưu. Lượng phân bón thích hợp cho cây Sâm cau gồm 2 tấn phân vi sinh, 120 kg N, 80 kg P_2O_5 và 120 kg K_2O/ha cho đường kính củ đạt 1,39 cm, năng suất thực thu năm thứ 3 đạt 2,26 tấn/ha, hàm lượng hoạt chất curculigoside đạt 0,127%. Cây Sâm cau khi được che bóng với độ che sáng 25% cho thấy sức sinh trưởng tốt hơn các công thức che sáng khác (không che sáng, che sáng 50%, che sáng 75%). Thời điểm thu hoạch thích hợp với cây Sâm cau là năm thứ 3 sau trồng.

Từ khóa: *Thời vụ trồng, khoảng cách trồng, lượng phân bón, độ che sáng, thời điểm thu hoạch, Sâm cau.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Sâm cau (*Curculigo orchioides* Gaertn), thuộc họ Hạ trâm Hypoxidaceae). Ở Việt Nam, Sâm cau mọc ở các tỉnh miền núi từ Lai Châu, Cao Bằng, Tuyên Quang đến Tây Nguyên. Sâm cau là cây ưa ẩm, ưa sáng và có thể hơi chịu bóng, thường mọc trên những nơi đất còn tương đối màu mỡ trong thung lũng, chân núi đá vôi hoặc ven nương rẫy. Rễ củ Sâm cau là một vị thuốc quý và có mặt trong nhiều bài thuốc đông y của y học cổ truyền. Theo Đông Y, Sâm cau có vị cay, tính ấm, có độc, vào hai kinh tỳ và thận, có tác dụng làm ấm cơ thể, cường dương, mạnh gân cốt... Nhiều nghiên cứu về dược lý đã chứng minh khả năng điều hòa miễn dịch, tăng cường chức năng gan, chống oxy hóa, chống loãng xương, kháng khuẩn, kháng histamine, hạ đường huyết, trợ sinh, chống viêm, chống ung thư và các hoạt động chống đái tháo đường của Sâm cau. Thân rễ Sâm cau rất giàu curculigoside, glycosides, steroid, flavonoid và nhiều hợp chất polyphenol khác nhau [1]. Phân tích hóa thực vật sơ bộ cho thấy thêm sự hiện diện của chất nhầy, tannin, saponin và tinh dầu trong Sâm cau. Khi phân tích hóa thực vật bằng HPTLC cho thấy sự hiện diện của arbutin, glycosides, coumarins, tinh dầu, lignans, saponins, triterpenes và valepotraites [2].

Sâm cau đã được đưa vào Danh lục Đỏ cây thuốc Việt Nam (2019) thuộc nhóm nguy cấp (EN) [3]. Do đó việc tìm ra kỹ thuật nhân giống, trồng Sâm cau là rất quan trọng. Ở Việt Nam cho đến nay chưa có nhiều các công bố nghiên cứu về nhân giống, trồng Sâm cau. Nghiên cứu này nhằm đánh giá ảnh hưởng của thời vụ, khoảng cách trồng, lượng phân bón, độ che sáng và thời điểm thu hoạch đến khả năng sinh trưởng, phát triển, năng suất và chất lượng của củ Sâm cau để từ đó đề xuất được một số biện pháp kỹ thuật trồng và chăm sóc cho cây sâm cau thực hiện tại Tam Đảo, Vĩnh Phúc.

[1] Trạm Nghiên cứu Trồng cây thuốc Tam Đảo, Viện Dược liệu
* Email: n.hoangthienngoc@gmail.com
[2] Vụ Khoa học Công nghệ và Môi trường, Bộ Nông nghiệp và PTNT

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Vật liệu nghiên cứu: cây Sâm cau cao trên 18 cm, cây có 3 lá, đường kính gốc trên 0,6 cm, không sâu, bệnh, sinh trưởng tốt. Cây giống được nhân từ hom rễ, địa điểm tạo cây giống tại huyện Tam Đảo, tỉnh Vĩnh Phúc.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Nghiên cứu được thực hiện tại khu ruộng thí nghiệm (đất đỏ vàng có thành phần cơ giới nhẹ, có kết cấu kém, tầng đất mỏng (thường nhỏ hơn 1,2 m). Đất chua, độ no bazơ nhỏ hơn 50%, nghèo mùn, đạm; hàm lượng lân và kali khá, đất có hàm lượng cấp hạt sét thấp (nhỏ hơn 20%, nếu tính cả cấp hạt sét vật lý thì cũng chỉ đạt xấp xỉ 30%), vì thế dung tích hấp thu thấp, khả năng giữ nước, giữ chất dinh dưỡng kém) của Trạm Nghiên cứu Trồng cây thuốc Tam Đảo, Viện Dược liệu, Tam Đảo, Vĩnh Phúc giai đoạn 10/2018 - 05/2022.

Thí nghiệm được bố trí theo khối ngẫu nhiên hoàn chỉnh (RCB) với 3 lần lặp lại theo phương pháp bố trí thí nghiệm của Nguyễn Thị Lan (2005) [4]. Theo dõi sâu, bệnh hại: Phương pháp điều tra sâu, bệnh hại được tiến hành theo quy chuẩn quốc gia về phương pháp điều tra phát hiện dịch hại cây trồng QCVN 01-38: 2010/BNNPTNT [5].

Thời điểm trồng cây giữa xuân (15/3/2019). Khoảng cách trồng 20 x 20 cm (tương ứng với mật độ 250.000 cây/ha). Lượng phân bón cho 1 ha là 2 tấn phân hữu cơ vi sinh sông Gianh, 120 kg N: 80 kg P: 120 kg K. Phương pháp bón cho 1 ha trồng Sâm cau: Bón lót: 2 tấn phân hữu cơ vi sinh sông Gianh + 80 kg phân super lân + 120 kg phân kaliclo, trộn đều bón theo rãnh và lấp đất lại. Bón thúc: 120 kg phân đạm được chia đều cho các lần bón (sau khi trồng 1 tháng, sau khi trồng 3 tháng, sau khi trồng 5 tháng) kết hợp làm cỏ, xới xáo, vun gốc cho cây. Trước khi thu hoạch 1 tháng bón hết lượng phân còn lại. Luống trồng có chiều cao 25 cm, diện tích mỗi công thức thí nghiệm là 7 m^2, dung lượng 30 mẫu. Các biện pháp chăm sóc là đồng nhất giữa các công thức. Các yếu tố thí nghiệm thay đổi theo từng thí nghiệm cụ thể, 30 ngày theo dõi 1 lần. Định lượng đồng thời 2 hoạt chất curculigosid, orcinolglucosid trong dược liệu Sâm cau bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC).

Thí nghiệm 1: Nghiên cứu ảnh hưởng của thời vụ trồng đến sinh trưởng, phát triển và năng suất của Sâm cau.

- TV1: Trồng đầu xuân (15/2) (Đối chứng);
- TV2: Trồng giữa xuân (15/3);
- TV3: Trồng cuối xuân(15/4).

Thí nghiệm 2: Nghiên cứu ảnh hưởng của khoảng cách trồng đến sinh trưởng, phát triển và năng suất của Sâm cau.

- KC1: mật độ trồng 500.000 cây/ha (tương ứng khoảng cách là 10 x 20 cm) (Đối chứng);
- KC2: mật độ trồng 333.000 cây/ha (tương ứng với khoảng cách là 15 x 20 cm);
- KC3: mật độ trồng 250.000 cây/ha (tương ứng với khoảng cách là 20 x 20 cm).

Thí nghiệm 3: Nghiên cứu ảnh hưởng của phân bón đến sinh trưởng, phát triển, năng suất và chất lượng của Sâm cau.

- PB1: 0 kg N (Đối chứng);
- PB2: 100 kg N;
- PB3: 120 kg N;
- PB4: 140 kg N.

Lượng phân nền bón chung là 2 tấn/ha phân vi sinh sông Gianh + 80 kg/ha P_2O_5 + 120 kg /ha K_2O. Phương pháp bón cho 1 ha trồng Sâm cau: Bón lót: 2 tấn phân hữu cơ vi sinh Sông Gianh + 80 kg phân super lân + 120 kg phân kali, trộn đều bón theo rãnh và lấp đất lại. Bón thúc: tổng lượng phân đạm của các công thức được chia đều cho các lần bón (sau khi trồng 1 tháng, sau khi trồng 3 tháng, sau khi trồng 5 tháng) kết hợp làm cỏ, xới xáo, vun gốc cho cây. Trước khi thu hoạch 1 tháng bón hết lượng phân còn lại.

Thí nghiệm 4: Nghiên cứu ảnh hưởng của độ che sáng đến sinh trưởng, phát triển của Sâm cau.

- CB1: Không che (Đối chứng);
- CB2: Che sáng 25%;
- CB3: Che sáng 50%;
- CB4: Che sáng 75%.

Sử dụng vật liệu lưới đen che sáng có mật độ sợi lưới khác nhau tương ứng với tỷ lệ chặn phần trăm các lượng ánh sáng mặt trời khác nhau xuyên qua (25%, 50% và 75%).

Thí nghiệm 5: Nghiên cứu xác định thời điểm thu hoạch dược liệu Sâm cau cho năng suất và chất lượng tối ưu.

- TH1: Thu hoạch cây 2 năm tuổi (11/2020);

- TH2: Thu hoạch cây 3 năm tuổi (11/2021).

* Chỉ tiêu theo dõi về sinh trưởng và năng suất của cây Sâm cau:

- Tỷ lệ sống = (số cây sống/tổng số cây trồng) x 100 (Số cây mọc lá mới vào thời điểm đo tháng 3 - 4 năm sau).

- Chiều cao cây (cm): đo từ phần sát mặt đất đến chóp lá dài nhất (dùng thước thẳng chia vạch đến mm).

- Số lá xanh (lá): tổng số lá thật trên cây tại thời điểm theo dõi.

- Khả năng đẻ nhánh: Đếm nhánh của 10 cây, tính trung bình trên 1 cây.

- Củ (thân rễ) Sâm cau hình trụ, do rễ chính phình to mà tạo thành. Bên ngoài có lớp vỏ thô ráp, màu nâu hoặc nâu đen. Xung quanh mọc nhiều rễ phụ nhỏ. Chất bên trong nạc, chắc, màu vàng ngà.

- Chiều dài rễ phụ (cm): đo từ gốc đến đỉnh của rễ phụ. Đo chiều dài rễ phụ của 10 cây tại thời điểm thu hoạch.

- Số rễ phụ/cây: Tổng số rễ phụ trên cây tại thời điểm thu hoạch.

- Chiều dài rễ phụ trung bình = Σ (5 rễ phụ ngắn nhất + 5 rễ phụ dài nhất)/10 rễ phụ

- Chiều dài củ (thân rễ) (cm): Đo từ gốc đến đỉnh của củ. Đo chiều dài củ của 10 cây tại thời điểm thu hoạch.

- Đường kính củ (thân rễ) (cm): Đo bằng thước panme tại điểm phình to nhất của củ. Đo đường kính củ của 10 cây tại thời điểm thu hoạch.

- Năng suất cá thể (g/cây): Mỗi ô thu hoạch riêng 10 cây theo phương pháp 5 điểm chéo góc, cân năng suất của 10 cây rồi tính giá trị trung bình.

- Năng suất lý thuyết (tấn/ha) = Khối lượng củ/cây (kg/cây) x mật độ trồng/m^2 x 10.000 m^2 x 10^{-3}.

- Năng suất thực thu (tấn/ha) = Năng suất ô/7 m^2 x 10.000 m^2

- Tỷ lệ dược liệu tươi/khô = Năng suất dược liệu tươi/năng suất dược liệu khô.

Các số liệu được phân tích và xử lý theo chương trình Excel và IRRISTAT 5.0.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Ảnh hưởng của thời vụ gieo trồng đến sinh trưởng, phát triển và năng suất của Sâm cau

Kết quả ảnh hưởng của thời vụ trồng đến sinh trưởng và năng suất của cây Sâm cau được thể hiện ở bảng 1 và 2.

Bảng 1. Ảnh hưởng của thời vụ trồng đến sinh trưởng của cây Sâm cau tại năm thứ 3 sau trồng

Công thức	Tỷ lệ cây sống (lần)	Chiều cao cây (cm)	Số lá xanh (lá)	Số nhánh (nhánh)	Đường kính củ (cm)	Chiều dài củ (cm)	Chiều dài rễ (cm)	Số rễ (rễ)
Đầu xuân (15/2)	0,81	30,37	7,30	1,20	1,43	6,56	9,45	25,13
Giữa xuân (15/3)	0,87	32,17	7,83	1,30	1,54	7,51	11,59	29,26
Cuối xuân (15/4)	0,72	29,23	5,73	1,13	1,37	5,86	9,85	22,02
$LSD_{0,05}$	0,13	5,51	1,22	0,08	0,21	0,78	1,22	3,84
CV%	7,0	8,0	7,7	2,8	6,5	5,2	5,2	6,7

Bảng 1 cho thấy, có sự khác biệt ở chỉ tiêu tỷ lệ sống, chiều cao cây, số lá xanh và số nhánh của cây sau 33 tháng trồng ở các thời vụ khác nhau. Tỷ lệ sống của cây trồng ở thời vụ đầu xuân là 0,81 lần, thời vụ giữa xuân là 0,87 lần và thời vụ cuối xuân đạt thấp nhất là 0,72 lần. Về sinh trưởng chiều cao cây Sâm cau ở các công thức thời vụ khác nhau rõ rệt, dao động từ 29,23 - 32,17 cm. Sinh trưởng chiều cao cây Sâm cau trung bình cao nhất là 32,17 cm ở thời vụ trồng giữa xuân ở mức sai khác có ý nghĩa 95%. Sinh trưởng chiều dài củ Sâm cau ở các công thức thời vụ có sự sai khác nhau mức ý nghĩa 95%. Sinh

trưởng chiều dài củ Sâm cau trung bình cao nhất ở thời vụ giữa xuân là 7,51 cm và trung bình thấp nhất ở thời vụ cuối xuân là 5,86 cm.

Bảng 2 cho thấy, năng suất cá thể của cây Sâm cau ở các thời vụ có sự khác nhau rõ rệt, dao động từ 9,36 - 11,83 g. Năng suất cá thể trung bình cao nhất ở thời vụ giữa xuân là 11,83 g.

Bảng 2. Ảnh hưởng của thời vụ trồng đến năng suất của cây Sâm cau tại năm thứ 3 sau trồng

Công thức	Tỷ lệ củ/rễ (lần)	Tỷ lệ tươi/khô (lần)	Năng suất cá thể (g/cây)	Độ ẩm (%)	Năng suất lý thuyết (tấn/ha)	Năng suất thực thu (tấn/ha)
Đầu xuân (15/2)	2,15	3,12	10,98	7,12	2,75	1,94
Giữa xuân (15/3)	2,53	3,17	11,83	7,68	2,96	2,23
Cuối xuân (15/4)	2,01	3,15	9,36	7,85	2,34	1,68
$LSD_{0,05}$	0,37	0,25	0,83	1,02	0,20	0,38
CV%	7,3	3,6	3,4	6,0	3,4	8,7

Trong thí nghiệm, năng suất lý thuyết và năng suất thực thu trung bình của các công thức thời vụ trồng cây Sâm cau dao động lần lượt trong khoảng 2,34 - 2,96 tấn/ha; 1,68 - 2,23 tấn/ha, công thức thời vụ giữa xuân có năng suất lý thuyết và năng suất thực thu trung bình cao nhất lần lượt là 2,96 tấn/ha; 2,23 tấn/ha. Như vậy, cây Sâm cau thích hợp trồng vào thời vụ giữa xuân (15/3) hàng năm. Kết quả này phù hợp với kết quả công bố trong "Cây thuốc và động vật làm thuốc" [6].

3.2. Ảnh hưởng của khoảng cách trồng đến sinh trưởng, phát triển và năng suất của Sâm cau

Kết quả nghiên cứu về ảnh hưởng của khoảng cách trồng đến sinh trưởng và năng suất của cây Sâm cau được thể hiện ở bảng 3 và 4.

Bảng 3. Ảnh hưởng của khoảng cách trồng đến sinh trưởng của cây Sâm cau tại năm thứ 3 sau trồng

Công thức	Chiều cao cây (cm)	Số lá xanh (lá)	Số nhánh (nhánh)	Đường kính củ (cm)	Chiều dài củ (cm)	Chiều dài rễ (cm)	Số rễ (rễ)
Khoảng cách 10 x 20 cm	25,65	5,03	1,17	1,28	5,41	10,70	20,76
Khoảng cách 15 x 20 cm	27,33	6,43	1,23	1,37	6,32	9,85	20,24
Khoảng cách 20 x 20 cm	28,37	7,40	1,33	1,38	7,77	9,22	17,11
$LSD_{0,05}$	5,95	1,23	0,27	0,19	0,77	1,15	2,68
CV%	9,7	8,6	9,7	6,4	5,2	5,1	6,1

Bảng 3 cho thấy, các đặc điểm sinh trưởng số lá xanh, chiều dài củ, chiều dài rễ và số rễ ở các công thức khoảng cách trồng khác nhau rõ rệt, sinh trưởng chiều cao cây Sâm cau trung bình cao nhất ở khoảng cách 20 x 20 cm là 28,37 cm. Số lá xanh ở các công thức khoảng cách trồng có sự sai khác nhau ở mức có ý nghĩa, dao động từ 5,03 - 7,40 lá. Số lá xanh trung bình cao nhất là 7,40 ở công thức khoảng cách 20 x 20 cm. Chiều dài củ trung bình trồng ở khoảng cách 10 x 20 cm, 15 x 20 cm và 20 x 20 cm lần lượt đạt 5,41; 6,32 cm và 7,77 cm. Sinh trưởng chiều dài rễ phụ trung bình thấp nhất là 9,22 cm ở công thức khoảng cách 20 x 20 cm. Kết quả này có thể là do ở khoảng cách thưa 15 x 20 cm; 20 x 20 cm cây ít bị cạnh tranh dinh dưỡng nên các chỉ tiêu sinh trưởng và phát triển cao hơn khi trồng ở khoảng cách dày 10 x 20 cm.

Khoảng cách trồng ảnh hưởng đến các chỉ tiêu về năng suất cá thể, tỷ lệ củ/rễ và tỷ lệ tươi/khô. Các chỉ tiêu này đạt cao nhất khi trồng cây sâm cau ở

khoảng cách 20 x 20 cm. Trồng ở các khoảng cách dày hơn (15 x 20 cm, 10 x 20 cm) các chỉ tiêu về năng suất cá thể, tỷ lệ củ/rễ, và tỷ lệ tươi/khô càng giảm.

Bảng 4 cho thấy, năng suất lý thuyết của các công thức khoảng cách trồng 10 x 20 cm; 15 x 20 cm, 20 x 20 cm lần lượt đạt 3,55; 3,16; 2,79 tấn/ha. Năng suất thực của các công thức khoảng cách trồng 10 x 20 cm; 15 x 20 cm, 20 x 20 cm lần lượt đạt 2,62; 2,36; 1,94 tấn/ha. Năng suất cá thể tăng khi khoảng cách trồng tăng, tuy nhiên khoảng cách tăng thì mật độ cây/ha giảm nên năng suất lý thuyết có xu hướng giảm. Kết quả nghiên cứu hoàn toàn phù hợp với kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của khoảng cách trồng đến sinh trưởng và năng suất của cây Sâm cau của Joy và cs (2004) [10]. Vì vậy, cây Sâm cau nên trồng ở khoảng cách 10 x 20 cm để đạt năng suất thực thu cao nhất.

Bảng 4. Ảnh hưởng của khoảng cách trồng đến năng suất của cây Sâm cau tại năm thứ 3 sau trồng

Công thức	Tỷ lệ củ/rễ (lần)	Tỷ lệ tươi/khô (lần)	Năng suất cá thể (g/cây)	Độ ẩm (%)	Năng suất lý thuyết (tấn/ha)	Năng suất thực thu (tấn/ha)
Khoảng cách 10 x 20 cm	2,28	2,97	7,09	7,18	3,55	2,62
Khoảng cách 15 x 20 cm	2,31	3,10	9,58	6,87	3,16	2,36
Khoảng cách 20 x20 cm	2,58	3,20	11,14	7,03	2,79	1,94
$LSD_{0,05}$	0,45	0,33	1,06	1,02	0,39	0,50
CV%	8,3	4,6	5,1	6,4	5,4	9,6

3.3. Ảnh hưởng của phân bón đến sinh trưởng, phát triển, năng suất và chất lượng của Sâm cau

Bảng 5 cho thấy, phân đạm có ảnh hưởng tới sinh trưởng, phát triển của cây Sâm cau. Công thức đối chứng không bón bổ sung N cho chiều cao cây, số lá xanh, đường kính củ, chiều dài củ, chiều dài rễ và số rễ thấp lần lượt đạt 22,68 cm; 4,90 lá; 1,21 cm, 4,82 cm; 8,61 cm và 13,05 rễ. Số lá xanh (7,07 lá) đạt cao nhất ở công thức bón phân số 3. Chỉ tiêu chiều dài củ (7,34 cm) ở công thức số 3 cũng đạt cao nhất. Bón phân với lượng lớn hơn như công thức số 4 (140 kg N/ha) làm tăng số rễ nhưng không làm tăng chiều dài rễ, chiều dài củ và đường kính củ so với công thức số 3. Như vậy, lượng phân bón N có tỉ lệ thuận với sự sinh trưởng và phát triển của cây Sâm cau khi thu hoạch. Tuy nhiên, lượng phân đạm tăng đến một giá trị nhất định, sự sinh trưởng và phát triển của cây lại có xu hướng giảm.

Bảng 5. Ảnh hưởng của phân bón đến sinh trưởng của cây Sâm cau tại năm thứ 3 sau trồng

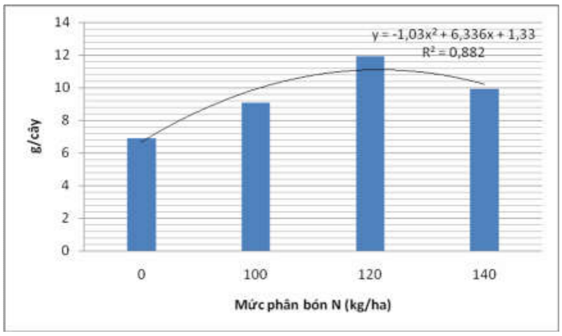
Công thức	Chiều cao cây (cm)	Số lá xanh (lá)	Số nhánh (nhánh)	Đường kính củ (cm)	Chiều dài củ (cm)	Chiều dài rễ (cm)	Số rễ (rễ)
0 kg/ha N	22,68	4,90	1,13	1,21	4,82	8,61	13,05
100 kg/ha N	27,20	5,50	1,17	1,28	6,43	8,86	17,84
120 kg/ha N	29,87	7,07	1,27	1,39	7,34	9,19	17,16
140 kg/haN	26,77	6,33	1,13	1,30	5,76	8,80	19,53
$LSD_{0,05}$	3,20	0,91	0,18	0,13	0,91	1,12	2,27
CV%	6,0	7,7	7,5	4,9	7,4	6,3	6,7

Các chỉ tiêu cấu thành năng suất củ cây Sâm cau như năng suất cá thể, tỷ lệ củ/rễ và tỷ lệ tươi/khô ở các công thức bón phân N đều cao hơn so với công thức đối chứng ở mức ý nghĩa (α = 0,05). Năng suất cá thể (11,89 g), tỷ lệ củ/rễ (2,64 lần) và tỷ lệ tươi/khô (3,22 lần) đạt cao nhất khi bón 120 kg/ha N. Đây cũng là công thức bón phân cho năng suất lý thuyết và năng suất thực thu đạt cao nhất lần lượt là

2,97 và 2,26 tấn/ha. Trong khi đó, công thức phân bón không bón bổ sung N, năng suất củ Sâm cau chỉ đạt năng suất lý thuyết là 1,73 tấn/ha và năng suất thực thu là 1,13 tấn/ha (Bảng 6). Năng suất cá thể của cây Sâm cau ở các mức phân bón có xu hướng tăng dần. Kết quả này được thể hiện rõ nét trong đồ thị tuyến tính (Hình 1).

Bảng 6. Ảnh hưởng của phân bón đến năng suất của cây Sâm cau tại năm thứ 3 sau trồng

Công thức	Tỷ lệ củ/rễ (lần)	Tỷ lệ tươi/khô (lần)	Năng suất cá thể (g/cây)	Độ ẩm (%)	Năng suất lý thuyết (tấn/ha)	Năng suất thực thu (tấn/ha)
0 kg/ha N	2,45	2,99	6,91	7,06	1,73	1,13
100 kg/ha N	2,59	3,08	9,06	7,04	2,26	1,62
120 kg/ha N	2,64	3,22	11,89	6,90	2,97	2,26
140 kg/ha N	2,74	3,11	9,92	6,99	2,48	1,85
$LSD_{0,05}$	0,28	0,31	1,17	0,74	0,40	0,36
CV%	5,3	5,0	6,2	5,3	8,4	10,4



Hình 1. Đồ thị năng suất cá thể của cây Sâm cau ở các mức phân bón

Bảng 7 cho thấy, hàm lượng Orcinol glucoside ở các công thức bón phân dao động từ 0,180 - 0,253% khối lượng khô, trong khi hàm lượng này ở công thức đối chứng là 0,197%. Hàm lượng Orcinol glucoside đạt cao nhất (0,253%) khi bón phân ở liều lượng 140 kg N/ha cho cây Sâm cau.

Hàm lượng Curculigoside tăng khi hàm lượng N tăng, hàm lượng N tăng tương ứng từ 120 -140 kg thì hàm lượng Curculigoside lại không tăng thêm. Hàm lượng hoạt chất Curculigoside theo quy định trong Dược điển Trung Quốc (2015) [9] trong cây Sâm cau ít nhất là 0,1% như vậy, cây Sâm cau trong thí nghiệm đảm bảo thành phần hoạt chất theo Dược điển quy định và đạt cao nhất ở công thức bón 120 kg N/ha. Từ các kết quả trên kết hợp với lợi ích kinh tế, mức phân bón thích hợp đối với cây Sâm cau được khuyến cáo là 120 kg N/ha. Kết quả này phù hợp với kết quả nghiên cứu của Nguyễn Văn Khiêm và cs (2017) [7].

Bảng 7. Hàm lượng chất chính trong cây Sâm cau ở các mức phân bón

Công thức	Hàm lượng (%)	
	Orcinol glucoside	Curculigoside
0 kg/ha N	0,197	0,100
100 kg/ha N	0,180	0,120
120 kg/ha N	0,210	0,127
140 kg/ha N	0,253	0,117

3.4. Ảnh hưởng của độ che sáng đến sinh trưởng, phát triển của Sâm cau

Bảng 8. Ảnh hưởng của độ che sáng đến sinh trưởng của cây Sâm cau tại năm thứ 3 sau trồng

Công thức	Chiều cao cây (cm)	Số lá xanh (lá)	Đường kính củ (cm)	Chiều dài củ (cm)	Chiều dài rễ (cm)	Số rễ (rễ)
Không che sáng	25,72	5,60	1,26	5,94	10,28	16,11
Che sáng 25%	27,73	7,87	1,33	7,72	11,55	20,73
Che sáng 50%	29,75	6,13	1,30	5,27	11,06	19,73
Che sáng 75%	32,15	5,97	1,26	4,75	10,01	17,26
$LSD_{0,05}$	2,77	0,86	0,15	0,25	0,19	0,51
CV%	4,8	6,8	5,7	7,3	3,1	4,8

Bảng 8 cho thấy, có sự khác biệt lớn về chiều cao cây Sâm cau khi trồng dưới các mức độ che sáng khác nhau. Chiều cao cây Sâm cau tăng lên khi mức độ che sáng tăng. Trồng cây Sâm cau ở điều kiện không che sáng chiều cao cây Sâm cau đạt được thấp nhất (25,72 cm). Trong khi đó chiều cao cây Sâm cau ở độ che sáng 75% đạt lớn nhất (32,15 cm). Sự sai khác thể hiện ở độ tin cậy 95%. Điều này có thể là do sự gia tăng hàm lượng giberelin trong cây trồng khi được che sáng. Kết quả này cũng đồng nhất với kết quả nghiên cứu của Joy và cs (2003) [8].

Mức độ che sáng có ảnh hưởng đến các chỉ tiêu năng suất cá thể, tỷ lệ củ/rễ và tỷ lệ tươi/khô. Các chỉ tiêu khối lượng củ/cây, tỷ lệ tươi/khô đạt cao nhất khi trồng cây Sâm cau ở mức độ che sáng 25% lần lượt đạt 12,85 g; 3,16 lần. Tỷ lệ che sáng tăng lên (50 - 75%) có xu hướng tỷ lệ nghịch với các chỉ tiêu về khối lượng củ, tỷ lệ củ/rễ và tỷ lệ tươi/khô. Các chỉ tiêu này đạt thấp nhất ở mức độ che sáng 75% (Bảng 9). Năng suất lý thuyết và năng suất thực thu của công thức trồng với mức độ che sáng 25% đạt cao nhất lần lượt đạt 3,21 tấn/ha; 2,37 tấn/ha.

Bảng 9. Ảnh hưởng của độ che sáng đến năng suất của cây Sâm cau tại năm thứ 3 sau trồng

Công thức	Tỷ lệ củ/rễ (lần)	Tỷ lệ tươi/khô (lần)	Năng suất cá thể (g/cây)	Độ ẩm (%)	Năng suất lý thuyết (tấn/ha)	Năng suất thực thu (tấn/ha)
Không che sáng	2,35	2,82	10,84	8,74	2,71	1,90
Che sáng 25%	2,58	3,16	12,85	7,97	3,21	2,37
Che sáng 50%	3,53	2,87	11,71	6,69	2,93	2,01
Che sáng 75%	2,03	2,74	9,48	7,96	2,37	1,69
$LSD_{0,05}$	0,35	0,36	1,28	0,84	0,32	0,32
CV%	7,5	6,2	5,7	5,4	5,7	8,1

Các chỉ tiêu về sinh trưởng và năng suất khi trồng cây Sâm cau ở mức độ che sáng 25% cao hơn so với khi trồng cây ở ở mức độ che sáng 75% (Bảng 8 và 9). Do khi tăng độ che sáng làm gia tăng hàm lượng giberelin trong cây, dinh dưỡng tập trung để phát triển thân lá, làm dinh dưỡng tập trung cho bộ rễ sẽ bị ảnh hưởng, đồng thời mức độ che sáng tăng làm cản trở mức độ tiếp xúc với ánh sáng và sự hấp thu CO_2, do vậy làm giảm cường độ quang hợp, làm giảm các chất dinh dưỡng tích lũy xuống củ, làm ảnh hưởng đến khối lượng rễ Joy và cs (2003) [8]. Như vậy, mức độ che sáng thích hợp cho trồng thuần Sâm cau là 25%.

3.5. Ảnh hưởng của thời điểm thu hoạch dược liệu đến năng suất và chất lượng Sâm cau

Bảng 10 cho thấy, năng suất cây Sâm cau có xu hướng tỷ lệ thuận với thời điểm thu hoạch, giá trị sai khác ở mức ý nghĩa (α = 0,05). Năng suất cá thể của cây Sâm cau ở các thời điểm thu hoạch năm thứ 2 và năm thứ 3 sau trồng lần lượt đạt 9,07 g; 11,76 g. Năng suất lý thuyết dược liệu củ cây Sâm cau ở các thời điểm thu hoạch năm thứ 2 và năm thứ 3 sau trồng lần lượt đạt 2,27 tấn/ha; 2,90 tấn/ha. Năng suất thực thu của cây Sâm cau ở các thời điểm thu hoạch năm thứ 2 và năm thứ 3 sau trồng lần lượt đạt 1,61 tấn/ha; 2,20 tấn/ha. Tỷ lệ tươi/khô của củ cây Sâm cau ở hai thời điểm thu hoạch cũng có xu hướng giảm. Tỷ lệ tươi/khô củ cây Sâm cau ở các thời điểm thu hoạch năm thứ 2 và năm thứ 3 sau trồng lần lượt đạt 3,70 lần; 2,90 lần.

Bảng 10. Ảnh hưởng của thời điểm thu hoạch đến năng suất của cây Sâm cau

Công thức	Tỷ lệ củ/rễ (lần)	Tỷ lệ tươi/khô (lần)	Năng suất cá thể (g/cây)	Độ ẩm (%)	Năng suất lý thuyết (tấn/ha)	Năng suất thực thu (tấn/ha)
Năm thứ 2 sau trồng	1,79	3,70	9,07	8,44	2,27	1,61
Năm thứ 3 sau trồng	2,28	2,90	11,76	7,31	2,90	2,20
$LSD_{0,05}$	0,39	0,64	2,99	2,06	0,74	0,55
CV%	5,5	5,6	8,4	7,6	8,2	8,6

Bảng 11 cho thấy, hàm lượng các hoạt chất chính có sự sai khác nhau ở các thời gian thu hoạch trong thí nghiệm. Hàm lượng *Orcinol glucoside* trong củ cây Sâm cau ở các thời điểm thu hoạch năm thứ 2 và năm thứ 3 sau trồng lần lượt đạt 0,147%; 0,163%. Hàm lượng *Curculigoside* trong trong củ cây Sâm cau ở các thời điểm thu hoạch năm thứ 2 và năm thứ 3 sau trồng lần lượt đạt 0,090%; 0,113%. Hàm lượng hoạt chất Curculigoside theo quy định trong Dược điển Trung Quốc (2015) [9] trong cây Sâm cau ít nhất là 0,1% như vậy, cây Sâm cau ở thời điểm thu hoạch năm thứ 2 sau trồng chưa đảm bảo thành phần hoạt chất theo Dược điển quy định. Thời điểm thu hoạch củ Sâm cau được xác định thích hợp vào khoảng năm thứ 3 sau trồng (vào khoảng tháng 10 - 11 khi cây chuẩn bị bước vào giai đoạn lụi).

Bảng 11. Hàm lượng hoạt chất chính trong cây Sâm cau ở các thời điểm thu hoạch

Công thức	Hàm lượng (%)	
	Orcinol glucoside	Curculigoside
Năm thứ 2 sau trồng	0,147	0,090
Năm thứ 3 sau trồng	0,163	0,113

4. KẾT LUẬN

Cây Sâm cau thích hợp sinh trưởng, phát triển và cho năng suất cao nhất khi trồng vào thời vụ giữa xuân (15/3) hàng năm. Khoảng cách trồng thích hợp nhất cho cây Sâm cau là 10 x 20 cm, năng suất có thể đạt 2,62 tấn/ha. Lượng phân bón nên được áp dụng với cây Sâm cau là 2 tấn/ha phân vi sinh sông Gianh + 120 kg/ha N + 80 kg/ha P_2O_5 + 120 kg/ha K_2O. Phương pháp bón cho 1 ha trồng Sâm cau: Bón lót: 2 tấn phân hữu cơ vi sinh sông Gianh + 80 kg phân super lân + 120 kg phân kali, trộn đều bón theo rãnh và lấp đất lại. Bón thúc: 120 kg đạm được chia đều cho các lần bón (sau khi trồng 1 tháng, sau khi trồng 3 tháng, sau khi trồng 5 tháng) kết hợp làm cỏ, xới xáo, vun gốc cho cây. Trước khi thu hoạch 1 tháng bón hết lượng phân còn lại. Cây Sâm cau nên được trồng trong điều kiện có độ che sáng là 25%. Thời điểm thu hoạch củ Sâm cau thích hợp nhất là 3 năm sau trồng (khoảng 33 tháng sau trồng), hàm lượng hoạt chất Orcilon glucoside đạt khoảng 0,163% và Curculigoside đạt khoảng 0,113%.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nidhi Soni, V. K. Lal, Shikha Agrawal and Hemlata Verma (2012). Golden eye grass-A magical remedy by nature. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, Vol. 3 (8): 2407 - 2420.

2. Patil, A. G. & Koli, Swapneel & Patil, Darshana & Phatak, A. V. & Chandra, N. (2012). Pharmacognostic evaluation and hptlc fingerprint profile of *Curculigo orchioides* Gaertn. Rhizomes. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*, 3 (3): 101 - 111.

3. Nguyễn Tập (2019). Danh lục cây thuốc đỏ Việt Nam 2019. *Tạp chí Dược liệu*, tập 24, số 6/2019, tr. 319 - 328.

4. Nguyễn Thị Lan và Phạm Tiến Dũng (2005). *Giáo trình phương pháp thí nghiệm*. Nxb Nông nghiệp Hà Nội.

5. QCVN 01-38: 2010/BNNPTNT quy chuẩn kỹ thuật quốc gia về phương pháp điều tra phát hiện dịch hại cây trồng.

6. Đỗ Huy Bích và cs (2003). *Cây thuốc và động vật làm thuốc*. Nxb Khoa học Kỹ thuật, trang 693, Tập II.

7. Nguyễn Văn Khiêm, Nhữ Thu Nga, Trịnh Văn Vượng, Nguyễn Thị Hương (2017). Nghiên cứu nhân giống cây sâm cau (*Curculigo orchioides* Gaertn) bằng phương pháp giâm hom. *Tạp chí Nông nghiệp và PTNT*, kỳ 2, tháng 8, trang 113 - 120.

8. Joy, P. P. (2003). Agrotechnological practices for quality crude drug production in nilappana (*Curculigo orchioides* Gaertn.). Ph. D. Thesis. Kerala *Agricultural University, KAU P.O., Thrissur, Kerala, India*, 274 p.

9. Dược điển Trung Quốc (2015). *Curculiginis Rhizoma*. China Medical Science Press, Tập 1.

10. Joy, P. P., K. E. Savithri, Samuel Mathew and Skaria, B. P. (2004). *Effect of shade and spacing on growth, yield and quality of black musli (Curculigo orchioides)* Gaertn. J. Med. Arom. Pl. Sci., 26 (4): 707 - 716.

EFFECT OF CULTURAL PRACTICES ON GROWTH, YIELD AND QUALITY OF BLACK MUSLI (*Curculigo orchioides* Gaertn.) IN TAM DAO, VINH PHUC

Bui Thi Xuan, Nguyen Van Tam, Tran Thi Lan, Nguyen Quang Tin

Summary

Black musli (*Curculigo orchioides* Gaertn.) is a precious medicinal plant, in many traditional herbal remedies and is in danger of extinction. The study of cultivation techniques is of great significance in the conservation and development of this plant. The experiment was arranged in a completely randomized complete block design (RCB) with 3 replicates in Tam Dao, Vinh Phuc province. The results showed that in the March crop, black musli has good growth and development and the productivity of the three-year-old plants was 2.23 tons/ha. Planting spacing of 10 x 20 cm gives the best economic efficiency because it saves land, reduces weeding work and the productivity was 2.62 tons/ha. Fertilizer content includes 2 tons/ha of microorganism fertilizer, 120 kg/ha N, 80 kg/ha P_2O_5 and 120 kg K_2O/ha for tuber diameter of 1.39 cm, the productivity was 2.26 tons/ha, the content of curculigoside was 0.127%. At 25% of shading, black musli showed better growth than other shading treatments (0%, 50%, 75%). The appropriate harvest time for black musli is the third year after planting.

Keywords: *Season, spacing, fertilizer content, shading, time of harvest, black musli.*

Người phản biện: TS. Phan Văn Thắng

Ngày nhận bài: 29/8/2022

Ngày thông qua phản biện: 26/9/2022

Ngày duyệt đăng: 25/11/2022

ĐÁNH GIÁ KHẢ NĂNG KHÁNG BỆNH THÁN THƯ CỦA MỘT SỐ GIỐNG NHO TẠI NINH THUẬN

Nguyễn Văn Chính[1, *], Phạm Trung Hiếu[1]
Trần Thị Hồng[1], Võ Thị Kim Trâm[1]

TÓM TẮT

Bệnh thán thư trên cây nho do nấm *Colletotrichum gloeosporioides* gây ra, bệnh thán thư gây hại rất nặng trong điều kiện vụ mưa tại khu vực Nam Trung bộ. Hiện nay, biện pháp quản lý bệnh thán thư trên cây nho tại Nam Trung bộ chủ yếu là biện pháp hoá học nên hiệu quả chưa cao. Do đó, việc nghiên cứu lựa chọn được giống nho có khả năng kháng bệnh thán thư tốt để phục vụ cho sản xuất đã được thực hiện. Từ việc kế thừa các nghiên cứu trước, đã chọn ra các giống có khả năng kháng bệnh thán thư tốt nhất để đánh giá, so sánh với giống NH01-64 đang được trồng phổ biến tại Nam Trung bộ. Qua quá trình nghiên cứu khả năng kháng bệnh trong điều kiện lây bệnh nhân tạo và ngoài đồng ruộng cho thấy, giống nho NH010-26 và NH01-126 có khả năng kháng bệnh thán thư tốt nhất trong các giống được nghiên cứu. Giống nho NH01-26 và NH01-126 kháng bệnh thán thư tốt hơn giống nho NH01-64 đang được trồng phổ biến tại Nam Trung bộ.

Từ khoá: *Cây nho, bệnh thán thư, kháng bệnh, Colletotrichum gloeosporioides.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Nho là cây trồng có giá trị dinh dưỡng và giá trị kinh tế cao. Cây nho được xem là cây trồng đặc thù của khu vực bán khô hạn Nam Trung bộ. Hiện nay, diện tích nho tại khu vực này đạt khoảng trên 1.300 ha tập trung chủ yếu tại Ninh Thuận với 1.191 ha [1] và tỉnh Bình Thuận. Ngoài giá trị ăn tươi và các sản phẩm chế biến từ nho thì cây nho còn có giá trị du lịch rất lớn. Do đó, cây nho được chính quyền và người dân tại khu vực Nam Trung bộ rất quan tâm đầu tư phát triển. Tuy nhiên, nghề trồng nho tại khu vực Nam Trung bộ gặp không ít những khó khăn như do biến đổi khí hậu nên mùa mưa có lượng mưa nhiều hơn. Nắng mưa không còn theo quy luật nên kèm theo đó là công tác dự tính dự báo và quản lý sâu, bệnh gặp nhiều khó khăn. Trong các đối tượng sâu, bệnh hại chính trên cây nho thì bệnh thán thư là bệnh gây hại nguy hiểm nhất, bệnh thán thư do nấm *Colletotrichum gloeosporioides* gây ra [2], [3]. Những năm mưa nhiều, bệnh thán thư gây thiệt hại rất lớn đến năng suất và chất lượng nho, thậm chí là mất trắng. Các biện pháp quản lý bệnh thán thư nho hiện nay chủ yếu là sử dụng thuốc hóa học, bao chùm quả và áp dụng một số biện pháp kỹ thuật canh tác khác để hạn chế sự thiệt hại của chúng. Hiện nay, cơ cấu giống tại Ninh Thuận chưa phong phú, người dân chủ yếu đang tập trung sản xuất các giống nho như NH01-64 (Cardinal), NH01-48, NH01-152 và một ít các diện tích các giống khác nhưng chưa có giống nào có khả năng kháng với bệnh thán thư cao. Do đó, việc nghiên cứu lựa chọn được giống nho có khả năng kháng cao với bệnh thán thư nhưng phù hợp với điều kiện tại khu vực Nam Trung bộ đồng thời cho năng suất và chất lượng làm phong phú cơ cấu giống cũng như nâng cao hiệu quả kinh tế cho người sản xuất. Chính vì vậy, nghiên cứu khả năng chống chịu bệnh thán thư của một số giống nho nhập nội là hết sức cần thiết.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu và điều kiện thí nghiệm

2.1.1. Vật liệu nghiên cứu

- Vườn nho 6 năm tuổi của các giống nho ăn tươi nhập nội và trong nước NH01-02, NH01-26, NH01-36, NH01-52, NH01-64 (cardinal), NH01-96, NH01-109, NH01-117, NH01-126, NH01-127.

- Các thiết bị, dụng cụ cần thiết cho nuôi cấy, lây bệnh nhân tạo: nhà kính, phòng nuôi cấy nấm, máy phun ẩm, kính hiển vi, chậu trồng cây...

2.1.2. Điều kiện thí nghiệm

- Đặc điểm đất đai: cây nho được trồng trên đất phù sa ven sông, trung tính (pH H_2O = 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.

- Điều kiện khí hậu - thời tiết: lượng mưa trung bình trong năm từ 1.200 - 1.600 mm, tập trung chủ

[1] Viện Nghiên cứu Bông và Phát triển Nông nghiệp Nha Hố
*Email: chinh.nha.ho@gmail.com

yếu từ tháng 8 đến tháng 11 trong năm; nhiệt độ trung bình năm 27,7^{0}C, nhiệt độ trung bình tháng cao nhất 30,1^{0}C và tháng thấp nhất 25,2^{0}C; số giờ nắng trung bình 2.900 giờ; ẩm độ trung bình 76%.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Bố trí thí nghiệm

- Thí nghiệm đánh giá khả năng chống chịu bệnh thán thư của một số giống nho trong điều kiện lây bệnh nhân tạo tại nhà kính gồm 10 công thức, bố trí theo kiểu khối đầy đủ ngẫu nhiên (RCBD) lặp lại 3 lần, 3 cây/lần lặp lại, cụ thể: CT1: NH01-02, CT2: NH01-26, CT3: NH01-36, CT4: NH01-52, CT5: NH01-64 (Đ/C), CT6: NH01-96, CT7: NH01-109, CT8: NH01-117, CT9: NH01-126, CT10: NH01-127.

- Đánh giá khả năng chống chịu bệnh thán thư của một số giống nho trong điều kiện đồng ruộng gồm 10 công thức, bố trí theo kiểu khối đầy đủ ngẫu nhiên (RCBD) lặp lại 3 lần, 5 cây/lần lặp lại, cụ thể: CT1: NH01-02, CT2: NH01-26, CT3: NH01-36, CT4: NH01-52, CT5: NH01-64 (Đ/C), CT6: NH01-96, CT7: NH01-109, CT8: NH01-117, CT9: NH01-126, CT10: NH01-127.

2.2.2. Kỹ thuật canh tác

Lượng phân: bón 20 tấn phân chuồng hoai mục + 400 kg N (20% SA và 80% urea) + 300 kg P_2O_5 + 400 kg K_2O/ha. Các biện pháp kỹ thuật bón phân, tưới nước, phòng trừ sâu, bệnh hại và chăm sóc khác thực hiện theo quy trình canh tác nho của Viện Nghiên cứu Bông và Phát triển nông nghiệp Nha Hố.

2.2.3. Chỉ tiêu và phương pháp theo dõi

- Đánh giá khả năng chống chịu bệnh thán thư của một số giống nho trong điều kiện lây bệnh nhân tạo.

+ Các giống nho được ghép trên gốc ghép Couderc 1613 trồng trong chậu có kích thước 30 cm x 30 cm và được chăm sóc trong điều kiện nhà kính. Khi cây nho gốc ghép được 3 tháng tuổi thì tiến hành ghép. Chọn mắt ghép các cành giống không bị bệnh, sau khi ghép cây nho được chăm sóc trong nhà kính cho đến khi mắt ghép được 4 - 5 lá thì tiến hành lây bệnh nhân tạo. Thí nghiệm được thực hiện trên 10 giống nho, lặp lại 3 lần, mỗi lần lặp lại 3 cây.

+ Chuẩn bị nguồn bệnh: Thu thập các mẫu bệnh đặc trưng của bệnh thán thư do nấm *Colletotrichum gloeosporioides* gây hại trên cây nho về phân lập trong phòng thí nghiệm và được kiểm tra lại bằng kính hiển vi trước khi làm thuần và cấy chuyển nhân số lượng.

+ Lây nhiễm: khi cây nho mắt ghép được 4 – 5 lá thì tiến hành phun dung dịch bào tử *Colletotrichum gloeosporioides* (nấm 5 x 10^6 bào tử/ml) ướt đều trên lá cây nho. Tiến hành lây nhiễm trong điều kiện mùa mưa, ngay sau khi phun lây nhiễm, cây nho được duy trì trong điều kiện độ ẩm cao từ 80 – 90% trong 72 giờ, sau đó tiếp tục duy trì ẩm độ cao bằng máy phun sương cho hết kỳ theo dõi.

+ Phương pháp theo dõi: Theo dõi tỉ lệ bệnh và chỉ số bệnh trên lá ở các thời điểm 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 20 và 25 ngày sau khi lây nhiễm, đối với thời gian ủ bệnh được theo dõi hàng ngày từ sau khi lây nhiễm cho đến khi tỷ lệ bệnh đạt 100%. So sánh triệu chứng bệnh xuất hiện trong các công thức lây nhiễm với triệu chứng bệnh thu thập ngoài đồng ruộng. Tái phân lập vi sinh vật từ cây biểu hiện triệu chứng bệnh và so sánh với vi sinh vật đã sử dụng lây nhiễm nhân tạo.

- Đánh giá khả năng chống chịu bệnh thán thư của một số giống nho trong điều kiện đồng ruộng

Theo dõi khả năng kháng bệnh thán thư trên lá, mỗi giống theo dõi 3 lần lặp lại, mỗi lần lặp lại theo dõi 3 cành, mỗi cành theo dõi 3 lá thành thục trên cùng. Định kỳ 7 ngày/lần kể từ giai đoạn sau cắt cành 20 ngày đến thu hoạch.

Theo dõi khả năng kháng bệnh của quả, mỗi giống theo dõi trên 3 lần lặp lại, mỗi lần lặp lại theo dõi 3 chùm quả. Định kỳ 7 ngày/lần kể từ giai đoạn đậu quả đến thu hoạch.

Cách tính tỉ lệ bệnh và chỉ số bệnh được áp dụng theo QCVN 01 - 38: 2010/BNNPTNT [4] có điều chỉnh cho phù hợp với cây nho, cụ thể như sau:

* Cấp bệnh trên lá:

Cấp 1: < 1% diện tích lá bị bệnh.

Cấp 3: 1 - 5% diện tích lá bị bệnh.

Cấp 5: > 5 - 25% diện tích lá bị bệnh.

Cấp 7: > 25 - 50% diện tích lá bị bệnh.

Cấp 9: > 50% diện tích lá bị bệnh

* Cấp bệnh trên quả

Chùm quả bị bệnh ở cấp 1 với < 1% diện tích chùm quả bị bệnh.

Chùm quả bị bệnh ở cấp 3 với > 1 - 5% diện tích chùm quả bị bệnh.

Chùm quả bị bệnh ở cấp 5 với > 5 - 10% diện tích chùm quả bị bệnh.

Chùm quả bị bệnh ở cấp 7 với > 10 - 20% diện tích chùm quả bị bệnh.

Chùm quả bị bệnh ở cấp 9 với > 20% diện tích chùm quả bị bệnh.

- *Chỉ tiêu theo dõi:*

+ Tỷ lệ bệnh và chỉ số bệnh (%) của các giống.

+ Thời gian ủ bệnh của các giống (ngày).

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 1/2020 đến 12/2021.

- Địa điểm: Huyện Ninh Sơn, tỉnh Ninh Thuận.

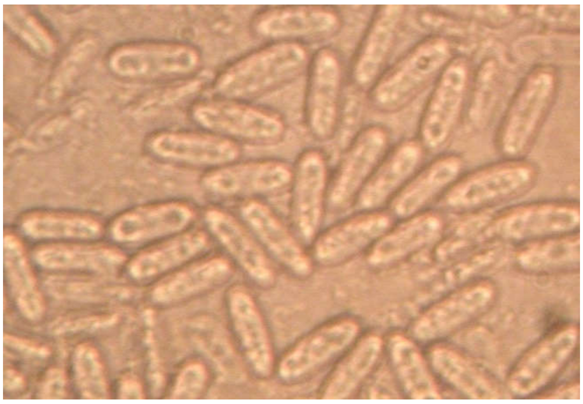
3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

Bệnh thán thư thường xuất hiện và gây hại từ giai đoạn cây nho còn nhỏ đến khi thu hoạch. Bệnh xuất hiện mạnh cả ở giai đoạn nho sắp cho thu hoạch gây nguy cơ mất trắng năng suất. Bệnh thán thư là bệnh nguy hiểm nhất đối với các vùng trồng nho tại tỉnh Ninh Thuận nói riêng và vùng Nam Trung bộ nói chung. Tuy nhiên, công tác nghiên cứu các biện pháp phòng trừ bệnh thán thư hại nho chưa đạt được kết quả cao nhất. Hầu hết các nước đều khuyến cáo hạn chế ẩm độ, thời vụ cắt phù hợp, cân đối dinh dưỡng và sử dụng thuốc bảo vệ thực vật. Công tác chọn tạo giống kháng bệnh đã được tiến hành tại một số nước nhưng chưa đạt kết quả cao. Do đó, việc nghiên cứu đánh giá khả năng chống chịu bệnh thán thư của một số giống nho mới là rất cần thiết nhằm phục vụ sản xuất và thay đổi cơ cấu giống. Kế thừa kết quả nghiên cứu Phạm Văn Phước và cs (2018) [5] đã chọn ra được các giống nho ăn tươi có khả năng chống chịu bệnh tốt nhất để nghiên cứu so sánh với giống nho đỏ (Cardinal) đang được người dân tại Ninh Thuận trồng phổ biến nhất nhằm chọn ra giống có khả năng chống chịu bệnh thán thư tốt nhất.

3.1. Khả năng chống chịu bệnh thán thư của một số giống nghiên cứu trong điều kiện lây bệnh nhân tạo

Triệu chứng bệnh thán thư trên lá nho: Vết bệnh trên lá xuất hiện đầu tiên là những chấm li ti rất nhỏ màu kem (nâu nhạt) có kích thước khoảng 1 - 2 mm sau phát triển thành những đốm lớn dần và chuyển sang màu nâu sẫm rồi chuyển sang màu đen. Kích thước bệnh giai đoạn này khoảng 5 - 7 mm. Các vết bệnh có thể liên kết lại lan phủ khắp phiến lá hoặc dọc gân lá làm lá cong xuống và co dúm lại. Sự dị hình của lá thể hiện rất rõ ở các lá non. Các lá bánh tẻ và lá già vết bệnh đã cũ thì trung tâm vết bệnh trở nên xám, mô lá ở vết bệnh bị khô và cuối cùng thì thủng hẳn. Vết bệnh điển hình của bệnh thán thư trên lá nho là để lại các lổ thủng giống như chúng ta lấy cây nhang đâm xuyên qua lá nho.

Đặc điểm nấm Colletotrichum gloeosporioides: Sợi nấm đa bào, có vách ngăn ngang. Bào tử trong suốt, hình bầu dục, chiều dài trung bình 16,613 µm, chiều rộng trung bình 6,563 µm.



Hình 1. Bào tử nấm *Colletotrichum gloeosporioides*

Hình 2. Triệu chứng bệnh thán thư trên lá

3.1.1. Tỷ lệ bệnh

Trong điều kiện lây bệnh nhân tạo, các giống có thời gian ủ bệnh và mức độ nhiễm bệnh khác nhau. Các giống NH01-2, NH01-52, NH01-64, NH01-17 và NH01-127 xuất hiện triệu chứng bệnh thán thư ở ngày theo dõi thứ 5 sau lây nhiễm, trong khi đó, các giống còn lại đến ngày theo dõi thứ 7 mới thấy xuất hiện bệnh. Thời gian ủ bệnh trung bình của các

giống biến động từ 7,1 - 8,7 ngày. Các giống NH01-26, NH01-117, NH01-126 và NH01-127 có thời gian ủ bệnh dài hơn giống NH01-64, các giống còn lại có thời gian ủ bệnh tương đương so với giống NH01-64.

Ở định kỳ theo dõi 5 ngày sau khi lây nhiễm, tỷ lệ bệnh của các giống NH01-52 và NH01-64 là 7,4% cao hơn các giống còn lại.

Đến định kỳ theo dõi 7 ngày sau lây nhiễm, tỷ lệ bệnh của giống NH01-64 đạt cao nhất 63,0%, tiếp đến là giống NH01-52 (55,6%), các giống còn lại đều có tỷ lệ bệnh trên 30% ngoại trừ giống NH01-26 là 11,1% và giống NH01-126 là 18,5%. Hai giống NH01-26 và NH01-126 có tỷ lệ bệnh thán thư thấp nhất và thấp hơn có ý nghĩa so với các giống còn lại.

Đến định kỳ theo dõi 9 ngày sau lây nhiễm, tỷ lệ bệnh của tất cả các giống đều đạt 100% ngoại trừ giống NH01-26 là 92,6%. Các định kỳ theo dõi tiếp theo tất các các giống đều có tỷ lệ bệnh là 100%.

Bảng 1. Diễn biến tỷ lệ bệnh thán thư trên các giống trong điều kiện lây bệnh nhân tạo trong nhà kính tại Ninh Thuận, năm 2020

TT	Dòng/giống	Tỉ lệ bệnh trên các giống ở các kỳ theo dõi...ngày sau nhiễm (%)									TGUB (ngày)
		3	5	7	9	11	13	15	20	25	
1	NH01-2	0,0	3,7^{ab}	33,3	100,0^{a}	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	7,8^{b}
2	NH01-26	0,0	0,0^{b}	11,1	92,6^{b}	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	8,7^{a}
3	NH01-36	0,0	0,0^{b}	37,0	100,0^{a}	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	7,9^{ab}
4	NH01-52	0,0	7,4^{a}	55,6^{ab}	100,0^{a}	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	7,3^{bc}
5	NH01-64 (Đ/C)	0,0	7,4^{a}	63,0^{a}	100,0^{a}	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	7,1^{bc}
6	NH01-96	0,0	0,0^{b}	37,0	100,0^{a}	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	7,9^{ab}
7	NH01-109	0,0	3,7^{ab}	37,0	100,0^{a}	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	7,7^{b}
8	NH01-117	0,0	0,0^{b}	33,3	100,0^{a}	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	8,2^{ab}
9	NH01-126	0,0	0,0^{b}	18,5	100,0^{a}	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	8,3^{ab}
10	NH01-127	0,0	3,7^{ab}	30,6	100,0^{a}	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	8,0^{ab}
CV (%)		-	151,8	30,9	1,4	-	-	-	-	-	19,8

Ghi chú: TGUB = Thời gian ủ bệnh; các giá trị trung bình trong cùng một cột được theo sau bởi cùng chữ ký tự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở mức xác suất 5%.

3.1.2. Chỉ số bệnh

Chỉ số bệnh giữa các giống có sự sai khác nhau từ định kỳ theo dõi 7 ngày đến định kỳ theo dõi 25 sau khi lây nhiễm. Trong đó, giống NH01-64 có chỉ số bệnh tăng nhanh nhất và cao nhất đạt 80,2%, tiếp đến là giống NH01-52 đạt cao nhất là 58,8%, giống NH01-36 là 51,4% ở kỳ theo dõi 25 ngày sau lây nhiễm. Các giống còn lại có chỉ số bệnh thấp dưới 50% và giống NH01-26 có chỉ số bệnh thấp nhất là dưới 25%, giống NH01-126 có chỉ số bệnh dưới 29%.

Bảng 2. Diễn biến chỉ số bệnh thán thư trên các giống trong điều kiện lây bệnh nhân tạo trong nhà kính tại Ninh Thuận, năm 2020

TT	Dòng/giống	Chỉ số bệnh trên các giống ở các kỳ theo dõi...ngày sau nhiễm (%)								
		3	5	7	9	11	13	15	20	25
1	NH01-2	0,0	0,4	3,7^{bc}	11,9^{d}	17,7^{fg}	24,3^{cd}	31,7^{bc}	42,4^{e}	49,8^{e}
2	NH01-26	0,0	0,0	1,2^{d}	10,3^{dc}	11,9^{j}	14,4^{e}	17,7^{f}	21,8^{g}	24,3^{j}
3	NH01-36	0,0	0,0	4,1^{bc}	11,1^{d}	17,7^{fg}	21,8^{d}	31,7^{bc}	44,0^{d}	51,4^{e}
4	NH01-52	0,0	0,8	6,2^{ab}	12,8^{cd}	20,2^{d}	27,6^{bc}	40,7^{b}	50,6^{b}	58,8^{e}
5	NH01-64(Đ/C)	0,0	0,8^{ns}	7,0^{a}	17,7^{a}	26,7^{a}	34,2^{a}	47,3^{a}	67,9^{a}	80,2^{a}
6	NH01-96	0,0	0,0	4,1^{bc}	11,1^{d}	16,0^{g}	24,3^{bc}	33,3^{bc}	44,0^{d}	48,1^{e}

7	NH01-109	0,0	0,4	4,1^{bc}	11,9^{d}	18,5^{f}	24,3^{bc}	30,9^{bc}	44,0^{d}	49,0^{e}
8	NH01-117	0,0	0,0	3,7^{bc}	11,9^{d}	19,3^{de}	25,9^{bc}	34,2^{b}	44,0^{d}	49,0^{e}
9	NH01-126	0,0	0,0	2,1^{cd}	11,1^{d}	11,9^{j}	16,0^{ef}	22,6^{e}	25,1^{g}	28,4^{i}
10	NH01-127	0,0	0,4	3,3^{c}	11,1^{d}	15,2^{g}	23,5^{cd}	31,7^{bc}	39,1^{d}	45,7^{f}
CV (%)		-	145,2	27,0	9,3	6,2	9,1	10,1	9,3	6,9

Ghi chú: Các giá trị trung bình trong cùng một cột được theo sau bởi cùng chữ ký tự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở mức xác suất 5%; ns = không có sự sai khác nhau giữa các công thức.

Như vậy, trong điều kiện lây bệnh nhân tạo tất cả các giống nghiên cứu đều có khả năng kháng bệnh thán thư cao hơn so với giống đối chứng NH01-64. Trong đó giống NH01-26 có khả năng kháng bệnh thán thư tốt nhất, tiếp đến là giống NH01-126.

3.2. Khả năng chống chịu bệnh thán thư của một số giống nghiên cứu trong điều kiện đồng ruộng

3.2.1. Diễn biến tỷ lệ bệnh thán thư của một số giống nghiên cứu trong điều kiện đồng ruộng

Thí nghiệm được nghiên cứu trong vụ mưa năm 2021, bệnh thán thư xuất hiện tương đối muộn trên các giống nho nghiên cứu. Ở định kỳ 43 ngày sau cắt cành, bệnh thán thư bắt đầu phát triển và gây hại ở hầu hết các giống, nguyên nhân là giai đoạn đầu vụ trời nắng nóng và ít mưa. Tỷ lệ bệnh thán thư trên các giống nghiên cứu đều thấp hơn giống đối chứng NH01-64 (Cardinal). Tỷ lệ bệnh trên các giống tăng và đạt cao nhất ở giai đoạn cuối vụ (kỳ theo dõi 106 ngày sau cắt cành), trong đó giống NH01-64 đạt tỷ lệ cao nhất 100,0% tiếp đến là giống NH01-52 đạt tỷ lệ bệnh 81,5%. Các giống còn lại đều có tỷ lệ bệnh thấp hơn 67% và giống NH01-26 có tỷ lệ bệnh thấp nhất (tỷ lệ bệnh cao nhất đạt 40,7%), tiếp đến là giống NH01-126 (tỷ lệ bệnh cao nhất đạt 44,4%) (Bảng 3).

Bảng 3. Diễn biến tỷ lệ bệnh thán thư trên lá các giống nghiên cứu tại Nam Trung bộ, vụ mưa năm 2021

TT	Giống	Tỷ lệ bệnh thán thư trên các giống ở các kỳ sau cắt cành….ngày (%)										
		36	43	50	57	64	71	78	85	92	99	106
1	NH01-02	0,0	14,8	14,8	18,5	29,6^{ab}	33,3^{b}	44,4^{b}	40,7^{b}	48,1^{bc}	63,0^{c}	66,7^{c}
2	NH01-26	0,0	3,7	3,7	7,4	18,5^{b}	22,2^{bc}	25,9^{c}	25,9^{bc}	33,3^{c}	37,0^{de}	40,7^{e}
3	NH01-36	0,0	7,4	7,4	18,5	29,6^{ab}	22,2^{bc}	44,4^{b}	40,7^{b}	48,1^{bc}	66,7^{bc}	66,7^{c}
4	NH01-52	0,0	14,8	18,5	18,5	33,3^{ab}	37,0^{ab}	51,9^{ab}	48,1^{ab}	63,0^{ab}	70,4^{bc}	81,5^{b}
5	NH01-64 (Đ/C)	0,0	22,2^{ns}	25,9^{ns}	37,0^{ns}	44,4^{a}	55,6^{a}	70,4^{a}	70,4^{a}	81,5^{a}	100,0^{a}	100,0^{a}
6	NH01-96	0,0	7,4	14,8	18,5	37,0^{ab}	33,3^{b}	33,3^{bc}	51,9^{ab}	51,9^{b}	66,7^{bc}	70,4^{c}
7	NH01-109	0,0	18,5	11,1	14,8	40,7^{ab}	29,6^{b}	40,7^{bc}	40,7^{b}	37,0^{c}	55,6^{cd}	63,0^{cd}
8	NH01-117	0,0	7,4	7,4	22,2	40,7^{ab}	33,3^{b}	40,7^{bc}	33,3^{b}	51,9^{b}	59,3^{cd}	59,3^{cd}
9	NH01-126	0,0	3,7	7,4	7,4	22,2^{b}	25,9^{b}	25,9^{c}	33,3^{b}	37,0^{c}	40,7^{ef}	44,4^{e}
10	NH01-127	0,0	14,8	7,4	25,9	28,5^{ab}	29,6^{b}	40,7^{ab}	44,4^{b}	48,1^{bc}	55,6^{cd}	59,3^{cd}
CV (%)		-	*70,4*	*69,6*	*52,2*	*32,2*	*33,4*	*26,4*	*32,1*	*24,5*	*15,3*	*12,1*

Ghi chú: Các giá trị trung bình trong cùng một cột được theo sau bởi cùng chữ ký tự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở mức xác suất 5%; ns = không có sự sai khác nhau giữa các công thức.

Bệnh thán thư xuất hiện trên quả của các giống nho ở kỳ theo dõi 64 ngày sau cắt cành trên các giống NH01-64 và NH01-52 nhưng các giống còn lại chưa thấy bệnh xuất hiện. Đến định kỳ theo dõi 71 ngày sau cắt cành thì bệnh thán xuất hiện trên quả của hầu hết các giống ngoại trừ giống NH01-26 và NH01-126. Từ định kỳ theo dõi 78 ngày sau cắt cành đến cuối vụ bệnh thán thư gây hại trên tất cả các giống nghiên cứu. Trong đó, các giống NH01-64, NH01-52 và NH01-117 có tỷ lệ bệnh đạt cao nhất là 100% vào giai đoạn cuối vụ. Giống NH01-126 và NH01-26 có tỷ lệ bệnh thán thư trên quả thấp nhất (lần lượt đạt 22,2% và 33,3%), thấp hơn có ý nghĩa so với các giống còn lại (Bảng 4).

Bảng 4. Diễn biến tỷ lệ bệnh thán thư trên quả các giống nghiên cứu tại Nam Trung bộ, vụ mưa năm 2021

TT	Giống	Tỷ lệ bệnh thán thư trên quả các giống ở các kỳ sau cắt cành….ngày (%)								
		50	57	64	71	78	85	92	99	106
1	NH01-02	0,0	0,0	0,0	22,2	44,4^{b}	55,6^{b}	66,7^{ab}	77,8^{ab}	TH
2	NH01-26	0,0	0,0	0,0	0,0	11,1^{c}	11,1^{c}	11,1^{c}	22,2^{cd}	TH
3	NH01-36	0,0	0,0	0,0	11,1	44,4^{b}	55,6^{b}	66,7^{ab}	66,7b	TH
4	NH01-52	0,0	0,0	11,1	22,2	44,4^{b}	66,7^{ab}	66,7^{ab}	100,0^{a}	100,0^{a}
5	NH01-64 (Đ/C)	0,0	0,0	22,2	44,4	88,9^{a}	100,0^{a}	100,0^{a}	TH	TH
6	NH01-96	0,0	0,0	0,0	22,2	33,3^{bc}	44,4^{bc}	44,4^{b}	66,7^{b}	66,7^{b}
7	NH01-109	0,0	0,0	0,0	22,2	22,2^{c}	22,2^{c}	55,6^{b}	66,7^{b}	77,8^{ab}
8	NH01-117	0,0	0,0	0,0	22,2	44,4^{b}	55,6^{b}	77,8^{ab}	100,0^{a}	100,0^{a}
9	NH01-126	0,0	0,0	0,0	0,0	11,1^{c}	11,1^{c}	22,2^{c}	33,3^{c}	TH
10	NH01-127	0,0	0,0	0,0	11,1	22,2^{c}	44,4^{bc}	66,7^{ab}	77,8^{ab}	TH
CV (%)			-	*272,2*	*103,5*	*51,6*	*45,0*	*39,1*	*27,4*	*31,1*

Ghi chú: TH = đã thu hoạch; các giá trị trung bình trong cùng một cột được theo sau bởi cùng chữ ký tự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở mức xác suất 5%; ns = không có sự sai khác nhau giữa các công thức.

3.2.2. Diễn biến chỉ số bệnh thán thư của một số giống nghiên cứu trong điều kiện đồng ruộng

Chỉ số bệnh của bệnh thán thư hại nho trên các giống nghiên cứu có sự sai khác nhau có ý nghĩa. Chỉ số bệnh tăng dần đến cuối vụ và đạt cao nhất ở định kỳ theo dõi 106 ngày sau cắt cành. Giống NH01-64 là giống có chỉ số bệnh cao nhất và đạt 62,1% tiếp đến là giống NH01-52 với chỉ số bệnh đạt 23,0% ở định kỳ 106 ngày sau cắt cành. Các giống còn lại đều có chỉ số bệnh tăng dần qua các định kỳ theo dõi và đạt cao nhất ở định kỳ 106 ngày sau cắt cành với chỉ số bệnh dưới 16%. Giống NH01-26 và NH01-126 có chỉ số bệnh thấp nhất (chỉ số bệnh cao nhất chỉ đạt 5,3% và 6,6) và thấp hơn có ý nghĩa so với giống NH01-64, NH01-52, NH01-02, NH01-109 và NH01-36 nhưng không có ý nghĩa so với các giống còn lại (Bảng 5).

Bảng 5. Diễn biến chỉ số bệnh thán thư trên lá các giống nghiên cứu tại Nam Trung bộ, vụ mưa năm 2021

TT	Giống	Chỉ số bệnh thán thư trên lá các giống ở các kỳ sau cắt cành….ngày (%)										
		36	43	50	57	64	71	78	85	92	99	106
1	NH01-02	0,0	1,6	1,6	2,1^{bc}	4,9^{b}	5,3^{b}	6,6^{bc}	5,3^{cd}	9,5^{de}	13,6^{g}	16,5^{hi}
2	NH01-26	0,0	0,4	0,4	0,8^{c}	2,1^{c}	2,5^{c}	2,9^{cd}	2,9^{d}	3,7^{ef}	4,5^{hi}	5,3^{j}
3	NH01-36	0,0	0,8	1,6	2,9^{b}	4,1^{bc}	2,5^{c}	8,2^{b}	6,2^{c}	8,6^{de}	12,3^{g}	12,3^{i}
4	NH01-52	0,0	1,6	2,1	2,1^{bc}	3,7^{bc}	5,8^{b}	9,1^{ab}	7,0^{c}	16,0^{c}	21,0^{ef}	23,0^{gh}
5	NH01-64 (Đ/C)	0,0	2,5	3,7	6,6^{a}	9,9^{a}	11,1^{a}	12,8^{a}	19,3^{a}	28,8^{a}	51,4^{a}	62,1^{a}
6	NH01-96	0,0	0,8	1,6	2,1^{bc}	4,1^{bc}	4,5^{bc}	4,5^{c}	5,8^{cd}	6,6^{e}	9,9^{gh}	11,1^{ij}
7	NH01-109	0,0	2,1	1,2	1,6^{bc}	4,5^{b}	3,3^{c}	6,2^{bc}	4,5^{cd}	6,6^{e}	11,1^{gh}	15,2^{hi}
8	NH01-117	0,0	0,8	0,8	2,5^{b}	5,3^{b}	3,7^{bc}	5,3^{bc}	3,7^{cd}	7,4^{de}	9,9^{gh}	9,9^{ij}
9	NH01-126	0,0	0,4	0,8	0,8^{c}	2,5^{bc}	2,9^{c}	2,9^{cd}	3,7^{cd}	4,1^{ef}	5,3^{h}	6,6^{j}
10	NH01-127	0,0	1,6	0,8	3,7^{b}	2,9^{bc}	4,1^{bc}	5,3^{bc}	7,4^{c}	7,8^{de}	9,1^{gh}	9,9^{ij}
CV (%)		-	*70,4*	*81,3*	*65,2*	*50,1*	*48,7*	*35,0*	*46,6*	*31,5*	*24,3*	*20,5*

Ghi chú: Các giá trị trung bình trong cùng một cột được theo sau bởi cùng chữ ký tự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở mức xác suất 5%; ns = không có sự sai khác nhau giữa các công thức.

Chỉ số bệnh thán thư trên quả của các giống nghiên cứu đều thấp hơn có ý nghĩa so với giống NH01-64. Trong đó, giống NH01-26 có chỉ số bệnh thấp nhất (chỉ số bệnh cao nhất chỉ đạt 2,5%) và tương đương so với giống NH01-126, NH01-96 và NH01-109 nhưng thấp hơn có ý nghĩa so với các giống còn lại (các giống còn lại có chỉ số bệnh đạt từ 9,9% trở lên. Giống NH01-64 có chỉ số bệnh thán thư cuối vụ cao nhất là 50,6% tiếp đến là giống NH01-52 là 21,0%.

Bảng 6. Diễn biến chỉ số bệnh thán thư trên quả các giống nghiên cứu tại Nam Trung bộ, vụ mưa năm 2021

TT	Giống	Chỉ số bệnh thán thư trên quả các giống ở các kỳ sau cắt cành….ngày (%)								
		50	57	64	71	78	85	92	99	106
1	NH01-02	0,0	0,0	0,0	2,5	$4,9^{bc}$	$6,2^{e}$	$7,4^{f}$	$11,1^{b}$	TH
2	NH01-26	0,0	0,0	0,0	0,0	$1,2^{cd}$	$1,2^{f}$	$1,2^{fg}$	$2,5^{c}$	TH
3	NH01-36	0,0	0,0	0,0	1,2	$7,4^{b}$	$8,6^{de}$	$9,9^{ef}$	$9,9^{b}$	TH
4	NH01-52	0,0	0,0	1,2	2,5	$7,4^{b}$	$9,9^{de}$	$9,9^{ef}$	$18,5^{a}$	$21,0^{a}$
5	NH01-64 (Đ/C)	0,0	0,0	2,5	4,9	$12,3^{a}$	$30,9^{a}$	$50,6^{a}$	TH	TH
6	NH01-96	0,0	0,0	0,0	2,5	$3,7^{bc}$	$4,9^{ef}$	$4,9^{f}$	$9,9^{b}$	$9,9^{b}$
7	NH01-109	0,0	0,0	0,0	2,5	$2,5^{c}$	$2,5^{ef}$	$8,6^{ef}$	$9,9^{b}$	$11,1^{b}$
8	NH01-117	0,0	0,0	0,0	2,5	$4,9^{bc}$	$6,2^{e}$	$11,1^{ef}$	$16,0^{a}$	$18,5^{a}$
9	NH01-126	0,0	0,0	0,0	0,0	$1,2^{cd}$	$1,2^{f}$	$2,5^{fg}$	$3,7^{c}$	TH
10	NH01-127	0,0	0,0	0,0	1,2	$2,5^{c}$	$4,9^{ef}$	$9,9^{ef}$	$13,6^{ab}$	TH
CV (%)		-	-	*272,2*	*103,5*	*52,8*	*43,6*	*44,4*	*36,2*	*48,3*

Ghi chú: TH = đã thu hoạch; các giá trị trung bình trong cùng một cột được theo sau bởi cùng chữ ký tự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở mức xác suất 5%; ns = không có sự sai khác nhau giữa các công thức.

Như vậy, trong điều kiện đồng ruộng các giống NH01-26 và NH01-126 có khả năng kháng bệnh thán thư tốt nhất. Kết quả này cũng phù hợp với kết quả nghiên cứu lây bệnh nhân tạo. Giống NH01-26 và NH01-126 có khả năng sinh trưởng khoẻ, lá dài và nhiều lông.

Hình 3. Giống NH01-64(Đ/C)

Hình 4. Giống NH01-26

Hình 5. Giống NH01-126

4. KẾT LUẬN

Nghiên cứu khả năng kháng bệnh trong điều kiện lây bệnh nhân tạo trong nhà kính và ngoài đồng ruộng của các giống nho NH01-02, NH01-26, NH01-36, NH01-52, NH01-64 (cardinal), NH01-96, NH01-109, NH01-117, NH01-126, NH01-127 cho thấy, tất cả các giống nho nghiên cứu đều có khả năng kháng bệnh tốt hơn giống nho đối chứng NH01-64 (giống đang được trồng phổ biến tại Nam Trung bộ). Trong đó, giống nho NH01-26 và NH01-126 có khả năng kháng bệnh thán thư tốt nhất và tốt hơn có ý nghĩa so với các giống còn lại.

Sử dụng giống nho NH01-26 và NH01-126 làm vật liệu cho công tác chọn tạo giống kháng bệnh thán thư, cũng như tiếp tục trồng thử nghiệm và đánh giá khả năng thích nghi, năng suất và chất lượng để giới thiệu cho sản xuất.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Cục thống kê tỉnh Ninh Thuận (2020). *Niên giám thống kê tỉnh Ninh Thuận năm 2020.* Nhà xuất bản Thống kê, trang 301.

2. Phan Công Kiên, Mai Văn Hào, Nguyễn Văn Chính (2018). *Bệnh hại trên cây nho tại Việt Nam; Sách: Bệnh hại cây trồng Việt Nam.* Nhà xuất bản Nông nghiệp, trang 318 - 322.

3. Mai Văn Hào, Phan Công Kiên, Nguyễn Thị Hai, Hoàng Thị Mỹ Lệ, Nguyễn Văn Chính, Nguyễn Tấn Văn, Bùi Thị Tình, Đỗ Đông Giang, Trần Thị Hồng, Hoàng Thị Kim Oanh, Đinh Quang Tuyến, Dương Xuân Diêu (2006). Báo cáo tổng kết đề tài

nghiên cứu một số biện pháp quản lý bệnh thán thư hại nho theo hướng sản xuất nho an toàn tại Ninh Thuận. Viện Nghiên cứu Bông và Phát triển nông nghiệp Nha Hố.

4. QCVN 01 - 38: 2010/BNNPTNT. Quy chuẩn kỹ thuật Quốc gia về phương pháp điều tra phát hiện dịch hại cây trồng.

5. Phạm Văn Phước, Nại Thanh Nhàn, Phan Văn Tiêu (2018). Báo cáo kết quả thực hiện nhiệm vụ duy trì tập đoàn giống nho tỉnh Ninh Thuận. Báo cáo tổng kết nhiệm vụ hàng năm của Viện Nghiên cứu Bông và Phát triển nông nghiệp Nha Hố

ASSESSMENT OF THE RESISTANCE TO DISEASE ANTHRACNOSE OF GRAPE VARIETIES IN NINH THUAN

Nguyen Van Chinh[1, *], Pham Trung Hieu[1]

Tran Thi Hong[1], Vo Thi Kim Tram[1]

Summary

Anthracnose on grape is caused by the fungus *Colletotrichum gloeosporioides*, which causes severe damage in the rainy season in the South Central region. Currently, the method of controlling anthracnose disease on the grape in the South Central region is mainly chemical methods, so the effectiveness is not high. Therefore, the research to select grape varieties with good resistance to anthracnose for production has been carried out. From inheriting previous studies, we had selected the varieties with the best resistance to anthracnose to evaluate and compare with NH01-64 variety which is being grown most commonly in the South Central region. Through research on disease resistance under the artificial innoculation and in the field conditions, grape varieties NH01-26 and NH01-126 have the best resistance to anthracnose among the studied varieties. Grape varieties NH01-26 and NH01-126 are more resistant to anthracnose than NH01-64, which is being commonly in the South Central region.

Keywords: *Grape varieties, Anthracnose, disease resistance, Colletotrichum gloeosporioides.*

Người phản biện: GS. TS. Nguyễn Văn Tuất

Ngày nhận bài: 19/10/2022

Ngày thông qua phản biện: 18/11/2022

Ngày duyệt đăng: 29/11/2022

HIỆU QUẢ CỦA NẤM *Trichoderma* sp. VÀ *Penicillium* sp. TRONG PHÒNG TRỪ BỆNH THÁN THƯ DO NẤM *Colletotrichum* sp. TRÊN CÂY ỚT

Lưu Văn Phương[1, *], Lê Thanh Toàn[1]

TÓM TẮT

Mục tiêu của nghiên cứu là đánh giá hiệu quả kiểm soát của một số chủng nấm *Trichoderma* spp. và *Penicillium* spp. đối với nấm *Colletotrichum* sp. gây bệnh thán thư trên ớt. Kết quả đánh giá hiệu quả đối kháng của một số chủng nấm *Trichoderma* spp. với chủng nấm *Colletotrichum* sp. cho thấy, chủng nấm *Trichoderma* TR-02 cho hiệu suất đối kháng trung bình (HSĐKTB) với nấm *Colletotrichum* sp. cao nhất ở các thời điểm 2, 3, 4, 5 ngày sau khi cấy nấm (NSKCN) lần lượt là 37,4%; 41,7%; 61,7%; 82,6%; trung bình các thời điểm ghi nhận (TĐGN) cao nhất là 55,9%. Tuy nhiên, cả 3 chủng nấm *Trichoderma* TR-01, TR-02, TR-03 thể hiện khác biệt không có ý nghĩa về mặt thống kê với nhau. Đánh giá hiệu quả đối kháng của các chủng nấm *Penicillium* spp. với chủng nấm *Colletotrichum* sp. cho thấy chủng nấm *Penicillium* PE-01 cho HSĐKTB với nấm *Colletotrichum* sp. cao nhất ở các thời điểm 2, 3, 4, 5 NSKCN lần lượt là 64,4%; 60%; 57,4%; 57,4%; trung bình các TĐGN cao nhất là 59,8%. Chủng nấm PE-01 thể hiện khác biệt ở mức ý nghĩa 5% với chủng nấm PE-02 và PE-03 ở tất cả các TĐGN chỉ tiêu. Kết quả nghiên cứu khả năng phòng trừ ở điều kiện đồng ruộng cho thấy NT TR-2 luôn thể hiện kết quả TLBTB, CSBTB, HQGBTB ổn định và vượt trội hơn so với các NT xử lý nấm đối kháng khác. Bên cạnh đó, NT TR-2 luôn thể hiện khác biệt không có ý nghĩa thống kê qua kiểm định Duncan ở mức ý nghĩa 5% so với đối chứng dương ở hầu hết các thời điểm thí nghiệm.

Từ khóa: *Colletotrichum sp., ớt, Penicillium sp., Trichoderma sp.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Hiện nay, việc sử dụng các hoạt chất hóa học để phòng trừ bệnh thán thư trên ớt thường cho hiệu quả không cao, dễ làm bộc phát tính kháng thuốc đối với mầm bệnh và dẫn đến ô nhiễm môi trường. Ngoài ra, sự lưu tồn của thuốc hóa học trên nông sản có thể gây hại đến sức khỏe con người. Do đó, biện pháp phòng trừ sinh học dựa trên sự tương tác của các vi sinh vật trong hệ sinh thái nhằm phát huy vai trò có lợi của vi sinh vật trong khả năng đối kháng với các tác nhân gây bệnh, từ đó giảm áp lực nguồn bệnh, đây là hướng phát triển bền vững trong sản xuất nông nghiệp trong tương lai [1].

Các công trình nghiên cứu nấm đối kháng *Trichoderma* của nhiều tác giả cho thấy khả năng ứng dụng tốt để phòng trị một số bệnh trên cây trồng. Theo Jagtap và cs (2013) [2], các loài nấm *T. viride*, *T. harzianum*, *T. koningii* được xem là hiệu quả đối với nấm *Colletotrichum capsici* trong ống nghiệm. Nấm *T. harzianum* đã được tìm thấy nhiều nhất và đối kháng hiệu quả trong việc ức chế sự sinh trưởng của nấm *C. capsici* gây bệnh đốm lá nghệ là 53,33%. Kết quả nghiên cứu của Võ Hoàng Hiệu (2014) [3] cho biết có 8/10 chủng *Trichoderma* vừa có khả năng phát triển khuẩn lạc nhanh và có khả năng đối kháng tốt với chủng nấm *Colletotrichum* Col-ĐT3 và Col-CT1. Các chủng T-CB8c, T-CB11c và T-TO3g vừa có hiệu quả đối kháng cao, phát triển khuẩn lạc tốt, ức chế bào tử nấm Col-CT1 và cho hiệu quả giảm bệnh thán thư trên cây ớt tương đương với thuốc hóa học Ridomil trong điều kiện nhà lưới. Tiếp theo đó là nghiên cứu của Lê Thanh Toàn và Phạm Văn Hướng (2020) [4] cho thấy hai chủng nấm CTND-2405 và CTND-0501 cho hiệu quả đối kháng cao với *Fusarium Solani* trong điều kiện *in vitro*. Chủng nấm CTND-2405 cũng có hiệu quả kháng cao hơn đối với R. *Solani* trong điều kiện *in vitro*. Chủng nấm CTND-2405 là *Penicilium citrinum.* Theo ghi nhận của Paul và cs (2012) [5], một số chủng nấm *Penicillium* như chủng CNU081005 (*Penicillium oxalicum*), chủng CNU081007 (*Penicillium citrinum*), chủng CNU081017 (*Penicillium crustosum*), chủng CNU081061 (*Penicillium olsonii*) thể hiện được khả năng đối kháng với các chủng

[1] Trường Nông nghiệp, Trường Đại học Cần Thơ
*Email: phuongm1020013@gs.student.ctu.edu.vn

nấm gây bệnh trên cây ớt *Capsicum annuum* L. là *Colletotrichum acutatum, Phytophthora capsici* và *Fusarium oxysporum* trong các giai đoạn sinh trưởng, ra hoa và đậu quả. Đặc biệt, chủng nấm CNU081022 được xác định là *Penicillium expansum* thể hiện khả năng đối kháng mạnh với nấm bệnh. Từ kết quả của các nghiên cứu cho thấy tiềm năng sử dụng nấm *Trichoderma* sp. và *Penicillium* sp. trong phòng trừ sinh học bệnh thán thư do nấm *Colletotrichum* sp. trên cây ớt.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Nguồn nấm *Trichoderma* spp. gồm 3 chủng TR-01, TR-02, TR-03 và nấm *Penicillium* spp. gồm 3 chủng PE-01, PE-02, PE-03 được cung cấp từ Phòng thí nghiệm Phòng trừ Sinh học, Bộ môn Bảo vệ thực vật, Trường Nông nghiệp, Trường Đại học Cần Thơ. Các nguồn nấm này được thu thập tại các tỉnh đồng bằng sông Cửu Long và được phân lập để sử dụng cho các nghiên cứu trên các loại bệnh hại cây trồng. Nguồn nấm *Colletotrichum* spp. được thu thập trên các ruộng trồng ớt ở An Giang, Cần Thơ, Đồng Tháp và Vĩnh Long để phân lập và tuyển chọn. Giống ớt chỉ thiên F1 Chánh Phong 131.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Đánh giá hiệu quả đối kháng của các chủng nấm Trichoderma spp. với chủng nấm Colletotrichum sp. trong điều kiện phòng thí nghiệm

Thí nghiệm được thực hiện trong đĩa petri, trên môi trường PDA, bố trí thí nghiệm hoàn toàn ngẫu nhiên, số nghiệm thức tương ứng với số chủng nấm *Trichoderma* spp., mỗi nghiệm thức có 5 lần lặp lại. Các chủng nấm *Colletotrichum* sp. được nuôi cấy trên môi trường PDA 7 ngày, các chủng nấm *Trichoderma* spp. được nuôi cấy trên môi trường PDA 4 ngày trước khi thử đối kháng. Vào 7 ngày sau khi cấy nấm (NSKCN), khuẩn lạc nấm *Colletotrichum* sp. được đục thành khoanh tròn với đường kính 5 mm được cấy trước vào đĩa petri chứa 10 ml môi trường PDA. Sau đó 2 ngày, các khuẩn lạc nấm *Trichoderma* sp. được đục thành khoanh tròn với đường kính 5 mm được cấy tiếp tục vào đĩa petri chứa khuẩn lạc nấm *Colletotrichum* sp. với khoảng cách giữa 2 khuẩn lạc là 3 cm.

Ghi nhận chỉ tiêu: đo bán kính khuẩn lạc của các chủng nấm *Colletotrichum* sp. tương ứng ở phía nấm *Trichoderma* sp. và phía ngược lại ở các thời điểm 2, 3, 4, 5 ngày sau khi cấy chủng nấm *Trichoderma* sp.

Công thức tính hiệu suất đối kháng (A.E: antigonistic effecacy) [6].

A.E(%) = [(C-T) x 100]/C

Trong đó: C là bán kính khuẩn lạc của các chủng nấm *Colletotrichum* sp. tương ứng ở phía đối chứng; T là bán kính khuẩn lạc của các chủng nấm *Colletotrichum* sp. tương ứng ở phía có chủng nấm *Trichoderma* sp.

Chủng nấm đối kháng hiệu quả nhất sẽ được chọn để thực hiện thí nghiệm 2.2.3 ở điều kiện ngoài đồng.

2.2.2. Đánh giá hiệu quả đối kháng của các chủng nấm Penicillium spp. với chủng nấm Colletotrichum sp. trong điều kiện phòng thí nghiệm

Thí nghiệm được thực hiện trong đĩa petri, trên môi trường PDA, cách bố trí thí nghiệm, số nghiệm thức và số lần lặp lại tương tự thí nghiệm 1. Các chủng nấm *Colletotrichum* sp. được nuôi cấy trên môi trường PDA 7 ngày, các chủng nấm *Penicillium* spp. được nuôi cấy trên môi trường PDA 4 ngày trước khi thử đối kháng. Vào 7 NSKCN, khuẩn lạc nấm *Colletotrichum* sp. được đục thành khoanh tròn với đường kính 5 mm được cấy trước vào đĩa petri chứa 10 ml môi trường PDA. Sau đó 2 ngày, khuẩn lạc nấm *Penicillium* sp. được đục thành khoanh tròn với đường kính 5 mm được cấy tiếp tục vào đĩa petri chứa khuẩn lạc nấm *Colletotrichum* sp. với khoảng cách giữa 2 khuẩn lạc là 3 cm. Ghi nhận chỉ tiêu và công thức tính hiệu suất đối kháng tương tự như ở thí nghiệm 1. Chủng nấm đối kháng hiệu quả nhất sẽ được chọn để thực hiện thí nghiệm 2.2.3 ở điều kiện ngoài đồng.

2.2.3. Khảo sát khả năng của nấm Trichoderma sp. và Penicillium sp. giúp phòng trị bệnh thán thư trên lá ớt do nấm Colletotrichum sp. ở điều kiện ngoài đồng

Thí nghiệm được thực hiện ngoài đồng, bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên với 6 nghiệm thức, 5 lần lặp lại, mỗi lần lặp lại là 2 cây ớt. Nguồn nấm *Trichoderma* sp. và *Penicillium* sp. được nuôi cấy trong môi trường PDA 10 ngày trước, nguồn nấm *Colletotrichum* sp. được nuôi 10 ngày trên môi trường PDA để tạo bào tử, cây ớt ở độ tuổi 20 ngày sau khi gieo (NSKG). Nghiệm thức TR-1 được xử lý phun huyền phù bào tử

nấm *Trichoderma* sp. với mật số 10^6 bào tử/ml ở 20 và 25 NSKG. Nghiệm thức TR-2 được xử lý phun huyền phù bào tử nấm *Trichoderma* sp. với mật số 10^6 bào tử/ml ở 20, 25 và 30 NSKG. Nghiệm thức PE-1 được xử lý phun huyền phù bào tử nấm *Penicillium* sp. với mật số 10^6 bào tử/ml ở 20 và 25 NSKG. Nghiệm thức PE-2 được xử lý phun huyền phù bào tử nấm *Penicillium* sp. với mật số 10^6 bào tử/ml ở 20, 25 và 30 NSKG. Nghiệm thức đối chứng dương được xử lý thuốc hóa học Amistar Top 325SC ở 30 NSKG. Nghiệm thức đối chứng âm được xử lý với nước cất. Ở thời điểm 35 NSKG, tiến hành chủng bệnh nhân tạo lên lá ớt ở tất cả các nghiệm thức.

Ghi nhận chỉ tiêu: bệnh trên lá được đánh giá cấp bệnh theo thang đánh giá của Quy chuẩn kỹ thuật Quốc gia về khảo nghiệm trên đồng ruộng hiệu lực phòng trừ bệnh thán thư hại ớt của các thuốc trừ bệnh [7]. Thời điểm ghi nhận ở 3, 4, 5, 6, 7, 8 NSKCB.

Tỷ lệ bệnh (%) = (Số quả (lá) bị bệnh/Tổng số quả (lá) điều tra) x 100%.

Chỉ số bệnh (%)= $[(9n_9 + 7n_7 + 5n_5 + 3n_3 + n_1)/9N] \times 100\%$

Trong đó: n_1 là số quả (lá) bị bệnh ở cấp 1 với ≤ 5% diện tích quả (lá) bị bệnh; n_3 là số quả (lá) bị bệnh ở cấp 3 với > 5 - 15% diện tích quả (lá) bị bệnh; n_5 là số quả (lá) bị bệnh ở cấp 5 với > 15 - 25% diện tích quả (lá) bị bệnh; n_7 là số quả (lá) bị bệnh ở cấp 7 với > 25 - 50% diện tích quả (lá) bị bệnh; n_9 là số quả (lá) bị bệnh ở cấp 9 với > 50% diện tích quả (lá) bị bệnh; N là tổng số quả (lá) điều tra [7].

Công thức tính hiệu quả giảm bệnh (HQGB): HQGB (%)=$[(CSB_{\text{đối chứng âm}} - CSB_{\text{nghiệm thức}})/CSB_{\text{đối chứng âm}}] \times 100\%$

2.3. Xử lý số liệu thống kê

Tất cả các số liệu của thí nghiệm được tổng hợp và xử lý bằng phần mềm Microsoft Office Excel. Thống kê phân tích ANOVA và so sánh sự khác biệt giữa các nghiệm thức bằng phần mềm SPSS qua phép thử Duncan ở mức ý nghĩa 5%.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Đánh giá hiệu quả đối kháng của các chủng nấm *Trichoderma* spp. với chủng nấm *Colletotrichum* sp. trong điều kiện phòng thí nghiệm

Dựa vào kết quả hiệu suất đối kháng trung bình (HSĐKTB) ở bảng 1 cho thấy, ở thời điểm 2 NSKCN và thời điểm 3 NSKCN, chủng nấm TR-02 cho HSĐKTB cao nhất lần lượt là 37,4% và 41,7%. Mặc dù có sự chênh lệch về HSĐKTB giữa các chủng nấm. Tuy nhiên, cả 3 chủng nấm thể hiện khác biệt không có ý nghĩa về mặt thống kê với nhau tại thời điểm này.

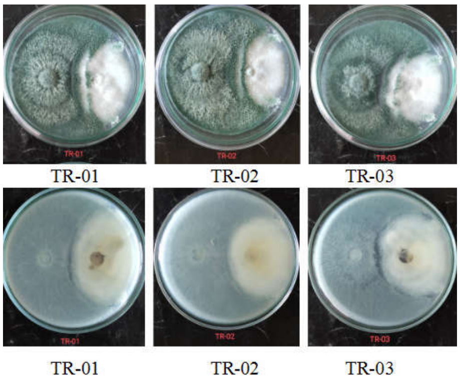
Bảng 1. Hiệu suất đối kháng trung bình (%) của các chủng nấm *Trichoderma* sp. với nấm *Colletotrichum* sp.

Nghiệm thức	Thời điểm ghi nhận				Trung bình
	2 NSKCN	3 NSKCN	4 NSKCN	5 NSKCN	
TR-01	33,9	38,3	53,9^{b}	76,5^{ab}	50,6
TR-02	37,4	41,7	61,7^{a}	82,6^{a}	55,9
TR-03	32,2	36,5	51,3^{b}	73^{b}	48,2
Mức ý nghĩa	ns	ns	*	*	ns
CV (%)	11%	9,81%	9,24%	7,94%	37,8%

*Ghi chú: trong cùng một cột, các giá trị trung bình có cùng chữ theo sau thì khác biệt không ý nghĩa thống kê qua kiểm định Duncan ở mức ý nghĩa 5%. *: có khác biệt ở mức ý nghĩa 5%. ns (non signification): không có ý nghĩa về mặt thống kê*

Ở thời điểm 4 NSKCN và 5 NSKCN, các chủng nấm *Trichoderma* sp. tiếp tục thể hiện khả năng đối kháng mạnh mẽ với nấm *Colletotrichum* sp. (Hình 1). Chủng nấm TR-02 tiếp tục cho HSĐKTB cao nhất lần lượt là 61,7% và 82,6%. Nghiệm thức TR-03 cho HSĐKTB thấp nhất lần lượt là 51,3% và 73%. Nghiệm thức TR-02 và TR-03 thể hiện khác biệt nhau ở mức ý nghĩa 5% qua kiểm định Duncan. Dựa vào kết quả trung bình của HSĐKTB tại các thời điểm ghi nhận chỉ tiêu cho thấy các chủng nấm *Trichoderma* sp. được chọn thể hiện tốt được khả năng đối kháng với sự phát triển khuẩn lạc của nấm *Colletotrichum* sp. gây bệnh. Chủng nấm TR-02 tiếp tục cho HSĐKTB là 55,9% cao hơn chủng TR-01 (50,6%) và TR-03 (48,2%). Tuy nhiên, cả 3 chủng nấm tiếp tục thể hiện khác biệt không có ý nghĩa thống kê với nhau qua kiểm định Duncan ở mức ý nghĩa 5%. Điều này cho thấy cả 3 chủng nấm *Trichoderma* spp. có khả năng đối

kháng với nấm bệnh tương đương nhau. Do chủng nấm TR-02 luôn thể hiện HSĐKTB (%) cao hơn chủng nấm TR-01 và TR-03 nên có thể đánh giá chủng nấm TR-02 có triển vọng tốt nhất trong việc đối kháng với nấm *Colletotrichum* sp.



Hình 1. Nấm *Trichoderma* sp. đối kháng với nấm *Colletotrichum* sp. ở thời điểm 5 NSKCN

Kết quả nhiều nghiên cứu trước đó cho thấy quá trình đối kháng của nấm *Trichoderma* sp. với nấm gây bệnh chủ yếu bằng hai cơ chế: cơ chế thứ nhất là bao quanh, cuộn lấy nấm gây bệnh và cơ chế thứ hai là cơ chế tiết ra các loại enzyme thuỷ phân [8]. Các enzyme thủy phân như chitinase, glucanase là những yếu tố quan trọng trong quá trình đối kháng trên vách tế bào ký chủ. Quá trình này có sự kết hợp giữa endo-chitinase và β-1,3-glucanase làm gia tăng sự đối kháng của nấm gây bệnh. Endo-chitinase ngăn cản mạnh sự phát triển chitin của nấm bệnh. Sự kết hợp của hai loại enzyme này sẽ cho hiệu quả cao, kết quả sẽ ngăn cản sự nảy mầm của bào tử nấm gây bệnh hơn là từng loại enzyme tác động riêng lẻ [9].

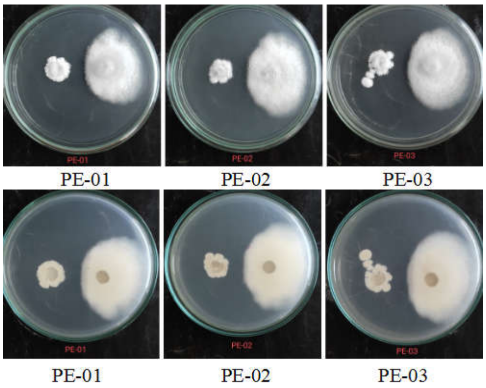
3.2. Đánh giá hiệu quả đối kháng của các chủng nấm *Penicillium* spp. với chủng nấm *Colletotrichum* sp. trong điều kiện phòng thí nghiệm

Dựa vào kết quả HSĐKTB ở bảng 2 cho thấy các chủng nấm *Penicillium* sp. đều thể hiện khả năng đối kháng với nấm *Colletotrichum* sp. (Hình 2).

Bảng 2. HSĐKTB (%) của các chủng nấm *Penicillium* spp. với nấm *Colletotrichum* sp.

Nghiệm thức	Thời điểm ghi nhận				Trung bình
	2 NSKCN	3 NSKCN	4 NSKCN	5 NSKCN	
PE-01	64,4^{a}	60^{a}	57,4^{a}	57,4^{a}	59,8^{a}
PE-02	55,6^{b}	53^{b}	52,2^{b}	51,3^{b}	53^{b}
PE-03	58,3^{b}	54,8^{b}	50,4^{b}	50,4^{b}	53,5^{b}
Mức ý nghĩa	*	*	*	*	*
CV (%)	5,51%	4,92%	6,65%	6,17%	5,61%

*Ghi chú: trong cùng một cột, các giá trị trung bình có cùng chữ theo sau thì khác biệt không ý nghĩa thống kê qua kiểm định Duncan ở mức ý nghĩa 5%. *: có khác biệt ở mức ý nghĩa 5%.*



Hình 2. Các chủng nấm *Penicillium* spp. đối kháng với nấm *Colletotrichum* sp. ở thời điểm 5 NSKCN

Chủng nấm PE-01 cho HSĐKTB cao nhất ở thời điểm 2, 3, 4, 5 NSKCN lần lượt là 64,4%; 60%; 57,4%; 57,4%. Dựa vào kết quả trung bình HSĐKTB của các chủng nấm tại các thời điểm ghi nhận chỉ tiêu cho thấy chủng nấm PE-01 tiếp tục thể hiện khả năng đối kháng vượt trội với nấm *Colletotrichum* sp. với HSĐKTB cao nhất là 59,8%. Nhìn chung tại các thời điểm ghi nhận chỉ tiêu này, chủng nấm PE-01 thể hiện khác biệt ở mức ý nghĩa 5% qua kiểm định Duncan với chủng nấm PE-02 và PE-03. Đồng thời, chủng nấm PE-01 có HSĐKTB vượt trội hơn chủng nấm PE-02 và PE-03, nên có thể đánh giá chủng nấm PE-01 là chủng nấm có triển vọng tốt nhất trong việc đối kháng với nấm *Colletotrichum* sp.

Theo ghi nhận của Vũ Xuân Tạo và Trần Văn Tuấn (2017) [10], khi nuôi trên môi trường PDA, CD và X ở 28°C trong 7 ngày, cả 2 chủng nấm *Penicillium chrysogenum* là VTCC-F1170 và VTCC-F1172 đều có khả năng sinh kháng sinh penicillin tốt để chống lại vi khuẩn kiểm định *S. aureus*. Theo Lê Thanh Toàn và Phạm Văn Hướng (2020) [4], hai chủng nấm

CTND-2405 và CTND-0501 cho hiệu quả đối kháng cao với *Fusarium Solani* trong điều kiện *in vitro*, trong đó chủng nấm CTND-2405 có hiệu quả cao hơn. Chủng nấm CTND-2405 cũng có hiệu quả kháng cao hơn đối với R. *Solani* trong điều kiện *in vitro*. Chủng nấm CTND-2405 là *Penicilium citrinum*.

3.3. Khảo sát khả năng của nấm *Trichoderma* sp. và *Penicillium* sp. giúp phòng trị bệnh thán thư trên lá ớt do nấm *Colletotrichum* sp. trong điều kiện ngoài đồng

3.3.1. Về tỷ lệ bệnh

Kết quả TLBTB ở bảng 3 cho thấy nghiệm thức TR-2 thể hiện TLBTB thấp nhất so với các nghiệm thức có xử lý nấm đối kháng còn lại ở các thời điểm 3, 4, 5, 6, 7, 8 NSKCB, lần lượt là 1,67%; 1,67%; 6,67%; 8,33%; 10%; 10%. Bên cạnh đó, nghiệm thức TR-2 thể hiện khác biệt không có ý nghĩa thống kê qua kiểm định Duncan ở mức ý nghĩa 5% với nghiệm thức đối chứng dương. Đồng thời, nghiệm thức TR-2 cũng thể hiện khác biệt ở mức ý nghĩa 5% với nghiệm thức đối chứng âm ở tất cả các thời điểm ghi nhận chỉ tiêu.

Dựa vào kết quả trung bình của TLBTB của các thời điểm ghi nhận, chủng nấm TR-2 tiếp tục thể hiện TLBTB thấp nhất so với các nghiệm thức có xử lý nấm đối kháng còn lại với TLBTB là 6,39%. Bên cạnh đó, nghiệm thức TR-2 cũng thể hiện khác biệt ở mức ý nghĩa 5% với nghiệm thức đối chứng âm ở tất cả các thời điểm ghi nhận chỉ tiêu. Đồng thời, nghiệm thức TR-2 tiếp tục thể hiện khác biệt không có ý nghĩa thống kê qua kiểm định Duncan ở mức ý nghĩa 5% với nghiệm thức đối chứng dương. Điều này cho thấy rằng khả năng kiểm soát nấm *Colletotrichum* sp. gây bệnh của nghiệm thức TR-2 là tương đương với nghiệm thức đối chứng dương.

Bảng 3. TLBTB (%) của bệnh thán thư trên lá ớt

Nghiệm thức	Thời điểm ghi nhận						
	3 NSKCB	4 NSKCB	5 NSKCB	6 NSKCB	7 NSKCB	8 NSKCB	Trung bình
TR-1	$3,33^{a}$	$6,67^{a}$	10^{a}	$13,3^{ab}$	$13,3^{abc}$	15^{a}	$10,3^{ab}$
TR-2	$1,67^{a}$	$1,67^{a}$	$6,67^{a}$	$8,33^{a}$	10^{ab}	10^{a}	$6,39^{a}$
PE-1	5^{a}	$11,7^{ab}$	$16,7^{ab}$	$18,3^{ab}$	$21,7^{bc}$	$21,7^{ab}$	$15,8^{b}$
PE-2	$6,67^{a}$	$11,7^{ab}$	15^{ab}	$16,7^{ab}$	$16,7^{abc}$	$16,7^{ab}$	$13,9^{b}$
Đối chứng (+)	$1,67^{a}$	$1,67^{a}$	5^{a}	$6,67^{a}$	$6,67^{a}$	$8,33^{a}$	5^{a}
Đối chứng (-)	$16,7^{b}$	20^{b}	$23,3^{b}$	$26,7^{b}$	$26,7^{c}$	$28,3^{b}$	$23,6^{c}$
Mức ý nghĩa	*	*	*	*	*	*	*
CV(%)	104%	81,2%	64,8%	65,7%	59,6%	55,9%	36%

*Ghi chú: trong cùng một cột, các giá trị trung bình có cùng chữ theo sau thì khác biệt không ý nghĩa thống kê qua kiểm định Duncan ở mức ý nghĩa 5%. *: có khác biệt ở mức ý nghĩa 5%*

3.3.2. Về chỉ số bệnh

Kết quả CSBTB được thể hiện ở bảng 4.

Nghiệm thức TR-2 thể hiện CSBTB thấp nhất tại các thời điểm 3, 4, 5, 6, 7, 8 NSKCB lần lượt là 2,22%; 2,22%; 4,44%; 6,67%; 8,89%; 11,1%. Dựa vào kết quả CSBTB của trung bình các thời điểm ghi nhận, chủng nấm TR-2 tiếp tục thể hiện CSBTB thấp nhất so với các nghiệm thức có xử lý nấm đối kháng còn lại với CSBTB là 5,92%. Nhìn chung, nghiệm thức TR-2 thể hiện khác biệt ở mức ý nghĩa 5% với nghiệm thức đối chứng âm ở tất cả các thời điểm ghi nhận chỉ tiêu. Đồng thời, nghiệm thức TR-2 thể hiện khác biệt không có ý nghĩa thống kê qua kiểm định Duncan ở mức ý nghĩa 5% với nghiệm thức đối chứng dương. Điều này cũng cho thấy khả năng kiểm soát nấm *Colletotrichum* sp. gây bệnh của nghiệm thức TR-2 là tương đương với nghiệm thức đối chứng dương.

Bảng 4. CSBTB (%) của bệnh thán thư trên lá ớt

Nghiệm thức	Thời điểm ghi nhận						
	3 NSKCB	4 NSKCB	5 NSKCB	6 NSKCB	7 NSKCB	8 NSKCB	Trung bình
TR-1	$2,22^{a}$	$6,67^{ab}$	$6,67^{ab}$	$10,4^{abc}$	$10,4^{ab}$	$12,6^{abc}$	$8,16^{abc}$

TR-2	2,22^{a}	2,22^{a}	4,44^{a}	6,67^{ab}	8,89^{ab}	11,1^{ab}	5,92^{ab}
PE-1	6,67^{ab}	8,89^{ab}	11,1^{ab}	12,6^{bc}	15,5^{b}	18,5^{bc}	12,2^{cd}
PE-2	4,44^{ab}	8,89^{ab}	8,89^{ab}	8,89^{abc}	8,89^{ab}	12,6^{abc}	8,77^{bc}
Đối chứng (+)	2,22^{a}	2,22^{a}	4,44^{a}	4,44^{a}	4,44^{a}	5,92^{a}	3,95^{a}
Đối chứng (-)	11,1^{b}	11,1^{b}	13,3^{b}	15,5^{c}	16,6^{b}	21,2^{c}	14,8^{d}
Mức ý nghĩa	*	*	*	*	*	*	*
CV(%)	103%	71,4%	60,3%	54,8%	49,8%	46,8%	37,9%

*Ghi chú: trong cùng một cột, các giá trị trung bình có cùng chữ theo sau thì khác biệt không ý nghĩa thống kê qua kiểm định Duncan ở mức ý nghĩa 5%. *: có khác biệt ở mức ý nghĩa 5%*

3.3.3. Về hiệu quả giảm bệnh

Kết quả hiệu quả giảm bệnh trung bình (HQGBTB) ở bảng 5 cho thấy, nghiệm thức TR-2 thể hiện HQGBTB cao nhất so với các nghiệm thức có xử lý nấm đối kháng còn lại ở các thời điểm 3, 4, 5, 6, 7, 8 NSKCB lần lượt là 80%; 80%; 66,7%; 56,9%; 46,9%; 48,9% (Hình 3). Mặc dù có sự chênh lệch % HQGBTB giữa các nghiệm thức, tuy nhiên ở thời điểm 3, 4, 5 NSKCB tất cả các nghiệm thức đều thể hiện khác biệt không có ý nghĩa về mặt thống kê với nhau. Ở 3 thời điểm ghi nhận chỉ tiêu tiếp theo là 6, 7, 8 NSKCB, nghiệm thức TR-2 thể hiện khác biệt không có ý nghĩa thống kê qua kiểm định Duncan ở mức ý nghĩa 5% với nghiệm thức đối chứng dương. Đồng thời, nghiệm thức TR-2 cũng thể hiện khác biệt ở mức ý nghĩa 5% với nghiệm thức đối chứng âm ở hầu hết các thời điểm ghi nhận chỉ tiêu.

Bảng 5. HQGBTB (%) của bệnh thán thư trên lá ớt

Nghiệm thức	Thời điểm ghi nhận					
	3 NSKCB	4 NSKCB	5 NSKCB	6 NSKCB	7 NSKCB	8 NSKCB	Trung bình
TR-1	80	40	46,7	26,7^{ab}	30^{ab}	38,9^{ab}	43,7^{b}
TR-2	80	80	66,7	56,9^{ab}	46,9^{ab}	48,9^{ab}	63,2^{a}
PE-1	40	20	13,3	15,6^{b}	4,83^{b}	12,8^{b}	17,8^{c}
PE-2	60	20	26,7	34,7^{ab}	38^{ab}	38^{ab}	36,2^{b}
Đối chứng (+)	80	80	66,7	74,7^{a}	78^{a}	70^{a}	74,9^{a}
Mức ý nghĩa	ns	ns	ns	*	*	*	*
CV(%)	72%	97,7%	97,6%	90,3%	87,4%	81,9%	29,1%

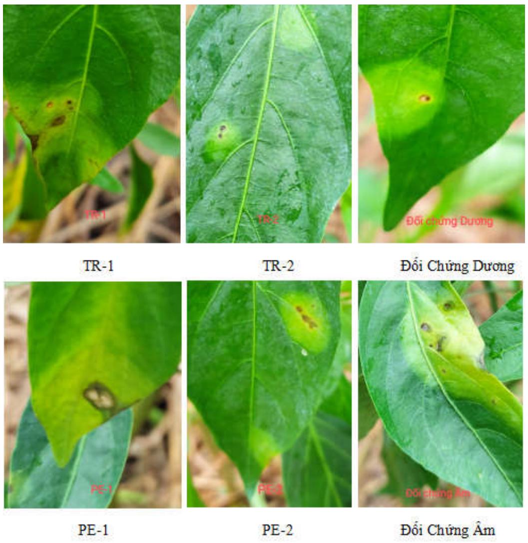
*Ghi chú: trong cùng một cột, các giá trị trung bình có cùng chữ theo sau thì khác biệt không ý nghĩa thống kê qua kiểm định Duncan ở mức ý nghĩa 5%. *: có khác biệt ở mức ý nghĩa 5%. ns (non signification): không có ý nghĩa về mặt thống kê*

Dựa vào kết quả trung bình của HQGBTB của các thời điểm ghi nhận, chủng nấm TR-2 tiếp tục thể hiện HQGBTB cao nhất so với các nghiệm thức có xử lý nấm đối kháng còn lại với HQGBTB là 63,2%. Đồng thời, nghiệm thức TR-2 tiếp tục thể hiện khác biệt không có ý nghĩa thống kê qua kiểm định Duncan ở mức ý nghĩa 5% với nghiệm thức đối chứng dương. Điều này cũng cho thấy khả năng kiểm soát nấm *Colletotrichum* sp. và giúp cây ớt giảm bệnh của nghiệm thức TR-2 là tương đương với nghiệm thức đối chứng dương.

Nhìn chung qua các kết quả ghi nhận tại các thời điểm của thí nghiệm ở bảng 3, 4 và 5, có thể nhận thấy nghiệm thức TR-2 luôn thể hiện kết quả ổn định và vượt trội hơn so với các nghiệm thức xử lý nấm khác. Mặc dù, nghiệm thức TR-2 và nghiệm thức đối chứng dương có sự chênh lệch về TLBTB, CSBTB và HQGBTB, tuy nhiên, cả 2 nghiệm thức này luôn thể hiện khác biệt không có ý nghĩa thống kê qua kiểm định Duncan ở mức ý nghĩa 5% với nhau ở hầu hết các thời điểm trong thí nghiệm. Điều này cho thấy khả năng kiểm soát nấm bệnh của 2 nghiệm thức này là tương đương nhau trong thí nghiệm này.

Bên cạnh đó, có thể thấy sự suy giảm khả năng kiểm soát nấm bệnh của cả 2 nghiệm thức xử lý nấm *Penicillium* PE-1 và PE-2 qua thể hiện HQGBTB thấp hơn và khác biệt ở mức ý nghĩa 5% so với nghiệm

thức TR-2. Nên có thể đánh giá nghiệm thức TR-2 là có tiềm năng nhất về khả năng kiểm soát bệnh thán thư do nấm *Colletotrichum* sp. gây ra trên lá ớt. Qua kết quả của thí nghiệm, có thể thấy sự suy giảm khả năng kiểm soát nấm bệnh của 2 chủng nấm *Penicillium* PE-1 và PE-2 so với các chủng nấm *Trichoderma*. Theo ghi nhận của Cao Ngọc Điệp và Nguyễn Văn Thành (2010) [11], hầu hết các loài nấm mốc không cần ánh sáng trong quá trình sinh trưởng. Nhiệt độ tối thiểu cần cho sự phát triển là 2°C đến 5°C, tối hảo từ 22°C đến 27°C và nhiệt độ tối đa chúng có thể chịu đựng là 35°C đến 40°C. Có thể lý giải nguyên nhân của sự suy giảm khả năng kiểm soát nấm bệnh là do nấm *Penicillium* được xử lý trên bề mặt lá nên bị ức chế bởi nhiệt độ cao từ ánh sáng mặt trời.



Hình 3. Vết bệnh thán thư trên lá ớt ở thời điểm 8 NSKCB

Theo ghi nhận của Papavizas (1985) [12], nấm *Trichoderma* phân bố rộng rãi khắp nơi trong đất, trên bề mặt rễ, vỏ cây mục… Ẩm độ quyết định đến sự sống còn của nấm *Trichoderma*. Mật số bào tử nấm *Trichoderma* sẽ giảm đáng kể nếu gặp điều kiện khô hạn kéo dài trong đất. Điều này lý giải cho hiện tượng suy giảm hiệu quả giảm bệnh ở các thời điểm ghi nhận chỉ tiêu phía sau là do nấm *Trichoderma* được xử lý trên bề mặt lá nên chịu ảnh hưởng bởi nhiệt độ cao từ ánh sáng mặt trời.

4. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

Trong điều kiện phòng thí nghiệm, các chủng nấm *Trichoderma* TR-01, TR-02 và TR-03 thể hiện khác biệt không có ý nghĩa về mặt thống kê. Tuy nhiên, chủng nấm TR-02 luôn cho hiệu suất đối kháng trung bình với nấm *Colletotrichum* sp. cao hơn chủng nấm TR-01 và TR-03 tại tất cả các thời điểm ghi nhận. Chủng nấm *Penicillium* PE-01 cho hiệu suất đối kháng trung bình với nấm *Colletotrichum* cao nhất và thể hiện khác biệt ở mức ý nghĩa 5% so với chủng nấm PE-02 và PE-03 ở tất cả các thời điểm ghi nhận chỉ tiêu. Do đó có thể đánh giá chủng nấm TR-02 và chủng nấm PE-01 có triển vọng tốt nhất trong việc đối kháng với nấm *Colletotrichum* sp.

Trong điều kiện đồng ruộng, chủng nấm *Trichoderma* TR-2 luôn thể hiện kết quả tỷ lệ và chỉ số bệnh trung bình, hiệu quả giảm bệnh trung bình ổn định và vượt trội hơn so với các nghiệm thức xử lý nấm khác so với đối chứng ở hầu hết các thời điểm trong thí nghiệm. Nên có thể đánh giá nghiệm thức TR-2 là có tiềm năng nhất về khả năng kiểm soát bệnh thán thư do nấm *Colletotrichum* sp. gây ra trên lá ớt. Chủng nấm *Trichoderma* TR-2 thể hiện hiệu quả đối kháng tốt với nấm bệnh, phát triển khuẩn lạc tốt và cho hiệu quả giảm bệnh trên lá ớt tương đương với nghiệm thức sử dụng thuốc hóa học.

Từ kết quả của các thí nghiệm trên, có thể đề xuất sử dụng nấm *Trichoderma* sp. như một giải pháp sinh học trong việc kiểm soát nấm *Colletotrichum* sp.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Agrios, G. N. (2005). Plant Pathology. 5th Edition. *Elsevier Academic Press, Amsterdam,* 26-27, 398-401.

2. Jagtap, G. P., Mali, A. K. and Utpal Dey (2013). Bioefficacy of fungicides, bio-control agent and botanicals against leaf spot of turmeric incited by *Colletotrichum capsici. African Journal of Microbiology Research,* 1865-1873.

3. Võ Hoàng Hiệu (2014). *Đánh giá khả năng đối kháng của nấm Trichoderma spp. với nấm Colletotrichum spp. gây bệnh thán thư trên cây xoài (Mangifera indica* L.) *và cây ớt (Capsicum annum,* L.*).* Luận văn Thạc sĩ, nghành Bảo vệ thực vật. *Trường Đại học Cần Thơ.*

4. Lê Thanh Toàn và Phạm Văn Hướng (2020). Phân lập và đánh giá khả năng đối kháng của các chủng nấm từ đất nông nghiệp. *Tạp chí Khoa học Đại học Huế: Khoa học Tự nhiên, tập 130, số 1A, 87-96, 2021.*

5. Paul, N. C., Deng, J. X., Sang, H., Choi, Y.P., & Yu, S. H. (2012). Distribution and Antifungal Activity of Endophytic Fungi in Different Growth Stages of Chili Pepper (*Capsicum annuum* L.) in Korea. *Plant Pathology Journal, 28*, 10-19.

6. Ahmed, A. S., Sanchez, C. P., Egea, C. and M. E. Candela (1999). Evaluation of *Trichoderma harzianum* for controlling root rot caused by *Phytophthora capsici* in pepper plants. *Plant Pathlogy*, 48: 58-65.

7. Bộ Nông nghiệp và PTNT (2014). QCVN 01-160: 2014/BNNPTNT. Quy chuẩn kỹ thuật Quốc gia về khảo nghiệm trên đồng ruộng hiệu lực phòng trừ bệnh thán thư (*Colletotrichum* spp.) hại cây ớt của các thuốc trừ bệnh.

8. Kredics, L., Antal, Z., Manczinger, L., Szekres, A., Kevel, F. and E. Nagy (2003). Influence of environmental parameter on *Trichoderma* Strains with Biocontrol potenial. Food technol. *Biotechnol*, 41 (1):37-42.

9. Clark, E., Hayes, C. K., Harman, G. E. and M. Penttila (1995). Improved production of *Trichoderma harzianum* endochitinase by expression in *Trichoderma reesei*. *Applied and Environmental Microbiology*, 62(6): 2145-2151.

10. Vũ Xuân Tạo và Trần Văn Tuấn (2017). Xác định đặc điểm sinh học và bước đầu nghiên cứu chuyển gen vào nấm sợi *Penicillium chrysogenum* có nguồn gốc Việt Nam. *Tạp chí Khoa học Đại học Quốc gia Hà Nội: Khoa học Tự nhiên và Công nghệ, tập 33, số 2S (2017) 140-145.*

11. Cao Ngọc Điệp và Nguyễn Văn Thành (2010). *Giáo trình nấm học*. Nxb Đại học Cần Thơ. 125 trang.

12. Papavizas, G. C. (1985). *Trichoderma* and *Gliocladium*: Biology, ecology and potential for biocontrol. Ann. Rev. *Phytopathol*, 23: 23-54.

EFFICIENCY OF *Trichoderma* sp. AND *Penicillium* sp. TO PREVENT ANTHRACNOSE CAUSED BY *Colletotrichum* sp. ON CAPSICUM

Luu Van Phuong[1,*], Le Thanh Toan[1]

[1]*College of Agriculture, Can Tho University*

Summary

The objective of the study was to evaluate the control effect of some fungal strains *Trichoderma* spp. and *Penicillium* spp. against the fungus *Colletotrichum* sp. causing anthracnose on capsicum. The results of evaluating the antagonistic effect of some strains of *Trichoderma* spp. against the fungus *Colletotrichum* sp. shows that the *Trichoderma* TR-02 strain showed the highest average antagonistic performance (AAP) against *Colletotrichum* sp. at 2, 3, 4 and 5 days after infection, respectively 37.4; 41.7%; 61.7%; 82.6%; the average of the times recording with the highest index is 55.9%. However, all 3 of *Trichoderma* strains showed no statistically significant differences with each other. Evaluation of the antagonistic effect of strains of *Penicillium* spp. with the fungus *Colletotrichum* sp. showed that the *Penicillium* PE-01 strain showed the highest AAP against *Colletotrichum* sp. at 2, 3, 4, and 5 days after infection, respectively 64.4%; 60%; 57.4%; 57.4%; the average of the times recording with the highest index is 59.8%. The PE-01 strain showed significant difference at 5% with the PE-02 and PE-03 strains at all time points. Research results on control ability in field conditions showed that the TR-2 treatment always showed the average disease rate, the average disease index, the average disease reduction effect was stable and superior compared with the treatments with other antagonistic fungi. Besides, the TR-2 treatment always showed no statistically significant difference through Duncan's test at 5% significance level with the positive control treatment at most times in the experiment.

Keywords: *Capsicum, Colletotrichum sp., Penicillium sp., Trichoderma sp.*

Người phản biện: GS.TS. Nguyễn Văn Tuất

Ngày nhận bài: 11/10/2022

Ngày thông qua phản biện: 7/11/2022

Ngày duyệt đăng: 14/11/2022

CÔN TRÙNG CHÍCH HÚT - VÉC TƠ LÂY TRUYỀN BỆNH TUA MỰC HẠI CÂY QUẾ Ở VÙNG NAM TRUNG BỘ

Nguyễn Văn Thành[1], Lê Văn Bình[1], Nguyễn Mạnh Hà[1],
Nguyễn Văn Việt[2], Nguyễn Thị Minh Hằng[1], Đào Ngọc Quang[1], Nguyễn Minh Chí[1]

TÓM TẮT

Vỏ cây Quế được xem là một nguồn dược liệu quý, đặc biệt là vỏ của cây Quế được trồng tại vùng Nam Trung bộ của Việt Nam. Cây Quế đang được quan tâm phát triển nhằm tạo sản phẩm đặc sản của tỉnh Quảng Nam và Quảng Ngãi nhưng bệnh tua mực đang gây hại phổ biến trên rừng trồng Quế. Nghiên cứu này nhằm xác định véc tơ truyền bệnh tua mực hại cây Quế thông qua việc kiểm tra sự tồn tại của phytoplasma bằng phương pháp SEM. Kết quả nghiên cứu đã ghi nhận ba loài Rệp sáp vảy, Rệp sáp và Rệp sáp bông là véc tơ truyền bệnh tua mực quế. Để quản lý hiệu quả bệnh tua mực hại cây Quế ở tỉnh Quảng Nam và Quảng Ngãi, cần nghiên cứu các giải pháp quản lý các loài côn trùng là véc tơ truyền bệnh tua mực hại cây Quế vùng Nam Trung bộ.

Từ khóa: *Bệnh tua mực, cây Quế, côn trùng chích hút, rệp sáp, Tây Nam bộ, véc tơ.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cây Quế đã và đang mang lại giá trị kinh tế cao cho người trồng rừng, diện tích rừng trồng Quế ngày càng được mở rộng, tuy nhiên trong những năm gần đây một số loài sâu, bệnh bắt đầu phát sinh gây hại mạnh. Đặc biệt là bệnh tua mực hại, tỷ lệ cây bị bệnh có thể chiếm trên 50%, gây thiệt hại lớn về kinh tế.

Nghiên cứu về nguyên nhân chết hàng loạt rừng trồng Quế ở Việt Nam, Trần Quang Tấn (2004) [1] đã phát hiện được 19 loài sâu hại Quế, trong đó có 5 loài sâu hại phổ biến xuất hiện ở cả 3 tỉnh Yên Bái, Thanh Hóa và Quảng Nam, đó là: Sâu đo ăn lá Quế, sâu cuốn lá, sâu đục ngọn, sâu gặm vỏ và sâu róm. Ở Yên Bái, Bọ xít nâu sẫm (*Pseudodoniella chinensis*) được ghi nhận là sâu hại chính đối với rừng trồng Quế từ 5 đến 8 tuổi.

Kết quả điều tra đánh giá sâu, bệnh hại Quế của Võ Duy Loan (2014) [2] tại huyện Trà Bồng, tỉnh Quảng Ngãi đã phát hiện được 14 loại sâu hại, 12 loại bệnh và 2 loại tuyến trùng. Trong đó có các đối tượng xuất hiện phổ biến, có khả năng gây ảnh hưởng rất lớn đến sinh trưởng, phát triển, năng suất và chất lượng vỏ Quế là sâu đục đọt, bệnh tua mực, bệnh thán thư đọt (khô đọt non) và bệnh đốm lá. Kết quả đáng chú ý trong nghiên cứu là đã xác định được nguyên nhân gây bệnh tua mực hại cây Quế tại huyện Trà Bồng là do phytoplasma và bệnh được lây lan qua côn trùng môi giới là loài rệp ống *Aulacaspis* sp. Bệnh phát sinh phát triển gây hại mạnh trong điều kiện ẩm độ cao. Theo nghiên cứu của Đào Ngọc Quang và cs (2022) [3], nguyên nhân gây bệnh tua mực quế gây hại cây Quế tại Quảng Nam và Quảng Ngãi là do phytoplasma. Zaim và Samad (1995) cũng cho thấy, nguyên nhân lây truyền phytoplasma cho thực vật là do các loài côn trùng thuộc nhóm chích hút [4]. Trong những năm vừa qua, sản xuất quế tại tỉnh Quảng Nam và Quảng Ngãi gặp phải trở ngại lớn do bệnh tua mực gây suy giảm năng suất, chất lượng và giảm thu nhập cho người trồng quế [3]. Chính vì vậy, nghiên cứu xác định nhóm côn trùng là véc tơ lây truyền bệnh tua mực hại cây Quế tại vùng Nam Trung bộ nhằm tìm ra những giải pháp quản lý các loài côn trùng là véc tơ truyền bệnh tua mựa hại cây Quế.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Cây Quế ở huyện Trà Bồng, tỉnh Quảng Ngãi và huyện Nam Trà My, huyện Bắc Trà My, tỉnh Quảng Nam.

Nhóm côn trùng chích hút có khả năng lây truyền bệnh tua mực quế thu trên rừng trồng Quế ở tỉnh Quảng Ngãi và Quảng Nam.

[1] Trung tâm Nghiên cứu Bảo vệ rừng, Viện Khoa học Lâm nghiệp Việt Nam
[2] Trường Đại học Nông Lâm, Đại học Thái Nguyên

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp điều tra, thu mẫu

Tiến hành điều tra, thu mẫu côn trùng chích hút hại cây Quế ở vườn ươm và rừng trồng quế bị bệnh tua mực quế ở huyện Trà Bồng, tỉnh Quảng Ngãi và huyện Nam Trà My, huyện Bắc Trà My, tỉnh Quảng Nam.

Các mẫu côn trùng được xử lý, làm mẫu và bảo quản tại Trung tâm Nghiên cứu Bảo vệ rừng, Viện Khoa học Lâm nghiệp Việt Nam.

2.2.2. Phương pháp giám định tên khoa học

Mẫu các loài côn trùng chích hút hại cây Quế ở vườn ươm và rừng trồng quế được chụp ảnh trên kính hiển vi soi nổi Leica M165C, mô tả về hình thái và đối chiếu với các khóa phân loại của Ahmed (1965) [5], Blackman và Eastop (2000) [6], Beshr (2015) [7], Cho và cs (2020) [8], Kaiwa và cs (2010) [9], Kuwana (1926) [10], Lo Verde và cs (2020) [11], Mandanayake và cs (2014) [12], Unruh và Guilan (2008) [13], Wang và Tong (2017) [14], Zheng (1992) [15].

Những mẫu côn trùng được xác định là véc tơ lây truyền bệnh tua mực hại cây Quế tiếp tục được định danh bằng phương pháp sinh học phân tử.

2.2.3. Phương pháp xác định véc tơ lây truyền bệnh tua mực hại cây Quế

- Tách chiết ADN tổng số

Tách chiết ADN tổng số được thực hiện dựa trên phương pháp CTAB (Cetyl trimethyl ammonium bromide) của Saghai - Maroof và cs (1984) [16]. Tiến hành kiểm tra nồng độ và độ tinh khiết của gADN thu được bằng máy quang phổ (Nanodrop).

- Phương pháp PCR lồng

Phản ứng PCR vòng 1 với mồi P1/P7 được tiến hành với các thành phần phản ứng trong 25 µl. Chương trình gia nhiệt của máy PCR được thực hiện với bước 1 ở 95°C trong 5 phút, bước 2 là 30 chu kỳ với chu trình nhiệt là: 95°C trong 45 giây, 55°C trong 45 giây và 72°C trong 2 phút, bước 3 ở 72°C trong 5 phút và kết thúc bằng bước 4 ở 10°C trong 10 phút. Với phản ứng PCR lồng, sản phẩm PCR đầu tiên được pha loãng 30 lần sau đó lấy 2 µl làm ADN khuôn cho vào hỗn hợp phản ứng PCR với cặp mồi R16F2n/R16R2. Thành phần phản ứng và điều kiện nhiệt độ được thực hiện giống như phản ứng PCR đầu tiên. 5 µl của sản phẩm PCR lồng được điện di bằng 1% (w/v) agarose gel trong dung dịch TAE1X. Các sản phẩm PCR lồng được giải trình tự với cặp mồi R16F2n/R16R2. Trình tự các mẫu được so sánh với cơ sở dữ liệu của GenBank thông qua giao diện tìm kiếm BLAST.

2.2.4. Kiểm tra sự lây nhiễm phytoplasma của côn trùng thông qua gây nuôi trong lồng lưới

Sử dụng cây Quế con 2 năm tuổi sạch bệnh (kiểm tra sự tồn tại của phytoplasma bằng phương pháp SEM) để nuôi côn trùng có phytoplasma và kiểm tra sự lây truyền phytoplasma của côn trùng. Mẫu côn trùng thu được ngoài hiện trường được gây nuôi trong lồng lưới (kích thước 80 x 60 x 60 cm), mỗi lồng lưới đặt 4 cây con 2 năm tuổi sạch bệnh, mỗi loài côn trùng nuôi trong 3 lồng lưới (3 lần lặp lại). Sau thời gian 2 tháng những cây con này được kiểm tra lại sự tồn tại của phytoplasma để khẳng định những loài côn trùng có phytoplasma có phải là véc tơ lây truyền bệnh tua mực hại cây Quế hay không. Lồng đối chứng không có côn trùng. Cây con trong lồng lưới được chăm sóc, tưới hàng ngày.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Thành phần nhóm côn trùng chích hút hại cây Quế

Từ kết quả điều tra, so sánh đặc điểm hình thái của các loài côn trùng chích hút gây hại cây Quế, thành phần các loài côn trùng chích hút gây hại cây Quế ở vườn ươm và rừng trồng huyện Trà Bồng, tỉnh Quảng Ngãi và huyện Nam Trà My, huyện Bắc Trà My, tỉnh Quảng Nam được trình bày ở bảng 1, hình 1.

Bảng 1. Thành phần loài côn trùng chích hút gây hại cây Quế

TT	Tên Việt Nam	Tên khoa học
1	Rệp sáp vảy	*Aulacaspis tubercularis* (Newstead, 1906)
2	Rệp sáp	*Icerya aegyptiaca* (Douglas, 1890)
3	Rệp sáp bông	*Icerya seychellarum* (WestWood, 1855)
4	Rệp muội nâu	*Toxoptera aurantii* (Boyer de Fonscolombe, 1841)
5	Bọ trĩ đen cách vạch trắng	*Helionothrips lushanensis* (Wang & Tong, 2017)

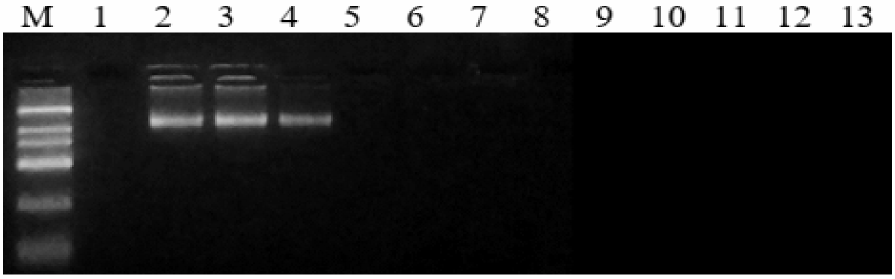
6	Bọ xít dài	*Leptocorisa acuta* (Thunberg, 1783)
7	Bọ xít muỗi	*Helopeltis theivora* (Waterhouse, 1886)
8	Bọ xít nâu sẫm	*Pseudodoniella chinensis* (Zheng, 1992)
9	Bọ xít lưng gù	*Cochlochila conchata* (Matsumura, 1913)
10	Bọ xít cánh vàng chấm đen	*Cantao ocellatus* (Thunberg, 1784)
11	Bọ xít cánh vàng hai dải đen	*Poecilocoris latus* (Dallas, 1848)
12	Bọ xít nâu xám	*Homoeocerus* sp.

Bảng 1 cho thấy, nhóm côn trùng chích hút hại cây Quế ở vườn ươm và rừng trồng huyện Trà Bồng, tỉnh Quảng Ngãi và huyện Nam Trà My, Bắc Trà My, tỉnh Quảng Nam thu được 12 loài, trong đó có 4 loài rệp (Hình 1.1 - 1.4), 1 loài bọ trĩ (Hình 1.5), 7 loài bọ xít (Hình 1.6 - 1.12).

Hình 1. Thành phần loài côn trùng chích hút gây hại cây Quế (*1. Rệp sáp vảy; 2. Rệp sáp; 3. Rệp sáp bông; 4. Bọ xít nâu sẫm; 5. Bọ trĩ đen cách vạch trắng; 6. Bọ xít dài; 7. Bọ xít muỗi; 8. Bọ xít nâu sẫm; 9. Bọ xít lưng gù; 10. Bọ xít cánh vàng chấm đen; 11. Bọ xít cánh vàng hai dải đen; 12. Bọ xít nâu xám*)

3.2. Xác định côn trùng là véc tơ lây truyền bệnh tua mực quế

Tiến hành tách chiết ADN tổng số từ các mẫu côn trùng và thực hiện phản ứng PCR lồng với các cặp mồi đặc hiệu của phytoplasma là P1/P7 - R16F2n/R16R2. Sau phản ứng PCR đầu tiên với cặp mồi P1/P7, không quan sát thấy sản phẩm PCR của các mẫu. Sản phẩm PCR đầu tiên tiếp tục được sử dụng để làm khuôn ADN trong phản ứng PCR lồng với cặp mồi R16F2n/R16R2. Trong số 14 mẫu côn trùng, có 3 mẫu (2, 3, 4) có sản phẩm PCR lồng với kích thước khoảng 1.200 bp (Hình 2), tương ứng với các loài: 1. Rệp sáp vảy (*Aulacaspis tubercularis*), 2. Rệp sáp (*Icerya aegyptiaca*), 3. Rệp sáp bông (*Icerya seychellarum*); mẫu 1 (nước cất) và 9 mẫu côn trùng còn lại (5 - 13) không có sản phẩm PCR lồng. Kết quả chỉ ra rằng phytoplasma có mặt trong 3 mẫu côn trùng và các loài côn trùng này có khả năng là các véc tơ lây truyền phytoplasma từ cây chủ bị bệnh sang cây chủ mới.



Hình 2. Kết quả phản ứng PCR lồng bằng cặp mồi P1/P7- R16F2n/R16R2 đối với các mẫu côn trùng.

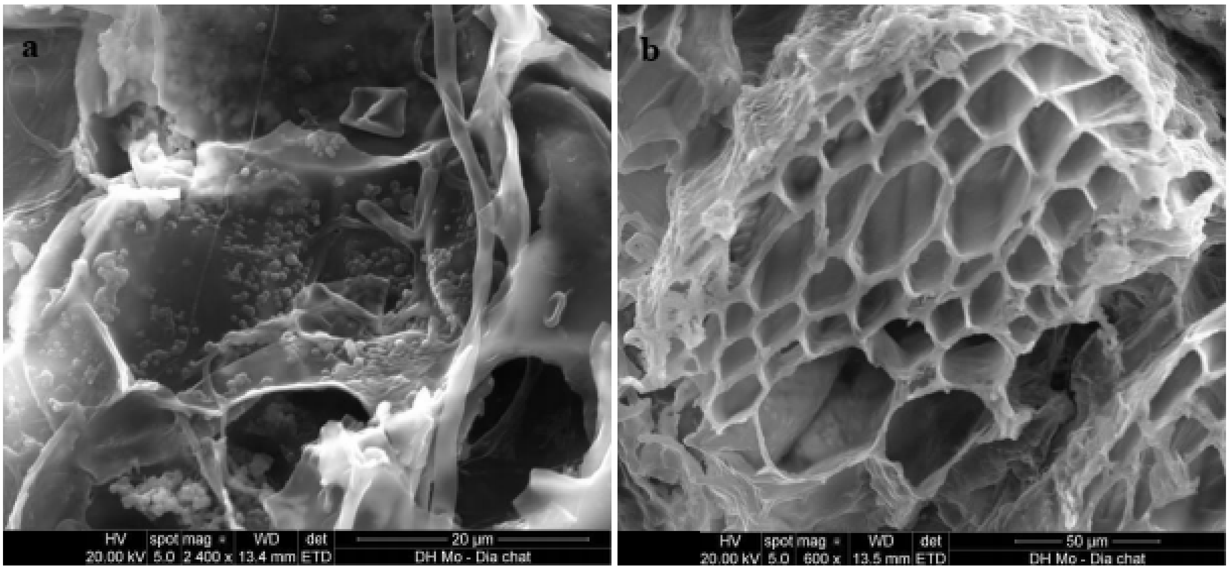
M: DL2000 ADN marker; mẫu 1: Đối chứng âm (nước cất); mẫu 2 - 13: các mẫu côn trùng

3.3. Gây nuôi côn trùng là véc tơ lây truyền bệnh tua mực quế bằng cây con 2 năm tuổi

Sau khi thả vào lồng, các cá thể của 3 loài côn trùng chích hút (Rệp sáp vảy, rệp sáp, rệp sáp bông) đều đã tấn công vào thân, cuống lá hoặc gân lá (Hình 3), tiếp tục sinh sản và gây hại cây con trong các lồng liên tục trong thời gian 2 tháng thí nghiệm.

Hình 3. Nuôi côn trùng trong lồng lưới kiểm tra lây truyền bệnh tua mực quế

Kết quả chụp ảnh cây con trong lồng nuôi bằng kỹ thuật SEM sau 2 tháng cho thấy tất cả các cây con trong lồng nuôi có côn trùng chích hút có vách tế bào bị tổn thương và các tiểu thể phytoplasma hình cầu (Hình 4a); mẫu thu từ cây khỏe (những lồng nuôi đối chứng) với vách tế bào nguyên vẹn và không thấy sự tồn tại của các tiểu thể phytoplasma (hình 4b). Đồng thời một số cây con trong lồng nuôi côn trùng bắt đầu xuất hiện triệu chứng nổi u thân, cuống lá hoặc gân lá. Kết quả này chứng minh 3 loài rệp (Rệp sáp vảy, rệp sáp, rệp sáp bông) đều là véc tơ lây truyền phytoplasma gây bệnh tua mực hại cây Quế.



Hình 4. Kết quả chụp ảnh bằng kỹ thuật SEM sau 2 tháng*: a. mẫu thu từ cây bị bệnh với vách tế bào bị tổn thương và các tiểu thể phytoplasma hình cầu; b. mẫu thu từ cây khỏe với vách tế bào nguyên vẹn*

3.4. Kết quả định danh côn trùng chích hút là véc tơ lây truyền bệnh tua mực quế bằng phương pháp sinh học phân tử

Kết quả so sánh các chuỗi ADN được với ngân hàng NCBI thông qua giao diện tìm kiếm BLAST nucleotide - nucleotide được trình bày ở bảng 2.

Bảng 2. Kết quả định danh côn trùng chích hút là véc tơ lây truyền bệnh tua mực quế bằng phương pháp sinh học phân tử

STT	Ký hiệu mẫu	Mã số trên NCBI	Độ tương đồng[1] (%)	Tên khoa học
1	NTM1	CMU081 28S	288/320 (90%)	*Icerya aegyptiaca*
2	NTM2	UMEC-D5019A 28S	340/346 (98%)	*Aulacaspis tubercularis*
3	NTM3	S3-663 28S	315/315 (100%)	*Icerya seychellarum*

Ghi chú: [1] Chiều dài trình tự nghiên cứu (bp)/chiều dài trình tự so sánh (bp)

Dựa trên đặc điểm hình thái và kết quả định danh bằng sinh học phân tử xác định 3 loài côn trùng chích hút - véc tơ lây truyền bệnh tua mực quế ở Quảng Nam và Quảng Ngãi là 3 loài rệp: *Aulacaspis tubercularis*, *Icerya aegyptiaca*, *Icerya seychellarum*.

3.5. Thảo luận

Nghiên cứu của Đào Ngọc Quang và cs (2022) [3] đã xác định nguyên nhân gây bệnh tua mực gây hại cây Quế ở tỉnh Quảng Nam và Quảng Ngãi là do phytoplasma. Trong nghiên cứu này đã ghi nhận Rệp sáp bông, Rệp sáp vảy và Rệp sáp là véc tơ truyền phytoplasma gây bệnh tua mực gây hại cây Quế tại các địa phương này. Nghiên cứu trước đây về nguyên nhân gây bệnh tua mực hại cây Quế ở Quảng Ngãi cũng xác định do phytoplasma [2] nhưng chưa xác định chính xác được véc tơ truyền bệnh.

Phytoplasmas gây ra các triệu chứng bệnh đặc trưng như vàng lá, biến màu, chổi sể, còi cọc, biến dạng, tạo nhiều chồi nhỏ [2], [17]. Nguyên nhân lây lan bệnh đã được xác định do nhiều nguyên nhân như bệnh chổi rồng do phytoplasma trên cây Sắn lây lan do nhân giống vô tính từ nguồn giống nhiễm bệnh [18]. Phytoplasma có thể được lây truyền thông qua hoạt động nhân giống vô tính hoặc qua các loài côn trùng hút nhựa cây [18], [19].

Việc kiểm tra sự lây lan của phytoplasma đã sử dụng kính hiển vi điện tử (SEM) để mô tả các cấu trúc của phytoplasma. Nghiên cứu của Trịnh Xuân Hoạt và cs (2012) [18] cũng sử dụng kính hiển vi điện tử (TEM) để kiểm tra sự tồn tại của phytoplasma trong cây. Khi phytoplasma đã nhiễm vào cây, chúng sẽ có mặt ở toàn bộ các bộ phận của cây, làm cho cây bị rối loạn sinh trưởng, còi cọc và có thể bị chết [19], [20].

Theo nghiên cứu của Zaim và Samad (1995) [4], bệnh tua mực trên cây Sâm Ấn Độ (*Withania somnijkra*) lây lan rộng thông qua việc chiết ghép và các môi giới truyền bệnh như rệp *Myzus persicae* và rệp *Aphis craccivora*. Một nghiên cứu đã xác định tác

nhân làm lây lan phytoplasma gây bệnh chổi rồng trên bốn loài Khoai tây và cỏ Alfalfa là hai loài rệp *Neokolla hieroglyphica* và *Cuerna septentrionalis* [21].

4. KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

4.1. Kết luận

Điều tra, thu mẫu và giám định được 12 loài côn trùng chích hút gây hại cây Quế tại tỉnh Quảng Nam và Quảng Ngãi.

Xác định được 3 loài côn trùng thuộc nhóm chích hút là véc tơ lây bệnh tua mực quế, bao gồm: Rệp sáp vảy *Aulacaspis tubercularis* (Newstead, 1906), Rệp sáp *Icerya aegyptiaca* (Douglas, 1890) và Rệp sáp bông *Icerya seychellarum* (WestWood, 1855).

Hiện nay, bệnh tua mực gây hại cây Quế tại tỉnh Quảng Nam và Quảng Ngãi rất nghiêm trọng, trong đó một trong những nguyên nhân làm lây lan đã được xác định do 3 loài Rệp sáp bông, Rệp sáp vảy và Rệp sáp, chúng làm véc tơ truyền bệnh cho cây cả ở giai đoạn vườn ươm và rừng trồng.

4.2. Kiến nghị

Cần tiếp tục hoàn thiện các giải pháp quản lý hiệu quả bệnh tua mực thông qua việc phòng trừ các loài côn trùng là véc tơ truyền bệnh để góp phần bảo tồn và phát triển thành công cây Quế ở vùng Nam Trung bộ.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Trần Quang Tấn (2004). Nghiên cứu nguyên nhân chết hàng loạt và đề xuất biện pháp kỹ thuật tổng hợp nhằm góp phần ổn định năng suất, chất lượng Quế ở Việt Nam. Báo cáo tổng kết quả thực hiện đề tài độc lập cấp Nhà nước. Viện Bảo vệ thực vật.

2. Võ Duy Loan (2014). Điều tra đánh giá sâu bệnh hại Quế và nghiên cứu ứng dụng biện pháp phòng trừ sâu bệnh tổng hợp trên cây Quế tại huyện Trà Bồng. Báo cáo tổng kết đề tài khoa học công nghệ cấp tỉnh. Chi cục Bảo vệ thực vật tỉnh Quảng Ngãi.

3. Đào Ngọc Quang, Đặng Như Quỳnh, Nguyễn Mạnh Hà, Phạm Quang Thu, Đinh Văn Thọ, Nguyễn Minh Chí (2022). Bệnh tua mực gây hại cây quế tại vùng Nam Trung bộ. *Tạp chí Nông nghiệp và PTNT*, số 21, tr. 51 - 59.

4. Zaim M, Samad A. (1995). Association of phytoplasmas with a witches - broom disease of *Withania somnifera* (L.) Dunal in India. *Plant Science* 109, 225 - 229.

5. Ahmed, I. (1965). The Leptocorisinae (Heteroptera: Alydidae) of the world. Bulletin of British Museum of Natural History. *Entomology Supplement*, 5: 153 - 156.

6. Blackman, R. L., & Eastop, V. F. (2000). *Aphids on the world's crops: an identification and information guide* (No. Ed. 2). John Wiley & Sons Ltd.

7. Beshr, S. M. (2015). Scanning Electron Microscopy of *Icerya aegyptiaca* (Douglas, 1890) (Hemiptera: Monophlebidae). *Alexandria Science Exchange Journal*, *36*(OCTOBER-DECEMBER), 365 - 372.

8. Cho, G., Kim, W., Kwon, Y. S., & Lee, S. (2020). Check list of lace bugs (Hemiptera: Tingidae) of Korea. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 23 (3), 736 - 745.

9. Kaiwa, N., Hosokawa, T., Kikuchi, Y., Nikoh, N., Meng, X. Y., Kimura, N., ... & Fukatsu, T. (2010). Primary gut symbiont and secondary, Sodalis - allied symbiont of the scutellerid stinkbug *Cantao ocellatus*. *Applied and Environmental Microbiology*, 76 (11), 3486-3494.

10. Kuwana, S. I. (1926). *The Diaspine Coccidae of Japan: Genera Cryptoparlatoria, Howardia, Sasakiaspis, Diaspis, Aulacaspis, Pinnaspis and Prontaspis* (Vol. 2).

11. Lo Verde, G., Cerasa, G., Altamore, B., & Farina, V. (2020). First record of Icerya seychellarum and confirmed occurrence of *Aulacaspis tubercularis* (Hemiptera: Coccomorpha) in taly. *Phytoparasitica*, 48 (2), 175 - 182.

12. Mandanayake, M. A. R., Amarakoon, A. M., Sirisena, U. G. A., Hemachandra, K., Wilson, M. R., & Kahawaththa, U. (2014). Occurrence of *Leptocorisa acuta* (Thunberg) (Hemiptera: Alydidae) in Sri Lanka. *Annals of Sri Lanka Department of Agriculture*, *16*, 323 - 326.

13. Unruh C. M. and P. J. Guilan (2008). Identification guide to species in the scale insect tribe Iceryini (Coccoidea: Monophlebidae). *Zootaxa* 1803. 106p.

14. Wang, Z., & Tong, X. (2017). A new species of Helionothrips from China (Thysanoptera, Panchaetothripinae). *ZooKeys*, (714), 47.

15. Zheng L. Y. (1992). A new species of genus Pseudodoniella China & Carvalho from China (Insecta: Hemiptera: Miridae). *Reichenbachia*, 21:119 - 122 pp.

16. Saghai - Maroof MA, Soliman KM, Jorgensen RA, Allard RW (1984). Ribosomal DNA spacer - length polymorphisms in barley: mendelian inheritance, chromosomal location, and population dynamics. *Proc Natl Acad Sci* 81: 8014 - 8018.

17. Thi Nguyen Duong and Thanh Van Dao (2017). Molecular detection and identification of a phytoplasma associated with cinnamon (*Cinnamomum cassia* B.) witches' broom disease in Quang Ngai province, Vietnam. *Vietnam Journal of Science, Technology and Engineering*, vol. 59 nunber 3, page 44 - 47.

18. Trịnh Xuân Hoạt, Nguyễn Đức Thành, Ngô Gia Bôn, Mai Văn Quân, Vũ Duy Hiện (2012). Phát hiện và xác định Phytoplasma liên quan đến bệnh chổi rồng hại sắn tại một số tỉnh phía nam Việt Nam. *Tạp chí Bảo vệ thực vật*, số 2, tr. 10 -14.

19. Chaturvedi, Y., Rao, G., Tiwari, A. K., Duduk, B., & Bertaccini, A. (2010). Review Article: Phytoplasma on ornamentals: Detection, diversity and management. *Acta Phytopathologica et Entomologica Hungarica*, 45, 31 - 69.

20. Acosta, K., Zamora, L., Piñol, B., Fernández, A., Chávez, A., Flores, G., . . . Arocha, Y. (2013). Identification and molecular characterization of phytoplasmas and rickettsia pathogens associated with 'Bunchy Top Symptom'(BTS) and 'Papaya Bunchy Top'(PBT) of papaya in Cuba. *Crop Protection*, 45, 49 - 56.

21. Weintraub, P. G. and L. Beanland (2006). Insect Vectors of Phytoplasmas. *Annual Review of Entomology*, 51 (1), pp. 91 - 111.

SUCKING INSECTS - THE TRANSMISSION VECTOR OF WITCHES'-BROOM DISEASE IN *Cinnamomum cassia* IN SOUTH - CENTRAL VIETNAM

Nguyen Van Thanh, Le Van Binh, Nguyen Manh Ha,

Nguyen Van Viet, Nguyen Thi Minh Hang, Dao Ngoc Quang, Nguyen Minh Chi

Summary

The bark of *Cinnamomum cassia* is a valuable source of medicinal herbs in the South -Central region of Vietnam and specialty products are being developed Quang Nam and Quang Ngai provinces. However, the widespread occurrence of witches'- broom disease is affecting productivity of this tree. This study aims to determine the vector of transmission of witches'- broom disease by checking the presence of phytoplasma in sap - sucking insects by scanning electron microscopy. Microscopy revealed phytoplasma in *Aulacaspis tubercularis* (mango scale, Hemiptera: Diaspididae), *Icerya aegyptiaca* (breadfruit mealy bug, Hemiptera: Monophlebidae) and *Icerya seychellarum* (Seychelles scale, Hemiptera: Margarodidae). It is concluded that these hemipterans are vectors of transmission of phytoplasma in *Cinnamomum cassia* in Quang Nam and Quang Ngai provinces. In order to effectively manage the witches'- broom disease in cinnamon in Quang Nam and Quang Ngai provinces, it is necessary to study effective management solutions for the these sap - sucking hemipterans in Vietnam.

Keywords: *Cinnamomum cassia, sucking insect, mealybugs, South - Central region, vector, witches' broom disease.*

Người phản biện: TS. Nguyễn Thành Tuấn

Ngày nhận bài: 12/9/2022

Ngày thông qua phản biện: 11/10/2022

Ngày duyệt đăng: 28/11/2022

GIÁ TRỊ DINH DƯỠNG CỦA ẤU TRÙNG NGÀI SÁP LỚN *Galleria mellonella* (LEPIDOPTERA: PYRALIDAE)

Nguyễn Thành Mạnh[1,*], Nguyễn Thị Tú Anh[1], Nguyễn Thị Hạnh[1],
Trương Xuân Lam[1], Hà Ngọc Linh[1],
Phạm Huy Phong[1], Nguyễn Quang Cường[1]

TÓM TẮT

Ngài sáp lớn (*Galleria mellonella*), thường được sử dụng trong nghiên cứu thức ăn cho động vật nuôi làm cảnh hoặc là vật chủ cho các loại ong ký sinh trong đấu tranh sinh học. Nghiên cứu này chỉ ra giá trị dinh dưỡng của ấu trùng ngài sáp lớn nuôi bằng thức ăn nhân tạo. Kết quả nghiên cứu cho thấy tỷ lệ protein là 43,12% và lipit là 44,24%. Trong đó, protein bao gồm 15 loại axit amin, với 7 loại axit amin thiết yếu, 4 loại axit amin thiết yếu có điều kiện và 4 loại axit amin không thiết yếu. Lipit bao gồm 7 loại axit béo với 4 loại axit béo không bão hòa gốc omega rất cần thiết cho cơ thể và 3 axit béo bão hòa. Bên cạnh đó, bột khô ấu trùng ngài sáp lớn còn chứa 7 loại chất khoáng như: Mg, Cu, Zn, Fe, Ca, Pb và Cd. Đặc biệt, một số chất khoáng có hàm lượng cao là: Mg (863,93 mg/kg), Ca (870,18 mg/kg), Zn (152,81 mg/kg) và Fe (63,08 mg/kg). Điều này chứng tỏ bột khô ngài sáp lớn có giá trị dinh dưỡng cao, giàu protein, chất béo và các chất vi lượng, đáp ứng nhu cầu dinh dưỡng của cơ thể sinh vật.

Từ khóa: *Axit amin, axit béo, chất vi lượng côn trùng ăn được, Galleria mellonella, ngài sáp lớn.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Côn trùng thuộc ngành động vật không xương sống, là nhóm động vật đa dạng nhất trên thế giới [1]. Chúng giữ vai trò quan trọng trong hệ sinh thái và hoạt động sản xuất của con người [2]. Trên thực tế, côn trùng bị tiêu diệt và ăn thịt bởi nhiều loài động thực vật khác nhau. Tuy nhiên thuật ngữ “côn trùng ăn được” dùng để chỉ một số loài côn trùng như sâu gạo, dế, đuông dừa, kiến, châu chấu… được tiêu thụ bởi con người. Dưới góc nhìn dinh dưỡng học, côn trùng ăn được chứa nhiều protein, chất béo, khoáng chất, vitamin và chất sơ, do đó, côn trùng ăn được có thể coi như một loại thực phẩm dinh dưỡng cao [3; 4].

Trong những năm gần đây, nhu cầu về một nguồn protein thay thế trong ngành chăn nuôi, nuôi trồng thủy sản đang vô cùng cấp bách, nhất là trong điều kiện hiện nay khi giá thành bột cá tăng cao và dần khan hiếm. Bột protein từ côn trùng rất có thể là một nguồn thay thế hoàn hảo nhờ vào chất lượng protein cao, có tính bền vững, giá thành rẻ [5]. Một vài nghiên cứu còn chỉ ra rằng bột protein có nguồn gốc từ côn trùng có thể thay thế bột protein có nguồn gốc từ đậu tương và cá, giảm chi phí mua protein động vật, giảm mất an toàn thực phẩm, có lợi cho môi trường, đáp ứng nhu cầu protein ngày càng tăng trên toàn cầu [6].

Ngài sáp lớn *Galleria mellonella* thuộc họ Pyralidae, phân bố trên toàn thế giới. Tuy là một loài gây hại cho nên công nghiệp nuôi ong lấy mật nhưng thành phần dinh dưỡng trong cơ thể ấu trùng ngài sáp lớn rất phong phú về protein, lipit cũng như các loại vitamin và khoáng chất [7]. So sánh thành phần dinh dưỡng của ngài sáp lớn đối với một số đối tượng côn trùng khác như tằm dâu, sâu quy, cào cào, châu chấu... thì ngài sáp lớn thể hiện được sự vượt trội. Điều này chứng tỏ rằng ngài sáp lớn hoàn toàn có thể trở thành một nguồn nguyên liệu quan trọng trong chăn nuôi.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nhân nuôi ngài sáp lớn bằng thức ăn nhân tạo

2.1.1. Thành phần thức ăn nhân tạo nuôi ngài sáp lớn Galleria mellonella

Ngài sáp lớn sinh trưởng và phát triển trong các cầu ong, chúng dùng sáp ong, mật ong như là nguồn dinh dưỡng chính. Lợi dụng đặc điểm này, đã sử dụng sáp ong và mật ong như là thành phần chính để phối trộn thức ăn nhân tạo nuôi ngài sáp lớn trong phòng thí nghiệm. Bên cạnh đó, trong thành phần thức ăn còn có thêm bột ngô, bột gạo, cao nấm men,

[1] Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam
[*]Email: petitvent37@gmail.com

multivitamin... nhằm bổ sung về mặt dinh dưỡng cũng như tiết kiệm chi phí. Thạch agar agar giúp định hình thức ăn. Các thành phần khác như kháng sinh (streptomycin), axit ascobic, axit sorbic, Hydroxyl Methyl Benzoat… sẽ giúp bảo quản thức ăn, tránh sự xâm hại của một số loại nấm mốc trong phòng thí nghiệm.

Bảng 1 là thành phần các chất để nấu 1 kg thức ăn nhân tạo, trong đó bột đậu tương và bột ngô đều được sấy ở 90°C trong 3 giờ để loại bỏ các mầm bệnh cũng như mối mọt.

Bảng 1. Thành phần thức ăn nhân tạo nuôi ngài sáp lớn *Galleria mellonella*

STT	Thành phần	Khối lượng
1	Bột ngô	120 g
2	Bột đậu tương	40 g
3	Cao nấm men	6 g
4	Sáp ong	40 g
5	Mật ong	100 ml
6	Glycerin	10 ml
7	Kháng sinh (streptomycin)	1 viên
8	Axit ascobic	2,6 g
9	Hydroxyl Methyl Benzoat	2
10	Multivitamin	1 viên
11	Axit sorbic	1 g
12	Thạch Agar agar	12 g
13	Nước	700 ml
14	Formaldehit	1 ml

2.1.2. Các bước phối chế thức ăn nhân tạo nuôi ngài sáp lớn Galleria mellonella

- Bước 1: trộn đều bột ngô, bột đậu tương, cao nấm men, sáp ong, mật ong, glycerine, nước cất, nấu chín (hỗn hợp A).

- Bước 2: đun nóng để hòa tan hỗn hợp gồm: nước cất, axit ascorbic, axit sorbic, hydroxyl methyl benzoat (hỗn hợp B).

- Bước 3: đun nóng để hòa tan hỗn hợp gồm: nước cất và thạch agar agar (hỗn hợp C).

- Bước 4: cho hỗn hợp A, hỗn hợp B, hỗn hợp C vào chung một nồi và khuấy đều. Thêm vào formol, streptomycin, multivitamin. Đun sôi lại một lần nữa rồi tắt lửa.

- Bước 5: đổ thức ăn nhân tạo đã phối chế ở trên ra khay, để nguội và bảo quản ở trong tủ định ôn ở 4°C.

2.1.3. Nhân nuôi ngài sáp lớn Galleria mellonella trong phòng thí nghiệm

Nguồn giống: ngài sáp lớn được thu thập tại các cơ sở nuôi ong mật ở tất cả các giai đoạn phát triển: trứng, ấu trùng, nhộng và trưởng thành.

Dụng cụ nuôi sâu: các hộp nhựa hình chữ nhật có kích thước 20 cm x 40 cm x 20 cm có nắp đã được khoét và thay thế bằng các tấm lưới mắt nhỏ. Lọ nhựa có đường kính 10 cm, cao 12 cm, bịt nắp bằng vải, panh mềm, bông thấm nước, dung dịch mật ong 10%.

Đây là thí nghiệm phân tích thành phần dinh dưỡng của ngài sáp lớn nuôi bằng thức ăn nhân tạo trong điều kiện phòng thí nghiệm nên không giới hạn về số lượng các cặp trưởng thành, số lượng trứng hay số lượng ấu trùng ngài sáp lớn.

Trưởng thành ngài sáp lớn được ghép cặp và cho vào trong các lọ nhựa (mỗi lọ 10 cặp, đây là mật độ phù hợp để chúng giao phối và đẻ trứng) có nắp đục lỗ hoặc bịt bằng nắp vải. Con cái có thể đẻ trứng ngay sau khi giao phối. Một mảnh vải đen có đường kính tương đương với đáy lọ được đặt dưới đáy để con cái đẻ trứng trong điều kiện phòng thí nghiệm (25-27°C, độ ẩm 45-65%). Trong mỗi lọ đều có bông tẩm dung dịch mật ong 10%. Kiểm tra và thu trứng hàng ngày.

Ngài sáp lớn có tập tính hoạt động chủ yếu vào ban đêm, do đó trứng sẽ được thu 1 lần/ngày vào buổi sáng. Trứng thu được sẽ được cho vào các hộp nhựa chữ nhật theo dõi cho đến khi trứng nở (sau 3-5 ngày) trong điều kiện phòng thí nghiệm. Khi trứng nở, thêm thức ăn nhân tạo vào. Ấu trùng sau khi nở tuy có kích thước khá nhỏ bé nhưng vẫn có thể nhìn thấy được bằng mắt thường. Ấu trùng di chuyển rất nhanh để tìm nguồn thức ăn. Giai đoạn ấu trùng thường kéo dài khoảng 20-22 ngày trước khi kéo kén để hóa nhộng. Đây cũng chính là thời điểm ấu trùng đạt kích thước to nhất trung bình mỗi ấu trùng nặng 170 đến 180 mg.

Khi ấu trùng đạt kích thước to nhất sẽ được chia làm hai phần. Một phần lớn (90% tổng số ấu trùng thu được trong một đợt nuôi) thu lại và tiến hành hấp bằng hơi nước sau đó đem sấy khô, sau đó nghiền mịn thành bột. Một phần nhỏ (10% tổng số ấu trùng thu được trong một đợt nuôi) ấu trùng nuôi tiếp đến khi thành con trưởng thành để làm giống.

2.2. Phân tích thành phần protein, lipit và kim loại có trong ấu trùng ngài sáp lớn nuôi bằng thức ăn nhân tạo

Hàm lượng protein, lipit toàn phần, các nguyên tố vi lượng, định lượng các axit amin, axit béo có trong ấu trùng ngài sáp lớn nuôi bằng thức ăn nhân tạo trong phòng thí nghiệm theo Tiêu chuẩn ISO/FDIS5590: 1998 (CHLB Đức) tại Trung tâm Phân tích và Giám định thực phẩm Quốc gia, Viện Công nghiệp Thực phẩm.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Thành phần dinh dưỡng của ấu trùng ngài sáp lớn *Galleria mellonella* nuôi bằng thức ăn nhân tạo

Thành phần dinh dưỡng (protein, lipit, vitamin, chất khoáng…) của côn trùng ăn được như dế, sâu bột, bọ cánh cứng tương đồng với thành phần dinh dưỡng của động vật được dùng làm thức ăn truyền thống [8]. Tuy nhiên, cũng như các loài động vật khác, thành phần các chất này sẽ thay đổi tùy theo loài, giới tính, giai đoạn phát triển, chế độ dinh dưỡng, môi trường sinh sống, cũng như phương pháp đo lường [9; 10; 11].

Kết quả nghiên cứu chỉ ra rằng, bột khô ấu trùng ngài sáp lớn được nuôi bằng công thức thức ăn nhân tạo có tỷ lệ protein và lipit tương ứng là: 43,13% và 44,24%, phần còn lại là các kim loại và các chất khác. Tỷ lệ này ở bột khô ấu trùng ngài sáp lớn được nuôi bằng thức ăn tự nhiên tương ứng là 36,63% và 52,75% [12] và ở bột khô sâu chít - một loại côn trùng được coi là "đông trùng hạ thảo nam" - tương ứng là 30,83%, tỷ lệ lipit là 31,0% [13].

Qua đó nhận thấy, ấu trùng ngài sáp lớn được nuôi bằng thức ăn nhân tạo có tỷ lệ protein và lipit nằm ở mức cao và thành phần thức ăn nhân tạo hoàn toàn phù hợp để có thể nhân nuôi ngài sáp lớn, tạo ra một nguồn cung cấp protein côn trùng chất lượng.

Bảng 2. Thành phần dinh dưỡng của ấu trùng ngài sáp lớn *Galleria mellonella* nuôi bằng thức ăn nhân tạo (dựa trên khối lượng khô)

Thành phần (g/100 g mẫu)	Tỷ lệ (%)
Protein	43,13
Lipit	44,24

3.2. Thành phần axit amin có trong ấu trùng ngài sáp lớn *Galleria mellonella* nuôi bằng thức ăn nhân tạo

Kết quả phân tích thành phần axit amin trong bột khô ấu trùng ngài sáp lớn nuôi bằng thức ăn nhân tạo được trình bày trong bảng 3. Qua đó nhận thấy, trong 15 loại axit amin có trong bột khô ấu trùng ngài sáp lớn có đến 7 loại axit amin thiết yếu là: histidine, isoleucine, leucine, lysine, methionine, phenylalanine và valine và 4 loại axit amin thiết yếu có điều kiện là: arginine, glycine, proline và tyrosine. Đặc biệt, trong bột khô ấu trùng ngài sáp lớn nuôi bằng thức ăn nhân tạo còn có 2 loại axit amin cần thiết đối với cơ thể trẻ em là Arginine (2103,07 mg/100 g khối lượng khô) và Histidine (2518,18 mg/100 g khối lượng khô). Đây là những axit amin có khả năng giúp cho hệ miễn dịch của trẻ hoạt động một cách hiệu quả. Việc thiếu hụt các axit amin này sẽ làm trẻ biếng ăn, chậm lớn và dễ mắc bệnh hơn.

Khi so sánh với kết quả nghiên cứu của Finke (7) về thành phần axit amin có trong ấu trùng ngài sáp lớn, thành phần axit amin có trong bột khô ấu trùng ngài sáp lớn nuôi bằng thức ăn nhân tạo không có một số axit amin như: Cystine, Threonine, Tryptophan, Taurine, Amonia và Methionine+Cystine. Như đã nói ở trên, thành phần axit amin có thể thay đổi tùy theo chế độ dinh dưỡng và điều này không ảnh hưởng nhiều tới giá trị dinh dưỡng của bột khô ấu trùng ngài sáp lớn. Bột khô ấu trùng ngài sáp vẫn chứa nhiều axit amin thiết yếu với hàm lượng cao, đáp ứng được nhu cầu của cơ thể sinh vật.

Bảng 3. Thành phần axit amin có trong ấu trùng ngài sáp lớn *Galleria mellonella* nuôi bằng thức ăn nhân tạo (dựa trên khối lượng khô)

STT	Axit amin	Đơn vị tính	Kết quả	Ghi chú
1	Valine	mg/100 g	2344,47	Axit amin thiết yếu
2	Methionine	mg/100 g	465,55	
3	Histidine	mg/100 g	2518,18	
4	Lysine	mg/100 g	2591,40	
5	Isoleucine	mg/100 g	1222,73	
6	Phenylalanine	mg/100 g	1406,64	

7	Leucine	mg/100 g	2887,08	
8	Acid Aspartic	mg/100 g	4486,57	Axit amin không thiết yếu
9	Alanine	mg/100 g	3338,44	
10	Serine	mg/100 g	2496,49	
11	Acid glutamic	mg/100 g	4836,91	
12	Glycine	mg/100 g	384,35	Axit amin thiết yếu có điều kiện
13	Arginine	mg/100 g	2103,07	
14	Proline	mg/100 g	1306,48	
15	Tyrosine	mg/100 g	3220,80	

3.3. Thành phần axit béo có trong ấu trùng ngài sáp lớn *Galleria mellonella* nuôi bằng thức ăn nhân tạo

Chất béo có vai trò quan trọng đối với con người nói riêng và các sinh vật sống nói chung. Chúng là thành phần cấu tạo của các tế bào, mô đệm, là dung môi hòa tan vitamin giúp cơ thể dễ dàng hấp thụ, cung cấp nước nội sinh cho cơ thể, dự trữ và cung cấp năng lượng cho cơ thể lớn hơn nhiều so với năng lượng mà protein cung cấp [14].

Bảng 4. Thành phần axit béo trong ấu trùng ngài sáp lớn *Galleria mellonella* nuôi bằng thức ăn nhân tạo (dựa trên khối lượng khô)

STT	Axit béo	Đơn vị tính	Kết quả	Ghi chú
1	Axit Palmitoleic	%	0,81	Axit béo không bão hòa
2	Axit Linoleic	%	6,23	
3	Axit Elaidic	%	0,06	
4	Axit Oleic	%	16,01	
5	Axit Myristic	%	0,12	Axit béo bão hòa
6	Axit Pamitinic	%	16,03	
7	Axit Stearic	%	1,37	

Kết quả nghiên cứu thành phần axit béo trong bột khô ấu trùng ngài sáp lớn nuôi bằng thức ăn nhân tạo được trình bày trong bảng 4. Trong đó, bột khô ấu trùng ngài sáp lớn rất giàu các axit béo không bão hòa như axit palmitoleic, axit linoleic, axit elaidic và axit oleic. Đây là những axit béo thuộc nhóm omega, lành mạnh cho cơ thể. Các axit béo này giúp giảm nguy cơ xơ vữa động mạch và hạn chế tỷ lệ bệnh tim mạch [15]. Bên cạnh đó, một chế độ ăn giàu chất béo không bão hòa đặc biệt có lợi cho sức khỏe và sự phát triển của trẻ em. Do đó việc bổ sung các axit béo không bão hòa là cần thiết.

Khi so sánh với kết quả nghiên cứu của Finke (2002) [7] về thành phần axit béo của ngài sáp lớn, thành phần axit béo trong ấu trùng ngài sáp lớn nuôi bằng thức ăn nhân tạo không có một số axit béo như: Lauric, Pentadecanoic, Heptadecanoic, Linolenic và Arachidic. Ngược lại, trong ấu trùng ngài sáp lớn nuôi bằng thức ăn nhân tạo có chứa axit béo không bão hòa đơn Elaidic. Đây là một axit béo hữu ích trong việc tăng hoạt động của protein truyền cholesterylester trong huyết tương. Hợp chất này rất quan trọng trong việc giảm cholesterol HDL [16].

3.4. Thành phần các nguyên tố vi lượng có trong ấu trùng ngài sáp lớn *Galleria mellonella* nuôi bằng thức ăn nhân tạo

Các nguyên tố vi lượng có vai trò quan trọng đối với sự sống như: tham gia cấu tạo của các enzim, vitamin, hoocmon, điều tiết quá trình trao đổi chất trong toàn bộ hoạt động sống của cơ thể [17; 18]. Do cơ thể không thể tự sản xuất ra phần lớn các nguyên tố vi lượng mà phải thu nạp qua thực phẩm.

Kết quả nghiên cứu một số nguyên tố vi lượng trong bột khô ấu trùng ngài sáp lớn nuôi bằng thức ăn nhân tạo được trình bày trong bảng 5. Nhìn chung, bột khô ấu trùng ngài sáp lớn chứa nhiều nguyên tố vi lượng có hàm lượng cao. Ngoài ra, kết quả phân tích không tìm ra sự có mặt của asen và thủy ngân, còn hàm lượng của chì và cadimi rất thấp, tương ứng là 0,102 mg/kg và 0,201 mg/kg. Trong các nguyên tố vi lượng này, ngoài những nguyên tố cơ bản như canxi cần thiết cho quá trình tạo xương, sắt cần thiết cho quá trình tạo máu thì đáng chú ý là magiê (863,93 mg/kg) và kẽm (152 mg/kg). Hàm lượng magiê cao giúp cơ thể xây dựng các tế bào xương mới, tăng mật độ khoáng xương, làm giảm tỷ lệ gãy xương do loãng xương. Magiê còn có vai trò kiểm soát insulin trong cơ thể, giúp điều chỉnh lượng đường trong máu cũng như nhiều tác dụng to lớn khác đối với hệ thần kinh và tim mạch [19]. Kẽm có nhiều chức năng sinh học quan trọng, là thành phần thiết yếu của cacbonhydrat và nhiều enzym cần thiết trong chuyển hóa protein và lipit [20].

Hàm lượng một số nguyên tố vi lượng như Mg, Zn, Fe, Ca có trong bột khô ấu trùng ngài sáp lớn nuôi bằng thức ăn nhân tạo trong phòng thí nghiệm lần lượt là 863,93 mg/kg, 152,81 mg/kg; 63,08 mg/kg, 870,18 mg/kg, cao vượt trội so với kết quả nghiên cứu của Finke (2002) [7], hàm lượng Mg, Zn, Fe, Ca tương ứng lần lượt là: 316 mg/kg, 25,4 mg/kg, 20,9 mg/kg và 243 mg/kg. Điều này chứng tỏ thành phần thức ăn nhân tạo phù hợp với việc nhân nuôi ấu trùng ngài sáp lớn, cho thành phẩm là bột khô ấu trùng ngài sáp lớn có giá trị dinh dưỡng cao.

Bảng 5. Thành phần các nguyên tố vi lượng trong ấu trùng ngài sáp lớn *Galleria mellonella* nuôi bằng thức ăn nhân tạo (dựa trên khối lượng khô)

STT	Nguyên tố vi lượng	Đơn vị	Kết quả
1	Mg - magiê	mg/kg	863,93
2	Cu - đồng	mg/kg	6,51
3	Zn - kẽm	mg/kg	152,81
4	Fe - sắt	mg/kg	63,08
5	Ca - canxi	mg/kg	870,18
6	Pb - chì	mg/kg	0,102
7	Cd - cadimi	mg/kg	0,201
8	As - asen	mg/kg	Không phát hiện
9	Hg - thủy ngân	mg/kg	Không phát hiện

4. KẾT LUẬN

Bột khô ấu trùng ngài sáp lớn nuôi bằng thức ăn nhân tạo có chứa 43,13% protein và 44,24% lipit. Trong thành phần protein có 15/22 loại axit amin, trong đó có 7 axit amin thiết yếu. Trong thành phần lipit có 7 loại axit béo với 4 loại axit béo không bão hòa thuộc nhóm omega. Đồng thời còn có nhiều nguyên tố vi lượng quan trọng đặc biệt là kẽm, magiê, canxi và sắt. Do đó bột khô từ ấu trùng ngài sáp lớn có giá trị dinh dưỡng cao, đáp ứng được nhu cầu dinh dưỡng của cơ thể sinh vật.

Bột khô ấu trùng ngài sáp lớn là một nguồn protein thay thế với chất lượng tốt, giá thành cạnh tranh hơn rất nhiều so với bột cá. Tạo điều kiện thuận lợi cho người nuôi trồng thủy sản, người chăn nuôi gia súc, gia cầm có thể tiếp cận được nguồn thức ăn chăn nuôi và bền vững.

LỜI CẢM ƠN

Bài báo này được sự hỗ trợ và là một phần kết quả nghiên cứu của đề tài "Nghiên cứu kỹ thuật nhân nuôi ngài sáp lớn Galleria mellonella (Lepidotera: Pyralidae) trong phòng thí nghiệm" (mã số: IEBR ĐT.4-22).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Speight M. R., Hunter M. D.,Watt A. D. (2008). Ecology of Insects: Concepts and Applications. Wiley - Blackwell,West Sussex, UK.

2. Ramos-Elorduy J., Moreno J. M. P., Prado, E. E., Perez M. A., Otero J. L., De Guevara O. L. (1997). Nutritional value of edible insects from the state of Oaxaca, Mexico. *Journal of Food Composition and Analysis* 10: 142-157.

3. Lange K. W., Nakamura Y. (2021). Edible insects as a future food: chance and challenges bioactives and their potential health effects. *Journal of Future Foods*, 1, 1,38-46.

4. Oonincx D. G. A. B. and Finke M. D. (2020). Nutritional value of insects and ways to manipulate this composition. *Journal of Insects as Food and Feed* 7 (5): 1-22.

5. Sogari G, Amato M, Biasato I, Chiesa S, Gasco L. (2019). The Potential Role of Insects as Feed: A Multi-Perspective Review. Animals (Basel). Mar 27;9(4):119.

6. Nogales-Mérida S., Gobbi P., Józèiak D., Mazurkiewicz J., Dudek K., Rawski M., Kieruńczyk B., Józefiak A. (2018). Insect meals in fish nutrition. Reviews in Aquaculture. Volume 11, issue 4, 1080-1103.

7. Finke M. D. (2002). Complete nutrient composition of commercially raised invertebrates used as food for insectivores. Zoo Biology 21: 269-285.

8. Raubenheimer, D. and Rothman, J. M. (2013). Nutritional ecology of entomophagy in humans and other primates. Annual Review of Entomology, 58, 141-160.

9. Kouřimská L., Adámková A. (2016). Nutritional and sensory quality of edible insects. *NFS Journal*, 4, 22-26.

10. Rumpold BA and Schluter OK. (2013). Nutritional composition and safety aspects of edible insects. Molecular Nutrition and Food Research 57: 802-823.

11. Van Huis A., Oonincx D. G. A. B. (2017). The environmental sustainability of insects as food and feed A review. Agronomy for Sustainable Development 37: 43.

12. Mohamed H. O., Amro A. (2022). Impact of different diets' nutrition on the fitness and hemocytic responses of the greater wax moth larvae, *Galleria mellonella* (Linnaeus) (Lepidoptera: Pyralidae). *Journal of Basic and Applied Zoology* 83, 10.

13. Phan Anh Tuấn (2006). Đánh giá tác dụng phục hồi thương tổn hệ miễn dịch sau chiếu xạ của "Đông trùng hạ thảo nam - sâu chít (*Brihaspa atrostigmella* moore 1868)" giai đoạn thực nghiệm. Luận án tiến sĩ y học. 139 trang.

14. Calder P. C. (2015). Functional roles of fatty acids and their effects on human health. *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition*. 39(1 suppl.): 18S-32S.

15. Aguilera A. M., Ramirez-Tortosa, M. C., Mesa M. D., Gil A. (2001). Protective effect of monounsaturated and polyunsaturated fatty acids on the development of cardiovascular disease. Nutricion Hospitalaria. 16(3): 78-91.

16. Iino, T., Toh, R., Nagao, M., Shinohara, M., Harada, A., Murakami, K., Irino, Y., Nishimori, M., Yoshikawa, S., Seto, Y., Ishida, T., & Hirata, K. I. (2021). Effects of elaidic acid on hdl cholesterol uptake capacity. Nutrients, 13(9): 3112.

17. Quintaes, K. D. and Diez-Garcia, R. W. (2015). The importance of minerals in the human diet. In Handbook of Mineral Elements in Food (pp. 1-21). John Wiley & Sons, Ltd.

18. Soetan K. O., Olaiya C. O., Oyewole O. E. (2010). The importance of mineral elements for humans, domestic animals and plants: A review. *African Journal of Food Science* Vol. 4(5) 200-222.

19. Dickerman B. and Liu J. (2011). Do the micronutrients zinc and magnesium play a role in adult depression? Topics in Clinical Nutrition. 26(3) 257-267.

20. Roohani N., Hurrell R., Kelishadi R., Schulin R. (2013). Zinc and its importance for human health: An integrative review. *Journal of Research in Medical Sciences*;18: 144-157.

NUTRITIONAL VALUE OF GREATER WAX MOTH LARVAE *Galleria mellonella* (LEPIDOPTERA: PYRALIDAE)

Nguyen Thanh Manh[1], Nguyen Thi Tu Anh[1], Nguyen Thi Hanh[1], Truong Xuan Lam[1], Ha Ngoc Linh[1], Pham Huy Phong[1], Nguyen Quang Cuong[1]

[1]*Institute of Ecology and Biological Resources, Vietnam Academy of Science and Technology*

Summary

The greater wax moth (*Galleria mellonella*), often known as the honey comb moth is frequently used in scientific studies as a source of pet food or host for biological control agents. This research demonstrates the nutritional benefit of the greater wax moth larvae rearing on artificial diet. Based on dry matter, the larvae of greater wax moth is an excellent source of nutritional in term of protein and fat, and it has been found to be a rich source of minerals. The study revealed the proportion of protein is 43.12% and lipid is 44.24%. Protein is composed of 15 amino acids with 7 essential amino acids, 4 conditionally essential amino acids and 4 non-essential amino acids. Lipid is composed of 7 fatty acids with 4 unsaturated fatty acids and 3 saturated fatty acids. The larvae of greater wax moth provided 7 minerals: Mg, Cu, Zn, Fe, Ca, Pb and Cd. Especially, it is high in Mg (863.93 mg/kg), Ca (870.18 mg/kg), Zn (152.81 mg/kg) and Fe (63.08 mg/kg). The greater wax moth could undoubtedly provide a good diet.

Keywords: *Amino acid, edible insect, fatty acid, Galleria mellonella, mineral elements.*

Người phản biện: PGS.TS. Bùi Minh Hồng

Ngày nhận bài: 23/9/2022

Ngày thông qua phản biện: 14/10/2022

Ngày duyệt đăng: 11/11/2022

NGHIÊN CỨU ĐIỀU KIỆN TIỀN XỬ LÝ VÀ CHIẾT TÁCH COLLAGEN TỪ HỖN HỢP DA VÀ VẢY CÁ LÓC *(Channa striata)* BẰNG ACETIC ACID

Trương Thị Mộng Thu[1, 3*], Trần Thanh Trúc[2], Lê Thị Minh Thủy[3]

TÓM TẮT

Nghiên cứu điều kiện tiền xử lý và chiết tách collagen từ hỗn hợp da và vảy cá lóc bằng acetic acid được thực hiện nhằm sản xuất collagen đạt chất lượng tốt. Kết quả cho thấy, da cá lóc được xử lý bằng dung dịch NaOH 0,1 M trong 6 giờ cho hiệu quả loại protein phi collagen tốt nhất, hàm lượng protein thô còn lại 24,5%. Hỗn hợp da và vảy cá lóc được chiết tách collagen bằng 0,6 M acetic acid cho hiệu suất thu hồi collagen đạt 2,090%, màu sắc sáng với giá trị L* là 81,4. Cố định nồng độ 0,6 M acetic acid, ngâm hỗn hợp da và vảy cá lóc trong 3 ngày cho hiệu suất thu hồi collagen cao nhất, đạt 3,180% và giá trị L* đạt 83,6. Collagen từ hỗn hợp da và vảy cá lóc hòa tan cực đại ở pH 2 và nồng độ NaCl từ 0,2 - 0,4 M. Dựa vào phổ FTIR cho thấy mối liên hệ chặt chẽ giữa số bước sóng trong vùng amide I và vùng amide III, đặc biệt là sự ổn định của cấu trúc xoắn ba, cho thấy collagen có đầy đủ nhóm chức năng của collagen loại I. Hàm lượng imino acid chiếm 22,6% nên collagen có nhiệt độ biến tính lên đến 35,78°C. Từ các kết quả trên cho thấy, có thể tận dùng nguồn phụ phẩm da và vảy từ quá trình chế biến cá lóc làm nguồn nguyên liệu để sản xuất collagen, vừa gia tăng giá trị nguồn nguyên liệu và giúp giảm ô nhiễm môi trường do phụ phẩm cá thải ra.

Từ khoá: *Collagen, da và vảy cá lóc, acetic acid, phổ FTIR, tiền xử lý.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cá lóc (*Channa striata*) là loài cá nước ngọt có chất lượng thịt ngon và giá trị dinh dưỡng cao nên được người tiêu dùng ưa chuộng [1]. Do đó, sản phẩm chế biến từ cá lóc cũng ngày càng phát triển như khô, mắm, chà bông. Tuy nhiên, trong quá trình chế biến cá sẽ có một lượng phụ phẩm loại ra gồm đầu, xương, da, vây, vảy, nội tạng. Trong đó da và vảy cá chiếm khoảng 17 - 20%, đây là nguồn nguyên liệu dồi dào để nghiên cứu và sản xuất collagen [2].

Nguồn nguyên liệu sản xuất collagen chủ yếu từ xương bò và da heo. Tuy nhiên, những lo ngại liên quan đến bò và lợn như nguy cơ truyền bệnh, tín ngưỡng tôn giáo đã ảnh hưởng phần nào đến việc sản xuất collagen có nguồn gốc từ động vật có vú. Chính vì thế cần tìm nguồn nguyên liệu để sản xuất collagen an toàn và nguy cơ truyền bệnh thấp, trong đó phụ phẩm từ quá trình chế biến thuỷ sản có thể đáp ứng những điều này, điển hình là da và vảy cá [2].

Để có thể chiết được collagen thành phẩm có chất lượng cao phụ thuộc vào rất nhiều yếu tố, trong đó có bước tiền xử lý như loại protein phi collagen. Nguyễn Công Bỉnh và Trần Phương Kiều (2019) [3] đã nghiên cứu ứng dụng NaOH để khử protein phi collagen từ da cá ngừ vây vàng. Hơn nữa, công đoạn quyết định đến chất lượng collagen là công đoạn tách chiết, Duan và cs (2009) [4] đã nghiên cứu sử dụng acetic acid để chiết tách collagen từ da, vảy và xương cá chép. Trương Thị Mộng Thu và cs (2021) [5] cũng đã nghiên cứu chiết tách collagen từ da cá lóc bằng pepsin. Tuy nhiên, trong quá trình chế biến cá lóc thì một lượng lớn vảy cá được loại ra và chưa có hướng tận dụng nguồn phụ phẩm này. Vì thế, *"Nghiên cứu điều kiện tiền xử lý và chiết tách collagen từ hỗn hợp da và vảy cá lóc (Channa striata) bằng acetic acid"* đã được thực hiện nhằm tìm được nồng độ và thời gian xử lý da cá lóc trong NaOH; tìm được nồng độ và thời gian ngâm acetic acid để chiết tách collagen từ hỗn hợp da và vảy cá lóc đạt chất lượng tốt và hiệu suất thu hồi collagen cao.

2. NGUYÊN VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Chuẩn bị mẫu

Da và vảy cá lóc thu mua tại cơ sở khô cá lóc 7 Chóp (huyện Thoại sơn, tỉnh An Giang). Cá lóc *(Channa striata)* có khối lượng 700 - 800 g/con được cơ sở khô 7 Chóp mua tại các ao nuôi ở tỉnh An

[1]Nghiên cứu sinh ngành Công nghệ Thực phẩm khóa 2020, Trường Đại học Cần Thơ
[2] Trường Nông nghiệp, Trường Đại học Cần Thơ
[3] Khoa Thủy sản, Trường Đại học Cần Thơ
[*]Email: ttmthu@ctu.edu.vn

Giang trong vùng được kiểm soát về kháng sinh, kim loại, hóa chất theo Quyết định số 53/2009/QĐ-UBND tỉnh An Giang. Tại cơ sở, da và vảy cá lóc được thu trong quá trình chế biến các sản phẩm khô nguyên con, thịt cá lóc cắt sợi làm khô. Da và vảy cá lóc được làm đông ở -20 ± 2°C tại cơ sở và đóng thùng chuyển về Trường Đại học Cần Thơ không quá 6 giờ. Da cá được loại thịt, mỡ và vảy còn sót lại, rửa sạch, phơi ráo, cắt nhỏ với kích thước 2 x 1 cm. Vảy được rửa sạch, phơi ráo. Da và vảy cá lóc sau xử lý bảo quản đông nhiệt độ -20 ± 2°C cho đến khi tiến hành thí nghiệm.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Thí nghiệm 1: Khảo sát ảnh hưởng của nồng độ và thời gian ngâm NaOH đến khả năng khử protein phi collagen từ da cá lóc

Tiến hành thí nghiệm: da cá lóc được xử lý như mục 2.1, được ngâm quay trong dung dịch NaOH với 3 mức nồng độ lần lượt là 0,06; 0,10 và 0,14 M và 3 mốc thời gian lần lượt là 4, 6 và 8 giờ. Các thông số cố định trong quá trình ngâm quay được mô tả bởi Thuy và cs (2014) [6] ở nhiệt độ 0 - 4°C, tiến hành khuấy trộn 30 phút/lần, tỷ lệ da cá: dung dịch NaOH (w/v) là 1 : 8. Sau đó, da cá được rửa bằng nước cho đến khi đạt pH trung tính, phơi ráo. Khối lượng mẫu là 50 g/mẫu.

Chỉ tiêu phân tích: hàm lượng protein thô còn lại trong da cá sau khi ngâm dung dịch NaOH để tìm được nồng độ và thời gian ngâm NaOH thích hợp nhất.

2.2.2. Thí nghiệm 2: Nghiên cứu ảnh hưởng của nồng độ acetic acid đến khả năng chiết tách collagen từ hỗn hợp da và vảy cá lóc

Tiến hành thí nghiệm: da cá xử lý trong dung dịch NaOH theo nồng độ và thời gian tốt nhất được chọn từ thí nghiệm 1. Vảy cá được xử lý như mục 2.1 và được ngâm trong dung dịch 0,8 M EDTA-2Na trong 24 giờ ở 0 - 4°C với tỷ lệ vảy cá/dung dịch EDTA-2Na (w/v) là 1 : 8 để khử khoáng theo nghiên cứu của Thuy và cs (2014) [6]. Tiến hành trộn da và vảy cá theo tỷ lệ 1 : 1 (w/w) và chiết tách collagen từ hỗn hợp da và vảy cá lóc trong dung dịch acetic acid với 5 mốc nồng độ acetic acid là 0,2; 0,4; 0,6; 0,8 và 1,0 M. Cố định tỷ lệ hỗn hợp da và vảy cá lóc/dung dịch acetic acid (w/v) là 1 : 10, ở 0 - 4°C trong 3 ngày. Mẫu sau khi ngâm acetic acid lọc lấy dịch chiết, dịch chiết được ly tâm với tốc độ 8.000 vòng/phút trong 20 phút ở nhiệt độ 4°C. Điều chỉnh pH bằng cách thêm Tris (hydroxymethane aminomethane) đến khi pH đạt từ 6,8 - 7,2. Tạo kết tủa bằng NaCl 2,6 M, sau đó thu kết tủa bằng cách ly tâm với tốc độ 8.000 vòng/phút trong 20 phút ở nhiệt độ 4°C. Kết tủa được hoà tan với acetic acid 0,5 M, thẩm tách trong acetic acid 0,1 M và nước cất, sấy đông khô để thu collagen theo nghiên cứu của Thuy và cs (2014) [6]. Khối lượng mỗi mẫu là 30 g (15 g da và 15 g vảy cá).

Chỉ tiêu phân tích: mẫu collagen được đo màu (L*, a*, b*), cân để tính hiệu suất thu hồi, phân tích phổ FTIR để tìm được nồng độ acetic acid thích hợp nhất.

2.2.3. Thí nghiệm 3: Nghiên cứu ảnh hưởng của thời gian chiết tách collagen từ hỗn hợp da và vảy cá lóc bằng acetic acid

Tiến hành thí nghiệm: khảo sát được thực hiện tương tự thí nghiệm 2, với nồng độ acetic acid được chọn từ thí nghiệm 2. Hỗn hợp da và vảy cá được ngâm trong dung dịch acetic acid với 5 mốc thời gian lần lượt là 1, 2, 3, 4 và 5 ngày. Mẫu sau khi ngâm được thực hiện các bước tiếp theo tương tự như thí nghiệm 2 để thu collagen. Khối lượng mỗi mẫu là 30 g (15 g da và 15 g vảy cá).

Chỉ tiêu phân tích: mẫu collagen được đo màu (L*, a*, b*), cân để tính hiệu suất thu hồi, phân tích phổ FTIR. Từ đó chọn ra thời gian ngâm acetic acid thích hợp nhất.

Mẫu collagen từ hỗn hợp da và vảy cá lóc tối ưu được phân tích thành phần acid amin, đo độ hoà tan ở các pH và NaCl khác nhau và nhiệt độ biến tính.

2.3. Phương pháp phân tích

Hàm lượng protein thô trong da cá lóc trước và sau khi ngâm NaOH bằng hàm lượng nitơ tổng số nhân với hệ số 6,25 (hàm lượng protein thô = [N_{ts}] x 6,25). Trong đó, hàm lượng nitơ tổng số (N_{ts}) được xác định bằng phương pháp Kjeldahl theo AOAC (2000) [7].

Hiệu suất thu hồi collagen được xác định bằng phương pháp cân, $H = \frac{Y}{X} x\ 100$ với X (g) là khối lượng của hỗn hợp da và vảy cá lóc sau khi xử lý; Y (g) là khối lượng collagen.

Màu sắc (L*, a*, b*): mẫu collagen được trải đều với đường kính khoảng 20 mm và chiều cao khoảng 5 mm trên tờ giấy trắng và đo màu bằng thiết bị Colorimeter PCE-CSM 2 (Trung Quốc).

Quang phổ hồng ngoại (phổ FTIR) của collagen được ghi nhận lại từ máy quang phổ ALPHA FTIR trong phạm vi bước sóng từ 4.000 đến 500 cm^{-1} [6].

Thành phần acid amin của collagen được xác định theo phương pháp của Thuy và cs (2014) [6]. Thủy phân 20 mg collagen trong HCl 6 M ở nhiệt độ 110°C trong 22 giờ trong chân không, trung hòa với NaOH 6 M và 0,6 M, lọc bằng màng cellulose, phân tích bằng hệ thống HPLC.

Nhiệt độ biến tính của collagen được xác định bằng phương pháp quét vi sai nhiệt lượng DSC được mô tả bởi Thuy và cs (2014) [6]. Tỷ lệ mẫu collagen/dung dịch acetic acid 0,1 M là 1 : 40 (w/v), phân tích được thực hiện với tốc độ quét 1°C/phút ở nhiệt độ quét 20 - 50°C.

Độ hòa tan của collagen ở các pH từ 1 - 10 theo phương pháp của Thuy và cs (2014) [6]: pha dung dịch collagen có nồng độ 3 mg/mL, chia ra 10 cốc, mỗi cốc chứa 8 mL collagen được điều chỉnh pH bằng HCl 6 M hoặc NaOH 6 M để thu được các dung dịch collagen có pH từ 1 - 10 và thể tích cuối cùng được điều chỉnh đến 10 mL bằng nước cất. Độ hòa tan của collagen ở các nồng độ muối NaCl từ 0 đến 1,2 M theo phương pháp của Thuy và cs (2014) [6]: pha dung dịch collagen có nồng độ 6 mg/mL trong acid acetic 0,1 M, lấy 5 mL collagen cho vào 5 mL dung dịch NaCl để được hỗn hợp có nồng độ NaCl từ 0,2 đến 1,2 M. Hỗn hợp collagen có pH từ 1 - 10 và nồng độ NaCl từ 0,2 - 1,2 M được đi ly tâm với tốc độ 8.000 vòng trong 20 phút ở 4°C thu phần dịch lỏng. Hàm lượng protein trong dịch lỏng được xác định bằng phương pháp của Lowry và cs (1951) [8] sử dụng huyết thanh bò làm chuẩn, từ đó tính được độ hòa tan của collagen.

2.4. Phương pháp xử lý số liệu

Số liệu thu thập được tính trung bình ± độ lệch chuẩn bằng phần mềm Microsoft Excel 2013. Phân tích phương sai ANOVA và phép thử LSD để so sánh sự khác biệt giữa các nghiệm thức với mức ý nghĩa 95%, bằng phần mềm Stagraphic Centurion XV version 15.01.02.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Ảnh hưởng của thời gian ngâm và nồng độ dung dịch NaOH đến khả năng loại protein phi collagen từ da cá lóc

Hàm lượng protein thô còn lại trong da cá lóc sau khi ngâm trong dung dịch NaOH qua các mốc thời gian và nồng độ NaOH khác nhau được trình bày ở bảng 1.

Bảng 1. Ảnh hưởng của thời gian ngâm và nồng độ NaOH đến hàm lượng protein thô còn lại ở da cá lóc sau xử lý

Nghiệm thức	Thời gian (giờ)	Nồng độ (M)	Hàm lượng protein thô (%)
ĐC	-	-	33,0±0,410[a]
1	4	0,06	27,1±0,969[b]
2	4	0,10	26,2±0,590[bc]
3	4	0,14	25,7±0,586[c]
4	6	0,06	26,0±0,202[c]
5	6	0,10	24,5±0,937[d]
6	6	0,14	23,9±0,242[d]
7	8	0,06	24,0±0,543[d]
8	8	0,10	20,0±0,538[e]
9	8	0,14	19,1±0,612[e]

Ghi chú: Số liệu được trình bày dưới dạng trung bình ± độ lệch chuẩn (n=3), những chữ cái (a, b, c, d, e) khác nhau trong cùng một cột biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức độ tin cậy 95%. ĐC: đối chứng.

Bảng 1 cho thấy, hàm lượng protein thô trong da cá có khuynh hướng giảm khi tăng nồng độ NaOH và thời gian ngâm. Khi tăng nồng độ dung dịch NaOH từ 0 đến 0,10 M và thời gian ngâm từ 0 đến 6 giờ thì hàm lượng protein thô giảm dần và đạt thấp là 24,5% ở nghiệm thức 5 (NaOH 0,10 M và 6 giờ). Nguyên nhân có thể là do dung dịch NaOH có khả năng phá vỡ các liên kết mạch bên, do đó một số protein phi collagen trong da cá bị phá vỡ cấu trúc bậc cao và tách ra khỏi nguyên liệu, dẫn đến hàm lượng protein thô giảm [9]. Hàm lượng protein thô không đổi khi nồng độ dung dịch NaOH tiếp tục tăng đến 0,14 M ở 6 giờ hay thời gian tăng 8 giờ ở nồng độ NaOH 0,06 và 0,10 M. Hàm lượng protein thô ổn định cho thấy có thể protein phi collagen hầu như còn lại rất ít hoặc đã được loại hết. Do vậy nồng độ dung dịch NaOH và thời gian ngâm phù hợp sẽ giúp loại bỏ thành phần protein phi collagen trong da cá một cách tốt nhất mà không làm thất thoát collagen [10]. Tuy nhiên, hàm lượng protein thô lại giảm còn 19,1% khi nồng độ dung dịch NaOH tăng đến 0,14 M và thời gian 8 giờ. Điều này được giải thích là do khi ngâm da cá trong dung dịch NaOH ở nồng độ cao và thời gian quá dài có thể dẫn đến việc cắt mạch collagen, kết quả là tổn thất collagen trong quá trình rửa, do đó hàm lượng protein thô lại tiếp tục giảm [3]. Do đó, trong nghiên cứu này chọn nồng

độ NaOH là 0,10 M và thời gian ngâm 6 giờ để loại protein phi collagen từ da cá lóc là thích hợp nhất.

3.2. Ảnh hưởng nồng độ acetic acid đến khả năng chiết tách collagen từ hỗn hợp da và vảy cá

3.2.1. Ảnh hưởng của nồng độ acetic acid đến màu sắc và hiệu suất thu hồi collagen từ hỗn hợp da và vảy cá lóc

Hiệu suất thu hồi và màu sắc collagen từ hỗn hợp da và vảy cá lóc theo nồng độ acetic acid khác nhau được trình bày ở bảng 2.

Bảng 2. Ảnh hưởng của nồng độ acetic acid đến hiệu suất thu hồi collagen và màu sắc của collagen từ hỗn hợp da và vảy cá lóc

Nồng độ acetic acid (M)	Màu sắc			H (%)
	L^*	a^*	b^*	
0,2	69,0±1,315^d	2,35±0,357^a	5,67±0,765^b	0,457±0,017^c
0,4	74,0±1,736^{bc}	1,39±0,2116^b	4,89±0,905^{bc}	1,190±0,327^b
0,6	81,4±0,898^a	1,45±0,278^b	3,59±1,183^c	2,090±0,157^a
0,8	72,2±1,937^c	1,83±0,295^{ab}	7,99±0,465^a	0,696±0,033^c
1,0	76,2±2,185^b	2,23±0,299^a	7,94±0,540^a	0,561±0,023^c

Ghi chú: Số liệu được trình bày dưới dạng trung bình ± độ lệch chuẩn (n=3), những chữ cái (a, b, c, d) khác nhau trong cùng một cột biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức độ tin cậy 95%. H: Hiệu suất thu hồi collagen.

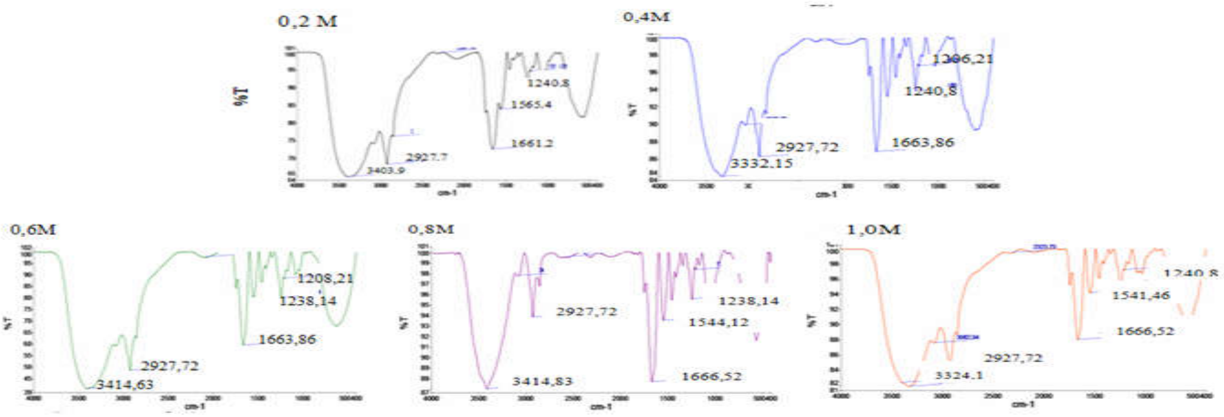
Từ kết quả bảng 2 cho thấy, khi nồng độ acetic acid tăng từ 0,2 lên 0,6 M thì hiệu suất thu hồi collagen tăng từ 0,457% lên 2,090%. Tuy nhiên, hiệu suất thu hồi collagen giảm còn 0,561% khi nồng độ acetic acid tiếp tục tăng đến 1,0 M. Nguyên nhân là do ở giai đoạn đầu của quá trình chiết tách, khi da và vảy cá tiếp xúc với dung dịch acetic acid sẽ xảy ra hiện tượng hydrate hóa sợi collagen [11]. Vì vậy, nồng độ acetic acid thấp, collagen hydrate hóa không hoàn toàn dẫn đến hiệu suất chiết tách chưa cao. Khi tăng dần nồng độ acetic acid sẽ làm thay đổi tương tác tĩnh điện và cấu trúc sợi collagen theo sự thay đổi pH, mức độ hydrate hóa tăng, làm tăng độ hòa tan của collagen trong dịch chiết, dẫn đến hiệu suất chiết tách collagen tăng [12]. Tuy nhiên, khi tăng nồng độ acetic acid lên 1,0 M thì hiệu suất thu hồi collagen giảm. Điều này có thể giải thích là do ở một giá trị pH rất thấp của dung môi chiết sẽ làm giảm khả năng hấp thụ nước của collagen, do đó làm giảm khả năng hòa tan của collagen, dẫn đến hiệu suất thu hồi collagen giảm [13]. Điều này giải thích cho các quan sát trong nghiên cứu này rằng ngoài nồng độ acetic acid 0,6 M, hiệu suất thu hồi collagen đều giảm đáng kể. Khi tăng nồng độ acetic acid từ 0,2 M đến 0,6 M thì độ sáng (L*) cũng tăng dần từ 69,0 lên 81,4; trong khi a* và b* giảm tương ứng từ 2,35 và 5,67 xuống 1,45 và 3,59. Tuy nhiên, độ sáng (L*) giảm còn 76,2 thì a* và b* tăng tương ứng lên 2,23 và 7,94 khi nồng độ acetic acid tăng lên 1,0 M. Điều này có thể được giải thích là do acetic acid tác động lên các sắc tố trên tế bào da và vảy cá, có tác dụng chủ yếu là tẩy màu da và vảy cá, do đó giá trị L* tăng và a*, b* giảm khi tăng nồng độ acetic acid. Tuy nhiên, khi nồng độ acetic acid tăng cao có thể làm biến đổi các liên kết khác trên tế bào, phá vỡ tế bào, ảnh hưởng đến màu của collagen, nên giá trị L* giảm và a*, b* tăng [9]. Kết quả cho thấy chiết tách collagen từ hỗn hợp da và vảy cá lóc ở nồng độ acetic acid 0,6 M là thích hợp nhất.

3.2.2. Ảnh hưởng của nồng độ acetic acid đến phổ FTIR của collagen từ hỗn hợp da và vảy cá lóc

Phổ FTIR của các mẫu collagen từ hỗn hợp da và vảy cá lóc được chiết tách ở các nồng độ acetic acid khác nhau được trình bày ở hình 1.

Quang phổ hồng ngoại (phổ FTIR) giúp nhận diện các nhóm chức năng có trong phân tử collagen. Phổ FTIR của collagen loại I, được đặc trưng bởi các dãy Amide A (3400-3440 cm^{-1}); Amide I (1600–1660 cm^{-1}); Amide II (~1500 cm^{-1}); Amide III (1320–1220 cm^{-1}). Amide A thể hiện tần số giãn của nhóm NH (nằm ở mạch bên của phân tử collagen) liên kết hydrogen với phân tử nước. Dao động giãn của nhóm NH tự do xảy ra ở vùng số sóng 3400 – 3440 cm^{-1}, khi nhóm NH tham gia tạo liên kết hydrogen với nước, tần số dao động sẽ giảm, số sóng < 3400 cm^{-1}. Amide I biểu thị dao động giãn của nhóm C = O hoặc liên kết hydrogen với nhóm COO- ; amide II biểu thị dao động uốn của nhóm NH liên kết với dao động giãn của nhóm CN, dao động giãn bất đối xứng của nhóm COO-, dao động xoắn của nhóm CH_2; Amide III biểu thị dao động giãn C-O và dao động uốn của nhóm

NH trên cùng mặt phẳng, dao động này liên quan tới tương tác giữa các phân tử trong collagen [4].



Hình 1. Phổ FTIR của collagen từ hỗn hợp da và vảy cá lóc ở các nồng độ acetic acid khác nhau

Nhìn chung, các mẫu collagen từ hỗn hợp da và vảy cá lóc ở các nồng độ acetic acid khác nhau từ 0,2 M; 0,4 M; 0,6 M; 0,8 M; 1,0 M thu nhận được có phổ FTIR tương tự nhau về bước sóng tại vùng amide A tương ứng lần lượt là 3403,99; 3332,15; 3414,63; 3414,83; 3324,1 cm^{-1}. Amide B (2927,72; 2927,72; 2927,72; 2927,72; 2927,72 cm^{-1}), amide I (1661,2; 1663,86; 1663,86; 1666,52; 1666,52 cm^{-1}), amide II (1265,4; 1240,8; 1238,14; 1544,12; 1541,46 cm^{-1}) và amide III (1240,8; 1206,21; 1208,21; 1238,14; 1240,8 cm^{-1}). Thông qua các dữ liệu đo phổ FTIR, collagen được chiết tách từ hỗn hợp da và vảy cá lóc có đầy đủ các nhóm chức năng của collagen loại I.

3.3. Ảnh hưởng thời gian ngâm acetic acid đến khả năng chiết tách collagen từ hỗn hợp da và vảy cá lóc

3.3.1. Ảnh hưởng của thời gian ngâm acetic acid đến màu sắc và hiệu suất thu hồi collagen từ hỗn hợp da và vảy cá lóc

Hiệu suất thu hồi và màu sắc của collagen từ hỗn hợp da và vảy cá lóc theo thời gian ngâm acetic acid khác nhau được trình bày ở bảng 3.

Từ kết quả bảng 3 cho thấy, khi thay đổi thời gian chiết tách trong acetic acid từ 1 ngày lên 3 ngày thì hiệu suất thu hồi collagen từ hỗn hợp da và vảy cá lóc tăng từ 0,706% lên 3,180%. Tuy nhiên, tiếp tục tăng từ 3 ngày lên 5 ngày thì hiệu suất thu hồi collagen giảm còn 0,862%. Nguyên nhân là do xử lý acetic acid giúp da và vảy cá trương nở, dẫn đến quá trình chiết tách collagen đạt hiệu quả cao, do đó hiệu suất thu hồi tăng khi kéo dài thời gian ngâm [3]. Tuy nhiên, hiệu suất thu hồi tăng đến một giới hạn nhất định và giảm xuống khi thời gian ngâm acetic acid kéo dài. Điều này có thể là do kéo dài thời gian ngâm acetic acid quá mức có thể dẫn đến cắt mạch collagen nên hiệu suất thu hồi giảm [9]. Khi tăng thời gian chiết tách collagen trong acetic acid từ 1 lên 3 ngày thì độ sáng (L*) cũng tăng từ 72,6 lên 83,6 trong khi a* và b* giảm tương ứng từ 1,76 và 4,42 xuống 1,30 và 3,36. Tiếp tục tăng lên 5 ngày thì độ sáng (L*) của mẫu collgen giảm còn 78,6 thì a* và b* tăng tương ứng lên 1,57 và 4,11. Kết quả cho thấy chiết tách collagen từ hỗn hợp da và vảy cá lóc bằng acetic acid với thời gian ngâm 3 ngày là thích hợp nhất.

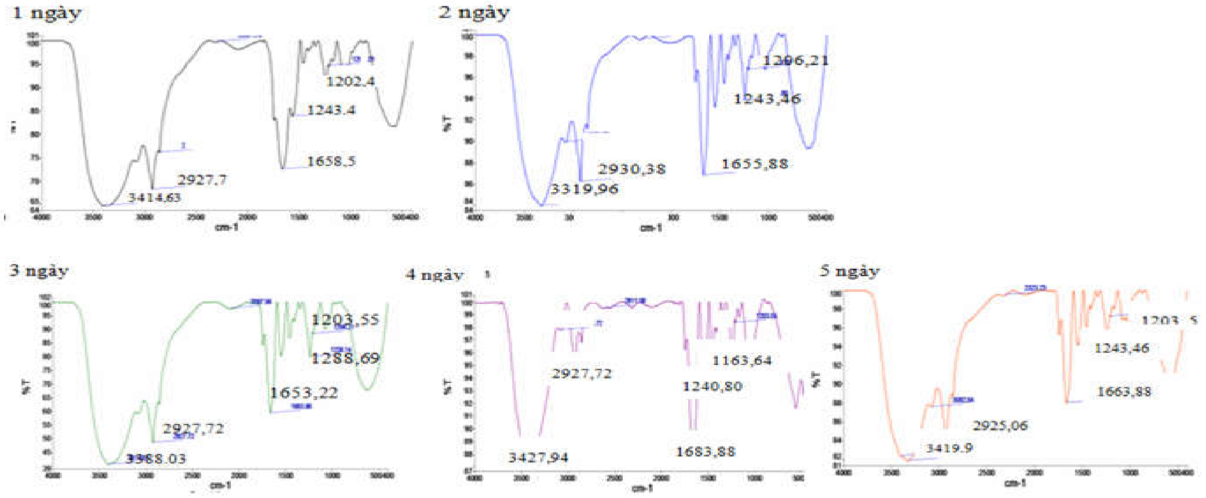
Bảng 3. Ảnh hưởng của thời gian ngâm acetic acid đến hiệu suất thu hồi collagen và màu sắc của collagen từ hỗn hợp da và vảy cá lóc

Thời gian ngâm (ngày)	Màu sắc			H (%)
	L^*	a^*	b^*	
1	76,7±2,368^{b}	2,58±0,200^{a}	5,70±0,365^{a}	1,510±0,283^{b}
2	83,6±2,172^{a}	1,30±0,252^{c}	3,36±0,153^{c}	3,180±0,737^{a}
3	76,6±2,046^{b}	2,27±0,796^{ab}	4,59±0,765^{b}	1,420±0,147^{bc}
4	78,6±1,153^{b}	1,57±0,149^{bc}	4,11±0,922^{bc}	0,862±0,347^{bc}
5				

Ghi chú: Số liệu được trình bày dưới dạng trung bình ± độ lệch chuẩn (n=3), những chữ cái (a, b, c) khác nhau trong cùng một cột biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức độ tin cậy 95%. H: Hiệu suất thu hồi collagen.

3.3.2. Ảnh hưởng của thời gian ngâm acetic acid đến phổ FTIR của collagen từ hỗn hợp da và vảy cá lóc

Phổ FTIR của các mẫu collagen từ hỗn hợp da và vảy cá lóc theo thời gian chiết tách bằng acetic acid khác nhau được trình bày ở hình 2.



Hình 2. Phổ FTIR của collagen từ hỗn hợp da và vảy cá lóc theo thời gian chiết tách khác nhau trong dung dịch acetic acid

Nhìn chung, các mẫu collagen từ da và vảy cá lóc ở các thời gian chiết tách khác nhau từ 1 ngày, 2 ngày, 3 ngày, 4 ngày, 5 ngày thu nhận được có phổ FTIR tương tự nhau về bước sóng tại vùng amide A dao động trong khoảng 3388,03-3427,94 cm^{-1}. Amide B (2925,06-2930,38 cm^{-1}), amide I (1653,22-1683,88 cm^{-1}), amide II lần lượt là 1238,14-1243,46 cm^{-1} và amide III lần lượt là 1163,54-1208,1 cm^{-1}. Từ kết quả phân tích phổ FTIR, collagen được chiết tách từ hỗn hợp da và vảy cá lóc có các nhóm chức năng của collagen loại I.

3.4. Chất lượng của collagen thành phẩm từ hỗn hợp da và vảy cá lóc

3.4.1. Thành phần acid amin của collagen thành phẩm từ hỗn hợp da và vảy cá lóc

Thành phần acid amin của collagen từ hỗn hợp da và vảy cá lóc được trình bày ở bảng 4.

Bảng 4. Thành phần acid amin của collagen chiết tách từ hỗn hợp da và vảy cá lóc

STT	Thành phần acid amin	Hàm lượng (đơn vị/1.000 đơn vị)	STT	Thành phần amino acid	Hàm lượng (đơn vị/1.000 đơn vị)
1	Alanine	91	12	Lysine	30
2	Arginine	54	13	Methionine	12
3	Aspartic acid	49	14	Phenylalanine	17
4	Cystein	2	15	Proline	131
5	Glutamic acid	76	16	Serine	36
6	Glycine	314	17	Threonine	21
7	Histidine	6	18	Tryptophan	0
8	Hydrolysine	6	19	Tyrosine	4
9	Hydroxyproline	95	20	Valine	23
10	Isoleucine	9	21	Imino acid **	226
11	Leucine	24			

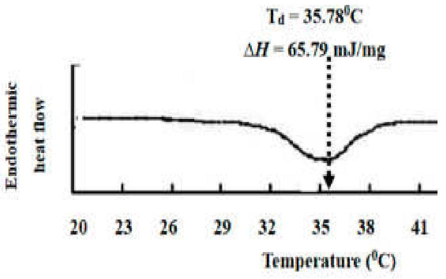
Ghi chú: (**) imino acid bao gồm hydroxyproline và proline. Kết quả được tính theo số acid amin/1.000 acid amin tổng số.

Từ kết quả phân tích ở bảng 4 cho thấy, glycine là amino acid được tìm thấy nhiều nhất trong collagen từ hỗn hợp da và vảy cá lóc, chiếm 314 đơn vị/1000 đơn vị (tương đương 31,4%). Thành phần amino acid của collagen từ hỗn hợp da và vảy cá lóc tương đối giống với các collagen loại I khác vì có

chung điểm đặc trưng nhất của collagen là có hàm lượng glycine ≥ 30% [14]. Kết quả này gần giống với collagen loại I từ da cá chép là 33,2% [4], vảy cá sòng (Nhật) là 33,8%, vảy cá sòng (Việt Nam) là 33,6% [6] và da cá lóc là 33,6% [5]. Ngoài ra, collagen từ hỗn hợp da và vảy cá lóc chứa các acid amin khác như proline, alanine, hydroxyproline và glutamic acid tương tự như collagen từ các loài khác [14]. Không phát hiện tryptophan trong collagen từ hỗn hợp da và vảy cá lóc. Hàm lượng imino acid (proline và hydroxyproline) của collagen từ da và vảy cá lóc là 226 đơn vị/1.000 đơn vị (tương đương 22,6%) cao hơn collagen từ da cá lóc là 20,4% trong nghiên cứu của Trương Thị Mộng Thu và cs (2021) [5]. Điều này được giải thích là do hàm lượng imino acid có mối liên hệ chặt chẽ đến cấu trúc của collagen. Hàm lượng imino acid trong collagen càng nhiều thì cấu trúc xoắn ba của collagen càng ổn định [3]. Do đó, collagen từ da cá lóc được chiết tách bằng pepsin (chuẩn bị trong dung dịch acetic acid) trong nghiên cứu của Trương Thị Mộng Thu và cs (2021) [5] thì cấu trúc xoắn ba của collagen có thể bị ảnh hưởng bởi tác dụng của cả acetic acid và pepsin nên hàm lượng imino acid thấp hơn collagen từ hỗn hợp da và vảy cá lóc chỉ chiết tách bằng acetic acid trong nghiên cứu này.

3.4.2. Nhiệt độ biến tính của collagen từ hỗn hợp da và vảy cá lóc

Nhiệt độ biến tính của collagen từ hỗn hợp da và vảy cá lóc được thể hiện ở hình 3.

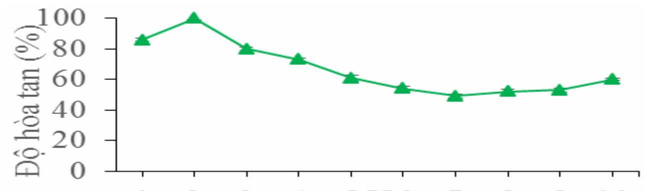


Hình 3. Nhiệt độ biến tính của collagen từ hỗn hợp da và vảy cá lóc

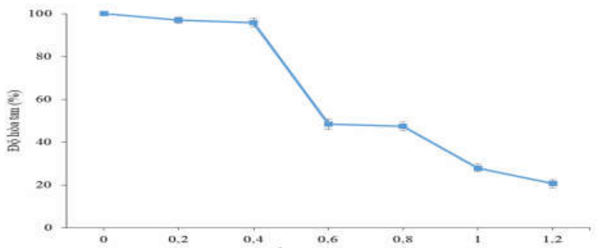
Kết quả ở hình 3 cho thấy, nhiệt độ biến tính của collagen từ hỗn hợp da và vảy cá lóc là 35,78°C, cao hơn collagen từ da cá Minh Thái (24,6°C) [15], nhưng thấp hơn collagen từ da cá rô sông Nile (36,5°C) [14]. Collagen từ các loại nguyên liệu khác nhau có nhiệt độ biến tính khác nhau là do sự khác nhau về hàm lượng hydroxyproline, collagen sẽ có nhiệt độ biến tính cao khi có hàm lượng hydroxyproline cao. Vì hydroxyproline có vai trò quan trọng duy trì sự ổn định cấu trúc xoắn ba của collagen. Ngoài ra sự khác nhau về nhiệt độ biến tính của collagen còn liên quan tới nhiệt độ môi trường sống và nhiệt độ cơ thể của từng loài [15].

3.4.3. Độ hòa tan của collagen từ hỗn hợp da và vảy cá lóc

Độ hòa tan của collagen từ hỗn hợp da và vảy cá lóc ở các pH từ 1 đến 10 và trong dung dịch NaCl ở các nồng độ từ 0 đến 1,2 M thể hiện trong hình 4 và hình 5.



Hình 4. Độ hòa tan của collagen từ hỗn hợp da vảy cá lóc ở các pH khác nhau



Hình 5. Độ hòa tan của collagen từ hỗn hợp hợp da vảy cá lóc ở các nồng độ NaCl khác nhau

Từ biểu đồ hình 4 cho thấy, mẫu collagen từ hỗn hợp da và vảy cá lóc có độ hòa tan cao ở các pH có tính acid (pH từ 1 – 4). Độ hòa tan của collagen giảm trong khoảng pH từ 6 - 8. Sự giảm độ hòa tan trong phạm vi pH này có thể là do sự gia tăng tương tác kị nước của các phân tử collagen, do đó dẫn đến sự kết tủa collagen, đặc biệt là tại điểm đẳng điện pI [2]. Độ hòa tan của collagen có khuynh hướng tăng nhẹ ở pH 10 có thể là do sự tăng cường lực đẩy của các phân tử collagen khi pH > pI [2].

Qua hình 5 cho thấy collagen từ hỗn hợp da và vảy cá lóc có độ hòa tan cao (trên 90%) ở nồng độ muối từ 0,2 đến 0,4 M. Điều này chứng tỏ rằng, ở nồng độ NaCl thấp, các ion có trong dung dịch muối liên kết yếu với các nhóm tích điện trên bề mặt protein và không can thiệp vào lớp hydrate hóa trên các miền dẫn đến độ hòa tan cao [2]. Khi nồng độ

NaCl cao hơn 0,6 M thì độ hòa tan có xu hướng giảm mạnh và chỉ còn khoảng 20% với NaCl 1,2 M. Nguyên nhân là do NaCl càng cao thì sự tăng cường tương tác kị nước giữa các chuỗi protein càng cao dẫn đến kết tủa và giảm độ hòa tan [9].

4. KẾT LUẬN

Hỗn hợp da và vảy cá lóc có thể sử dụng là nguồn nguyên liệu để chiết tách collagen bằng acetic acid. Điều kiện tiền xử lý loại protein phi collagen từ da cá lóc tốt nhất là ngâm da cá trong dung dịch NaOH 0,1 M và thời gian ngâm 6 giờ. Chiết tách collagen từ hỗn hợp da và vảy cá lóc được thực hiện với 0,6 M acetic acid và thời gian ngâm 3 ngày cho hiệu suất thu hồi collagen cao, màu sắc, phổ FTIR của collagen tốt.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu được thực hiện thông qua sự tài trợ kinh phí từ đề tài nghiên cứu khoa học cấp Bộ (Bộ Giáo dục và Đào tạo), mã số: CT2020.01.TCT.03 thuộc Chương trình Khoa học và Công nghệ "Nghiên cứu ứng dụng và phát triển công nghệ tiên tiến trong bảo quản, chế biến nông thủy sản vùng đồng bằng sông Cửu Long".

Trương Thị Mộng Thu được tài trợ bởi Tập đoàn Vingroup – Công ty CP và hỗ trợ bởi Chương trình học bổng thạc sĩ, tiến sĩ trong nước của Quỹ Đổi mới sáng tạo Vingroup (VINIF), Viện Nghiên cứu Dữ liệu lớn, mã số VINIF.2021.TS.093.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Trần Minh Phú, Đào Thị Mộng Trinh, Lê Thị Minh Thủy và Nguyễn Quốc Thịnh (2018). Bảo quản lạnh cá lóc phi lê (*Channa striata*) kết hợp xử lý acid acetic. *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*, 54(3), 147–155. https://doi.org/10.22144/ctu.jvn.2018.051

2. Kittiphattanabawon, P., Benjakul, S., Visessanguan, W., Nagai, T., & Tanaka, M. (2005). Characterisation of acid-soluble collagen from skin and bone of bigeye snapper (*Priacanthus tayenus*). Food Chemistry, 89(3), 363 – 372. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.02.042

3. Nguyễn Công Bỉnh và Trần Phương Kiều (2019). Loại bỏ phi collagen trên da cá ngừ vây vàng bằng dung dịch NaOH. *Tạp chí Khoa học Công nghệ và Thực phẩm*, 19(1), 114–124.

4. Duan, R., Zhang, J., Du, X., Yao, X., & Konno, K. (2009). Properties of collagen from skin, scale and bone of carp (Cyprinus carpio). Food Chemistry, 112(3), 702–706. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.06.020

5. Trương Thị Mộng Thu, Nguyễn Đỗ Quỳnh, Trần Thanh Trúc và Lê Thị Minh Thủy (2021). Nghiên cứu điều kiện tiền xử lý và chiết tách collagen từ da cá lóc (*Channa striata*) bằng pepsin. *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*; 57 (6), 178–188. https://doi.org/10.22144/ctu.jvn.2021.185

6. Thuy, L. T. M., Okazaki, E., & Osako, K. (2014). Isolation and characterization of acid-soluble collagen from the scales of marine fishes from Japan and Vietnam. *Food Chemistry*, 149, 264–270. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.10.094

7. AOAC (2020). Offcial methods of Analysis of AOAC internation, (20th ed.). George W.Latimer.

8. Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L., & Randall, R. J. (1951). Protein measurement with the Folin phenol reagent. The Journal of Biological Chemistry, 193(1), 265–275. https://doi.org/10.1016/s0021-9258(19)52451-6

9. Trần Thị Luyến, Đỗ Minh Phụng và Nguyễn Anh Tuấn (2006). *Sản xuất các chế phẩm kỹ thuật và y dược từ phế liệu thủy sản*. Nxb Nông nghiệp. Thành phố Hồ Chí Minh.

10. Shoulders, M. D., & Raines, R. T. (2009). Collagen structure and stability. Annual Review of Biochemistry, 78, 929–958. https://doi.org/10.1146/annurev.biochem.77.032207.120833

11. Skierka, E., & Sadowska, M. (2007). The influence of different acids and pepsin on the extractability of collagen from the skin of Baltic cod (Gadus morhua). *Food Chemistry*, 105(3), 1302–1306. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.04.030

12. Ahmad, M., & Benjakul, S. (2010). Extraction and characterisation of pepsin-solubilised collagen from the skin of unicorn leatherjacket (Aluterus monocerous). *Food Chemistry*, 120(3), 817–824. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.11.019

13. Kiew, P. L., & Don, M. M. (2013). The influence of acetic acid concentration on the extractability of collagen from the skin of hybrid

Clarias sp. and its physicochemical properties. Focusing on Modern Food Industry (FMFI), 2(3), 123–128.

14. Wang, L., Yang, B., Du, X., Yang, Y., & Liu, J. (2008). Optimization of conditions for extraction of acid-soluble collagen from grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) by response surface methodology. Innovative Food Science and Emerging Technologies, 9(4), 604–607.

15. Yan, M., Li, B., Zhao, X., Ren, G., Zhuang, Y., Hou, H., Zhang, X., Chen, L., & Fan, Y. (2008). Characterization of acid-soluble collagen from the skin of walleye pollock (*Theragra chalcogramma*). *Food Chemistry*, 107(4), 1581–1586. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.10.027

EXTRACTION OF ACID-SOLUBLE COLLAGEN FROM SNAKEHEAD FISH (*Channa striata*) SKIN AND SCALES MIXTURE

Truong Thi Mong Thu[1, 3], Tran Thanh Truc[2], Le Thi Minh Thuy[3]

[1]PhD student of Food Technology course 2020, Can Tho University

[2]College of Agriculture, Can Tho University

[3]College of Aquaculture and Fisheries, Can Tho University

Email: ttmthu@ctu.edu.vn

Summary

Study on the pre-treatment and collagen extraction conditions from snakehead fish skin and scales mixture by using acetic acid was performed to produce good collagen quality. The results showed that snakehead skin treated in 0.1 M NaOH solution for 6 hours gave the best removed protein non-collagen efficiency, the remaining amount of crude protein was 24.5%. After treatment, snakehead fish skin and scales mixture was extracted with 0.6 M acetic acid which gave high collagen yield of 2.090% and bright color of collagen with L* of 81.4. Snakehead fish skin and scales mixture was extracted in 0.6 M acetic acid for 3 days which gave highest collagen yield of 3.180%, L* value of 83.6. Collagen from snakehead fish skin and scales mixture had maximum solubility at pH 2 and NaCl concentration from 0.2 - 0.4 M. Base on the FTIR spectral analysis showed the close relationship between the number of wavelengths in the amide I and amide III regions, especially the stability of the triple helix structure, shows that collagen has a full functional group of type I collagen. Imino acid content account for 22.6%, so that collagen has denaturation temperature up to 35.78°C. From the above results, it is possible to utilize the skin and scale from the processing of snakehead fish as a source of raw materials for collagen production, both increasing the value of raw materials and helping to reduce environmental pollution caused by fish waste.

Keywords: *Collagen, FTIR spectrum, acetic acid, pre-treatment, snakehead fish skin and scales.*

Người phản biện: PGS.TS. Vũ Ngọc Bội

Ngày nhận bài: 15/7/2022

Ngày thông qua phản biện: 5/8/2022

Ngày duyệt đăng: 4/11/2022

HIỆN TRẠNG VÀ GIẢI PHÁP BẢO TỒN CÁC LOÀI GÀ NGUY CẤP, QUÝ, HIẾM TẠI KHU BẢO TỒN THIÊN NHIÊN PÙ HU

Vũ Tiến Thịnh[1, 2], Nguyễn Bá Thạch[3], Nguyễn Chí Thành[4], Đỗ Ngọc Dương[3], Phan Viết Đại[1, 2], Hoàng Văn Huy[2], Nguyễn Thị Hòa[2], Nguyễn Hữu Văn[1], Giang Trọng Toàn[1]

TÓM TẮT

Khu Bảo tồn Thiên nhiên (BTTN) Pù Hu có hệ sinh thái đa dạng với sự kết hợp giữa hệ sinh thái rừng trên núi đất và rừng trên núi đá vôi bị chia cắt mạnh, độ dốc và độ cao trung bình lớn. Đây là nơi cư trú của nhiều loài động vật, trong đó có nhiều loài nguy cấp, quý, hiếm có giá trị bảo tồn cao như các loài chim thuộc Bộ Gà (Galliformes). Kết quả điều tra thực hiện từ tháng 1 năm 2021 đến tháng 8 năm 2022 đã xác định được 9 loài chim thuộc Bộ Gà, chiếm 45% số loài gà hoang dã tại Việt Nam; trong đó có 1 loài có tên trong Công ước CITES (2019) (Phụ lục II), 1 loài có tên trong Sách Đỏ Việt Nam (2007), 5 loài có tên trong Nghị định 84/2021/NĐ - CP, 1 loài có tên trong Nghị định 64/2019/NĐ - CP. Nghiên cứu cũng xác định được hiện trạng quần thể các loài gà nguy cấp, quý, hiếm ngoài tự nhiên và đặc điểm khu vực phân bố của chúng, đồng thời chỉ ra được các mối đe dọa chủ yếu làm cơ sở đề xuất được các giải pháp bảo tồn các loài gà nguy cấp, quý, hiếm tại Khu BTTN Pù Hu.

Từ khóa: *Galliformes, Khu BTTN Pù Hu, Phasianidea.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Ở Việt Nam, Bộ Gà (Galliformes) có duy nhất 01 họ (Họ Trĩ – Phasianidae) với 20 loài [1]. Đây là các loài chim đa thê có kích thước cơ thể từ trung bình đến lớn, con trống thường có màu lông sặc sỡ, kiếm ăn ban ngày trên mặt đất nên rất dễ nhận biết. Trong số 20 loài chim trong bộ Gà được biết đến ở Việt Nam [1], hiện có 11 loài có tên trong Sách Đỏ Việt Nam (2007) [2]; 7 loài có tên trong Danh lục Đỏ IUCN (2022) [3]; 12 loài có tên trong Nghị định 84/2021/NĐ-CP [4]; 7 loài có tên trong Nghị định 64/2019/NĐ-CP [5]. Điều đó đã cho thấy, giá trị bảo tồn cao của các loài chim thuộc Bộ Gà ở Việt Nam.

Khu BTTN Pù Hu nằm trong hệ thống các khu rừng đặc dụng của Việt Nam với diện tích 28.468,64 ha. Sự đa dạng về địa hình, đai cao, khí hậu đã tạo ra sự đa dạng về các kiểu hệ sinh thái trên cơ sở kết hợp giữa hệ sinh thái núi đất và hệ sinh thái núi đá. Do đó, đây là nơi phân bố của nhiều loài động, thực vật, trong đó có nhiều loài nguy cấp, quý, hiếm có giá trị bảo tồn cao trong nước và quốc tế. Đây cũng là đặc điểm đặc trưng của các khu rừng đặc dụng tại khu vực Bắc Trung bộ của Việt Nam. Tuy nhiên, các loài nguy cấp, quý, hiếm tại đây luôn phải đối mặt với các mối đe dọa, đặc biệt là các mối đe dọa do con người tạo ra. Chính vì vậy, đề xuất và triển khai các biện pháp bảo tồn với việc ưu tiên cho các loài nguy cấp, quý, hiếm, trong đó có các loài chim thuộc Bộ Gà là rất cần thiết. Để thực hiện được hoạt động này thì việc điều tra nhằm xác định thành phần loài, hiện trạng quần thể, khu vực phân bố cũng như chỉ ra được mối đe dọa đến các loài gà nguy, cấp, quý, hiếm tại Khu BTTN Pù Hu cần phải được triển khai. Kết quả nghiên cứu không chỉ cung cấp các thông tin quan trọng, bổ sung cơ sở dữ liệu về đặc điểm của các loài gà nguy cấp, quý, hiếm mà còn cung cấp cơ sở khoa học và thực tiễn để triển khai các biện pháp bảo tồn các loài gà nguy cấp, quý hiếm nói riêng và giá trị đa dạng sinh học nói chung, hướng đến hoàn thành mục tiêu đã đề ra trong đề án, kế hoạch phát triển lâm nghiệp bền vững của Khu BTTN Pù Hu.

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Đối tượng nghiên cứu là các loài gà nguy cấp, quý, hiếm cư trú tại Khu BTTN Pù Hu, tỉnh Thanh Hóa.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp phỏng vấn

Phỏng vấn được thực hiện trong toàn bộ quá trình điều tra để khai thác thông tin quan trọng liên

[1] Trường Đại học Lâm nghiệp
[2] Viện Lâm nghiệp và Đa dạng sinh học nhiệt đới
[3] Ban quản lý Khu Bảo tồn Thiên nhiên Pù Hu
[4] Trường Đại học Nông Lâm Bắc Giang

quan đến nội dung điều tra nghiên cứu như thành phần loài gà, đặc điểm khu vực bắt gặp (phân bố) của chúng. Với những loài có số lượng cá thể hạn chế, rất khó bắt gặp ngoài thực địa thì những thông tin phỏng vấn có nhiều ý nghĩa, đồng thời sẽ được kiểm chứng và khẳng định từ những đối tượng phỏng vấn khác nhau và trong quá trình điều tra thực địa.

Đối tượng phỏng vấn là những người có nhiều kinh nghiệm đi rừng (thợ săn, người đi khai thác gỗ hoặc lâm sản ngoài gỗ) và cán bộ quản lý, cán bộ kiểm lâm địa bàn thường xuyên thực hiện công tác tuần tra, bảo vệ rừng ở khu vực…. Ngoài ra, ảnh màu các loài gà được sử dụng để hỗ trợ quá trình nhận dạng và kiểm chứng những thông tin thu thập được từ phỏng vấn liên quan đến thành phần loài gà tại Khu BTTN Pù Hu.

2.2.2. Điều tra thực địa

Hoạt động điều tra thực địa được thực hiện trong năm 2020 – 2021, trải rộng trên phạm vi toàn bộ Khu BTTN Pù Hu.

- Điều tra theo tuyến:

Tổng số 14 tuyến điều tra các loài gà được thiết lập, đại diện cho các khu vực, trạng thái rừng khác nhau trong toàn bộ Khu BTTN Pù Hu. Chiều rộng của tuyến không cố định. Chiều dài tuyến thay đổi tùy thuộc vào địa hình từng khu vực với tổng chiều dài các tuyến là 120 km.

Thời gian điều tra trên tuyến được thực hiện vào ban ngày (thường bắt đầu từ 5h30 - 10h00 vào buổi sáng và 15h00 - 17h30 vào buổi chiều) vì đây cũng là thời gian các loài gà hoạt động, đặc biệt hoạt động mạnh vào buổi sáng sớm và buổi chiều tối muộn. Người điều tra đi dọc tuyến với tốc độ chậm để quan sát và nghe tiếng kêu của con vật, đồng thời sử dụng các thiết bị hỗ trợ quan sát và ghi lại hình ảnh các loài như ống nhòm (Nikon 8x42; 10x52), máy ảnh (Nikon P900, Canon 7D, Nikon D4S). Các thông tin thu thập bao gồm vị trí phát hiện, tên loài, nguồn thông tin ghi nhận, số lượng, khoảng cách, góc phương vị sẽ được ghi vào biểu điều tra và hỗ trợ cho phương pháp âm sinh học. Với những tuyến quan trọng, có nhiều loài được bắt gặp thì sẽ được ưu tiên để điều tra lặp lại trong những lần điều tra tiếp theo.

Ngoài ra, các mối đe dọa đến các loài gà nguy cấp, quý, hiếm được điều tra trên tuyến đã được thiết lập. Với mối đe dọa ghi nhận được, người điều tra sẽ ghi lại các thông tin quan trọng như số lượng, diện tích, mức độ tác động và định vị vị trí của các mối đe dọa đó bằng máy định vị (GPS) cầm tay.

- Điều tra theo điểm:

Các điểm điều tra được thiết lập trên các tuyến điều tra ở các vị trí ngẫu nhiên hoặc tại các điểm nghi ngờ có sự xuất hiện các loài gà. Tại điểm điều tra, người điều tra quan sát kỹ lưỡng trong một cung tròn 360^0 xung quanh tâm điểm với bán kính không có định. Thời gian điều tra tại mỗi điểm ít nhất là 15 phút. Tên loài, số lượng cá thể, góc phương vị và khoảng cách từ người điều tra tới các cá thể gà sẽ được ghi vào các biểu điều tra.

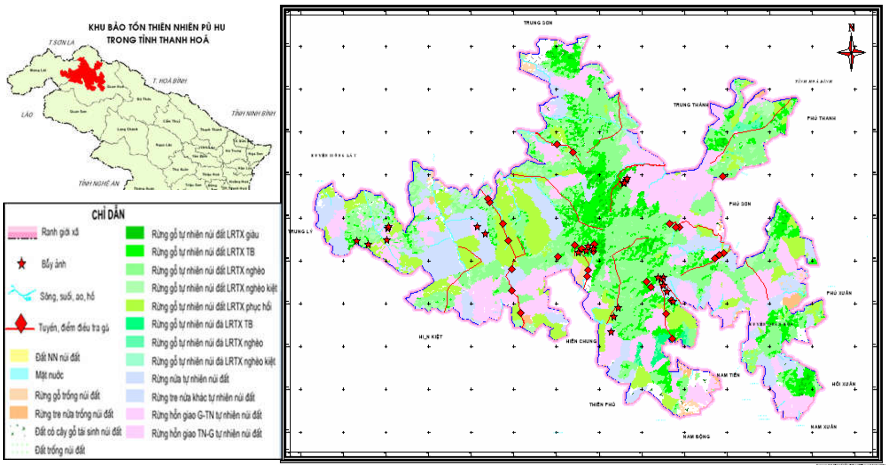
- Điều tra bằng phương pháp âm sinh học:

Phương pháp âm sinh học được sử dụng để điều tra tình trạng quần thể và đặc điểm phân bố của các loài gà nguy cấp, quý, hiếm. Trong nghiên cứu này, điện thoại di động thông minh (Samsung J4) sẽ được sử dụng để ghi lại những tiếng kêu của gà tại các điểm đặt máy. Điện thoại di động sẽ được tích hợp các ứng dụng lập trình ghi âm có thể phân tích, lọc tiếng kêu và được kết nối với bộ dự trữ pin loại 20.000 mah để sạc liên tục.

Các điện thoại di động sẽ được gắn vào thân cây rừng. Điện thoại sẽ được thiết lập để ghi lại âm thanh từ 5h00 sáng cho tới 19h00 tối ở tần số 16.000 Hz. Dữ liệu âm thanh sẽ được tách thành các file tương ứng với 1 giờ ghi và sẽ được lưu vào đĩa dưới dạng định dạng wav.

- Điều tra bằng bẫy ảnh

Bẫy ảnh là thiết bị ghi hình tự động con vật thông qua hệ thống cảm biến. Trong nghiên cứu này, 4 đợt đặt bẫy ảnh đã được thiết lập gồm 2 đợt năm 2021 (đợt 1 tại xã Hiền Chung, đợt 2 tại xã Trung Thành) và 2 đợt năm 2022 (đợt 1 tại xã Trung Lý, đợt 2 tại xã Nam Tiến), mỗi đợt kéo dài trong 30 ngày. Thời gian của các đợt đặt bẫy ảnh thuộc các mùa khác nhau trong năm để tăng hiệu quả ghi nhận loài. Trong mỗi đợt, 6 bẫy ảnh đã được sử dụng, lắp đặt tại các vị trí ngẫu nhiên trong từng khu vực nhằm ghi lại hình ảnh, đồng thời hỗ trợ thông tin đánh giá hiện trạng của các loài gà ngoài tự nhiên. Bẫy ảnh được gắn chắc chắn vào gốc cây, cách mặt đất từ 30 – 40 cm để thích hợp cho việc ghi nhận hình ảnh các loài gà. Hướng chụp được lựa chọn phù hợp nhằm đảm bảo không gian rộng nhất, thực bì được phát dọn để tăng chất lượng hình ảnh ghi lại được.



Hình 1. Sơ đồ các tuyến, điểm điều tra và vị trí đặt bẫy ảnh tại Khu BTTN Pù Hu

2.2.3. Phương pháp xử lý dữ liệu

- Xử lý dữ liệu âm thanh:

Dữ liệu âm thanh được phân tích bằng phần mềm RAVEN (Cornell Lab of Onithology) để phát hiện âm thanh của các loài là đối tượng nghiên cứu. Do mỗi máy được ghi trong nhiều ngày nên các ngày có quá nhiều tạp âm, ví dụ như tiếng mưa thì sẽ được loại bỏ khỏi quá trình phân tích. Mẫu âm thanh chuẩn của các loài gà sẽ được tham khảo từ tài liệu của Scharringa (2005) [6] và trên trang web về dữ liệu âm thanh các loài động vật hoang dã [7].

- Lập danh lục các loài gà và danh sách các loài gà nguy cấp, quý, hiếm:

Danh lục, tên khoa học tên phổ thông các loài gà được xây dựng theo tài liệu của Lê Mạnh Hùng và cs (2020) [1]. Danh sách các loài gà nguy cấp quý, hiếm được xác định là những loài có tên một trong các tài liệu: Sách Đỏ Việt Nam (2007) [2]; Danh lục Đỏ IUCN (2022) [3]; Nghị định số 84/2021/NĐ-CP [4]; Nghị định 64/2019/NĐ-CP [5]; Công ước CITES (2019) [8]

- Xác định hiện trạng quần thể các loài gà nguy cấp, quý, hiếm:

Hiện trạng quần thể các loài gà nguy cấp, quý, hiếm được tính toán từ dữ liệu điều tra theo tuyến và điểm, kết hợp với những thông tin phỏng vấn đáng tin cậy từ người dân địa phương và cán bộ kiểm lâm Khu BTTN Pù Hu. Mức độ phong phú của quần thể được xác định theo 4 mức độ:

+ Rất nhiều (++++): Loài có số lượng cá thể lớn, dễ bắt gặp.

+ Nhiều (+++): Loài có số lượng cá thể tương đối nhiều.

+ Ít (++): Loài có số lượng cá thể ít, có khả năng bắt gặp nhưng hạn chế.

+ Hiếm (+): Loài có số lượng cá thể rất ít, hiếm gặp.

- Xác định các mối đe dọa chủ yếu:

Các mối đe dọa đến các loài gà nguy cấp, quý, hiếm được xác định thông qua quan sát trực tiếp tại các tuyến điều tra và kết quả phỏng vấn. Sau đó các mối đe dọa sẽ được đánh giá, phân cấp bằng phương pháp TRA (Threats Reduction Assessment) được phát triển bởi Margoluis và Salafsky (2001) [9], dựa theo 3 tiêu chuẩn:

+ Phạm vi: Tỉ lệ diện tích trong Khu BTTN Pù Hu mà mối đe dọa sẽ tác động đến. Mối đe dọa này sẽ tác động tới toàn thể diện tích hay chỉ một phần nhỏ của khu vực bảo vệ?

+ Cường độ tác động: Cường độ suy thoái đa dạng sinh học do mối đe dọa đó gây ra. Trong diện tích Khu BTTN Pù Hu, mối đe dọa sẽ phá hủy hoàn toàn tài nguyên đa dạng sinh học hay chỉ gây ra sự thay đổi nhỏ?

+ Mức độ cấp thiết: Tính cấp thiết của mối đe dọa. Mối đe dọa đó đang xảy ra ngay bây giờ hay là chỉ xảy ra trong tương lai gần/xa?

Để phân hạng mức độ đe dọa, mối đe dọa ảnh hưởng trên phạm vi lớn nhất sẽ được cho điểm cao nhất, trong khi đó mối đe dọa ảnh hưởng đến diện tích nhỏ nhất sẽ được cho điểm thấp nhất. Tương tự như vậy, mối đe dọa có cường độ tác động lớn nhất và cấp thiết nhất sẽ được cho điểm cao nhất và ngược lại. Sau đó phân cấp mức độ của các mối đe dọa dựa theo tổng điểm 3 tiêu chuẩn đó. Ý kiến của cán bộ quản lý Khu BTTN Pù Hu sẽ được tham vấn trong

quá trình đánh giá các mối đe dọa để đảm bảo tính khách quan và độ chính xác.

Các số liệu điều tra được tổng hợp, xử lý thống kê bằng phần mềm Excel. Bản đồ tuyến điều tra, điểm điều tra, điểm đặt bẫy ảnh và bản đồ phân bố của các loài gà nguy cấp, quý, hiếm được xử lý và biên tập bằng phần mềm Mapinfo 15.0.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Thành phần các loài gà tại Khu BTTN Pù Hu

Kết quả điều tra đã xác định tổng số 9 loài gà tại Khu BTTN Pù Hu, thuộc họ Trĩ (Phasianidae), bộ Gà (Galliformes) và chiếm 45% so với tổng số loài gà hoang dã đã được ghi nhận ở Việt Nam [1].

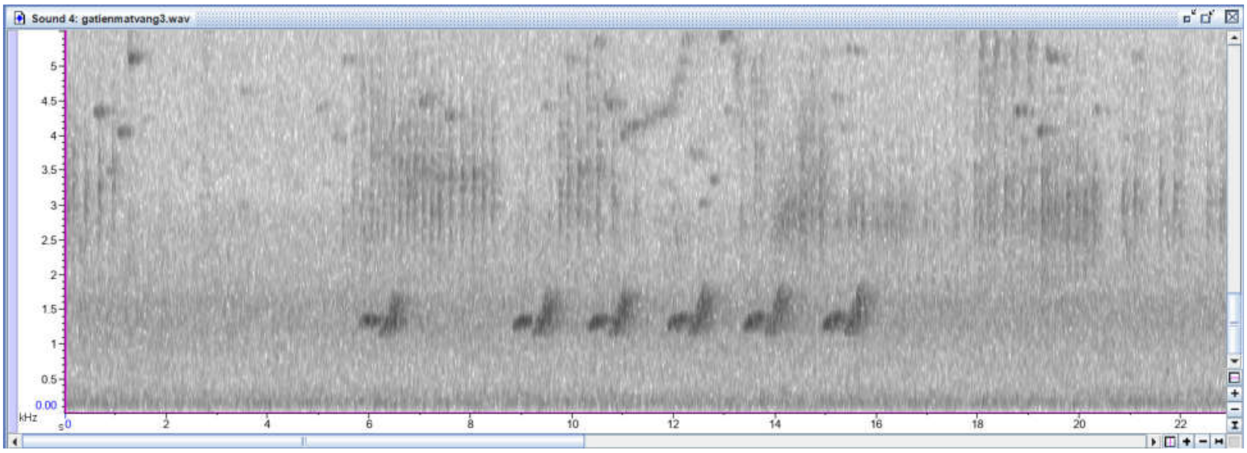
Bảng 1. Danh sách các loài gà tại Khu BTTN Pù Hu

STT	Tên phổ thông	Tên khoa học	Nguồn thông tin
1	Đa đa, gà gô	*Francolinus pintadeanus* (Scopoli, 1786)	TL, PV
2	Cay nhật bản	*Coturnix japonica* Temminckі&Schlegel, 1849	TL, PV, NT
3	Cay trung quốc	*Synoicus chinensis* Linnaeus, 1766	TL, AT, GA
4	Gà so họng hung	*Arborophila rufogularis* (Blyth, 1850)	PV, NT
5	Gà so họng trắng	*Arborophila brunneopectus* (Blyth, 1855)	TL, NT, MV, GA
6	Gà so ngực gụ	*Arborophila chloropus* (Blyth, 1859)	PV, NT
7	Gà rừng	*Gallus gallus* (Linnaeus, 1758)	TL, NT, QS, GA
8	Gà lôi trắng	*Lophura nycthemera* (Linnaeus, 1758)	TL, PV, NT, QS, BA
9	Gà tiền mặt vàng	*Polyplectron bicalcaratum* Linnaeus, 1758	TL, NT, MV, BA

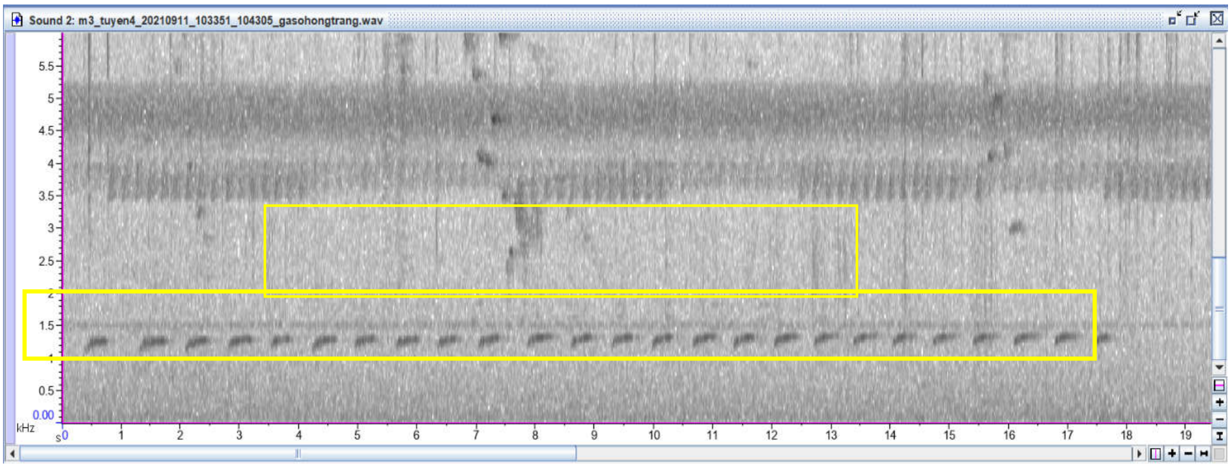
Ghi chú: TL- Kế thừa tài liệu đã công bố (Dự án Điều tra, lập danh lục khu hệ động thực vật tại Khu BTTN Pù Hu, tỉnh Thanh Hóa - 2013); PV: Phỏng vấn; MV: Mẫu vật thu thập được; NT: Nghe thấy tiếng kêu hoặc tiếng hót; QS: Quan sát trực tiếp; GA: Ghi âm; BA: Bẫy ảnh.

Các loài gà được ghi nhận từ nhiều nguồn thông tin khác nhau, trong đó có 8 loài được ghi nhận từ các thông tin rất đáng tin cậy như nghe thấy tiếng kêu hoặc tiếng hót đặc trưng, quan sát trực tiếp trong quá trình điều tra, thu thập được mẫu vật của loài, ghi nhận từ phân tích phổ âm thanh từ thiết bị ghi âm tiếng kêu của loài hoặc chụp được từ bẫy ảnh. Chỉ có loài Đa đa (Gà gô) (*Francolinus pintadeanus*) ghi nhận được từ phỏng vấn nhưng được người dân mô tả chính xác đặc điểm nhận biết của loài. Ngoài ra đây cũng là loài phổ biến, có phân bố khắp cả nước và được ghi nhận tại Khu BTTN Pù Hu vào năm 2013. Kết quả nghiên cứu này đã bổ sung 3 loài gà mới cho Khu BTTN Pù Hu gồm: Cay nhật bản (*Coturnix japonica*), Gà so họng hung (*Arborophila rufogularis*), Gà so ngực gụ (*Arborophila chloropus*).

Hình 3. Gà tiền mặt vàng (bên trái) và Gà lôi trắng (bên phải) ghi nhận được bằng bẫy ảnh tại Khu BTTN Pù Hu



Hình 4. Phổ âm thanh loài Gà tiền mặt vàng ghi nhận tại Khu BTTN Pù Hu



Hình 5. Phổ âm thanh loài Gà so họng trắng ghi nhận tại Khu BTTN Pù Hu

3.2. Danh sách các loài gà nguy cấp, quý, hiếm tại Khu BTTN Pù Hu

Từ danh sách các loài gà ghi nhận được, 6 loài gà nguy cấp, quý, hiếm đã được xác định, chiếm 66,7% số loài gà tại Khu BTTN Pù Hu. Trong đó, có 1 loài có tên trong Công ước CITES (2019) [8], 1 loài có tên trong Danh lục đỏ IUCN (2022) [3], 1 loài có tên trong Sách Đỏ Việt Nam (2007) [2], 5 loài có tên trong Nghị định 84/2021/NĐ - CP [4] và 1 loài được liệt kê trong Nghị định 64/2019/NĐ - CP [5].

Bảng 2. Danh sách các loài gà nguy cấp, quý, hiếm tại Khu BTTN Pù Hu

STT	Tên phổ thông	Tên khoa học	Tình trạng				
			CITES	IUCN	SĐVN	NĐ84	NĐ64
1	Cay nhật bản	*Coturnix japonica*		NT			
2	Gà so họng hung	*Arborophila rufogularis*				IIB	
3	Gà so họng trắng	*Arborophila brunneopectus*				IIB	
4	Gà so ngực gụ	*Arborphila charltonii*				IIB	
5	Gà lôi trắng	*Lophura nycthemera*				IB	
6	Gà tiền mặt vàng	*Polyplectron bicalcaratum*	II		VU	IB	x

Ghi chú: IUCN (Danh lục đỏ IUCN, 2022): NT - Sắp bị đe dọa; CITES (Công ước quốc tế về buôn bán các loài động thực vật hoang dã nguy cấp): II- Hạn chế buôn bán quốc tế; SĐVN (Sách Đỏ Việt Nam, 2007): VU - Sắp nguy cấp; NĐ84 (Nghị định 84/2021/NĐ - CP): IB - Nghiêm cấm hoàn toàn việc săn bắt, buôn bán vì mục đích thương mại; IIB - Hạn chế việc săn bắt, buôn bán vì mục đích thương mại; NĐ64 (Nghị định 64/2019/NĐ - CP): X - Thuộc danh mục loài nguy cấp, quý hiếm cần ưu tiên bảo vệ.

Kết quả nghiên cứu cho thấy, các loài gà nguy cấp, quý, hiếm tại Khu BTTN Pù Hu có giá trị bảo tồn rất cao, đặc biệt là loài Gà tiền mặt vàng khi có tên trong cả Công ước CITES (2019) [8], Sách Đỏ Việt Nam (2007) [2], Nghị định 84/2021/NĐ - CP [4] và Nghị định 64/2019/NĐ - CP [5].

3.3. Hiện trạng quần thể các loài gà nguy cấp, quý, hiếm tại Khu BTTN Pù Hu

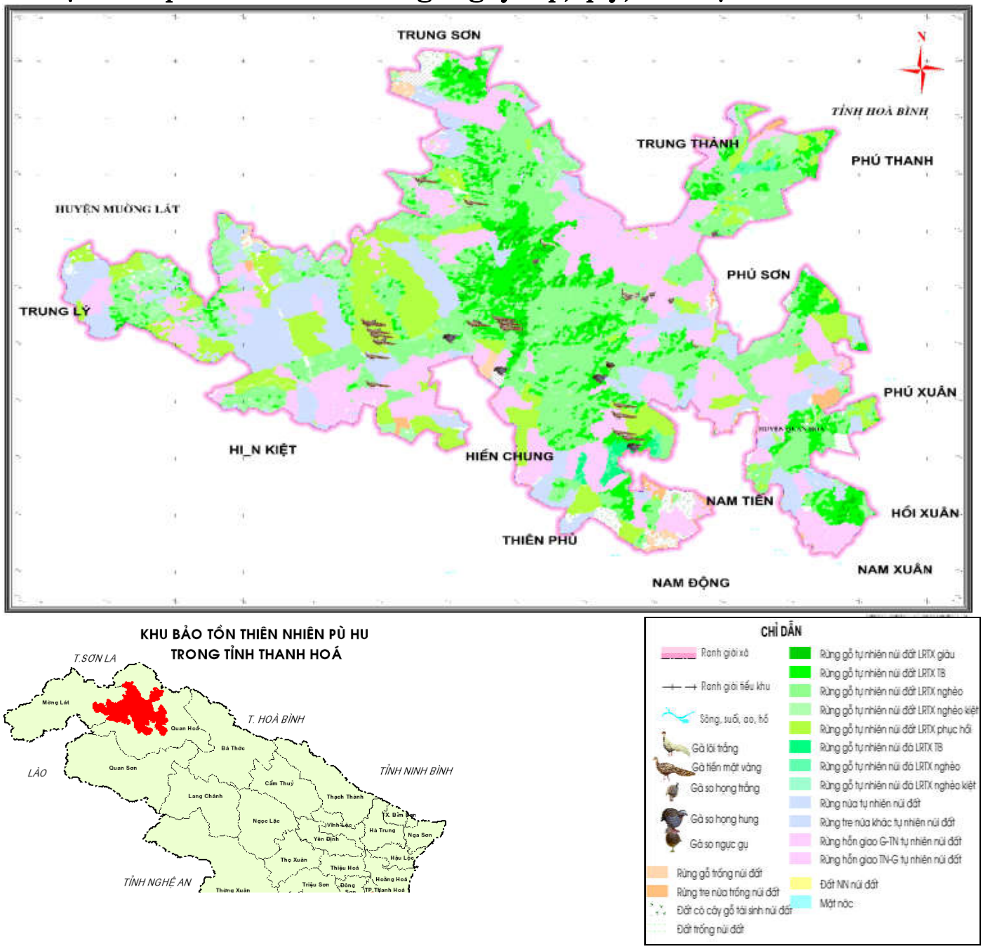
Kết quả điều tra thực địa và kết quả phỏng vấn cho thấy các loài gà nguy cấp, quý, hiếm có số lượng cá thể hạn chế ngoài tự nhiên nên rất hiếm gặp. Đây cũng là đặc điểm chung của các loài gà nguy cấp, quý, hiếm ở Việt Nam bởi chúng đang chịu nhiều tác động cho sự tồn tại. Tại Khu BTTN Pù Hu, Gà lôi trắng và Gà tiền mặt vàng là những loài hiếm gặp nhất, quá trình điều tra phần lớn chỉ nghe thấy tiếng kêu và được ghi nhận qua phân tích âm thanh và đặt bẫy ảnh.

Bảng 3. Mức độ phong phú của các loài gà nguy cấp, quý, hiếm tại Khu BTTN Pù Hu

STT	Tên phổ thông	Tên khoa học	Mức độ phong phú
1	Cay nhật bản	*Coturnix japonica*	++
2	Gà so họng hung	*Arborophila rufogularis*	+
3	Gà so họng trắng	*Arborophila brunneopectus*	+
4	Gà so ngực gụ	*Arborphila charltonii*	+
5	Gà lôi trắng	*Lophura nycthemera*	+
6	Gà tiền mặt vàng	*Polyplectron bicalcaratum*	+

Ghi chú: (++++): Rất nhiều; (+++): Nhiều; (++): Ít; (+): Hiếm.

3.4. Đặc điểm phân bố của các loài gà nguy cấp, quý, hiếm tại Khu BTTN Pù Hu



Hình 2. Khu vực phân bố của các loài gà nguy cấp, quý, hiếm tại Khu BTTN Pù Hu

Các loài gà nguy cấp, quý, hiếm phân bố ở hầu hết các trạng thái có rừng trên núi đất nhưng tập trung chủ yếu ở các trạng thái rừng trung bình, rừng nghèo, rừng phục hồi, rừng tre nứa, rừng hỗn giao gỗ tre nứa, rừng hỗn giao tre nứa gỗ; ít phân bố ở các trạng thái rừng trên núi đá. Theo độ cao, nhìn chung các loài có xu hướng phân bố trên nhiều đai cao khác nhau, từ 300 – 1.000 m so với mực nước biển. Tuy nhiên, sự phân bố theo độ cao ở mỗi loài lại có sự khác biệt nhất định. Gà tiền mặt vàng phân bố rộng nhất, ghi nhận ở độ cao từ 300 – 1.000 m, tập trung ở độ cao trên 600 m; Gà lôi trắng ghi nhận ở độ cao từ 400 – 700 m; Gà so họng trắng ghi nhận ở độ cao từ 600 – 800 m; Gà so họng hung ghi nhận ở độ cao 300 – 900 m; Gà so ngực gụ ghi nhận ở độ cao 600 – 800 m. Các loài gà nguy cấp, quý, hiếm được ghi nhận tại các tiểu khu 49, 56, 76B, 82, 83, 94, 97, 98, 102, 112A, 120 của Khu BTTN Pù Hu.

3.5. Các mối đe dọa đến các loài gà nguy cấp, quý, hiếm tại Khu BTTN Pù Hu

Từ kết quả điều tra bằng các nguồn thông tin khác nhau, 4 mối đe dọa chủ yếu đến các loài gà nguy cấp, quý, hiếm tại Khu BTTN Pù Hu được xác định gồm: săn bắt trái phép; khai thác gỗ trái phép; khai thác lâm sản ngoài gỗ; chăn thả gia súc.

- Săn bắt trái phép: ảnh hưởng trực tiếp đến các loài gà nguy cấp, quý, hiếm cũng như các loài động vật khác trong Khu BTTN Pù Hu. Hoạt động săn bắt trái phép diễn ra vào hầu hết thời gian trong năm và chủ yếu do nam giới thực hiện. Hoạt động này diễn ra ở nhiều khu vực khác nhau trong Khu BTTN Pù Hu nhưng tập trung ở các tiểu khu 56, 70, 71, 72, 94, 98, 102.

- Khai thác gỗ trái phép: ảnh hưởng tiêu cực đến các loài gà nguy cấp, quý, hiếm do làm giảm chất lượng, thu hẹp sinh cảnh sống của các loài. Mặc dù hoạt động này đã được kiểm soát tốt trong những năm trở lại đây nhưng nguy cơ đe dọa vẫn là rất lớn, thường tập trung ở các khu vực có nhiều cây gỗ lớn, gần khu vực sinh sống của người dân như tại các tiểu khu 56, 70, 71, 72, 94, 98, 102.

- Khai thác lâm sản ngoài gỗ: phần lớn do người dân địa phương thực hiện, chủ yếu là lấy măng do diện tích rừng tre nứa chiếm diện tích khá lớn trong phạm vi của Khu BTTN Pù Hu. Thời gian lấy măng diễn ra theo mùa, chủ yếu tập trung từ tháng 5 đến tháng 7 hàng năm. Các sinh cảnh có tre nứa phân bố cũng là sinh cảnh sống chủ yếu của các loài gà, do đó ngoài ảnh hưởng trực tiếp đến sinh cảnh sống của chúng, hoạt động này cũng có thể gây ra mối đe dọa trực tiếp đến sự sinh tồn của các loài do người đi lấy măng thường có cơ hội cao để bắt gặp các loài gà.

- Chăn thả gia súc: chủ yếu là trâu, bò là hoạt động diễn ra tương đối phổ biến tại nhiều khu vực trong Khu BTTN Pù Hu, đặc biệt là các khu vực vùng đệm. Hoạt động này có thể ảnh hưởng trực tiếp đến sinh cảnh sống của các loài gà, đồng thời có thể mang mầm bệnh và phát tán sang các loài hoang dã khác trong Khu BTTN Pù Hu. Ở nhiều khu vực người dân còn làm những lán trại để phục vụ hoạt động chăn thả gia súc làm gia tăng nguy cơ xâm lấn đất và sự xuất hiện thường xuyên của con người vào rừng.

Từ kết quả xếp hạng các mối đe dọa có thể thấy rằng săn bắt trái phép và khai thác gỗ trái phép vẫn là hai mối đe dọa nguy hiểm nhất không chỉ với các loài gà nguy cấp, quý, hiếm mà với cả hệ sinh thái tự nhiên của Khu BTTN Pù Hu. Chăn thả gia súc, khai thác lâm sản ngoài gỗ cũng là những mối đe dọa tiềm tàng nếu không có biện pháp ngăn chặn kịp thời.

Bảng 4. Xếp hạng các mối đe dọa đến các loài gà nguy cấp, quý, hiếm tại Khu BTTN Pù Hu

STT	Mối đe dọa	Phân hạng theo từng tiêu chí			Tổng	Xếp hạng
		Phạm vi	Cường độ	Cấp thiết		
1	Săn bắt trái phép	4	4	4	12	1
2	Khai thác gỗ trái phép	3	2	3	8	2
3	Chăn thả gia súc	2	3	2	7	3
4	Khai thác lâm sản ngoài gỗ	1	1	1	3	4

Ngoài những mối đe dọa chủ yếu như đã phân tích ở trên, các loài động vật hoang dã nói chung và các loài gà nguy cấp, quý, hiếm nói riêng của Khu BTTN Pù Hu còn có thể chịu ảnh hưởng của những mối de dọa tiềm tàng khác trong tương lai, đặc biệt là phát triển du lịch sinh thái không bền vững, lấn chiếm đất rừng trái phép, cháy rừng và biến đổi khí hậu.

3.6. Đề xuất giải pháp bảo tồn các loài gà nguy cấp, quý, hiếm tại Khu BTTN Pù Hu

- Tăng cường công tác tuần tra, kiểm soát tài nguyên rừng để kịp thời phát hiện và xử lý các vụ vi phạm trái phép tại Khu BTTN Pù Hu. Ngoài tuần tra thường xuyên hoặc đột xuất khi có thông tin vi phạm, các tuyến điều tra cần được thiết kế để đi qua các sinh cảnh quan trọng hoặc các điểm nóng, các điểm tiềm năng bị tác động, khai thác. Đối với các loài Gà, tập trung vào các khu vực có phân bố của các loài gà nguy cấp, quý, hiếm, đặc biệt là các sinh cảnh rừng tự nhiên giàu, trung bình, rừng hỗn giao gỗ tre nứa tại các tiểu khu 56, 83, 97, 98, 102 thuộc Khu BTTN Pù Hu. Đây là các khu vực đã ghi nhận các loài gà nguy cấp, quý, hiếm cư trú từ quá trình điều tra thực địa.

- Ngăn chặn triệt để các hoạt động liên quan đến tiêu thụ, kinh doanh các sản phẩm động vật hoang dã, trong đó có các loài chim. Vận động các nhà hàng ký cam kết không kinh doanh các sản phẩm động vật hoang dã; phối hợp với chính quyền địa phương các xã, thôn/bản giáp danh trong Khu BTTN Pù Hu ký cam kết về bảo vệ rừng, không vi phạm pháp luật liên quan đến khai thác lâm sản.

- Tăng cường các hoạt động để kiểm soát, ngăn chặn những tác động trực tiếp đến rừng như: tháo dỡ bẫy bắt, cấm săn bắt động vật dưới bất kỳ hình thức nào, đặc biệt là các khu vực trong vùng lõi. Vận động người dân giao nộp súng săn, các loại bẫy động vật cho cơ quan chức năng.

- Khoanh vùng những khu vực điểm nóng về bảo tồn đa dạng sinh học để có biện pháp chủ động trong công tác quản lý nhằm ngăn chặn từ xa các tác động tiêu cực đến các loài động vật hoang dã ở các khu vực này, tập trung ở các tiểu khu có hoạt động săn bắt, khai thác gỗ trái phép như tiểu khu 56, 70, 71, 72, 94, 98, 102.

- Tăng cường công tác tập huấn về kỹ thuật điều tra, giám sát đa dạng sinh học cho cán bộ quản lý Khu BTTN Pù Hu, đồng thời trang bị cơ sở vật chất, trang thiết bị phục vụ công tác tuần tra, kiểm soát, giám sát da dạng sinh học như ống nhòm, máy ảnh, máy định vị GPS, bẫy ảnh, các phần mềm chuyên dụng...

4. KẾT LUẬN

Tổng số 9 loài chim thuộc Bộ Gà, trong đó có 6 loài nguy cấp, quý, hiếm đã được ghi nhận tại Khu BTTN Pù Hu. Trong đó, có 1 loài có tên trong Công ước CITES (2019), 1 loài có tên trong Danh lục đỏ IUCN (2022), 1 loài có tên trong Sách Đỏ Việt Nam (2007), 5 loài có tên trong Nghị định 84/2021/NĐ-CP và 1 loài được liệt kê trong Nghị định 64/2019/NĐ-CP.

Phần lớn các loài gà nguy cấp, quý, hiếm có số lượng cá thể hạn chế, hiếm gặp ngoài tự nhiên, đặc biệt là Gà tiền mặt vàng (*Polyplectron bicalcaratum*) và Gà lôi trắng (*Lophura nycthemera*).

Các loài gà nguy cấp, quý, hiếm phân bố rộng, có thể được bắt gặp ở nhiều trạng thái rừng khác nhau nhưng tập trung chủ yếu ở các trạng thái rừng trên núi đất: rừng trung bình, rừng nghèo, rừng phục hồi, rừng tre nứa, rừng hỗn giao gỗ tre nứa hoặc tre nứa gỗ ở độ cao từ 300 đến 1.000 m so với mặt nước biển thuộc các tiểu khu 49, 56, 76B, 82, 83, 94, 97, 98, 102, 112A, 120.

Các loài gà nguy cấp, quý, hiếm tại Khu BTTN Pù Hu chịu ảnh hưởng của 4 mối đe dọa chủ yếu gồm: Săn bắt trái phép, khai thác gỗ trái phép, chăn thả gia súc, khai thác lâm sản ngoài gỗ trong đó săn bắt trái phép, khai thác gỗ trái phép là hai mối đe dọa hàng đầu, có ảnh hưởng lớn nhất đến các loài. Ngoài ra, có 4 mối đe dọa tiềm tàng trong lương lai đến các loài gà nguy cấp, quý, hiếm của Khu BTTN Pù Hu là phát triển du lịch sinh thái không bền vững, lấn chiếm đất rừng trái phép, cháy rừng và biến đổi khí hậu.

Cần triển khai tổng thể các giải pháp bảo tồn các loài gà nguy cấp, quý, hiếm tại Khu BTTN Pù Hu, trong đó tập trung vào giải pháp chủ yếu đã được đề xuất liên quan đến công tác tuần tra, kiểm soát; thực thi lâm luật; tuyên truyền vận động, nâng cao ý thức cộng đồng; phối hợp với chính quyền địa phương và cộng đồng trong bảo tồn.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này là kết quả của dự án Điều tra, đánh giá hiện trạng và bảo tồn các loài Gà nguy cấp, quý, hiếm thuộc họ Trĩ (Phasianidae) tại Khu BTTN Pù Hu, tỉnh Thanh Hóa. Chúng tôi cũng xin gửi lời cảm ơn đến UBND tỉnh Thanh Hóa, Sở Nông nghiệp và PTNT tỉnh Thanh Hóa, Ban Quản lý Khu BTTN Pù Hu, các cộng tác viên, cán bộ kiểm lâm và người dân địa phương đã hỗ trợ thu thập số liệu ngoài thực địa.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Lê Mạnh Hùng, Tăng A Pẩu, Trần Anh Tuấn, Bùi Đức Tiến, Nguyễn Mạnh Hiệp (2020). *Các loài chim Việt Nam*. Nxb Thế giới, Hà Nội.

2. Bộ Khoa học Công nghệ (2007). *Sách Đỏ Việt Nam*. Nxb Khoa học Tự nhiên và Công nghệ, Hà Nội.

3. IUCN (2022). *The IUCN Red List of Threatened Species* (https://www.iucnredlist.org/). Truy cập ngày 10 tháng 10 năm 2022.

4. Chính phủ (2021). *Nghị định số 84/2021/ NĐ-CP ngày 22/9/2021 về sửa đổi, bổ sung một số điều của Nghị định 06/2019/NĐ-CP ngày 22 tháng 01 năm 2019 của Chính phủ về quản lý thực vật rừng, động vật rừng nguy cấp, quý hiếm và thực thi Công ước về buôn bán quốc tế các loài thực vật, động vật hoang dã nguy cấp.*

5. Chính phủ (2019). *Nghị định 64/2019/NĐ-CP ngày 16/7/2019 quy định về sửa đổi Điều 7, Nghị định số 160/2013/NĐ-CP ngày 12/11/2013 về tiêu chí xác định loài và chế độ quản lý loài thuộc danh mục loài nguy cấp, quý, hiếm được ưu tiên bảo vệ để xác định hiện trạng các loài và lựa chọn loài quý hiếm.*

6. Scharringa J. (2005). Birds of Tropical Asia 3. Third edition. DVD-ROM. Bird Songs International, Westernieland.

7. Xeno - canto Foundation, 2022. Sharing wildlife sounds from around the world (https://xeno-canto.org/). Truy cập ngày 10 tháng 10 năm 2022.

8. Bộ Nông nghiệp và PTNT (2019). *Thông báo 296/TB-CTVN-HTQT ngày 27 tháng 11 năm 2019 về việc công bố danh mục các loài động vật, thực vật hoang dã thuộc phụ lục công ước về buôn bán quốc tế các loài động vật, thực vật hoang dã nguy cấp (CITES).*

9. Margoluis, R. and N. Salafsky (2001). *Is our project succeeding? A guide to Threat Reduction Assessment for conservation.* Washington, D. C.: Biodiversity Support Program.

STATUS AND SOLUTIONS TO CONSERVE RARE AND ENDANGERED GALLIFORMES SPECIES IN PU HU NATURE RESERVE

Vu Tien Thinh[1, 2], Nguyen Ba Thach[3], Nguyen Chi Thanh[4], Do Ngoc Duong[3], Phan Viet Dai[1, 2], Hoang Van Huy[2], Nguyen Thi Hoa[2], Nguyen Huu Van[1], Giang Trong Toan[1]

[1] *Vietnam National University of Forestry*

[2] *Institute for Tropical Biodiversity and Forestry*

[3] *Pu Hu Nature Reserve*

[4] *Bac Giang Agro-Forestry University*

Summary

Pu Hu Nature Reserve is located in Quan Hoa and Muong Lat District, Thanh Hoa Province, covering an area of 28,468.64 hectares. The reserve has several ecosystem types, serving as the habitat of many wildlife species, including several endangered, precious, and rare species of high conservation value, including birds belonging to the Galliformes Order. The survey conducted from January 2021 to October 2022 identified 9 bird species belonging to the Galliformes Order, accounting for 45% of the wild Galliformes species in Vietnam; including 01 species listed in CITES (2019) Convention (Appendix II), 01 species listed in Vietnam Red Book (2007), 05 species listed in Decree 84/2021/ND - CP, 01 species listed in Decree 64/2019/ND - CP. Population distribution maps of endangered, precious, and rare Galliformes species were also developed. The project also identified threats and proposed solutions to conserve endangered and rare Galliformes species in Pu Hu Nature Reserve.

Keywords: *Galliformes, Pu Hu Nature Reserve, Phasianidea.*

Người phản biện: TS. Phạm Công Thiếu

Ngày nhận bài: 17/10/2022

Ngày thông qua phản biện: 15/11/2022

Ngày duyệt đăng: 29/11/2022

NGHIÊN CỨU MỘT SỐ THÔNG SỐ VẬN HÀNH CỘT PLASMA LẠNH XỬ LÝ NƯỚC NGẦM PHỤC VỤ SINH HOẠT NÔNG THÔN

Lê Hoàng Việt[1], Nguyễn Công Thuận[1],
Nguyễn Văn Dũng[2], Nguyễn Võ Châu Ngân[1,*]

TÓM TẮT

Nghiên cứu nhằm khảo sát một số thông số vận hành cụ thể (lưu lượng nạp nước, thời gian lưu nước) cho cụm plasma lạnh để xử lý nước ngầm phục vụ nhu cầu sinh hoạt. Các thí nghiệm tiến hành trên mô hình cột plasma lạnh quy mô phòng thí nghiệm với nguồn nước ngầm được gây ô nhiễm nhân tạo. Kết quả thí nghiệm cho thấy, tải nạp và thời gian trữ nước sau xử lý ảnh hưởng đến hiệu suất xử lý của hệ thống. Vận hành thử nghiệm cột plasma lạnh với tải lượng 0,002, 0,003, 0,004, 0,005 m^3/phút cho thấy, với lưu lượng tối thiểu 0,003 m^3/phút cung cấp đủ chiều dày lớp nước giúp tăng điện trường trong khe hở điện cực, làm tăng công suất và độ ổn định của cột plasma; hiệu suất xử lý các thông số ô nhiễm rất cao, tuy nhiên hàm lượng ni-trát có xu hướng tăng khi tăng tải lượng nạp nước nhưng không vượt ngưỡng cho phép đối với nước sinh hoạt. Trong số các mốc thời gian trữ nước (15, 20, 25, 30, 35 phút), nước sau xử lý nên tiếp tục cho lưu ở bồn chứa tối thiểu 20 phút để dư lượng ozone và các gốc hydroxyl tiếp tục phản ứng với các chất ô nhiễm nhằm đạt hiệu quả xử lý cao và nước sau xử lý không còn dư lượng của ozone.

Từ khóa: *Công nghệ plasma lạnh, lưu lượng nạp nước, nước ngầm, thời gian lưu nước, xử lý ô nhiễm.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Ở đồng bằng sông Cửu Long (ĐBSCL), việc sử dụng nước ngầm đã tăng lên theo cấp số nhân kể từ những năm 1990 [1], dẫn đến cạn kiệt nguồn nước ngầm và suy giảm chất lượng nước. Đặc biệt trong bối cảnh của biến đổi khí hậu (BĐKH), mực nước biển dâng, cộng thêm sự ô nhiễm nguồn nước mặt, người dân vùng nông thôn khu vực ven biển ĐBSCL có xu hướng chuyển sang sử dụng nước ngầm ngày càng nhiều. Để ứng phó với ô nhiễm nguồn nước ngầm, Chính phủ đã ban hành Nghị định số 167/2018/NĐ-CP ngày 26/12/2018 về việc hạn chế khai thác nước dưới đất [2].

Ở Việt Nam có khoảng hơn 1 triệu giếng khoan có nồng độ arsen trong nước ngầm cao hơn từ 20 - 50 lần theo tiêu chuẩn của Bộ Y tế, gây nhiễm độc mãn tính do phơi nhiễm arsen cho xấp xỉ 0,5 - 1,0 triệu người [3]. Riêng ở ĐBSCL một số địa phương có giếng nước ngầm bị nhiễm arsen như: An Giang, Sóc Trăng, Trà Vinh [4]. Các giảng viên của Khoa Môi trường và Tài nguyên thiên nhiên - Trường Đại học Cần Thơ đã chế tạo bộ xử lý arsen trong nước ngầm bằng hóa chất và đã đưa vào ứng dụng thực tế tại các hộ gia đình ở Trà Vinh, Sóc Trăng [5].

Trong những năm gần đây, công nghệ plasma, đặc biệt plasma lạnh được ứng dụng trong xử lý nước do tiêu tốn ít năng lượng. Khi sử dụng plasma lạnh, nước được điện phân ở hiệu điện thế cao tạo nên những gốc hóa học có tính ô-xy hóa mạnh có thể chuyển các kim loại nặng từ dạng khử sang dạng ô-xy hóa và kết tủa, sau đó được lắng và lọc ra khỏi nước. Các chất ô-xy hóa mạnh này và tia UV (tạo ra từ hồ quang điện) còn có thể tiêu diệt các vi sinh vật có hại trong nước. Đã có một nghiên cứu xử lý nước ngầm bằng công nghệ plasma lạnh ghi nhận lưu lượng nạp nước 2 L/phút và thời gian trữ nước 20 phút là phù hợp [6], tuy nhiên các thông số vận hành của thí nghiệm còn khiêm tốn cần được tìm hiểu thêm. Nghiên cứu này tiến hành trên cùng mô hình cột plasma [6], nhằm tìm ra một số thông số vận hành cụ thể hơn phục vụ cho việc chế tạo thiết bị ứng dụng vào thực tế xử lý nước ngầm phục vụ nhu cầu nước sinh hoạt.

2. PHƯƠNG PHÁP - PHƯƠNG TIỆN NGHIÊN CỨU

2.1. Mô hình thử nghiệm

Nghiên cứu này sử dụng mô hình cụm xử lý nước ngầm bằng plasma lạnh đã được thiết kế và chế tạo từ nghiên cứu của đề tài Tây Nam bộ, mã số

[1] Khoa Môi trường và Tài nguyên thiên nhiên, Trường Đại học Cần Thơ
[2] Khoa Công nghệ, Trường Đại học Cần Thơ
[*]Email: nvcngan@ctu.edu.vn

TNB.ĐT/14 - 19/C02. Cụm bể xử lý plasma lạnh quy mô phòng thí nghiệm vận hành theo kiểu bể phản ứng liên tục với chế độ dòng chảy từ trên xuống tạo thành màng nước xung quanh hệ điện cực tạo plasma (Hình 1) có một số thông số thiết kế như sau: điện cực trong chế tạo bằng inox có đường kính ngoài 22 mm, điện cực ngoài chế tạo bằng ống thạch anh đường kính 35 mm, dày 3,5 mm phủ lớp màng nhôm dày 0,08 mm, điện áp tạo plasma 18 kV- 29 kHz.

2.2. Bố trí thí nghiệm

Trong thí nghiệm này mẫu nước giếng được thu thập và phân tích các thông số chất lượng nước. Kết quả phân tích trình bày trong bảng 1.

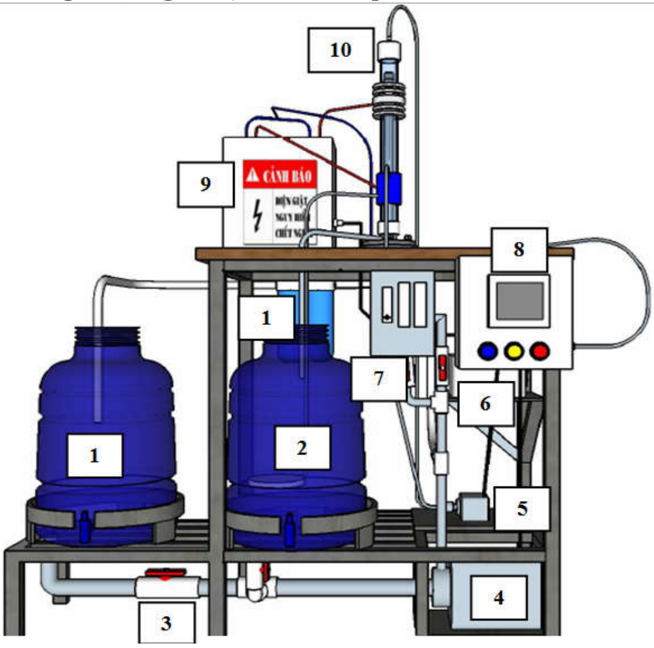
Bảng 1. Nồng độ các thông số ô nhiễm của mẫu nước thí nghiệm

Chỉ tiêu	Đơn vị	Mẫu nước giếng		QCVN 01-1: 2018/BYT
		Trước khi gây ô nhiễm	Sau khi gây ô nhiễm	
pH	-	6,7	6,5	6,0 - 8,5
Độ đục	NTU	0,48	14,1	2
Ni-trát	mg/L	1,4	8,8	2
Fe	mg/L	0,051	3,91	0,3
Arsen	mg/L	KPH	0,03	0,01

Ghi chú: KPH - không phát hiện.

Do các thông số đều đạt giá trị cho phép của QCVN 01-1: 2018/BYT Quy chuẩn kỹ thuật Quốc gia về chất lượng nước sạch sử dụng cho mục đích sinh hoạt, để tiến hành thí nghiệm cần pha với hóa chất để gây ô nhiễm nguồn nước này. Các loại phèn sắt $FeSO_4.7H_2O$ và $FeCl_3.6H_2O$ (độ tinh khiết 99%) được sử dụng để gây nhiễm sắt, trong khi acide asenic H_3AsO_4 được pha vào để gây nhiễm arsen cho nước.

Nước được nạp vào cột plasma với những lưu lượng khác nhau, gồm 0,002, 0,003, 0,004, 0,005 m^3/phút (dựa trên giá trị 2 L/phút trong thí nghiệm trước đây [6]; không chọn giá trị 0,001 m^3/phút vì lưu lượng thấp nên lớp nước chảy trên bề mặt điện cực không ổn định). Nước sau khi qua cột plasma được lưu lại trong bình chứa trong những khoảng thời gian từ 15, 20, 25, 30 phút (dựa trên giá trị 20 phút trong thí nghiệm trước đây [6]) để các phản ứng tiếp tục xảy ra; sau đó nước bơm qua cột lọc cotton để lấy mẫu phân tích. Lý do trữ nước lại trong bình chứa là do sau khi qua cột plasma, nước còn chứa nhiều ozone hòa tan và cần phải có thêm thời gian để các phản ứng ô-xy hóa sắt tạo kết tủa hoàn toàn.



(1) Bình chứa nước cần xử lý
(2) Bình chứa nước sau xử lý
(3) Van nước
(4) Máy bơm nước
(5) Bơm cấp khí cho buồng plasma
(6) Máy biến áp
(7) Lưu lượng kế
(8) Tủ điện
(9) Nguồn cao áp
(10) Buồng tạo plasma
(11) Bộ lọc

Hình 1. Cụm plasma lạnh xử lý nước ngầm [6]

Bảng 2. Tải nạp nước cho cột plasma với các mức lưu lượng khác nhau

Lưu lượng (m^3/phút)	Diện tích bản điện cực (m^2)	Tải nạp nước		
		$m^3 \times m^{-2} \times$phút^{-1}	$m^3 \times m^{-2} \times$giờ$^{-1}$	$m^3 \times m^{-2} \times$ngày^{-1}
0,002	0,005181	0,39	23,16	555,88
0,003	0,005181	0,58	34,74	833,82
0,004	0,005181	0,77	46,32	1111,75
0,005	0,005181	0,97	57,90	1389,69

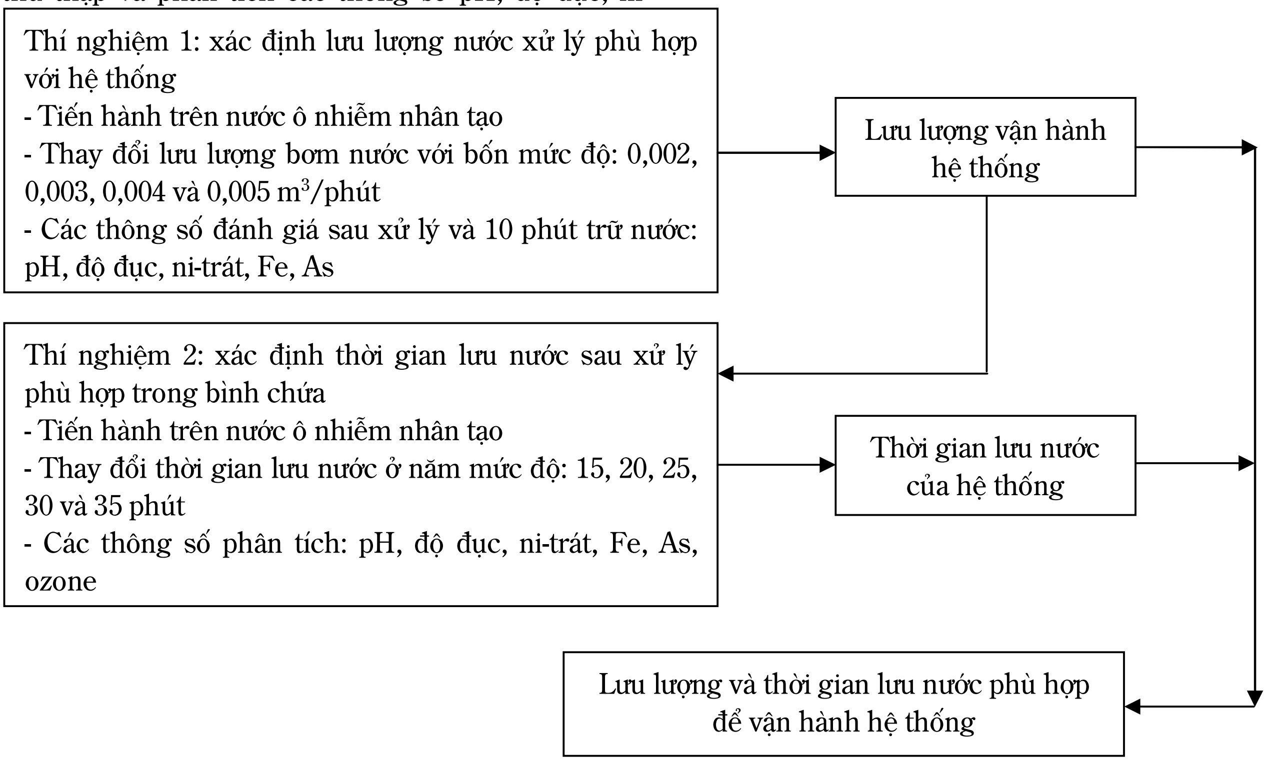
2.3. Phân tích mẫu và đánh giá kết quả

Bảng 3. Phương pháp định lượng các thông số chất lượng nước

Thông số	Phương pháp định lượng
pH	TCVN 6492: 2011 (ISO 10523:2008)
Độ đục	TCVN 6184: 1996 (ISO 7027:1990)
Ni-trát	TCVN 6180: 1996 (ISO 7890-3:1988 (E))
Sát	TCVN 6177: 1996
Arsen	TCVN 6626: 2000

Trước và sau khi qua cột plasma, mẫu nước được thu thập và phân tích các thông số pH, độ đục, ni-trát, sắt, arsen theo các phương pháp chuẩn đã quy định.

Kết quả phân tích mẫu nước sau khi xử lý được so sánh với mẫu nước đầu vào để đánh giá hiệu suất xử lý của cột plasma với. Đồng thời so sánh với Quy chuẩn kỹ thuật Quốc gia về chất lượng nước sạch sử dụng cho mục đích sinh hoạt QCVN 01-1: 2018/BYT để đánh giá hiệu quả của quá trình xử lý. Nghiên cứu này không đánh giá thông số vi sinh vì hiệu quả loại bỏ vi sinh bằng cột lọc plasma đã được nhiều nghiên cứu trước đó xác nhận [7, 8].



Hình 2. Sơ đồ bố trí các thí nghiệm

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

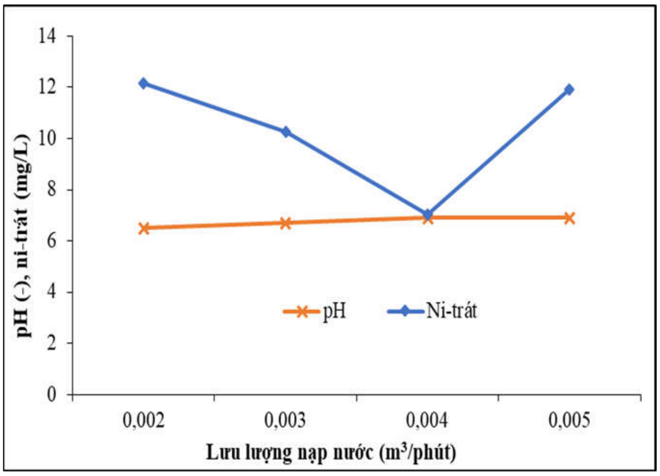
3.1. Kết quả xác định lưu lượng nạp phù hợp

pH đóng vai trò quan trọng trong việc tạo ozone, do đó ảnh hưởng đến hiệu suất xử lý nước. Trong thí nghiệm này giá trị pH đầu vào là 6,5, không đổi ở mức lưu lượng 0,002 m^3/phút, tăng lên 6,7 ở mức 0,003 m^3/phút và tăng đến 6,9 ở mức lưu lượng 0,004 và 0,005 m^3/phút. Giá tăng pH tăng không nhiều và nằm trong khoảng cho phép (6,0 - 8,5) của chất lượng nước sạch sử dụng cho mục đích sinh hoạt theo QCVN 01-1: 2018/BYT.

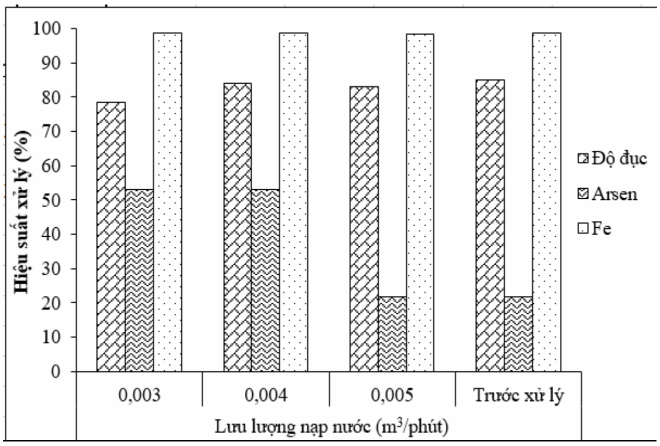
pH cũng là yếu tố chính giúp chuyển đổi As^{3+} thành As^{5+}, quá trình chuyển đổi này sẽ diễn ra nhanh hơn khi tăng giá trị pH [9]. Tuy nhiên, đối

tượng của nghiên cứu này là nước ngầm dùng cho mục đích sinh hoạt nên nhóm nghiên cứu không tiến hành thí nghiệm tăng pH để đánh giá hiệu quả xử lý của cụm plasma lạnh.

Quá trình xử lý nước bằng plasma lạnh tạo ra phụ phẩm ảnh hưởng đến chất lượng nước là ni-trát [10]. Trong thí nghiệm này, nồng độ ni-trát trong nước sau xử lý cao hơn đầu vào ở các mức lưu lượng 0,002, 0,003 và 0,005 m^3/phút. Riêng mức lưu lượng 0,004 m^3/phút, nồng độ ni-trát có giảm so với đầu vào nhưng vẫn cao hơn 3,5 lần so với giá trị cho phép (2 mg/L) của chất lượng nước sạch sử dụng cho mục đích sinh hoạt theo QCVN 01-1: 2018/BYT.



Hình 3. Diễn biến nồng độ pH và ni-trát trong nước theo lưu lượng nạp



Hình 4. Diễn biến các thông số ô nhiễm ở các lưu lượng nạp khác nhau

Hiệu suất xử lý các thông số ô nhiễm khác trình bày trong hình 4. Khi nước đi qua cột lọc plasma sẽ hình thành kết tủa $Fe(OH)_3$ kết dính vào các hạt keo, chất rắn lơ lửng và lắng xuống, sau đó bị giữ lại trong cột lọc giúp giảm độ đục của nước. Hiệu suất xử lý độ đục ở mức lưu lượng 0,003 m^3/phút (84,1%) tăng cao hơn mức 0,002 m^3/phút (78,5%), sau đó giảm ở mức 0,004 m^3/phút (83,1%). Độ đục của nước sau xử lý có giảm nhưng chưa đạt yêu cầu cho phép (2 mg/L) của chất lượng nước sạch sử dụng cho mục đích sinh hoạt theo QCVN 01-1: 2018/BYT.

Khi xử lý nước bằng cột plasma lạnh, nồng độ arsen giảm chủ yếu từ quá trình ô-xy hóa As^{3+} dạng hòa tan thành As^{5+} dạng kết tủa bởi ozone [11]. Hiệu suất xử lý arsen ghi nhận từ thí nghiệm này khá thấp, chỉ đạt 21,9 - 53,1%. Nồng độ arsen đầu ra của hai mức lưu lượng 0,002 m^3/phút và 0,003 m^3/phút là cao nhất và tương đương nhau, nhưng vẫn cao gấp đôi giá trị cho phép (0,01 mg/L) của Quy chuẩn QCVN 01-1: 2018/BYT.

Bên cạnh phản ứng ô-xy hóa và độ pH của nước, kim loại nặng trong nước cũng là yếu tố ảnh hưởng đến hiệu suất xử lý arsen trong nước ngầm. Hiệu quả loại bỏ arsen phụ thuộc chủ yếu vào nồng độ ban đầu của sắt và arsen trong nước ngầm và cơ chế cộng kết của chúng. Thông thường tỉ lệ Fe : As thích hợp là 20 : 1 với giả thuyết 1 mg Fe có thể loại bỏ 50 µg As, trong điều kiện này hiệu quả loại bỏ arsen có thể đạt được từ 80 - 90%. Một số nguồn nước ngầm có nồng độ sắt thấp sẽ ảnh hưởng đến hiệu suất loại bỏ arsen, khi đó bổ sung sắt vào nước sẽ diễn ra quá trình cộng kết giữa sắt và arsen giúp loại bỏ arsen hiệu quả hơn. Ngoài ra, hiệu quả loại bỏ arsen giảm khi pH tăng, thêm vào đó khi nồng độ chất hữu cơ tự nhiên, ortho-phosphate và silicat cao cũng làm giảm hiệu quả loại bỏ arsen do chúng cạnh tranh các vị trí hấp phụ của hydroxyt sắt [12].

Tại cột plasma, ozone tạo ra sẽ ô-xy hóa Fe^{2+} thành Fe^{3+} kết tủa dễ dàng lắng và đưa ra ngoài. Với nồng độ sắt đầu vào 3,91 mg/L nằm ở mức ô nhiễm trung bình của một số giếng khoan vùng ĐBSCL [5], hiệu suất xử lý sắt ở tất cả các mức lưu lượng rất cao và ổn định từ 98,3% (lưu lượng nạp nước 0,004 m^3/phút) đến 98,8% (lưu lượng nạp nước 0,003 m^3/phút). Nồng độ sắt trong nước sau xử lý đều đạt yêu cầu cho phép (0,3 mg/L) của chất lượng nước sạch sử dụng cho mục đích sinh hoạt theo QCVN 01-1: 2018/BYT.

Ở các cấp lưu lượng thử nghiệm (2 - 5 L/phút), cột plasma có khả năng xử lý sắt đạt tiêu chuẩn nước cấp cho sinh hoạt, các thông số còn lại chưa đạt. Tuy nhiên, với hiệu suất xử lý cao nhất ghi nhận ở lưu lượng 0,003 m^3/phút chứng tỏ cột plasma hoạt động ổn định ở tải nạp này. Do đó, ở thí nghiệm xác định

thời gian lưu nước, chọn mức lưu lượng 0,003 m^3/phút tiến hành thí nghiệm.

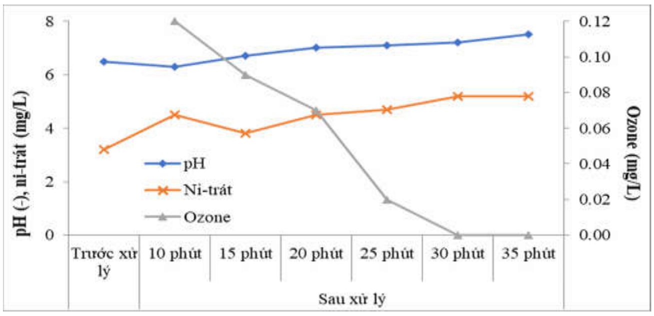
3.2. Thí nghiệm xác định thời gian lưu nước trong bình chứa sau xử lý

Trong thí nghiệm xác định lưu lượng nạp, nước sau xử lý được trữ 10 phút trước khi phân tích để đánh giá hiệu quả xử lý của cột plasma. Tuy nhiên nếu trữ nước trong 10 phút có khả năng chuyển hóa ozone chưa đạt và dư lượng ozone vẫn còn trong nước. Do đó ở thí nghiệm này, 5 mốc thời gian lưu nước khác nhau được chọn để làm thí nghiệm bao gồm: 15, 20, 25, 30 và 35 phút.

Bảng 3. Nồng độ các chỉ tiêu ban đầu của mẫu nước giếng thí nghiệm

Chỉ tiêu	Đơn vị	Thông số ô nhiễm mẫu nước giếng	QCVN 01-1: 2018/BYT
pH	-	6,5	6,0 - 8,5
Ni-trát	mg/L	3,2	2
Độ đục	NTU	39,23	2
Fe	mg/L	4,16	0,3
Arsen	mg/L	0,31	0,01

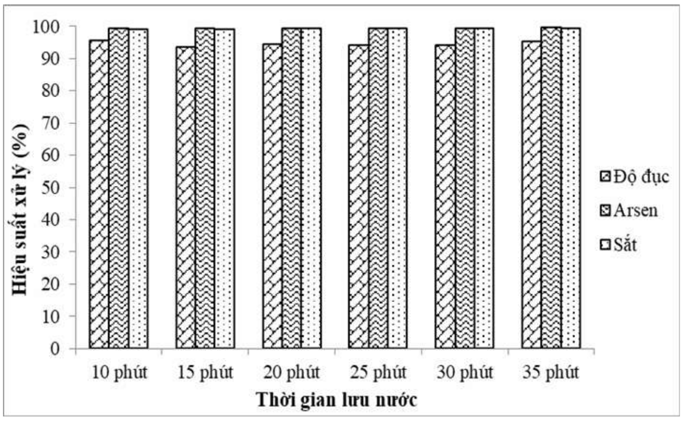
Kết quả phân tích cho thấy, nồng độ ozone của nước sau khi xử lý bằng cột plasma và trữ lại 10 phút là 0,12 mg/L, giá trị này giảm dần còn 0,09 mg/L sau 15 phút trữ, còn 0,07 và 0,02 mg/L sau 20 và 25 phút trữ và không phát hiện sau khi lưu từ 30 phút trở đi. Điều này là do nước sau khi qua cột plasma vẫn còn chứa ozone và các gốc tự do, lượng ozone dư tiếp tục phản ứng với các chất ô nhiễm trong nước và phân hủy theo thời gian. Kết quả này khẳng định sự cần thiết của việc trữ nước lại sau khi qua cột plasma để các phản ứng tiếp tục xảy ra và phân hủy hoàn toàn ozone, tránh dư lượng ozone gây ra những bệnh lý đường hô hấp như: ngứa họng, ho, viêm phế quản, hen suyễn… Thời gian tối ưu để lưu chứa nước sau khi xử lý qua cột plasma có thể chọn 30 phút.



Hình 5. Diễn biến nồng độ pH, ni-trát và ozone trong nước theo thời gian lưu

Giá trị pH trong nước sau xử lý có xu hướng tăng theo thời gian lưu chứa. pH nước sau khi xử lý qua cột plasma và trữ trong 10 phút giảm chút ít nhưng sau đó tăng liên tục đến mức trữ nước 35 phút. Các giá trị ghi nhận đều nằm trong ngưỡng cho phép của QCVN 01-1: 2018/BYT.

Nồng độ ni-trát của mẫu nước sau xử lý tăng so với trước khi thí nghiệm, đồng thời có chiều hướng tăng theo thời gian trữ nước trong bình chứa. Mức chênh lệch về nồng độ ni-trát của các mẫu nước ở các thời gian lưu chứa khác nhau không cao (4,5 - 5,2 mg/L). Tuy nhiên, các giá trị ni-trát ghi nhận vượt ngưỡng cho phép của tiêu chuẩn nước sinh hoạt QCVN 01-1: 2018/BYT.



Hình 6. Hiệu suất xử lý các thông số ô nhiễm trong nước theo thời gian lưu

Hiệu suất xử lý các thông số ô nhiễm khác của mẫu nước thí nghiệm được trình bày trong hình 6. Sau khi xử lý bằng plasma lạnh và trữ 10 phút, độ đục của nước từ 39,23 NTU giảm xuống còn 1,75 NTU (đạt hiệu suất 95,5%). Độ đục của nước có xu hướng tăng lên theo thời gian trữ, đạt mức 2,19 NTU ở 20 phút và 2,37 NTU ở 30 phút trữ nước sau khi xử lý. Tuy nhiên, sau đó độ đục tiếp tục giảm ở thời gian trữ 35 phút với hiệu suất xử lý đạt 95,3%. Điều này có thể do cột lọc bị các chất ô nhiễm bám vào làm giảm hiệu quả xử lý, khi chất ô nhiễm bám đủ dày sẽ bị bong tróc ra và khả năng xử lý được khôi phục.

Hiệu suất xử lý sắt của cột plasma lạnh rất cao đạt từ 99% trở lên. Nồng độ sắt có khuynh hướng giảm theo thời gian lưu nước, tuy nhiên mức giảm không đáng kể. Hiệu quả loại bỏ sắt của phương pháp plasma lạnh không phụ thuộc nhiều vào sự thay đổi của thời gian lưu nước trong bình từ 10 - 35 phút. Tương tự với xử lý sắt, hiệu quả loại bỏ arsen của cột

plasma lạnh không phụ thuộc vào thời gian lưu nước và đạt hiệu suất rất cao > 99,4%.

4. KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

Cột plasma lạnh có thể sử dụng để xử lý nước ngầm bị ô nhiễm và cho hiệu suất cao đối với các thông số độ đục, sắt, arsen và dư lượng ozone. Chọn liều lượng xử lý của cột plasma ở mức 0,003 m^3/phút để đảm bảo lượng nước cung cấp ổn định và bề mặt plasma xuất hiện đầy đủ làm gia tăng hiệu suất xử lý các chất ô nhiễm. Nước sau xử lý tiếp tục trữ lại ở bồn chứa trong tối thiểu 20 phút để ozone và các gốc hydroxyl tiếp tục phản ứng với các chất ô nhiễm cần loại bỏ nhằm đạt hiệu quả xử lý cao và nước sau xử lý không còn dư lượng của ozone.

Do chi phí đầu tư cho cột plasma khá cao, nên nghiên cứu ứng dụng cụm plasma để xử lý nước cấp sinh hoạt cho một cộng đồng nông thôn để nâng cao tính khả thi về mặt kinh tế.

LỜI CẢM ƠN

Đề tài "Nghiên cứu ứng dụng công nghệ plasma lạnh để xử lý nước sinh hoạt và nuôi trồng thủy sản vùng Tây Nam bộ" (KHCN-TNB.ĐT/14-19/C02) được thực hiện với sự hỗ trợ kinh phí từ Chương trình Tây Nam bộ. Nhóm tác giả chân thành cảm ơn sinh viên Huỳnh Lương Kiều Loan, Tống Nguyễn Ái Nhi, Nguyễn Lam Sơn, Trần Thanh Trà - lớp Kỹ thuật Môi trường K39, Trường Đại học Cần Thơ đã hỗ trợ thực hiện các thí nghiệm trong nghiên cứu này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Pechstein, A., Minderhoud, P. S. J. (2018). *Sụt lún đất và hệ thống nước ngầm tại đồng bằng sông Cửu Long - Hiện trạng và tính bất ổn.* Truy cập tại trang web http://coastal-protection-mekongdelta.com/download/Tools/TOOLS%20CPMD%20Essay%20I%20-%20land%20subsidence_VN.pdf

2. Chính phủ (2018). *Nghị định số 167/2018/NĐ-CP ngày 26/12/2018 Quy định việc hạn chế khai thác nước dưới đất.*

3. Berga, M., Stengela, C., Trang, P. T. K., Viet, P. H., Sampson, M. L., Leng, M., Samreth, S., Fredericks, D. (2007). Magnitude of arsenic pollution in the Mekong and Red River Deltas - Cambodia and Vietnam. *Science of the Total Environment 327*: 413.

4. Nguyễn Hữu Chiếm, Lê Hoàng Việt, Huỳnh Long Toản, Phan Thanh Thuận (2010). *Thiết kế, chế tạo thiết bị xử lý arsenic trong nước dưới đất quy mô nhỏ sử dụng cho vùng nông thôn tỉnh Trà Vinh.* Báo cáo đề tài nghiên cứu khoa học cấp tỉnh.

5. Lê Hoàng Việt, Nguyễn Hữu Chiếm, Huỳnh Long Toản, Phan Thanh Thuận (2013). Xử lý nước dưới đất ô nhiễm arsenic qui mô hộ gia đình. *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ 25*a: 36–43.

6. Lê Hoàng Việt, Nguyễn Võ Châu Ngân, Đặng Huỳnh Giao, Nguyễn Văn Dũng (2017). Khảo sát xử lý nước ngầm bằng công nghệ plasma lạnh. *Tạp chí khoa học Trường Đại học Thủ Dầu Một 3*(34) 45–54.

7. Locke, B. R., Sato, M., Sunka, P., Hoffmann, M. R., Chang, J. S. (2006). Electrohydraulic discharge and nonthermal plasma for water treatment. *Ind. Eng. Chem. Res. 45*: 882–905.

8. Malik, M. A., Ghaffar, A., Malik S. A. (2001). Water purification by electrical discharges. *Plasma Sources Sci. Technol. 10*(1) 82–91.

9. Vu, K. B., Kaminski, M. D., Nuñez, L. (2003). *Review of arsenic removal technologies for contaminated groundwaters.* Argonne National Laboratory, Argonne, Illinois.

10. Kornev, I., Osokin, G., Galanov, A., Yavorovskiy, N., Preis, S. (2013). Formation of nitrite- and nitrate-ions in aqueous solutions treated with pulsed electric discharges. *The Journal of the International Ozone Association 35*(1) 22–30.

11. Johnston, R., Heijnen, H. (2001). Safe water technology for arsenic removal. In: Ahmed, M. F., Ali, M. A. and Adeel, Z. (Ed.), *Technologies for arsenic removal from drinking water*, Bangladesh University of Engineering &Technology and United Nations University, 1–22.

12. US EPA (2005). *Treatment technologies for arsenic removal.* EPA/600/S-05/006.

STUDYING ON OPERATIONAL PARAMETERS OF COLD PLASMA TO TREAT GROUNDWATER FOR DOMESTIC USE IN RURAL AREA

Le Hoang Viet, Nguyen Cong Thuan,

Nguyen Van Dung, Nguyen Vo Chau Ngan

Summary

The study aim to survey some operational parameters of the cold plasma for groundwater treatment that could apply to rural area. The plasma system was design to operate in lab scale conditions to treat artificial groundwater. The results showed that the flowrate of water through plasma column and the storage time of treated water could be effects to the treatment efficiency of the system. The result of operating the plasma column with the flowrates of 0.002, 0.003, 0.004, 0.005 m^3/min showed that the flowrate higher than 0.003 m^3/min could fulfill the water layer that increasing the electric field between the electrodes slot, accumulate the electric power and plasma power. The groundwater treatment efficiencies by plasma column at all treatments were very high, except nitrate trended to increase with higher flowrate but the value still on the range of national technical regulation on domestic water quality. Among the storage time of 15, 20, 25, 30, 35 minutes, the storage time of at least 20 minutes for treated water so that ozone and hydroxyl continue react to contaminant matters, following with the better treatment efficiency and limited the residue of ozone.

Keywords*: Plasma technology, water flowrate, groundwater, hydraulic retention time, polluted water treatment.*

Người phản biện: PGS.TS. Lê Đức

Ngày nhận bài: 8/9/2022

Ngày thông qua phản biện: 10/10/2022

Ngày duyệt đăng: 3/11/2022

NGHIÊN CỨU ẢNH HƯỞNG CỦA HỆ SỐ KHÔNG ĐỀU HẠT ĐẾN ĐỘ NHẠY XÓI NGẦM CỦA NỀN CÁT DƯỚI CỐNG QUA ĐÊ VÙNG ĐỒNG BẰNG SÔNG HỒNG

Đinh Xuân Trọng[1, 2]

TÓM TẮT

Xói hạt mịn là hiện tượng xảy ra đầu tiên của quá trình xói ngầm. Dưới tác dụng của dòng thấm, các hạt mịn bị tách rời và cuốn trôi qua khe hở của các hạt đất lớn hơn, cuối cùng để lại cốt đất hạt thô chịu toàn bộ ứng suất hiệu quả, qua đó làm thay đổi cấu trúc cũng như tính chất vật lý và cơ học của đất. Đây là một trong những nguyên nhân chính dẫn đến hư hỏng nền móng của công trình và trong nhiều trường hợp, sự cố có thể xảy ra. Điều đó cho thấy, việc đánh giá sự khởi đầu của quá trình xói ngầm là rất quan trọng, đặc biệt đối với nền cát nhạy cảm thấm. Trong nghiên cứu này, một thiết bị thí nghiệm đã được thiết kế để xác định độ nhạy xói ngầm cho một số loại đất cát dưới nền cống qua đê vùng đồng bằng sông Hồng. Thiết bị này có thể kiểm soát độc lập trạng thái ứng suất và gradient thủy lực, đồng thời định lượng được khối lượng đất bị xói và lưu lượng thấm. Dựa trên kết quả thí nghiệm, tiến hành tính toán chỉ số cường độ xói và đánh giá khả năng xói ngầm theo quan điểm của Marot và cs (2011), qua đó thiết lập mối quan hệ giữa chỉ số cường độ xói với hệ số không đều hạt của đất. Kết quả nghiên cứu giúp thu được các dữ liệu cần thiết phục vụ cho công tác thiết kế, cảnh báo an toàn.

Từ khóa: *Cống qua đê, nền cát, hệ số không đều hạt, độ nhạy xói ngầm.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cống qua đê là một hạng mục quan trọng của hệ thống đê. Trong thời gian qua, hàng loạt sự cố đã xảy ra đối với cống dưới đê như cống Mai Trang, Vĩnh Mộ, cống Nhân Hiền, cống A27, cống Văn Trai (Hà Nội), cống Tắc Giang (Hà Nam)... Sự cố cống qua đê có thể phân làm hai dạng: (1) Sự cố liên quan đến địa kỹ thuật như lún không đều, xói lở mang cống, thấm quanh thân cống…; (2) Sự cố hư hỏng kết cấu như han rỉ cửa van, nứt gãy tường cống, thân cống, hư hỏng sân tiêu năng… Các kết quả điều tra đã chỉ ra rằng, 21,6% sự cố cống qua đê liên quan đến địa kỹ thuật và 78,4% sự cố do hư hỏng kết cấu [1]. Trong các sự cố liên quan đến địa kỹ thuật, xói ngầm là một trong những nguyên nhân chính gây ra sự mất ổn định của cống qua đê. Xói ngầm liên quan đến sự dịch chuyển của các hạt mịn ra khỏi kết cấu đất hạt thô dưới tác dụng của dòng thấm. Sự dịch chuyển này làm tăng độ rỗng trong đất, tạo nên sự tập trung dòng chảy và trong nhiều trường hợp, ống xói có thể hình thành gây mất an toàn công trình.

Sự khởi đầu và diễn biến của quá trình xói ngầm phụ thuộc vào nhiều yếu tố: tỷ lệ hạt mịn và hạt thô, đường cong phân bố kích thước hạt, hình dạng hạt, độ rỗng của đất, trạng thái ứng suất, gradient thủy lực, vận tốc dòng chảy, góc thấm, mức độ không đều hạt. Nghiên cứu sự khởi đầu của xói ngầm rất quan trọng cho việc đánh giá ổn định thấm của tầng cát dưới nền cống qua đê.

2. ĐẶC ĐIỂM CẤU TRÚC NỀN CỐNG QUA ĐÊ VÙNG ĐỒNG BẰNG SÔNG HỒNG

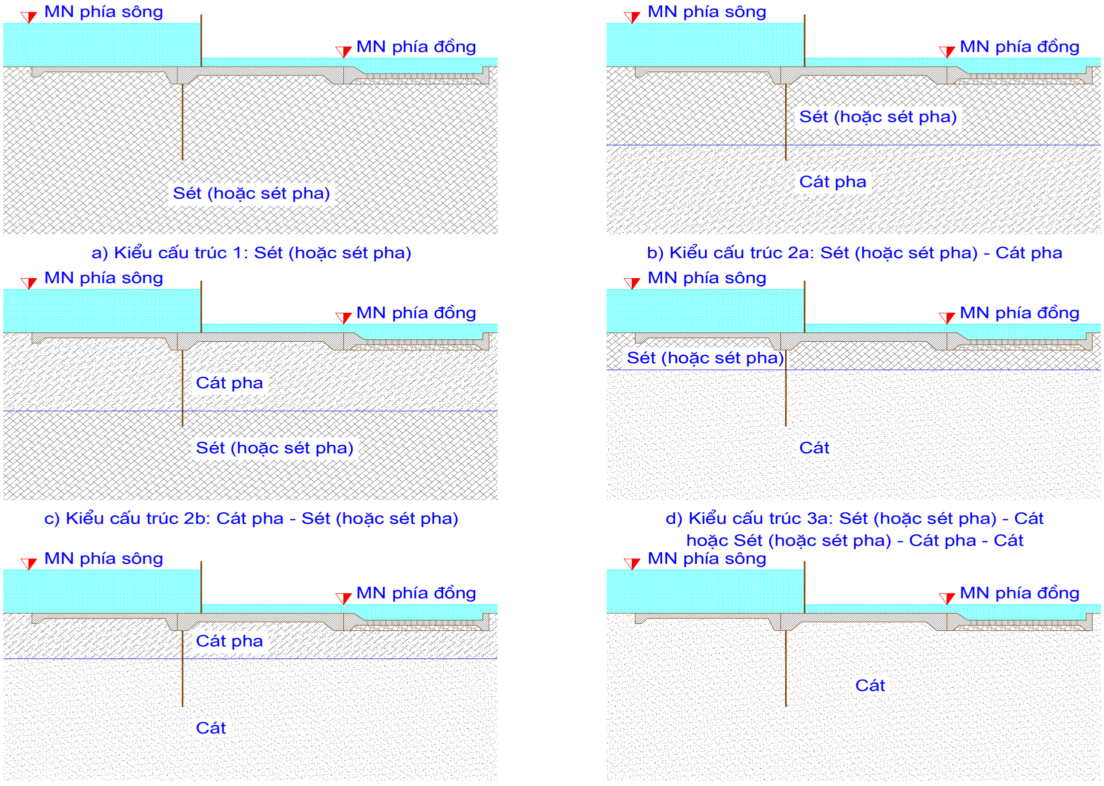
Nằm trong vùng đồng bằng sông Hồng (ĐBSH) – ranh giới của quá trình biển tiến, địa chất các tuyến đê nói chung và cống qua đê nói riêng khá phức tạp, đặc biệt là sự tồn tại của các loại đất thuộc hệ tầng Thái Bình và Vĩnh Phúc có thành phần, trạng thái, chiều dày khác nhau, nằm đan xen, không liên tục theo quy luật chung là càng lên trên hạt càng mịn. Quan hệ về mặt địa tầng các lớp đất trên cho thấy, mô hình làm việc của hệ thống đê gồm 3 tầng: (1) Tầng phủ đất dính á sét – sét có tính thấm nhỏ, đây là tầng thường xuyên bị tác động do ảnh hưởng chuyển dòng của sông và các hoạt động dân sinh kinh tế; (2) tầng thông nước là cát pha, cát bụi đến thô có tính thấm vừa đến lớn; (3) tầng sét ít thấm hoặc đá gốc.

Để phục vụ nghiên cứu, đã thu thập tài liệu khảo sát, thiết kế của 110 cống qua đê thuộc 25 tuyến đê trên địa bàn các tỉnh vùng ĐBSH; trên cơ sở đó, phân loại cấu trúc địa tầng địa chất nền cống qua đê trong vùng thành 3 kiểu như sau:

- Kiểu cấu trúc địa tầng số 1: Toàn bộ nền cống là sét (hoặc sét pha). Cống đặt hoàn toàn trên lớp đất loại sét hoặc sét pha với chiều dày không xác định

[1] Viện Thủy công, Viện Khoa học Thủy lợi Việt Nam
Email: xuantronghsc@gmail.com
[2] Nghiên cứu sinh Trường Đại học Thủy lợi

(Hình 1a). Kết quả điều tra cho thấy, có 49/110 cống trong vùng xuất hiện kiểu cấu trúc này; chủ yếu tập trung ở các cống thuộc tuyến đê Đuống, đê Đáy, đê hữu Luộc, đê tả Lạch Tray, đê tả Thái Bình, đê hữu Trà Lý, đê tả Ninh Cơ và một số cống trên tuyến đê tả Luộc, hữu Cầu, đê sông Hồng, tả Văn Úc… Với hệ số thấm trong khoảng 10^{-5} - 10^{-6} cm/s, đây là kiểu cấu trúc có tính chống thấm tốt.



a) Kiểu cấu trúc 1: Sét (hoặc sét pha)

b) Kiểu cấu trúc 2a: Sét (hoặc sét pha) - Cát pha

c) Kiểu cấu trúc 2b: Cát pha - Sét (hoặc sét pha)

d) Kiểu cấu trúc 3a: Sét (hoặc sét pha) - Cát hoặc Sét (hoặc sét pha) - Cát pha - Cát

e) Kiểu cấu trúc 3b: Cát pha - Cát

f) Kiểu cấu trúc 3c: Cát hoặc Cát - Sét (hoặc sét pha)

Hình 1. Phân loại cấu trúc địa tầng nền cống qua đê vùng ĐBSH

- Kiểu cấu trúc địa tầng số 2: Nền cống tồn tại lớp cát pha.

+ Kiểu 2a (Hình 1b): Sét (hoặc sét pha) – Cát pha. Cống đặt trực tiếp trên lớp sét (hoặc sét pha) có bề dày trung bình từ 3 – 6 m; bên dưới tồn tại lớp cát pha có bề dày không xác định hoặc lớp cát pha xen kẹp. Hệ số thấm của lớp sét (hoặc sét pha) từ 10^{-5} - 10^{-6} cm/s, của lớp cát pha 10^{-4} - 10^{-5} cm/s. Có 20/110 cống có kiểu cấu trúc này, chủ yếu tập trung ở đê hữu Cầu, tả Lạch Tray; ngoài ra còn xuất hiện nhỏ lẻ trên các tuyến đê sông Đáy, đê sông Hồng, hữu Luộc, hữu Hóa và tả Văn Úc.

+ Kiểu 2b (Hình 1c): Cát pha – Sét (hoặc sét pha). Đáy cống đặt trực tiếp lên lớp cát pha, bên dưới là lớp sét đất loại sét hoặc sét pha. Bề dày trung bình của lớp cát pha 3 – 5 m, hệ số thấm 10^{-4} - 10^{-5} cm/s, trạng thái dẻo đến chảy, bề dày lớp sét hoặc sét pha không xác định. Kiểu cấu trúc này xuất hiện ở cống Đầu Trâu (đê tả Đáy – Ninh Bình), cống tiêu trạm bơm Vĩnh Trị (đê hữu Đáy – Nam Định) và cống Ngô Xá trên đê hữu Hồng (Nam Định).

- Kiểu cấu trúc địa tầng số 3: Nền cống tồn tại lớp đất cát

+ Kiểu 3a (Hình 1d): Sét (sét pha) – Cát hoặc Sét (sét pha) - Cát pha - Cát. Địa tầng dưới đáy cống phân bố từ trên xuống lần lượt là lớp sét (hoặc sét pha) và cát hạt mịn đến thô. Lớp cát có bề dày không xác định hoặc nằm xen kẹp giữa các lớp sét hoặc sét pha, hệ số thấm 10^{-3} - 10^{-4} cm/s. 30/110 cống bắt gặp kiểu cấu trúc này, phân bố chủ yếu ở các cống trên tuyến đê sông Hồng, đê hữu Lạch Tray, đê hữu Thái Bình; ngoài ra còn xuất hiện ở một số cống trên các tuyến đê hữu Đáy, đê hữu Cầu, đê tả Luộc, đê hữu Hóa, đê tả Cấm, đê hữu Thái Bình... Trong đó, 10/30 cống xuất hiện lớp cát ở dưới cao trình -10,00 m; 9/30 cống xuất hiện ở cao trình -5,00 đến -10,00 m và 11/30 cống xuất hiện ở trên cao trình -5,00 m.

+ Kiểu 3b (Hình 1e): Cát pha – Cát. Chỉ có 02 /110 cống thuộc đê tả sông Luộc có kiểu cấu trúc này. Giáp bản đáy cống là lớp cát pha có bề dày 4 – 7 m, hệ số thấm khoảng 10^{-5} cm/s, bên dưới là lớp cát

hạt mịn có bề dày không xác định, cao trình mặt lớp -5,00 đến -6,00 m; hệ số thấm lớn hơn 10^{-4} cm/s.

+ Kiểu 3c (Hình 1f): Cát hoặc cát – sét (sét pha). Cống đặt trực tiếp trên lớp đất cát có bề dày không xác định hoặc bên dưới là lớp đất sét (sét pha). Có 6/110 cống qua đê gồm cống Tắc Giang (đê hữu Hồng – Hà Nam), cống Liên Khê (đê tả Hồng – Hưng Yên), cống Yên Nghĩa (đê tả Đáy – Hà Nội), cống Nhân Hiền (đê hữu sông Nhuệ - Hà Nội), cống Cẩm Đình và Vân Cốc (đê Vân Cốc – Hà Nội) xuất hiện kiểu cấu trúc này. Hệ số thấm của lớp đất cát trong khoảng hệ số thấm 10^{-3} - 10^{-4} cm/s. Đây là kiểu cấu trúc dễ xảy ra các sự cố về thấm.

Như vậy, nền của 38/110 cống xuất hiện các lớp đất cát hạt mịn đến thô. Bề mặt lớp đất cát phân bố khá không đều, 10/38 cống xuất hiện ở dưới cao trình -10,00 m; 11/38 cống xuất hiện ở dưới cao trình -5,00 m và 17/38 cống xuất hiện lớp cát ở trên cao trình -5,00 m. Đặc biệt, có tới 13/38 cống có cao trình bề mặt lớp cát nằm trên cao trình -2,50 m (cao trình thường xây dựng cống ở vùng ĐBSH), trong đó có 6 cống đặt trực tiếp trên lớp đất cát, các cống này tập trung ở các tuyến đê tả hữu sông Hồng, hữu sông Nhuệ, tả sông Đáy, Vân Cốc thuộc Hà Nội, Hà Nam, Hưng Yên.

3. ĐÁNH GIÁ ĐỘ NHẠY XÓI NGẦM CỦA NỀN CÁT DƯỚI CỐNG QUA ĐÊ VÙNG ĐBSH

3.1. Cơ sở khoa học

Trong môi trường đất dưới đáy công trình, ngoài áp suất thủy tĩnh chiếm ưu thế trong các lỗ rỗng, dòng thấm còn tạo ra áp lực thủy động tác dụng lên các hạt đất. Vectơ của lực này song song với hướng của dòng chảy và gọi là vectơ của gradient thủy lực. Khi lực này lớn hơn lực cản giữa các hạt trong đất, các hạt đất bắt đầu di chuyển dọc theo một đường dẫn được xác định bởi cấu trúc của đất.

Xói hạt mịn (suffusion erosion) là hiện tượng xảy ra đầu tiên của quá trình xói ngầm. Dưới tác dụng của dòng thấm, các hạt mịn bị tách rời và cuốn trôi qua khe hở của các hạt đất lớn hơn, cuối cùng để lại cốt đất hạt thô chịu toàn bộ ứng suất hiệu quả trong đất mà không làm thay đổi thể tích khối đất. Điều này làm thay đổi độ rỗng, đồng thời dẫn đến các biến đổi lớn về tính thấm cũng như trạng thái cơ học của đất.

Có hai vấn đề cơ bản cần được nghiên cứu liên quan đến chuyển động của hạt. Trước hết, cần phải biết liệu cấu trúc của đất có thể thực hiện bất kỳ chuyển động nào hay không, hoặc kích thước của lỗ rỗng có nhỏ hơn kích thước hạt nhỏ nhất?. Đây được coi là tiêu chí hình học để các hạt có thể chuyển động. Và ngay cả khi tiêu chí này được đáp ứng, các tiêu chí về thủy lực (vận tốc dòng chảy trong lỗ rỗng, gradient thủy lực), ứng suất cũng cần được xem xét.

Theo Garner và Famin (2010) [2], các điều kiện cơ bản để xói hạt mịn có thể xảy ra là tính nhạy xói của đất, gradient thủy lực của dòng thấm và ứng suất tới hạn gây xói ngầm.

Dựa trên quan điểm coi hiện tượng xói hạt mịn như là kết quả của quá trình xói bề mặt (bề mặt các lỗ rỗng trong đất), Marot và cs (2011) [3] đã đề xuất phương pháp đánh giá độ nhạy xói ngầm và phân loại khả năng xói ngầm dựa trên chỉ số cường độ xói I_α:

$$I_\alpha = -\log_{10}\left(\frac{m_x}{E_f}\right) \quad (1)$$

Trong đó: m_x là khối lượng đất bị xói tích lũy và E_f là năng lượng tiêu hao của dòng thấm.

Tùy thuộc vào giá trị của chỉ số I_α, khả năng xói ngầm của đất cát được chia thành 6 cấp: đất có tính xói cao khi $I_\alpha < 1$; xói vừa $1 \le I_\alpha < 2$; xói nhẹ $2 \le I_\alpha < 3$; đất có tính kháng xói vừa khi $3 \le I_\alpha < 4$; $4 \le I_\alpha < 5$ - đất có tính kháng xói và $I_\alpha \ge 5$ - đất có tính kháng xói cao.

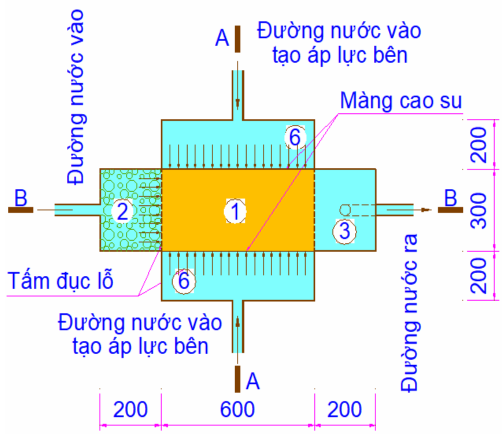
3.2. Cách tiếp cận

Hiện nay, có ba cách tiếp cận để nhận diện thời điểm bắt đầu xói ngầm: (1) Qua sự thay đổi gradient thủy lực; (2) từ sự gia tăng của hệ số thấm; (3) dựa vào độ đục của dòng thấm thoát ra khỏi mẫu thí nghiệm. Trong nghiên cứu này, cách tiếp cận thứ 3, dựa trên độ đục của dòng thấm và khối lượng đất dòng thấm mang theo khi thoát ra khỏi mẫu thí nghiệm, được lựa chọn để phân tích độ nhạy xói ngầm.

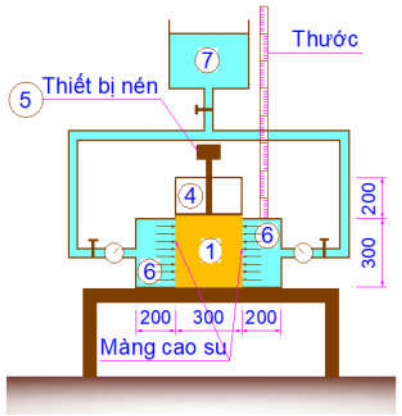
3.3. Mô hình thí nghiệm

Để thực hiện các thí nghiệm phân tích độ nhạy xói ngầm của nền cát dưới cống qua đê vùng ĐBSH, một mô hình thí nghiệm thấm ngang đã được nghiên cứu thiết lập. Thiết bị cho phép kiểm soát độc lập trạng thái ứng suất và gradient thủy lực, đồng thời định lượng được khối lượng đất bị xói cũng như lưu lượng thấm. Cấu tạo của mô hình gồm 4 phần: (i) Hộp thấm; (ii) Hệ thống cấp nước tạo áp lực thấm; (iii) Hệ thống tạo ứng suất đứng và ngang; (iv) Hệ

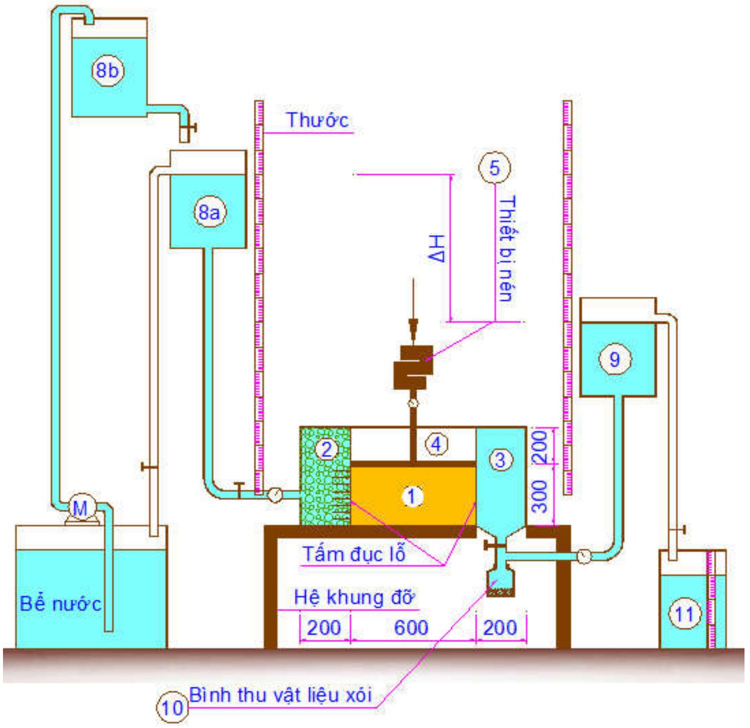
thống thu gom đất và nước thấm; (v) Thiết bị phụ trợ. Chi tiết mô hình trình bày trong hình 2 và tài liệu [4].



a) Mặt bằng bố trí các bộ phận



b) Mặt cắt A - A



c) Mặt cắt B – B

Ghi chú: 1 – Mẫu đất; 2 – Ngăn cấp nước; 3 – Ngăn thu đất và nước thấm; 4 – Ngăn chứa thiết bị nén; 5 – Thiết bị nén tạo ứng suất thẳng đứng; 6 – Hộp chứa nước tạo áp lực hông; 7 – Bình chứa nước tạo áp lực hông; 8a – Bình điều áp; 8b – Bình cấp nước; 9 – Bình cân bằng áp lực; 10 – Bình thu gom đất bị xói; 11 – Bình đo lượng nước thấm.

Hình 2. Cấu tạo mô hình thí nghiệm đánh giá độ nhạy xói ngầm

Hình 3. Hình ảnh thực tế của mô hình thí nghiệm

3.4. Đất thí nghiệm

Năm loại đất cát trong khu vực nghiên cứu có hệ số không đều hạt (Cu) dao động từ 2,5 - 10,0 đã được lựa chọn để thí nghiệm đánh giá độ nhạy xói ngầm:

- Đất loại 1: Cát hạt nhỏ, có chỗ là cát hạt bụi tại đê Hữu Hồng, tỉnh Hà Nam.

- Đất loại 2: Cát hạt mịn tại đê Tả Hồng, tỉnh Hưng Yên.

- Đất loại 3: Cát hạt nhỏ tại đê Hữu Luộc, tỉnh Thái Bình.

- Đất loại 4: Cát hạt trung lẫn bụi tại đê Tả Đuống, tỉnh Bắc Ninh.

- Đất loại 5: Cát bụi tại đê Hữu Hồng, thành phố Hà Nội.

Chỉ tiêu cơ lý của các mẫu đất thể hiện trong bảng 1.

Đất thí nghiệm được chế bị từ cát tự nhiên với thành phần hạt, dung trọng tương tự đất trong thực tế.

Bảng 1. Chỉ tiêu cơ lý của các mẫu đất

Loại đất	Số mẫu	Hàm lượng các nhóm hạt (%)								Cu	Hệ số thấm k_t
		Hạt sét	Hạt bụi		Hạt cát				Cuội, sỏi		
			Nhỏ	Lớn	Mịn	Nhỏ	Vừa	Thô			
		<0,005	0,005-0,01	0,01-0,05	0,05-0,1	0,1-0,25	0,25-0,5	0,5-2,0	> 2,0		
		mm	mm	mm	mm	mm	mm	mm	mm		cm/s
1	6	0,60	0,60	2,20	12,00	72,10	12,10	0,40	-	2,54	$7,00.10^{-3}$
2	6	2,00	2,00	10,00	20,00	66,00	-	-	-	5,60	$1,20.10^{-3}$
3	6	2,20	3,40	8,70	10,50	63,30	11,20	0,70	-	6,80	$1,90.10^{-3}$
4	6	-	2,98	6,16	6,68	15,06	48,62	18,88	1,62	7,50	$5,00.10^{-4}$
5	6	6,00	7,50	14,30	25,20	37,80	7,80	1,40	-	9,20	$1,80.10^{-3}$

3.5. Kịch bản thí nghiệm

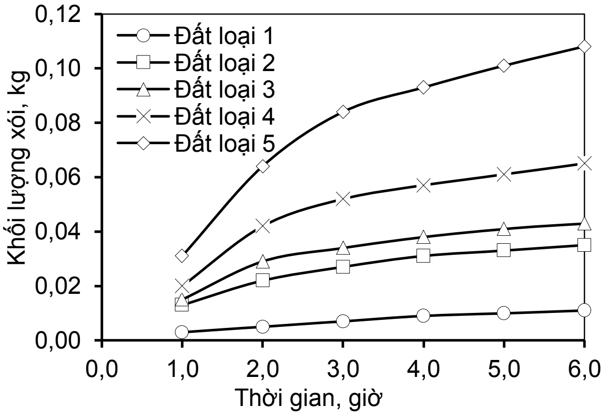
Với mỗi loại đất đã chọn, tiến hành thí nghiệm cho 6 mẫu tương ứng với 6 giá trị gradient J khác nhau (0,25 – 0,50 – 0,75 – 1,00 – 1,25 – 1,50).

3.6. Kết quả thí nghiệm và phân tích

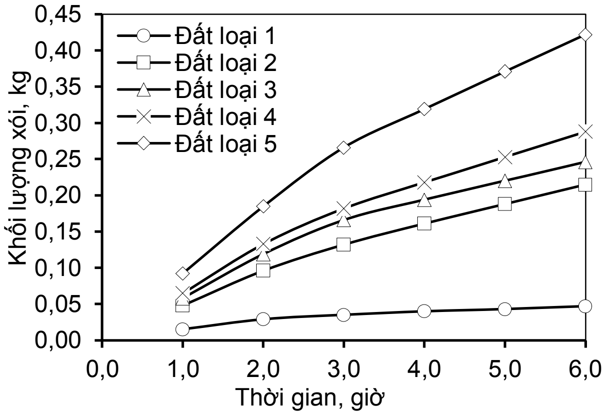
Trong mỗi thí nghiệm, gradient thủy lực không thay đổi, lưu lượng thấm, độ đục và khối lượng nước được đo tại một số thời điểm nhất định. Sau đó, tốc độ dòng chảy từ đồng hồ đo lưu lượng và hệ số chuyển đổi thu được từ quá trình hiệu chuẩn máy đo độ đục được sử dụng để tính khối lượng của các hạt bị xói trong khoảng thời gian đó.

Diễn biến quá trình xói theo thời gian của từng loại đất tương ứng với các cấp gradient khác nhau được trình bày trong hình 4.

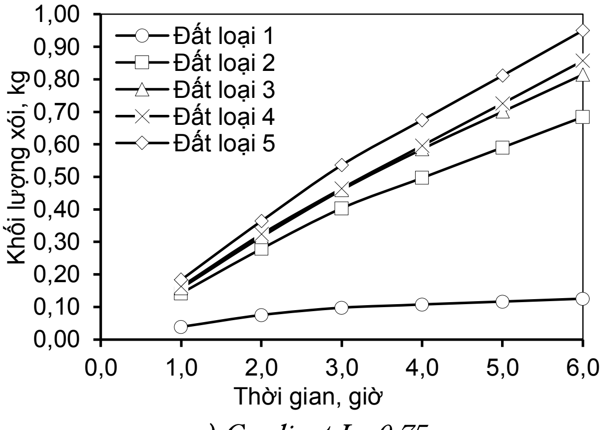
Trên cơ sở công thức (1), tính toán chỉ số cường độ xói I_α cho từng mẫu đất. Kết quả được thể hiện trong bảng 2.



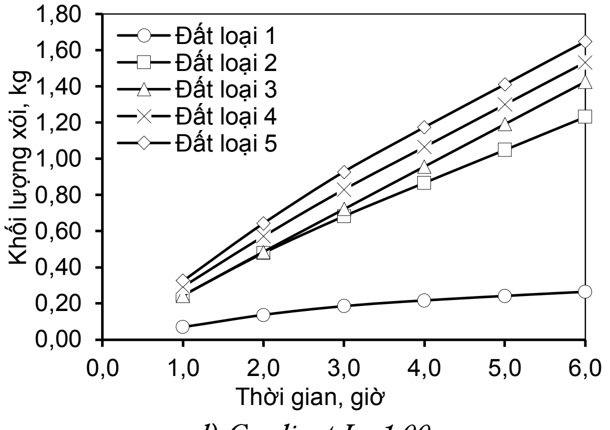
a) Gradient J = 0,25



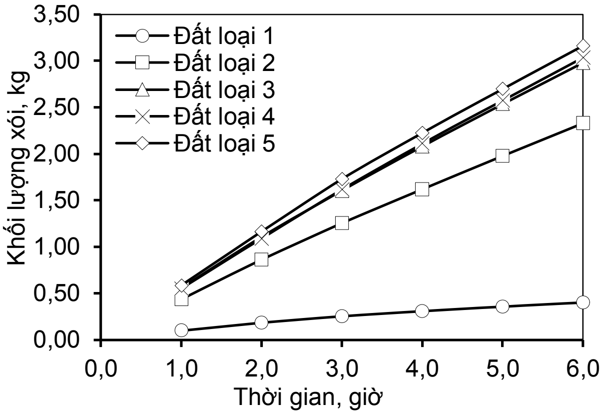
b) Gradient J = 0,50



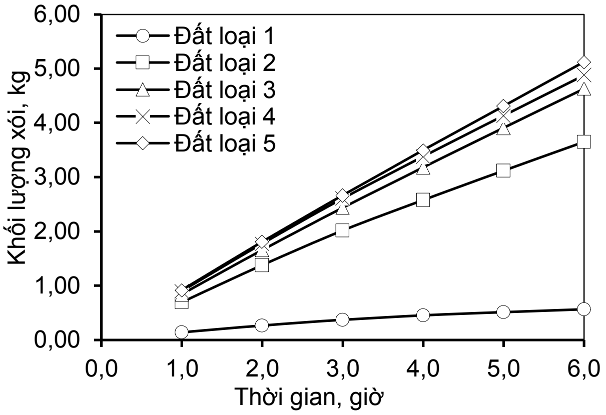
c) Gradient J = 0,75



d) Gradient J = 1,00



e) Gradient J = 1,25



f) Gradient J = 1,50

Hình 4. Diễn biến xói theo thời gian

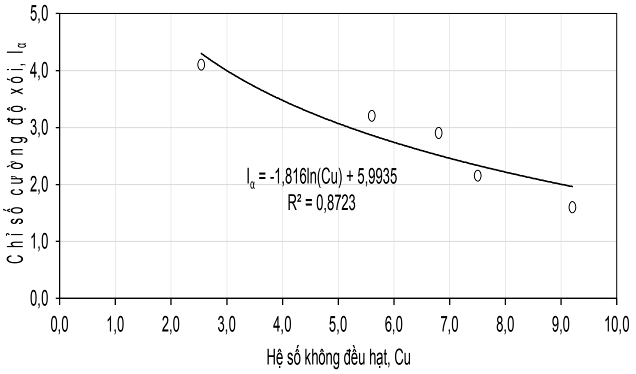
Bảng 2. Kết quả tính toán chỉ số cường độ xói I_α

Loại đất	Mẫu TN	J	m_x (kg)	E_f (kg)	I_α	Loại đất	Mẫu TN	J	m_x (kg)	E_f (kg)	I_α
1	N1.1	0,25	0,011	189,540	4,236	3	N3.4	1,00	1,425	1051,272	2,868
	N1.2	0,50	0,047	738,720	4,196		N3.5	1,25	2,978	1593,540	2,728
	N1.3	0,75	0,125	1624,860	4,114		N3.6	1,50	4,631	2245,320	2,686
	N1.4	1,00	0,264	2799,360	4,025	4	N4.1	0,25	0,065	14,735	2,355
	N1.5	1,25	0,402	4260,600	4,025		N4.2	0,50	0,288	56,171	2,290
	N1.6	1,50	0,564	5945,400	4,023		N4.3	0,75	0,857	127,312	2,172
2	N2.1	0,25	0,035	118,584	3,530		N4.4	1,00	1,533	208,872	2,134
	N2.2	0,50	0,215	461,808	3,332		N4.5	1,25	3,034	318,870	2,022
	N2.3	0,75	0,684	1009,260	3,169		N4.6	1,50	4,879	446,796	1,962
	N2.4	1,00	1,231	1738,800	3,150	5	N5.1	0,25	0,108	5,076	1,672
	N2.5	1,25	2,328	2659,500	3,058		N5.2	0,50	0,422	19,386	1,662
	N2.6	1,50	3,647	3706,560	3,007		N5.3	0,75	0,950	41,666	1,642
3	N3.1	0,25	0,043	72,974	3,230		N5.4	1,00	1,648	69,984	1,628
	N3.2	0,50	0,246	279,990	3,056		N5.5	1,25	3,162	106,164	1,526
	N3.3	0,75	0,815	609,181	2,874		N5.6	1,50	5,119	148,910	1,464

Từ chỉ số cường độ xói đã xác định, tính toán trị số I_α bình quân cho từng loại đất, qua đó phân loại đất vùng nghiên cứu theo khả năng xói ngầm (Bảng 3). Quan hệ giữa chỉ số cường độ xói và hệ số không đều hạt được biểu diễn ở hình 5.

Bảng 3. Phân loại đất theo độ nhạy xói ngầm

TT	Loại đất	Cu	I_α	Phân loại độ nhạy xói
1	1	2,54	4,10	Đất kháng xói
2	2	5,60	3,21	Đất kháng xói vừa
3	3	6,80	2,91	Đất xói nhẹ
4	4	7,50	2,16	Đất xói nhẹ
5	5	9,20	1,60	Đất xói vừa



Hình 5. Quan hệ giữa I_α và Cu cho các loại đất cát vùng nghiên cứu

Với các mẫu đất có Cu biến đổi từ 2,54 - 9,20, độ nhạy xói I_α thay đổi từ 4,10 - 1,60 tương ứng với các loại đất kháng xói, kháng xói vừa, xói nhẹ và xói vừa. Điều này chứng tỏ rằng, khi mức độ không đều hạt

của đất càng lớn, các hạt đất càng dễ bị cuốn trôi dưới tác dụng của dòng thấm và ngược lại, khi hệ số Cu càng nhỏ, đất có tính kháng xói tốt.

Gradien cũng là một tham số ảnh hưởng lớn đến độ nhạy xói của đất, khi gradient thấm tăng, độ nhạy xói I_α sẽ giảm dần, đất càng dễ bị xói ngầm.

Từ kết quả thí nghiệm, thiết lập được mối quan hệ giữa chỉ số cường độ xói (I_α) và hệ số không đều hạt (Cu) bằng công thức:

$$I_\alpha = -1,816\ln(Cu) + 5,9935 \qquad (2)$$

Công thức (2) có thể được sử dụng để dự báo độ nhạy xói ngầm của các loại đất cát nền cống qua đê vùng ĐBSH.

4. KẾT LUẬN

Từ kết quả thí nghiệm có thể thấy rằng độ nhạy xói ngầm của đất phụ thuộc chủ yếu vào thành phần cấp phối hạt, đặc trưng bởi hệ số không đều hạt C_u và gradient thấm J.

Kết quả nghiên cứu đã phản ánh được độ nhạy xói ngầm của một số loại đất cát nền cống dưới đê vùng ĐBSH. Các loại đất có tính xói nhẹ đến kháng xói.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Đinh Xuân Trọng, Phùng Vĩnh An (2020). *Báo cáo tổng kết phần đê sông*. Đề tài độc lập cấp Nhà nước "*Nghiên cứu công nghệ phát hiện sớm nguy cơ sự cố đê sông, đập đất, đập đá, đập bê tông trọng lực và đề xuất giải pháp xử lý*". Mã số 04/16-ĐTĐL.CN-CNN. Hà Nội, tháng 6/2020.

2. Farner, S. J., Fannin, R. J. (2010). Understanding internal erosion: a decade of reseach following a sinkhole even. *The International J. on Hydropower & Dam*, 17:93-98.

3. Marot, D., Regazzoni, P. L., Wahl, T. (2011). Energy based method for providing soil surface erodibility rankings. *Journal of Geotechnical and Geoenvironmental Engineering (ASCE)*, vol. 137(12), pp. 1290-1294.

4. Đinh Xuân Trọng (2018). Thiết lập mô hình thí nghiệm nghiên cứu hiện tượng xói ngầm dưới đáy cống qua đê trên nền cát có xét đến ảnh hưởng của cọc bê tông cốt thép. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Thủy lợi*, 45, 80-89.

RESEARCH ON THE EFFECTS OF UNIFORMITY COEFFICIENT ON THE SUFFUSION SENSIBILITY OF SAND FOUNDATION OF THE UNDER-DIKE CULVERTS IN THE RED RIVER DELTA

Dinh Xuan Trong

Summary

Suffusion is the first phenomenon of the internal erosion process. Under the action of the seepage flow, the fine particle are detached and transported through the pores of larger soil particles, eventually leaving the coarser skeleton intact and the effective stresses are largely transferred through the matrix of the coarser particles, as a result the structure as well as the physical and mechanical properties of the soil are altered. It is one of the primary causes of destruction to the works's foundation and in many cases, failures can occur. This proves that it is very important to assess the beginning of the internal erosion process, especially for permeable sensitive sand foundation. In this study, an experimental device was designed to determine the suffusion sensitivity for some sandy soils in the under-dike culverts' foundation in the Red river delta. This device can independently control the stress state and hydraulic gradient, and also quantify the amount of soil eroded and the seepage water volume. Based on the experimental results, calculate the erosion resistance index and assessment of the possibility of the internal erosion according to the point of view of Marot *et al.* (2011), establishes the relationship between the erosion resistance index and uniformity coefficient of soils. The research results help to obtain the necessary data for the design and safety warnings.

Keywords: *Under-dike culvert, sand foundation, uniformity coefficient, suffusion sensibility.*

Người phản biện: GS.TS. Trương Đình Dụ

Ngày nhận bài: 20/10/2022

Ngày thông qua phản biện: 02/11/2022

Ngày duyệt đăng: 9/11/2022

NGHIÊN CỨU TÁC DỤNG CỦA BÈO TAI TƯỢNG (*Pistia stratiotes* L.) XỬ LÝ NƯỚC THẢI BIOGAS

Nguyễn Văn Công[1], Bùi Thị Chuyền[1], Nguyễn Công Thuận[1, *]

TÓM TẮT

Nghiên cứu đánh giá hiệu quả của bèo tai tượng (BTT) (*Pistia stratiotes* L.) trong cải thiện chất lượng nước thải từ hệ thống phân hủy yếm khí phân heo. Hai nghiệm thức được thiết kế gồm nghiệm thức không có BTT và nghiệm thức có BTT. Khoảng 100 g của 15 BTT được nuôi trong các thùng xốp chứa 15 lít nước thải có nồng độ đạm amôn 15 mg/L N-NH_4^+ trong một tuần. Mẫu nước được thu ở các ngày 1, 3 và 7 để đo nhiệt độ, ôxy hòa tan (DO), nhu cầu ôxy hóa học (COD), tổng nitơ Kjeldahl (N-TKN), N-NH_4^+, ni-trít (N-NO_2^-), ni-trát (N-NO_3^-), phốt-phát (P-PO_4^{3-}) và khối lượng tươi của BTT được đo vào cùng thời điểm thu mẫu nước. Kết quả cho thấy, hiệu suất giảm COD, N-TKN-N, N-NH_4^+-N và P-PO_4^{3-} ở nghiệm thức có BTT cao hơn có ý nghĩa so với nghiệm thức không có BTT và sự giảm các chất ô nhiễm ở giai đoạn ngày 1 - 3 cao hơn giai đoạn ngày 4-7. Nồng độ N-NO_2^- và N-NO_3^- thấp trong thời gian thí nghiệm và có khuynh hướng tăng dần so với ngày đầu thí nghiệm. Sự gia tăng sinh khối BTT trong 7 ngày thí nghiệm nhỏ (tăng 4,41% ở ngày thứ 3 và tăng 10,60% ở ngày thứ 7). BTT có khả năng làm giảm chất ô nhiễm như COD, NH_4^+ và PO_4^{3-} trong nước thải từ hệ thống phân hủy yếm khí phân heo và giảm nhiều nhất đối với NH_4^+ (82,19%). BTT không có đóng góp để làm giảm NO_2^- và NO_3^-. Nghiên cứu cho thấy, BTT có thể được sử dụng để xử lý nước thải từ hệ thống khí sinh học.

Từ khóa: *Khí sinh học, giảm ô nhiễm, bèo tai tượng, nước thải.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Xử lý phân heo bằng sản xuất khí sinh học được xem là một biện pháp khả thi để làm giảm ô nhiễm môi trường từ chăn nuôi heo ở Việt Nam [1]. Tuy nhiên khi so sánh với Quy chuẩn kỹ thuật Quốc gia về nước thải chăn nuôi thì nước thải từ hệ thống sản xuất khí sinh học vẫn còn chứa nồng độ cao của nitơ, phốt-pho và chất hữu cơ [2, 3]. Vì thế nước thải từ hệ thống khí sinh học cần tiếp tục xử lý trước khi được thải ra các thủy vực tiếp nhận.

Thực vật bậc cao thủy sinh có tiềm năng lớn trong hấp thu vật chất hữu cơ và dinh dưỡng để phát triển và làm sạch các nguồn nước ô nhiễm [4]. Như một loài ngoại lai, bèo tai tượng (BTT) (*Pistia stratiotes* L.) là thực vật bậc cao sống nổi có khả năng tích tụ sinh học cao và chống chịu tốt với các yếu tố sinh thái và môi trường [5]. BTT có thể được sử dụng để làm sạch chất ô nhiễm trong môi trường. Đã có các nghiên cứu sử dụng BTT để xử lý nước thải [6-7]. Nghiên cứu sử dụng BTT để xử lý nước thải từ hệ thống lên men yếm khí cho sản xuất khí sinh học đã được thực hiện [8, 9] như là một phương pháp xử lý nước thải với chi phí thấp, tuy nhiên nghiên cứu này vẫn còn rất hạn chế.

BTT sống phổ biến ở các thủy vực nước ngọt ở Việt Nam và là sinh khối xanh tiềm năng cho sản xuất năng lượng sinh học [10]. Nghiên cứu trong điều kiện phòng thí nghiệm, BTT được thí nghiệm để xác định hiệu suất làm giảm chất ô nhiễm trong nước thải từ hệ thống lên men yếm khí phân heo. Nghiên cứu giới thiệu một mô hình tuần hoàn chất thải sử dụng BTT để xử lý nước thải, sau đó sinh khối từ BTT được sử dụng như vật liệu nạp cho hệ thống sản xuất khí sinh học.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

BTT dùng trong thí nghiệm với kích cỡ tương đồng được thu từ thủy vực nước ngọt, sau đó nuôi trong các bể chứa nước máy trong hai tuần. Thí nghiệm sử dụng nước thải từ hệ thống khí sinh học xử lý phân heo. Nước thải được phân tích các thông số pH, nhu cầu ôxy hóa học (COD), tổng nitơ Kjeldahl (N-TKN tính theo N), N-NH_4^+ (tính theo N), ni-trít tính theo N (N-NO_2^- tính theo N), ni-trát (N-NO_3^- tính theo N) và phốt-phát (P-PO_4^{3-} tính theo P) trước khi bố trí thí nghiệm (Bảng 1). Nước thải có nồng độ cao của COD, N-NH_4^+, P-PO_4^{3-} và nồng độ thấp của DO (Bảng 1). Giá trị COD và N-NH_4^+ đã vượt ngưỡng cho phép khi so sánh với Quy chuẩn kỹ

[1] Khoa Môi trường và Tài nguyên Thiên nhiên, Trường Đại học Cần Thơ
[*]Email: ncthuan@ctu.edu.vn

thuật Quốc gia về nước thải chăn nuôi (QCVN 62-MT: 2011/BTNMT) cột A.

Bảng 1. Đặc điểm nước thải từ hệ thống khí sinh học được sử dụng cho thí nghiệm

Thông số	Đơn vị	Giá trị	QCVN 62-MT: 2011/BTNMT, cột A
pH	-	7,8	6-9
DO	mg/L	0,4	-
COD	mg/L	1.012,8	100
$N\text{-}NH_4^+$	mg/L	161,4	5
$P\text{-}PO_4^{3-}$	mg/L	24,0	-

BTT có thể tăng sinh khối nhanh và loại bỏ lượng lớn chất ô nhiễm, tuy nhiên nồng độ chất ô nhiễm cao có thể ảnh hưởng đến sự sống và giảm hiệu suất loại bỏ chất ô nhiễm [6, 9]. Vì thế nước thải có nồng độ chất ô nhiễm cao phải được pha loãng để BTT đáp ứng với nước thải. Nghiên cứu về sử dụng BTT để hấp thụ đạm amôn trong dung dịch tự pha cho thấy khả năng hấp thụ cao của BTT ở nồng độ 10 mg/L $N\text{-}NH_4^+$ [11]. Vì vậy, trong nghiên cứu này nồng độ đạm amôn trong nước thải được pha loãng đến 15 mg/L $N\text{-}NH_4^+$.

2.2. Thiết kế thí nghiệm

Thí nghiệm gồm hai nghiệm thức có BTT và không có BTT, mỗi nghiệm thức lặp lại 5 lần. Các thùng xốp với kích thước 600×400×190 đã được sử dụng để chứa 15 lít nước thải. Ở mỗi thùng xốp, 15 BTT với tổng khối lượng tươi khoảng 400 g (khối lượng tươi cho một BTT là 26,70 ± 0,02 g) được nuôi (Hình 1). Nghiệm thức không có BTT, các thùng xốp được che một phần bởi ni-lông đen như là phần diện tích bị che phủ bởi BTT ở nghiệm thức có BTT. Nồng độ ban đầu của $N\text{-}NH_4^+$ không cao (khoảng 15 mg/L) nên thí nghiệm được thực hiện trong thời gian một tuần. Thí nghiệm được thực hiện ở khu nhà lưới thí nghiệm của Trường Đại học Cần Thơ, nơi có ánh sáng tự nhiên cho BTT quang hợp.

Hình 1. Thiết kế thí nghiệm cho nghiệm thức có BTT và không có BTT

Mẫu nước được thu trong các thùng xốp ở các ngày 1 (ngày bố trí thí nghiệm), 3 và 7, được đo các thông số chất lượng nước như nhiệt độ, pH, DO, COD, N-TKN-N, $N\text{-}NH_4^+$, $N\text{-}NO_2^-$, $N\text{-}NO_3^-$ và $P\text{-}PO_4^{3-}$ (Bảng 3). Thêm vào đó, khối lượng tươi của BTT cũng được đo cùng thời gian thu mẫu nước. Ở mỗi lần thu mẫu, tất cả BTT trong thùng xốp được vớt ra, để ráo nước trong 10 phút, sau đó cân cho khối tượng tươi [11].

Bảng 2. Phương pháp phân tích các thông số môi trường nước và đo đạc BTT

STT	Chỉ tiêu	Đơn vị	Phương pháp
1	Nhiệt độ	^0C	Đo trực tiếp bằng máy cầm tay Hanna HI 9146
2	pH	-	Đo trực tiếp bằng máy cầm tay Hanna HI 8424
3	DO	mg/L	Đo trực tiếp bằng máy cầm tay Hanna HI 9146
5	COD	mg/L	Phương pháp oxi hóa bằng $K_2Cr_2O_7$ (APHA, 1998) [12]
6	TSS	mg/L	Phương pháp khối lượng, sấy ở 105^0C
7	$N\text{-}NH_4^+$	mg/L	Phương pháp Salicylate (APHA, 1998) [12]
8	$N\text{-}NO_3^-$	mg/L	Phương pháp Salicylate (APHA, 1998) [12]
9	$N\text{-}NO_2$	mg/L	Phương pháp Colorimetric (APHA, 1998) [12]
10	$P\text{-}PO_4^{3-}$	mg/L	Phương pháp Ascorbic Acid (APHA, 1998) [12]

Hiệu suất giảm chất ô nhiễm được xác định bởi công thức sau:

$$H\,(\%) = \frac{C_{to} - C_t}{C_t} \times 100$$

Trong đó: H (%) là hiệu suất giảm chất ô nhiễm; C_{t0} (mg/L) và C_t (mg/L) lần lượt là nồng độ chất ô nhiễm ở thời điểm ban đầu vào thời điểm t.

Khả năng hấp thu tương đối chất dinh dưỡng được xác định theo công thức sau:

$$A\,(g/kg) = [(Cb_{t0} - Cb_t) - (Ckb_{t0} - Ckb_t)]*V/(M_t - M_0)$$

Trong đó: A (g/kg) là lượng chất dinh dưỡng được BTT hấp thu; Cb_{t0} (mg/L và Cb_t (mg/L) là nồng độ chất dinh dưỡng ở thời điểm ban đầu và t ở

nghiệm thức có BTT; Ckb_{t0} (mg/L và Ckb_t (mg/L) là nồng độ chất dinh dưỡng ở thời điểm ban đầu và t ở nghiệm thức không có BTT; M_0 và M_t là khối lượng BTT ở thời điểm ban đầu và t; V (L) là thể tích nước thải.

2.3. Xử lý số liệu

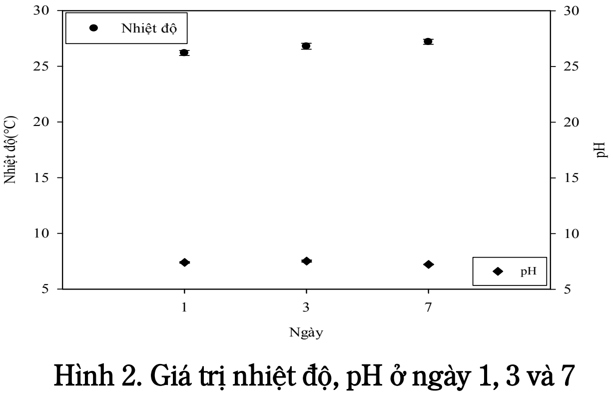
Giá trị trung bình các thông số chất lượng nước được thể hiện ở dạng trung bình ± stdev. So sánh sự khác biệt các thông số chất lượng nước, khối lượng tươi BTT và hiệu suất làm giảm chất ô nhiễm được thực hiện bằng phân tích thống kê sử dụng phép thử T-Test trong SPSS (sau khi kiểm tra tính đồng nhất của phương sai).

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Sự thay đổi nồng độ của nhiệt độ, pH và oxy hòa tan

3.1.1. Sự thay đổi nhiệt độ

Nhiệt độ nước ở các nghiệm thức dao động 25,80 - 27,20°C (Hình 2). Theo Rivers (2002) [13], nhiệt độ tối ưu cho sự phát triển của BTT là 22 - 30°C. Như vậy, nhiệt độ nước của thí nghiệm là phù hợp cho sự phát triển của BTT. Nhiệt độ nước ở nghiệm thức không có BTT là 2,65 ± 0,09°C, trong khi nhiệt độ ở nghiệm thức có BTT là 2,64 ± 0,10°C. Nhiệt độ nước ở nghiệm thức không có BTT khác biệt không có ý nghĩa so với nghiệm thức có BTT (p = 0,376), vì vậy yếu tố nhiệt độ không ảnh hưởng đến sự khác biệt nồng độ các chất ô nhiễm giữa hai nghiệm thức. Thêm vào đó, nhiệt độ nước của thí nghiệm cũng thuộc khoảng nhiệt độ tối ưu cho quá trình ni-trát hóa bởi vi sinh vật (25 - 35°C) [14].



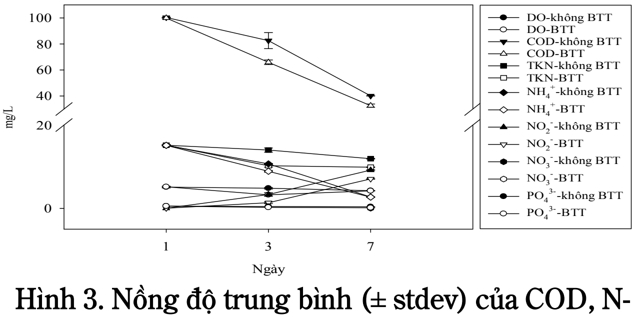
Hình 2. Giá trị nhiệt độ, pH ở ngày 1, 3 và 7 của thí nghiệm

3.1.2. Sự thay đổi pH

Giá trị pH nước ở các nghiệm thức dao động 7,12 ÷ 7,56 (Hình 2). BTT phát triển tốt trong nước có pH = 7 [15], vì thế pH nước của thí nghiệm là phù hợp cho sự phát triển của BTT. pH nước ở nghiệm thức không có BTT là 7,33 ± 0,04, trong khi nhiệt độ ở nghiệm thức có BTT là 7,36 ± 0,03. Sự khác biệt pH giữa nghiệm thức không có BTT và có BTT là không có ý nghĩa (p = 0,849), vì vậy yếu tố pH không ảnh hưởng đến sự khác biệt nồng độ các chất ô nhiễm giữa hai nghiệm thức.

3.1.3. Sự thay đổi DO

Sự thay đổi giá trị DO trong nước là 3,21 - 5,28 mg/L (Hình 3). Nhìn chung, giá trị DO nước của thí nghiệm thuộc ngưỡng an toàn cho sự sống của thực vật thủy sinh (lớn hơn 2 mg/L), vì vậy khoảng DO của thí nghiệm cũng an toàn cho sự sống của BTT. DO nước ở nghiệm thức không có BTT là 4,72 ± 0,40 mg/L, trong khi nhiệt độ ở nghiệm thức có BTT là 4,20 ± 0,81 mg/L. Giá trị DO của nghiệm thức không có BTT cao hơn có ý nghĩa so với nghiệm thức có BTT (p = 0,028). DO ở nghiệm thức không BTT giảm dần qua thời gian (5,10 ± 0,22 mg/L ở ngày 1, 4,82 ± 0,19 mg/L ở ngày 3 và 4,24 ± 0,01 mg/L ở ngày 7). Đối với nghiệm thức có BTT, DO ở ngày 3 (3,24 ± 0,27 mg/L) và ngày 7 (4,20 ± 0,01 mg/L) đều thấp hơn ngày 1 (5,16 ± 0,11 mg/L). Sự giảm ôxy hòa tan trong nước ở ngày 3 và ngày 7 của cả hai nghiệm thức được giải thích bởi vi sinh vật sử dụng ôxy cho quá trình ôxy hóa. Thêm vào đó, thực vật bậc thủy sinh có thể làm giảm ôxy bởi sự hô hấp và phân hủy của chúng [16]. Vì thế, sự hô hấp và phân hủy của BTT có thể đã đóng góp cho sự giảm ôxy ở nghiệm thức có BTT so với nghiệm thức không có BTT.



Hình 3. Nồng độ trung bình (± stdev) của COD, N-TKN, N-NH_4^+, N-NO_2^-, N-NO_3^- và P-PO_4^{3-} vào các ngày 1, 3 và 7

3.2. Sự giảm nồng độ chất ô nhiễm

3.2.1. Sự giảm nồng độ COD

Nồng độ COD giảm dần theo thời gian ở cả hai nghiệm thức thí nghiệm (Hình 3). Sự thay đổi nồng độ COD ở ngày 3 và 7 so với ngày đầu thí nghiệm

được thể hiện ở bảng 3. Ở nghiệm thức không có BTT, COD giảm lần lượt 17,71 ± 6,08% và 59,99 ± 0,16% ở ngày 3 và 7. Ở nghiệm thức có BTT, COD giảm lần lượt 34,05 ± 1,87% và 67,39 ± 1,08% ở ngày 3 và 7. Ở nghiệm thức không có BTT, sự giảm COD/ngày ở các ngày 1 - 3 và 4 - 7 lần lượt là 6,75 ± 2,75%/ngày và 11,45 ± 0,68%/ngày. Ở nghiệm thức có BTT, sự giảm COD/ngày ở các ngày 1-3 và 4-7 lần lượt là 11,35 ± 0,63%/ngày và 12,63 ± 0,56%/ngày.

Bảng 3. Mức độ giảm nồng độ COD, N-TKN, N-NH_4^+, N-NO_2^-, N-NO_3^- và P-PO_4^{3-} ở ngày 3 và 7 so với ngày 1

Thông số	Ngày	Sự thay đổi nồng độ chất ô nhiễm so với ngày đầu (mg/L)	
		Không có BTT	Có BTT
COD	3	-17,76 ± 6,08[a]	-34,03 ± 1,96[b]
	7	-60,18 ± 0,26[a]	-67,35 ± 0,77[b]
N-TKN	3	-1,16 ± 0,47[a]	-3,23 ± 0,13[b]
	7	-4,92 ± 0,45[a]	-5,28 ± 0,13[b]
N-NH_4^+	3	-4,45 ± 0,13[a]	-6,24 ± 0,34[a]
	7	-12,40 ± 0,14[a]	-12,43 ± 0,12[a]
P-PO_4^{3-}	3	-0,09 ± 0,00[a]	-0,31 ± 0,00[b]
	7	-0,15 ± 0,01[a]	-0,40 ± 0,01[b]
N-NO_2^-	3	3,30 ± 0,43[a]	1,32 ± 0,21[b]
	7	9,16 ± 0,04[a]	7,03 ± 0,06[b]
N-NO_3^-	3	Không phát hiện	Không phát hiện
	7	0,02 ± 0,00[a]	0,11 ± 0,00[b]

Ghi chú: Số liệu âm thể hiện nồng độ ở ngày 3 và 7 giảm so với ngày 1. Ngược lại, giá trị dương thể hiện nồng độ ở ngày 3 và 7 tăng so với ngày 1. Trong cùng một hàng, các chữ cái (a, b) khác nhau thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa giữa hai nghiệm thức ($p < 0,05$); trong khi chữ cái giống nhau thể hiện khác biệt không có ý nghĩa giữa hai nghiệm thức ($p > 0,05$).

Sự giảm nồng độ COD là cao hơn ở nghiệm thức có BBT so với nghiệm thức không có BTT ở cả ngày 3 và ngày 7 ($p < 0,001$ cho cả ngày 3 và 7). Ở nghiệm thức không có BTT, sự giảm COD/ngày ở ngày 1-3 nhỏ hơn có ý nghĩa so với ngày 4 - 7 ($p = 0,011$). Ở nghiệm thức có BTT, sự giảm COD/ngày ở ngày 1-3 cao hơn có ý nghĩa so với ngày 4 - 7 ($p = 0,009$). Thêm vào đó, sự giảm COD/ngày cao hơn có ý nghĩa ở nghiệm thức có BTT so với nghiệm thức không có BTT ở ngày 1 - 3 ($p = 0,008$) và ngày 4 - 7 ($p = 0,024$) (Bảng 3). Điều này thể hiện sự đóng góp của BTT đối với sự giảm COD là lớn hơn ở giai đoạn 3 ngày đầu. Sự giảm COD theo thời gian thí nghiệm có thể được giải thích do rễ của BTT đã lọc chất rắn lơ lửng và hấp thu dinh dưỡng hòa tan trong nước thải [17]. Mức độ giảm COD ở thí nghiệm này thấp hơn so với nghiên cứu của Sooknah & Wilkie (2004) [9] (72,2 – 74,0%). Điều này được giải thích là do thời gian thí nghiệm ở nghiên cứu của Sooknah & Wilkie (2004) [9] lâu hơn (31 ngày), dẫn đến hiệu suất giảm COD cao hơn.

3.2.2. Sự giảm nồng độ N-TKN

Nồng độ N-TKN giảm dần theo thời gian ở cả hai nghiệm thức thí nghiệm (Hình 3). Sự thay đổi nồng độ N-TKN ở ngày 3 và 7 so với ngày đầu thí nghiệm được thể hiện ở bảng 3. Ở nghiệm thức không có BTT, N-TKN giảm lần lượt là 7,63 ± 3,12% và 32,48 ± 2,72% ở ngày 3 và ngày 7. Ở nghiệm thức có BTT, N-TKN giảm lần lượt là 21,30 ± 0,74% và 34,84 ± 0,60% ở ngày 3 và ngày 7. Ở nghiệm thức có BTT, giảm lần lượt 34,05 ± 1,87% và 67,39 ± 1,08 % ở ngày 3 và 7. Ở nghiệm thức không có BTT, sự giảm N-TKN/ngày ở các ngày 1 - 3 và 4 - 7 lần lượt là 2,79 ± 1,12%/ngày và 0,59 ± 0,80%/ngày. Ở nghiệm thức có BTT, sự giảm N-TKN/ngày ở các ngày 1 - 3 và 4 - 7 lần lượt là 10,83 ± 0,91%/ngày và 1,17 ± 0,70%/ngày.

Mức độ giảm N-TKN ở nghiệm thức có BTT cao hơn có ý nghĩa so với nghiệm thức không có BTT ở ngày 3 (13,67%) và 7 (2,39%) ($p < 0,001$ cho ngày 3 và 7) (Bảng 3). Hay nói cách khác, hiệu suất giảm N-TKN ở nghiệm thức có BTT cao hơn so với nghiệm thức không có BTT. Ở nghiệm thức không có BTT, mức độ giảm N-TKN/ngày ở ngày 1 - 3 khác biệt không có ý nghĩa so với ngày 4 - 7 ($p = 0,255$). Ở nghiệm thức có BTT, mức độ giảm N-TKN/ngày ở ngày 1 - 3 cao hơn có ý nghĩa so với ngày 4 - 7 ($p < 0,001$). Thêm vào đó, mức độ giảm N-TKN/ngày ở nghiệm thức có BTT cao hơn có ý nghĩa so với nghiệm thức không có BTT ở ngày 1 - 3 ($p < 0,001$); tuy nhiên xu hướng ngược lại cho ngày 4 - 7 ($p < 0,004$) (Bảng 2). Điều này thể hiện sự đóng góp của BTT cho sự giảm nồng độ N-TKN ở ngày 1 - 3 cao hơn ngày 4 - 7.

3.2.3. Sự giảm nồng độ N-NH_4^+

Có sự giảm nồng độ N-NH_4^+ ở cả hai nghiệm thức theo thời gian của thí nghiệm (Hình 3). Sự thay đổi nồng độ N-NH_4^+ ở ngày 3, 7 so với ngày 1 được thể hiện ở bảng 3. Ở nghiệm thức không có BTT, nồng độ N-NH_4^+ giảm lần lượt là 29,45 ± 0,73% và 82,02 ± 0,40% ở ngày 3 và 7. Ở nghiệm thức có BTT, nồng độ N-NH_4^+ giảm lần lượt là 41,28 ± 1,85% và 82,19 ± 0,08% ở ngày 3 và 7. Ở nghiệm thức không có

BTT, sự giảm N-NH_4^+/ngày ở các ngày 1 - 3 và 4 - 7 lần lượt là 11,29 ± 3,61%/ngày và 18, 63% ± 0,20%/ngày. Trong khi, sự giảm N-NH_4^+/ngày ở các ngày 1 - 3 và 4 - 7 lần lượt là 13,76 ± 0,62%/ngày và 17,41% ± 0,25%/ngày ở nghiệm thức có BTT.

Mức độ giảm nồng độ N-NH_4^+ ở nghiệm thức có BTT cao hơn có ý nghĩa so với nghiệm thức không có BTT ở ngày 3 ($p < 0,001$), nhưng sự khác biệt có ý nghĩa không được tìm thấy ở ngày 7 ($p = 0,800$). Qua đó cho thấy sự đóng góp của BTT cho sự giảm N-NH_4^+ ngày 1 - 3 cao hơn ngày 4 - 7; ngược lại quá trình ni-trát hóa có thể có đóng góp có ý nghĩa cho sự giảm N-NH_4^+ ở ngày 4 - 7. Sự giảm N-NH_4^+ ở nghiệm thức có BTT cao hơn 1,83% so với nghiệm thức không có BTT ở ngày 3; nói cách khác hiệu suất giảm N-NH_4^+ ở nghiệm thức có BTT cao hơn so với nghiệm thức không có BTT ở ngày 3. Mức độ giảm nồng độ N-NH_4^+/ngày ở ngày 1 - 3 thấp hơn ngày 4 - 7. Mức độ giảm nồng độ N-NH_4^+/ngày ở nghiệm thức có BTT khác biệt không có ý nghĩa so với nghiệm thức không có BTT ở ngày 1 - 3 ($p = 0,168$) (Bảng 3). Tuy nhiên, mức độ nồng độ N-NH_4^+/ngày ở nghiệm thức có BTT thấp hơn có ý nghĩa so với nghiệm thức không có BTT ở ngày 4 - 7 ($p < 0,001$). Kết quả này minh chứng cho sự đóng góp của BTT cho sự giảm nồng độ N-NH_4^+ nhiều hơn ở ngày 1 - 3 so với ngày 4 - 7. A-môn là dạng đạm mà thực vật hấp thu được cho phát triển, sự giảm nồng độ N-NH_4^+ nhiều hơn ở nghiệm thức có BTT so với nghiệm thức không có BTT được cho là do sự hấp thu NH_4^+ bởi BTT. Khả năng hấp thu NH_4^+ tương đối của BTT sau 7 ngày thí nghiệm là 0,01 mg/kg.

3.2.4. Sự thay đổi nồng độ N-NO_2^- và N-NO_3^-

Nồng độ N-NO_2^- và N-NO_3^- ban đầu rất thấp, nồng độ N-NO_2^- (0,022 ± 0,001 mg/L) cao hơn nồng độ N-NO_3^- (0,003 ± 0,000 mg/L) (Hình 3). Sự thay đổi nồng độ N-NO_2^- và N-NO_3^- ở ngày 3 và 7 so với ngày 1 được thể hiện ở bảng 3. Ở ngày 3, nồng độ N-NO_2^- ở nghiệm thức không có BTT và có BTT lần lượt là 3,322 ± 0,433 mg/L và 1,344 ± 0,213 mg/L; nồng độ N-NO_3^- ở nghiệm thức không có BTT và có BTT lần lượt là 0,003 ± 0,000 mg/L và 0,003 ± 0,000 mg/L. Ở ngày 7, nồng độ N-NO_2^- ở nghiệm thức không có BTT và có BTT lần lượt là 9,180 ± 0,038 mg/L và 7,058 ± 0,062 mg/L; nồng độ N-NO_3^- ở nghiệm thức không có BTT và có BTT lần lượt là 0,024 ± 0,001 mg/L và 0,117 ± 0,001 mg/L.

Nồng độ N-NO_2^- và N-NO_3^- có khuynh hướng tăng dần theo thời gian, nhưng nồng độ N-NO_2^- luôn cao hơn nồng độ N-NO_3^-, điều này ngụ ý rằng quá trình ôxy hóa a-môn nhiều hơn quá trình ôxy hóa ni-trít. Ở ngày 1 - 3, nồng độ N-NO_3^- không được phát hiện và chỉ được phát hiện ở ngày 7 với nồng độ rất thấp. Nó chỉ thị rằng quá trình ni-trát hóa diễn ra chậm, đặc biệt ở giai đoạn đầu của thí nghiệm. Nồng độ N-NO_2^- ở nghiệm thức không có BTT cao hơn có ý nghĩa so với nghiệm thức có BTT ở cả ngày 3 và 7 (p < cho cả 2 ngày) (Bảng 3). Ngược lại, nồng độ N-NO_3^- ở nghiệm thức không có BTT thấp hơn có ý nghĩa so với nghiệm thức có BTT ở ngày 7. Điều này ngụ ý rằng quá trình ni-trát hóa ở nghiệm thức có BTT diễn ra nhiều hơn so với nghiệm thức không có BTT; nói cách khác sự hiện diện của BTT đã thúc đẩy quá trình ni-trát hóa. Ni-trát hóa là quá trình quan trọng trong chu trình nitơ và các dạng nitơ trong quá trình này có ý nghĩa cho môi trường như ni-tơ là dinh dưỡng cho thực vật. Nồng độ ni-trát rất thấp nên BTT đã sử dụng NH_4^+ cho phát triển. Qua đây khẳng định vai trò của BTT cho sự giảm N-NH_4^+ trong nước thải. Đã thực hiện một nghiên cứu khác [11] về hấp thụ của BTT trong dung dịch tự pha gồm NH_4^+ và NO_3^-, kết quả cho thấy BTT hấp thụ chủ yếu NH_4^+. Vai trò của BTT cho sự giảm N-NO_3^- không được nhận thấy ở nghiên cứu này. Ni-trát là sản phẩm cuối của quá trình ni-trát hóa qua hai giai đoạn ôxy hóa a-môn và tiếp theo ôxy hóa ni-trít. Trong thí nghiệm này, quá trình ôxy hóa a-môn ưu thế hơn quá trình ôxy hóa ni-trít dẫn đến nồng độ N-NO_3^- thấp. Vì vậy, sự hấp thu NO_3^- bởi BTT không được nhận thấy.

3.2.5. Sự giảm nồng độ P-PO_4^{3-}

Cả hai nghiệm thức có nồng độ P-PO_4^{3-} giảm dần theo thời gian (Hình 3). Sự thay đổi nồng độ P-PO_4^{3-} ở ngày 3 và 7 so với ngày 1 được thể hiện ở bảng 3. Ở nghiệm thức không có BTT, nồng độ P-PO_4^{3-} giảm lần lượt là 16,30 ± 0,36% và 28,03 ± 1,45% ở ngày 3 và 7. Ở nghiệm thức có BTT, nồng độ P-PO_4^{3-} giảm lần lượt là 58,76 ± 0,37% và 75,02 ± 1,13% ở ngày 3 và 7. Ở nghiệm thức không có BTT, sự giảm P-PO_4^{3-}/ngày ở các ngày 1 - 3 và 4 - 7 lần lượt là 5,04 ± 0,97 %/ngày và 3,62 ± 0,28%/ngày; trong khi, sự giảm P-PO_4^{3-}/ngày ở các ngày 1 - 3 và 4 - 7 lần lượt là 19,59 ± 0,12 %/ngày, 9,86% ± 0,67%/ngày ở nghiệm thức có BTT.

Sự giảm nồng độ P-PO_4^{3-} ở nghiệm thức không có BTT là nhỏ hơn nghiệm thức có BTT ở cả ngày 3 và 7 ($p < 0,001$ cho cả 2 ngày). Điều này thể hiện sự

đóng góp của BTT cho giảm nồng độ P-PO_4^{3-} trong nước thải. Phốt-phát là dạng lân mà thực vật hấp thu được cho phát triển, sự giảm nồng độ P-PO_4^{3-} nhiều hơn ở nghiệm thức có BTT so với nghiệm thức không có BTT được cho là do sự hấp thu PO_4^{3-} bởi BTT. Khả năng hấp thu PO_4^{3-} tương đối của BTT sau 7 ngày thí nghiệm là 0,09 mg/kg. Ở nghiệm thức không có BTT, sự giảm nồng độ P-PO_4^{3-} ở ngày 1 - 3 cao hơn có ý nghĩa so với ngày 4 - 7 ($p = 0,024$) và xu hướng tương tự cũng được tìm thấy cho nghiệm thức có BTT ($p < 0,001$). Mức độ giảm nồng độ P-PO_4^{3-}/ngày ở nghiệm thức có BTT cao hơn có ý nghĩa so với nghiệm thức không có BTT ở cả ngày 3 và 7 ($p < 0,001$ cho cả 2 ngày). Giống như kết quả của N-TKN và N-NH_4^+, sự đóng góp của BTT cho giảm nồng độ P-PO_4^{3-} là cao hơn ở ngày 1 - 3 so với ngày 4 - 7. A-môn và phốt-phát là các chất dinh dưỡng được cây trồng hấp thu. BTT có vai trò cho giảm a-môn và phốt-phát ở giai đoạn đầu của thí nghiệm khi nồng độ các chất này cao. Khi nồng độ a-môn và phốt-phát trong nước thải giảm thấp, vai trò của BTT cũng giảm. Thay vào đó, quá trình vi sinh vật như quá trình ni-trát hóa có thể có vai trò chính cho sự thay đổi nồng độ các dạng ni-tơ vô cơ trong nước.

3.3. Sự gia tăng sinh khối BTT

Khối lượng tươi của BTT ở ngày 1, 3 và 7 lần lượt là 400,57 ± 0,23 g, 418,25 ± 5,46 g và 443,08 ± 13,70 g. Sự tăng sinh khối BTT trong thời gian thí nghiệm là 4,41% ở ngày 3 và 10,6% ở ngày 7. Sự gia tăng sinh khối tương đối ở ngày 1 - 3 và 4 - 7 là 1,47 ± 0,46 g/ngày và 1,48 ± 0,51 g/ngày. Sự gia tăng sinh khối của BTT trong thời gian 7 ngày là nhỏ. Sự tăng sinh khối tương đối ngày 1 - 3 khác biệt không có ý nghĩa so với ngày 4 - 7 ($p = 0,980$). Để sử dụng sinh khối của BTT, các nghiên cứu tiếp theo cần thực hiện ở nồng độ chất ô nhiễm cao hơn và thời gian thí nghiệm cao hơn. Hơn nữa, nghiên cứu về thời gian tái ô nhiễm bởi BTT để chọn thời gian thu hoạch BTT phù hợp cũng cần được nghiên cứu.

4. KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

4.1. Kết luận

BTT đóng góp cho giảm chất ô nhiễm như vật chất hữu cơ và dinh dưỡng như a-môn và phốt-phát trong nước thải từ hệ thống lên men tạo khí sinh học và hiệu suất giảm cao nhất đối với a-môn. Ở nồng độ ban đầu khoảng 15 mg/L N-NH_4^+, sự đóng góp của BTT cho giảm chất ô nhiễm là nhiều hơn ở ngày 1 - 3 so với ngày 4 - 7 trong thí nghiệm không bổ sung nước thải định kỳ.

Sự tăng dần nồng độ ni-trít và ni-trát của thí nghiệm thể hiện không có sự đóng góp của BTT cho giảm nồng độ của ni-trít và ni-trát; thay vào đó, quá trình ni-trát hóa đã làm thay đổi, mặc dù tiến trình này diễn ra chậm.

4.2. Kiến nghị

Cần có nghiên cứu khả năng giảm chất ô nhiễm trong mối quan hệ giữa nồng độ chất ô nhiễm cao hơn và mật độ BTT, cũng như thời gian tái ô nhiễm bởi BTT để xác định thời gian phù hợp để thu BTT. Thêm vào đó, những nghiên cứu về khả năng giảm chất ô nhiễm của BTT trong điều kiện nước thải được nạp hằng ngày cũng cần được thực hiện.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nguyễn Võ Châu Ngân, Phan Trung, Võ Hoàng Nam (2012). Các kiểu hầm ủ khí sinh học phổ biến ở ĐBSCL. *Tạp chí Môi trường, Việt Nam*. 1, 8-19.

2. Trần Thị Phả, Đào Thị Huyền Trang, Dương Thị Minh Hòa (2017). Đánh giá chất lượng nước thải chăn nuôi sau bể biogas. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ, Đại học Thái Nguyên*. 166, 197-200.

3. Lê Hoàng Việt, Lưu Thị Như Ý, Võ Thị Đông Nhi, Nguyễn Võ Châu Ngân (2017). Xử lý nước thải từ hầm ủ biogas bằng ao thâm canh tảo *Spirulina* sp. *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*: 49a: 1-10.

4 Rezania S., Ponraj M., Talaiekhozani A., Mohamad S. E., Din M. F., Taib S. M., Sabbagh F., Sairan F. M. (2015). Perspectives of phytoremediation using water hyacinth for removal of heavy metals, organic and inorganic pollutants in wastewater. *Journal of Environmental Management*. 163, 125–133.

5. Pandey V. C. (2012). Invasive species-based efficient green technology for phytoremediation of fly ash deposits. *Journal of Geochemical Exploration*. 123, 13–18.

6. Nguyễn Thành Lộc, Võ Thị Cẩm Thu, Nguyễn Trúc Linh, Đặng Cường Thịnh, Phùng Thị Hằng, Nguyễn Võ Châu Ngân (2015). Đánh giá hiệu quả xử lý nước thải sinh hoạt của một số loại thủy sinh thực vật. *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ: Số chuyên đề: Môi trường và Biến đổi khí hậu*, 119-128.

7. Nguyễn Thị Hồng Nho, Trương Quốc Phú, Phạm Thanh Liêm (2022). Khả năng xử lý nước của bèo tai tượng (Pistia stratiotes) trong hệ thống tuần hoàn nuôi cá trê vàng. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Nông nghiệp*. Tập 6 (1), 2769-2778.

8. Kumar V., Singh J., Pathak V. V., Ahmad S., Kothari R. (2017). Experimental and kinetics study for phytoremediation of sugar mill effluent using water lettuce (*Pistia stratiotes* L.) and its end use for biogas production. 3 Biotech. 7(5):330.

9. Sooknah R. D, Wilkie A. C. (2004). Nutrient removal by floating aquatic macrophytes cultured in anaerobically digested flushed dairy wastewater. Ecological Engineering. 22, 27–42. https://doi.org/0.1016/j.ecoleng.2004.01.004

10. Cong N. V., Thanh T. V., Kha L. TM., Hoàng N. X. (2022). Water Lettuce (*Pistia stratiotes* L.) as a Potential Material for Biogas Production. *J. Ecol. Eng.* 23, 182–188.

11. Thuan, N. C., Cong, N. V. (2022). Removal of ammonium and nitrate in water by an aquatic plant: water lettuce (*Pistia stratiotes* L.). Applied ecology and environmental research. Accepcted

12. APHA (1998). Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 20th Edition, American Public Health Association, American Water Works Association and Water Environmental Federation, Washington DC.

13. Rivers L. (2002). Water Lettuce (*Pistia stratiotes*). Gainsville, USA: the University of Florida and Sea Grant. [online], website: https://seagrant.psu.edu/sites/default/files/Water%20lettuce%202020_red.pdf (accessed 20 August, 2022).

14. Guo J., Peng Y., Huang H., Wang S., Ge S., Zhang J., Wang Z. (2010). Short- and long-term effects of temperature on partial nitrification in a sequencing batch reactor treating domestic wastewater. *Journal of Hazardous Materials*. 179 (1–3), 471-4.

15. Pieterse A. H., Lange Lde., Verhagen L. (1981). A study on certain aspects of seed germination and growth of *Pistia stratiotes* L. Acta Botanica Neerlandica. 30 (1/2) , 47-57.

16. Lesiv M. S., Polishchuk A. I., Antonyak H. L. (2020). Aquatic macrophytes: ecological features and functions. Studia Biologica. 14(2):79–94.

17. Shah M., Hashmi H. N., Ali A., Ghumman A. R. (2014). Performance assessment of aquatic macrophytes for treatment of municipal wastewater. *J Environ Health Sci Eng*. 12:106.

STUDY ON THE USE OF WATER LETTUCE (*Pistia stratiotes* L.) ON BIOGAS-WASTEWATER TREATMENT

Nguyen Van Cong[1], Bui Thi Chuyen, Nguyen Cong Thuan[1, *]

[1]*College of Environment and Natural Resources, Cantho University*

**Email: ncthuan@ctu.edu.vn*

Summary

The research investigated the effectiveness of water lettuce (WL) (*Pistia stratiotes* L.) in improving wastewater quality from the biogas digester. The two treatments were designed, including one without WL and another with WL. The 100 g-fifteen WL were raised in containers containing 15 liters of wastewater having ammonium (NH_4^+-N) of about 15 mg/L for one week. Water samples were collected on days 1, 3 and 7 and measured for temperature, dissolved oxygen (DO), chemical oxygen demand (COD), total Kjeldahl nitrogen (TKN-N), NH_4^+-N, nitrite (NO_2^--N), nitrate (NO_3^--N) and phosphate (PO_4^{3-}-P) and fresh weights of WL measured at the same time of water collection. The results showed the temperature, pH, and DO values were within the appropriate range for WL growth. The reduction in COD, TKN-N, NH_4^+-N and PO_4^{3-}-P was significantly higher in the treatment with WL than that without WL, and the reduction was more remarkable on days 1-3 than on days 4-7. Concentrations of NO_2^--N and NO_3^--N were low and tended to increase gradually compared with the initial time. The increases in WL biomass during the seven days were small (increased by 4.41% on day 3 and 10.60% on day 7). The WL reduced pollutants of COD, NH_4^+ and PO_4^{3-} in wastewater from biogas digester and the most reduction (82.19%) was on account for NH_4^+-N. There was no contribution of WL to reducing NO_2^--N and NO_3^--N. Our finding is that water lettuce could be used to treat wastewater from biogas digesters for creating biomass as potential loaded material for biogas digesters in the absence of pig manure.

Keywords: *Biogas digester, pollution reduction, water lettuce, wastewater.*

Người phản biện: PGS.TS. Phạm Quang Hà

Ngày nhận bài: 10/10/2022

Ngày thông qua phản biện: 29/10/2022

Ngày duyệt đăng: 14/11/2022

HIỆN TRẠNG PHÁT SINH VÀ PHÂN LOẠI, THU GOM, CHUYỂN GIAO CÁC CHẤT THẢI NGUY HẠI VÀ CHẤT THẢI TÁI CHẾ TRONG SINH HOẠT HỘ GIA ĐÌNH TẠI HUYỆN ĐÔNG ANH, THÀNH PHỐ HÀ NỘI

Bùi Thị Thu Trang[1, *], Nguyễn Thị Hồng Hạnh[1], Hoàng Thị Huê[1],
Nguyễn Thị Hoài Thương[1], Mai Văn Trịnh[2], Hồ Thúy Quỳnh[1]

TÓM TẮT

Nghiên cứu đã sử dụng phương pháp thu thập số liệu, điều tra xã hội học kết hợp khảo sát thực địa, xác định hệ số phát sinh và đánh giá ngẫu nhiên để đánh giá hiện trạng phân loại, thu gom, chuyển giao các chất thải rắn nguy hại (CTRNH) và chất thải rắn tái chế (CTRTC) trong sinh hoạt hộ gia đình, nhận thức của người dân và mức sẵn lòng tham gia phân loại, tái sử dụng và chuyển giao chất thải tại huyện Đông Anh, thành phố Hà Nội. Kết quả nghiên cứu cho thấy khối lượng chất thải rắn sinh hoạt (CTRSH) trong một tháng ở xã Vĩnh Ngọc và xã Xuân Canh là 4.408.98 kg. Ở xã Vĩnh Ngọc, hệ số phát sinh CTRSH là 0,68 kg/người/ngđ, hệ số phát sinh CTRTC là 0,065 kg/người/ngđ, hệ số phát sinh CTRNH là 0,008 kg/người/ngđ. Ở xã Xuân Canh, hệ số phát sinh CTRSH là 0,63 kg/người/ngđ, hệ số phát sinh CTRTC là 0,062 kg/người/ngđ, hệ số phát sinh CTRNH là 0,0075 kg/người/ngđ. Về sự sẵn lòng tham gia của người dân, đa số các hộ gia đình đều sẵn lòng phân loại, tái sử dụng và chuyển giao chất thải (chiếm 70%). Theo kết quả hồi quy về mối tương quan giữa giới tính, độ tuổi, trình độ học vấn, số nhân khẩu, nghề nghiệp, thu nhập với sự sẵn lòng tham gia của người dân về phân loại, thu gom, chuyển giao các CTRNH và CTRTC, thu nhập và trình độ học vấn là 2 yếu tố ảnh hưởng mạnh mẽ nhất tới mức sẵn lòng tham gia của người dân. Nghiên cứu đã đề xuất một số giải pháp giảm thiểu CTRTC và CTRNH trên địa bàn huyện Đông Anh.

Từ khóa: *Chất thải rắn nguy hại, chất thải rắn tái chế, chất thải rắn sinh hoạt, huyện Đông Anh.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Trong bối cảnh phát triển kinh tế - xã hội, quá trình đô thị hóa và sự gia tăng dân số nhanh chóng, tình hình phát sinh CTRSH có xu hướng gia tăng qua các năm đã và đang gây áp lực lớn đến môi trường tại Việt Nam. Theo Tổng cục Môi trường, năm 2022, mỗi ngày cả nước phát sinh khoảng 60.000 tấn chất thải rắn (CTR), trong đó, CTR đô thị chiếm khoảng 60%. Theo dự báo, đến năm 2025, tỷ lệ phát sinh CTRSH dự báo tăng 10 - 16%/năm. Riêng thành phố Hà Nội và thành phố Hồ Chí Minh, dự báo mỗi ngày sẽ phát sinh từ 7.000 - 9.000 tấn CTR [1]. Tại khu vực nông thôn còn tồn tại hiện tượng người dân tự tiêu hủy chất thải tại gia đình bằng các hình thức thủ công hoặc vứt bừa bãi chất thải ra sông suối, đổ thải tại khu vực đất trống. Nếu CTRSH được thu gom thì hầu hết cũng để lộ thiên tập trung tại một khu vực riêng, không có các quy trình xử lý, bảo vệ môi trường (BVMT) hợp vệ sinh (lót thành đáy hố chôn, thu gom và xử lý nước rỉ rác, lấp đất che phủ…) hoặc được xử lý bằng hình thức đốt thủ công. Hoạt động tái chế chất thải còn mang tính nhỏ lẻ, tự phát; công tác tuyên truyền, giáo dục, phổ biến pháp luật về BVMT tới cộng đồng dân cư còn hạn chế [2]. Việc phân loại, thu gom, xử lý và tiêu hủy CTR, đặc biệt là CTRNH đã và đang trở thành một bài toán khó đối với các nhà quản lý tại hầu hết các nước trên thế giới, đặc biệt là ở các nước có nền kinh tế đang phát triển, trong đó có Việt Nam.

Huyện Đông Anh có tỉ lệ dân số ngày một tăng, mức sống dần được nâng cao, kéo theo lượng CTRNH và CTRTC ngày càng nhiều, trong khi đó công tác quản lý chất thải từ khâu phân loại, thu gom, vận chuyển đến khâu xử lý còn lạc hậu, tiềm ẩn nhiều nguy cơ gây ô nhiễm môi trường. Tình trạng người dân vứt rác bừa bãi vẫn còn tồn tại, điểm tập kết rác gây mùi khó chịu cho cư dân sống xung quanh, ảnh hưởng trực tiếp đến sức khỏe của người dân đang là vấn đề cấp bách cần được nghiên cứu và nhận được sự quan tâm từ chính quyền các cấp và

[1]Khoa Môi trường, Trường Đại học Tài nguyên và Môi trường Hà Nội
[2] Viện Môi trường Nông nghiệp, Viện Khoa học Nông nghiệp Việt Nam
[*]Email: btttrang@hunre.edu.vn

toàn thể cộng đồng.

Xuất phát từ những lý do trên, nghiên cứu *"Hiện trạng phân loại, thu gom, chuyển giao các chất thải nguy hại và chất thải tái chế trong sinh hoạt hộ gia đình tại huyện Đông Anh, thành phố Hà Nội"* đã được thực hiện.

2. ĐỐI TƯỢNG, PHẠM VI VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

- Chất thải rắn tái chế và chất thải rắn nguy hại tại xã Vĩnh Ngọc và xã Xuân Canh thuộc huyện Đông Anh, thành phố Hà Nội.

- Sự sẵn lòng tham gia của người dân về phân loại, thu gom, chuyển giao các CTRTC và CTRNH.

2.2. Phạm vi nghiên cứu

Huyện Đông Anh có 23 xã và 01 thị trấn. Hiện nay, tần suất thu gom chất thải trung bình ở khu vực xã Vĩnh Ngọc là 3 lần/tuần và xã Xuân Canh là 1 lần/ngày. Mức thu phí thu gom chất thải của 2 khu vực này cũng có sự khác nhau, phí vệ sinh lần lượt là 4.000 đồng/người/tháng và 3.000 đồng/người/tháng.

Nghiên cứu này lựa chọn điển hình nghiên cứu tại xã Vĩnh Ngọc và xã Xuân Canh thuộc huyện Đông Anh. Trong đó, xã Vĩnh Ngọc là đại diện cho khu vực tập trung khu dân cư đông đúc và xã Xuân Canh đại diện cho khu vực ít dân cư hơn của huyện.

Vĩnh Ngọc là một xã thuộc huyện Đông Anh thành phố Hà Nội, có diện tích đất tự nhiên 929,5 ha, dân số xã là 12.626 người, gồm 4 thôn, có mật độ dân số đạt 1.187 người/km^2. Đây là khu vực tập trung đông dân cư, chủ yếu hoạt động dịch vụ, kinh doanh. Xã Xuân Canh nằm ở phía Nam huyện Đông Anh gần với ngã ba sông Hồng và sông Đuống, có diện tích đất tự nhiên 6,12 km^2 và dân số xã là 10.063 người. Xã Xuân Canh hình thành từ 6 thôn, dân cư thưa thớt hơn. Hai xã này công việc chủ yếu người dân làm nghề nông. Do vậy, đã lựa chọn 2 khu vực điển hình nhất là xã Vĩnh Ngọc và xã Xuân Canh. Từ đó, nghiên cứu có thể đưa ra những kết quả đánh giá khách quan, đồng thời đề xuất giải pháp nâng cao hiệu quả quản lý CTRNH và CTRTC sinh hoạt hộ gia đình tại huyện Đông Anh, thành phố Hà Nội.

2.3. Phương pháp nghiên cứu

2.3.1. Phương pháp nghiên cứu, thu thập số liệu, tài liệu

Tài liệu thứ cấp: nghiên cứu kế thừa có chọn lọc các tài liệu thứ cấp từ các thông tin, số liệu, dữ liệu đã được công bố của các công trình nghiên cứu khoa học, các tài liệu của các cơ quan có thẩm quyền liên quan đến lĩnh vực nghiên cứu, như: điều kiện tự nhiên, kinh tế - xã hội của huyện Đông Anh; thông tin từ các văn bản pháp luật hiện hành liên quan đến quản lý CTRTC và CTRNH huyện Đông Anh đang thực hiện; thông tin từ các báo cáo khoa học liên quan đến thu gom, phân loại, chuyển giao CTRNH và CTRTC ở Việt Nam và trên thế giới.

Tài liệu sơ cấp: tài liệu sơ cấp được thu thập trực tiếp trong quá trình triển khai nghiên cứu qua phiếu điều tra và phỏng vấn trực tiếp người dân tại huyện Đông Anh.

2.3.2. Phương pháp điều tra xã hội học bằng bảng hỏi kết hợp với khảo sát thực địa

Nghiên cứu đã thiết lập 01 mẫu phiếu điều tra đối với người dân xã Vĩnh Ngọc, xã Xuân Canh.

Cỡ mẫu được tính theo công thức của Taro Yamane (1967) [3].

$$n = \frac{N}{(1 + N.e^2)}$$

Trong đó: n là cỡ mẫu điều tra; N là kích cỡ tổng thể; e là mức sai số chấp nhận (e nằm trong khoảng 0,05 đến 0,1).

$$n = \frac{412.878}{1+412.878 \times 0{,}07^2} = 203 \text{ (phiếu)}.$$

Nghiên cứu đã thực hiện với cỡ mẫu là 200 phiếu.

2.3.3. Phương pháp xác định hệ số phát sinh

Các bước tiến hành như sau:

Bước 1: Lựa chọn địa điểm thực nghiệm.

- Trong 200 hộ gia đình phỏng vấn bằng phiếu điều tra, đã chọn ngẫu nhiên 50 hộ để thu gom, phân loại và cân CTRSH, CTRTC và CTRNH.

- Đối tượng: 25 hộ gia đình tại xã Vĩnh Ngọc và 25 hộ tại xã Xuân Canh.

Bước 2: Thu gom chất thải rắn sinh hoạt.

- Phát túi và hướng dẫn cho 50 hộ tham gia thu gom.

- Thu gom, phân loại và cân CTRSH, CTRTC và CTRNH.

- Thực hiện cân liên tục mỗi ngày trong 1 tháng, từ 3 – 30/04/2022.

Bước 3: Phân loại CTRSH.

- CTRSH ban đầu được lấy từ hộ gia đình có khối lượng lớn, sau đó được đổ đống tại một nơi riêng biệt, tiến hành cân tổng khối lượng chất thải.

- Phân loại thủ công chất thải thành 3 loại: CTRTC, CTRNH và chất thải còn lại, đặt mỗi loại vào khay riêng. Sau đó, cân các khay và ghi khối lượng của từng loại.

$$\text{\% Chất thải rắn tái chế} = \frac{\text{Khối lượng CTRTC} \times 100\%}{\text{Tổng khối lượng CTRSH}}$$

$$\text{\% Chất thải rắn nguy hại} = \frac{\text{Khối lượng CTRNH} \times 100\%}{\text{Tổng khối lượng CTRSH}}$$

Chú giải: tổng khối lượng chất thải, CTRTC và CTRNH tính theo đơn vị là kg.

CTRTC gồm nhựa, giấy, kim loại, cao su, ni-nông, thủy tinh, …

CTRNH gồm pin, ắc quy, bóng đèn, thùng sơn, chai lọ đựng chất tẩy rửa, chai lọ đựng chất tẩy rửa, thiết bị điện tử cũ hỏng, …

Bước 4: Xác định khối lượng và hệ số phát sinh của từng loại CTRSH.

- Cân riêng từng loại CTRSH đã phân loại và ghi số liệu vào nhật ký thu gom, đều đặn mỗi ngày.

- Hệ số phát sinh của từng loại chất thải theo công thức (2.1), (2.2) và (2.3) [4].

$$\text{Hệ số phát sinh CTRSH} = \frac{\text{Khối lượng CTRSH}}{\text{Số người x số ngày đêm}} \ \text{(kg/người. ngđ)} \quad (2.1)$$

$$\text{Hệ số phát sinh CTRNH} = \frac{\text{Khối lượng chất thải nguy hại}}{\text{Số người x số ngày đêm}} \left(\frac{\text{kg}}{\text{người}}.\text{ngđ}\right) \quad (2.2)$$

$$\text{Hệ số phát sinh CTRTC} = \frac{\text{Khối lượng chất thải tái chế}}{\text{Số người x số ngày đêm}} \left(\frac{\text{kg}}{\text{người}}.\text{ngđ}\right) \quad (2.3)$$

2.3.4. Phương pháp đánh giá ngẫu nhiên (CVM)

Phương pháp đánh giá ngẫu nhiên được sử dụng trong nghiên cứu để ước lượng mức sẵn lòng tham gia của người dân về phân loại, thu gom, chuyển giao CTRNH và CTRTC để cải thiện dịch vụ môi trường trên địa bàn huyện Đông Anh. Phương pháp này được tiến hành bằng cách phỏng vấn các hộ gia đình về mức sẵn lòng tham gia của họ cho việc nâng cao chất lượng dịch vụ môi trường và các mức này được thu thập thông qua phiếu điều tra.

Nghiên cứu sử dụng mô hình kinh tế lượng hồi quy đa biến để xác định những yếu tố tác động đến mức sẵn lòng tham gia về phân loại, thu gom, chuyển giao CTRNH và CTRTC của các hộ gia đình 2 xã Vĩnh Ngọc và Xuân Canh, huyện Đông Anh như: tuổi, thu nhập, trình độ học vấn, nghề nghiệp, giới tính, nhân khẩu gia đình,… thể hiện trong phương trình sau:

Mô hình hồi quy đa biến được xác định có các dạng như sau (công thức 2.4) [5]:

WTPi = βo+β1 Inc +β2 Edu+β3 Gen +β4 Age+β5 Members +β6 D (2.4)

Trong đó: WTP là mức sẵn lòng tham gia (đơn vị người); βo là hệ số chặn hay hệ số tự do của mô hình (Intercept); β1, β2, β3, β4, β5, β6 là hệ số hồi quy (Coefficients).

Inc: thu nhập. Để thực hiện mô hình tương quan, nghiên cứu sử dụng biến giả với mã hóa biến thu nhập như sau: bằng 1 nếu dưới 5 triệu VNĐ/tháng, bằng 2 nếu từ 5 – 10 triệu VNĐ/tháng, bằng 3 nếu từ 10 – 15 triệu VNĐ/tháng, bằng 4 nếu từ 15 – 20 triệu VNĐ/tháng, bằng 5 nếu từ 20 – 25 triệu VNĐ/tháng, bằng 6 nếu từ 25 – 30 triệu VNĐ/tháng, bằng 7 nếu từ 30 – 35 triệu VNĐ/tháng, bằng 7 nếu trên 35 triệu VNĐ/tháng.

Edu: trình độ học vấn. Để thực hiện mô hình tương quan nghiên cứu sử dụng biến giả với mã hóa biến trình độ học vấn như sau: bằng 1 nếu dưới trung học phổ thông, bằng 2 nếu trung học phổ thông, bằng 3 nếu đại học/cao đẳng/trung cấp, bằng 4 nếu trên đại học.

Gen: giới tính. Để thực hiện mô hình tương quan nghiên cứu sử dụng biến giả với mã hóa biến thu nhập như sau: bằng 1 nếu là nam, bằng 0 nếu là nữ.

Age: tuổi. Để thực hiện mô hình tương quan nghiên cứu sử dụng biến giả với mã hóa biến tuổi như sau: bằng 1 nếu dưới 30 tuổi, bằng 2 nếu từ 30 - 55 tuổi, bằng 3 nếu trên 55 tuổi.

Members: số nhân khẩu.

D: nghề nghiệp. Để thực hiện mô hình tương quan nghiên cứu sử dụng biến giả với mã hóa biến nghề nghiệp như sau: bằng 1 nếu là cán bộ, viên

chức nhà nước, bằng 2 nếu là công nhân, bằng 3 nếu là kinh doanh tự do, bằng 4 nếu là học sinh, sinh viên, bằng 5 nếu nông dân, bằng 6 nếu là nội trợ/nghỉ hưu, bằng 7 nếu làm các ngành nghề khác.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Hiện trạng phát sinh CTRTC và CTRNH tại các hộ gia đình nghiên cứu

Khối lượng và hệ số phát sinh CTRTC và CTRNH

Kết quả thu gom, phân loại và xác định khối lượng CTRSH, CTRTC và CTRNH phát sinh được thực hiện liên tục tại 50 hộ gia đình tại xã Vĩnh Ngọc (25 hộ) và xã Xuân Canh (25 hộ) trong một tháng. Kết quả tính toán thể hiện khối lượng CTRSH phát sinh trong một tháng tại hai khu vực là 4,408,98 kg. Thành phần của CTRSH khá nhiều loại, trong đó, CTRTC là 422,379 kg (chiếm 9,6%), chủ yếu là các loại giấy, nhựa, kim loại, cao su, ni lông, thủy tinh; CTRNH là 52,114 kg (chiếm 1,2%), chủ yếu là các loại bao bì (hóa chất bảo vệ thực vật, dầu nhớt, săm lốp, pin, thiết bị điện,...). Về hệ số phát sinh, so sánh với số liệu trong báo cáo hiện trạng môi trường quốc gia năm 2019, hệ số phát sinh CTRSH trung bình của thành phố Hà Nội là 0,81 kg/người/ngày, trong khi đó, hệ số phát sinh CTRSH tại xã Vĩnh Ngọc là 0,68 kg/người/ngày và xã Xuân Canh là 0,63 kg/người/ngày. Như vậy, hai xã có hệ số phát sinh CTRSH tương đối như nhau và thấp hơn hệ số phát sinh CTRSH trung bình của thành phố Hà Nội. Lý giải cho kết quả này là do 2 huyện thuộc vùng nông thôn nên lượng chất thải ít hơn so với hệ số phát sinh CTRSH bình quân của thành phố Hà Nội [6]. Kết quả thể hiện trong bảng 1 và 2.

Bảng 1. Khối lượng và hệ số phát sinh CTRTC và CTRNH tại xã Vĩnh Ngọc

Tuần	Khối lượng (kg)			Hệ số phát sinh (kg/người.ngđ)		
	CTRSH	CTRTC	CTRNH	CTRSH	CTRTC	CTRNH
01	655,89	62,512	7,687	0,69	0,066	0,0081
02	642,19	61,242	7,592	0,68	0,065	0,0080
03	659,25	62,513	7,669	0,69	0,066	0,0081
04	641,13	60,845	7,584	0,68	0,064	0,0080
Trung bình	649,62	61,778	7,633	0,68	0,065	0,008

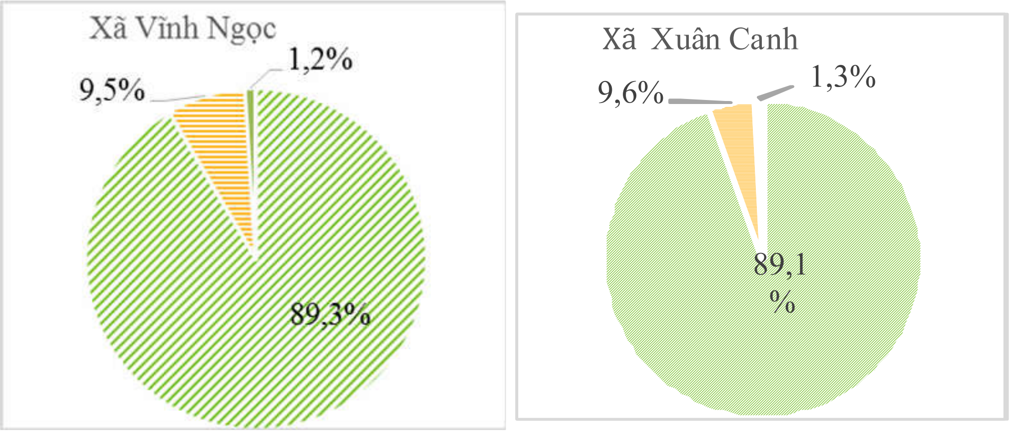
Bảng 1 tổng hợp kết quả xác định hệ số phát sinh CTRTC ở 25 hộ dân có tổng nhân khẩu là 135 người tại xã Vĩnh Ngọc. So với xã Xuân Canh, xã Vĩnh Ngọc là khu tập trung dân cư đông hơn, chủ yếu là các hộ kinh doanh gia đình vừa và nhỏ, mức sống của người dân cao, hệ số phát sinh CTRTC là 0,065 kg/người.ngđ, hệ số phát sinh CTRNH là 0,008 kg/người.ngđ. Bảng 2 tổng hợp kết quả xác định hệ số phát sinh CTRTC ở 25 hộ dân có tổng nhân khẩu là 102 người tại xã Xuân Canh, hệ số phát sinh CTRTC là 0,062 kg/người.ngđ, hệ số phát sinh CTRNH là 0,0075 kg/người.ngđ. Các hoạt động kinh tế của đa số người dân ở xã Xuân Canh là sản xuất nông nghiệp, mức thu nhập chủ yếu dưới 5 triệu đồng/tháng.

Bảng 2. Khối lượng và hệ số phát sinh CTRTC và CTRNH tại xã Xuân Canh

Tuần	Khối lượng (kg)			Hệ số phát sinh (kg/người.ngđ)		
	CTRSH	CTRTC	CTRNH	CTRSH	CTRTC	CTRNH
01	445,16	44,134	5,351	0,62	0,062	0,0075
02	458,72	43,823	5,329	0,64	0,061	0,0075
03	447,39	43,462	5,476	0,62	0,061	0,0076
04	459,25	44,848	5,426	0,64	0,063	0,0076
Trung bình	452,63	44,067	5,396	0,63	0,062	0,0075

Tỉ lệ và thành phần CTRTC, CTRNH.

Đối với xã Vĩnh Ngọc, tổng khối lượng CTRSH trong thời gian điều tra là 2598,46 kg, trong đó CTRTC chiếm 247,112 kg (tương đương 9,5%), CTRNH chiếm một lượng nhỏ khoảng 30,532 kg (tương đương khoảng 1,2%). Đối với xã Xuân Canh, tổng khối lượng CTRSH là 1810,52 kg, trong đó lượng CTRTC khoảng 176,267 kg (khoảng 9,6%) và lượng CTRNH là 23,582 kg (khoảng 1,3%).



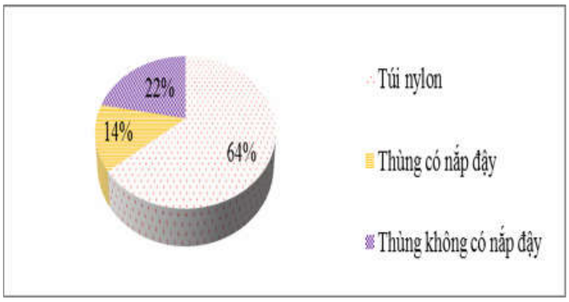
Hình 1. Tỉ lệ CTRSH, CTRTC và CTRNH của các hộ gia đình nghiên cứu

Bảng 3 thể hiện trong thời gian khảo sát đối với 25 hộ dân tại xã Vĩnh Ngọc và 25 hộ dân tại xã Xuân Canh, tỉ lệ chất thải giấy nhiều nhất (27,2%), tiếp theo là chất thải kim loại (21,8%), nilon (19%) và nhựa (13,1%), cao su (10,8%), cuối cùng là thủy tinh (8,1%) trong tổng khối lượng CTRTC. Về CTRNH, tỉ lệ túi nhựa đựng sản phẩm tẩy rửa chiếm % cao nhất (30,2%), sau đó tới chai lọ đựng chất tẩy rửa (22,8%), pin, ắc quy (18,7%), thùng sơn (15,4%), bóng đèn (8,4%), ít nhất là thiết bị điện tử cũ, hỏng (4,5%) trong tổng khối lượng CTRNH.

Bảng 3. Khối lượng và tỷ lệ CTRTC và CTRNH của các hộ gia đình nghiên cứu

TT	Chất thải rắn tái chế			Chất thải rắn nguy hại		
	Loại chất thải	Khối lượng (kg)	Tỷ lệ (%)	Loại chất thải	Khối lượng (kg)	Tỷ lệ (%)
1	Nhựa	55,29	13,1	Pin, ắc quy	10,12	18,7
2	Giấy	115,42	27,2	Bóng đèn	4,54	8,4
3	Kim loại	92,46	21,8	Thùng sơn	8,33	15,4
4	Cao su	45,25	10,8	Chai lọ đựng chất tẩy rửa	12,34	22,8
5	Ni lông	80,58	19,0	Túi nhựa đựng sản phẩm tẩy rửa	16,35	30,2
6	Thủy tinh	34,37	8,1	Thiết bị điện tử cũ, hỏng	2,43	4,5
Tổng		423,37	100		54,11	100

3.2. Nhận thức của người dân về hiện trạng phát sinh CTRTC và CTRNH

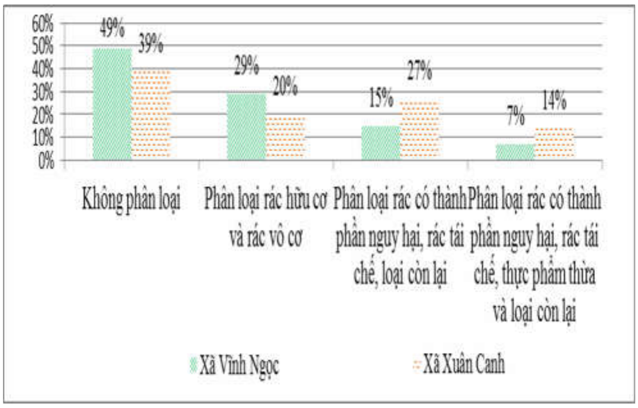


Hình 2. Tỷ lệ vật dụng lưu giữ CTRSH khu vực nghiên cứu

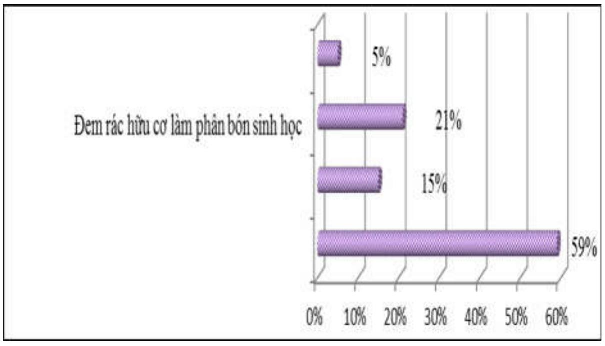
Theo thông tin đã thu thập được từ phiếu điều tra, người dân dùng túi ni lông để chứa CTRSH chiếm số lượng cao nhất (64%). Do túi ni lông tiện lợi, phổ biến nên người dân ưu tiên sử dụng. Người dân sử dụng thùng có nắp đậy chiếm 22%, sử dụng thùng không có nắp đậy chiếm 14%.

Hình 3 cho thấy có 49% và 39% tương ứng với các hộ dân được phỏng vấn tại xã Vĩnh Ngọc và xã Xuân Canh không phân loại chất thải trước khi thải ra môi trường, vì người dân thấy bất tiện, tốn thời gian trong việc phân loại chất thải, họ thường gộp chung CTRTC và CTRNH với CTRSH. Tỉ lệ người dân phân loại CTRSH thành 4 loại: CTRNH, CTRTC, thực phẩm thừa và loại còn lại cả 2 xã đều rất ít.

Kết quả từ phiếu điều tra cho thấy lợi ích khi người dân phân loại CTRTC như: kim loại, nhựa, giấy, vỏ lon nhôm,… có thể bán cho cơ sở thu mua tái chế; chất thải hữu cơ có thể làm phân bón sinh học; ngoài ra có thể giúp đơn vị thu gom thuận tiện phân loại chất thải trước khi xử lý.

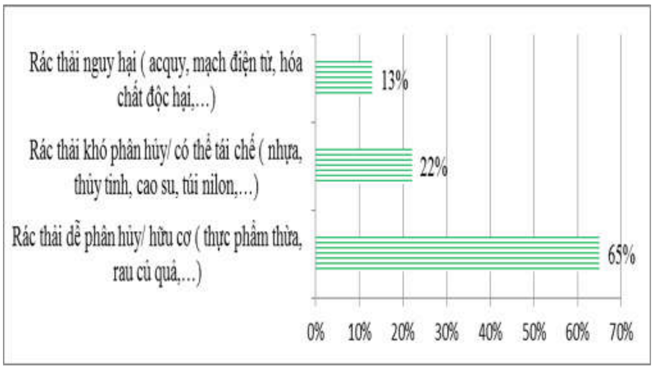


Hình 3. Tỷ lệ phân loại CTRSH tại hộ gia đình nghiên cứu



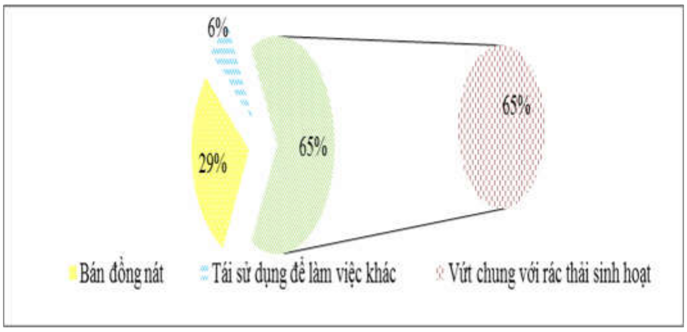
Hình 4. Lợi ích khi người dân phân loại CTRSH tại nguồn

Qua phỏng vấn 200 hộ gia đình cho thấy, các hộ gia đình phát sinh chất thải dễ phân hủy, hữu cơ (thực phẩm thừa, rau củ quả, ...) chiếm tỉ lệ cao 65%. Chất thải khó phân hủy/có thể tái chế (nhựa, thủy tinh, cao su, ni lông, ...) chiếm 22%. Cuối cùng là CTRNH (ắc quy, mạch điện tử, hóa chất độc hại,...) chỉ chiếm 13%.



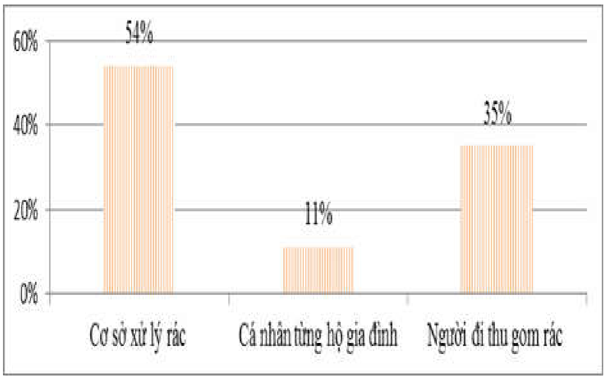
Hình 5. Tỉ lệ chất thải phát sinh tại hộ gia đình nghiên cứu

Kết quả phỏng vấn cũng thể hiện, đa số CTRTC được người dân vứt chung với CTRSH (65%), chỉ 29% người dân phân loại được những thứ bán được như: chai nhựa, giấy, vỏ lon nhôm, sắt, đồng,... còn lại 6% người dân trả lời rằng họ tái sử dụng để làm việc khác.



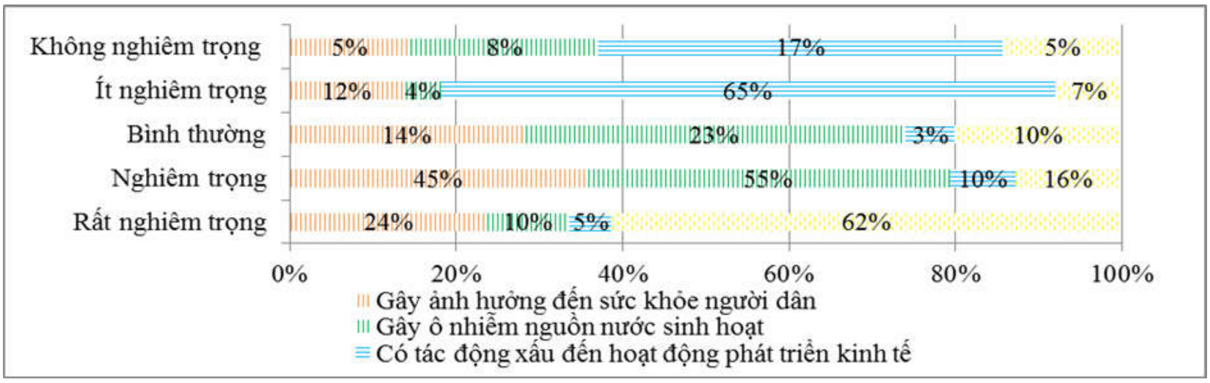
Hình 6. Tác dụng của CTRTC tại hộ gia đình nghiên cứu

Khi được hỏi phân loại CTRSH có cần thiết không thì đa số người dân đều nhận thức là có (chiếm 72%), người dân ý thức được việc phân loại CTRSH giúp góp phần nâng cao nhận thức cộng đồng về bảo vệ và sử dụng hợp lý tài nguyên và môi trường, giảm thiểu tổng lượng rác thải trong cộng đồng thải ra môi trường nhằm giảm tải cho môi trường, tiết kiệm chi phí thu gom, vận chuyển, xử lý. Về trách nhiệm phân loại CTRSH trước khi thải bỏ, phần lớn người dân đều cho rằng đây là trách nhiệm của cơ sở xử lý chất thải (chiếm 54%), tiếp theo là của người đi thu gom rác (chiếm 35%), chỉ có 11% người dân cho rằng đây là trách nhiệm của hộ gia đình.



Hình 7. Trách nhiệm phân loại CTRSH trước khi thải bỏ

Hình 8 cho thấy nhận thức của người dân về mức độ ảnh hưởng do chất thải gây ra tại địa phương. Theo đó, sức khỏe con người và môi trường cảnh quan là hai đối tượng bị tác động tiêu cực nhiều nhất. Nguyên nhân là do thiếu các điểm tập kết tại các khu dân cư và các thùng rác chuyên dụng nên việc để các túi rác ra ngoài lề đường đang làm mất đi sự sạch sẽ của các tuyến đường. Đặc biệt, theo khảo sát thực tế, vào những ngày mưa bão, nước rỉ rác từ các túi rác cũng sẽ trôi về nguồn sông chính hoặc ngấm vào đất gây ô nhiễm môi trường, ảnh hưởng nghiêm trọng tới sức khỏe con người và môi trường.



Hình 8. Tỷ lệ mức độ ảnh hưởng do chất thải gây ra tại địa phương

Về nội dung đánh giá sự sẵn lòng tham gia của người dân trong việc phân loại, thu gom, chuyển giao các CTRNH và CTRTC trong sinh hoạt hộ gia đình, đa số các hộ gia đình đều sẵn lòng phân loại, tái sử dụng, tái chế tại nhà, chuyển giao chất thải (70%). Khi được hỏi sự sẵn lòng tham gia các chương trình về phân loại, tái chế rác thải của địa phương, 89% đồng ý tham gia; khi được hỏi về sự sẵn lòng tham gia các chương trình về phân loại và chuyển giao CTRNH của địa phương, 75% đồng ý tham gia. Ngoài ra, 85% người dân đều sẵn lòng kêu gọi người thân, bạn bè thực hiện phân loại CTRSH tại nguồn, sau đó tái sử dụng, tái chế tại nhà hoặc thu gom, chuyển giao chất thải cho đơn vị thu gom.

3.3. Mối tương quan giữa giới tính, độ tuổi, trình độ học vấn, số nhân khẩu, nghề nghiệp, thu nhập với sự sẵn lòng tham gia của người dân về phân loại, thu gom, chuyển giao các CTRNH và CTRTC

Bảng 4. Kết quả hồi quy biến phụ thuộc WTP của các hộ gia đình thực hiện khảo sát

Chỉ tiêu	WTP	
	Coeficients (hệ số)	P – Value
C (hằng số)	0,731	0,008
Inc (thu nhập)	0,039	0,044
Edu (học vấn)	0,046	0,421
D (nghề nghiệp)	-0,014	0,630
Gen (giới tính)	-0,008	0,913
Age (tuổi)	-0,001	0,731
Members (số nhân khẩu)	0,016	0,550

Nghiên cứu đã tiến hành hồi quy bằng công cụ Regression trong phần mềm Excel để phân tích các yếu tố ảnh hưởng đến mức sẵn lòng tham gia WTP, trong đó biến độc lập gồm có giới tính, độ tuổi, trình độ học vấn, số nhân khẩu, thu nhập, nghề nghiệp. Kết quả chạy mô hình hồi quy được thể hiện trong bảng 4.

Phương trình hồi quy viết dưới dạng: WTP =0,731 + 0,039 Inc + 0,046 Edu – 0,014 D – 0,008 Gen – 0,001 Age + 0,016 Members.

Kết quả phân tích cho thấy hệ số tương quan bội (Multiple R) xấp xỉ 0,135425 mô hình hồi quy tuyến tính được chọn là rất phù hợp.

R-Square = 0,745 có nghĩa rằng các biến độc lập trong mô hình (thu nhập, học vấn, giới tính, biến tuổi, nhân khẩu và nghề nghiệp) đã giải thích được khoảng 74,5% sự biến động của Y (mức sẵn lòng tham gia). 25,5% còn lại là do các yếu tố ngẫu nhiên và các yếu tố khác không có trong mô hình. Quan sát mô hình cho thấy, biến thu nhập, trình độ học vấn tỷ lệ thuận với biến mức sẵn lòng tham gia WTP, các biến còn lại ít có ảnh hưởng tới biến mức sẵn lòng tham gia WTP.

Thứ nhất, thu nhập càng cao thì mức sẵn lòng tham gia càng cao. Khi các biến khác không đổi, thu nhập tăng 1 mức thì mức sẵn lòng tham gia tăng 0,039. Ta có: P-Value (0,044) < 0,05, chứng tỏ biến thu nhập có quan hệ chặt chẽ với biến WTP.

Thứ hai, trình độ học vấn càng cao thì mức sẵn lòng tham gia cho việc tính phân loại, thu gom, chuyển giao chất thải nguy hại và chất thải tái chế càng cao, do học vấn đi đôi với hiểu biết nên họ nhận thấy được nhu cầu cần thiết cũng như sự đóng góp của cộng đồng cho việc phân loại, thu gom, chuyển giao chất thải. Khi các biến khác không đổi, trình độ học vấn tăng 1 thì mức sẵn lòng tham gia tăng 0,046. Ta có: P-Value (0,421) > 0,05, chứng tỏ biến trình độ học vấn không có quan hệ chặt chẽ với biến WTP.

Thứ ba, tùy thuộc từng nghề có thu nhập càng cao sẽ có nhận thức rõ ràng về việc sẵn lòng tham gia cho phân loại, thu gom, chuyển giao chất thải. P-

Value (0,630) > 0,05, chứng tỏ biến nghề nghiệp không có quan hệ chặt chẽ với biến WTP.

Thứ tư, giới tính nữ (biến giới tính bằng 0) sẵn sàng tham gia cao hơn cho việc phân loại, thu gom, chuyển giao chất thải so với giới tính nam (biến giới tính bằng 1). Khi các biến khác không đổi, nam giới sẵn sàng tham gia thấp hơn nữ giới 0,008. P-Value (0,913) > 0,05, chứng tỏ biến giới tính không có quan hệ chặt chẽ với biến WTP.

Thứ năm, độ tuổi càng lớn thì mức sẵn lòng tham gia càng giảm, điều đó chứng tỏ, người càng trẻ tuổi có nhu cầu phân loại, thu gom, chuyển giao chất thải và hiểu rõ được tầm quan trọng phân loại, thu gom, chuyển giao chất thải cao hơn so với người lớn tuổi do họ có điều kiện tiếp xúc với các phương tiện thông tin đại chúng nhiều hơn. Khi các biến khác không đổi, độ tuổi tăng 1 đơn vị thì mức sẵn lòng chi trả giảm 0,001 sự sẵn lòng tham gia. Ta có: P-Value (0,731) > 0,05, chứng tỏ biến tuổi không có quan hệ chặt chẽ với biến WTP.

Thứ sáu, biến số nhân khẩu có thể ảnh hưởng nhất định đến mức sẵn lòng tham gia WTP, nhưng không có mối quan hệ chặt chẽ với mức WTP. Số thành viên trong gia đình có liên quan đến thu nhập của cả hộ gia đình và các nhu cầu chi tiêu trong cuộc sống: số thành viên đông thì nhu cầu chi tiêu càng lớn và lượng chất thải ra càng nhiều. Tuy nhiên số lượng thành viên trong gia đình nhiều hay ít thì mức sẵn lòng tham gia vẫn không có gì thay đổi do mức phí được tính theo hộ. Khi các biến khác không đổi, số nhân khẩu tăng 1 đơn vị thì mức sẵn lòng tham gia tăng 0,016. P-Value (0,550) > 0,05, chứng tỏ biến nhân khẩu không có quan hệ chặt chẽ với biến WTP.

Nhận xét: theo kết quả hồi quy, thu nhập và trình độ học vấn là yếu tố ảnh hưởng mạnh mẽ nhất tới mức sẵn lòng tham gia của người dân. Ngoài ra, mức sẵn lòng tham gia còn phụ thuộc vào các yếu tố khác như nghề nghiệp, số nhân khẩu, tuổi, giới tính, sự ngẫu nhiên, trả lời theo cảm tính của đối tượng được phỏng vấn.

3.4. Đề xuất một số giải pháp giảm thiểu CTRTC và CTRNH trên địa bàn huyện Đông Anh

Giải pháp quản lý:

- Thành lập tổ tuyên truyền: giúp người dân hiểu được mục đích và ý nghĩa của việc phân loại CTRSH tại nguồn thông qua truyền thanh, truyền hình,… để họ có ý thức và tự nguyện tham gia một cách tích cực nhất vào việc phân loại. Đồng thời, đây là đội tiên phong trong các hoạt động BVMT và có khả năng giải đáp các thắc mắc của người dân các vấn đề về phân loại CTRSH.

- Thành lập ban giám sát: với nhiệm vụ chính là phối hợp với các lực lượng tuyên truyền viên để vận động, hướng dẫn người dân thực hiện phân loại CTRSH tại nguồn và kiểm tra hiệu quả của việc thực hiện, nhắc nhở những trường hợp vi phạm các quy định về phân loại chất thải tại nguồn. Ban giám sát cũng là đối tượng phổ biến và hướng dẫn việc đăng ký phân loại rác tại nguồn đến các hộ dân.

- Thành lập tổ soạn thảo các văn bản pháp luật, quy định nhằm đưa ra các quy định, quy chế về:

+ Xây dựng cơ chế giám sát, khiếu nại tố cáo, xử phạt và cưỡng chế các hành vi xả CTRSH bừa bãi và không thực hiện đúng công tác phân loại CTRSH tại nguồn.

+ Khen thưởng: tuyên dương, trao giấy khen, thưởng cho các hộ dân đã thực hiện tốt phân loại CTRSH tại nguồn và có những ý kiến đóng góp hay cho đề án (đưa phần đánh giá vào trong tiêu chí xếp loại gia đình văn hóa, tổ dân phố văn hóa, kết quả thi đua giữa các khu phố…).

+ Xử phạt: phê bình và cảnh cáo trước tổ dân phố, UBND xã, phường vì đã không thực hiện tốt phân loại CTRSH tại nguồn.

- UBND xã, ban văn hóa thông tin, ban điều hành khu phố phát động phong trào thi đua giữa các tổ dân phố với các giải thưởng nhất định. Từ đó phong trào sẽ được tổ trưởng tổ dân phố phát động đến từng hộ gia đình. Sau mỗi tháng tổng kết, tuyên dương những tổ dân phố thực hiện tốt việc phân loại và kiểm toán trao giải. Điều này sẽ khuyến khích người dân hăng hái thực hiện phân loại.

- Tổ chức các cuộc tham quan, hội thảo giữa các tập thể, cá nhân tiêu biểu có những đóng góp trong công tác phân loại rác tại nguồn để cùng trao đổi, học hỏi kinh nghiệm.

Giải pháp về kinh tế:

Căn cứ theo kết quả điều tra, có 49% và 39% tương ứng với các hộ dân được phỏng vấn tại xã Vĩnh Ngọc và xã Xuân Canh không phân loại CTRSH trước khi thải bỏ, vì người dân thấy bất tiện, tốn thời gian trong việc phân loại; vì vậy, chính quyền địa phương có thể áp dụng một số chính sách kinh tế

như: giảm phí thu gom CTRSH đối với các hộ gia đình, cơ sở sản xuất sẵn lòng phân loại, thu gom, chuyển giao CTRTC và CTRNH. Khoản chi phí này có thể bù lại thông qua việc bán (tiêu thụ) các sản phẩm tái chế. Bên cạnh đó, hỗ trợ kinh phí đầu tư cho việc mua sắm các dụng cụ đựng chất thải phân loại, khen thưởng đối với các hộ gia đình, các địa phương làm tốt việc phân loại, thu gom, tái chế, chuyển giao CTRTC và CTRNH.

Giải pháp về truyền thông:

Theo kết quả khảo sát quản lý CTRTC và CTRNH thì mô hình phân loại chất thải chưa được triển khai rộng rãi, việc tiếp cận với công nghệ thông tin, nhận thức về tác hại của CTRNH và tác dụng của CTRTC của nhiều người dân còn hạn chế. Hiện nay việc phát động tổng vệ sinh, cũng như sự tham gia của người dân không được duy trì thường xuyên, vì vậy cần đẩy mạnh các hình thức tuyên truyền, phổ biến nâng cao nhận thức về những tác hại của việc thải bỏ các sản phẩm có CTRNH và CTRTC ra môi trường; lợi ích của việc sử dụng các sản phẩm thay thế, thân thiện với môi trường thông qua các kênh truyền thông: phát thanh, họp cộng đồng, băng rôn,...Tổ chức tuyên truyền về các mô hình, biện pháp phân loại CTRSH tại nguồn, đẩy mạnh thu gom và tăng dần tỷ lệ tái chế chất thải tại các xã. Phối hợp giữa UBND với các đoàn thể (hội phụ nữ, hội nông dân, đoàn thanh niên,...) lồng ghép các hoạt động nâng cao nhận thức của người dân trong việc giảm thiểu CTRNH và CTRTC.

4. KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã đánh giá hiện trạng phát sinh CTNH và CTTC như sau: khối lượng CTRSH trong một tháng ở xã Vĩnh Ngọc và xã Xuân Canh là 4.408.98 kg. Ở xã Vĩnh Ngọc, hệ số phát sinh CTRSH là 0,68 kg/người/ngđ, hệ số phát sinh CTTC là 0,065 kg/người/ngđ, hệ số phát sinh CTNH là 0,008 kg/người/ngđ. Ở xã Xuân Canh, hệ số phát sinh CTRSH là 0,63 kg/người/ngđ, hệ số phát sinh CTTC là 0,062 kg/người/ngđ, hệ số phát sinh CTNH là 0,0075kg/người/ngđ.

Nghiên cứu đã đánh giá nhận thức của người dân về hiện trạng phát sinh CTTC và CTNH. Đồng thời, đánh giá sự sẵn lòng tham gia của người dân về phân loại, thu gom, chuyển giao các CTNH và CTTC trong sinh hoạt hộ gia đình. Đa số các hộ gia đình đều sẵn lòng phân loại, tái sử dụng, tái chế tại nhà, chuyển giao rác thải (chiếm 70%).

Nghiên cứu đã đánh giá mối tương quan giữa giới tính, độ tuổi, trình độ học vấn, số nhân khẩu, nghề nghiệp, thu nhập với sự sẵn lòng tham gia của người dân về phân loại, thu gom, chuyển giao các CTNH và CTTC. Theo kết quả hồi quy, thu nhập và trình độ học vấn là 2 yếu tố ảnh hưởng mạnh mẽ nhất tới mức sẵn lòng tham gia của người dân. Nghiên cứu đã đề xuất một số giải pháp giảm thiểu CTTC và CTNH trên địa bàn huyện Đông Anh.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu là một phần của đề tài cấp cơ sở "Đánh giá sự sẵn lòng tham gia của người dân về phân loại, thu gom, chuyển giao các chất thải nguy hại và chất thải tái chế trong sinh hoạt hộ gia đình tại thành phố Hà Nội", Mã số: 13.01.22.K.12, Trường Đại học Tài nguyên và Môi trường Hà Nội. Các tác giả xin trân trọng cảm ơn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Phạm Hoàng Giang, Trần Yêm (2022). Một số vấn đề liên quan tới chất thải rắn sinh hoạt ở Việt Nam và đề xuất giải pháp trong thời gian tới. *Tạp chí Môi trường số 5/2022.*

2. Bộ Tài nguyên và Môi trường (2020). *Báo cáo môi trường Quốc gia giai đoạn 2019.* Nhà xuất bản Dân trí.

3. Taro Yamane (1967). *Statistics an Introductory Analysis.* 2nd Edition, New York, Harper and Row Publisher.

4. Nguyễn Văn Phước (2015). *Quản lý và xử lý chất thải rắn.* Nhà xuất bản Đại học Quốc gia thành phố Hồ Chí Minh.

5. Bolt, K., Ruta, G. and Sarraf, M. (2005). *Estimating the cost of environmental degradation.* [pdf] WB: The World Bank Environment Department.

6. Bộ Tài nguyên và Môi trường (2019). *Báo cáo hiện trạng môi trường Quốc gia: Chuyên đề quản lí chất thải rắn sinh hoạt.* Nhà xuất bản Dân trí.

CURRENT STATUS, CLASSIFICATION, COLLECTION, TRANSFER OF HAZARDOUS AND RECYCLED SOLID WASTE OF HOUSEHOLD IN DONG ANH DISTRICT, HA NOI CITY

Bui Thi Thu Trang, Nguyen Thi Hong Hanh, Hoang Thi Hue,

Nguyen Thi Hoai Thuong, Mai Van Trinh, Ho Thuy Quynh

Summary

The study used the method of data collection, sociological investigation combined with field survey, determination of generation coefficient and Contingent valuation method to assess the current status of classification, collection and transfer of hazardous solid waste and recycled solid waste in household activities, people's awareness and willingness to participate in waste classification, reuse and transfer in Dong Anh district, Hanoi city. Research results show that the volume of domestic solid waste by a month in Vinh Ngoc and Xuan Canh communes is 4,408.98 kg. In Vinh Ngoc commune, the domestic solid waste generation coefficient is 0.68 kg/person/day, the recycled solid waste generation coefficient is 0.065 kg/person/day, the hazardous solid waste generation coefficient is 0.008 kg/person/day. In Xuan Canh commune, the domestic solid waste generation coefficient is 0.63 kg/person/day, the recycled solid waste generation coefficient is 0.062 kg/person/day, the hazardous solid waste generation coefficient is 0.0075 kg/person/day. Regarding the willingness of the people to participate, the majority of households are willing to classificate, reuse and transfer waste (70%). According to the regression results on the correlation between gender, age, education level, demographics, occupation, income and people's willingness to participate in classification, collection and transfer of hazardous solid wastes and recycled solid waste, income and education level are the two factors that have the strongest influence on people's willingness to participate. The study has proposed some solutions to reduce solid waste and hazardous waste in Dong Anh district.

Keywords: *Hazardous solid waste, recycled solid waste, domestic solid waste, Dong Anh district.*

Người phản biện: TS. Đào Văn Hiền

Ngày nhận bài: 9/9/2022

Ngày thông qua phản biện: 26/9/2022

Ngày duyệt đăng: 16/11/2022

THÔNG BÁO
Về việc chấp nhận Đơn đăng ký bảo hộ giống cây trồng mới

Văn phòng Bảo hộ giống cây trồng – Cục Trồng trọt thông báo chấp nhận đơn đăng ký bảo hộ giống cây trồng mới sau:

TT	Số đơn	Ngày nộp đơn	Tên giống	Tên loài	Đại diện của chủ đơn	Chủ sở hữu giống cây trồng	Tác giả chính	Ngày đơn hợp lệ
1	2022_114	10/11/2022	DKT1	Lúa – *Oryza sativa* L.	Không	Công ty Cổ phần công nghệ Nông nghiệp DKT	Nguyễn Thị Cẩm Tú	14/12/2022
2	2022_115	14/11/2022	TBM189	Ngô – *Zea mays* L.	Không	Công ty Cổ phần tập đoàn Thaibinh Seed	Trần Mạnh Báo	05/12/2022
3	2022_116	15/11/2022	Tiền Hải 6	Lúa – *Oryza sativa* L.	Không	Công ty Cổ phần tập đoàn giống cây trồng Tiền Hải Thái Bình	Tô Đình Chiến	05/12/2022
4	2022_117	15/11/2022	Tiền Hải 8					
5	2022_118	18/11/2022	PS8282	Ngô – *Zea mays* L.	Công ty TNHH Bayer Việt Nam	Monsanto Technology LLC	Jean Jose Somera	05/12/2022
6	2022_119	18/11/2022	HD6	Lúa – *Oryza sativa* L.	Không	Viện Cây lương thực và Cây thực phẩm	Phạm Thiên Thành và Tăng Thị Diệp	05/12/2022
7	2022_120	21/11/2022	VN18	Lúa – *Oryza sativa* L.	Không	Lê Hùng Lĩnh	Lê Hùng Lĩnh	05/12/2022
8	2022_121	21/11/2022	VA.69	Dưa chuột – *Cucumis sativus* L.	Công ty TNHH Phát triển Nông nghiệp Việt Á	JinzhouXinyuan Shijia Seed Industry Co., Ltd	LU JIAN	25/11/2022
9	2022_122	21/11/2022	CHOCOLONY	Ớt – *Capsicum annuum* L.	Công ty TNHH Rijk Zwaan Việt Nam	Rijk Zwaan Zaadteelt En Zaadhandel B.V.	Rijk Zwaan Zaadteelt En Zaadhandel B.V.	05/12/2022

QUYẾT ĐỊNH
Về việc cấp Bằng bảo hộ giống cây trồng

Căn cứ Quyết định về việc cấp Bằng bảo hộ giống cây trồng mới của Cục trưởng Cục Trồng trọt;

Văn phòng Bảo hộ Giống cây trồng - Cục Trồng trọt thông báo:

Cấp Bằng bảo hộ giống cây trồng mới:

TT	Số đơn	Số bằng	Tên giống	Tên loài	Chủ sở hữu	Tác giả	Thời gian bảo hộ
1	2019_162	53.VN.2022	LA OR	Hành – *Allium cepa* L. var. cepa	Công ty TNHH East – West Seed (Hai Mũi Tên Đỏ)	Công ty TNHH East – West Seed (Hai Mũi Tên Đỏ)	20 năm
2	2021_24	54.VN.2022	DLFARIS1	Hoa Cúc – *Chrysanthemum* L.	Deliflor Royalties B.V.	Arie Gerard Post	20 năm

3	2021_25	55.VN.2022	DLFDGRN5	Hoa Cúc – *Chrysanthemum* L.	Deliflor Royalties B.V.	Arie Gerard Post	20 năm
4	2021_26	56.VN.2022	DLFROSL10	Hoa Cúc – *Chrysanthemum* L.	Deliflor Royalties B.V.	Arie Gerard Post	20 năm
5	2021_27	57.VN.2022	DLFYIN2	Hoa Cúc – *Chrysanthemum* L.	Deliflor Royalties B.V.	Arie Gerard Post	20 năm
6	2021_28	58.VN.2022	DLFYIN9	Hoa Cúc – *Chrysanthemum* L.	Deliflor Royalties B.V.	Arie Gerard Post	20 năm
7	2019_170	59.VN.2022	SAKIMP047	Mai địa thảo – *Impatiens* New Guinea Group.	Sakata Seed Corporation	Chihiro Sato	20 năm
8	2019_171	60.VN.2022	SAKIMP048	Mai địa thảo – *Impatiens* New Guinea Group.	Sakata Seed Corporation	Chihiro Sato	20 năm
9	2019_172	61.VN.2022	SAKIMP044	Mai địa thảo – *Impatiens* New Guinea Group.	Sakata Seed Corporation	Chihiro Sato	20 năm
10	2019_173	62.VN.2022	SAKIMP052	Mai địa thảo – *Impatiens* New Guinea Group.	Sakata Seed Corporation	Chihiro Sato	20 năm
11	2019_174	63.VN.2022	SAKIMP053	Mai địa thảo – *Impatiens* New Guinea Group.	Sakata Seed Corporation	Chihiro Sato	20 năm
12	2019_175	64.VN.2022	SAKIMP054	Mai địa thảo – *Impatiens* New Guinea Group.	Sakata Seed Corporation	Chihiro Sato	20 năm
13	2019_176	65.VN.2022	SAKIMP056	Mai địa thảo – *Impatiens* New Guinea Group.	Sakata Seed Corporation	Chihiro Sato	20 năm
14	2019_177	66.VN.2022	SAKIMP058	Mai địa thảo – *Impatiens* New Guinea Group.	Sakata Seed Corporation	Chihiro Sato	20 năm
15	2021_146	67.VN.2022	PHALHORDIN	Lan hồ điệp – *Phalaenopsis* Bl.	Anthura B.V.	Martinus Nicolaas Gerardus van Swieten.	20 năm
16	2021_147	68.VN.2022	PHALHOCH	Lan hồ điệp – *Phalaenopsis* Bl.	Anthura B.V.	Martinus Nicolaas Gerardus van Swieten.	20 năm
17	2021_148	69.VN.2022	ANTHFUNCNI	Hoa hồng môn – *Anthurium* Schott.	Anthura B.V.	Jan van Dijk	20 năm
18	2021_149	70.VN.2022	ANTHFESCID	Hoa hồng môn – *Anthurium* Schott.	Anthura B.V.	Jan van Dijk	20 năm