

TẠP CHÍ

**NÔNG NGHIỆP
& PHÁT TRIỂN NÔNG THÔN**

ISSN 1859 - 4581

NĂM THỨ HAI MƯƠI TƯ

**SỐ 472 NĂM 2024
XUẤT BẢN 1 THÁNG 2 KỲ**

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

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

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

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

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

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

MỤC LỤC

- ❑ ĐÀO THỊ HỒNG VÂN, NGUYỄN ĐẮC TIẾN, VƯƠNG THỊ THIẾT, 3-13
NGUYỄN THỊ NGỌC ANH, ĐÌNH TRƯỜNG SƠN. Phân lập và đánh
giá đa dạng di truyền của một số chủng giống vi khuẩn nội sinh
trong cây khoai tây bằng chỉ thị RAPD và ISSR
- ❑ NGUYỄN TRUNG ĐỨC, NGUYỄN THỊ NGUYỆT ANH, PHẠM 14-23
QUANG TUÂN, PHẠM THU HẰNG, PHẠM XUÂN HỘI, HÀ VIỆT
SƠN, VŨ VĂN LIẾT. Đặc điểm nông học và khả năng thích ứng của
các mẫu giống dưa thơm mới
- ❑ PHẠM ĐỨC TOÀN, NGUYỄN KHÁNH NGỌC HÀ, BÙI CÁCH 24-31
TUYẾN. Phát triển quy trình multiplex RT-PCR phát hiện *Cymbidium*
Mosaic virus (CymMV) và *Odontoglossum Ringspot virus* (ORSV)
gây bệnh trên hoa lan
- ❑ LÊ THỊ MỸ THU, LÝ NGỌC THANH XUÂN, TRẦN THỊ HƯƠNG 32-45
LAN, NGUYỄN HUỲNH MINH ANH, NGUYỄN QUỐC KHƯƠNG.
Ảnh hưởng của nấm *Trichoderma* spp. đến hấp thu NPK và chất
lượng trái khóm trồng trên đất phèn tại tỉnh Hậu Giang
- ❑ NGUYỄN THỊ LÂM ĐOÀN, ĐẶNG THẢO YẾN LINH. Nghiên cứu 46-56
định danh *Pediococcus* sp. DH6.4 sinh tổng hợp Bacteriocin
- ❑ NGUYỄN THANH TRÚC, HUỲNH THỊ HOA, CAO THỊ CẨM TIỀN, 57-65
NGUYỄN THỊ THÙY DUNG, NGUYỄN THỊ VÂN LINH. Ảnh hưởng
của nhiệt độ và thời gian đến hiệu quả trích ly và chất lượng dầu bơ
Hass (*Persea americana*)
- ❑ NGUYỄN VĂN LỢI, LÊ ANH TUẤN, NGUYỄN THỊ THANH NGỌC. 66-78
Nghiên cứu xây dựng quy trình chế biến mứt từ vỏ chanh leo
- ❑ NGUYỄN HẢI SƠN, VÕ VĂN BÌNH, ĐẶNG THỊ LỰA. Nghiên cứu 79-89
đặc điểm sinh học sinh sản của cá măng (*Elopichthys bambusa*
Richarson, 1844) trong điều kiện nuôi giữ
- ❑ KIM MINH ANH, VŨ ĐỨC MẠNH, VŨ TUẤN ANH, NGUYỄN THỊ 90-100
HẠNH TIỀN, NGUYỄN THỊ THU HIỀN, HOÀNG THỊ THU HƯƠNG,
KIM VĂN VẠN. Hiện trạng và một số giải pháp phát triển bền vững
nghề nuôi cá lồng tại hồ Hòa Bình, tỉnh Hòa Bình

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

THE TWENTY FOURTH YEAR
No. 472 - 2024

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

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

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

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

Printing in Hoang Quoc Viet
technology and science
joint stock company

CONTENTS

❑ DAO THI HONG VAN, NGUYEN DAC TIEN, VUONG THI THIET, NGUYEN THI NGOC ANH, DINH TRUONG SON. Isolation and evaluation of genetic diversity of some endophytic bacteria isolated from potato using RAPD and ISSR markers	3-13
❑ NGUYEN TRUNG DUC, NGUYEN THI NGUYET ANH, PHAM QUANG TUAN, PHAM THU HANG, PHAM XUAN HOI, HA VIET SON, VU VAN LIET. Agronomic performance and adaptation of newly introduced melon varieties	14-23
❑ PHAM DUC TOAN, NGUYEN NGOC KHANH HA, BUI CACH TUYEN. Development of multiplex RT-PCR for detection of <i>Cymbidium Mosaic virus (CymMV)</i> and <i>Odontoglossum Ringspot virus (ORSV)</i> in orchids	24-31
❑ LE THI MY THU, LY NGOC THANH XUAN, TRAN THI HUONG LAN, NGUYEN HUYNH MINH ANH, NGUYEN QUOC KHUONG. Impacts of <i>Trichoderma</i> spp. fungi on NPK uptakes and fruit qualities of pineapples grown in acid sulfate soil in Hau Giang province, Vietnam	32-45
❑ NGUYEN THI LAM DOAN, DANG THAO YEN LINH. Identification research <i>Pediococcus</i> sp. DH6.4 bacteriocin biosynthesis	46-56
❑ NGUYEN THANH TRUC, HUYNH THI HOA, CAO THI CAM TIEN, NGUYEN THI THUY DUNG, NGUYEN THI VAN LINH. Effects of temperature and time on the extraction efficiency and quality of oil from Hass avocado (<i>Persea americana</i>)	57-65
❑ NGUYEN VAN LOI, LE ANH TUAN, NGUYEN THI THANH NGOC. Study and develop the processing process jam from passion fruit peel	66-78
❑ NGUYEN HAI SON, VO VAN BINH, DANG THI LUA. Study on the reproduction biology characteristics of yellowcheek (<i>Elopichthys bambusa</i> Richardson, 1844) under culture conditions	79-89
❑ KIM MINH ANH, VU DUC MANH, VU TUAN ANH, NGUYEN THI HANH TIEN, NGUYEN THI THU HIEN, HOANG THI THU HUONG, KIM VAN VAN. Current status and some solutions for sustainable development of cage culture in Hoa Binh reservoir, Hoa Binh province	90-100

PHÂN LẬP VÀ ĐÁNH GIÁ ĐA DẠNG DI TRUYỀN CỦA MỘT SỐ CHỦNG GIỐNG VI KHUẨN NỘI SINH TRONG CÂY KHOAI TÂY BẰNG CHỈ THỊ RAPD VÀ ISSR

Đào Thị Hồng Vân¹, Nguyễn Đắc Tiến²,
Vương Thị Thiết², Nguyễn Thị Ngọc Anh¹, Đinh Trường Sơn^{2,*}

TÓM TẮT

Đã phân lập và khảo sát ảnh hưởng của việc lây nhiễm 35 chủng giống vi sinh vật nội sinh phân lập từ rễ cây khoai tây lên sự nảy mầm của hạt rau cải, từ đó lựa chọn được 14 chủng giống vi sinh vật phục vụ phân tích sự đa dạng di truyền với 15 chỉ thị RAPD và 13 ISSR. Hai nhóm chỉ thị đã nhân bản được tổng số 323 locus, trong đó tỷ lệ các locus đa hình trung bình đạt 97,98% đối với chỉ thị RAPD và 98,56% đối với chỉ thị ISSR. 28 chỉ thị đã nhân bản được 1.969 sản phẩm PCR. 14 chủng giống vi sinh vật phân lập được có sự đa dạng di truyền dao động từ 0,34 - 0,96. Tại giá trị trung bình của hệ số tương đồng di truyền là 0,57; 14 chủng giống vi sinh vật có thể được phân thành 3 nhóm chính. Như vậy, sự đa dạng di truyền của 14 chủng giống vi sinh vật phân lập được là rất cao. Các chủng giống vi khuẩn có thể được sử dụng cho các nghiên cứu thử nghiệm trên cây khoai tây trong điều kiện *in vitro* cũng như ngoài nhà lưới hoặc đồng ruộng.

Từ khóa: *Vi khuẩn nội sinh, chỉ thị phân tử, ISSR, RAPD, đa dạng di truyền.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Khoai tây là loài cây nông nghiệp ngắn ngày, có vai trò chính trong việc đảm bảo an ninh lương thực toàn cầu. Ở Việt Nam, khoai tây được trồng khá rộng rãi vào vụ đông ở miền Bắc và đóng vai trò làm thực phẩm là chủ yếu [1]. Bên cạnh yêu cầu về chất lượng thì người trồng khoai tây luôn mong muốn có được năng suất cao. Cho nên việc sử dụng phân bón vô cơ và hữu cơ khi trồng khoai tây là khá phổ biến. Việc sử dụng phân bón vô cơ và hữu cơ trong trồng trọt nếu không hợp lý sẽ không những làm giảm hiệu quả kinh tế, gây lãng phí mà còn làm ảnh hưởng tới sức khỏe của đất. Chính vì vậy, nhiều biện pháp canh tác nhằm phát triển nông nghiệp bền vững đã và đang được triển khai nghiên cứu, áp dụng, trong đó có sử dụng vi sinh vật có lợi cho cây trồng [2, 3].

Hệ vi sinh vật nội sinh trong cây khoai tây nói riêng và thực vật nói chung có vai trò quan trọng

trong toàn bộ quá trình sinh trưởng, phát triển của cây trồng. Chính vì vậy, việc phân lập, nghiên cứu, đánh giá đa dạng di truyền nhóm vi sinh vật nội cộng sinh trong cây khoai tây có thể góp phần đưa ra các giải pháp trồng trọt tốt hơn [2, 3].

Trong các nhóm chỉ thị phân tử, chỉ thị RAPD và ISSR được sử dụng khá phổ biến để đánh giá đa dạng di truyền do có nhiều ưu điểm như đơn giản, hiệu quả, yêu cầu lượng ADN nhỏ, tính đa hình cao, dễ dàng triển khai [4 - 8]. Nghiên cứu này được thực hiện nhằm phân lập, lựa chọn và khảo sát sự đa dạng di truyền của các chủng giống vi sinh vật nội sinh trong cây khoai tây nhằm cung cấp thông tin cũng như làm cơ sở cho công tác đánh giá ảnh hưởng của các chủng giống lên cây khoai tây.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Đối tượng: Các chủng giống vi sinh vật nội sinh phân lập được từ rễ cây khoai tây không bị dập nát được thu thập từ cây khoai tây trồng trên đồng ruộng.

Rễ khoai tây sau khi được thu từ đồng ruộng được rửa sạch dưới vòi nước chảy rồi được tráng với cồn 70% trong khoảng 30 giây và được khử

¹ Viện Công nghệ sinh học và Công nghệ thực phẩm, Trường Đại học Mở Hà Nội

² Khoa Công nghệ sinh học, Học viện Nông nghiệp Việt Nam

*Email: dtson@vnua.edu.vn

trùng bằng dung dịch NaDCC có bổ sung một vài giọt Tween trong 20 phút. Sau khi khử trùng, mẫu được tráng lại 3 lần bằng nước cất vô trùng. ở lần tráng cuối cùng, lấy 1 ml nước tráng và cấy lên môi trường LB đặc, nuôi sau 48 giờ, mẫu nào không có VSV mọc lên sẽ được sử dụng cho phân lập. Rễ cây được nghiền trên đĩa petri thủy tinh, sử dụng một giọt dịch nghiền nhỏ để cấy lên môi trường LB đặc. Các khuẩn lạc được cấy rìa sang đĩa môi trường LB đặc, làm thuần rồi giữ giống [9, 10].

Các chủng giống vi sinh vật được nuôi qua đêm trong môi trường LB lỏng đến OD₆₀₀ đạt trong khoảng 0,8 - 1,2. Dịch nuôi cấy được ly tâm 3.000 g trong hai phút để thu sinh khối tế bào vi khuẩn và pha loãng với nước cất vô trùng đến giá trị OD₆₀₀ là 0,01. Hạt giống được ngâm trong 10 ml dịch khuẩn có mật độ OD₆₀₀ = 0,01 để toàn bộ bề mặt hạt giống tiếp xúc với dịch pha loãng vi sinh vật. Hạt giống và dung dịch vi khuẩn nội sinh tiếp tục được chuyển lên bề mặt giấy thấm ẩm trong đĩa petri đã được hấp khử trùng. Công thức đối chứng là công thức sử dụng nước cất vô trùng để ngâm hạt giống.

ADN của các chủng giống vi khuẩn nội sinh được tách chiết theo quy trình có cải tiến [11]. ADN sau đó được pha loãng tới nồng độ 5 ng/μl để sử dụng trong phản ứng PCR với các mẫu RAPD và ISSR. Phản ứng PCR có sử dụng bộ kit 2x PCR MyTaq™ Mix, Bioline. Thành phần của phản ứng PCR bao gồm: Đệm PCR Mastermix Solution MyTaq™, mẫu RAPD hoặc ISSR và ADN khuôn (20 ng/phản ứng PCR có thể tích 10 μl).

Thông tin cụ thể về trình tự, nhiệt độ gắn mỗi của các mẫu RAPD và ISSR được mô tả ở bảng 3 và 4. Mỗi UBC được thiết kế bởi Trường Đại học British Columbia (University of British Columbia), Canada. Mỗi RAPD được thiết kế bởi Operon Tech. Inc. Alameda, CA, USA. Phản ứng PCR được thực hiện theo các bước sau: Biến tính: 95°C trong 5 phút; lặp lại 35 chu kỳ sau: 95°C trong 20 giây, nhiệt độ gắn mỗi phù hợp (Bảng 3 và 4) trong 30 giây; 72°C trong 90 giây; 72°C trong 5 phút. Sản phẩm PCR được nhuộm với RedSafe™ Nucleic

Acid Staining Solution (20000X) và chạy điện di với gel agarose 1%.

Ma trận nhị phân được thiết lập bằng cách ghi điểm 1 đối với các băng vạch sáng rõ và ổn định và ghi điểm 0 nếu không có băng vạch. Sử dụng hệ số tương đồng của Sokal và Michener (1958) [12] và phần mềm NTSYSpc 2.1 để xác định hệ số tương đồng cũng như sơ đồ tương đồng di truyền giữa các chủng giống vi sinh vật.

Chỉ số PIC (polymorphism information content) là chỉ số đa hình di truyền [13]. $PIC(i) = 1 - \sum p_i^2$, trong đó: i là thứ tự locus được tính, p_i là tần suất băng xuất hiện của locus, q_i là tần suất băng không xuất hiện.

Chỉ số Rp (Resolving power) là chỉ số sai khác của mỗi cặp mẫu và được tính theo công thức: $R_p = \sum |b_i - b_j|$, trong đó $b_i = 1 - |2 \times (0,5 - p)|$ với p là tần số xuất hiện băng của locus [14].

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Phân lập và khảo sát ảnh hưởng của một số chủng giống vi sinh vật nội sinh trong cây khoai tây tới giai đoạn nảy mầm của cây rau cải

Rễ cây sau khi được xác định là sạch vi sinh vật trên bề mặt (đĩa cấy nước tráng lại lần thứ 3 không lên khuẩn lạc) được quan sát và ghi nhận sơ bộ về kiểu hình. Kết quả quan sát cho thấy, khuẩn lạc của các chủng giống vi sinh vật phân lập được khá đa dạng về hình thái, màu sắc như: Hình tròn, hình bầu dục, màu vàng, màu trắng có viền bao quanh, màu trắng không có viền bao quanh... Kết quả trên chứng tỏ sự đa dạng về hình thái của các chủng giống vi sinh vật đã được phân lập.

Sau khi làm thuần, 35 chủng giống vi sinh vật có sự khác biệt về mặt hình thái được lựa chọn và tiến hành khảo sát nhanh ảnh hưởng của chúng tới giai đoạn nảy mầm của hạt rau cải. Mục tiêu của thí nghiệm này là lựa chọn được các chủng giống có sự khác biệt, đa dạng nhất có thể để đánh giá đa dạng di truyền cũng như thử nghiệm tác động kích thích sinh trưởng. Thí nghiệm có công thức đồng lây nhiễm với nước cất vô trùng làm đối chứng âm. Sau 5 ngày lây nhiễm, đã thu được kết quả ở bảng 1.

Bảng 1. Ảnh hưởng của vi sinh vật nội sinh tới tỷ lệ nảy mầm, chiều cao cây và khối lượng tươi cây rau cải (5 ngày sau gieo hạt)

STT	Ký hiệu chủng	Tỷ lệ nảy mầm (%)	Chiều cao cây (cm)	Khối lượng tươi (mg)
1	Iso1	100	3,9	↑322,8
2	Iso2	100	4,0	↓232,6
3	Iso3	100	3,9	→252,5
4	Iso4	100	4,0	→261,6
5	Iso5	100	3,8	→290,1
6	Iso6	100	4,0	↑297,3
7	Iso7	100	3,7	→290,8
8	Iso8	100	3,9	↓243,3
9	Iso9	100	3,9	→267,0
10	Iso10	100	4,0	↑317,4
11	Iso11	100	4,0	↑323,6
12	Iso12	100	4,0	→265,9
13	Iso13	100	4,1	→293,8
14	Iso14	100	3,9	→289,3
15	Iso15	100	3,7	↑308,0
16	Iso16	100	3,8	→278,5
17	Iso17	100	4,0	→265,6
18	Iso18	100	4,0	↑338,0
19	Iso19	100	3,9	→267,6
20	Iso20	100	3,8	↓243,8
21	Iso21	100	3,9	↓231,3
22	Iso22	100	3,8	↓246,9
23	Iso23	100	3,9	↑320,0
24	Iso24	100	3,8	↓239,2
25	Iso25	100	3,9	↑331,2
26	Iso26	100	4,0	→257,7
27	Iso27	100	4,0	↓249,4
28	Iso28	100	4,2	↑296,6
29	Iso29	100	4,1	→254,9
30	Iso30	100	4,0	↑329,7
31	Iso31	100	4,2	↓230,1
32	Iso32	100	4,0	→290,1
33	Iso33	100	4,0	→294,4
34	Iso34	100	3,8	↑307,6
35	Iso35	100	4,1	↓210,0
Đối chứng (nước cất vô trùng)		100	4,0	→288,8

Kết quả ở bảng 1 cho thấy, các công thức đều có tỷ lệ nảy mầm đạt 100% và chiều cao cây cũng không có sự khác biệt nhiều với công thức đối chứng. Điều đó chứng tỏ việc đồng nuôi cấy với các chủng giống vi sinh vật nội sinh mặc dù được tách từ rễ cây khoai tây nhưng đã không ảnh hưởng tới tỷ lệ nảy mầm cũng như chiều cao của cây rau cải. Tuy nhiên, khi quan sát hình thái lại thấy có sự khác biệt về hình dạng thân và màu sắc lá giữa các công thức thử nghiệm đồng nuôi cấy với các chủng giống khác nhau. Sự khác biệt được thể hiện rõ nhất ở chỉ tiêu khối lượng tươi. Chính vì vậy, dựa trên chỉ tiêu này, đã phân loại tác động của các chủng giống vi sinh vật theo 3 nhóm: (1) tác động không rõ ràng (→), (2) tốt hơn (↑) và (3) kém hơn (↓) so với đối chứng không lây nhiễm. Dựa trên kết quả phân loại trên, đã lựa chọn 14 chủng giống vi sinh vật bao gồm 5 chủng giống có tác động không rõ ràng (Iso3, Iso4, Iso9, Iso12, Iso16), 4 chủng giống có tác động làm giảm khối lượng tươi (Iso20, Iso21, Iso27, Iso31) và 5 chủng giống VSV có tác động làm tăng khối lượng tươi (Iso1, Iso11, Iso18, Iso23, Iso25).

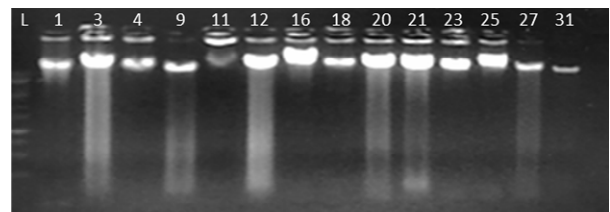
Đã có nhiều nghiên cứu về tác động có lợi của các chủng vi sinh vật tới sự nảy mầm của hạt giống. Lê Thị Xã và cs (2020) [15] đã khảo sát khả năng kích thích nảy mầm của tám chủng vi khuẩn có khả năng cố định đạm và tổng hợp IAA trên hạt rau muống cho thấy, có 5 chủng vi khuẩn có tác dụng làm tăng tỷ lệ nảy mầm và không có chủng nào ức chế nảy mầm. Khi phân lập và thử nghiệm 13 chủng vi sinh vật phân lập từ đất trồng lúa vùng đồng bằng sông Cửu Long cho thấy, cả 13 chủng đều có tác dụng kích thích sự nảy mầm của hạt lúa giống IR50404 [16]. Kết quả khảo sát 80 chủng vi khuẩn nội sinh thuộc loài *Herbaspirillum seropedicae* phân lập từ cây lúa, lúa miến và ngô cho thấy, có 19 chủng có tác dụng làm tăng khối lượng tươi của cây lúa từ mức trung bình đến cao [17]. Nghiên cứu này đã phân lập và thử nghiệm tác động của 35 chủng giống vi sinh vật nội sinh trong rễ khoai tây và cũng cho kết quả là không có chủng giống nào ức chế sự nảy mầm của hạt rau cải. Mặc dù vậy, tác động của các chủng giống nghiên cứu lên khối lượng tươi là có sự khác biệt

rõ ràng, trong đó có cả các chủng giống có tác dụng làm giảm khối lượng tươi.

3.2. Phân tích đa dạng di truyền của 14 chủng giống vi sinh vật nội sinh trong cây khoai tây bằng chỉ thị RAPD và ISSR

Bảng 2. Chất lượng ADN tổng số của 14 chủng giống vi sinh vật

STT	Chủng giống vi sinh vật nội sinh	Nồng độ (ng/μl)	OD _{260/280}
1	Iso1	593	1,77
2	Iso3	378	1,72
3	Iso4	156	1,56
4	Iso9	403	1,62
5	Iso11	180	1,51
6	Iso12	977	1,76
7	Iso16	365	1,83
8	Iso18	205	1,59
9	Iso20	909	1,81
10	Iso21	793	1,73
11	Iso23	530	1,63
12	Iso25	654	1,77
13	Iso27	313	1,77
14	Iso31	87	1,87



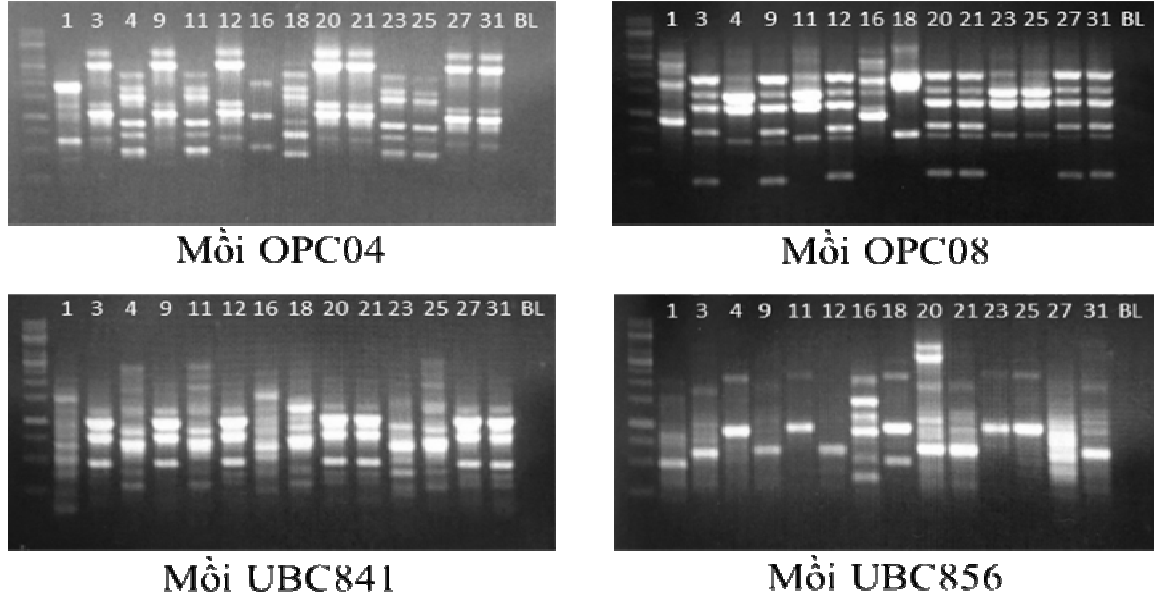
Hình 1. Kết quả điện di ADN tổng số

Công đoạn đầu tiên đóng vai trò quan trọng để phân tích được sự đa dạng di truyền chính là tách chiết được axit nucleic để làm vật liệu cho các phản ứng PCR. ADN tổng số của 14 chủng giống vi sinh vật được tách chiết dựa theo quy trình công bố trước đó [11]. ADN tổng số được kiểm tra bằng đo quang phổ (Bảng 2) và điện di trên gel agarose 1% (Hình 1). Kết quả điện di cho thấy, 14 chủng ADN tách chiết mặc dù có bị đứt gãy nhưng vẫn có băng vạch kích thước lớn (trên 10 kb) rất sáng rõ. Do vậy, ADN tách chiết được là phù hợp cho làm

ADN khuôn trong phản ứng PCR với các môi ISSR và RAPD.

3.2.1. Phân tích đa dạng di truyền của 14 chủng giống vi khuẩn nội sinh trong cây khoai tây bằng chỉ thị RAPD

Nghiên cứu đã khảo sát 24 môi RAPD và lựa chọn được 15 môi có sản phẩm băng vạch đa hình, rõ ràng. Minh họa về sản phẩm PCR của một số môi RAPD và ISSR được thể hiện ở hình 2.



Hình 2. Kết quả chạy điện di sản phẩm PCR của môi RAPD (OPC04, OPC08) và môi ISSR (UBC841, UBC856)

Ghi chú: Các số trên hình là các chủng giống vi sinh vật nghiên cứu, BL: đối chứng trắng

Kết quả phân tích sự đa hình của 14 chủng giống vi sinh vật nội sinh trong cây khoai tây được thể hiện ở bảng 3 cho thấy, 15 chỉ thị RAPD đã nhân bản được 1.038 sản phẩm PCR, trung bình 69,20 sản phẩm PCR/môi. 15 môi RAPD đã nhân bản được 170 locus, trung bình 11,33 locus/môi, đa số các locus nhân bản được là locus đa hình và tỷ lệ locus đa hình trung bình đạt 97,98%. Với số lượng locus nhân bản được cũng như tỷ lệ locus đa

hình là rất cao nên có thể thấy các môi RAPD sử dụng có khả năng phân biệt đa hình rất tốt. Điều này cũng thể hiện rất rõ ràng trên chỉ số đa hình PIC của môi khi chỉ số này đạt trung bình là 0,38. Bên cạnh đó, chỉ số sai khác giữa các cặp môi (Rp) cũng đạt khá cao, trong đó môi OPD02 có chỉ số Rp là 11,29. Môi OPR12 cho chỉ số Rp là thấp nhất và đạt 4,57.

Bảng 3. Hiệu quả phân tích đa dạng di truyền của các môi RAPD trên 14 chủng giống vi sinh vật nội sinh

Tên môi	Trình tự môi	Nhiệt độ gắn môi (°C)	Tổng số locus	Tỷ lệ locus đa hình (%)	Tổng số băng nhân bản được	Số băng/mẫu	Chỉ số PIC	Chỉ số Rp
OPC03	GGGGGTCTTT	32,0	8	100,0	40	2,9	0,44	5,71
OPN01	CTCACGTTGG	32,0	10	90,0	90	6,4	0,41	6,29
OPR09	TGAGCACGAG	32,0	10	100,0	56	4,0	0,35	6,57
OPC01	TTCGAGCCAG	32,0	15	93,3	86	6,1	0,43	10,57
OPC04	CCGCATCTAC	32,0	13	100,0	82	5,9	0,39	8,29

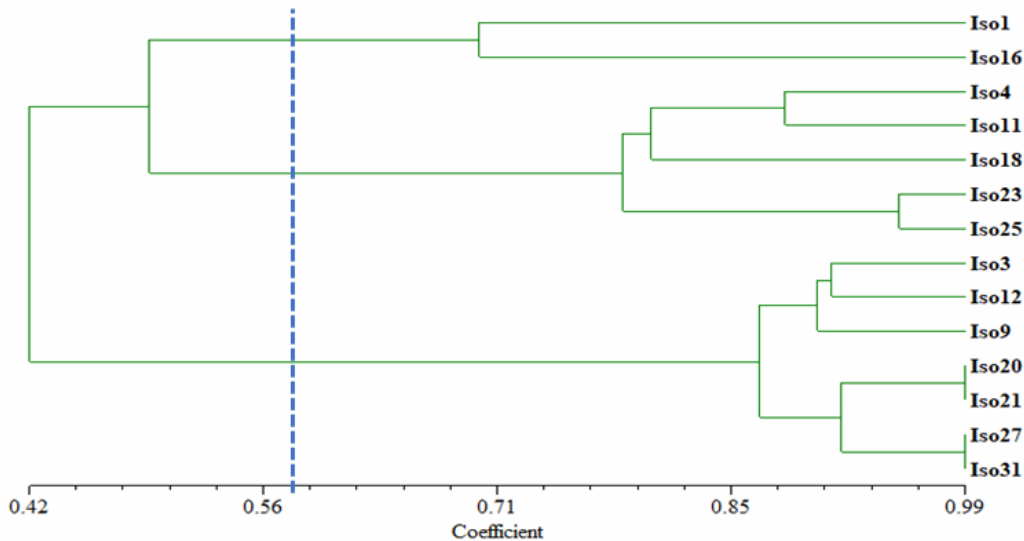
OPC13	AAGCCTCGTC	32,0	12	100,0	93	6,6	0,41	8,43
OPC15	GACGGATCAG	32,0	10	100,0	66	4,7	0,33	5,43
OPB05	TGCGCCCTTC	34,0	10	100,0	53	3,8	0,42	7,29
OPC08	TGGACCGGTG	34,0	11	100,0	76	5,4	0,33	5,71
OPB03	CATCCCCCTG	34,0	10	100,0	62	4,4	0,38	5,71
OPD01	ACCGCGAAGG	34,0	13	92,3	53	3,8	0,36	6,43
OPD02	GGACCCAACC	34,0	17	94,1	98	7,0	0,42	11,29
OPS10	ACCGTTCCAG	32,0	11	100,0	81	5,8	0,42	7,71
OPR12	ACAGGTGCGT	32,0	10	100,0	61	4,4	0,32	4,57
OPS08	TTCAGGGTGG	32,0	10	100,0	41	2,9	0,35	5,57
Tổng số			170		1038			
Trung bình/môi			11,33	97,98	69,20	4,94	0,38	

Ghi chú: Chỉ số Rp: Chỉ số sai khác giữa các cặp môi. Chỉ số PIC: chỉ số đa hình PIC của môi.

Sơ đồ tương đồng di truyền của 14 chủng giống vi khuẩn nội sinh dựa trên kết quả so sánh hệ số tương đồng di truyền được phân tích bằng chỉ thị RAPD được trình bày trên hình 3.

Kết quả cho thấy, các chủng giống vi sinh vật phân lập được có mức độ đa dạng di truyền rất cao. Tại giá trị trung bình hệ số tương đồng di

truyền là 0,58, 14 chủng giống vi khuẩn được phân thành 3 nhóm chính, trong đó nhóm I chỉ có 2 chủng giống (Iso1 và Iso16), nhóm II có 5 chủng giống và nhóm III có 7 chủng giống. Các chủng giống Iso20 và Iso21, Iso27 và Iso31 là có hệ số tương đồng cao nhất, chúng tỏ có quan hệ gần gũi với nhau (Hình 3).



Hình 3. Quan hệ di truyền của 14 chủng giống vi khuẩn nội sinh trong cây khoai tây được phân tích bằng chỉ thị RAPD

Ghi chú: Nét đứt thể hiện giá trị trung bình của hệ số tương đồng di truyền

Sự đa dạng di truyền của 29 chủng vi khuẩn nội sinh phân lập từ thân cây mía khỏe mạnh trồng ở Cuba được phân tích bằng chỉ thị Two Primers-Random Amplified Polymorphic DNA fingerprinting

(TP-RAPD) cho thấy, các quần thể vi khuẩn nội sinh bên trong cây mía là khá đa dạng [18]. Trong nghiên cứu này, rất nhiều môi RAPD cho tỷ lệ locus đa hình đạt 100% (Bảng 3). Kết quả của

nghiên cứu này khá tương đồng với kết quả nghiên cứu của Bhadania và cs (2014) [19] khi sử dụng các chỉ thị RAPD để phân tích đa dạng di truyền của 10 chủng giống vi sinh vật nội sinh cũng thu được kết quả là rất nhiều mỗi RAPD cho tỷ lệ đa hình đạt 100%.

3.2.2. Phân tích đa dạng di truyền của 14 chủng giống vi khuẩn nội sinh trong cây khoai tây bằng chỉ thị ISSR

Nghiên cứu đã khảo sát 37 chỉ thị ISSR và lựa chọn được 13 mỗi có sản phẩm PCR có sự đa hình rõ ràng. Kết quả phân tích được thể hiện trên bảng 4 cho thấy: 13 chỉ thị ISSR nhân bản được tổng số 153 locus, trung bình đạt 11,77 locus/mỗi. Đa số các mỗi có tỷ lệ locus đa hình đạt 100%, trung bình

đạt 98,56%. Chỉ có 2 mỗi có tỷ lệ locus đa hình không đạt 100% là mỗi UBC836 và mỗi UBC864 có tỷ lệ đạt lần lượt là 93,8 và 87,5. Chỉ số đa hình PIC của các mỗi đạt trung bình là 0,4; trong đó mỗi UBC864 cho hệ số PIC thấp nhất nhưng vẫn đạt 0,30, mỗi UBC873 cho hệ số PIC cao nhất và đạt 0,43. Thêm vào đó, chỉ số Rp dao động từ 2,86 (ISSR4) đến 12,14 (UBC835). Như vậy, các mỗi có năng lực phát hiện đa hình rất cao. Ở một nghiên cứu tương tự, sự đa dạng di truyền của 14 chủng giống vi khuẩn nội sinh phân lập từ rễ cây khoai tây được đánh giá bằng 10 chỉ thị RAPD và 6 chỉ thị ISSR cũng cho chỉ số PIC đạt giá trị trung bình là 0,35 và 0,38 tương ứng [20].

Bảng 4. Hiệu quả phân tích đa dạng di truyền của các mỗi ISSR trên 14 chủng giống vi sinh vật nội sinh

Tên mỗi	Trình tự mỗi	Nhiệt độ gắn mỗi (°C)	Tổng số locus	Tỷ lệ locus đa hình (%)	Tổng số băng nhân bản được	Số băng/mẫu	Chỉ số PIC	Chỉ số Rp
UBC836	AGAGAGAGAGAGAGAGYA	51,6	16	93,8	84	6,0	0,42	10,86
UBC840	GAGAGAGAGAGAGAGAYT	51,6	10	100,0	71	5,1	0,39	6,29
UBC855	ACACACACACACACACYT	51,6	12	100,0	76	5,4	0,42	8,14
UBC856	ACACACACACACACACYA	51,6	14	100,0	67	4,8	0,42	8,86
UBC811	GAGAGAGAGAGAGAGAC	52,4	18	100,0	91	6,5	0,38	10,71
UBC835	AGAGAGAGAGAGAGAGYC	53,9	17	100,0	100	7,1	0,43	12,14
UBC841	GAGAGAGAGAGAGAGAYC	53,9	15	100,0	96	6,9	0,41	10,00
UBC848	CACACACACACACACARG	53,9	10	100,0	43	3,1	0,36	5,71
UBC864	ATGATGATGATGATGATG	47,0	8	87,5	64	4,6	0,30	3,57
UBC873	GACAGACAGACAGACA	48,2	11	100,0	83	5,9	0,43	7,86
ISSR4	ACACACACACACACACT	50,0	5	100,0	45	2,4	0,36	2,86
UBC860	TGTGTGTGTGTGTGTGRA	51,6	9	100,0	60	3,9	0,43	6,57
UBC858	TGTGTGTGTGTGTGTGRT	51,6	8	100,0	51	3,1	0,39	5,14
Tổng số			153		931			
Trung bình/mỗi			11,77	98,56	71,62	4,98	0,40	

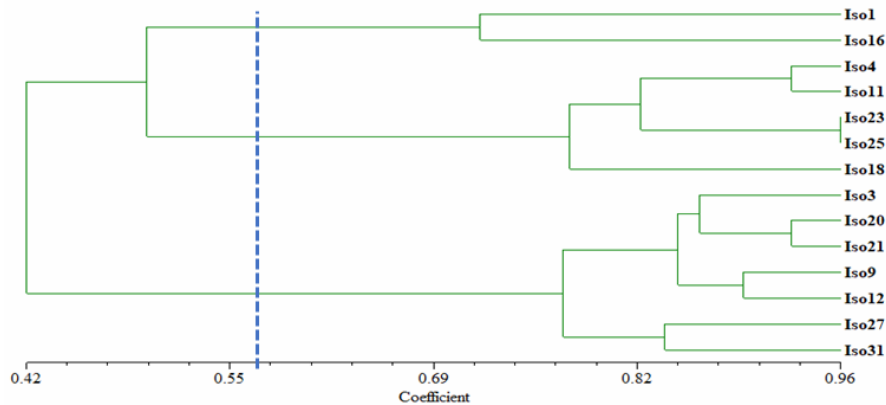
Ghi chú: R có thể là A hoặc G; B có thể là C hoặc G hoặc T; D có thể là A hoặc G hoặc T; H có thể là A hoặc C hoặc T và V có thể là A hoặc C hoặc G. Chỉ số Rp: Chỉ số sai khác giữa các cặp mỗi. Chỉ số PIC: chỉ số đa hình PIC của mỗi.

Kết quả xác định sơ đồ tương đồng di truyền bằng chỉ thị ISSR cho thấy, tại giá trị trung bình hệ số tương đồng di truyền là 0,57, 14 chủng giống vi

khuẩn được phân thành 3 nhóm chính với các thành viên trong các nhóm cũng giống như kết quả phân tích bởi chỉ thị RAPD (Hình 4). Nghiên

cứu của Đào Thị Hồng Vân và cs (2022) [20] về đa dạng di truyền của các chủng giống vi sinh vật nội sinh trên cây khoai tây bằng chỉ thị ISSR cho thấy,

hệ số tương đồng của 14 chủng giống vi khuẩn biến động từ 0,36 - 0,76.



Hình 4. Quan hệ di truyền của 14 chủng giống vi khuẩn nội sinh trong cây khoai tây được phân tích bằng chỉ thị ISSR

Ghi chú: Nét đứt thể hiện giá trị trung bình của hệ số tương đồng di truyền

3.2.3. Phân tích đa dạng di truyền dựa trên 2 chỉ thị RAPD và ISSR

Các kết quả trên cho thấy, hai nhóm chỉ thị RAPD và ISSR đã xác định được sự tương đồng di truyền của các chủng giống vi sinh vật phân lập được. Sự xếp nhóm ở các sơ đồ tương đồng di truyền khi phân tích bởi chỉ thị RAPD và ISSR là

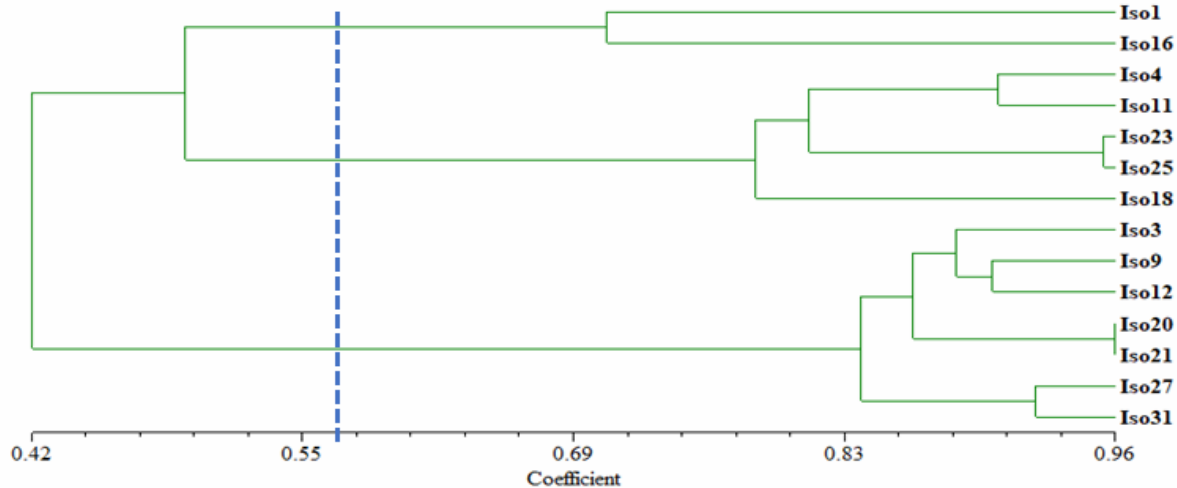
giống nhau chứng tỏ sự thống nhất giữa hai chỉ thị. Mặc dù vậy, hệ số tương đồng di truyền sẽ được phân tích một cách chính xác hơn khi số locus trong cùng một phân tích lớn hơn. Do đó, việc kết hợp cả hai chỉ thị RAPD và ISSR trong cùng một ma trận phân tích sẽ có tính thuyết phục cao hơn so với phân tích độc lập nhau.

Bảng 5. Hệ số tương đồng di truyền của 14 chủng giống vi sinh vật nội sinh được phân tích bởi hai chỉ thị RAPD và ISSR

	Iso1	Iso3	Iso4	Iso9	Iso11	Iso12	Iso16	Iso18	Iso20	Iso21	Iso23	Iso25	Iso27	Iso31
Iso1	1,00													
Iso3	0,46	1,00												
Iso4	0,49	0,41	1,00											
Iso9	0,46	0,88	0,41	1,00										
Iso11	0,51	0,41	0,90	0,40	1,00									
Iso12	0,48	0,89	0,41	0,90	0,42	1,00								
Iso16	0,71	0,42	0,50	0,45	0,54	0,43	1,00							
Iso18	0,45	0,40	0,79	0,39	0,81	0,42	0,47	1,00						
Iso20	0,47	0,87	0,39	0,85	0,38	0,87	0,43	0,38	1,00					
Iso21	0,48	0,86	0,41	0,85	0,40	0,86	0,45	0,39	0,96	1,00				
Iso23	0,51	0,41	0,80	0,41	0,81	0,43	0,48	0,76	0,37	0,37	1,00			
Iso25	0,50	0,38	0,80	0,39	0,81	0,40	0,49	0,76	0,34	0,35	0,96	1,00		
Iso27	0,49	0,81	0,44	0,80	0,43	0,82	0,44	0,45	0,85	0,85	0,41	0,40	1,00	
Iso31	0,49	0,83	0,41	0,81	0,41	0,82	0,42	0,41	0,88	0,87	0,40	0,39	0,92	1,00

Kết quả trên bảng 5 thể hiện hệ số tương đồng của 14 chủng giống vi khuẩn nội sinh biến động từ 0,34 (Iso20 vs. Iso25) đến 0,96 (Iso23 vs. Iso25). Tại giá trị trung bình của hệ số tương đồng di truyền là 0,57, khi phân tích bằng kết hợp hai chỉ

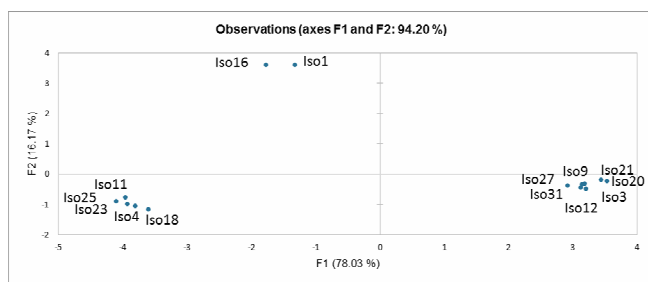
thị, 14 chủng giống vi khuẩn nội sinh cũng phân thành 3 nhóm với số chủng giống thành viên trong các nhóm là giống với chỉ thị RAPD và ISSR khi phân tích riêng rẽ (Hình 5).



Hình 5. Quan hệ di truyền của 14 chủng giống vi khuẩn nội sinh trong cây khoai tây được phân tích bằng kết hợp cả hai chỉ thị RAPD và ISSR (C)

Ghi chú: Nét đứt thể hiện giá trị trung bình của hệ số tương đồng di truyền

Nghiên cứu của Đào Thị Hồng Vân và cs (2022) [20] về sự đa dạng di truyền của 14 chủng giống vi khuẩn nội sinh cũng được phân lập từ rễ khoai tây cho hệ số tương đồng di truyền dao động từ 0,36 - 0,76. Như vậy, rõ ràng là các chủng giống vi sinh vật trong nghiên cứu này có mức độ đa dạng thấp hơn.



Hình 6. Phân tích thành phần chính của 14 chủng giống vi sinh vật khi kết hợp hai chỉ thị RAPD và ISSR

Bên cạnh việc sử dụng phần mềm NTSYS để xây dựng sơ đồ tương đồng di truyền, qua đó thấy được mối quan hệ giữa các chủng giống vi sinh vật một cách trực quan thì phân tích thành phần chính (principal component analysis - PCA) cũng là một hình thức biểu diễn số liệu rất trực quan và tổng thể hơn, dễ dàng hình dung. Kết quả phân tích

PCA sử dụng hệ số tương đồng di truyền được xác định bởi chỉ thị RAPD và ISSR được thể hiện trên hình 6.

Đồ thị biểu diễn kết quả PCA có hai thành phần chính đầu tiên có giá trị 78,03% và 16,17% (tổng số 94,2%) (Hình 6). So sánh với kết quả trên hình 5 cho thấy, 14 chủng giống vi sinh vật cũng được tách thành 3 nhóm rất rõ ràng với khoảng cách rất xa nhau khi được phân tích thành phần chính. Kết quả phân tích PCA thêm một lần nữa xác nhận sự đa dạng di truyền ở mức rất cao của 14 chủng giống vi sinh vật nội sinh phân lập được.

4. KẾT LUẬN

Đã phân lập và khảo sát ảnh hưởng của 35 chủng giống vi sinh vật nội sinh trong rễ cây khoai tây lên sự nảy mầm của hạt rau cải, từ đó làm cơ sở để lựa chọn 14 chủng giống vi sinh vật phục vụ phân tích sự đa dạng di truyền bằng chỉ thị RAPD và ISSR. Kết quả phân tích cho thấy, sự đa dạng di truyền của 14 chủng giống vi sinh vật phân lập được là rất cao, dao động từ 0,34 - 0,96. Tại giá trị trung bình của hệ số tương đồng di truyền là 0,57, 14 chủng giống vi sinh vật được phân thành 3 nhóm chính trong đó nhóm I có 2 chủng giống

bao gồm Iso1 và Iso16, nhóm II có 5 chủng giống (Iso4, Iso11, Iso18, Iso23, Iso25) và nhóm III có 7 chủng giống (Iso3, Iso12, Iso9, Iso20, Iso21, Iso27, Iso31). Các chủng giống vi khuẩn có thể được sử dụng cho các nghiên cứu thử nghiệm tác động của chúng trên cây khoai tây trong điều kiện *in vitro* cũng như ngoài nhà lưới hoặc đồng ruộng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nguyễn Xuân Trường, Lương Văn Hưng, Vi Quốc Hiền, Phạm Văn Tuấn, Vũ Tiến Dũng, Đỗ Thị Mai (2019). Kết quả tuyển chọn và khảo nghiệm giống khoai tây mới 'Bliss' cho chế biến chip. *Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển nông thôn, Chuyên đề Sinh học phục vụ phát triển nông nghiệp công nghệ cao*, 130 - 138.
2. Mukherjee A, Bhowmick S, Yadav S, Rashid MM, Chouhan GK, Vaishya JK, *et al.* (2021). Re-vitalizing of endophytic microbes for soil health management and plant protection. *3 Biotech*, 11 (9): 399.
3. Xavier M, Bosch A, Karp S, Soccol C. (2021). Endophytic bacteria: a possible path towards a sustainable agriculture. *Biotechnology Research and Innovation*; 5: e2021008.
4. Kesawat MS, Das Kumar B. (2009). Molecular markers: It's application in crop improvement. *Journal of Crop Science and Biotechnology*, 12 (4): 169 - 81.
5. Nadeem MA, Nawaz MA, Shahid MQ, Doğan Y, Comertpay G, Yıldız M, *et al.* (2018). DNA molecular markers in plant breeding: current status and recent advancements in genomic selection and genome editing. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 32 (2): 261 - 85.
6. Wu YJ, Chen Y, Wang J, Zhu CX, Xu BL. (2006). RAPD analysis of jasmine rice-specific genomic structure. *Genome*, 49 (6): 716 - 9.
7. Mazumder SR, Hoque H, Sinha B, Chowdhury WR, Hasan MN, Prodhan SH. (2020). Genetic variability analysis of partially salt tolerant local and inbred rice (*Oryza sativa* L.) through molecular markers. *Heliyon*, 6 (8): e04333.
8. Zakiah NM, Handoyo T, Kim K-M. (2019). Genetic diversity analysis of indonesian aromatic rice varieties (*Oryza sativa* L.) using RAPD. *Journal of Crop Science and Biotechnology*, 22 (1): 55 - 63.
9. Hoang HL, Naruto F, Daisuke K, Minoru T, Yoichi T. (2003). Isolation of endophytic bacteria from *Solanum* sp. and their antibacterial activity against plant pathogenic bacteria. *Agricultural Bioresource Sciences*, 48 (1-2): 21 - 8.
10. Dao VHT, Do KP, Nguyen HV, Nguyen CM, Thi Tran DT, Thanh Dang TT, *et al.* (2023). Identification and evaluation of the growth promotion of endophytic bacteria on *in vitro* potato plants. *Pak J Biol Sci*, 26 (7): 371 - 9.
11. Masoomi-Aladizgeh F, Jabbari L, Nekouei RK, Aalami A. (2016). A simple and rapid system for DNA and RNA isolation from diverse plants using handmade kit. *Protocol Exchange*. doi: 10.21203/rs.2.1347/v2.
12. Sokal, R.R. and Michener, C.D. (1958) A statistical methods for evaluating relationships. *University of Kansas Science Bulletin*, 38, 1409-1448.
13. Botstein D, White RL, Skolnick M, Davis RW. (1980). Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. *American journal of human genetics*, 32 (3): 314 - 31.
14. Prevost A, Wilkinson MJ. (1999). A new system of comparing PCR primers applied to ISSR fingerprinting of potato cultivars. *Theoretical and Applied Genetics*, 98 (1): 107 - 12.
15. Lê Thị Xã, Đỗ Thành Luân, Nguyễn Khởi Nghĩa (2020). Khảo sát khả năng kích thích nảy mầm và sinh trưởng rau muống của một số dòng vi khuẩn cố định đạm và tổng hợp IAA. *Tạp chí Khoa học, Trường Đại học Cần Thơ. Số chuyên đề: Khoa học đất*, 56: 37 - 46.
16. Nguyễn Thị Phong Lan, Võ Thị Thu Ngân, Trần Hà Anh, Võ Thị Dạ Thảo, Trần Thị Kiều, Nguyễn Thị Xuân Mai (2015). Hiệu quả của các chủng vi sinh vật vùng rễ trong phòng trừ bệnh đạo ôn ở điều kiện nhà lưới. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Nông nghiệp Việt Nam*, 5 (59): 127 - 36.

17. Baldani VLD, Baldani JJ, Döbereiner J. (2000). Inoculation of rice plants with the endophytic diazotrophs *Herbaspirillum seropedicae* and *Burkholderia* spp. *Biology and Fertility of Soils*, 30: 485 - 91.
18. Velazquez E, Rojas M, Lorite MJ, Rivas R, Zurdo-Pineiro JL, Heydrich M, *et al.* (2008). Genetic diversity of endophytic bacteria which could be find in the apoplastic sap of the medullary parenchym of the stem of healthy sugarcane plants. *J Basic Microbiol*, 48 (2): 118 - 24.
19. Bhadania R, Parkhia A, Gajera H. (2014). Molecular characterization of endophytic bacteria isolated from root of different field crops. *Indian Journal of Agricultural Biochemistry*, 27: 1 - 6.
20. Đào Thị Hồng Vân, Đinh Thị Thu Lê, Đỗ Phương Khanh, Phạm Thị Dinh, Nguyễn Mai Chi, Trần Thị Mai, Trần Đình Thích, Đinh Trường Sơn (2022). Phân tích đa dạng di truyền của một số chủng giống vi khuẩn nội sinh trong rễ cây khoai tây. *Tạp chí Khoa học, Trường Đại học Mở Hà Nội*, 95: 56 - 65.

ISOLATION AND EVALUATION OF GENETIC DIVERSITY OF SOME ENDOPHYTIC BACTERIA ISOLATED FROM POTATO USING RAPD AND ISSR MARKERS

Dao Thi Hong Van¹, Nguyen Dac Tien²,

Vuong Thi Thiet², Nguyen Thi Ngoc Anh¹, Dinh Truong Son²

¹ *Institute of Biotechnology and Food Technology, Hanoi Open University*

² *Faculty of Biotechnology, Vietnam National University of Agriculture*

Summary

This study successfully isolated and investigated the effects of inoculation of 35 endophytic bacteria isolated from potato roots on the germination of *Brassica integrifolia*, from which 14 isolates were selected for genetic diversity analysis with 15 RAPD and 13 ISSR markers. The two groups of markers have amplified a total of 323 loci, in which the average rate of polymorphic loci reached 97.98% for the RAPD marker and 98.56% for the ISSR marker. 28 markers amplified 1.969 PCR products. The 14 isolated isolates had genetic diversity ranging from 0.34 - 0.96. At the genetic similarity coefficient of 0.57, the 14 microbial varieties were grouped into 3 main groups. It is concluded that the genetic diversity of the 14 isolated isolates is very high. The evaluated isolates can be used to study the effects of the inoculation on the performance of potato plants under *in vitro* conditions as well as in greenhouses or in the field.

Keywords: *Endophytic bacteria, genetic diversity, molecular marker, ISSR, RAPD.*

Người phản biện: PGS.TS. Lê Đức Thảo

Ngày nhận bài: 17/11/2023

Ngày thông qua phản biện: 5/12/2023

Ngày duyệt đăng: 15/12/2023

ĐẶC ĐIỂM NÔNG HỌC VÀ KHẢ NĂNG THÍCH ỨNG CỦA CÁC MẪU GIỐNG DƯA THOM MỚI

Nguyễn Trung Đức^{1*}, Nguyễn Thị Nguyệt Anh¹, Phạm Quang Tuấn¹,
Phạm Thu Hằng², Phạm Xuân Hội², Hà Việt Sơn³, Vũ Văn Liết⁴

TÓM TẮT

Nghiên cứu đánh giá đặc điểm nông học của 11 mẫu giống dưa thom mới với hai giống đối chứng trong hai thời vụ: Vụ xuân và vụ hè thu năm 2023 tại thành phố Hà Nội nhằm tuyển chọn các giống triển vọng và bổ sung nguồn gen phục vụ thúc đẩy, phát triển sản xuất dưa lê, dưa lưới tại Việt Nam. Kết quả cho thấy, 11 giống dưa được chia thành 2 nhóm gồm nhóm dưa lê (DKS, DJA, DM1, DM3, DM4, DM5, DLAĐ) và nhóm dưa lưới (DRB, DM2, DM6, QUIC). Các mẫu giống dưa này đều có thể thích ứng với điều kiện khí hậu tại thành phố Hà Nội với thời gian thu quả của các giống dao động từ 60 - 75 ngày, khối lượng quả trung bình biến động trong khoảng 0,4 - 3,0 kg, năng suất quả thực thu dao động từ 30,0 - 60,0 tấn/ha và tổng lượng chất rắn hòa tan dao động trong khoảng 12,0 - 16,0°Brix. Kết quả chọn lọc qua hai vụ thí nghiệm dựa trên chỉ số chọn lọc kiểu gen đa tính trạng đã xác định được 2 mẫu giống triển vọng nhất gồm: DM4 (1 quả/cây, khối quả trung bình đạt 1,5 - 1,8 kg/quả, năng suất trung bình đạt 36,0 - 42,5 tấn/ha, chỉ số độ ngọt trung bình đạt 12,5 - 14,0°Brix) và DJA (3 quả/cây, khối lượng trung bình quả đạt 0,4 - 0,6 kg/quả, năng suất trung bình đạt 28,8 - 40,5 tấn/ha, chỉ số độ ngọt trung bình đạt 14,0 - 16,0°Brix).

Từ khóa: *Dưa thom, kiểu hình, sự thích ứng, năng suất, chất lượng.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Dưa thom (*Cucumis melo* L.) gồm dưa lê, dưa lưới là cây rau ăn quả quan trọng về kinh tế trên thế giới, được người tiêu dùng ưa chuộng vì giá trị dinh dưỡng cao và hình thức hấp dẫn [1, 2]. Tại Việt Nam, dưa thom là cây lấy quả có giá trị kinh tế cao, được trồng chủ yếu trong nhà kính, nhà màng [3]. Giai đoạn 2020 - 2022, báo cáo của Cục Trồng trọt tại Hội nghị toàn quốc về khoa học, công nghệ và đổi mới sáng tạo lĩnh vực trồng trọt - bảo vệ thực vật năm 2023 cho thấy, diện tích rau hàng năm cả nước tăng từ 975,0 nghìn ha năm 2020 lên 988,7 nghìn ha năm 2022 với nhu cầu giống rau cả nước ước giá trị khoảng 600 - 650 triệu USD/năm trong khi hạt giống rau nhập khẩu chiếm khoảng 80 - 85% lượng giống phục vụ sản

xuất hàng năm [4]. Như vậy, để thúc đẩy sản xuất dưa thom trong nước cần tiến hành song song công tác tuyển chọn các giống dưa mới và lai tạo các giống dưa năng suất, chất lượng cao, kháng bệnh tốt, khả năng thích ứng rộng để chủ động nguồn cung hạt giống.

Trong hai thập kỷ qua, các giống dưa trồng phổ biến tại Việt Nam như Kim Cô Nương, Kim Hoàng Hậu, Ichiba được nhập nội từ Trung Quốc, Thái Lan, Nhật Bản. Tại Việt Nam, đã có một số nghiên cứu đánh giá nguồn gen dưa thom [3, 5, 6] và chọn tạo giống dưa lê mới [7]. Nguồn gen dưa thom khá đa dạng đã và đang được lưu trữ, duy trì, phát triển tại Học viện Nông nghiệp Việt Nam. Các giống dưa lê mới như Happy 6, Happy 7 đã được chọn tạo bởi các nhà khoa học tại Viện Nghiên cứu Rau quả - Viện Khoa học Nông nghiệp Việt Nam. Tuy vậy, các nghiên cứu chọn tạo giống dưa lê, dưa lưới tại Việt Nam nhìn chung còn hạn chế với nguyên nhân chính là chưa có nguồn gen phong phú và phương pháp lai tạo phù hợp. Song hành với các chương trình nghiên cứu chọn tạo giống dài hạn, công tác đánh giá, tuyển chọn các giống dưa mới là rất cấp thiết để kế thừa các thành tựu

¹ Viện Nghiên cứu và Phát triển cây trồng, Học viện Nông nghiệp Việt Nam

² Viện Di truyền nông nghiệp, Viện Khoa học Nông nghiệp Việt Nam

³ Trung tâm Phát triển Công nghệ cao, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

⁴ Khoa Nông học, Học viện Nông nghiệp Việt Nam

*Email: ntduc@vnua.edu.vn

chọn tạo giống dựa trên thế giới. Do vậy, nghiên cứu này tiến hành đánh giá, tuyển chọn ban đầu các giống dưa mới trong vụ xuân và hè thu 2023 tại thành phố Hà Nội. Kết quả của nghiên cứu không chỉ phát hiện các giống mới thích ứng tốt, năng suất, chất lượng cao có thể mở rộng diện tích mà còn cung cấp nguồn gen mới có giá trị đối với các chương trình cải tiến, phát triển các giống dưa thơm tại Việt Nam.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Vật liệu nghiên cứu gồm 11 mẫu giống dưa thơm mới có nguồn gốc thuộc chương trình phát triển của ngành nông nghiệp gồm: DM1, DM2, DM3, DM4, DM5, DM6, DKS, DRB, DJA, DLAĐ, QUIC với đối chứng là giống dưa lê Kim Hoàng Hậu (ĐC1) và giống dưa lưới TL3 (ĐC2).

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Thí nghiệm được bố trí trong nhà lưới ở hai vụ: Vụ xuân (gieo vào tháng 2) và vụ hè thu 2023 (gieo vào tháng 7) tại Viện Nghiên cứu và Phát triển cây trồng, Học viện Nông nghiệp Việt Nam, huyện Gia Lâm, thành phố Hà Nội. Thí nghiệm bố trí khối ngẫu nhiên hoàn chỉnh với ba lần nhắc lại. Mỗi công thức được trồng 4 hàng trên hai luống, với kích thước mỗi luống dài 10 m, rộng 1,4 m và cao 25 cm so với mặt rãnh. Các luống được che phủ bằng màng phủ nông nghiệp chuyên dụng và được khoét lỗ trồng cây với khoảng cách giữa các hàng là 60 cm, giữa các cây là 55 cm (mật độ trồng 24.000 cây/ha). Các biện pháp chăm sóc, bón phân, phòng trừ sâu, bệnh, làm giàn, định hướng dây, tỉa nhánh, tỉa quả theo quy trình chăm sóc dưa thơm của Viện Nghiên cứu và Phát triển cây trồng, Học viện Nông nghiệp Việt Nam. Công thức phân bón sử dụng cho 1 ha trồng gồm 1.400 kg phân chuồng ủ mục + 600 - 800 kg phân supe lân + 1.000 kg phân NPK (15 - 5 - 20) + 50 kg phân urê (46% N) + 50 kg kali clorua (60% K₂O).

Thụ phấn bằng phương pháp thụ phấn bằng tay vào buổi sáng. Chọn những hoa cái mọc ở nhánh từ lá thứ 8 - 15, hoa phát triển bình thường không bị sâu, bệnh hại. Mỗi cây thụ phấn khoảng 2 - 4 hoa. Bấm ngọn thân chính khi cây đạt 32 - 35 lá và các nhánh ra sau (đối với nhánh nuôi quả để

lại 1 - 2 lá). Sau khi thụ phấn khoảng 7 - 10 ngày tiến hành tỉa bỏ các quả phát triển không bình thường, chọn và chỉ để 1 quả/cây đối với nhóm dưa lê, dưa lưới quả to; 3 quả/cây đối với nhóm dưa lê quả nhỏ.

Đánh giá 14 chỉ tiêu định lượng gồm: Thời gian ra hoa cái (ngày), thời gian thu quả (ngày), chiều cao cây (cm), số quả trung bình/cây, khối lượng quả (kg), năng suất thực thu (tấn/ha), chiều dài quả (cm), đường kính quả (cm), độ dày thịt quả (cm), độ dày vỏ quả (cm), chỉ số độ ngọt (°Brix); và 4 chỉ tiêu định tính gồm: Dạng quả, đặc điểm vỏ quả, màu sắc vỏ quả, màu sắc thịt quả. Đánh giá 8 chỉ tiêu sâu, bệnh hại chính trên thực địa bao gồm: Rệp (*Aphis gossypii*), bọ trĩ (*Thrips palmi*), lở cổ rễ (*Rhizoctonia solani*), héo xanh vi khuẩn (*Pseudomonas solanacearum*), héo do nấm Fusarium (*Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis*), phấn trắng (*Podosphaera xanthii*), gỉ sương mai (*Pseudoperonospora cubensis*) bằng cách cho điểm theo TCCS 01:2021/RGV-VQR như sau: Điểm 0: Không có triệu chứng; điểm 1: Nhẹ 1 - 19% diện tích lá bị nhiễm; điểm 2: Trung bình 20 - 39% diện tích lá bị nhiễm; điểm 3: Nặng 40 - 69% diện tích lá bị nhiễm; 4: Rất nặng >70% diện tích lá bị nhiễm. Theo dõi tỷ lệ nhiễm bệnh do virus (%) bằng cách tính số cây bị hại/tổng số cây x 100.

2.3. Phương pháp phân tích số liệu

Số liệu được tổng hợp bằng phần mềm Microsoft Excel, phân tích phương sai (ANOVA) và phân tích hậu định có xếp hạng dựa trên phép thử LSD_{0,05} sử dụng phần mềm Statistix 10. Chọn lọc mẫu giống dưa triển vọng bằng chỉ số chọn lọc kiểu gen đa tính trạng (MGIDI) sử dụng gói “metan” trên phần mềm R 4.1.3.

Chỉ số MGIDI có công thức như sau:

$$MGIDI_i = \left[\sum_{j=1}^f (\gamma_{ij} - \gamma_j)^2 \right]^{0.5}$$

Trong đó: $MGIDI_i$ là chỉ số khoảng cách kiểu gen đa tính trạng cho kiểu gen thứ i ; γ_{ij} là điểm của hàng thứ i /kiểu gen/xử lý trong nhân tố thứ j ($i = 1, 2, \dots, g; j = 1, 2, \dots, f$), là g số kiểu gen, f số yếu tố, tương ứng; γ_j là điểm thứ j của kiểu cây lý tưởng.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Đặc điểm sinh trưởng, hình thái của các giống dưa mới trong năm 2023 tại thành phố Hà Nội

Kết quả đánh giá đặc điểm sinh trưởng của các giống dưa mới trong năm 2023 tại Hà Nội cho thấy, thời gian ra hoa cái của các giống dưa mới dao động trong khoảng 30 - 36 ngày trong vụ xuân năm 2023 và từ 30 - 34 ngày trong vụ hè thu năm 2023 (Bảng 1). Thời gian thu quả dao động từ 60 - 78 ngày trong vụ xuân và trong khoảng 60 - 75 ngày trong vụ hè thu năm 2023. Chiều cao cây ở giai đoạn thụ phấn của các giống dưa dao động từ 140,0 - 161,0 cm trong vụ xuân năm 2023 và từ

146,0 - 203,0 cm trong vụ hè thu năm 2023. Các giống DM2, DM6, DRB, QUIC có chiều cao cây giai đoạn thụ phấn cao hơn hẳn có ý nghĩa thống kê ở mức $p \leq 0,05$ so với hai giống đối chứng ở cả hai vụ thí nghiệm. Trong cả hai vụ thí nghiệm, các giống DM1, DM3, DM4, DM5, DKS, DJA có chiều cao cây không có sự sai khác có ý nghĩa thống kê ở mức $p \leq 0,05$ so với đối chứng 1. Các giống này có chiều cao cây thấp hơn có ý nghĩa thống kê ở mức $p \leq 0,05$ so với đối chứng 2 trong vụ xuân nhưng cao hơn có ý nghĩa thống kê ở mức $p \leq 0,05$ trong vụ hè thu năm 2023.

Bảng 1. Đặc điểm sinh trưởng của các giống dưa mới trong năm 2023 tại thành phố Hà Nội

Giống	Thời gian ra hoa cái (ngày)		Thời gian thu quả (ngày)		Chiều cao cây (cm)	
	Xuân 2023	Hè thu 2023	Xuân 2023	Hè thu 2023	Xuân 2023	Hè thu 2023
Nhóm dưa lê						
DM1	34,0	32,0	64,0	62,0	146,0	176,0
DM3	32,0	30,0	62,0	60,0	142,0	172,0
DM4	32,0	30,0	62,0	60,0	142,0	172,0
DKS	30,0	30,0	60,0	60,0	140,0	170,0
DJA	30,0	30,0	60,0	60,0	140,0	170,0
DLAĐ	33,0	30,0	63,0	60,0	143,0	173,0
ĐC1	32,0	30,0	62,0	60,0	142,0	172,0
Nhóm dưa lưới						
DM2	36,0	35,0	76,0	75,0	161,0	201,0
DM5	30,0	30,0	60,0	60,0	140,0	170,0
DM6	36,0	34,0	76,0	73,0	160,0	199,0
DRB	36,0	34,0	78,0	75,0	162,0	203,0
QUIC	36,0	30,0	76,0	72,0	156,0	198,0
ĐC2	35,0	32,0	75,0	72,0	157,0	146,0
LSD _{0,05}	*	*	1,9	2,1	5,4	6,5
CV%	*	*	3,4	4,5	5,8	6,6

Bảng 2. Hình thái quả của các giống dưa mới trong năm 2023 tại thành phố Hà Nội

Giống	Nhóm	Dạng quả	Đặc điểm vỏ quả	Màu sắc vỏ quả	Màu sắc thịt quả
Nhóm dưa lê					
DM1	Dưa lê	Oval	Trơn	Vàng	Trắng
DM3	Dưa lê	Oval	Trơn	Trắng	Vàng
DM4	Dưa lê	Oval	Trơn	Vàng	Vàng

DM5	Dưa lê	Oval	Tron	Trắng	Xanh nhạt
DKS	Dưa lê	Oval	Tron	Vàng-Xanh	vàng
DJA	Dưa lê	Tròn	Tron	Xanh	Xanh
DLAĐ	Dưa lê	Oval	Tron	Trắng	Trắng
<i>ĐC1</i>	<i>Dưa lê</i>	<i>Oval</i>	<i>Tron</i>	<i>Vàng</i>	<i>Vàng</i>
Nhóm dưa lưới					
DM2	Dưa lưới	Oval	Lưới dày	Xanh	Vàng
DM6	Dưa lưới	Dài	Lưới mỏng	Xanh	Vàng
DRB	Dưa lưới	Oval	Lưới dày	Vàng nhạt	Vàng
QUIC	Dưa lưới	Oval	Lưới dày	Xanh	Xanh nhạt
<i>ĐC2</i>	<i>Dưa lưới</i>	<i>Oval</i>	<i>Lưới dày</i>	<i>Xanh</i>	<i>Vàng</i>

Hình thái quả của các giống dưa mới trong năm 2023 tại thành phố Hà Nội được thể hiện tại bảng 2 và hình 1. Kết quả cho thấy, các giống dưa mới chia thành 2 nhóm chính. Trong đó, nhóm dưa lê gồm 7 giống DKS, DJA, DM1, DM3, DM4, DM5, DLAĐ và nhóm dưa lưới gồm 4 giống DRB, DM2, DM6, QUIC. Thời gian thu quả nhìn chung ở nhóm dưa lê ngắn hơn so với nhóm dưa lưới trung bình khoảng 10 ngày. Các giống dưa mới có thời gian sinh trưởng ngắn và có thể trồng 3 vụ/năm tại miền Bắc Việt Nam. Trong nhóm dưa lê, giống DJA thuộc nhóm dưa lê quả nhỏ, khác hẳn so với các giống dưa lê còn lại. Trong nhóm dưa lưới, giống DM6 có dạng quả dài trong khi các giống còn lại có quả dạng oval.

3.2. Khả năng chống chịu sâu, bệnh hại của các giống dưa mới trong năm 2023 tại thành phố Hà Nội

Đánh giá 8 chỉ tiêu sâu, bệnh hại chính trên khu thí nghiệm, kết quả thu được tại bảng 4. Kết quả đánh giá cho thấy, các giống đều không xuất

hiện triệu chứng ảnh hưởng của rệp và bọ trĩ (điểm 0). Trong điều kiện nhà màng có mái che tại thành phố Hà Nội cả hai vụ thí nghiệm, các giống nhiễm nhẹ bệnh héo xanh vi khuẩn gồm: DM2, DM3, DM5, DM6, DKS, DRB (điểm 1). Các giống nhiễm trung bình bệnh héo do nấm Fusarium gồm DM1, DLAĐ, QUIC (điểm 2). Các giống DM4 và DJA đều không bị nhiễm và nhiễm nhẹ, tương ứng đối hai bệnh nguy hiểm này trong khi hai giống đối chứng đều nhiễm nhẹ và trung bình (điểm 1 - 2). Bệnh héo xanh vi khuẩn và héo do nấm Fusarium là một trong những bệnh rất nguy hiểm thường gặp trên dưa, xuất hiện từ giai đoạn cây con đến khi trưởng thành [8]. Đây là bệnh gây suy giảm năng suất, chất lượng đáng kể khi canh tác các giống dưa lê, dưa lưới tại Việt Nam do khi cây nhiễm bệnh thì không thể phục hồi. Các mẫu giống chống chịu tốt với các loại bệnh hại như DM4, DJA là nguồn gen quý có tiềm năng để sử dụng trong các chương trình chọn giống dưa kháng bệnh.



DM1



DM2



DM3



DM4



DM5



DM6



DRB



DKS



DJA



DLAD



QUIC



Đối chứng 1



Đối chứng 2

Hình 1. Kiểu hình quả của các giống dưa mới và đối chứng

Bảng 3. Khả năng thích nghi, chống chịu sâu, bệnh hại của các giống dưa mới trong năm 2023 tại thành phố Hà Nội

Giống	Rệp (<i>Aphis gossypii</i>) (điểm 0-3)		Bọ trĩ (<i>Thrips palmi</i>) (điểm 1-3)		Lở cổ rễ (<i>Rhizoctonia solani</i>) (điểm 1-3)		Héo xanh vi khuẩn (<i>Pseudomonas solanacearum</i>) (điểm 1-3)		Héo do nấm Fusarium (<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>melonis</i>) (điểm 1-3)		Phân trắng (<i>Podosphaera xanthii</i>) (điểm 1-3)		Giả sương mai (<i>Pseudoperonospora cubensis</i>) (điểm 1-3)		Virus khảm vàng lá (<i>Cucurbit chlorotic yellows virus</i>) (%)	
	Xuân 2023	Hè thu 2023	Xuân 2023	Hè thu 2023	Xuân 2023	Hè thu 2023	Xuân 2023	Hè thu 2023	Xuân 2023	Hè thu 2023	Xuân 2023	Hè thu 2023	Xuân 2023	Hè thu 2023	Xuân 2023	Hè thu 2023

Nhóm dưa lê																
DM1	0	0	0	0	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	0	0
DM3	0	0	0	0	2	2	2	2	1	1	2	2	2	2	0	0
DM4	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	0	0	1	1	0	0
DM5	0	0	0	0	2	2	2	2	1	1	2	2	2	2	0	0
DKS	0	0	0	0	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	0	0
DJA	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
DLAĐ	0	0	0	0	2	2	1	1	2	2	2	2	2	2	0	0
ĐC1	0	0	0	0	1	1	1	1	2	2	1	1	1	1	0	0
Nhóm dưa lưới																
DM2	0	0	0	0	2	2	2	2	1	1	2	2	2	2	0	0
DM6	0	0	0	0	2	2	2	2	1	1	2	2	2	2	0	0
DRB	0	0	0	0	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	0	0
QUIC	0	0	0	0	2	2	1	1	2	2	2	2	2	2	0	0
ĐC2	0	0	0	0	2	2	1	1	1	1	2	2	2	2	0	0

3.3. Năng suất và các yếu tố cấu thành năng suất của các giống dưa mới trong năm 2023 tại thành phố Hà Nội

Năng suất và các yếu tố cấu thành năng suất của các giống dưa mới trong năm 2023 tại thành phố Hà Nội được trình bày ở bảng 4. Giống dưa lê quả nhỏ DJA để 3 quả/cây, các giống dưa lê, dưa lưới còn lại đều chỉ giữ 1 quả/cây để đảm bảo năng suất và chất lượng. Kết quả cho thấy, khối lượng quả trung bình của các giống dao động từ 0,4 - 2,5

kg trong vụ xuân và từ 0,6 - 3,0 kg trong vụ hè thu năm 2023 (Bảng 4). Các giống có khối lượng quả trung bình cao hơn hai giống đối chứng có ý nghĩa thống kê ở $p \leq 0,05$ gồm: DM6 (2,5 - 3,0 kg/quả) và DRB (2,0 - 2,2 kg/quả). Các giống có khối lượng quả trung bình tương đương đối chứng 1 gồm DM1, DM3, DM4, DM5 và DKS. Trừ các giống DM6, DRB, DJA, DLAĐ, các giống còn lại có khối lượng quả trung bình không có sự sai khác có ý nghĩa thống kê ở $p \leq 0,05$ so với đối chứng 2.

Bảng 4. Năng suất và các yếu tố cấu thành năng suất của các giống dưa mới trong năm 2023 tại thành phố Hà Nội

Giống	Số quả trung bình/cây		Khối lượng quả (kg)		Năng suất thực thu (tấn/ha)	
	Xuân 2023	Hè thu 2023	Xuân 2023	Hè thu 2023	Xuân 2023	Hè thu 2023
Nhóm dưa lê						
DM1	1,0	1,0	1,6	1,8	22,4	23,9
DM3	1,0	1,0	1,5	1,7	25,5	30,3
DM4	1,0	1,0	1,5	1,8	36,0	42,5
DM5	1,0	1,0	1,6	1,8	27,9	32,7
DKS	1,0	1,0	1,6	1,8	26,4	34,2
DJA	3,0	3,0	0,4	0,6	28,8	40,5
DLAĐ	1,0	1,0	1,1	1,2	24,5	26,4
ĐC1	1,0	1,0	1,4	1,5	35,0	38,5

Nhóm dưa lưới						
DM2	1,0	1,0	1,8	2,0	26,2	24,0
DM6	1,0	1,0	2,5	3,0	24,8	32,0
DRB	1,0	1,0	2,0	2,2	25,2	33,0
QUIC	1,0	1,0	1,8	2,0	18,7	16,8
<i>ĐC2</i>	<i>1,0</i>	<i>1,0</i>	<i>1,6</i>	<i>1,8</i>	<i>36,8</i>	<i>40,2</i>
<i>LSD_{0,05}</i>	-	-	<i>0,3</i>	<i>0,2</i>	<i>0,8</i>	<i>0,9</i>
<i>CV%</i>	-	-	<i>4,1</i>	<i>5,5</i>	<i>6,7</i>	<i>7,3</i>

Năng suất thực thu là chỉ tiêu rất quan trọng chịu ảnh hưởng lớn bởi môi trường, giống, phương pháp canh tác, gắn liền với hiệu quả kinh tế và quyết định khả năng mở rộng, phát triển của các giống dưa mới [9, 10]. Năng suất thực thu của các giống dưa mới biến động đáng kể, phần lớn đều có năng suất thấp hơn hai giống đối chứng do nhiễm khá nặng bệnh héo xanh vi khuẩn và héo do nấm *Fusarium* gây thất thu. Kết quả cho thấy, giống DM4 (36,0 tấn/ha trong vụ xuân và 42,5 tấn/ha trong vụ hè thu) có năng suất thực thu cao hơn đối

trong vụ hè thu) và không có sự sai khác có ý nghĩa thống kê ở $p \leq 0,05$ so với đối chứng 2 trong vụ xuân (36,8 tấn/ha trong vụ xuân) và cao hơn đối chứng 2 ở vụ hè thu năm 2023 (40,2 tấn/ha). Các giống còn lại đều có năng suất thực thu nhìn chung thấp hơn các giống đối chứng ở cả hai vụ thí nghiệm. Giống dưa lê quả nhỏ DJA có năng suất khá cao, đạt 28,8 tấn/ha trong vụ xuân 2023 và đạt 40,5 tấn/ha trong vụ hè thu năm 2023.

3.4. Đặc điểm quả và chất lượng của các giống dưa mới trong năm 2023 tại Hà Nội

Bảng 5. Đặc điểm quả và chất lượng của các giống dưa mới trong năm 2023 tại thành phố Hà Nội

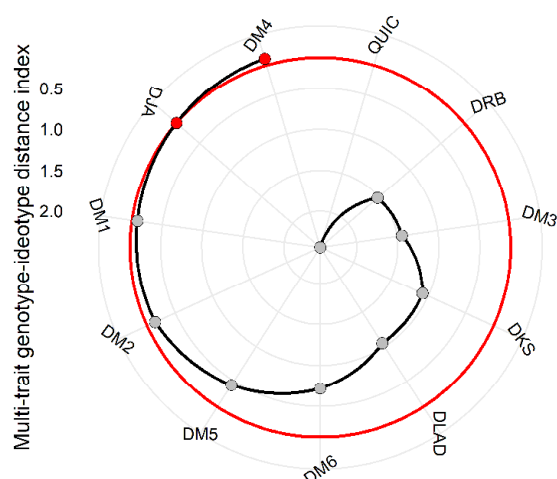
Giống	Chiều dài quả (cm)		Đường kính quả (cm)		Độ dày thịt quả (cm)		Độ dày vỏ quả (cm)		Chỉ số độ ngọt (°Brix)	
	Xuân 2023	Hè thu 2023	Xuân 2023	Hè thu 2023	Xuân 2023	Hè thu 2023	Xuân 2023	Hè thu 2023	Xuân 2023	Hè thu 2023
Nhóm dưa lê										
DM1	22,1	21,8	17,0	16,0	3,1	3,6	0,5	0,5	12,0	13,0
DM3	19,5	13,5	18,2	14,6	3,2	3,5	0,4	0,5	12,5	13,5
DM4	20,9	21,5	16,0	16,8	4,0	4,2	0,5	0,5	12,5	14,0
DM5	17,5	18,0	14,0	15,0	3,4	3,8	0,5	0,4	12,8	13,8
DKS	16,5	16,2	12,7	11,9	3,2	3,4	0,5	0,5	14,5	15,5
DJA	12,9	13,4	13,5	14,7	3,2	3,3	0,2	0,2	14,0	16,0
DLAĐ	16,6	17,6	12,4	13,0	3,1	3,0	0,5	0,7	14,0	15,0
<i>ĐC1</i>	<i>20,5</i>	<i>19,1</i>	<i>15,7</i>	<i>15,2</i>	<i>3,3</i>	<i>3,2</i>	<i>0,5</i>	<i>0,6</i>	<i>12,0</i>	<i>13,2</i>

Nhóm dưa lưới										
DM2	18,9	19,1	14,1	15,3	3,7	3,9	0,7	0,5	13,0	12,1
DM6	24,1	26,4	17,6	16,2	4,5	4,2	0,8	0,7	13,5	14,5
DRB	22,0	20,5	15,6	16,0	3,9	4,0	0,5	0,5	15,0	16,0
QUIC	16,0	15,8	15,4	15,5	4,3	4,1	0,5	0,5	15,0	16,0
ĐC2	14,6	13,3	13,5	10,8	3,6	3,8	0,5	0,5	13,6	12,9
$LSD_{0,05}$	1,8	2,0	0,6	0,7	0,4	0,4	0,1	0,1	1,1	1,2
CV%	4,0	4,6	3,4	3,8	4,1	4,4	2,5	3,2	5,4	5,8

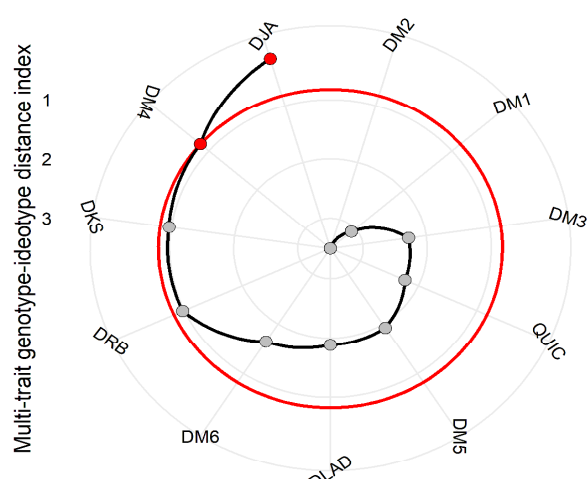
Đặc điểm quả và chất lượng của các giống dưa mới trong năm 2023 tại thành phố Hà Nội được thể hiện ở bảng 5. Kết quả cho thấy, nhìn chung các giống có chiều dài quả vụ hè thu dài hơn so với vụ xuân. Giống DM6 (24,1 cm trong vụ xuân và 26,4 cm trong vụ hè thu) có chiều dài quả dài hơn cả hai giống đối chứng ở mức có ý nghĩa thống kê ở $p \leq 0,05$ ở cả hai vụ thí nghiệm. Các giống DM1, DM2, DM3, DM4, DRB có chiều dài quả không có sự sai khác có ý nghĩa thống kê ở $p \leq 0,05$ so với đối chứng 1 (20,5 cm trong vụ xuân và 19,1 cm trong vụ hè thu). Chỉ số độ ngọt của các giống dưa mới dao động từ 12,0 - 15,0°Brix trong vụ xuân và 12,0 - 16,0°Brix trong vụ hè thu năm 2023. Các

giống có chỉ số độ ngọt cao hơn có ý nghĩa thống kê ở $p \leq 0,05$ so với đối chứng 1 gồm DM6, DRB, DKS, DJA, ĐLAD, QUIC. Các giống dưa còn lại đều có chất lượng tương đương các giống đối chứng. Nghiên cứu của Nguyen Trung Duc và cs (2022) [3] đã chỉ ra các giống dưa chất lượng có chỉ số độ ngọt $\geq 12^\circ\text{Brix}$. Trong nghiên cứu này, tất cả các giống dưa mới đều có chất lượng cao với chỉ số độ ngọt từ 12 - 16°Brix. Đây là những nguồn gen quý, bổ sung vào bộ sưu tập nguồn gen mới phục vụ tạo giống dưa lê, dưa lưới mới tại Việt Nam.

3.5. Chọn lọc các giống dưa triển vọng



(A) Vụ xuân năm 2023



(B) Vụ hè thu năm 2023

Hình 2. Kết quả chọn lọc các giống dưa triển vọng dựa trên chỉ số MGIDI

Phương pháp xác định giống ưu tú dựa trên chỉ số chọn lọc kiểu gen đa tính trạng MGIDI đã được đề xuất bởi Olivoto và Nardino (2021) [11]. Mẫu giống càng ưu tú thì chỉ số MGIDI càng nhỏ. Kết quả chọn lọc các giống dưa triển vọng qua hai vụ thí nghiệm xuân và hè thu năm 2023 dựa trên chỉ số MGIDI đã chọn được 2 giống triển vọng gồm: DM4 (01 quả/cây, khối quả trung bình đạt 1,5 kg/quả, năng suất trung bình đạt 36,0 tấn/ha, chỉ số độ ngọt trung bình đạt 12,5 - 14,0°Brix) và DJA (3 quả/cây, khối lượng trung bình quả đạt 400 g/quả, năng suất trung bình đạt 30,0 tấn/ha, chỉ số độ ngọt trung bình đạt 14,0 - 16,0°Brix) (Hình 2A, B).

4. KẾT LUẬN

Nghiên cứu đánh giá trong hai vụ xuân và hè thu năm 2023 đã phân nhóm các mẫu giống mới thành nhóm dưa lê (DKS, DJA, DM1, DM3, DM4, DM5, DLAĐ) và nhóm dưa lưới (DRB, DM2, DM6, QUIC). Các mẫu giống mới hầu hết đều có khả năng sinh trưởng, phát triển và thích ứng khá tốt với điều kiện khí hậu tại thành phố Hà Nội. Tất cả các mẫu giống đều có chất lượng tốt với chỉ số độ ngọt $\geq 12^\circ\text{Brix}$. Tuy nhiên, 6 mẫu giống nhiễm khá nặng bệnh héo xanh vi khuẩn gồm: DM2, DM3, DM5, DM6, DKS, DRB làm suy giảm năng suất thực thu.

Kết quả chọn lọc qua hai vụ thí nghiệm đã xác định được 2 giống triển vọng gồm: DM4 (dưa lê vỏ vàng, ruột vàng, quả oval) và DJA (dưa lê vỏ xanh, ruột xanh quả nhỏ) có thể mở rộng và phát triển tại các tỉnh phía Bắc Việt Nam.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Kesh H. & Kaushik P. (2021). Advances in melon (*Cucumis melo* L.) breeding: An update. *Scientia Horticulturae*. 282: 110045.
2. Liu S., Gao P., Zhu Q., Zhu Z., Liu H., Wang X., Weng Y., Gao M. & Luan F. (2020). Resequencing of 297 melon accessions reveals the genomic history of improvement and loci related to fruit traits in melon. *Plant Biotechnology Journal*. 18 (12): 2545 - 2558.
3. Nguyen Trung Duc, Pham Quang Tuan, Nguyen Thi Nguyet Anh & Vu Van Liet (2022).

Phenotypic variation and correlation of fruit traits in diverse muskmelon materials. *Vietnam Journal of Agriculture & Rural Development* 2 (2): 23 - 31.

4. Cục Trồng trọt (2023). Thực trạng sản xuất giai đoạn 2020 - 2023 và định hướng công tác đặt hàng nghiên cứu và chuyển giao khoa học kỹ thuật, đổi mới sáng tạo lĩnh vực trồng trọt đến năm 2030. Hội nghị toàn quốc về khoa học, công nghệ và đổi mới sáng tạo lĩnh vực trồng trọt - bảo vệ thực vật. 15 - 40.

5. Duong T. -T., Dung T. P., Tanaka K., Nhi P. T. P., Shigita G., Imoh O. N., Nishida H. & Kato K. (2021). Distribution of two groups of melon landraces and inter-group hybridization enhanced genetic diversity in Vietnam. *Breeding science*. 71 (5): 564 - 574.

6. Nguyễn Thị Nguyệt Anh, Phạm Quang Tuấn, Vũ Thị Xuân Bình, Vũ Văn Liết & Nguyễn Trung Đức (2022). Ưu thế lai và khả năng kết hợp về đặc điểm nông học của các dòng thuần dưa thom. *Tạp chí Khoa học Nông nghiệp Việt Nam*. 20 (6): 709 - 721.

7. Ngô Thị Hạnh, Nguyễn Thị Hồng Hạnh, Trần Thị Hồng, Phạm Thị Minh Huệ & Vũ Ngọc Huy (2020). Kết quả nghiên cứu chọn tạo giống dưa lê vàng lai. *Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển nông thôn*. Số chuyên đề Khoa học Công nghệ Rau hoa quả phục vụ tái cơ cấu ngành nông nghiệp. 111 - 117.

8. Oumouloud A., El-Otmani M., Chikh-Rouhou H., Claver A. G., Torres R. G., Perl-Treves R. & Álvarez J. M. (2013). Breeding melon for resistance to Fusarium wilt: Recent developments. *Euphytica*. 192 (2): 155 - 169.

9. Akrami M. & Arzani A. (2019). Inheritance of fruit yield and quality in melon (*Cucumis melo* L.) grown under field salinity stress. *Scientific reports*. 9 (1): 7249.

10. Cozzolino E., Di Mola I., Ottaiano L., Bilotto M., Petriccione M., Ferrara E., Mori M. & Morra L. (2023). Assessing yield and quality of melon (*Cucumis melo* L.) improved by biodegradable mulching film. *Plants*. 12 (1): 219.

11. Olivoto T. & Nardino M. (2021). MGIDI: biological experiments. *Bioinformatics*. 37 (10): Toward an effective multivariate selection in 1383 - 1389.

**AGRONOMIC PERFORMANCE AND ADAPTATION OF NEWLY
INTRODUCED MELON VARIETIES**

**Nguyen Trung Duc¹, Nguyen Thi Nguyet Anh¹, Pham Quang Tuan¹,
Pham Thu Hang², Pham Xuan Hoi², Ha Viet Son³, Vu Van Liet⁴**

¹*Crops Research and Development Institute, Vietnam National University of Agriculture*

²*Agricultural Genetics Institute, Vietnamese Academy of Agricultural Sciences*

³*Center for High Technology Development, Vietnam Academy of Science and Technology*

⁴*Faculty of Agronomy, Vietnam National University of Agriculture*

Summary

This study evaluated the agronomic characteristics of 11 newly introduced melon varieties with two checks in the Spring and Summer - Autumn seasons 2023 in Hanoi in order to select the promising varieties and enrich the genetic resources for improving melon production in Vietnam. The results showed that eleven melon varieties were divided into 2 groups *viz.*, oriental melon (DKS, DJA, DM1, DM3, DM4, DM5, DLAD) and muskmelons (DRB, DM2, DM6, QUIC). These melon varieties highly adapted to the climatic conditions in Hanoi, with fruit harvest time ranged between 60 - 75 days, average fruit weight fluctuated between 0.4 - 3.0 kg/fruit, fruit yield ranged from 30.0 - 60.0 tons/ha and sweetness index ranged from 12.0 - 16.0°Brix. The selection result through two seasons based on the multitrait genotype-ideotype distance index have identified the 2 most promising varieties including DM4 (1 fruit/plant, average fruit weight reached 1.5 - 1.8 kg/fruit, average yield reaches 36.0 - 42.5 tons/ha, average sweetness index reached 12.5 - 14.0°Brix), and DJA (3 fruits/plant, average fruit weight reached 0.4 - 0.6 kg/fruit, average yield reached 28.8 - 40.5 tons/ha, average sweetness index reached 14.0 - 16.0°Brix).

Keywords: *Melon, phenotype, adaptation, yield, quality.*

Người phản biện: TS. Ngô Thị Hạnh

Ngày nhận bài: 3/7/2023

Ngày thông qua phản biện: 22/11/2023

Ngày duyệt đăng: 28/12/2023

PHÁT TRIỂN QUY TRÌNH MULTIPLEX RT-PCR PHÁT HIỆN *Cymbidium Mosaic virus* (*CymMV*) VÀ *Odontoglossum Ringspot virus* (*ORSV*) GÂY BỆNH TRÊN HOA LAN

Phạm Đức Toàn¹, Nguyễn Khánh Ngọc Hà¹, Bùi Cách Tuyến^{2,*}

TÓM TẮT

Virus gây hại trên hoa lan là một trong những yếu tố chính dẫn đến thiệt hại kinh tế cho người trồng lan. Việc phát triển một quy trình để phát hiện sớm các virus gây hại là cần thiết để đưa ra định hướng xử lý ngăn ngừa sự lây lan. Mục đích của nghiên cứu này là phát triển quy trình multiplex RT-PCR để phát hiện nhanh đồng thời 2 virus *CymMV* và *ORSV* gây hại trên cây hoa lan. Kết quả tối ưu hóa quy trình multiplex RT-PCR cho thấy, với 30 chu kỳ lặp lại và nhiệt độ bắt cặp *T_m* của primer là 63°C là điều kiện tối ưu nhất, cho các sản phẩm PCR có chất lượng tốt nhất. Kết quả sử dụng quy trình multiplex RT-PCR trên 30 mẫu lan đã phát hiện 20 mẫu nhiễm *CymMV*, 4 mẫu nhiễm *ORSV*, trong đó có 4 mẫu nhiễm đồng thời *CymMV* và *ORSV*. Kết quả phát hiện virus từ quy trình multiplex RT-PCR tương đồng và hoàn toàn trùng khớp với kết quả phát hiện virus từ quy trình simplex RT-PCR. Quy trình multiplex RT-PCR có thể được sử dụng để phát hiện đồng thời 2 loại virus gây hại trên cây hoa lan, giúp giảm thời gian và chi phí phân tích.

Từ khóa: Dương tính, Hoa lan, primer đặc hiệu, nhiễm virus, virus *CymMV*.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Ngành trồng hoa lan thương mại đang phát triển mạnh mẽ, cạnh tranh như trồng chè có lợi tức cao. Tuy vậy, virus lây nhiễm trên cây lan làm giảm sức sống, vẻ đẹp của lá và hoa dẫn đến thiệt hại kinh tế nghiêm trọng cho người trồng ở các nước trồng lan nói chung và Việt Nam nói riêng. Trong đó, *Cymbidium mosaic virus* (*CymMV*; genus *Potexvirus*), *Odontoglossum ringspot virus* (*ORSV*; genus *Tobamovirus*) là 2 loại virus gây hại phổ biến trên hầu hết các loài hoa lan [1]. *CymMV* gây ra các triệu chứng màu vàng mất diệp lục hoặc các vết đốm loét trên lá và hoa lan, hoa nhiễm bệnh bị biến dạng và màu không đẹp. *ORSV* gây ra các triệu chứng sọc hoặc khảm sọc, lốm đốm hoặc đốm tròn trên lá, trên cây bị nhiễm bệnh làm cho hoa bị đốm mất màu và màu không đồng nhất [2]. Cây lan bị nhiễm đồng thời cả 2 loại virus

thường có triệu chứng nặng, không thể phân biệt các triệu chứng riêng biệt cho từng loại virus. Tuy nhiên, có trường hợp cây bị nhiễm virus nhưng đôi khi không có triệu chứng và không thể phân biệt được với những cây lan khỏe mạnh, vì virus mới xâm nhiễm chưa gây hại nghiêm trọng [3]. Do đó, mục tiêu của nghiên cứu này là phát triển quy trình multiplex RT-PCR có thể phát hiện đồng thời cùng lúc 2 virus *CymMV* và *ORSV* gây hại trên lan, từ đó góp phần phát hiện sớm sự xâm nhiễm của virus để có các giải pháp ứng phó hiệu quả.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Tổng số 30 mẫu lan có triệu chứng nghi ngờ nhiễm bệnh virus như đốm lá, sọc lá đã được phát hiện bằng kỹ thuật simplex RT-PCR bởi nghiên cứu của Phạm Đức Toàn và cs (2022) [4] được trình bày ở bảng 1. Các mẫu dương tính với *CymMV*, *ORSV* được chọn để thực hiện xây dựng và đánh giá mức tin cậy của quy trình multiplex RT-PCR phục vụ cho công tác phát hiện đồng thời *CymMV* và *ORSV*.

¹ Khoa Khoa học Sinh học, Trường Đại học Nông Lâm thành phố Hồ Chí Minh

² Khoa Môi trường và Tài nguyên, Trường Đại học Nông Lâm thành phố Hồ Chí Minh

* Email: buicachtuyen@gmail.com

Bảng 1. Danh sách mẫu lan được sử dụng trong nghiên cứu

Số TT mẫu	Mã số mẫu	Tên mẫu	Tên tiếng Việt	Kết quả phát hiện virus bằng simplex RT-PCR [4]	
				<i>CymMV</i>	<i>ORSV</i>
1	666	<i>Cattleya</i> sp.	Cát lan	+	+
2	1000	<i>Dendrobium</i> sp.	Đăng lan	+	-
3	153	<i>Dendrobium</i> sp.	Đăng lan	+	+
4	026	<i>Coelogyne rochussenii</i>	Thanh đạm Indo	+	-
5	2199	Không tên		+	-
6	1247	<i>Cymbidium</i> sp.	Lan kiếm	+	-
7	0012/22	<i>Epidendrum</i> sp.	Lan Epi	+	-
8	1966	<i>Cymbidium</i> sp.	Lan kiếm	+	+
9	505	<i>Cymbidium dayanum</i>	Kiểm Xích ngọc	+	+
10	188	<i>Bulbophyllum</i> sp.	Lan Lọng	-	-
11	D446	<i>Dendrobium</i> sp.	Đăng lan	+	-
12	0028/22	<i>Dendrobium milixae</i>	Đăng lan	-	-
13	1327	<i>Ascocentrum miniatum</i>	Hỏa hoàng	+	-
14	663	<i>Dendrobium anosmum</i> French variety	Giả hạc Pháp	+	-
15	1018	<i>Dendrobium amethystoglossum</i>	Hoàng Thảo lưỡi tím	-	-
16	1887	<i>Dendrobium hancockii</i>	Trúc lan	-	-
17	2046	<i>Oncidium</i> sp.	Vũ nữ vàng	-	-
18	1298	<i>Bulbophyllum</i> sp.	Lan Lọng	-	-
19	1001	<i>Cattleya</i> sp.	Cát lan	+	-
20	362	<i>Coelogyne brachyptera</i>	Thanh đạm	-	-
21	252	<i>Oncidium</i> sp.	Vũ nữ vàng	+	-
22	277	<i>Coelogyne fimbriata</i>	Thanh đạm	+	-
23	2141	<i>Coelogyne</i> sp.	Thanh đạm	-	-
24	192	<i>Zygopetalum</i> sp.	Vũ nữ tím	+	-
25	1208	<i>Grammatophyllum</i> sp.	Vũ nữ Hoàng hậu	-	-
26	1139	<i>Dendrobium crumenatum</i>	Đăng lan Tuyết mai	+	-
27	1557	<i>Rhynchostylis gigantea</i>	Lan Ngọc điểm	+	-
28	1380	<i>Vandopsis</i> sp.	Lan Vanda	+	-
29	1411	<i>Dendrobium</i> sp.	Đăng lan	+	-
30	132	<i>Aerides odorata</i>	Quế lan hương	-	-

2.2. Phương pháp nghiên cứu

RNA của virus gây hại cây hoa lan được li trích bằng bộ kit RNA (Qiagen, Đức) và cDNA được tổng hợp bằng bộ kit Thermo Scientific RevertAid First Strand cDNA Synthesis. Sử dụng cặp primer 18s115-F: GCGCGAAACAAGCTTC TTATC và 18s115-R: GTAGACATCTGTGACGC GA để kiểm tra sự hiện diện của cDNA với kích thước đoạn khuếch đại là 115 bp. Cặp primer đặc hiệu CY348-F, CY348-R được sử dụng để nhận diện virus *CymMV* với kích thước đoạn khuếch đại là 348 bp và cặp primer OR275-F, OR275-R với đoạn khuếch đại là 275 bp để phát hiện *ORSV* [5]. Phản ứng multiplex RT-PCR với tổng thể tích là 12,5 μ l gồm: 1X MasterMix, 0,2 mM mỗi primer, 1 μ l cDNA và nước khử ion. Tối ưu hóa chu trình nhiệt phản ứng multiplex RT-PCR được thực hiện như sau: Biến tính ở 95°C trong 5 phút; tiếp theo là số chu kỳ được thực hiện ở các mức 25, 30, 35 chu kỳ lặp lại của biến tính ở 95°C trong 30 giây, nhiệt độ bắt cặp (T_m) được thực hiện ở 50 - 65°C với mỗi bước nhảy

là 1°C trong 30 giây, giai đoạn kéo dài ở 75°C trong 30 giây; tiếp theo là giai đoạn sau kéo dài ở 75°C trong 10 phút và cuối cùng mẫu được giữ ở nhiệt độ 4°C. Sản phẩm PCR được điện di trên gel agarose 1,5% trong dung dịch đệm TBE 0,5X, điện di trong 30 phút và đọc kết quả trên máy đọc có đèn UV.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Tổng hợp cDNA và đánh giá sự đặc hiệu của các cặp primer trong phản ứng multiplex RT-PCR

Dựa trên thông tin từ kết quả các mẫu lan đã được xác định nhiễm virus [4], với các mẫu nhiễm *CymMV*, *ORSV* được lựa chọn làm vật liệu để đánh giá quy trình multiplex RT-PCR phát hiện đồng thời 2 virus này. RNA virus từ các mẫu hoa lan sau khi li trích được thực hiện phản ứng tổng hợp cDNA. Kết quả cho thấy, cDNA được tổng hợp tốt, tất cả các mẫu đều cho các đoạn khuếch đại sáng rõ trên gel agarose (Hình 1).



Hình 1. Kết quả điện di sản phẩm cDNA-PCR. M: Ladder 100 bp; 1 - 30: tương ứng 30 mẫu theo số thứ tự mẫu ở bảng 1, sản phẩm cDNA-PCR được điện di trên gel 1,5%, trong dung dịch TAE 0,5X, 30 phút ở hiệu điện thế 100 V

Cặp primer CY346-F, CY346-R dùng trong phát hiện *CymMV* và cặp primer OR257-F, OR257-R phát hiện *ORSV* được kiểm tra các đặc điểm cơ bản về khả năng dùng chung, mức độ đặc hiệu và các thông số khác bằng phần mềm Bioedit.

Bảng 2. Đặc điểm cơ bản của các cặp primer dùng trong phản ứng multiplex RT-PCR

Primer	Trình tự 5' – 3'	Số Nucleotide	% GC	T_m	Virus
CY346-F	GCAGATCTTCGTGGCCAACGTCA	23	56%	69°C	<i>CymMV</i>
CY346-R	AGAGCATAGAGAGTGTGGTGGAG	24	50%		
OR257-F	GCTTGGGCTGACCCCAATTCACT	23	56%	68°C	<i>ORSV</i>
OR257-R	GGATTCTGCGGATTTTCTACCTCG	24	50%		

Từ kết quả phân tích cho thấy, các thông số đã đáp ứng đủ các yêu cầu của một cặp primer hoạt động hiệu quả trong phản ứng multiplex RT-PCR, với nhiệt độ bắt cặp của 2 cặp primer không khác biệt nhau nhiều, chỉ 1°C (Bảng 2); số nucleotide của primer tối ưu trong phản ứng multiplex RT-PCR khoảng 10 - 25 (CY346 (R/F), OR275 (R/F) có trình tự primer 23 - 24 nucleotide) và %GC mỗi primer ở 20 - 80% (CY346 (R/F), OR275 (R/F) có %GC từ 50 - 56%). Các cặp primer một lần nữa được

kiểm tra mức độ đặc hiệu bằng công cụ BLAST của Trung tâm Thông tin Công nghệ sinh học Quốc gia Hoa Kỳ (National Center for Biotechnology Information - NCBI) [6]. Chương trình này dò tìm trên cơ sở dữ liệu của các Ngân hàng gen để tìm ra tất cả các vùng trình tự có trình tự tương đồng với kích thước đoạn khuếch đại bởi các cặp primer này. Kết quả BLAST, tham chiếu ở 3 trình tự có độ bao phủ cao nhất cho thấy, các cặp primer có độ đặc hiệu và bao phủ cao 100% (Bảng 3).

Bảng 3. Kết quả phân tích BLAST của 2 cặp primer CY346 (R/F) và OR257 (R/F) dùng để phát hiện *CymMV* và *ORSV* trên ngân hàng dữ liệu NCBI

Primer	Tên trình tự	Tỉ lệ bao phủ (%)	Virus	Mẫu phân lập
CY348 (F/R)	MN057672.1	100	<i>Cymbidium mosaic virus (strain Singapore)</i>	<i>Cymbidium mosaic virus isolate Phal-GP coat protein gene, complete cds</i>
	MK816927.1	100	<i>Cymbidium mosaic virus (strain Singapore)</i>	<i>Cymbidium mosaic virus isolate Malaysia, complete genome</i>
	MG821322.1	100	<i>Cymbidium mosaic virus (strain Singapore)</i>	<i>Cymbidium mosaic virus isolate CymMV: CP: Phalaenopsis coat protein (CP) gene, complete cds</i>
OR257 (F/R)	MN057680.1	100	<i>Odontoglossum ringspot virus (isolate Japan)</i>	<i>Odontoglossum ringspot virus isolate Reichb-GG coat protein gene, complete cds</i>
	MN057679.1	100	<i>Odontoglossum ringspot virus (isolate Korean Cy)</i>	<i>Odontoglossum ringspot virus isolate Phal-GP coat protein gene, complete cds</i>
	MN027919.1	100	<i>Odontoglossum ringspot virus (isolate Singapore 1)</i>	<i>Odontoglossum ringspot virus isolate Sikkim clone 3 coat protein (CP) mRNA, complete cds</i>

Kết quả BLAST phân tích các cặp primer CY348 (F/R), OR257 (F/R) từ ngân hàng dữ liệu NCBI cho thấy, các cặp primer này hoàn toàn đặc hiệu và phù hợp dùng cho phản ứng multiplex RT-PCR trong việc phát hiện cùng lúc *CymMV* và *ORSV* gây hại trên cây hoa lan.

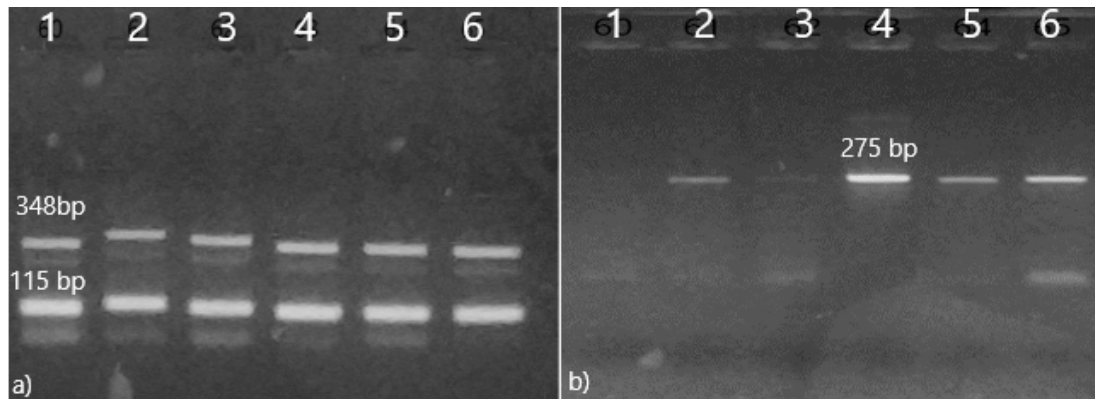
3.2. Khảo sát lựa chọn mức nhiệt độ *T_m* tối ưu

Mẫu bệnh với kết quả dương tính *CymMV* và *ORSV* đã thực hiện từ quy trình simplex RT-PCR

[4] được dùng làm vật liệu để tối ưu nhiệt độ bắt cặp của primer trong quy trình multiplex RT-PCR. Vì vậy, để xây dựng một quy trình multiplex RT-PCR phát hiện đồng thời cùng lúc 2 virus tin cậy hiệu quả thì cần phải tiến hành khảo sát khả năng khuếch đại của các cặp primer ở các mức nhiệt độ bắt cặp (*T_m*) khác nhau với các mức nhiệt độ *T_m* dao động từ 60 - 65°C được khảo sát trên cùng 1 mẫu bệnh dương tính với *CymMV* và *ORSV* (Hình 2). Kết quả này phù hợp với nghiên cứu của Ali và

cs (2014) [3], theo đó nhiệt độ bắt cặp (T_m) của các primer là không hoàn toàn giống nhau, do vậy để phản ứng PCR đạt hiệu quả và tin cậy thì cần

thiết phải tối ưu lựa chọn nhiệt độ bắt cặp T_m thích hợp.

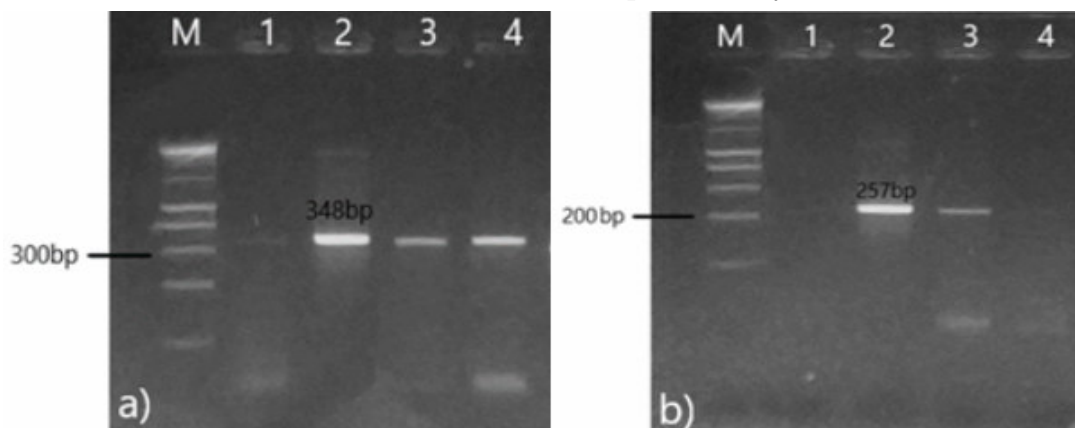


Hình 2. Sản phẩm RT-PCR với 6 mức nhiệt độ bắt cặp (T_m) của primer. a) Kết quả khuếch đại với cặp primer CY348 (R/F) phát hiện *CymMV* với kích thước 348 bp và cặp primer 18S115 (R/F) kích thước 115 bp dùng để kiểm tra cDNA - internal control; b) Kết quả khuếch đại với cặp primer OR257 (R/F) phát hiện *ORSV* có kích thước khuếch đại 275 bp; mẫu số 1 - 6: sản phẩm PCR lần lượt của 6 mức nhiệt độ T_m từ 60 - 65°C, sản phẩm PCR được điện di trên gel 1,5%, trong dung dịch TBE 0,5X, 30 phút ở hiệu điện thế 100 V

Với kết quả điện di sản phẩm PCR từ các mức nhiệt độ T_m có thể nhận thấy, ở các mức nhiệt độ bắt cặp khác nhau của các cặp primer đặc hiệu cho kết quả sản phẩm đoạn khuếch đại có độ sáng rõ khác nhau (Hình 2a). Trong đó, cặp primer CY348 (R/F) cho kết quả đoạn khuếch đại dương tính với virus *CymMV* ở tất cả các mức nhiệt độ từ 60 - 65°C, còn cặp primer OR275 (R/F) cho kết quả

đoạn khuếch đại dương tính ở 4 mức nhiệt độ có band rõ, trong đó rõ đẹp nhất ở 63°C (Hình 2b). Từ kết quả đạt được, chọn mức nhiệt độ 63°C là nhiệt độ bắt cặp (T_m) tối ưu dùng trong phản ứng multiplex RT-PCR để phát hiện virus *CymMV* và *ORSV* gây hại trên cây hoa lan.

3.3. Khảo sát số chu kỳ tối ưu trong phản ứng PCR phát hiện *CymMV* và *ORSV*



Hình 3. Kết quả điện di sản phẩm PCR của 4 mức chu kỳ lặp lại. M: Ladder 100 bp Bioline; a) PCR với cặp primer CY348 (R/F); b) PCR với cặp primer OR257 (R/F); 1: 25 chu kỳ; 2: 30 chu kỳ; 3: 35 chu kỳ; 4: 40 chu kỳ, được điện di trên gel 1,5%, trong dung dịch TBE 0,5X, 30 phút ở hiệu điện thế 100 V

Kết quả điện di cho thấy, cả 2 cặp primer CY348 (R/F) và OR275 (R/F) đều cho kết quả tốt, đoạn khuếch đại rõ sáng nhất ở 30 chu kỳ khuếch đại (Hình 3). Do đó, kết quả khảo sát tối ưu lựa chọn số chu kỳ cho phản ứng PCR là 30 chu kỳ.

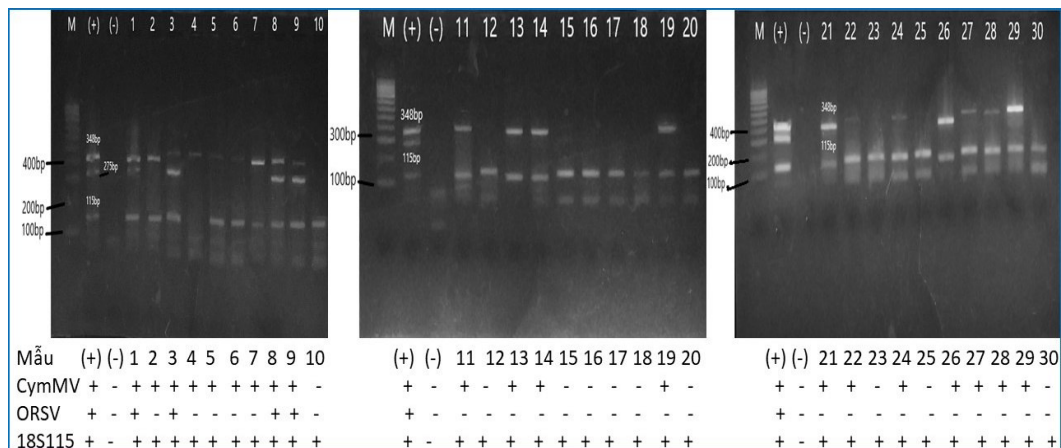
Quy trình multiplex RT-PCR được hoàn thiện để phát hiện đồng thời 2 virus *CymMV* và *ORSV* trong cùng một phản ứng PCR như sau: Biến tính ở 95°C trong 5 phút; tiếp theo là 30 chu kỳ lặp lại của biến tính ở 95°C trong 30 giây, nhiệt độ bắt cặp 63°C trong

thời gian 30 giây, giai đoạn kéo dài ở 75°C trong 30 giây; tiếp theo là giai đoạn sau kéo dài ở 75°C trong 10 phút và cuối cùng mẫu được lưu giữ ở nhiệt độ 4°C.

3.4. Áp dụng quy trình multiplex RT-PCR để kiểm tra các mẫu lan và đánh giá khả năng tin cậy của quy trình

Sử dụng quy trình multiplex RT-PCR đã được hoàn thiện, tiến hành kiểm tra đồng thời *ORSV* và *CymMV* trên 30 mẫu lá lan đã được phát hiện virus

bằng phương pháp simplex RT-PCR [4]. Mẫu được thực hiện phản ứng multiplex RT-PCR với cùng lúc 3 cặp primer gồm: 18s115 (R/F) nhận dạng cDNA của mẫu (đối chứng nội - internal control), CY348 (R/F) nhận dạng *CymMV* và OR257 (R/F) để phát hiện *ORSV*, kết quả sản phẩm PCR được đọc bằng phương pháp điện di trên agarose 1,5%. Kết quả điện di đoạn khuếch đại từ phản ứng multiplex RT-PCR phát hiện đồng thời *CymMV* và *ORSV* được thể hiện ở hình 4.



Hình 4. Kết quả điện di sản phẩm mutiplex RT-PCR. M: Ladder 100 bp Bioline; (+): đối chứng dương; (-): đối chứng âm; 1 - 30: 30 mẫu lan theo số thứ tự mẫu (Bảng 1). Sản phẩm PCR được điện di trên gel agarose 1,5%, trong dung dịch TBE 0,5X, 30 phút ở hiệu điện thế 100 V

Bảng 4. Kết quả phát hiện virus trên 30 mẫu lan bằng multiplex RT-PCR và so sánh với kết quả phát hiện virus từ simplex RT-PCR

Số TT mẫu	Mã số mẫu	Kết quả phát hiện virus bằng simplex RT-PCR [4]		Kết quả phát hiện virus bằng multiplex RT-PCR (Hình 4)	
		<i>CymMV</i>	<i>ORSV</i>	<i>CymMV</i>	<i>ORSV</i>
1	666	+	+	+	+
2	1000	+	-	+	-
3	153	+	+	+	+
4	026	+	-	+	-
5	2199	+	-	+	-
6	1247	+	-	+	-
7	0012/22	+	-	+	-
8	1966	+	+	+	+
9	505	+	+	+	+
10	188	-	-	-	-
11	D446	+	-	+	-
12	0028/22	-	-	-	-

13	1327	+	-	+	-
14	663	+	-	+	-
15	1018	-	-	-	-
16	1887	-	-	-	-
17	2046	-	-	-	-
18	1298	-	-	-	-
19	1001	+	-	+	-
20	362	-	-	-	-
21	252	+	-	+	-
22	277	+	-	+	-
23	2141	-	-	-	-
24	192	+	-	+	-
25	1208	-	-	-	-
26	1139	+	-	+	-
27	1557	+	-	+	-
28	1380	+	-	+	-
29	1411	+	-	+	-
30	132	-	-	-	-

Ghi chú: (+): Dương tính; (-): Âm tính

Kết quả nghiên cứu cho thấy, có tổng số 20 mẫu nhiễm *CymMV* và 4 mẫu nhiễm *ORSV* trong tổng số 30 mẫu được phân tích bằng quy trình multiplex RT-PCR. Trong đó, có 4 mẫu nhiễm đồng thời cả 2 đối tượng virus *CymMV* và *ORSV* là các mẫu số 1, số 3, số 8, số 9 (Hình 4). Khi đối chiếu với kết quả phân tích virus từ quy trình simplex RT-PCR [4] thì kết quả phát hiện từ quy trình multiplex RT-PCR có kết quả tương tự, hoàn toàn trùng khớp về kết quả mẫu dương tính. Theo đó, kết quả simplex RT-PCR được báo cáo tổng số 30 mẫu có sự hiện diện của *CymMV* là 20/30 (chiếm 66,7%), trong đó giống *Dendrobium* là giống nhiễm *CymMV* nhiều nhất, *ORSV* là 4/30 (chiếm 13,3%). Tỷ lệ nhiễm *CymMV* trên các mẫu khá cao trên tổng số mẫu thu được. Kết quả nghiên cứu này đã khẳng định và chứng minh việc phát triển quy trình multiplex RT-PCR thành công trong phát hiện đồng thời virus *CymMV* và *ORSV* gây hại trên cây hoa lan. Multiplex RT-PCR giúp khả năng phát hiện đồng thời cùng lúc 2 hoặc

nhiều virus lây nhiễm trên cây hoa lan với các mức độ triệu chứng gây hại nặng, rõ ràng hoặc mới lây nhiễm chưa biểu hiện triệu chứng [3, 5, 7], đôi khi kết quả khuếch đại đoạn band hơi mờ có thể là do hàm lượng virus trong mẫu thấp [5, 8].

4. KẾT LUẬN

Kết quả phát hiện virus thu nhận được từ quy trình multiplex RT-PCR phù hợp, tương đồng và hoàn toàn trùng khớp với kết quả phát hiện virus trên cùng 30 mẫu từ quy trình simplex RT-PCR. Kết quả này cho thấy, quy trình multiplex RT-PCR thành công trong phát hiện cùng lúc 2 virus *CymMV* và *ORSV* gây hại trên cây hoa lan với chu kỳ cho phản ứng PCR là 30, nhiệt độ bắt cặp *T_m* của primer là 63°C. Kết quả nghiên cứu này là một trong những thông tin hữu ích ứng dụng trong việc phát hiện virus gây hại trên cây hoa lan, đặc biệt là phát hiện đồng thời các virus khác nhau, giúp tiết kiệm thời gian, giảm chi phí phân tích và có thể phát hiện sớm sự lây nhiễm của virus gây hại.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Gibbs A, Mackenzie A, Blanchfield A, Cross P, Wilson C, Kitajima E, Nightingale M, Clements M (2000). *Viruses of Orchids in Australia; their identification, biology and control*. Aust Orch Rev, 65: 10 - 21.
2. Yamane K, Oyama K, Iuchi E, Ogawa H, Suzuki T, Natsuaki T (2008). *RT-PCR detection of Odontoglossum ringspot virus, Cymbidium mosaic virus and Tospoviruses and association of infections with leaf-yellowing symptoms in phalaenopsis*. J Phytopathol, 156: 268 - 273.
3. Ali, R. N., Dann, A. L., Cross, P. A., & Wilson, C. R. (2014). *Multiplex RT-PCR detection of three common viruses infecting orchids*. Archives of virology, 159, 3095 - 3099.
4. Phạm Đức Toàn, Nguyễn Khánh Ngọc Hà, Bùi Cách Tuyến (2022). Phát hiện *Cymbidium Mosaic virus (CymMV)* và *Odontoglossum Ringspot virus (ORSV)* gây bệnh trên hoa lan bằng kỹ thuật PCR. *Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển nông thôn*, 10 (2): 31 - 38.
5. Su Min Kim, Sun Hee Choi (2015). *Simultaneous detection of Cymbidium mosaic virus and Odontoglossum ringspot virus in orchids using multiplex RT-PCR*. Virus Genes 51: 417 - 422 DOI 10.1007/s11262-015-1258-x.
6. The National Center for Biotechnology Information (NCBI). <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST>, truy cập ngày 3 tháng 10 năm 2022.
7. Yamane K, Oyama K, Iuchi E, Ogawa H, Suzuki T and Natsuaki T. (2008). *RT-PCR Detection of Odontoglossum ringspot virus, Cymbidium mosaic virus and Tospoviruses and Association of Infections with Leaf - Yellowing symptoms in Phalaenopsis*. Journal of Phytopathology, 156: 268 - 273.
8. Sue Bottom (2014). *Orchid Pests and Diseases Diagnosis, Treatment and Prevention*. American Orchid Society.

DEVELOPMENT OF MULTIPLEX RT-PCR FOR DETECTION OF *Cymbidium Mosaic virus (CymMV)* AND *Odontoglossum Ringspot virus (ORSV)* IN ORCHIDS

Pham Duc Toan¹, Nguyen Ngoc Khanh Ha¹, Bui Cach Tuyen²

¹Faculty of Biological Science - Nong Lam University - Ho Chi Minh city

²Faculty of Environment & Natural Resources - Nong Lam University - Ho Chi Minh city

Summary

Orchid viruses are one of the important problems causing economic loss to orchid growers. Developing a protocol for early identification of orchid viruses is needed. This study aimed to develop a multiplex RT-PCR protocol for rapid and simultaneous detection of *CymMV* and *ORSV*. Optimization of the multiplex RT-PCR showed robust amplification with the PCR assay with 30 cycles and an annealing temperature (T_m) of 63°C. Using multiplex RT-PCR on 30 orchid samples showed that 20 were positive for *CymMV*, four were positive for *ORSV*, and four were simultaneously infected with *CymMV* and *ORSV*. The multiplex RT-PCR could detect two viruses in orchids, reducing time and costs for analysis.

Keywords: Positive, orchid, specific primer, virus infection, *CymMV*.

Người phản biện: PGS.TS. Trịnh Xuân Hoạt

Ngày nhận bài: 20/11/2023

Ngày thông qua phản biện: 15/12/2023

Ngày duyệt đăng: 25/12/2023

ẢNH HƯỞNG CỦA NẤM *Trichoderma* spp. ĐẾN HẤP THU NPK VÀ CHẤT LƯỢNG TRÁI KHÓM TRỒNG TRÊN ĐẤT PHÈN TẠI TỈNH HẬU GIANG

Lê Thị Mỹ Thu¹, Lý Ngọc Thanh Xuân², Trần Thị Hương Lan³,
Nguyễn Huỳnh Minh Anh¹, Nguyễn Quốc Khương^{1,*}

TÓM TẮT

Nghiên cứu được thực hiện nhằm mục tiêu đánh giá hiệu quả của các dòng nấm *Trichoderma* spp. đến hấp thu NPK và chất lượng trái khóm. Thí nghiệm được bố trí khối hoàn toàn ngẫu nhiên, gồm 6 nghiệm thức: (i) Đối chứng, bón theo nông dân, không bón phân hữu cơ vi sinh (PHCVS) và không phun nấm *Trichoderma* spp. phòng bệnh; (ii) Bón 100% phân hóa học theo khuyến cáo (KC) và PHCVS chứa nấm *Trichoderma* sp. Đại học Cần Thơ (ĐHCT); (iii) Bón 100% phân hóa học theo KC và bổ sung PHCVS thị trường (PHCVS - TT); (iv) Bón 50% N, P theo KC bổ sung PHCVS chứa hỗn hợp nấm *Trichoderma* spp. TC1, TC2, TC3 có khả năng phân hủy cellulose (PHCVS - PHC) và phun nấm *Trichoderma* spp. có khả năng đối kháng nấm *Fusarium* spp. (PNĐK); (v) Bón 75% N, P theo KC bổ sung PHCVS - PHC và PNĐK; (vi) Bón 100% N, P theo KC bổ sung PHCVS - PHC và PNĐK, với 4 lần lặp lại, mỗi lặp lại tương ứng với diện tích 150 m². Kết quả cho thấy, bổ sung PHCVS - PHC và PNĐK kết hợp bón 50% N, P đạt tổng hấp thu N, P, K cao hơn nghiệm thức bón theo nông dân và tương đương với nghiệm thức bổ sung nấm *Trichoderma* sp. ĐHCT, dao động 175,9 - 191,6, 10,2 - 11,8 và 258,9 - 313,4 kg/ha, theo thứ tự. Bổ sung PHCVS - PHC và PNĐK kết hợp bón 50% N, P theo KC đạt tổng chất rắn hòa tan - TSS (°Brix) và hàm lượng vitamin C tương đương nghiệm thức bón phân theo nông dân và nghiệm thức bổ sung PHCVS - TT. Bổ sung PHCVS - PHC và PNĐK giúp giảm 50% N, P theo KC.

Từ khóa: Cây khóm, đất phèn, phân hữu cơ vi sinh, *Trichoderma* sp.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Khóm (*Ananas comosus* L.) là một trong những loại trái cây nhiệt đới quan trọng, có tiềm năng phát triển trên thị trường thế giới [1] và cây khóm được xác định thích nghi với đất có độ chua cao như đất phèn [2]. Hơn nữa, khóm được coi là cây trồng chủ lực ở nhiều nước trên thế giới và được tiêu thụ rộng rãi [3], [4]. Khóm được tiêu thụ xếp thứ ba sau chuối và cây cam quýt trên thế giới [5], ở tỉnh Hậu Giang khóm là cây trồng chủ lực sau cây lúa [6]. Tuy nhiên, sản xuất khóm theo kỹ thuật nhân giống thông thường dẫn đến kém hiệu

quả và dễ phát sinh bệnh [7]. Thối trái do nấm gây ra ảnh hưởng bất lợi đến chất lượng khóm và phổ biến trên giống khóm Queen. Tác nhân gây bệnh đã được xác định là *Fusarium ananatum* [8]. Bên cạnh đó, *F. oxysporum* và *F. proliferatum* cũng là tác nhân gây ra bệnh thối thịt trái trên khóm [9]. Kết quả nghiên cứu của García và cs (2017) [10] cho thấy, những hạn chế về độ phì nhiêu đất ảnh hưởng đến năng suất và chất lượng trái khóm. Tuy nhiên, *Trichoderma* spp. được bổ sung dưới dạng phân hữu cơ vi sinh góp phần cải thiện hấp thu N, P, K trên cây khóm [11]. Do đó, việc sử dụng phân bón có thể có lợi cho canh tác khóm dựa trên nhu cầu của cây trồng góp phần nâng cao năng suất và chất lượng trái tốt hơn. Trong đó, đạm (N) và kali (K) là những chất dinh dưỡng cần thiết nhất đối với cây khóm [12]. Lân (P) cũng là một trong những dưỡng chất đa lượng thiết yếu cho cây trồng [13]. Tuy nhiên, phản ứng của cây trồng đối

¹ Khoa Khoa học cây trồng, Trường Nông nghiệp, Trường Đại học Cần Thơ

² Trường Đại học An Giang, Đại học Quốc gia thành phố Hồ Chí Minh

³ Sinh viên ngành Khoa học cây trồng khóa 43, Trường Nông nghiệp, Trường Đại học Cần Thơ

* Email: nqkhuong@ctu.edu.vn

với phân bón có thể khác nhau tùy thuộc vào điều kiện đất đai và khí hậu [13]. Chính vì vậy, nghiên cứu được thực hiện nhằm đánh giá nấm *Trichoderma* spp. để cải thiện sinh khối, hấp thu NPK và chất lượng trái khóm trồng trên đất phèn tại tỉnh Hậu Giang.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Địa điểm và thời gian: Thí nghiệm được thực hiện từ tháng 01/2020 đến tháng 6/2021 tại ruộng của ông Trần Trung Trọng, ấp Tư Sáng, xã Tân Tiến, thành phố Vị Thanh, tỉnh Hậu Giang, với tọa độ (9.701637; 105.429527).

Giống khóm: Khóm Queen Cầu Đúc được lấy từ chồi cuống có nguồn gốc tại tỉnh Hậu Giang.

Nấm: Nấm *Trichoderma* spp. phân hủy cellulose TC1, TC2 và TC3, nấm *Trichoderma* sp. TF3 có khả năng đối kháng nấm *Fusarium* spp., được tuyển chọn từ đất trồng khóm tại tỉnh Hậu Giang.

Đất thí nghiệm: Đất phèn tiềm tàng.

Thuốc kích thích ra hoa: Khí đá (acetylene).

Phân bón: Urê (46% N), supe lân (16% P_2O_5 , 15% CaO) và kali clorua (60% K_2O).

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Thí nghiệm được bố trí theo thể thức khối hoàn toàn ngẫu nhiên, gồm 6 nghiệm thức với 4 lần lặp lại, mỗi lặp lại tương ứng với diện tích 150 m², mỗi ô 25 m². Khóm được trồng theo kiểu hàng đơn, theo mật độ cây cách cây 45 cm và hàng cách hàng 55 cm. Trong đó: (i) Đối chứng, bón theo nông dân, không bón phân hữu cơ vi sinh chứa nấm *Trichoderma* spp. và không phun nấm *Trichoderma* spp. phòng bệnh, (ii) bón 100% phân hóa học theo khuyến cáo và bổ sung phân hữu cơ vi sinh chứa nấm *Trichoderma* sp. Đại học Cần Thơ (ĐHCT) phân hủy cellulose và phun nấm *Trichoderma* sp. ĐHCT để phòng bệnh, (iii) bón 100% phân hóa học theo khuyến cáo và bổ sung phân hữu cơ vi sinh có trên thị trường, (iv) bón 50% N, P theo khuyến cáo bổ sung phân hữu cơ vi sinh chứa hỗn hợp nấm *Trichoderma* spp. TC1, TC2, TC3 có khả năng phân hủy cellulose và phun nấm *Trichoderma* sp. TF3 có khả năng đối kháng nấm *Fusarium* spp., (v) bón 75% N, P theo khuyến

cáo bổ sung phân hữu cơ vi sinh chứa hỗn hợp nấm TC1, TC2, TC3 và phun TF3, (vi) bón 100% N, P theo khuyến cáo bổ sung phân hữu cơ vi sinh chứa hỗn hợp nấm TC1, TC2, TC3 và phun nấm TF3, với 4 lần lặp lại, mỗi lặp lại tương ứng với diện tích 150 m².

Lượng nấm *Trichoderma* sp. ĐHCT (1×10^8 bào tử/g) và nấm *Trichoderma* sp. TF3 (1×10^9 bào tử/mL) được phun 3 lần vào 1, 2 và 4 tháng sau khi trồng. Nghiệm thức đối chứng là phun nước, nấm *Trichoderma* sp. ĐHCT với liều lượng 100 g và phân hữu cơ vi sinh Achacomix *Trichoderma* với liều lượng 300 g, tương ứng với nghiệm thức 2 và 3. Nghiệm thức 4, 5 và 6 được phun nấm *Trichoderma* sp. TF3 qua lá với thể tích 1 L nấm/18 L nước. Dùng bình xịt máy phun lên bề mặt lá cho 4 lô thí nghiệm. Các nghiệm thức bón phân hữu cơ có liều lượng 3 tấn/ha, với mật số 1×10^8 bào tử/g.

Bón phân: Phân hóa học được bón theo công thức 12 g N - 9 g P_2O_5 - 8 g K_2O /cây [14]. Lượng phân được chia làm 5 lần bón vào thời điểm các tháng thứ 1, 2, 3, 5 và 10 sau khi trồng, ngưng bón phân 1 tháng trước xử lý ra hoa (tháng thứ 8). Trong đó, lượng N, P được điều chỉnh theo các nghiệm thức đã thiết kế.

Kích thích ra hoa: Tươi khí đá (acetylene) 850 g/1.000 cây. Pha 850 g khí đá vào 10 lít nước tươi mỗi cây 10 mL vào thời điểm 10 tháng sau trồng. Thu hoạch vào 4 tháng sau xử lý ra hoa.

- Các chỉ tiêu ghi nhận:

+ *Sinh khối*: Cân sinh khối của lô 5 m², sử dụng 5 cây đại diện trong mỗi nghiệm thức ở thời điểm thu hoạch để xử lý cho phân tích. Mẫu sau khi thu được rửa sạch bằng nước máy cho sạch đất và bụi bám trên bề mặt lá hoặc rễ cây, sau đó rửa sạch lại bằng nước cất hoặc nước khử khoáng. Mẫu sau khi rửa sạch được cho vào túi giấy sạch cất thành miếng nhỏ cân khối lượng tươi lá và thân khóm (g/cây). Tiếp theo, mẫu được sấy ở nhiệt độ 70°C liên tục 48 giờ. Sau đó, cân lại khối lượng khô.

+ *Xác định hàm lượng N, P, K trong các bộ phận*: Mẫu sau khi được sấy khô nghiền mịn sau đó được vô cơ bằng H_2SO_4 đậm đặc và H_2O_2 30% ở

nhệt độ 180°C. Dung dịch sau khi vô cơ được chuyển vào bình định mức 50 mL. Dung dịch lọc dùng để phân tích các chỉ tiêu N, P, K. Trong đó, xác định hàm lượng N trong mẫu được vô cơ hóa bằng phương pháp chưng cất Kjeldahl. Xác định hàm lượng P trong mẫu được vô cơ hóa bằng phương pháp so màu trên máy quang phổ ở bước sóng 880 nm. Xác định hàm lượng K trong mẫu thực vật trên máy hấp thụ nguyên tử có bước sóng 760 nm. Các phương pháp xác định N, P, K được thực hiện theo Walinga và cs (1997) [15]. Hấp thu N, P, K = sinh khối (trong từng bộ phận) x hàm lượng (N, P, K trong từng bộ phận). Tổng hấp thu N, P, K = tổng hấp thu (N, P, K) trong từng bộ phận.

- Chất lượng trái

+ *Axit tổng số*: Phân tích theo TCVN 4589:1988 [16]. Cân 2 g mẫu thịt trái để nghiền nhỏ vừa đủ với 50 mL nước cất. Hút 2 mL dung dịch mẫu đem ly tâm trong 3 phút với tốc độ 3.000 vòng/phút. Hút 1 mL dung dịch sau ly tâm cho vào bình tam giác với 9 mL nước cất đem định lượng. Cho vào 3 giọt phenolphthalein 5% lắc đều. Chuẩn độ bằng NaOH 0,1 N cho đến khi có màu hồng nhạt bền. Mẫu đối chứng là 10 mL nước cất.

+ *Hàm lượng vitamin C*: Cân 5 g mẫu thịt trái và nghiền với 20 mL HCl 5%. Sau đó, lấy dịch, chuyển dịch trích được sang bình định mức 100 mL cùng với dung dịch HCl 5% vừa chiết ra. Rửa cối và tráng dụng cụ ít nhất 3 lần, mỗi lần với một ít axit oxalic 5% và đổ vào bình định mức. Dùng axit oxalic để đưa thể tích lên vạch định mức 100

mL. Lắc kỹ và để yên 15 phút rồi lọc qua giấy lọc khô. Mẫu đối chứng (blank) sử dụng 8 mL axit oxalic 5% và 2 mL HCl 5% cho vào bình tam giác dung tích 100 mL, tiến hành chuẩn độ. Mẫu thật gồm 10 mL dịch đã lọc chứa vitamin C được cho vào bình tam giác có dung tích 100 mL, tiến hành chuẩn độ như mẫu đối chứng. Sử dụng microburet với DIP 0,001 N để chuẩn độ đến khi xuất hiện màu hồng bền sau 30 giây, được phân tích theo TCVN 4715:1989 [17].

+ *Tổng chất rắn hòa tan - TSS (°Brix)*: Đo trực tiếp vào thời điểm thu hoạch, lần lượt 20 trái mỗi ô bằng phương pháp khúc xạ kế bởi máy AtagoN-^{1a}, theo hướng dẫn nhà sản xuất.

+ *Đo màu sắc trái*: Đo vào lần lượt 3 vị trí trên trái như đầu, giữa, cuối bằng máy CR-20, Konica Minolta, theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Sau đó tính giá trị trung bình. Trong đó, L chỉ độ sáng L → 0: đen, L → 100: trắng, giá trị màu a → +: chỉ màu đỏ, a → -: chỉ màu xanh lá cây, giá trị màu b → +: chỉ màu vàng, b → -: chỉ màu xanh dương.

2.3. Xử lý số liệu

Số liệu được phân tích ANOVA để so sánh các giá trị trung bình bằng phép thử DUNCAN bởi phần mềm SPSS 13.0.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. *Ảnh hưởng của nấm Trichoderma spp. phân hủy cellulose từ phân hữu cơ vi sinh và nấm Trichoderma spp. đối kháng nấm Fusarium spp. đến sinh khối của cây khóm*

Bảng 1. Ảnh hưởng của nấm *Trichoderma* spp. phân hủy cellulose từ phân hữu cơ vi sinh và nấm *Trichoderma* spp. đối kháng nấm *Fusarium* spp. đến sinh khối cây khóm

Thí nghiệm	Chồi ngọn	Thịt trái	Cùi trái	Vỏ trái	Chồi cuống	Cuống trái	Thân chính	Lá
	kg/ha							
ĐC	654,6	1.059,3 ^c	261,5 ^c	928,8 ^b	847,5 ^c	294,1 ^d	713,3 ^e	5.227,5 ^d
ĐHCT + 100% N, P	594,2	1.050,3 ^c	255,4 ^c	833,3 ^c	896,6 ^b	307,2 ^{cd}	809,5 ^d	4.537,6 ^f
100% N, P + PHCVS - TT	664,0	1.084,6 ^c	244,6 ^c	906,4 ^b	892,5 ^b	337,4 ^b	1.015,9 ^b	5.468,1 ^c
50% N, P + PHCVS - PHC + PNĐK	686,0	1.052,0 ^c	249,1 ^c	1.034,7 ^a	900,5 ^b	320,4 ^{bc}	607,2 ^f	4.862,1 ^e
75% N, P + PHCVS -	651,8	1.226,8 ^b	364,0 ^b	1.032,2 ^a	934,6 ^{ab}	380,9 ^a	947,2 ^c	6.269,2 ^a

PHC + PNĐK								
100% N, P + PHCVS - PHC + PNĐK	711,3	1.328,4 ^a	395,6 ^a	1.015,6 ^a	949,6 ^a	360,6 ^a	1078,1 ^a	6.062,8 ^b
Mức ý nghĩa	ns	*	*	*	*	*	*	*
CV (%)	11,0	1,95	3,87	2,54	3,21	4,19	3,57	1,89

*Ghi chú: Trong cùng một cột, các số theo sau có chữ giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê, ns: Khác biệt không có ý nghĩa thống kê, *: Khác biệt có ý nghĩa thống kê 5%. ĐC: Bón phân của nông dân, không phun nấm; ĐHCT: Bón phân hóa học và bổ sung nấm *Trichoderma* sp. ĐHCT; PHCVS: Phân hữu cơ vi sinh thị trường; PHCVS - PHC: Phân hữu cơ vi sinh chứa hỗn hợp nấm *Trichoderma* spp. TC1, TC2, TC3 có khả năng phân hủy cellulose; PNĐK: Phun nấm *Trichoderma* sp. TF3 có khả năng đối kháng nấm *Fusarium* spp.*

Bảng 1 cho thấy, sinh khối chồi ngọn khô giữa các nghiệm thức khác biệt không có ý nghĩa thống kê, dao động 594,2 - 711,3 kg/ha. Tuy nhiên, sinh khối thịt trái khô và sinh khối cùi trái khô giữa các nghiệm thức khác biệt có ý nghĩa thống kê với độ tin cậy trên 95%. Nghiệm thức sử dụng PHCVS - PHC và PNĐK kết hợp bón 100% N, P, đạt sinh khối thịt khô và sinh khối cùi trái khô cao nhất, với 1.328,4 và 395,6 kg/ha, theo thứ tự. Tiếp đến, nghiệm thức sử dụng PHCVS - PHC và PNĐK kết hợp bón 75% N, P có sinh khối thịt trái khô và sinh khối cùi trái khô đạt 1.226,8 và 364,0 kg/ha. Trong khi đó, nghiệm thức sử dụng PHCVS - PHC và PNĐK kết hợp bón 50% N, P có sinh khối thịt trái khô và sinh khối cùi trái khô đạt 1.052,0 và 249,1 kg/ha, tương đương với các nghiệm thức bón phân của nông dân, bổ sung nấm *Trichoderma* sp. ĐHCT và bổ sung PHCVS - TT, tương ứng với 1.059,3, 1.050,3, 1.084,6 và 261,5, 255,4 và 244,6 kg/ha.

Sinh khối vỏ trái khô giữa các nghiệm thức khác biệt có ý nghĩa thống kê với độ tin cậy trên 95%. Các nghiệm thức sử dụng PHCVS - PHC và PNĐK kết hợp các mức bón 100, 75 và 50% N, P, với sinh khối vỏ trái khô dao động 1.015,6 - 1.034,7 kg/ha, cao hơn so với các nghiệm thức bổ sung PHCVS - TT, bổ sung nấm *Trichoderma* sp. ĐHCT và bón phân của nông dân, với sinh khối vỏ trái khô lần lượt là 906,4, 833,3 và 928,8 kg/ha (Bảng 1).

Sinh khối chồi cuống khô giữa các nghiệm thức khác biệt có ý nghĩa thống kê với độ tin cậy trên 95%. Nghiệm thức sử dụng PHCVS - PHC và PNĐK kết hợp bón 100% N, P, với sinh khối chồi

cuống khô đạt 949,6 kg/ha. Tiếp đến, nghiệm thức sử dụng PHCVS - PHC và PNĐK kết hợp bón 75 hoặc 50% N, P có sinh khối chồi khô đạt 934,6 và 900,5 kg/ha tương đương với nghiệm thức bổ sung PHCVS - TT và nghiệm thức bổ sung nấm *Trichoderma* sp. ĐHCT, với 892,5 và 896,6 kg/ha, theo thứ tự. Sinh khối chồi cuống khô thấp nhất ở nghiệm thức bón phân theo nông dân, với 847,5 kg/ha.

Sinh khối cuống trái khô giữa các nghiệm thức khác biệt có ý nghĩa thống kê với độ tin cậy trên 95%. Các nghiệm thức sử dụng PHCVS - PHC và PNĐK kết hợp bón 100, 75 hoặc 50% N, P, với sinh khối cuống trái khô theo thứ tự 360,6, 380,9 và 320,4 kg/ha, cao hơn so với nghiệm thức bón phân của nông dân, với 294,1 kg/ha. Hơn nữa, nghiệm thức bổ sung PHCVS - PHC kết hợp bón 100 hoặc 75% N, P có sinh khối cuống khô cao hơn so với nghiệm thức bổ sung PHCVS - TT và nghiệm thức bổ sung nấm *Trichoderma* sp. ĐHCT, với 337,4 và 307,2 kg/ha, theo thứ tự.

Sinh khối thân chính khô khác biệt có ý nghĩa thống kê với độ tin cậy trên 95% giữa các nghiệm thức. Trong đó, nghiệm thức sử dụng PHCVS - PHC và PNĐK kết hợp bón 100% N, P có sinh khối thân chính khô cao nhất (1.078,1 kg/ha). Sinh khối thân chính khô ở nghiệm thức sử dụng PHCVS - PHC và PNĐK kết hợp bón 75% N, P có sinh khối thân chính khô đạt 947,2 kg/ha, cao hơn nghiệm thức bổ sung nấm *Trichoderma* sp. ĐHCT và nghiệm thức bón phân theo nông dân, với 809,5 và 713,3 kg/ha, nhưng thấp hơn PHCVS - TT (1.015,9 kg/ha). Tuy nhiên, sinh khối khô đạt thấp nhất ở nghiệm thức sử dụng PHCVS - PHC và

PNĐK kết hợp bón 50% N, P, với 607,2 kg/ha (Bảng 1).

Sinh khối lá khô giữa các nghiệm thức khác biệt có ý nghĩa thống kê với độ tin cậy trên 95%. Nghiệm thức sử dụng PHCVS - PHC và PNĐK kết hợp bón 75% N, P, với sinh khối lá khô đạt cao nhất 6.269,2 kg/ha. Tiếp đến là nghiệm thức sử dụng PHCVS - PHC và PNĐK kết hợp bón 100% N, P, đạt 6.062,8 kg/ha. Bên cạnh đó, nghiệm thức bổ sung PHCVS - PHC và PNĐK kết hợp bón 50% N, P với sinh khối lá khô đạt 4.862,1 kg/ha cao hơn nghiệm thức bổ sung nấm *Trichoderma* sp. ĐHCT (4.537,6

kg/ha), nhưng thấp hơn so với nghiệm thức bổ sung PHCVS - TT (5.468,1 kg/ha) và nghiệm thức bón phân của nông dân (5.227,5 kg/ha) (Bảng 1).

3.2. Ảnh hưởng của nấm *Trichoderma* spp. phân hủy cellulose từ phân hữu cơ vi sinh và nấm *Trichoderma* spp. đối kháng nấm *Fusarium* spp. đến hàm lượng N, P, K trong cây khóm

3.2.1. Ảnh hưởng của nấm *Trichoderma* spp. phân hủy cellulose từ phân hữu cơ vi sinh và nấm *Trichoderma* spp. đối kháng nấm *Fusarium* spp. đến hàm lượng N trong cây khóm

Bảng 2. Ảnh hưởng của nấm *Trichoderma* spp. phân hủy cellulose từ phân hữu cơ vi sinh và nấm *Trichoderma* spp. đối kháng nấm *Fusarium* spp. đến hàm lượng N trong cây khóm

Nghiệm thức	Chồi ngọn	Thịt trái	Cùi trái	Vỏ trái	Chồi cuống	Cuống trái	Thân chính	Lá
	%							
ĐC	1,82 ^{bc}	1,79 ^{ab}	0,93	1,50 ^b	2,08 ^{bc}	1,72 ^a	1,36 ^d	1,61 ^c
ĐHCT + 100% N, P	1,58 ^{cd}	1,28 ^c	0,95	1,65 ^a	2,25 ^{ab}	0,96 ^d	2,64 ^b	2,04 ^{ab}
100% N, P + PHCVS - TT	2,71 ^a	1,34 ^c	0,99	1,19 ^d	2,33 ^a	0,98 ^d	2,87 ^a	2,37 ^a
50% N, P + PHCVS - PHC + PNĐK	2,11 ^b	1,47 ^{bc}	0,97	1,17 ^d	1,97 ^c	1,34 ^c	2,62 ^b	2,25 ^a
75% N, P + PHCVS - PHC + PNĐK	2,03 ^b	1,85 ^a	0,99	1,36 ^c	2,00 ^c	1,56 ^b	2,61 ^b	1,89 ^{bc}
100% N, P + PHCVS - PHC + PNĐK	1,43 ^d	1,81 ^a	0,89	1,29 ^{cd}	2,11 ^{bc}	1,77 ^a	2,37 ^c	2,34 ^a
Mức ý nghĩa	*	*	ns	*	*	*	*	*
CV (%)	12,1	13,7	11,0	3,29	6,14	5,58	3,71	9,96

Ghi chú: Như ở bảng 1.

Kết quả bảng 2 cho thấy, hàm lượng N trong chồi ngọn, vỏ trái, chồi cuống và thân chính của các nghiệm thức khác biệt có ý nghĩa thống kê với độ tin cậy trên 95%. Các nghiệm thức sử dụng PHCVS - PHC và PNĐK kết hợp các mức bón 100, 75 và 50% N, P, nghiệm thức bổ sung nấm *Trichoderma* sp. ĐHCT và nghiệm thức bón phân của nông dân, với hàm lượng N trong chồi ngọn và thân chính 1,43 - 2,11% và 1,36 - 2,64% thấp hơn so với nghiệm thức bổ sung PHCVS - TT, với 2,71 và 2,87%, theo thứ tự. Đối với vỏ trái, nghiệm thức bổ sung nấm *Trichoderma* sp. ĐHCT có hàm lượng N cao nhất, với 1,65%. Trong khi đó, nghiệm thức bổ sung PHCVS - TT và nghiệm thức bổ sung nấm

Trichoderma sp. ĐHCT có hàm lượng N trong chồi cuống cao tương đương nhau, với 2,25 và 2,33%, theo thứ tự.

Hàm lượng N trong thịt trái, cuống trái và lá khác biệt có ý nghĩa thống kê với độ tin cậy trên 95% giữa các nghiệm thức. Trong đó, các nghiệm thức sử dụng PHCVS - PHC và PNĐK kết hợp bón 75 hoặc 50% N, P có hàm lượng N tương ứng với 1,85 và 1,47% lần lượt tương đương với nghiệm thức bón phân của nông dân (1,79%), nghiệm thức bổ sung nấm *Trichoderma* sp. ĐHCT (1,28%) và bổ sung PHCVS - TT (1,34%). Đối với cuống trái, nghiệm thức giảm 50 và 25% N, P bổ sung PHCVS - PHC và PNĐK có hàm lượng N lần lượt là 1,34 và

1,56% cao hơn nghiệm thức bổ sung nấm *Trichoderma* sp. ĐHCT (0,96%) và bổ sung PHCVS - TT (0,98%), thấp hơn nghiệm thức đối chứng (1,72%). Trong khi đó, hàm lượng N trong lá của nghiệm thức bón 50% N, P bổ sung PHCVS - PHC và PNĐK (2,25%) tương đương với nghiệm thức bổ sung nấm *Trichoderma* sp. ĐHCT (2,04%) và bổ sung PHCVS - TT (2,25%), cao hơn nghiệm thức bón phân của nông dân, với 1,61%. Tuy nhiên, hàm lượng N trong củi trái giữa các nghiệm thức khác biệt không có ý nghĩa thống kê, dao động 0,89 - 0,99%.

3.2.2. Ảnh hưởng của nấm *Trichoderma* spp. phân hủy cellulose từ phân hữu cơ vi sinh và nấm *Trichoderma* spp. đối kháng nấm *Fusarium* spp. đến hàm lượng P trong cây khóm

Hàm lượng P trong chồi ngọn, củi trái và cuống trái giữa các nghiệm thức khác biệt có ý

nghĩa thống kê với độ tin cậy trên 95%. Đối với chồi ngọn, nghiệm thức bổ sung PHCVS - PHC và PNĐK kết hợp bón 75% N, P có hàm lượng P (0,196%) tương đương với nghiệm thức bổ sung PHCVS - TT và nghiệm thức bổ sung nấm *Trichoderma* sp. ĐHCT có hàm lượng P lần lượt là 0,194 và 0,190%. Nghiệm thức bổ sung PHCVS - PHC và PNĐK kết hợp giảm 50% N, P có hàm lượng P (0,176%) cao hơn nghiệm thức bón phân của nông dân, với 0,157%. Trong khi đó, nghiệm thức giảm 50% N, P bổ sung PHCVS - PHC và PNĐK có hàm lượng P trong củi trái (0,83%) và cuống trái (0,098%) lần lượt tương đương và cao hơn các nghiệm thức bón phân theo nông dân, bổ sung PHCVS - TT và bổ sung nấm *Trichoderma* sp. ĐHCT, tương ứng với 0,074 - 0,087% và 0,074 - 0,082% (Bảng 3).

Bảng 3. Ảnh hưởng của nấm *Trichoderma* spp. phân hủy cellulose từ phân hữu cơ vi sinh và nấm *Trichoderma* spp. đối kháng nấm *Fusarium* spp. đến hàm lượng P trong cây khóm

Nghiệm thức	Chồi ngọn	Thịt trái	Củi trái	Vỏ trái	Chồi cuống	Cuống trái	Thân chính	Lá
	%							
ĐC	0,157 ^c	0,081	0,074 ^c	0,080	0,185	0,082 ^c	0,113	0,097
ĐHCT + 100% N, P	0,190 ^a	0,081	0,087 ^{ab}	0,070	0,178	0,074 ^c	0,128	0,101
100% N, P + PHCVS - TT	0,194 ^a	0,091	0,077 ^{bc}	0,072	0,183	0,080 ^c	0,125	0,105
50% N, P + PHCVS - PHC + PNĐK	0,176 ^b	0,090	0,083 ^{bc}	0,076	0,213	0,098 ^b	0,143	0,115
75% N, P + PHCVS - PHC + PNĐK	0,196 ^a	0,089	0,098 ^a	0,081	0,192	0,127 ^a	0,134	0,110
100% N, P + PHCVS - PHC + PNĐK	0,200 ^a	0,094	0,094 ^a	0,084	0,194	0,106 ^b	0,137	0,107
Mức ý nghĩa	*	ns	*	ns	ns	*	ns	ns
CV (%)	4,81	8,82	8,46	8,83	10,4	9,90	10,9	9,66

Ghi chú: Như ở bảng 1.

Hàm lượng P trong thịt trái, vỏ trái, chồi cuống, thân chính và lá giữa các nghiệm thức khác biệt không có ý nghĩa thống kê. Hàm lượng P trong thịt trái, vỏ trái, chồi cuống, thân chính và lá của các nghiệm thức dao động theo thứ tự 0,081 -

0,094%, 0,070 - 0,084%, 0,178 - 0,213%, 0,113 - 0,143% và 0,097 - 0,115% (Bảng 3).

3.2.3. Ảnh hưởng của nấm *Trichoderma* spp. phân hủy cellulose từ phân hữu cơ vi sinh và nấm *Trichoderma* spp. đối kháng nấm *Fusarium* spp. đến hàm lượng K trong cây khóm

Bảng 4. Ảnh hưởng của nấm *Trichoderma* spp. phân hủy cellulose từ phân hữu cơ vi sinh và nấm *Trichoderma* spp. đối kháng nấm *Fusarium* spp. đến hàm lượng K trong cây khóm

Nghiệm thức	Chồi ngọn	Thịt trái	Cùi trái	Vỏ trái	Chồi cuống	Cuống trái	Thân chính	Lá
	%							
ĐC	2,50 ^b	3,69 ^c	2,16 ^a	4,25 ^b	3,29 ^c	2,32 ^c	3,14 ^b	2,26 ^{bc}
ĐHCT + 100% N, P	4,70 ^a	4,06 ^{bc}	1,57 ^b	4,04 ^b	3,38 ^c	2,52 ^c	2,34 ^c	2,07 ^c
100% N, P + PHCVS - TT	3,25 ^b	4,49 ^{ab}	2,38 ^a	3,94 ^b	4,39 ^b	1,62 ^d	3,40 ^{ab}	2,08 ^c
50% N, P + PHCVS - PHC + PNĐK	4,12 ^a	4,39 ^{ab}	1,99 ^a	4,36 ^{ab}	5,06 ^a	3,26 ^b	2,68 ^c	2,39 ^b
75% N, P + PHCVS - PHC + PNĐK	4,95 ^a	4,88 ^a	2,04 ^a	5,19 ^a	5,13 ^a	2,56 ^c	3,67 ^a	3,00 ^a
100% N, P + PHCVS - PHC + PNĐK	4,96 ^a	4,38 ^{ab}	2,12 ^a	5,13 ^a	4,75 ^{ab}	3,59 ^a	3,63 ^a	2,99 ^a
Mức ý nghĩa	*	*	*	*	*	*	*	*
CV (%)	12,6	8,20	13,4	12,0	5,79	7,93	8,83	6,02

Ghi chú: Như ở bảng 1.

Kết quả bảng 4 cho thấy, hàm lượng K trong chồi ngọn, thịt trái, cùi trái, vỏ trái, chồi cuống, thân chính và lá của các nghiệm thức khác biệt có ý nghĩa thống kê với độ tin cậy trên 95%. Nghiệm thức giảm 25% N, P bổ sung PHCVS - PHC và PNĐK có hàm lượng K trong chồi ngọn, thịt trái, vỏ trái, chồi cuống, thân chính và lá tương ứng với 4,95, 4,88, 5,19, 5,13, 3,67 và 3,00% cao hơn so với đối chứng, trong khi đó hàm lượng K trong cùi trái và cuống trái tương đương với đối chứng. Bên cạnh đó, nghiệm thức giảm 50% N, P bổ sung PHCVS - PHC và PNĐK có hàm lượng K của các bộ phận tương đương hoặc cao hơn nghiệm thức bổ sung nấm *Trichoderma* sp. ĐHCT và nghiệm thức bổ sung PHCVS - TT ngoại trừ thân chính.

Theo Sani và cs (2020) [18], cây cà chua được bổ sung nấm *Trichoderma* và giảm 50% lượng phân NPK có hàm lượng P và K trong trái lần lượt là $0,11 \pm 0,005$, $4,63 \pm 0,01\%$ cao hơn đối chứng

được bón 100% NPK, với $0,09 \pm 0,013$, $4,21 \pm 0,09\%$. Trong khi đó, hàm lượng N của nghiệm thức bổ sung nấm *Trichoderma* và giảm 50% lượng phân NPK tương đương với nghiệm thức đối chứng. Điều này cho thấy, việc bổ sung nấm *Trichoderma* spp. góp phần giảm phân bón cho nhiều loại cây trồng khác nhau của nhiều vùng sinh thái khác nhau.

3.3. Ảnh hưởng của nấm *Trichoderma* spp. phân hủy cellulose từ phân hữu cơ vi sinh và nấm *Trichoderma* spp. đối kháng nấm *Fusarium* spp. đến hấp thu N, P, K trong cây khóm

3.3.1. Ảnh hưởng của nấm *Trichoderma* spp. phân hủy cellulose từ phân hữu cơ vi sinh và nấm *Trichoderma* spp. đối kháng nấm *Fusarium* spp. đến hấp thu N trong cây khóm

Hấp thu N trong các bộ phận của cây khóm khác biệt có ý nghĩa thống kê với độ tin cậy trên 95% giữa các nghiệm thức. Nghiệm thức sử dụng

PHCVS - PHC và PNĐK kết hợp bón 75% N, P có hấp thu N trong củi trái, cuống trái, thân chính và lá khóm tương đương với 3,59, 5,93, 24,7 và 118,3 kg/ha cao hơn so với nghiệm thức bón phân của nông dân, nghiệm thức bổ sung nấm *Trichoderma* sp. ĐHCT và nghiệm thức bổ sung PHCVS - TT.

Trong khi đó, nghiệm thức giảm 50% N, P bổ sung PHCVS - PHC và PNĐK có hấp thu N tương đương hoặc cao hơn các nghiệm thức bón phân của nông dân, bổ sung nấm *Trichoderma* sp. ĐHCT và bổ sung PHCVS - TT (Bảng 5).

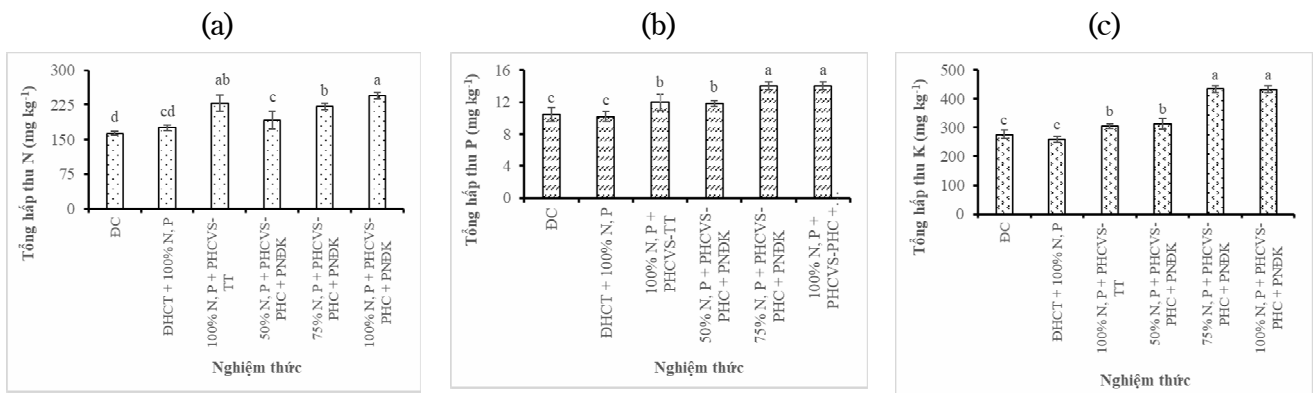
Bảng 5. Ảnh hưởng của nấm *Trichoderma* spp. phân hủy cellulose từ phân hữu cơ vi sinh và nấm *Trichoderma* spp. đối kháng nấm *Fusarium* spp. đến hấp thu N trong cây khóm

Nghiệm thức	Chồi ngọn	Thịt trái	Củi trái	Vỏ trái	Chồi cuống	Cuống trái	Thân chính	Lá
	kg/ha							
ĐC	11,9 ^{bcd}	19,0 ^{bc}	2,43 ^b	13,9 ^a	17,7 ^c	5,06 ^c	9,70 ^e	83,9 ^e
ĐHCT + 100% N, P	9,40 ^d	13,4 ^d	2,45 ^b	13,7 ^a	20,1 ^a	2,96 ^f	21,4 ^c	92,4 ^{de}
100% N, P + PHCVS - TT	18,0 ^a	14,5 ^d	2,43 ^b	10,8 ^c	20,8 ^a	3,29 ^e	29,1 ^a	129,8 ^{ab}
50% N, P + PHCVS - PHC + PNĐK	14,5 ^b	15,4 ^{cd}	2,42 ^b	12,2 ^b	17,7 ^c	4,30 ^d	15,9 ^d	109,3 ^{cd}
75% N, P + PHCVS - PHC + PNĐK	13,2 ^{bc}	22,7 ^{ab}	3,59 ^a	14,0 ^a	18,7 ^{bc}	5,93 ^b	24,7 ^b	118,3 ^{bc}
100% N, P + PHCVS - PHC + PNĐK	10,2 ^{cd}	24,0 ^a	3,51 ^a	13,1 ^{ab}	20,0 ^{ab}	6,39 ^a	25,6 ^b	141,8 ^a
Mức ý nghĩa	*	*	*	*	*	*	*	*
CV (%)	17,8	14,3	11,7	6,50	4,62	3,12	4,49	10,1

Ghi chú: Như ở bảng 1.

Tổng hấp thu N trong cây khóm tại thời điểm thu hoạch khóm khác biệt có ý nghĩa thống kê với độ tin cậy trên 95% (Hình 1a). Nghiệm thức sử dụng PHCVS - PHC và PNĐK kết hợp bón 100, 75 hoặc 50% N, P với tổng hấp thu N đạt 191,6 - 244,5 kg/ha, cao hơn so với nghiệm thức bón phân của nông dân, với 163,5 kg N/ha. Trong đó, nghiệm thức bổ sung PHCVS - PHC và PNĐK kết hợp bón 100 hoặc 75% N, P có tổng hấp thu N tương đương

với nghiệm thức bổ sung PHCVS - TT, với 228,5 kg N/ha và cao hơn nghiệm thức bổ sung nấm *Trichoderma* sp. ĐHCT, với 175,9 kg N/ha. Mặt khác, tổng hấp thu N của nghiệm thức PHCVS - PHC và PNĐK kết hợp bón 50% N, P, thấp hơn so với nghiệm thức bổ sung PHCVS - TT và tương đương so với nghiệm thức bổ sung nấm *Trichoderma* sp. ĐHCT.



Hình 1. Ảnh hưởng của nấm *Trichoderma* spp. phân hủy cellulose từ phân hữu cơ vi sinh và nấm *Trichoderma* spp. đối kháng nấm *Fusarium* spp. đến tổng hấp thu (a) N, (b) P, (c) K trong cây khóm

3.3.2. Ảnh hưởng của nấm *Trichoderma* spp. phân hủy cellulose từ phân hữu cơ vi sinh và nấm *Trichoderma* spp. đối kháng nấm *Fusarium* spp. đến hấp thu P trong cây khóm

Bảng 6 cho thấy, hấp thu P trong chồi ngọn, thịt trái, cùi trái, vỏ trái, cuống trái, thân chính và lá khác biệt có ý nghĩa thống kê với độ tin cậy trên 95% giữa các nghiệm thức. Nghiệm thức bón giảm 50% N, P bổ sung PHCVS - PHC và PNĐK có hấp thu P lần lượt là 1,21, 0,94 và 0,21 kg/ha tương đương với các nghiệm thức đối chứng, bổ sung nấm *Trichoderma* sp. ĐHCT và bổ sung PHCVS - TT. Đối với hấp thu P trong vỏ trái, cuống trái,

thân chính và lá của nghiệm thức bón 50% N, P bổ sung PHCVS - PHC và PNĐK tương đương hoặc cao hơn các nghiệm thức đối chứng, bổ sung nấm *Trichoderma* sp. ĐHCT và bổ sung PHCVS - TT. Trong khi đó, nghiệm thức giảm 25% N, P kết hợp PHCVS - PHC và PNĐK có hấp thu P trong cùi trái, cuống trái và lá khóm cao hơn tương ứng với 0,36, 0,48 và 6,91 kg/ha cao hơn các nghiệm thức bón phân theo nông dân, bổ sung nấm *Trichoderma* sp. ĐHCT và bổ sung PHCVS - TT. Tuy nhiên, hấp thu P trong chồi cuống của các nghiệm thức khác biệt không có ý nghĩa thống kê, dao động 1,58 - 1,92 kg/ha.

Bảng 6. Ảnh hưởng của nấm *Trichoderma* spp. phân hủy cellulose từ phân hữu cơ vi sinh và nấm *Trichoderma* spp. đối kháng nấm *Fusarium* spp. đến hấp thu P trong cây khóm

Nghiệm thức	Chồi ngọn	Thịt trái	Cùi trái	Vỏ trái	Chồi cuống	Cuống trái	Thân chính	Lá
	kg/ha							
ĐC	1,03 ^c	0,85 ^{cd}	0,20 ^{bc}	0,74 ^{bc}	1,58	0,24 ^d	0,81 ^d	5,04 ^{cd}
ĐHCT + 100% N, P	1,13 ^{bc}	0,84 ^d	0,22 ^b	0,58 ^d	1,60	0,22 ^d	1,04 ^c	4,57 ^d
100% N, P + PHCVS - TT	1,29 ^{ab}	0,99 ^{bc}	0,19 ^c	0,65 ^{cd}	1,64	0,27 ^{cd}	1,27 ^b	5,72 ^{bc}
50% N, P + PHCVS - PHC + PNĐK	1,21 ^{abc}	0,94 ^{cd}	0,21 ^{bc}	0,79 ^{ab}	1,92	0,31 ^c	0,87 ^{cd}	5,60 ^c
75% N, P + PHCVS - PHC + PNĐK	1,28 ^{abc}	1,10 ^b	0,36 ^a	0,84 ^{ab}	1,79	0,48 ^a	1,27 ^b	6,91 ^a
100% N, P + PHCVS - PHC + PNĐK	1,42 ^a	1,24 ^a	0,37 ^a	0,86 ^a	1,84	0,38 ^b	1,48 ^a	6,46 ^{ab}
Mức ý nghĩa	*	*	*	*	ns	*	*	*
CV (%)	12,9	8,42	2,36	9,53	11,6	9,95	10,6	9,46

Ghi chú: Như ở bảng 1.

Hình 1b cho thấy, tổng hấp thu P của các nghiệm thức tại thời điểm thu hoạch cây khóm khác biệt có ý nghĩa thống kê với độ tin cậy trên 95%. Các nghiệm thức bổ sung PHCVS - PHC và PNĐK kết hợp bón 100, 75 hoặc 50% N, P có tổng hấp thu P lần lượt là 14,1, 14,0, 11,9 kg/ha, cao hơn so với nghiệm thức bón phân của nông dân và nghiệm thức bổ sung nấm *Trichoderma* sp. ĐHCT, với 10,5 và 10,2 kg P/ha, cùng thứ tự. Tổng hấp thu P của nghiệm thức bổ sung PHCVS - TT đạt 12,0 kg/ha, thấp hơn so với nghiệm thức bổ sung PHCVS - PHC và PNĐK kết hợp bón 100

hoặc 75% N, P, cao hơn nghiệm thức bổ sung PHCVS - PHC và PNĐK kết hợp bón 50% N, P.

3.3.3. Ảnh hưởng của nấm *Trichoderma* spp. phân hủy cellulose từ phân hữu cơ vi sinh và nấm *Trichoderma* spp. đối kháng nấm *Fusarium* spp. đến hấp thu K trong cây khóm

Hấp thu K trong các bộ phận của cây khóm khác biệt có ý nghĩa thống kê với độ tin cậy trên 95% giữa các nghiệm thức. Trong đó, nghiệm thức bón 75% N, P bổ sung PHCVS - PHC và PNĐK có hấp thu K trong thịt trái, cùi trái, vỏ trái, chồi cuống và lá khóm lần lượt là 58,9, 7,41, 53,6, 47,9

và 187,9 kg/ha cao hơn so với các nghiệm thức đối chứng, bổ sung nấm *Trichoderma* sp. ĐHCT và bổ sung PHCVS - TT. Hơn nữa, hấp thu K trong các bộ phận của nghiệm thức giảm 50% N, P bổ sung

PHCVS - PHC và PNĐK tương đương hoặc cao hơn so với các nghiệm thức đối chứng, bổ sung nấm *Trichoderma* sp. ĐHCT và bổ sung PHCVS - TT (Bảng 7).

Bảng 7. Ảnh hưởng của nấm *Trichoderma* spp. phân hủy cellulose từ phân hữu cơ vi sinh và nấm *Trichoderma* spp. đối kháng nấm *Fusarium* spp. đến hấp thu K trong cây khóm

Nghiệm thức	Chồi ngọn	Thịt trái	Cùi trái	Vỏ trái	Chồi cuống	Cuống trái	Thân chính	Lá
	kg/ha							
ĐC	16,4 ^c	39,0 ^c	5,64 ^b	39,5 ^{bc}	27,9 ^c	6,84 ^c	22,3 ^c	118,2 ^b
ĐHCT + 100% N, P	27,9 ^b	42,7 ^{bc}	4,02 ^c	33,6 ^c	30,3 ^c	7,73 ^c	18,9 ^{cd}	93,9 ^c
100% N, P + PHCVS - TT	21,3 ^c	48,7 ^b	5,84 ^b	35,7 ^c	39,2 ^b	5,49 ^d	34,6 ^b	113,9 ^b
50% N, P + PHCVS - PHC + PNĐK	28,3 ^b	46,3 ^b	4,97 ^{bc}	45,2 ^{ab}	45,6 ^a	10,5 ^b	16,3 ^d	116,4 ^b
75% N, P + PHCVS - PHC + PNĐK	32,2 ^{ab}	59,8 ^a	7,41 ^a	53,6 ^a	47,9 ^a	9,73 ^b	34,8 ^b	187,9 ^a
100% N, P + PHCVS - PHC + PNĐK	35,2 ^a	58,2 ^a	8,38 ^a	52,1 ^a	45,1 ^a	13,0 ^a	39,1 ^a	181,4 ^a
Mức ý nghĩa	*	*	*	*	*	*	*	*
CV (%)	12,5	8,29	13,5	12,4	6,16	8,25	8,90	6,62

Ghi chú: Như ở bảng 1.

Hình 1c cho thấy, tổng hấp thu K trong cây khóm của các nghiệm thức tại thời điểm thu hoạch khác biệt có ý nghĩa thống kê với độ tin cậy trên 95%. Các nghiệm thức sử dụng PHCVS - PHC và PNĐK kết hợp bón 100, 75 hoặc 50% N, P, với tổng hấp thu K đạt 313,4 - 433,3 kg/ha, cao hơn so với nghiệm thức bón phân của nông dân và nghiệm thức bổ sung nấm *Trichoderma* sp. ĐHCT, với 275,7 và 259,0 kg/ha, theo thứ tự. Nghiệm thức bổ sung PHCVS - TT có tổng hấp thu K (304,7 kg/ha) tương đương với nghiệm thức sử dụng PHCVS - PHC và PNĐK kết hợp bón 50% N, P, thấp hơn nghiệm thức sử dụng PHCVS - PHC và PNĐK kết hợp bón 100 hoặc 75% N, P.

Kết quả thí nghiệm cho thấy, sử dụng PHCVS - PHC kết hợp bón 100, 75 hoặc 50% N, P có tổng hấp thu N cao hơn đối chứng, tương đương hoặc cao hơn nghiệm thức sử dụng PHCVS - TT và bổ sung nấm *Trichoderma* sp. ĐHCT. Kết quả trên cũng được ghi nhận tương tự trên cà chua được bổ sung nấm *Trichoderma asperellum* CHF 78 có tổng hấp thu N đạt 13,6 g/cây tương đương với đối chứng (13,1 g/cây) [19]. Kết quả nghiên cứu của Li và cs (2018) [19] cho thấy, cà chua được bổ sung nấm *Trichoderma asperellum* CHF 78 có tổng hấp thu P tương đương với đối chứng, lần lượt là 3,99 và 3,36 g/cây. Do đó, khi bổ sung PHCVS -

PHC kết hợp bón 100, 75 hoặc 50% N, P đã góp phần tăng tổng hấp thu P so với đối chứng cũng như bổ sung nấm *Trichoderma* sp. ĐHCT.

Hình 1 C cho thấy, tổng hấp thu K của nghiệm thức bổ sung PHCVS - PHC kết hợp bón 100, 75 hoặc 50% N, P cao hơn so với đối chứng và bổ sung nấm *Trichoderma* sp. ĐHCT. Trong khi đó, cà chua được bổ sung nấm *Trichoderma asperellum* CHF 78 có tổng hấp thu K đạt 27,2 g/cây, tương đương với nghiệm thức đối chứng (22,9 g/cây) [19]. Kết quả nghiên cứu của Mokariya và cs (2020) [20] cho thấy, cây mè được bổ sung phân trùn quế (2 tấn/ha), *Trichoderma harzianum* (3 kg/ha) và *Pseudomonas fluorescens* (3 kg/ha), có hấp N, P và K lần lượt là 53,1, 11,8 và 28,1 kg/ha cao hơn đối chứng, với 32,6, 7,37 và 19,6 kg/ha, theo thứ tự. Bên cạnh đó, cây dưa (*Cucumis anguria* L.) được bón 75% N, P và 100% K theo khuyến cáo bổ sung *Azospirillum brasilense* + *Trichoderma viridae* + *Glomus fasciculatum* hoặc bón 75% N, P và 100% K bổ sung *Azotobacter chroococcum* + *T. viridae* + *Glomus fasciculatum* có tổng hấp thu N, P và K lần lượt là 175,23, 42,00, 225,00 kg/ha và 189,33, 53,00, 235,00 kg/ha, cao hơn nghiệm thức bón 100% NPK theo khuyến cáo, với 169,82, 40,15, 222,00 kg/ha [21]. Vì vậy, bổ sung PHCVS - PHC kết hợp giảm 25 hoặc 50% N, P

đã góp phần tăng tổng hấp thu N, P, K so với đối chứng, tương đương hoặc cao hơn nghiệm thức bổ sung nấm *Trichoderma* sp. ĐHCT và PHCVS - TT.

3.4. Ảnh hưởng của nấm *Trichoderma* spp. phân hủy cellulose từ phân hữu cơ vi sinh và nấm *Trichoderma* spp. đối kháng nấm *Fusarium* spp. đến chất lượng trái khóm

Nghiệm thức bổ sung PHCVS - PHC và PNĐK kết hợp bón 100% hoặc 75% N, P theo khuyến cáo đạt lượng nước trong trái cao lần lượt là 217 và 199 mL. Trong khi đó, lượng nước trong trái của nghiệm thức bổ sung PHCVS - PHC và PNĐK kết hợp bón 25% N, P đạt 146 mL, tương đương với nghiệm thức bổ sung PHCVS - TT, nghiệm thức bổ sung nấm *Trichoderma* sp. ĐHCT và nghiệm thức bón phân của nông dân, với lượng nước trong trái dao động 157 - 171 mL (Bảng 8).

Nghiệm thức sử dụng PHCVS - PHC và PNĐK kết hợp bón 100, 75 hoặc 50% N, P, với TSS dao động 10,7 - 11,0°Brix, tương đương với nghiệm thức bổ sung nấm *Trichoderma* sp. ĐHCT, với 11,1%. Trong đó, nghiệm thức bổ sung PHCVS - PHC và PNĐK kết hợp bón 100 hoặc 75% N, P đạt TSS cao hơn so với nghiệm thức bổ sung PHCVS - TT và nghiệm thức bón phân của nông dân, với TSS lần lượt là 10,1 và 10,0°Brix (Bảng 8).

Hàm lượng vitamin C và hàm lượng axit tổng số trong trái khóm giữa các nghiệm thức khác biệt không có ý nghĩa thống kê. Hàm lượng vitamin C

và axit tổng số trung bình của các nghiệm thức khoảng 8,78 - 13,0 mg/100 g và 7,04 - 8,75 mg/L, theo thứ tự (Bảng 8).

Giá trị L của màu sắc trái của nghiệm thức bổ sung PHCVS - PHC và PNĐK kết hợp bón 50% N, P (42,5) cao hơn so với các nghiệm thức bổ sung PHCVS - TT, bổ sung nấm *Trichoderma* sp. ĐHCT và bón phân theo nông dân, với 35,5, 36,0 và 34,0, theo thứ tự. Bên cạnh đó, nghiệm thức bổ sung PHCVS - PHC và PNĐK kết hợp bón 100 hoặc 75% N, P với giá trị L lần lượt là 39,4 và 35,9, tương đương với nghiệm thức bổ sung PHCVS - TT và nghiệm thức bổ sung nấm *Trichoderma* sp. ĐHCT, với 35,5 và 36,0, theo thứ tự (Bảng 8). Nghiệm thức bổ sung nấm *Trichoderma* sp. ĐHCT đạt giá trị màu sắc trái a cao nhất, với 10,4. Tiếp đến là các nghiệm thức sử dụng PHCVS và PNĐK kết hợp bón 100, 75 hoặc 50% N, P với giá trị a dao động 8,95 - 9,53, tương đương với nghiệm thức bổ sung PHCVS - TT, với 9,25. Màu sắc trái có giá trị a đạt thấp ở nghiệm thức bón phân theo nông dân (8,70) (Bảng 8). Bên cạnh đó, màu sắc trái có giá trị b của các nghiệm thức sử dụng PHCVS - PHC và PNĐK kết hợp bón 100, 75 hoặc 50% N, P và nghiệm thức bón phân theo nông dân lần lượt là 12,3, 12,4, 11,6 và 12,5, tương đương với nghiệm thức bổ sung PHCVS - TT, với 13,6, thấp hơn so với nghiệm thức bổ sung nấm *Trichoderma* sp. ĐHCT (15,5) (Bảng 8).

Bảng 8. Ảnh hưởng của nấm *Trichoderma* spp. phân hủy cellulose từ phân hữu cơ vi sinh và nấm *Trichoderma* spp. đối kháng nấm *Fusarium* spp. đến chất lượng trái cây khóm

Nghiệm thức	Lượng nước trong trái	TSS	Vitamin C	Axit tổng	Giá trị màu sắc		
	mL	°Brix	mg/100g	mg/L	L	a	b
ĐC	164 ^c	10,0 ^b	12,1	7,92	34,0 ^c	8,70 ^c	12,5 ^b
ĐHCT + 100% N, P	157 ^c	11,1 ^a	12,4	7,04	36,0 ^{bc}	10,4 ^a	15,5 ^a
100% N, P + PHCVS - TT	171 ^{bc}	10,1 ^b	12,8	7,63	35,5 ^{bc}	9,25 ^{bc}	13,6 ^{ab}
50% N, P + PHCVS - PHC + PNĐK	146 ^c	10,7 ^{ab}	8,78	7,92	42,5 ^a	8,95 ^{bc}	12,3 ^b
75% N, P + PHCVS - PHC + PNĐK	199 ^{ab}	11,0 ^a	12,3	8,75	35,9 ^{bc}	9,28 ^{bc}	12,4 ^b
100% N, P + PHCVS - PHC + PNĐK	217 ^a	10,9 ^a	13,0	7,92	39,4 ^{ab}	9,53 ^b	11,6 ^b
Mức ý nghĩa	*	*	ns	ns	*	*	*
CV (%)	11,3	4,56	19,4	13,5	7,25	4,96	12,8

Ghi chú: Như ở bảng 1.

Bảng 8 cho thấy, hàm lượng nước trong trái của nghiệm thức bổ sung PHCVS - PHC và PNĐK

kết hợp bón 100% N, P đạt 217 mL, thấp hơn so với kết quả nghiên cứu của Cunha và cs (2019) [22],

bổ sung đầy đủ các dưỡng chất hàm lượng nước trong khóm đạt 386,9 mL. Tuy nhiên, lượng nước trong trái phụ thuộc vào kích thước trái. Tương tự, TSS đạt 10,1 - 11,1°Brix (Bảng 8), trong khi đó kết quả nghiên cứu của Cunha và cs (2019) [22] cho thấy, TSS trái khóm đạt 14,3°Brix ở nghiệm thức bổ sung đầy đủ dinh dưỡng. Choo và cs (2020) [23] cũng cho biết ảnh hưởng của phân NPK trên khóm, TSS trái khóm dao động $12,65 \pm 0,09$ đến $13,62 \pm 0,02$ °Brix. TSS của khóm dao động khoảng 12,9 - 14,2°Brix khi khóm được trồng 3 loại đất bao gồm đất phù sa, đất than bùn nước ngọt và đất than bùn nước lợ [24]. Đối với khóm MD2 được bón PHCVS, TSS đạt $12,6 \pm 0,4$ °Brix [25]. Hàm lượng vitamin C dao động 8,78 - 13,0 mg/100 g (Bảng 8). Theo Omotoso và Akinrinde (2013) [12], cây khóm được bổ sung 0 - 200 kg N/ha có hàm lượng vitamin C dao động 12,2 - 15,1 mg/100 g. Theo Sidik và cs (2020) [26], hàm lượng vitamin C dao động 24,7 - 30,8 mg/100 g. Hàm lượng axit tổng số dao động 7,04 - 8,75 mg/L (Bảng 8) trong khi đó Cunha và cs (2019) [22] cho biết, hàm lượng axit tổng số trong trái khóm đạt 0,69 g/100 mL đối với nghiệm thức được cung cấp đầy đủ dinh dưỡng.

4. KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

4.1. Kết luận

Bổ sung PHCVS - PHC và PNĐK kết hợp bón 50% N, P đạt tổng hấp thu N, P, K cao hơn nghiệm thức bón theo nông dân và tương đương với nghiệm thức bổ sung nấm *Trichoderma* sp. ĐHCT. Bổ sung PHCVS - PHC và PNĐK kết hợp bón 50% N, P theo KC đạt TSS và hàm lượng vitamin C tương đương nghiệm thức bón phân theo nông dân và nghiệm thức bổ sung PHCVS - TT.

Bổ sung PHCVS - PHC và PNĐK kết hợp bón 50% N, P đạt TSS và hàm lượng vitamin C tương đương nghiệm thức đối chứng.

4.2. Kiến nghị

Đánh giá hiệu quả của PHCVS chứa hỗn hợp nấm *Trichoderma* spp. TC1, TC2, TC3 và phun nấm *Trichoderma* sp. TF3 kết hợp bón 50 - 100% N, P theo khuyến cáo ở quy mô lớn trong canh tác khóm ở ĐBSCL.

LỜI CẢM ƠN

Nhóm tác giả xin trân trọng cảm ơn Sở Khoa học và Công nghệ tỉnh Hậu Giang đã tài trợ kinh phí để nghiên cứu này được thực hiện.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Ayenew, B., Tadesse, T., Gebremariam, E., Mengesha, A., & Tefera, W. (2021). Efficient use of temporary immersion bioreactor (TIB) on pineapple (*Ananas comosus* L.) multiplication and rooting ability. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, 2456 - 2465.
2. Nguyen Quoc, K., Nhi, L. T. Y., Le Thanh, Q., Ly Ngoc Thanh, T. X., & Le Vinh, T. (2023). Norms Establishment of the Diagnosis and Recommendation Integrated System at Preflowering in Pineapple (*Ananas comosus* L.) and Its Verification in Case of Nutrient Omission Trial by two consecutive crops. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 54 (9), 1198 - 1214.
3. Baiswar, P., Borah, T. R., & Singh, A. R. (2021). Postharvest diseases of pineapple and their management. In *Postharvest Handling and Diseases of Horticultural Produce*, pp. 287 - 294. CRC Press.
4. Santos, D. I., Martins, C. F., Amaral, R. A., Brito, L., Saraiva, J. A., Vicente, A. A., & Moldão - Martins, M. (2021). Pineapple (*Ananas comosus* L.) by - products valorization: Novel bio ingredients for functional foods. *Molecules*, 26 (11), 3216.
5. Nguyen Quoc, K., Nhi, L. T. Y., Le Thanh, Q., Ly Ngoc Thanh, T. X., & Le Vinh, T. (2023). Norms Establishment of the Diagnosis and Recommendation Integrated System at Preflowering in Pineapple (*Ananas comosus* L.) and Its Verification in Case of Nutrient Omission Trial by Two Consecutive Crops. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 54 (9), 1198 - 1214.
6. Ly, N. T. X., Anh, T. K., Le, T. H. D., Tran, T. B. V., Le, T. M. T., & Khuong, N. Q. (2023). Foundation and validation of diagnosis and recommendation of integrated system norms for

evaluating nutrient status of pineapple plants (*Ananas comosus* L.). *Australian Journal of Crop Science*, 17 (7), 600 - 607.

7. Cardona, L. M., Cortés - Rodríguez, M., Galeano, F. J. C., & Arango, J. C. (2021). Physicochemical stability of pineapple suspensions: the integrated effects of enzymatic processes and homogenization by shear. *Journal of Food Science and Technology*, 1 - 9.

8. Vignassa, M., Meile, J. C., Chiroleu, F., Soria, C., Leneveu - Jenvrin, C., Schorr - Galindo, S., & Chillet, M. (2021). Pineapple mycobiome related to fruitlet core rot occurrence and the influence of fungal species dispersion patterns. *Journal of Fungi*, 7 (3), 175.

9. Barral, B., Chillet, M., Doizy, A., Grassi, M., Ragot, L., Léchaudel, M., Durand, N., Rose, L. J., Viljoen, A., & Schorr - Galindo, S. (2020). Diversity and toxigenicity of fungi that cause pineapple fruitlet core rot. *Toxins*, 12 (5), 339.

10. García S. S., López D. J. P., Joel Zavala Cruz, García C. F. O., Espinoza L. D. C. L., Estrada M. C., Peña A. G., Ceballos A. I. O. and Sánchez S. C. (2017). Integrated system for recommending fertilization rates in pineapple (*Ananas comosus* (L.) Merr.) crop. *Acta Agronómica*, 66 (4), 566 - 573.

11. Khuong N. Q., Chung T. T. K., Thu, L. T. M., Nhan T. C., Ca L. M., Quang L. T., Xuan L. N. T., Phong N, T. (2023). Efficacy of biocompost from pineapple waste inoculated with indigenous fungi strains *Trichoderma* spp. on soil fertility, nutrients uptake, growth and yield of *Ananas comosus* (L.) Merr. *International Journal of Recycling Organic Waste in Agriculture*. 1 - 17.

12. Omotoso, S. O., & Akinrinde, E. A. (2013). Effect of nitrogen fertilizer on some growth, yield and fruit quality parameters in pineapple (*Ananas comosus* L. Merr.) plant at Ado - Ekiti Southwestern, Nigeria. *International Research Journal of Agricultural Science and Soil Science*, 3 (1), 11 - 16.

13. Valleser, V. C. (2019). Phosphorus nutrition provoked improvement on the growth

and yield of 'MD-2' pineapple. *Pertanika Journal of Tropical Agricultural Science*, 42 (2).

14. Lê Văn Bé, Lê Văn Hòa (2011). *Quy trình phục tráng và kỹ thuật trồng khóm Queen cây mô sạch bệnh héo khô đầu lá*. Nxb Nông nghiệp, thành phố Hồ Chí Minh. 102 trang.

15. Walinga, I., van Vark, W., Houba, V. J. G. and van der Lee, J. J. (1997). Soil and Plant Analysis, Part 7. In: Department of Soil Science and Plant Nutrition, Wageningen Agricultural University. The Netherlands, 263 pp.

16. Tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 4589:1988 (ST SEV 3010 - 81, ST SEV 3012 - 81) về đồ hộp - phương pháp xác định hàm lượng axit tổng số và axit bay hơi.

17. Tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 4715:1989 về đồ hộp rau quả - phương pháp xác định hàm lượng vitamin C (Axit Ascorbic).

18. Sani, M. N. H., Hasan, M., Uddain, J., & Subramaniam, S. (2020). Impact of application of *Trichoderma* and biochar on growth, productivity and nutritional quality of tomato under reduced NPK fertilization. *Annals of Agricultural Sciences*, 65 (1), 107 - 115.

19. Li, Y. T., Hwang, S. G., Huang, Y. M., & Huang, C. H. (2018). Effects of *Trichoderma asperellum* on nutrient uptake and *Fusarium* wilt of tomato. *Crop Protection*, 110, 275 - 282.

20. Mokariya, L. K., Sagarka, B. K., Sakarvadia, H. L., Malam, K. V., Jani, C. P., & Vaja, R. P. (2020). Effect of microbial consortia enriched vermicompost on physico - chemical properties of soil and nutrient content and uptake by summer sesame (*Sesamum indicum* L.). *IJCS*, 8 (5), 2256 - 2259.

21. Chandru, P., & Narayana, J. (2017). Impact of bio fertilizers along with combination of different level of N, P and K on nutrient uptake in gherkin (*Cucumis anguria* L.). *International Journal of Plant Sciences (Muzaffarnagar)*, 12 (2), 120 - 124.

22 Cunha, J. M., Freitas, M. S. M., Caetano, L. C. S., Carvalho, A. J. C. D., Peçanha, D. A., & Santos, P. C. D. (2019). Fruit quality of pineapple

'Vitória' under macronutrients and boron deficiency. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 41.

23. Choo, L. N. L. K., Ahmed, O. H., Nik Majid, N. M. B., & Ab Aziz, Z. F. B. (2020). Improving nitrogen availability on a tropical peat soil cultivated with *Ananas comosus* L. Merr. using pineapple residue ash. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 20 (2), 657 - 672.

24. Almaktsur, M. A., & Elfianis, R. (2019, December). Morphology and fruit quality characters of pineapple (*Ananas comosus* L. Merr) cv. Queen on three sites planting: freshwater peat, brackish peat and alluvial soil. In *IOP Conference*

Series: Earth and Environmental Science (Vol. 391, No. 1, p. 012064). IOP Publishing.

25. Mahmud, M., Abdullah, R., & Yaacob, J. S. (2020). Effect of vermicompost on growth, plant nutrient uptake and bioactivity of *ex vitro* pineapple (*Ananas comosus* var. MD2). *Agronomy*, 10 (9), 1333.

26. Sidik, B. R., Sutanto, A., Zen, S., & Noor, R. (2020). Application pineapple liquid waste to increase fruit weight and vitamin c pineapple as biological learning resources. In *Journal of Physics: Conference Series* (Vol. 1567, No. 2, p. 022051). IOP Publishing.

IMPACTS OF *Trichoderma* SPP. FUNGI ON NPK UPTAKES AND FRUIT QUALITIES OF PINEAPPLES GROWN IN ACID SULFATE SOIL IN HAU GIANG PROVINCE, VIETNAM

Le Thi My Thu¹, Ly Ngoc Thanh Xuan², Tran Thi Huong Lan³,

Nguyen Huynh Minh Anh¹, Nguyen Quoc Khuong¹

¹*Faculty of Crop Science, College of Agriculture, Can Tho University*

²*An Giang University, Vietnam National University Ho Chi Minh city*

Summary

The aim of the study was to evaluate the potency of the *Trichoderma* spp. fungal strains on NPK uptakes and fruit qualities of pineapples. A completely randomized block design was applied, along with six treatments, which were (i) the control, which followed the farmers' fertilization with no application of microbial organic fertilizers (PHCVS) and no spray of the *Trichoderma* sp., (ii) the fertilization of 100% chemical fertilizers according to recommendation (KC), added with the PHCVS containing *Trichoderma* sp. of the Can Tho University (ĐHCT), (iii) the fertilization of 100% chemical fertilizers as KC, added with the commercial (PHCVS - TT), (iv) the fertilization of 50% chemical fertilizers as KC, added with the PHCVS containing cellulose-degrading *Trichoderma* spp. TC1, TC2 and TC3 strains (PHCVS - PHC) and the spray of *Fusarium* spp. antagonizing *Trichoderma* sp. strains (PNĐK), (v) the fertilization of 75% chemical fertilizers KC, added with PHCVS - PHC and PNĐK and (vi) the fertilization of 100% chemical fertilizers KC, added with PHCVS - PHC and the PNĐK. There were four replicates, each of which had a soil area of 25 m². The results indicated that the addition of the PHCVS - PHC and the PNĐK with the 50% chemical fertilizers KC led to higher N, P, K uptakes of 28.1, 1.36 and 37.7 kg/ha than the treatment following the farmers' fertilization, but equivalent to the one added with the PHCVS - ĐHCT, whose uptake results were 175.9 - 191.6 kg/ha for N, 10.2 - 11.8 kg/ha for P and 258.9 - 313.4 kg/ha for K. The addition of the PHCVS - PHC and the PNĐK with the 50% chemical fertilizers KC the farmers' fertilization and the one added with PHCVS - PHC. The addition of the PHCVS - PHC and the PNĐK contributed to the reduction of 50% chemical fertilizers KC.

Keywords: *Acid sulfate soil, microbial organic fertilizer, pineapple, Trichoderma sp.*

Người phản biện: PGS.TS. Nguyễn Thanh Bình

Ngày nhận bài: 23/10/2023

Ngày thông qua phản biện: 17/11/2023

Ngày duyệt đăng: 22/12/2023

NGHIÊN CỨU ĐỊNH DANH *Pediococcus* sp. DH6.4 SINH TỔNG HỢP BACTERIOCIN

Nguyễn Thị Lâm Đoàn^{1,*}, Đặng Thảo Yến Linh²

TÓM TẮT

Bacteriocin được sinh tổng hợp bởi vi khuẩn lactic là chất kháng khuẩn an toàn, không gây dị ứng và không gây hại cho sức khỏe con người, được ứng dụng trong nhiều lĩnh vực khác nhau như công nghệ thực phẩm, nông nghiệp, y tế... Chính vì vậy, nghiên cứu thực hiện với mục tiêu xác định một số đặc điểm hình thái, sinh hóa và phân tích trình tự gen *pheS* của chủng *Pediococcus* sp. DH6.4. Kết quả cho thấy, chủng DH6.4 thuộc loài *Pediococcus acidilactici*. *Pediococcus acidilactici* DH6.4 có khả năng sinh chất kháng khuẩn có bản chất là bacteriocin thể hiện hoạt tính kháng mạnh *Lactobacillus plantarum*, *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella typhimurium* với đường kính vòng kháng khuẩn từ 11,41 - 17,30 mm. Nghiên cứu đã xác định nhiệt độ và pH_{bd} nuôi cấy tối ưu *Pediococcus acidilactici* DH6.4 để thu hoạt tính bacteriocin cao nhất là 30°C, pH_{bd} = 7. Chủng này có thể ứng dụng trực tiếp hoặc tách chất kháng khuẩn bacteriocin để ứng dụng trong bảo quản và chế biến thực phẩm.

Từ khóa: *Pediococcus*, bacteriocin, hoạt tính kháng khuẩn, *pheS* gen.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Bacteriocin là chất kháng khuẩn có bản chất là peptide hay protein do vi khuẩn sản sinh được tổng hợp ở ribosome. Chúng có khả năng tiêu diệt các vi khuẩn có liên quan chặt chẽ và cả các vi khuẩn không liên quan [1], được ứng dụng trong nhiều lĩnh vực khác nhau như sử dụng làm chất bảo quản sinh học trong công nghệ thực phẩm [2], hoặc các chất bổ sung tăng trưởng động vật, thực vật hay các chế phẩm sinh học trong nông nghiệp [3]. Trong lĩnh vực y tế, bacteriocin đang được tập trung nghiên cứu thử nghiệm trong liệu pháp điều trị nhiễm trùng và ung thư [1]. Phần lớn bacteriocin tổng hợp bởi vi khuẩn Gram + đặc biệt là từ vi khuẩn lactic xem là nhóm an toàn [4].

Pediococcus là một trong các chi của vi khuẩn lactic, có khả năng tạo ra một số bacteriocin (pediocin) hoạt động chống lại các vi khuẩn có mối quan hệ họ hàng gần và một số các nhóm vi khuẩn gây bệnh và gây thối hỏng thực phẩm. Chúng không chỉ được sử dụng trong bảo quản

thực phẩm mà còn làm tác nhân trị liệu [5], [6]. Hơn nữa, bacteriocin của chúng có nhiều đặc điểm lý tưởng có thể sử dụng trong bảo quản thực phẩm như bền trong nhiệt độ chế biến cao, hoạt động trong phạm vi pH và nồng độ muối rộng [7], [8]. Do có bản chất là peptide hay protein, bacteriocin bị phân giải dễ dàng trong quá trình tiêu hóa và không gây ảnh hưởng đến sức khỏe con người [9]. Hơn nữa, bacteriocin thường không gây ra những thay đổi trong sản phẩm thực phẩm và có thể được sử dụng bổ sung trong chế biến thực phẩm, giảm cường độ của các phương pháp xử lý truyền thống như gia nhiệt [10].

Hiện nay, vi khuẩn lactic sinh bacteriocin vẫn được các nhà khoa học trong và ngoài nước quan tâm với hy vọng tìm được chủng loài tạo ra bacteriocin mới, hướng tới những ứng dụng trong bảo quản và chế biến thực phẩm tươi sống, đồ hộp, nhiều sản phẩm lên men và không lên men khác [11]. Chính vì vậy, nghiên cứu định danh chủng *Pediococcus* sp. DH6.4 sinh tổng hợp bacteriocin được thực hiện với mong muốn có thể sử dụng trực tiếp chủng hoặc tách chiết bacteriocin của chúng định hướng ứng dụng trong bảo quản và chế biến thực phẩm.

¹ Khoa Môi trường, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội

² Trung tâm Công nghệ Vật liệu, Viện Ứng dụng công nghệ

*Email:nlldoan@hus.edu.vn

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU**2.1. Vật liệu nghiên cứu****2.1.1. Chuồng vi khuẩn**

Chuồng *Lactobacillus plantarum* JCM 1149, *Bacillus cereus* ATCC 21778, *Listeria monocytogenes* ATCC 35152 và *Salmonella typhimurium* ATCC 13076 được cung cấp từ Viện Công nghệ sinh học thuộc Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam. Chuồng *Pediococcus* sp. DH6.4 được bảo quản trong môi trường MRS với 40% glycerol ở -20°C phân lập từ nem chua.

2.1.2. Môi trường nuôi cấy

Môi trường dùng để nuôi cấy và hoạt hóa các chủng vi khuẩn lactic MRS (Man Rogosa Sharpe) dịch thể (g/l). Pepton: 10; cao thịt: 10; cao nấm men: 5; glucose: 20; CH₃COONa: 5; K₂HPO₄: 2; Aminocitrate: 2; MgSO₄·7H₂O: 0,2; nước: 1l; pH = 6,7. Môi trường LB để nuôi cấy vi sinh vật kiểm định [12].

2.2. Phương pháp nghiên cứu**2.2.1. Nghiên cứu định danh chủng *Pediococcus* sp. DH6.4****2.2.1.1. Xác định một số đặc điểm của chủng**

Chuồng vi khuẩn lactic được nuôi cấy trên môi trường MRS agar, sau 18 - 24 giờ, tiến hành quan sát hình thái khuẩn lạc. Hình dạng tế bào được quan sát trên tiêu bản nhuộm Gram. Ngoài ra, catalase, khả năng di động và lên men một số loại đường cũng được kiểm tra [13].

2.2.1.2. Phân tích trình tự gen *pheS*

Phương pháp xác định trình tự gen *pheS* được dùng để xác định loài vi khuẩn *Pediococcus* sp. DH6.4 được mã hóa (R42607) như miêu tả của Nguyen và cs (2013) [14].

Tách chiết ADN: ADN genomic của chủng được tách chiết theo phương pháp của Gevers và cs (2001) [15]. Chất lượng và độ tinh sạch ADN được kiểm tra bằng cách điện di trên gel 1,0% w/v agarose trong 45 phút ở điện thế 75V của 5,0 µL ADN trộn với 2,0 µL loading dye.

Khuếch đại PCR cho giải trình tự gen *pheS*: Đoạn gen *pheS* được nhân lên với mỗi xuôi là *pheS* 21F (5'-CAYCCNGCHCGYGYATGC-3') và mỗi

ngược *pheS* 22R (5'-CCWARVCCRAARGCAAAR CC-3') [16]. Phản ứng được tiến hành với ADN pha loãng (OD=1,0). Thể tích PCR của 50 µl gồm: 5,0 µl của 10x PCR buffer (15 mM MgCl₂), 5,0 µl deoxynucleoside triphosphates (2 mM của mỗi loại dNTP), 0,5 µL của mỗi môi (50 µM), 1 µL Taq polymerase (1U µl⁻¹), 37 µL nước cất và 1 µl của dung dịch ADN. Sử dụng máy GenAmp PCR 9600 thermocycler (Applied Biosystem). Chu trình nhiệt bao gồm: (1) 5,0 phút ở 95°C, (2) 3 chu trình 1,0 phút ở 95°C + 2,0 phút 15 giây ở 46°C + 1,0 phút 15 giây ở 72°C, 30 chu trình 35 giây ở 95°C + 1,0 phút 15 giây ở 46°C + 1,0 phút 15 giây ở 72°C, (4) cuối cùng 7,0 phút 72°C [16]. Sản phẩm PCR được kiểm tra bằng cách lấy 5 µl sản phẩm PCR với 2,0 µl của loading dye, điện di trên gel agarose 1,0% ở 75V trong 45 phút. Marker sử dụng là SmartLadder, Eurogentec, Searing, Bỉ.

Sau khi kiểm tra nếu sản phẩm PCR có kích thước đúng như kích thước của đoạn gen *pheS* sẽ được tinh sạch nhờ hệ thống màng lọc Nucleofast 96 PCR (Macherey - Nagel). Để giải trình tự gen *pheS* sản phẩm PCR vừa tinh sạch ở trên sẽ được chạy PCR lần thứ hai. Sau đó, 10 µl sản phẩm PCR cho mỗi xuôi và 10 µl sản phẩm PCR cho mỗi ngược được chuyển vào 02 giếng của đĩa 96 giếng và thêm 45 µl dung dịch SAM, 10 µl XTerm. Giải trình tự được thực hiện nhờ máy ABI PRISM 3100 (Applied Biosystem) [14].

Số liệu trình tự thô được chuyển đến AutoAssemble software 1.40 (applied Biosystem), trình tự liên tục của gen *pheS* được xác định bằng chương trình Bionumeric 5.1 (Applied Maths). Trình tự gen so sánh với các loài trong ngân hàng gen BCCM/LMG của Đại học Gent (Bỉ), so sánh chuỗi ADN này với ngân hàng trình tự nucleotit quốc tế để xác định loài có mối liên quan gần nhất [14].

2.2.2. Khảo sát khả năng kháng vi khuẩn kiểm định của chủng *Pediococcus* sp. DH6.4

Khả năng kháng vi khuẩn kiểm định theo phương pháp khuếch tán trên thạch được miêu tả bởi Hernandez và cs (2005) [17] với các vi khuẩn kiểm định *Lactobacillus plantarum* JCM 1149, *Bacillus cereus* ATCC 21778, *Listeria*

monocytogenes ATCC 35152 và *Samonella yphimurium* ATCC 13076 [17]. Khả năng kháng khuẩn của chủng được xác định tại thời điểm nuôi cấy 18 - 20 giờ ở 30°C trong môi trường MRS lỏng. Hoạt tính kháng khuẩn được thể hiện qua vòng kháng khuẩn xuất hiện quanh giếng thạch và được xác định bằng hiệu số giữa đường kính vòng kháng khuẩn và đường kính giếng thạch D - d (D là đường kính vòng kháng khuẩn (mm), d là đường kính giếng thạch (mm)).

2.2.3. Kháng định *Pediococcus* sp. DH6.4 sinh bacteriocin

Dịch nuôi cấy các chủng tại thời điểm nuôi cấy 18 - 20 giờ sau khi đã thử có hoạt tính kháng khuẩn bằng phương pháp khuếch tán thạch được xử lý với enzyme protease K theo Marwa và cs (2015) [18], với nồng độ 1 mg/ml dịch nuôi cấy, giữ ở 37°C trong thời gian 2 giờ, sau đó đun nóng ở 100°C trong 3 phút để loại bỏ các tác động còn lại của protease K. Mẫu được kiểm tra hoạt tính kháng khuẩn bằng phương pháp khuếch tán trên đĩa thạch như đã mô tả ở mục 2.2.2 với vi khuẩn chỉ thị *Lactobacillus plantarum* JCM 1149. Nếu giếng thạch không thể hiện khả năng kháng khuẩn cho thấy, chất kháng khuẩn có thể có bản chất là protein nên đã bị phân giải bởi protease K. Đối chứng (ĐC) là chỉ có dịch nuôi cấy chủng DH6.4 không bổ sung enzyme.

2.2.4. Ảnh hưởng của nhiệt độ, pH đến khả năng sinh trưởng và sinh tổng hợp bacteriocin của chủng *Pediococcus* sp. DH6.4

2.2.4.1. Ảnh hưởng của nhiệt độ

Chủng DH6.4 được nuôi cấy trong môi trường MRS dịch thể ở các nhiệt độ 10°C; 20°C; 25°C; 30°C; 37°C; 40°C; 45°C. Sau 24 giờ nuôi cấy, xác

định khả năng sinh trưởng (OD_{620nm}), hoạt tính bacteriocin (AU/mL) [19], [20].

2.2.4.2. pH ban đầu môi trường nuôi cấy

Chủng DH6.4 được nuôi trong môi trường MRS dịch thể có dải pH: 4; 5; 6; 6,7; 7; 8; 9; 10 và nuôi ở điều kiện nhiệt độ tối ưu đã xác định ở thí nghiệm 2.2.5.1. Sau 24 giờ nuôi cấy, lấy dịch nuôi cấy ra và xác định các thông số OD_{620nm} , hoạt tính bacteriocin (AU/mL) [19].

2.2.5. Phương pháp xác định đơn vị hoạt tính bacteriocin

Dịch nuôi cấy vi khuẩn được pha loãng theo hệ số 2 và nhỏ vào các giếng trên đĩa môi trường MRS đã chứa vi khuẩn kiểm định *Lb. plantarum* JCM 1149. Sau 24 giờ, hoạt tính bacteriocin (AU/ml) được tính theo công thức: $(AU/ml) = 2^n * 1000/V$ [21], [22].

Trong đó: 2^n là độ pha loãng theo hệ số 2 lớn nhất của mẫu còn xuất hiện vòng kháng khuẩn; V là thể tích dịch nuôi cấy đã nhỏ (μl).

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Nghiên cứu định danh chủng *Pediococcus* sp. DH6.4

3.1.1. Đặc điểm hình thái khuẩn lạc, tế bào và một số đặc điểm khác của chủng *Pediococcus* sp. DH6.4

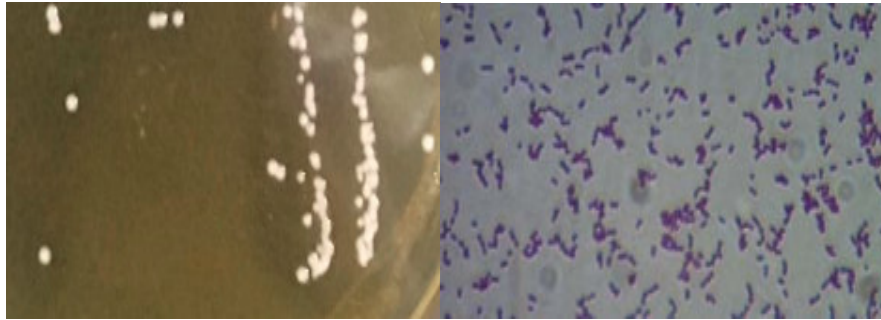
Khuẩn lạc chủng DH6.4 hình tròn lồi, màu trắng, d >1 mm, tế bào hình cầu, sắp xếp đôi, tứ hoặc đám, vi khuẩn Gram +, catalase âm tính, không di động. Có khả năng lên men đường glucose, lactose, ribose không có khả năng lên men đường maltose (Bảng 1 và hình 1). Các đặc điểm trong bảng 1 so sánh với bảng phân loại của Holland và cs (2011) [23], chủng này bước đầu có thể xếp thuộc chi *Pediococcus*.

Bảng 1 Một số đặc điểm của chủng vi khuẩn DH6.4

Các chỉ tiêu		Đặc điểm của chủng DH6.4
1. Khuẩn lạc	- Hình dạng	Tròn lồi
	- Màu sắc	Màu trắng
	- Kích thước	d>1 mm
2. Tế bào	- Hình dạng	Hình cầu
	- Sắp xếp tế bào	Xếp đôi, tứ hoặc đám

3. Nhuộm Gram		+
4. Di động		-
5. Hoạt tính catalase		-
6. Khả năng lên men một số đường	Glucose	+
	Lactose	+
	Ribose	+
	Maltose	-

Ghi chú: + Có khả năng; - không có khả năng.



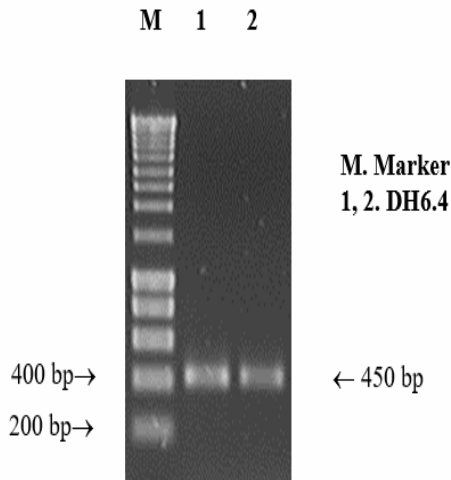
a. Hình thái khuẩn

b. Hình thái tế bào

Hình 1. Hình thái khuẩn lạc và tế bào của chủng vi khuẩn DH6.4

3.1.2. Phân tích trình tự gen *pheS*

3.1.2.1. Sản phẩm PCR đoạn gen *pheS*



Hình 2. Sản phẩm PCR đoạn gen *pheS* của chủng DH6.4 trên gel agarose 1,0%

Sau khi ADN của chủng DH6.4 được tách chiết, tiến hành nhân đoạn gen *pheS* với các đoạn mồi và theo các bước như ở mục 2.2.1.2.

Kết quả điện di sản phẩm PCR đã thu được một băng khoảng 450 bp (Hình 2) tương ứng với kích thước của đoạn gen *pheS* [24].

3.1.2.2. Giải trình tự ADN của chủng *Pediococcus* sp. DH6.4 và xác định loài

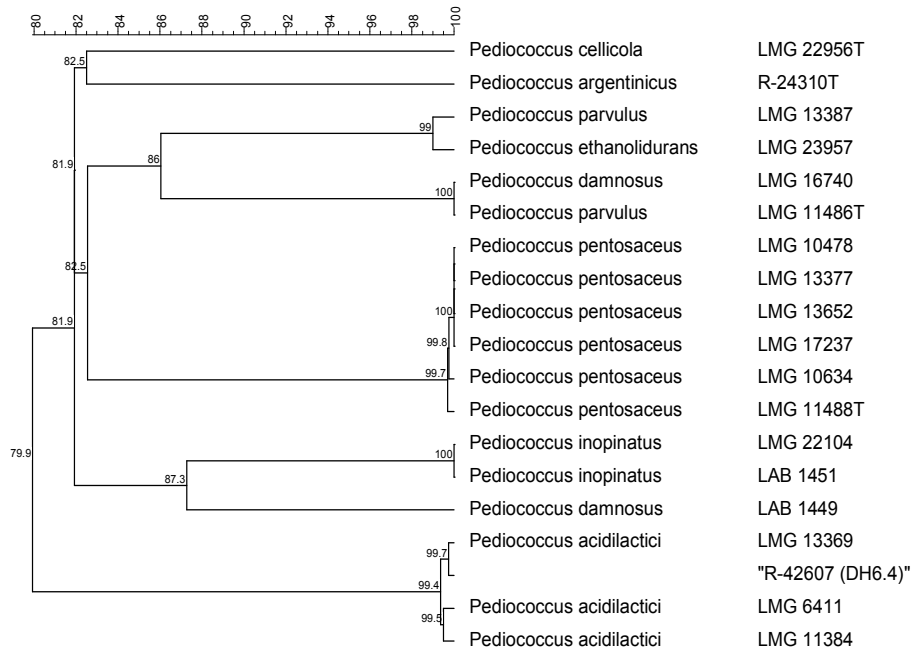
Sản phẩm PCR có kích thước đúng như kích thước của đoạn gen *pheS* sẽ được tinh sạch, chạy PCR với mồi *pheS* 21F và mồi *pheS* 21R tách biệt và sử dụng chương trình nhiệt như đã miêu tả trong mục 2.2.1.2. Trình tự gen *pheS* của vi khuẩn DH6.4 được xác định (Hình 3) so sánh với ngân hàng trình tự nucleotit quốc tế National center for biotechnology information chủng này có mối quan hệ gần nhất với loài *Pediococcus acidilactici* (Bảng 2).

GCAGGATACTTTTACCTTACTGACGAAGTCTTAATGCGTTCGCAAACCTTCTCCAGTACAAGCCCCG
GACAATGGAAGCATGACTTTAGTAAGGGACCGCTAAAAATGATTTCTCCAGGCGTGGTTTACCG
GCGGGATACGGACGATGCAACTCATTCGCATCAATTCCACCAAATCGAAGGATTGGTAATTGATAA
AAACATTACCATGGGTGATTTGAAGGGGACATTGATTACGATGGCAAAGGAACTATTTGGCGATCG
TTTTGAAGTTCGCCTGCGTCCTAGTTACTTTCCATTACCGAACCATCGGTAGAAGCAGACGTAAC
GTGCTTTAACTGCATGGGCAAGGGTTGTTTCAGTTTGCAAAAATACCGGTTGGATTGAAGTGCTC

Hình 3. Trình tự nucleotide *pheS* gen của chủng DH6.4

Bảng 2. Định danh loài của chủng DH6.4 nhờ so sánh với ngân hàng trình tự nucleotide (National center for biotechnology information)

Chủng	Loài có mối quan hệ gần nhất	% ID	Accession numbers
	<i>Pediococcus acidilactici</i>	100	CP035151.1
DH6.4	<i>Pediococcus acidilactici</i>	99,75	CP035154.1
	<i>Pediococcus acidilactici</i>	99,75	CP021529.1
	<i>Pediococcus acidilactici</i>	99,49	CP033438.1



Hình 4. Cây phát sinh chủng loài của *Pediococcus* sp. DH6.4 so sánh trình tự gen *pheS* trong ngân hàng gen BCCM/LMG

Kết quả ở bảng 2 tương đồng với kết quả ở hình 4 khi so sánh trình tự gen *pheS* của chủng DH6.4 với các chủng trong ngân hàng gen BCCM/LMG của Đại học Ghent (Bỉ). Cụ thể, chủng có trình tự tương đồng là 99,7% với LMG13369 và 99,4% với LMG6411 và LMG11384 thuộc loài *Pediococcus acidilactici*. Như vậy, chủng DH6.4 được định danh loài *Pediococcus acidilactici*. *Pediococcus* thuộc nhóm vi khuẩn lactic an toàn hay được coi là probiotic [25]. Có nhiều chủng thuộc chi *Pediococcus* tạo ra protein gọi là pediocin và được coi là chất kháng khuẩn hiệu quả [5], [25]. Trong *Pediococcus* có loài *P. acidilactici* hay được sử dụng trong quá trình lên men các sản phẩm có nguồn gốc từ thực vật và động vật như rau bắp cải muối chua, thịt lên men... [26], [27].

3.1.3. Khả năng tổng hợp bacteriocin của *Pediococcus acidilactici* DH6.4

3.1.3.1. Đánh giá khả năng kháng một số vi khuẩn kiểm định

P. acidilactici DH6.4 được kiểm tra khả năng kháng khuẩn với 4 vi khuẩn kiểm định là *Lactobacillus plantarum*, *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes* và *Salmonella typhimurium*. Kết quả cho thấy, chủng này có khả năng đối kháng được với cả 4 chủng vi khuẩn kiểm định với đường kính vòng kháng khuẩn từ 11,41 - 17,30 mm, đặc biệt kháng với vi khuẩn gây ngộ độc thực phẩm *B. cereus* 16,32 mm và *S. typhimurium* 15,09 mm *L. monocytogenes* 11,41 (Bảng 3 và hình 5).

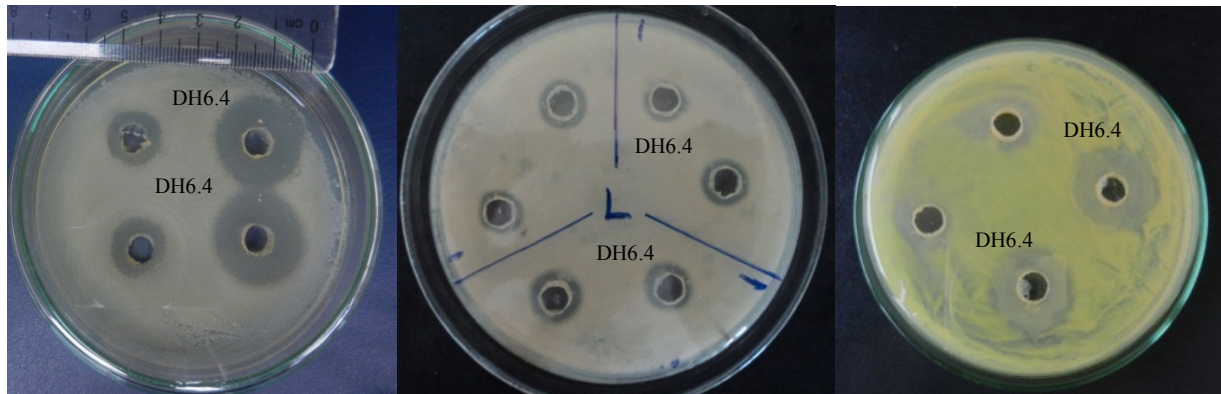
Kết quả ở bảng 3 phù hợp với kết quả nghiên cứu của Qiao và cs (2022), theo đó *P. acidilactici* CCFM18 có khả năng kháng *Listeria*

monocytogenes 12,0 mm. Hoạt tính kháng khuẩn của pediocin từ chủng này chống lại *L. monocytogenes* có trong thịt bò, xúc xích và các sản phẩm thịt, cũng như trong các sản phẩm từ sữa [28]. Theo Holland và cs (2011), bacteriocin của *P. acidilactici* có phổ hoạt động rộng chống lại các chủng thuộc chi *Lactobacillus*, *Leuconostoc*,

Micrococcus, *Enterococcus*, *Staphylococcus*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Lactococcus*, *Propionibacteria* và *Listeria* [23]. Nghiên cứu của Võ Ngọc Chi và cs (2021) cho thấy, *Pediococcus pentosaceus* được phân lập từ nem chua Thủ Đức có khả năng kháng *B. cereus* 16,07 mm và *S. typhimurium* là 12,80 mm [10].

Bảng 3. Khả năng kháng một số vi khuẩn kiểm định của chủng *P. acidilactici* DH6.4

Vi khuẩn	<i>Lactobacillus plantarum</i> JCM 1149	<i>Bacillus cereus</i> ATCC 11778	<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 35152	<i>Samonella typhimurium</i> ATCC 13076
Đường kính vòng kháng khuẩn (mm)	17,30 ± 0,31	16,32 ± 0,25	11,41 ± 0,20	15,09 ± 0,28



a. *Bacillus cereus*

b. *Listeria monocytogenes*

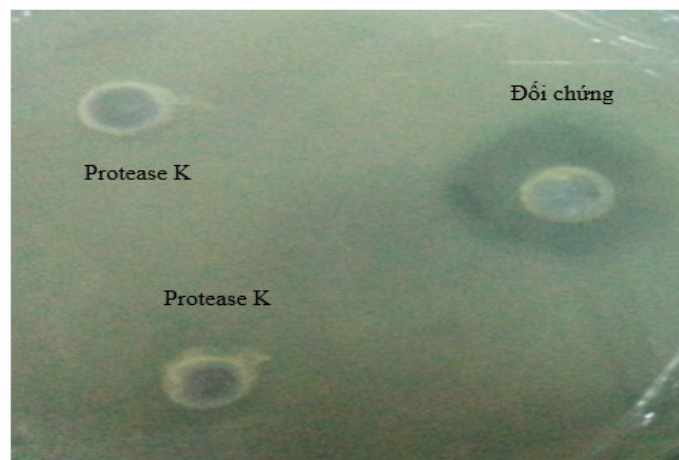
c. *Salmonella typhimurium*

Hình 5. Kháng một số vi khuẩn gây ngộ độc thực phẩm của chủng *P. acidilactici* DH6.4

3.1.3.2. Nhận biết bacteriocin

Do bản chất bacteriocin là peptide hay protein [1] sẽ chịu tác động của enzyme phân hủy protein nên để khẳng định chủng DH4.6 sinh bacteriocin

thí nghiệm được tiến hành như mô tả ở mục 2.2.3. Đối chứng (ĐC) là chỉ có dịch nuôi cấy chủng DH6.4 không bổ sung enzyme.



Hình 6. Ảnh hưởng protease K đến chất kháng khuẩn của *P. acidilactici* DH6.4

Kết quả cho thấy, các mẫu sau khi ủ với protease K đều bị mất hoạt tính kháng khuẩn với chủng vi khuẩn kiểm định, trong khi đó, mẫu đối chứng không bổ sung enzyme vẫn xuất hiện vòng kháng khuẩn (Hình 6).

Theo Anastasiadou và cs (2008), chất kháng khuẩn sinh ra bởi *Pediococcus acidilactici* NRRL B5627 có bản chất là protein nên khi xử lý với protease K thì bị mất hoạt tính kháng khuẩn hoàn toàn [29]. Nghiên cứu của Marwa và cs (2015) cho thấy, chất kháng khuẩn được sinh ra bởi chủng *Lactobacillus acidophilus* DSM 20079 có bản chất là protein [18]. Do đó, khi chất kháng khuẩn này được xử lý với protease K đã bị mất hoàn toàn hoạt tính kháng khuẩn với *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* và *Escherichia coli*. Như vậy, chất

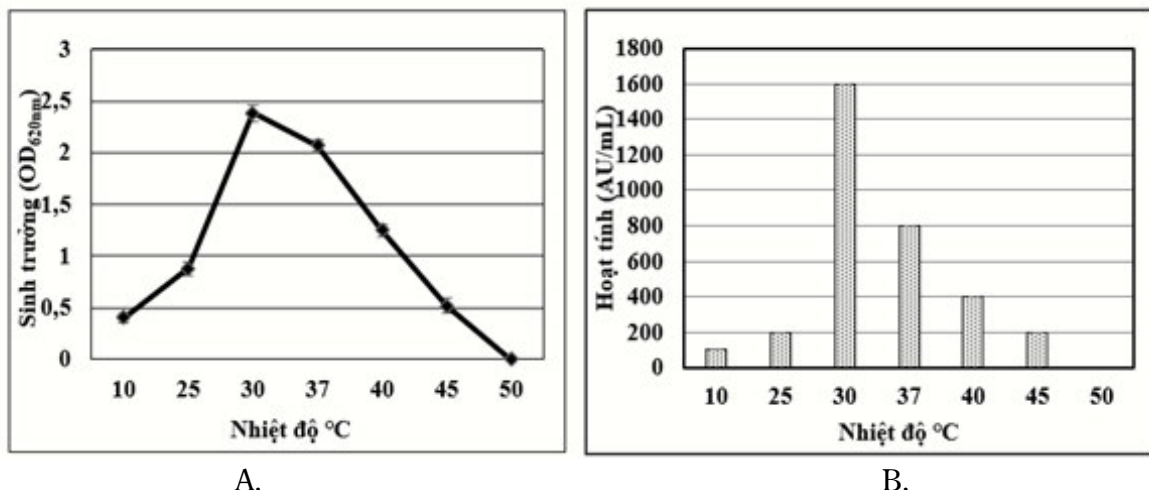
kháng khuẩn được sinh ra bởi chủng DH 6.4 có bản chất là protein và có thể là bacteriocin.

3.2. Ảnh hưởng của một số yếu tố đến khả năng sinh trưởng và sinh tổng hợp bacteriocin của *P. acidilactici* DH6.4

Khả năng sinh bacteriocin của *Pediococcus* spp chịu ảnh hưởng mạnh của điều kiện nuôi cấy như nhiệt độ, pH và thành phần môi trường [7], [30]. Chính vì vậy, nghiên cứu này bước đầu đánh giá ảnh hưởng của nhiệt độ và pH ban đầu đến sự khả năng sinh trưởng và sinh tổng hợp bacteriocin của chủng *P. acidilactici* DH6.4

3.2.1. Ảnh hưởng của nhiệt độ nuôi cấy

Kết quả cho thấy, khả năng sinh trưởng và sinh tổng hợp bacteriocin của chủng *P. acidilactici* DH6.4 chịu ảnh hưởng khá nhiều của nhiệt độ.



Hình 7. Ảnh hưởng của nhiệt độ nuôi cấy đến khả năng sinh trưởng (A) và sinh tổng hợp bacteriocin (B) của chủng *P. acidilactici* DH6.4

Chủng có khả năng sinh trưởng, phát triển từ dải nhiệt độ 10 - 45°C. Ở 50°C, chủng DH6.4 không có khả năng sinh trưởng và sinh bacteriocin. Tại nhiệt độ 10°C, chủng vẫn sinh trưởng và sinh bacteriocin, tuy nhiên khả năng sinh trưởng và sinh bacteriocin rất yếu (OD=0,40, AU=100).

Khả năng sinh trưởng của chủng DH6.4 đạt cực đại ở 30°C (OD=2,38), cũng ở nhiệt độ này, khả năng sinh bacteriocin là cực đại (AU/mL=1600). Như vậy, nhiệt độ tối ưu cho sinh trưởng và sinh tổng hợp bacteriocin của chủng DH6.4 là 30°C được dùng cho nghiên cứu tiếp theo. Một số nghiên cứu đã chỉ ra nhiệt độ tối ưu cho sản sinh pediocin AcH từ *P. acidilactici* H là

30°C [31], pediocin SA1 từ chủng *P. acidilactici* NRRL B5627 cũng ở 30°C [29], pediocin từ *P. pentosaceus* ACCEL ở nhiệt độ 37°C [32]. Tuy nhiên, theo Papagianni và Anastasiadou (2009), nhiệt độ tối ưu cho sự sinh trưởng của *P. acidilactici* phân lập từ sữa và thực vật lên men có thể lên tới 40°C [5].

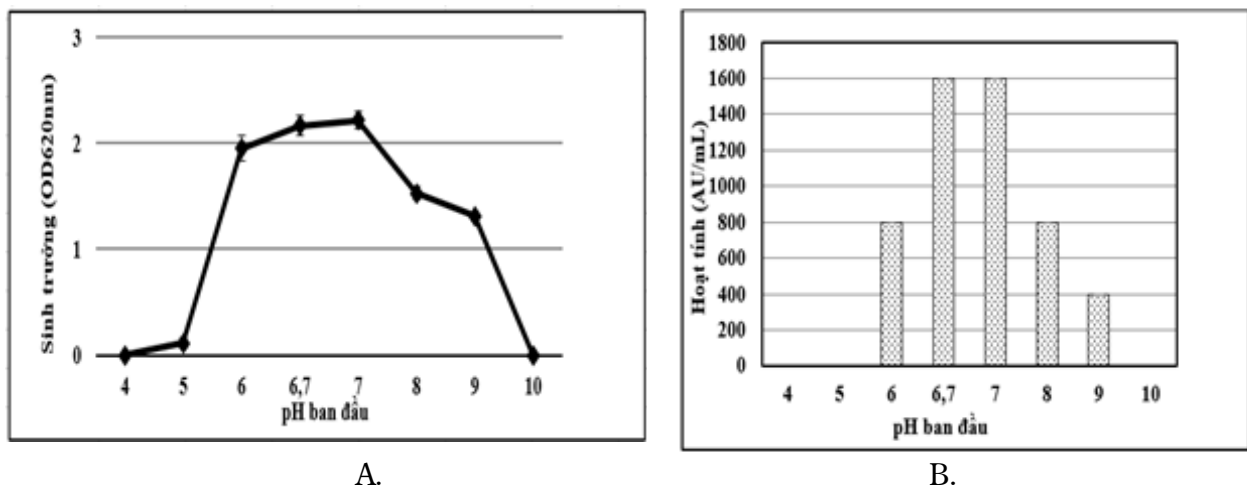
3.2.2. Ảnh hưởng của pH ban đầu môi trường nuôi cấy

Việc sản sinh bacteriocin của chủng cũng chịu ảnh hưởng lớn bởi pH ban đầu môi trường nuôi cấy (pH_{bd}), vì pH ảnh hưởng đến sự tiêu thụ chất dinh dưỡng và đến sự sinh trưởng của các chủng sinh bacteriocin [33], [34]. Theo Guerra và Pastrana

(2002), việc sản sinh bacteriocin thường liên quan đến sự tăng trưởng của các chủng, nên các điều kiện tối ưu hóa quá trình sinh trưởng sẽ tối ưu hóa việc sản xuất bacteriocin [35].

Kết quả chủng DH6.4 ở $pH_{bd} = 4$ hoặc $pH_{bd} = 10$ không phát triển, $pH_{bd} = 5$ chủng phát triển yếu, không tổng hợp bacteriocin ($OD = 0,17$, $AU = 0$). Khoảng pH_{bd} thích hợp cho sinh trưởng và tổng hợp bacteriocin của chủng DH6.4 từ 6,7 ($OD = 2,34$, $AU = 1600$) đến 7 ($OD = 2,39$, $AU = 1.600$). Khả năng sinh trưởng và tổng hợp bacteriocin của chủng DH6.4 đạt cực đại tại pH_{bd} bằng 7. Ở $pH_{bd} = 9$, chủng sinh trưởng yếu nhưng vẫn sinh bacteriocin ($OD = 1,2$, $AU = 400$). Vì vậy, pH_{bd} môi

trường nuôi cấy bằng 7 là pH thích hợp cho chủng DH6.4. Đây cũng là dải pH thích hợp cho một số chủng vi khuẩn lactic sinh bacteriocin, kết quả này phù hợp với kết quả nghiên cứu của Biswas và cs (1991), theo đó hoạt tính bacteriocin pediocin cao nhất của chủng *P. acidilactici* H ở pH ban đầu là 6,5 [36]. Nghiên cứu của Nel và cs (2001) cho thấy, hoạt tính bacteriocin cao nhất của chủng *P. damnosus* NCFB 1832 đạt được pH 6,7, trong đó hoạt tính thấp nhất pH ban đầu là 4,5 [37]. Theo Mandal và cs (2008), pediocin NV5 được sinh ra từ chủng *P. acidilactici* LAB có mức bacteriocin tối ưu đạt được khi pH ban đầu là $6,6 \pm 0,2$ [19].



Hình 8. Ảnh hưởng của pH_{bd} đến khả năng sinh trưởng (A) và sinh tổng hợp bacteriocin (B) của chủng *P. acidilactici* DH6.4

4. KẾT LUẬN

Chủng vi khuẩn *Pediococcus* sp. DH6.4 đã thể hiện khả năng sinh chất kháng khuẩn bacteriocin kháng mạnh *Lactobacillus plantarum*, *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella typhimurium* với đường kính vòng kháng khuẩn từ 11,41 - 17,30 mm. Với một số đặc điểm hình thái tế bào, khuẩn lạc, đặc điểm sinh hóa và phân tích trình tự gen *pheS* cho thấy, chủng này thuộc loài *Pediococcus acidilactici*. Bên cạnh đó, nghiên cứu cũng xác định điều kiện nuôi cấy thích hợp để chủng *Pediococcus acidilactici* DH6.4 sinh bacteriocin tốt nhất là $30^{\circ}C$, pH 7.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Yang S. C., Lin C. H., Sung C. T., Fang J. Y (2014). Antibacterial activities of bacteriocins: application in foods and pharmaceuticals. *Frontiers in Microbiology*. 5: 241.
2. Abbasiliasi S., Tan J. S., Ibrahim T. A. T., Bashokouh F., Ramakrishnan N. R., Mustafaab S., Ariff A. B (2017). Fermentation factors influencing the production of bacteriocins by lactic acid bacteria: a review. *RSC Advances*. 7: 29395 - 29420.
3. Hernández - González J. C., Martínez - Tapia A., Lazcano-Hernández G., García - Pérez B. E., Castrejón - Jiménez N. S (2021). Bacteriocins from lactic acid bacteria. A powerful alternative as antimicrobials, probiotics, and immunomodulators in veterinary medicine. *Animals*. 11 (4): 979.
4. Simons A., Alhanout K., Duval R. E (2020). Bacteriocins, antimicrobial peptides from bacterial

origin: Overview of their biology and their impact against multidrug - resistant bacteria. *Microorganisms*. 8 (5): 639.

5. Papagianni, M., Anastasiadou, S (2009). Pediocins: The bacteriocins of *Pediococci*. Sources, production, properties and applications. *Microbial Cell Factories*. 8 (3): 1 - 16.

6. Eun-Ji Y., Ae-Jung K (2023). Antimicrobial and antibiofilm effect of bacteriocin-producing *Pediococcus inopinatus* K35 isolated from kimchi against multidrug - resistant *Pseudomonas aeruginosa*. *Antibiotics*. 12: 676.

7. Rubén A. P., Elisa A. G., Ana T. A., Nelson P. G. (2014). A Review on some important factors affecting bacteriocin production by *Lactococci*, *Lactobacilli* and *Pediococci*. *Current Biochemical Engineering*. 1: 9 - 24.

8. Alvarez-Sieiro P., Montalbán-López M., Mu D., Kuipers O. P (2012). Bacteriocins of lactic acid bacteria: extending the family. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 31: 881 - 888.

9. Yang E., Fan L., Yan J., Jiang Y., Doecette C., Fillmore S., Walker B (2018). Influence of culture media, pH and temperature on growth and bacteriocin production of bacteriocinogenic lactic acid bacteria. *AMB Express*. 8: 10 - 24.

10. Võ Ngọc Chi, Nguyễn Thị Phương, Nguyễn Thị Ánh Tuyết, Đinh Anh Khoa, Phan Bích Tuyền, Hoàng Diễm Hằng, Lê Thị Thủy và Kha Chấn Tuyền (2021). Khảo sát khả năng sinh bacteriocin của vi khuẩn lactic phân lập trên nem chua Thủ Đức. *Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển*. 20 (2): 62 - 68.

11. Thiwanya C., Bhagavathi S. S., Sasithorn S., Sartjin P., Yvan C., Hanitra R., Thomas H., Chaiyavat C (2020). Screening and identification of bacteriocin-like inhibitory substances producing lactic acid bacteria from fermented products. *Food Sci. Technol, Campinas*. 40 (3): 571 - 579.

12. Nguyễn Thị Lâm Đoàn và Nguyễn Thị Thanh Thủy (2018). Đánh giá đặc tính probiotic và xác định một số đặc điểm của các chủng vi khuẩn lactic phân lập từ ruột gà ri. *Tạp chí Khoa học Công nghệ Nông nghiệp Việt Nam*. Số 7 (92): 104 - 111.

13. Nguyễn Lâm Dũng, Nguyễn Đình Quyền, Phạm Văn Ty (1997). *Vi Sinh vật học*. Nxb Giáo dục, Hà Nội.

14. Nguyen T. L. D., Van H. K., Cnockaert M., De B. E., Maarten A., Le T. B., Vandamme P. (2013). A culture-dependent and -independent approach for the identification of lactic acid bacteria associated with the production of nem chua, a Vietnamese fermented meat product. *Journal of Food Research International*, 50: 232 - 240.

15. Gevers D., Huys G., Swings J. (2001). Applicability of rep-PCR fingerprinting for identification of *Lactobacillus* species. *FEMS Microbiology Letters*, 205 (1): 31 - 36.

16. De Bruyne K., Franz C. M. A. P., Vancanneyt M., Schillinger U., Mozzi F., Valdez G. F. D., De Vuyst L. and Vandamme P (2008). *Pediococcus argentinicus* sp. nov. from Argentinean fermented wheat flour and identification of *Pediococcus* species by *pheS*, *rpoA* and *atpA* sequence analysis. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 58 (12): 2909 - 2916.

17. Hernandez D., Cardell E., Zarate V. (2005). Antimicrobial activity of lactic acid bacteria isolated from Tenerife cheese: initial characterization of plantaricin TF711, a bacteriocin-like substance produced by *Lactobacillus plantarum* TF711. *Journal of Applied Microbiology*, 99: 77 - 84.

18. Marwa A. S., Hamdi M. A, Ekbal M. I. A., Adham M. A. & Sobhy A. El. S (2015). Effect of pH, heat treatments and proteinase K enzyme on the activity of *Lactobacillus acidophilus* bacteriocin. *Benha Veterinary Medical Journal*, 28(1): 210 - 215.

19. Mandal. V., Sen. S. K., Mandal, N. C (2008). Optimized culture conditions for bacteriocin production by *Pediococcus acidilactici* LAB 5 and its characterization. *Indian J. Biochem. Biophys*, 45: 106 - 110.

20. Hoa Thị Minh Tú, Nguyễn Thị Đà, Lê Thanh Bình (2009). Đặc điểm sinh học của chủng

vi khuẩn lactic sinh tổng hợp bacteriocin. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ*, 47 (5): 7 - 25.

21. Hashium A. J., Hamza S. J., Aldujaili N. H (2010). Antimicrobial activity of bacteriocin produced by *Weissella cibaria* NRIC0136. *Al-Kufa Journal for Biology*, 2 (1): 1 - 10.

22. Đồng Thị Hoàng Anh, Nguyễn Quang Huy, Nguyễn Quỳnh Uyên (2017). Khảo sát một số đặc điểm của bacteriocin ở chủng vi khuẩn *Lactobacillus plantarum* UL487 phân lập từ mẫu chao của Huế. *Tạp chí Khoa học, Đại học Quốc gia Hà Nội: Khoa học Tự nhiên và Công nghệ*, 33 (1S): 1 - 6.

23. Holland R., Crow V., Curry B (2011). Lactic acid bacterial. *Pediococcus* spp. Elsevier Ltd: (4): 149 - 152.

24. Naser S. M., Thompson F. L., Hoste B., Gevers D., Dawyndt P., Vancanneyt M., Swings J (2005). Application of multilocus sequence analysis (MLSA) for rapid identification of *Enterococcus* species based on *rpoA* and *pheS* genes. *Microbiology*, 151: 2141 - 2150.

25. Porto, M. C., Kuniyoshi, T. M., Azevedo, P. O., Vitolo, M., Oliveira, R. P (2017). *Pediococcus* spp.: An important genus of lactic acid bacteria and pediocin producers. *Biotechnol. Adv* 35 (3): 361 - 374.

26. Sire J. M., Donnio P. Y., Mesnard R., Pouëdras P., Avril J. L (1992). Septicemia and hepatic abscess caused by *Pediococcus acidilactici*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 11: 623 - 625.

27. Widodo W., Hanna R. P. K., Hevi.W., Anggi L. W (2023). Milk fermented with *Pediococcus acidilactici* strain BE improves high blood glucose levels and pancreatic beta - cell function in diabetic Rats. *Food Science of Animal Resources*, 43 (1): 170 - 183.

28. Qiao. Y., Zhichang. Q., Fengwei T., Leilei Y., Jianxin Z., Hao Z., Qixiao Z., Wei C. (2022). Effect of bacteriocin - producing *Pediococcus acidilactici* strains on the immune system and intestinal flora of normal mice. *Food Science and Human Wellness*, 11: 238 - 246.

29. Anastasiadou. S., Maria . P., George. F., Ioannis. A., Pavlos K (2008). Pediocin SA-1, an antimicrobial peptide from *Pediococcus acidilactici* NRRL B5627: Production conditions, purification and characterization. *Bioresource Technology*, 99: 5384 - 5390.

30. García-Toledo. J. A., Torrestiana-Sánchez. B., Martínez-Sánchez. C. E., Tejero-Andrade. J. M., García-Bórquez. A., Mendoza-García. P. G. (2019). Nanoencapsulation of a bacteriocin from *Pediococcus acidilactici* ITV26 by microfluidization. *Food and Bioprocess Technology*, 12: 88 - 97.

31. Ray B (1995). *Pediococcus* in fermented foods. In *Food Biotechnology: Microorganisms*. Wiley-VCH, USA: 745 - 795.

32. Wu C. W., Yin L. J., Jiang S. T (2004). Purification and characterization of bacteriocin from *Pediococcus pentosaceus* ACCEL. *J Agr Food Chem*, 52: 1146 - 1151.

33. Cabo M. L., Murado M. A., González M. P. and Pastoriza L. (2001). Effects of aeration and pH gradient on nisin production. A mathematical model, *Enzyme Microb. Technol*, 29: 264 - 273.

34. Bibal B., Goma G., Vayssier Y., Pareilleux A. (1988). Influence of pH, lactose and lactic acid on the growth of *Streptococcus cremoris*: a kinetic study. *Appl. Microbiol. Biotechnol*, 28: 340 - 344.

35. Guerra N. P., Pastrana L. (2002). Modelling the influence of pH on the kinetics of both nisin and pediocin production and characterization of their functional properties. *Proc. Biochem* 37: 1005 - 1015.

36. Biswas S. R., Ray P., Johnson M. C. and Ray B. (1991). Influence of growth conditions on the production of a bacteriocin, pediocin AcH, by *Pediococcus acidilactici* H⁺. *Appl. Environ. Microbiol*, 57: 1265 - 1267.

37. Nel H. A., Bauer R., Vandamme E. J., Dicks L. M (2001). Growth optimization of *Pediococcus damnosus* NCFB 1832 and the influence of pH and nutrients on the production of pediocin PD-1. *J. Appl. Microbiol* 91: 1131 - 1138.

IDENTIFICATION RESEARCH *Pediococcus* sp. DH6.4 BACTERIOCIN BIOSYNTHESIS**Nguyen Thi Lam Doan¹, Dang Thao Yen Linh²**¹*Faculty of Environmental Sciences, University of Science,
Vietnam National University, Hanoi*²*Center for Advanced material and environmental technology,
National Center for technological progress.***Summary**

Bacteriocins are biosynthesized by lactic bacteria that are a safe antibacterial substance. They do not cause allergies and harm to human health. They can be applied in many different fields such as food technology, agriculture, health... Therefore, the research was conducted to identify some morphological, biochemical characteristics and analysed *pheS* gene sequencing of *Pediococcus* sp. DH6.4. The results have shown this strain belong to *Pediococcus acidilactici*. *Pediococcus acidilactici* DH6.4 has the ability to produce bacteriocin with strong antibacterial activity against *Lactobacillus plantarum*, *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella typhimurium* antibacterial ring diameters from 11.41 - 17.30 mm. Besides, this study identified the optimal temperature 30°C, pH_{bd} = 7 for the growth and maximal bacteriocin activity of *Pediococcus acidilactici* DH6.4. This strain or extracted bacteriocin compound have potential apply for preserving and processing food.

Keywords: *Pediococcus*, *bacteriocin*, *antibacterial activity*, *pheS* gene.**Người phản biện:** PGS.TS. Lê Thanh Bình**Ngày nhận bài:** 21/11/2023**Ngày thông qua phản biện:** 15/12/2023**Ngày duyệt đăng:** 22/12/2023

ẢNH HƯỞNG CỦA NHIỆT ĐỘ VÀ THỜI GIAN ĐẾN HIỆU QUẢ TRÍCH LY VÀ CHẤT LƯỢNG DẦU BƠ HASS (*Persea americana*)

Nguyễn Thanh Trúc¹, Huỳnh Thị Hoa¹,
Cao Thị Cẩm Tiên¹, Nguyễn Thị Thuỳ Dung¹, Nguyễn Thị Vân Linh¹ *

TÓM TẮT

Dầu bơ là một sản phẩm có giá trị dinh dưỡng và giá trị sử dụng cao nhưng hiện chưa được thương mại rộng rãi. Trong nghiên cứu này đã thực hiện khảo sát ảnh hưởng của quá trình trích ly dầu bơ bằng dung môi hexane. Thí nghiệm được quy hoạch toàn phần với hai nhân tố gồm thời gian và nhiệt độ trích ly với ba mức khảo sát. Các chỉ tiêu đánh giá bao gồm hiệu suất thu hồi chất béo, chỉ số AV và PV. Kết quả cho thấy, sự gia tăng nhiệt độ và thời gian trích ly sẽ làm tăng hiệu suất thu hồi chất béo và chỉ số AV, PV. Tuy nhiên, nhiệt độ trích ly quá cao sẽ làm giảm hiệu suất thu hồi và chỉ số PV. Điều kiện trích ly tối ưu được xác định ở khoảng nhiệt độ từ 64.102 - 66.426°C trong 30 phút sẽ thu được hồi được 91,247 - 91,465% chất béo với chỉ số AV, PV đạt yêu cầu chất lượng của dầu thương mại. Kết quả đã cho thấy, tiềm năng cao trong sản xuất thương mại dầu bơ.

Từ khóa: AV, dầu bơ, hexane, PV, trích ly.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Bơ được biết đến là loại trái cây có hàm lượng dinh dưỡng cao, chứa 30% chất béo, 4% protein, 4,8% carbohydrate và 1,4 - 3,0% chất xơ, đặc biệt chứa các hợp chất phytochemical quan trọng với hàm lượng cao như carotenoids, chlorophyll, polyphenol, tocopherols và phytosterol. Ngoài ra, bơ còn là nguồn cung cấp các dưỡng chất khác như vitamin C và kali [1]. Một trong những đặc điểm nổi bật của loại trái cây này là có hàm lượng lipid cực kì cao (10 - 30%). Thành phần béo trong trái bơ có chứa hàm lượng lớn axit béo không bão hòa đơn (MUFA) với 71% MUFA, 13% axit béo không bão hòa đa (PUFA) và 16% axit béo bão hòa (SFA) [2]. Dầu trái bơ còn giữ lại được hầu hết các chất phytochemical và carotenoids có trong trái cây. Nó cũng chứa β -sitosterol, lecithin, chứa 20 loại khoáng chất và vitamin cần thiết [3]. Chúng mang lại nhiều hoạt tính chống oxy hóa mạnh, giúp giảm các bệnh như thoái hóa hoàng điểm tuổi già, chất diệp lục góp phần giảm nguy cơ mắc bệnh ung

thư... [4]. Theo Woof và cs (2009) [4], dầu bơ thô có điểm bốc khói cao ($\geq 250^\circ\text{C}$) phù hợp chế biến các món chiên, áp chảo, nướng và quay. Hương vị của dầu bơ thô có thể thay đổi từ hương cỏ đến vị giống nấm hoặc hạt dẻ giúp phù hợp để chế biến hoặc cùng salad, nước sốt. Việc bổ sung chất béo tốt vào bữa ăn hàng ngày giúp cơ thể hấp thụ tốt carotenoids (α -caroten, β -caroten và lutein), đồng thời giúp ích được rất nhiều cho sức khỏe, sắc đẹp. Mặc dù có giá trị cao nhưng việc thương mại sản phẩm dầu bơ hiện vẫn chưa phổ biến. Các công trình nghiên cứu liên quan đến thu nhận và sản xuất dầu bơ vẫn còn hạn chế. Trên thế giới cũng áp dụng đa dạng nhiều phương pháp khác nhau để thu nhận dầu bơ như sử dụng lực ly tâm và có hỗ trợ enzyme trong quá trình thu nhận dầu bơ, trích ly bằng dung môi hexane hoặc bằng chất lỏng siêu tới hạn,... hiệu suất thu nhận đạt đáng kể nhưng vẫn còn nhiều khó khăn trong nâng cấp quy mô thực hiện. Tại Việt Nam, nghiên cứu của Thái Văn Đức và cs (2016) [5] đã chỉ ra sản xuất dầu bơ thô bằng phương pháp trích ly với hexane thu được hiệu suất cao nhất, đạt 30% nhưng thời gian thực hiện mất 4 giờ 34 phút. Gần đây, nghiên cứu của Nguyễn Thị Trúc Loan và cs (2023) [6] đã tiến

¹ Trường Đại học Nguyễn Tất Thành

* Email: ntvlinh@ntt.edu.vn

hành đánh giá thành phần hoá học và khả năng thu nhận dầu bơ từ quả bơ sáp da xanh bằng phương pháp sấy kết hợp ép lạnh. Đối với sản phẩm giàu giá trị dinh dưỡng như bơ với thời gian chế biến kéo dài có nguy cơ cao trong việc giảm chất lượng sinh học của sản phẩm.

Thời gian gần đây, bột bơ đã được sản xuất thành công bằng cách áp dụng những đổi mới trong kỹ thuật sấy để giữ lại chất lượng dinh dưỡng và cảm quan cao ở sản phẩm [7], [8]. Điều này mở ra tiềm năng trong việc thu nhận sản phẩm dầu bơ thô chất lượng tốt hơn. Vì vậy, mục đích của nghiên cứu này là sử dụng bột bơ Hass sản xuất từ puree bơ Hass sấy ở nhiệt độ cao làm vật liệu nghiên cứu. Các thông số quan trọng của quá trình trích ly bằng dung môi hexane như nhiệt độ và thời gian được khảo sát để chọn lựa ở điều kiện tốt nhất trong sản xuất dầu bơ Hass.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu

Bơ Hass (*Persea americana*) được sử dụng trong nghiên cứu này được trồng và thu hoạch tại tỉnh Lâm Đồng. Bơ tiếp nhận có màu sắc vỏ xanh đậm hoặc tím tía, không bị dập nát hay hư hỏng. Sau khi tiếp nhận sẽ tiếp tục quá trình ủ chín tự nhiên. Sau 4 - 5 ngày ủ, bơ đạt độ chín phù hợp đưa vào nghiên cứu, giai đoạn này thịt bơ có cấu trúc mềm, phần vỏ và hạt dễ dàng tách khỏi phần thịt bơ. Mỗi năm, bơ Hass chỉ có một mùa thu hoạch từ tháng 9 đến tháng 12. Trong giai đoạn này, bơ được vận chuyển về phòng nghiên cứu để xử lý và trữ đông. Bơ chín được lột vỏ, bỏ hạt, cắt lát mỏng 2 mm và ngâm trong dung dịch NaHCO_3 5% trong 30 phút. Tiếp đó sẽ rửa lại và chần hơi trong 5 phút. Sau quá trình chần thịt bơ sẽ được làm lạnh nhanh và nghiền thu puree. Toàn bộ puree được trộn để đảm bảo sự đồng nhất của nguyên liệu ban đầu, sau đó puree bơ được đóng gói vào túi nhựa với mỗi túi 100 g và trữ đông ở -18°C . Để thu bột bơ, puree sẽ được rã đông và trải trên lớp nhựa mỏng. Tác nhân gia nhiệt là nước nóng ở 90°C , nhiệt từ nước nóng sẽ truyền qua lớp nhựa, tại đây xảy ra quá trình dẫn nhiệt và phát xạ nhiệt để truyền nhiệt cho lớp puree bơ, tạo động lực cho quá trình bốc hơi nước. Quá trình sấy dừng

lại khi sản phẩm có độ ẩm đạt $\leq 5\%$. Các mảnh bơ sấy khô được nghiền thu bột bơ để sử dụng trong nghiên cứu.

2.2. Hóa chất

Hóa chất chính dùng trong nghiên cứu gồm: Hexane (độ tinh khiết trên 99,7%), diethyl ether (độ tinh khiết trên 99,0%), ethanol (độ tinh khiết trên 99,5%), chloroform (độ tinh khiết trên 99,0%), natri thiosulfate pentahydrate (độ tinh khiết trên 96,0%), natri hydrogencarbonate (độ tinh khiết trên 99,5%), acetone (độ tinh khiết trên 99,5%), axit acetic (độ tinh khiết trên 99,5%), kali iodide (độ tinh khiết trên 99,0%) có nguồn gốc Trung Quốc và nước cất đạt chuẩn phân tích.

2.3. Quy hoạch thực nghiệm

Ở nghiên cứu này, thí nghiệm được quy hoạch toàn phần, 2 nhân tố gồm nhiệt độ trích ly và thời gian trích ly với 3 mức khảo sát được trình bày ở bảng 1. Việc sử dụng phương pháp bố trí thí nghiệm này là để đánh giá ảnh hưởng của từng nhân tố và sự tương tác giữa các nhân tố khảo sát với nhau. Trong đó nhiệt độ thấp (-1) là 30°C , trung bình (0) là 50°C và mức cao (1) là 70°C và nhân tố thời gian với mức thấp (-1) là 30 phút, trung bình (0) là 120 phút và mức cao là 210 phút. Các thí nghiệm được tiến hành lặp 3 lần. Bột bơ (10 g) được trích ly với tỉ lệ 1: 30 (g/mL). Sau đó, đem mẫu đi tách dung môi và thu hồi chất béo thô. Dầu bơ thô sẽ đem đi phân tích các chỉ tiêu AV, PV và xác định hiệu suất thu hồi.

Bảng 1. Quy hoạch thực nghiệm của nghiên cứu ảnh hưởng các nhân tố đến các phương pháp trích ly chất béo từ quả bơ với các biến mã hóa

Thí nghiệm	Nhiệt độ ($^\circ\text{C}$)	Thời gian
1	-1	-1
2	-1	0
3	-1	1
4	0	-1
5	0	0
6	0	1
7	1	-1
8	1	0
9	1	1

2.4. Phương pháp phân tích các chỉ tiêu

Xác định hàm lượng béo tổng:

Hàm lượng béo tổng được xác định theo phương pháp chiết soxhlet theo TCVN 10730:2015 [9].

Xác định độ ẩm:

Độ ẩm được xác định bằng phương pháp sấy đến khối lượng không đổi theo AOAC 934.01 [10].

Xác định hiệu suất thu hồi chất béo:

Hiệu suất thu hồi chất béo của dầu bơ Hass (H, %) được xác định như sau:

$$H(\%) = \frac{\text{Khối lượng béo đã thu nhận (g)}}{\text{Khối lượng béo tổng trước khi trích ly (g)}} \quad (1)$$

Xác định chỉ số acid của dầu bơ (AV):

Chỉ số acid (AV) có trong dầu được xác định dựa trên TCVN 6127:2010 [11] với một số thay đổi. Hòa tan mẫu dầu bơ bằng 10ml hỗn hợp diethyl ether/ethanol theo tỷ lệ 1: 1 để hoà tan chất béo. Chuẩn độ hỗn hợp bằng dung dịch KOH 0,01 N trong rượu với 5 giọt chỉ thị phenolphthalein cho đến khi dung dịch có màu hồng bền trong 30 giây. Chỉ số AV được tính theo công thức sau:

$$AV = \frac{56.1 \times C \times V}{m} \quad (2)$$

Trong đó: C là nồng độ của dung dịch chuẩn KOH đã sử dụng (N); V là thể tích của dung dịch chuẩn KOH đã sử dụng (mL); m là khối lượng mẫu phân tích (g).

Xác định chỉ số peroxide (PV)

Chỉ số peroxide (PV) trong dầu được xác định dựa trên TCVN 6121:2018 [12] với một số thay đổi. Hòa tan mẫu bằng 15 mL hỗn hợp axit acetic: chloroform (tỷ lệ 2: 1). Sau đó thêm vào 1 mL KI bão hòa và lắc mạnh. Để yên dung dịch 5 phút rồi thêm 15 ml nước và vài giọt dung dịch hồ tinh bột 1%, lắc mạnh. Tiến hành chuẩn độ dung dịch mẫu bằng dung dịch chuẩn natri thiosulfate 0,002 N cho đến khi mất màu tím đặc trưng của iodine. Tiến hành đồng thời mẫu đối chứng, thay chất béo bằng nước cất. Chỉ số PV được tính theo công thức sau:

$$PV = \frac{(V_1 - V_0) \times T}{m} \times 100 \quad (3)$$

Trong đó: V_0 là thể tích dung dịch natri thiosulfat dùng để chuẩn độ mẫu đối chứng (mL); V_1 là thể tích dung dịch natri thiosulfat dùng để chuẩn độ mẫu phân tích (mL); T là nồng độ của dung dịch natri thiosulfat đã sử dụng (N); m là khối lượng của mẫu phân tích (g).

2.5. Xử lý số liệu

Dữ liệu thực nghiệm được phân tích hồi quy tuyến tính bằng phần mềm Design-Expert phiên bản 13.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Chất lượng bột bơ Hass trong nghiên cứu

Chất lượng bột bơ Hass trong nghiên cứu được trình bày ở bảng 2.

Bảng 2. Chất lượng bột bơ Hass nghiên cứu

Chỉ tiêu	Hàm lượng	Hình ảnh
Độ ẩm của bột (%)	$3,41 \pm 0,22$	
Hàm lượng béo tổng (%)	$70,70 \pm 0,67$	

Kết quả cho thấy, bột bơ có độ ẩm đạt yêu cầu đối với sản phẩm bột. Hàm lượng béo tổng trong bột bơ Hass của nghiên cứu nằm trong khoảng hàm lượng béo tổng trong bơ đã công bố từ 60 - 70% [13]. Hiệu suất thu hồi chất béo trong nghiên cứu này sẽ được tính toán dựa trên thành phần béo tổng đã xác định của bột bơ Hass.

3.2. Ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian trích ly đến hiệu suất thu hồi chất béo

Kết quả phân tích ảnh hưởng của nhiệt độ trích ly và thời gian trích ly đến hiệu suất thu hồi chất béo bơ Hass được trình bày ở hình 1.

Phương trình hồi quy tuyến tính thể hiện mối tương quan giữa hiệu suất thu hồi chất béo với các nhân tố khảo sát cũng được xác định như sau:

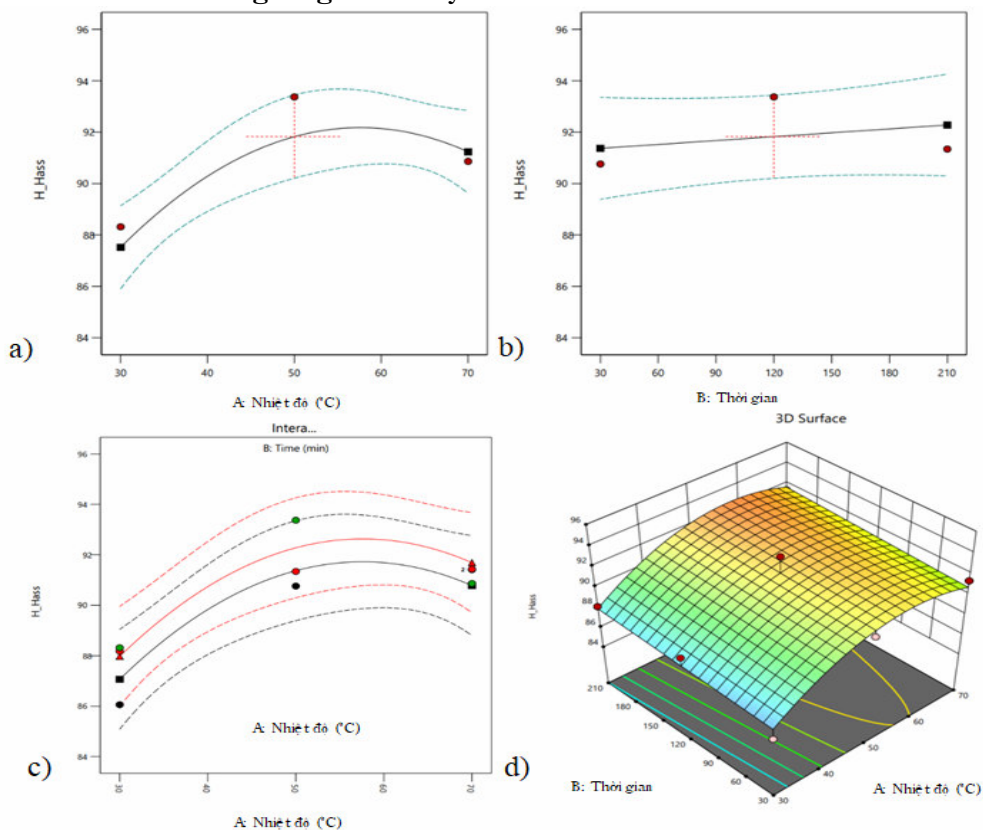
$$H(\%) = 71,28 + 0,70 \times A + 0,05 \times B - 0,006 \times A^2 \quad (4)$$

Trong đó: H (%) là hiệu suất thu hồi chất béo, A là nhiệt độ trích ly (°C), B là thời gian trích ly (phút).

Trong nghiên cứu này, khi nhiệt độ tăng thì hiệu suất thu hồi chất béo cũng có xu hướng tăng theo. Nhiều nghiên cứu đã đồng thuận rằng quá trình trích ly ở nhiệt độ cao sẽ tăng hiệu suất thu hồi [14], [15], [16]. Việc tăng nhiệt độ sẽ làm cho cấu trúc tế bào bị phá vỡ, nhiệt độ càng cao sẽ làm giảm đi độ nhớt của dung môi, giúp dung môi dễ dàng xâm nhập vào các tế bào, phá vỡ cấu trúc từ đó giải phóng các chất cần thu nhận [17]. Đối với ảnh hưởng yếu tố thời gian, khi tăng thời gian từ 30 - 210 phút thì H của dầu bơ cũng tăng theo. Tuy

nhien, kết quả cho thấy đối với thành phần béo, mức độ ảnh hưởng của nhiệt độ trích ly lớn hơn rõ rệt so với thời gian trích ly. Sự tương tác giữa hai yếu tố này cũng không lớn.

Kết quả nghiên cứu cũng chỉ ra rằng, hiệu suất thu hồi đạt được từ 88 đến hơn 90%. Kết quả này cũng cao hơn so với những nghiên cứu khác trích ly chất béo sử dụng môi hexan trên dầu Virginia (43,38%), dầu Valencia (34,81%) [18], chất béo quả óc chó (62,3%), dầu ô liu (86 - 87%) [19]. Có thể do đặc điểm của cấu trúc nguyên liệu nghiên cứu và điều kiện xử lý sẽ cho ra hiệu suất trích ly dầu khác nhau.



Hình 1. Ảnh hưởng của nhiệt độ (a), thời gian (b), sự tương tác giữa nhiệt độ và thời gian (c) đến hiệu suất thu hồi chất béo và biểu đồ bề mặt đáp ứng của hiệu suất thu hồi chất béo (d) trong trích ly béo bơ Hass

3.3. Ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian trích ly chỉ số AV

Chỉ số AV là tiêu chuẩn để đánh giá chất lượng của dầu thực vật thông qua chỉ số mg KOH dùng để trung hòa các axit béo tự do của dầu thực vật. Khi chỉ số tăng lên chứng tỏ chất béo đã bị phân hủy, điều này cho biết chỉ số càng cao thì

chất lượng dầu thực vật càng thấp. Theo quy định của Tiêu chuẩn Quốc gia TCVN 6127:2010 [11], chỉ số AV cần ≤ 2 mg KOH/g mới được xem là sản phẩm thương mại. Kết quả phân tích ảnh hưởng của nhiệt độ trích ly và thời gian trích ly béo bằng hexane đến chỉ số AV của chất béo bơ Hass được thể hiện ở hình 2.

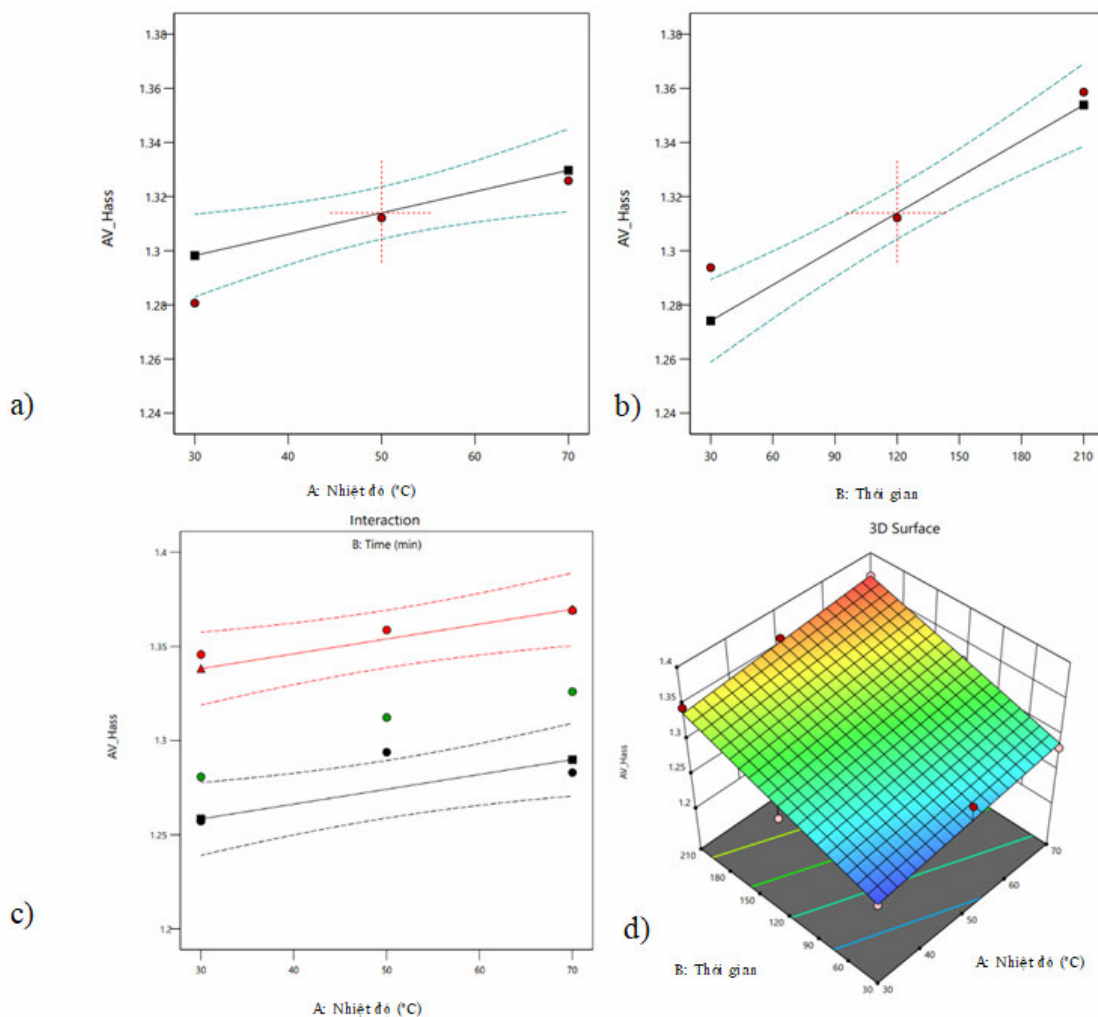
Phương trình hồi quy tuyến tính thể hiện mối quan hệ giữa chỉ số AV với các nhân tố khảo sát được xác định như sau:

$$AV(\text{mgKOH/g}) = 1,22 + 0,0008 \times A + 0,0004 \times B \quad (5)$$

Trong đó: AV (mgKOH/g) là chỉ số axit của chất béo, A là nhiệt độ trích ly (°C), B là thời gian trích ly (phút).

Kết quả cho thấy, khi tăng nhiệt độ và thời gian trích ly sẽ làm tăng chỉ số AV và sự tương tác

giữa hai yếu tố này là không ý nghĩa ($p > 0,05$). Nguyên nhân có thể do ở nhiệt độ càng cao trong thời gian dài đã làm gia tăng sự thủy phân ở chất béo dẫn đến sự gia tăng chỉ số axit béo tự do. Tuy nhiên, kết quả cũng cho thấy sự thay đổi trong giá trị AV không quá lớn ở các điều kiện khảo sát và đều dưới ngưỡng quy định chất lượng cho phép của tiêu chuẩn Việt Nam và quốc tế về dầu thương mại ($\leq 2 \text{ mg KOH/g}$).



Hình 2. Ảnh hưởng của nhiệt độ (a), thời gian (b), sự tương tác giữa nhiệt độ và thời gian (c) đến chỉ số AV và biểu đồ bề mặt đáp ứng của chỉ số AV (d) trong trích ly béo bơ Hass

3.4. Ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian trích ly chỉ số PV

Chỉ số PV là tiêu chuẩn để đo lượng oxy liên kết với dầu dưới các peroxide. Peroxide là sản phẩm oxy hóa được hình thành từ dầu bị tiếp xúc với oxy và tạo ra mùi ôi thiu. Theo quy định của Tiêu chuẩn Quốc gia TCVN 6121:2018 [12], chỉ số

PV của dầu tinh luyện tối đa 10 meq/kg và dầu nguyên chất là 15 meq/kg. Kết quả phân tích ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian trích ly đến chỉ số PV của chất béo bơ Hass được thể hiện ở hình 3.

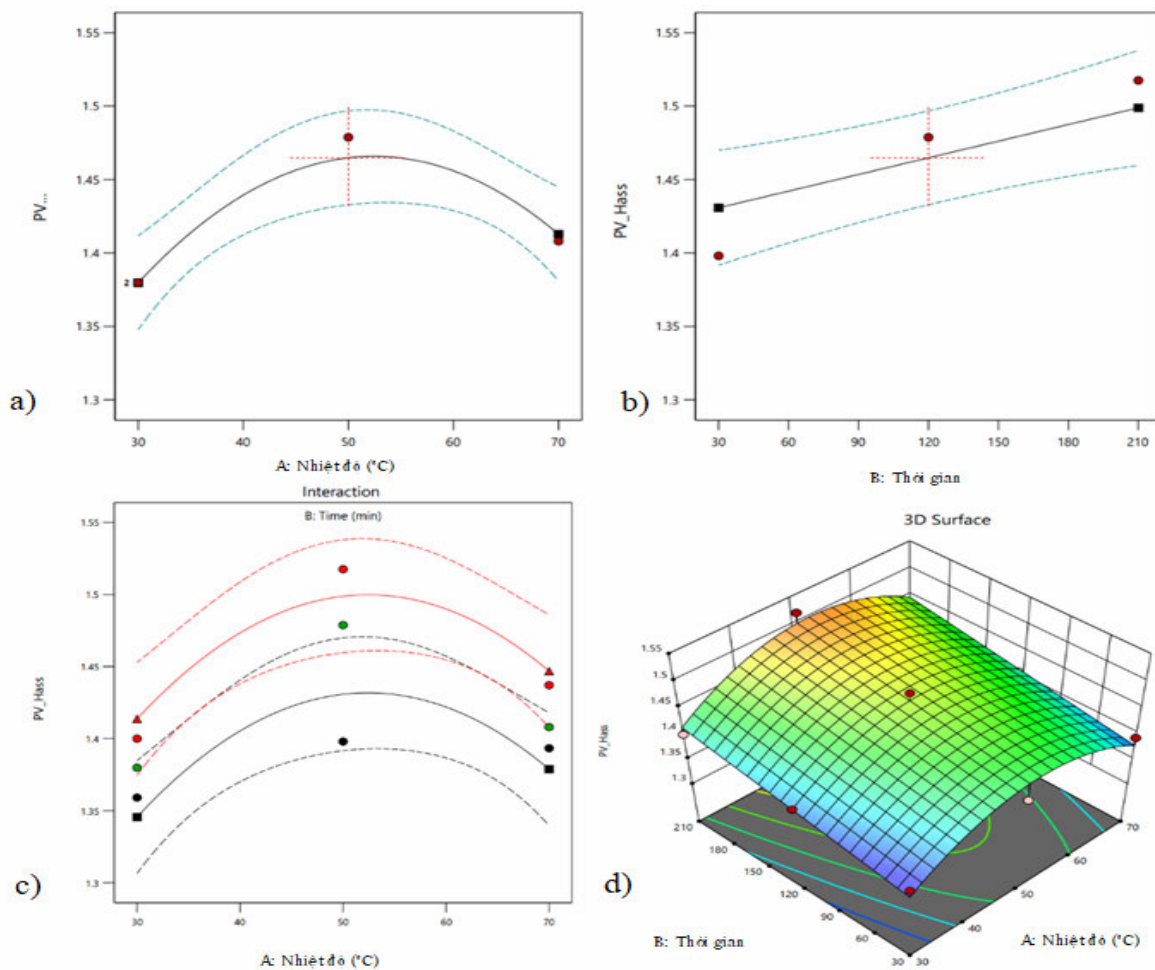
Phương trình hồi quy tuyến tính thể hiện mối quan hệ giữa chỉ số PV với các nhân tố khảo sát cũng được xác định như sau:

$$PV(\text{meq/kg}) = 0,95 + 0,018 \times A + 0,0004 \times B - 0,0002 \times A^2 \quad (6)$$

Trong đó: PV (meq/kg) là chỉ số peroxide của chất béo, A là nhiệt độ trích ly (°C), B là thời gian trích ly (phút).

Peroxide và hydroperoxide là những sản phẩm chính của quá trình oxy hoá chất béo. Kết quả cho thấy, chỉ số PV thu được trong nghiên cứu giao động từ 1,3 - 1,5 meq/g. Kết quả cho thấy, chất lượng dầu thô thu được tương đối ổn định. Kết quả cũng chỉ ra rằng nhiệt độ và thời gian trích ly ảnh hưởng lớn đến sự thay đổi của chỉ số PV, trong khi đó sự tương tác giữa hai yếu tố này không ý nghĩa. Thời gian trích ly ảnh hưởng ý nghĩa đến sự thay

đổi của chỉ số PV, cụ thể thời gian trích ly càng lâu chỉ số PV sẽ càng tăng. Bên cạnh đó, nhiệt độ càng cao thì chỉ số PV càng tăng, tuy nhiên nếu nhiệt độ quá cao lại làm giảm chỉ số PV. Nguyên nhân có thể do phân huỷ của các hợp chất hydroperoxide trong quá trình oxy hoá thứ cấp của chất béo hình thành các sản phẩm như aldehyde, ketone, axit hữu cơ mạch ngắn,... Mặc dù chỉ số PV giảm nhưng những sản phẩm oxy hoá thứ cấp này vẫn góp phần gây ra sự ôi hoá chất béo.



Hình 3. Ảnh hưởng của nhiệt độ (a), thời gian (b), sự tương tác giữa nhiệt độ và thời gian (c) đến chỉ số PV và biểu đồ bề mặt đáp ứng của chỉ số PV (d) trong trích ly béo bơ Hass

3.5. Điều kiện tối ưu của quá trình trích ly béo bơ từ bột bơ Hass

Quá trình tối ưu đa mục tiêu được ứng dụng để tìm ra thông số về thời gian và nhiệt độ trích ly với điều kiện thu hồi được lượng béo cao nhất

cùng với chỉ số AV và PV thấp nhất. Nguyên tắc tìm lời giải là sử dụng một hàm tổ hợp là hàm mong muốn $D(x)$. Lời giải số có giá trị $D(x)$ càng cao sẽ được lựa chọn. Những lời giải số có kết quả giá trị $D(x)$ tốt nhất được thể hiện ở bảng 3.

Bảng 3. Các giá trị tối ưu trong trích ly chất béo từ bột bơ Hass

STT	Nhiệt độ (°C)	Thời gian (phút)	H (%)	AV (mg KOH/g)	PV (meq/kg)	D(x)
1	65,133	30	91,376	1,286	1,404	0,728
2	64,886	30	91,399	1,286	1,405	0,728
3	65,442	30	91,347	1,286	1,403	0,728
4	64,589	30	91,425	1,286	1,406	0,728
5	64,439	30,002	91,438	1,285	1,407	0,728
6	64,276	30,001	91,451	1,285	1,408	0,728
7	64,102	30,001	91,465	1,285	1,408	0,728
8	66,426	30	91,247	1,287	1,398	0,728
9	67	30	91,183	1,287	1,395	0,727
10	61,278	30	91,641	1,283	1,418	0,725
11	47	30	91,037	1,272	1,427	0,694

Kết quả ở bảng 3 cho thấy, có 8 lời giải số có cùng giá trị cao nhất D(x) là 0,728. Theo đó, để đạt được mục tiêu đề ra về hàm lượng béo thu được cao nhất cùng với chỉ số AV và PV thấp nhất thì nhiệt độ trích ly dao động trong khoảng 64,102 - 66,426°C và thời gian trích ly là 30 - 30,002 phút. Tương ứng, giá trị dự đoán của hiệu suất thu hồi đạt khoảng 91,247 - 91,465% và chỉ số AV khoảng 1,285 - 1,287 mgKOH/g và PV là 1,398 - 1,408 meq/kg.

4. KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã xác định được sự ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian trích ly bằng dung môi hexane có hỗ trợ nhiệt lên hiệu suất thu hồi và chất lượng dầu bơ Hass. Thời gian càng lâu thì hiệu suất thu hồi càng lớn, nhưng chỉ số AV và PV cũng càng cao. Nhiệt độ trích ly được đánh giá có mức ảnh hưởng lớn hơn so với thời gian. Tương tự như thời gian, ở nhiệt độ trích ly càng cao thì hiệu suất thu hồi càng lớn và chỉ số AV, PV càng cao. Tuy nhiên, nếu nhiệt độ quá cao sẽ làm giảm hiệu suất thu hồi và chỉ số PV. Điều kiện trích ly tối ưu đã được xác định là trong khoảng nhiệt độ từ

64,102 - 66,426°C và thời gian trích ly là 30 - 30,002 phút. Tại điều kiện này dự báo hiệu suất thu hồi đạt 91,247 - 91,465% các chỉ số AV và PV lần lượt là 1,285 - 1,287 mg KOH/g và 1,398 - 1,408 meq/kg. Với kết quả thu được đã cung cấp được cơ sở dữ liệu thực nghiệm trong phát triển quy trình sản xuất dầu bơ thương mại.

LỜI CẢM ƠN

Nhóm tác giả cảm ơn Trường Đại học Nguyễn Tất Thành đã hỗ trợ điều kiện cơ sở vật chất trong suốt quá trình nghiên cứu. Cảm ơn anh Tấn Huy đã hỗ trợ cung cấp nguồn nguyên liệu phục vụ trong suốt quá trình nghiên cứu.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. H. S. Lye, M. K. Ong, L. K. Teh, C. C. Chang and L. K. Wei (2020). Chapter 4 - Avocado, in *Valorization of fruit processing by-products*, C. M. Galanakis, Ed., Academic Press, pp. 67 - 93. doi: 10.1016/B978-0-12-817106-6.00004-6.
2. M. Dreher PhD and A. Davenport (2013). Hass Avocado Composition and Potential Health

effects. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, vol. 53, pp. 738 - 50, doi: 10.1080/10408398.2011.556759.

3. Ranade and Thiagarajan (2015). A review on *Persea Americana* Mill. (Avocado)-Its fruit and oil. *Int J PharmTech Res*, p. 6.

4. A. Woolf *et al.* (2009). Avocado Oil, in *Gourmet and Health-Promoting Specialty Oils*, Elsevier, pp. 73 - 125. doi: 10.1016/B978-1-893997-97-4.50008-5.

5. Thái Văn Đức, Phan Thị Khánh Vinh, Trần Thanh Giang (2016). Nghiên cứu sản xuất dầu thô từ trái bơ trồng tại Đắk Lắk. *Tạp chí Khoa học - Công nghệ Thủy sản*, trang 18 - 24.

6. Nguyễn Thị Trúc Loan, Nguyễn Tuấn Anh, Hồ Thị Nguyệt Hà (2023). Đánh giá thành phần hóa học và khả năng thu nhận dầu bơ từ quả bơ sếp da xanh bằng phương pháp sấy kết hợp ép lạnh. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ - Đại học Đà Nẵng*, trang 12 - 17.

7. T.-V.-L. Nguyen, Q.-D. Nguyen, T.-T.-D. Nguyen and P.-B.-D. Nguyen (2021). Effects of infrared drying conditions and maltodextrin addition on some physicochemical characteristics of Avocado (*Persea americana*) pulp powder. *Appl. Sci.*, vol. 11, no. 24, doi: 10.3390/app112411803.

8. T.-V.-L. Nguyen, T.-T.-D. Nguyen, Q.-T. Huynh and P.-B.-D. Nguyen (2023). Effect of maltodextrin on Drying Rate of Avocado (*Persea Americana* Mill.) Pulp by Refractance window technique, and on color and functional properties of powder. *Pol J Food Nutr Sci*, vol. 73, no. 2, pp. 187 - 195, doi: 10.31883/pjfn/163982.

9. Tiêu chuẩn Quốc gia TCVN 10730:2015. Sản phẩm cacao – Xác định hàm lượng chất béo - Phương pháp chiết Soxhlet được xây dựng trên cơ sở tham khảo AOAC 963.15.

10. AOAC (ASSOCIATION OF ANALYTICAL CHEMISTS) Official Method of Analysis (2006). Vacuum Oven.

11. Tiêu chuẩn Quốc gia TCVN 6127:2010 (ISO 660: 2009) về Dầu mỡ động vật và thực vật - Xác định trị số axit và độ axit.

12. Tiêu chuẩn Quốc gia TCVN 6121:2018 (ISO 3960: 2017) về dầu mỡ động vật và thực vật - xác định trị số peroxit - phương pháp xác định điểm kết thúc chuẩn độ iôt.

13. R. Pedreschi *et al.* (2019). Primary metabolism in avocado fruit. *Front. Plant Sci.*, vol. 10, p. 795.

14. Q.-A. Zhang, Z.-Q. Zhang, X.-F. Yue, X.-H. Fan, T. Li and S.-F. Chen (2009). Response surface optimization of ultrasound-assisted oil extraction from autoclaved almond powder. *Food Chem.*, vol. 116, no. 2, pp. 513 - 518.

15. A. Mustafa and C. Turner (2011). Pressurized liquid extraction as a green approach in food and herbal plants extraction: A review. *Anal. Chim. Acta*, vol. 703, no. 1, pp. 8 - 18.

16. T. Miron, M. Plaza, G. Bahrim, E. Ibáñez and M. Herrero (2011). Chemical composition of bioactive pressurized extracts of Romanian aromatic plants. *J. Chromatogr. A*, vol. 1218, no. 30, pp. 4918 - 4927.

17. A. A. Jovanović *et al.* (2017). Optimization of the extraction process of polyphenols from *Thymus serpyllum* L. herb using maceration, heat- and ultrasound-assisted techniques. *Sep. Purif. Technol.*, vol. 179, pp. 369 - 380.

18. C. I. Tuberoso, A. Kowalczyk, E. Sarritzu and P. Cabras (2007). Determination of antioxidant compounds and antioxidant activity in commercial oilseeds for food use. *Food Chem.*, vol. 103, no. 4, pp. 1494 - 1501.

19. A. O. Moreno, L. Dorantes, J. Galíndez, and R. I. Guzmán (2003). Effect of Different Extraction Methods on Fatty Acids, Volatile Compounds and Physical and Chemical Properties of Avocado (*Persea americana* Mill.) Oil. *J. Agric.*

Food Chem. vol. 51, no. 8, pp. 2216 - 2221, Apr. 2003, doi: 10.1021/jf0207934.

**EFFECTS OF TEMPERATURE AND TIME ON THE EXTRACTION EFFICIENCY AND
QUALITY OF OIL FROM HASS AVOCADO (*Persea americana*)**

Nguyen Thanh Truc¹, Huynh Thi Hoa¹,
Cao Thi Cam Tien¹, Nguyen Thi Thuy Dung¹, Nguyen Thi Van Linh¹

¹ *Nguyen Tat Thanh University*

Summary

Avocado oil has a high nutritional and useful value, but it is not extensively available on the market. In this study, the effects of extracting avocado oil with hexane solvent were investigated. The three-level full factorial designs with two variables, including time and extraction temperature was conducted. Among the criteria for evaluation were fat recovery efficiency, AV and PV index. Results indicated that increasing temperature and/or extraction time increased fat recovery efficiency as well as AV and PV index. However, an extraction temperature that was too high would decrease recovery efficiency and the PV index. At a temperature range of 64.102 to 66.426°C for 30 minutes, the optimal extraction conditions were determined to recover 91.247 – 91.465% of fat with AV and PV indices meeting the quality requirements of commercial oil. The results indicated a high potential for commercial avocado oil production.

Keywords: *AV, avocado oil, hexane, PV, extraction.*

Người phản biện: TS. Nguyễn Duy Tân

Ngày nhận bài: 30/10/2023

Ngày thông qua phản biện: 15/12/2023

Ngày duyệt đăng: 28/12/2023

NGHIÊN CỨU XÂY DỰNG QUY TRÌNH CHẾ BIẾN MỨT TỪ VỎ CHANH LEO

Nguyễn Văn Lợi^{1,*}, Lê Anh Tuấn¹, Nguyễn Thị Thanh Ngọc²

TÓM TẮT

Mứt là một loại thực phẩm ngọt được chế biến từ trái cây và một số loại củ nấu với đường và các nguyên liệu phụ khác cho đến độ khô từ 65 - 70%. Mứt vỏ chanh leo là sản phẩm được chế biến từ vỏ quả chanh leo với đường và một số phụ gia thực phẩm. Vỏ chanh leo có chứa nhiều pectin và các thành phần dinh dưỡng khác cũng là nguyên liệu quan trọng cho chế biến mứt. Mục đích của nghiên cứu này là xây dựng quy trình chế biến mứt từ vỏ chanh leo, thí nghiệm được bố trí theo 5 công thức và phân tích chỉ tiêu dinh dưỡng, vi sinh và cảm quan của sản phẩm mứt vỏ chanh leo ở 5 công thức. Từ đó, chọn được công thức CT-C (vỏ chanh leo 200 g, dịch chanh leo 30 ml, nước lọc 86 ml, nước cốt chanh 4 ml và đường trắng 45 g) để xây dựng quy trình chế biến sản phẩm mứt. Đồng thời, xác định được các thông số kỹ thuật của quy trình chế biến mứt vỏ chanh leo là gia nhiệt ở nhiệt độ 80°C với thời gian 90 phút, tỷ lệ nguyên liệu/thể tích thiết bị là 0,4 kg/l. Sản phẩm chế biến theo công thức trên có đường tổng số 45,12%, pectin 0,56%, vitamin C 8,35 mg/100 g, vitamin A 0,05 mg/100 g, protein tổng số 4,65%, canxi 812 mg/100 g, photpho 0,33 mg/100 g, kali 6.003 mg/100 g, natri 253 mg/100 g, có màu hồng nhạt, có các hạt đường bám đều trên bề mặt, mùi thơm đặc trưng hài hòa, vị ngọt hài hòa, trạng thái rắn, không bị ướt và cấu trúc giòn.

Từ khóa: Mứt, quy trình chế biến, thông số công nghệ, tỷ lệ phối trộn, vỏ chanh leo.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Mứt là một loại thực phẩm có vị ngọt được chế biến từ trái cây và một số loại củ nấu với đường và các nguyên liệu phụ khác cho đến độ khô từ 65 - 70% [1]. Mứt vỏ chanh leo là sản phẩm được chế biến từ vỏ quả chanh leo với đường và một số phụ gia thực phẩm. Trong vỏ quả chanh leo có chứa nhiều thành phần pectin và các chất dinh dưỡng khác, vì thế đây cũng là nguyên liệu được sử dụng nhiều trong chế biến mứt. Hiện nay, cây chanh leo được trồng ở nhiều địa phương trong cả nước, tính đến hết năm 2022 cả nước có 9,5 nghìn ha, năng suất bình quân từ 191 - 226 tạ/ha. Trong đó, tỉnh Cao Bằng có tổng diện tích cây chanh leo là 103 ha, sản lượng đạt 1.666,9 tấn, năng suất trung bình đạt 161,8 tạ/ha. Tập trung ở các huyện Quảng Hòa 64 ha, sản lượng đạt 1.049 tấn; Trùng Khánh 34 ha, sản lượng 543 tấn; Thạch An 5 ha, sản lượng đạt 75 tấn; phần còn lại trồng ở các huyện khác có điều kiện tự nhiên thuận lợi [2]. Chanh leo là loại quả

giàu giá trị dinh dưỡng như: Protein, đường, vitamin, chất khoáng, axit phenolic và flavonoid. Đặc biệt, trong quả chanh leo còn có nhiều axit amin như: Prolin, valin, tyrosin, treonin, leucin và arginin. Quả chanh leo có tác dụng phòng chống bệnh tim mạch, ung thư, giúp xương chắc khỏe, tăng sức đề kháng và khả năng miễn dịch, hỗ trợ phòng chống bệnh đái tháo đường, ổn định huyết áp, hỗ trợ chống lão hóa da, giúp ngủ ngon và hỗ trợ giảm cân [3, 4].

Ở Việt Nam nói chung và tỉnh Cao Bằng nói riêng, trong những năm gần đây quả chanh leo chủ yếu sử dụng để ép nước uống tươi mà chưa qua chế biến tinh sâu thành các sản phẩm hàng hóa có giá trị cao, các mặt hàng chế biến từ quả chanh leo với quy mô công nghiệp vẫn còn khiêm tốn, dẫn tới chưa chủ động được đầu ra một cách ổn định [2]. Đến thời điểm này trên thế giới và trong nước cũng đã có một số công trình nghiên cứu về chế biến quả chanh leo thành các sản phẩm thực phẩm ở quy mô công nghiệp. Vì vậy, để phát triển cây chanh leo một cách bền vững thì việc trồng trọt gắn với chế biến sâu là rất cần thiết, góp phần nâng cao giá trị sử dụng của loại quả này, khắc phục được tổn thất sau thu hoạch, hiện tượng

¹ Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội

² Trường Đại học Công nghệ Đông Á

*Email: nguyenvanloi@hus.edu.vn

đưa thừa vào thời điểm chính vụ thu hoạch và khắc phục được tình trạng dịch bệnh diễn biến phức tạp vào mùa thu hoạch quả chanh leo. Tuy nhiên, nhiều nước trên thế giới và ở nước ta hiện nay quả chanh leo mới chỉ được sử dụng phần ruột, còn phần vỏ chiếm khoảng 46,79% so với khối lượng quả [5], trong đó có nhiều thành phần dinh dưỡng như pectin 2 - 3%, nước 67,84 - 69,25%, alkaloid 0,04 - 0,07%, coumarin 0,02 - 0,04%, flavonoid 0,06 - 0,07%, tanin 0,09 - 0,12%, axit amin 1,8 - 2,2%, axit hữu cơ 1,4 - 1,6%, đường 4,6 - 4,9% và tinh dầu 0,6 - 0,8%... [2] vẫn chưa được quan tâm nghiên cứu và sử dụng một cách có hiệu quả; phần lớn sử dụng làm phân bón hoặc làm thức ăn chăn nuôi cho gia súc. Vì vậy, nghiên cứu xây dựng quy trình chế biến mứt từ vỏ chanh leo là rất cần thiết, có ý nghĩa khoa học và thực tiễn cao.

2. NGUYÊN VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên vật liệu và dụng cụ, máy móc và thiết bị

2.1.1. Nguyên liệu

Quả chanh leo được thu mua tại 3 trang trại trồng cây chanh leo của huyện Hà Quảng, Quảng Hòa và Thạch An của tỉnh Cao Bằng, ở thời điểm thu hoạch 80 ngày (kể từ khi đậu quả). Ở thời điểm này quả đã chuyển sang giai đoạn già hóa và chín, khối lượng quả là $84,3 \pm 1,5$ g, đường kính quả $5,91 \pm 0,18$ cm, chiều cao quả $6,53 \pm 0,14$ cm, độ cứng quả $6,57 \pm 0,23$ kg/cm², tỷ lệ ruột quả $44,45 \pm 0,12\%$, tỷ lệ hạt $8,76 \pm 0,07\%$ và tỷ lệ vỏ quả là $46,79 \pm 0,13\%$. Hàm lượng chất khô hòa tan $12,75^\circ\text{Bx}$, hàm lượng pectin 1,65%, hàm lượng axit hữu cơ tổng số 3,38 g/100 g, hàm lượng vitamin C 84,18 mg/100 g và hàm lượng vitamin A 63,72 mg/100 g [5]. Quả chanh leo phải tươi mới, đảm bảo nguyên vẹn, không bị tổn thương và không bị sâu, bệnh. Sau khi thu hái, quả chanh leo được chứa đựng trong thùng xốp đục lỗ và vận chuyển bằng ô tô đến phòng thí nghiệm để tiến hành chế biến.

2.1.2. Vật liệu

Các nguyên liệu phụ sử dụng trong nghiên cứu này bao gồm: Đường trắng (dạng tinh thể và hoà tan đều trong nước), dịch chanh leo (nguyên chất, màu vàng đặc trưng), nước cốt chanh

(nguyên chất và màu vàng nhạt) và nước lọc (đạt tiêu chuẩn nước uống)... Các nguyên liệu này đảm bảo các tiêu chuẩn chất lượng và an toàn thực phẩm, có nguồn gốc xuất xứ tại Việt Nam.

2.1.3. Dụng cụ, máy móc và thiết bị

Dụng cụ, máy móc và thiết bị sử dụng trong nghiên cứu này gồm: Chiết quang kế ATAGO N-1 α của Nhật Bản, tủ sấy nhãn hiệu 101-2A Hunan, cân đĩa Nhơn Hòa loại 5 kg, cân phân tích 4 số lẻ (ABT 220-5DNM) của hãng Kern- Đức... Ngoài ra, còn sử dụng một số dụng cụ như: Bếp từ điều chỉnh được nhiệt độ, xoong inox, kẹp inox, khay inox, đĩa inox, dao inox, thớt gỗ, ống đồng, ống nghiệm, bình định mức và nhiệt kế.

2.1.4. Địa điểm thực hiện

Thí nghiệm được thực hiện tại Phòng thí nghiệm thuộc Bộ môn Khoa học và Công nghệ thực phẩm, Khoa Môi trường, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội; Phòng thí nghiệm Khoa Công nghệ thực phẩm, Trường Đại học Nông Lâm Bắc Giang; Phòng thí nghiệm thuộc Viện Kiểm nghiệm và Kiểm định chất lượng VNTEST.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp lấy mẫu

Quả chanh leo được lấy mẫu theo TCVN 9017:2011. Quả tươi - Phương pháp lấy mẫu trên vườn sản xuất [6].

2.2.2. Phương pháp bố trí thí nghiệm

Dựa vào kết quả nghiên cứu thăm dò, đưa ra mô hình thí nghiệm như sau:

Thí nghiệm 1- Xác định tỷ lệ giữa nguyên liệu chính, nguyên liệu phụ và các phụ gia thực phẩm [7].

Để xác định tỷ lệ giữa nguyên liệu chính, nguyên liệu phụ và các phụ gia thực phẩm thích hợp cho chế biến mứt vỏ chanh leo, thí nghiệm được bố trí theo 5 công thức và được lặp lại 3 lần, nhiệt độ gia nhiệt là 80°C và thời gian gia nhiệt 90 phút. Thí nghiệm được tiến hành là vỏ quả chanh leo được sơ chế sạch sẽ, rửa sạch, cắt thái, chần, tẩm ướp đường và các phụ gia thực phẩm, gia nhiệt, sấy sơ bộ, tạo tinh thể đường trên bề mặt, sấy khô, bao gói và bảo quản. Các công thức thí

thực hiện được như sau:

TT	Tỷ lệ nguyên liệu	Các công thức thí nghiệm				
		CT-A	CT-B	CT-C	CT-D	CT-E
1	Vỏ chanh leo (g)	200	200	200	200	200
2	Dịch chanh leo (ml)	10	20	30	40	50
3	Nước lọc (ml)	90	88	86	84	82
4	Nước cốt chanh (ml)	0	2	4	6	8
5	Đường trắng (g)	35	40	45	50	55

Trong 5 công thức thí nghiệm, tiến hành phân tích xác định các chỉ tiêu dinh dưỡng, vi sinh vật và cảm quan. Sau đó lựa chọn công thức phù hợp nhất để xây dựng quy trình chế biến.

Thí nghiệm 2- Xác định ảnh hưởng của nhiệt độ gia nhiệt đến thời gian và chỉ tiêu cảm quan của sản phẩm.

Thí nghiệm được tiến hành gia nhiệt ở các dải nhiệt độ 70°C, 75°C, 80°C, 85°C và 90°C, thời gian gia nhiệt 90 phút và tỷ lệ các nguyên liệu thực hiện theo công thức CT-C. Điều kiện bảo quản thực hiện ở nhiệt độ phòng bình thường.

Thí nghiệm 3- Xác định ảnh hưởng của tỷ lệ nguyên liệu/thể tích thiết bị đến thời gian và giá trị cảm quan sản phẩm.

Từ các kết quả nghiên cứu thăm dò, đã tiến hành gia nhiệt mứt vỏ chanh leo với nhiệt độ gia nhiệt 80°C, thời gian gia nhiệt là 90 phút; công thức thí nghiệm là vỏ chanh leo 200 g, dịch chanh leo 30 ml, nước lọc 86 ml, nước cốt chanh 4 ml và đường trắng 45 g. Tỷ lệ nguyên liệu/thể tích của dụng cụ thiết bị được khảo sát ở các mức 0,2; 0,3; 0,4; 0,5 và 0,6 kg/l để tìm ra tỷ lệ thích hợp cho chế biến mứt vỏ chanh leo.

2.2.3. Phương pháp phân tích

2.2.3.1. Phương pháp phân tích các chỉ tiêu dinh dưỡng

- *Phương pháp xác định hàm lượng đường tổng số:* Hàm lượng đường tổng số của mứt vỏ chanh leo được xác định theo tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 4594:1988 [8]. Phương pháp này được tiến hành theo nguyên tắc chiết đường tổng số từ mẫu bằng nước nóng, dùng axit clohydric thủy phân thành đường glucose, lượng glucose được xác định

qua các phản ứng với dung dịch pheling, $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$, KMnO_4 .

- *Phương pháp xác định hàm lượng pectin:* Hàm lượng pectin của mứt vỏ chanh leo được xác định theo phương pháp canxi pectate. Phương pháp này thực hiện theo nguyên tắc trong môi trường kiềm loãng, pectin hòa tan sẽ giải phóng ra nhóm methoxyl thành rượu methylic và axit pectic tự do. Axit pectic tự do trong môi trường có mặt axit axetic sẽ kết hợp với CaCl_2 thành dạng muối kết tủa canxi pectate. Từ hàm lượng muối kết tủa tính được hàm lượng pectin có trong mẫu phân tích. Hóa chất sử dụng là dung dịch NaOH 0,1N, CH_3COOH 0,1N, CaCl_2 1N, AgNO_3 1%. Tiến hành lấy 20 ml dịch mẫu cho vào bình tam giác 250 ml, cho thêm 100 ml NaOH 0,1N, để hỗn hợp trong 7 giờ cho pectin bị xà phòng hóa hoàn toàn thành axit pectic. Sau đó, thêm vào 50 ml dung dịch axit axetic 0,1N và để yên 5 phút, thêm 50 ml NaCl 1 N để 1 giờ. Sau đó đun sôi 5 phút rồi lọc qua giấy lọc đã được sấy khô đến khối lượng không đổi, rửa kết tủa canxi pectate bằng nước cất nóng cho đến khi không còn ion Cl^- (thử nước rửa với dung dịch AgNO_3 1%). Sau khi rửa xong, đặt giấy lọc có kết tủa vào cốc, cân và sấy ở 105°C đến khối lượng không đổi [9, 10]. Hàm lượng pectin trong dịch quả được tính theo công thức sau:

$$X = \frac{m_1 \cdot 0,92}{V} \cdot 1000$$

Trong đó: X là hàm lượng pectin (g/l), m_1 là khối lượng cặn canxi pectate thu được (g), 0,92 là hệ số chuyển từ canxi pectate sang pectin, V là số ml dịch quả đã lấy mang đi phân tích.

- *Phương pháp xác định hàm lượng vitamin C:* Hàm lượng vitamin C của mứt vỏ chanh leo được

xác định theo TCVN 6427-2:1998 [11]. Phương pháp này được thực hiện theo nguyên tắc chiết axit ascorbic từ sản phẩm bằng dung dịch axit oxalic hoặc dung dịch axit metaphosphoric/axit axetic. Chuẩn độ bằng 2,6 diclorophenolindophenol cho đến khi xuất hiện màu hồng nhạt.

- *Phương pháp xác định hàm lượng vitamin A:* Hàm lượng vitamin A của mứt vỏ chanh leo được xác định theo TCVN 8972-1:2011 [12]. Phương pháp này được thực hiện theo nguyên tắc retinol được xà phòng hóa bằng dung dịch kali hydroxit trong etanol hoặc metanol và được chiết bằng dung môi thích hợp. Sau đó, được xác định bằng sắc ký lỏng hiệu năng cao có detector huỳnh quang hoặc detector tử ngoại. Các chất được nhận biết dựa vào thời gian lưu và được xác định bằng phương pháp ngoại chuẩn, dùng diện tích pic hoặc chiều cao pic.

- *Phương pháp xác định hàm lượng protein tổng số:* Hàm lượng protein tổng số của mứt vỏ chanh leo được xác định theo TCVN 9936:2013 [13].

- *Phương pháp xác định hàm lượng canxi, photpho, kali và natri:* Hàm lượng canxi, photpho, kali và natri của mứt vỏ chanh leo được xác định theo tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 10641 [14].

2.2.3.2. Phương pháp xác định chỉ tiêu vi sinh vật

- *Phương pháp xác định vi sinh vật tổng số:* Vi sinh vật tổng số được xác định theo TCVN 4884:2014 [15].

- *Phương pháp xác định tổng số nấm mốc:* Tổng số nấm mốc được xác định theo TCVN 8989:2012 [16].

2.2.3.3. Phương pháp xác định chỉ tiêu cảm quan

Chỉ tiêu cảm quan của mứt vỏ chanh leo được xác định theo TCVN 3215:1979 [17]. Hội đồng cảm quan gồm 30 người cho mỗi lần thử, những người này có độ tuổi khác nhau từ 18 - 40 tuổi, gồm cả nam và nữ để nhằm tìm ra sự hài lòng và ưa thích đối với các sản phẩm thực phẩm mứt vỏ chanh leo. Trạng thái và màu sắc, cấu trúc, mùi và vị của các sản phẩm được xác định theo thang điểm 5 gồm 6 bậc. Tổng điểm của các chỉ tiêu cảm

quan cao nhất là 20 điểm và thấp nhất là 0 điểm. Tính điểm trung bình của các thành viên hội đồng đối với từng chỉ tiêu cảm quan, tiếp theo nhân với hệ số quan trọng tương ứng của chỉ tiêu đó gọi là điểm có trọng lượng của từng chỉ tiêu, sau đó tính tổng số điểm có trọng lượng của tất cả các chỉ tiêu cảm quan được số điểm chung. Với loại tốt (18,6 - 20 điểm), loại khá (15,2 - 18,5), loại trung bình (11,2 - 15,1), loại kém (7,2 - 11,1), loại rất kém (4,0 - 7,2) và loại hỏng (0 - 3,9). Hệ số quan trọng được hội đồng thống nhất là: Hình thức bên ngoài và màu sắc (1,1), cấu trúc (0,7), mùi (0,9) và vị (1,3).

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Tỷ lệ giữa nguyên liệu chính, nguyên liệu phụ và phụ gia thực phẩm

Để có cơ sở khoa học cho việc xây dựng công thức và quy trình chế biến mứt vỏ chanh leo, thí nghiệm được thực hiện theo 5 công thức [7], sau đó phân tích đánh giá các chỉ tiêu dinh dưỡng, chỉ tiêu vi sinh và chỉ tiêu cảm quan của sản phẩm.

3.1.1. Chỉ tiêu dinh dưỡng của mứt vỏ chanh leo

Các chỉ tiêu dinh dưỡng của sản phẩm phụ thuộc rất nhiều vào thành phần dinh dưỡng của nguyên liệu, tỷ lệ giữa các nguyên liệu tham gia cấu thành sản phẩm. Kết quả xác định chỉ tiêu dinh dưỡng của mứt vỏ chanh leo được thể hiện ở bảng 1.

Bảng 1 cho thấy, trong 5 công thức thí nghiệm, hàm lượng đường tổng số, hàm lượng vitamin C, hàm lượng vitamin A, hàm lượng natri đều có xu hướng tăng dần từ công thức CT-A đến công thức CT-E, đặc biệt là hàm lượng đường tăng nhiều nhất. Sở dĩ có hiện tượng này là do hàm lượng đường và dịch chanh leo ở công thức CT-D và CT-E được sử dụng nhiều hơn các công thức CT-A, CT-B và CT-C. Tuy nhiên, khi bổ sung hàm lượng dịch chanh leo, đường từ bên ngoài vào nhiều sẽ làm cho sản phẩm quá ngọt, không thích hợp với khẩu vị của người ăn và làm tăng chi phí giá thành sản phẩm. Khi so sánh các thành phần dinh dưỡng như vitamin C, protein tổng số, canxi,

phốt pho, kali, natri trong 5 công thức thí nghiệm thì các thành phần dinh dưỡng này ở công thức CT-C, CT-D và CT-E đều cao hơn công thức CT-A và CT-B. Nhưng các thành phần dinh dưỡng này ở các công thức CT-C, CT-D và CT-E không có sự chênh lệch có ý nghĩa thống kê. Bảng 1 cũng cho thấy, hàm lượng pectin ở công thức CT-C cao nhất, chiếm 0,56%, sau đó đến công thức CT-E, chiếm 0,53%, công thức CT-D chiếm 0,51%, công thức CT-

B chiếm 0,47% và thấp nhất là công thức CT-A, chiếm 0,45%. Pectin có vai trò quan trọng trong việc tạo cấu trúc cho mứt và làm tăng giá trị cảm quan cho sản phẩm. Vì vậy, dựa vào các thành phần dinh dưỡng, hạn chế hiện tượng sản phẩm có độ ngọt đậm không thích hợp với thị hiếu người tiêu dùng và tiết kiệm chi phí trong quá trình chế biến, chọn công thức CT-C để thực hiện các nghiên cứu tiếp theo.

Bảng 1. Chỉ tiêu dinh dưỡng của mứt vỏ chanh leo

TT	Chỉ tiêu dinh dưỡng	Đơn vị	Kết quả phân tích				
			CT-A	CT-B	CT-C	CT-D	CT-E
1	Đường tổng số	%	36,77	44,6	45,12	49,53	50,06
2	Pectin	%	0,45	0,47	0,56	0,51	0,53
3	Vitamin C	mg/100 g	7,64	7,76	8,35	8,37	8,41
4	Vitamin A	mg/100 g	0,03	0,04	0,05	0,05	0,06
5	Protein tổng số	%	4,03	4,19	4,65	4,68	4,69
6	Canxi	mg/100 g	641	703	812	817	829
7	Phốt pho	mg/100 g	0,18	0,26	0,33	0,35	0,38
8	Kali	mg/100 g	5756	5879	6003	6018	6021
9	Natri	mg/100 g	242	246	253	259	263

3.1.2. Chỉ tiêu vi sinh vật của mứt vỏ chanh leo

Bên cạnh việc dựa vào các chỉ tiêu dinh dưỡng của sản phẩm, để xác định tỷ lệ giữa nguyên liệu chính, các nguyên liệu phụ và các phụ gia thực

phẩm cần phải xác định chỉ tiêu vi sinh vật của sản phẩm. Kết quả xác định chỉ tiêu vi sinh vật của mứt vỏ quả chanh leo được thể hiện ở bảng 2.

Bảng 2. Chỉ tiêu vi sinh vật của mứt vỏ chanh leo

TT	Chỉ tiêu vi sinh vật	Đơn vị	Kết quả phân tích				
			CT-A	CT-B	CT-C	CT-D	CT-E
1	Tổng số vi sinh vật hiếu khí	CFU/g	$1,5.10^2$	10	KPH	KPH	KPH
2	Tổng số nấm men - nấm mốc	CFU/g	KPH	KPH	KPH	KPH	KPH

Ghi chú: KPH- không phát hiện.

Kết quả ở bảng 2 cho thấy, trong 5 mẫu mứt vỏ quả chanh leo ở các công thức CT-A, CT-B, CT-C, CT-D và CT-E đều không phát hiện sự có mặt của nấm men, nấm mốc. Sở dĩ có hiện tượng này là do các mẫu mứt vỏ chanh leo được gia nhiệt ở nhiệt độ 80°C và thời gian gia nhiệt 90 phút, sấy khô ở nhiệt độ 55°C với thời gian 7,5 giờ, sau đó được bao gói kiến trong bao bì chuyên dụng bằng hộp nhựa PE, vì thế đã hạn chế được sự xâm nhập và phát triển của nấm men và nấm mốc. Đối với tổng số vi sinh vật hiếu khí, kết quả nghiên cứu cho thấy, mẫu mứt vỏ chanh leo ở công thức CT-A có tổng số vi sinh vật hiếu khí được phát hiện là $1,5.10^2$ CFU/g và mẫu mứt vỏ chanh leo ở công

thức CT-B có tổng số vi sinh vật hiếu khí được phát hiện là 10 CFU/g. Các mẫu mứt vỏ chanh leo ở các công thức CT-C, CT-D và CT-E đều không phát hiện sự có mặt của tổng số vi sinh vật hiếu khí. Điều đó cho thấy, khi bổ sung hàm lượng đường từ 45 - 55 g và nước cốt chanh từ 4 - 8 ml, tương ứng với các công thức CT-C, CT-D và CT-E ở phần bố trí thí nghiệm đã có tác dụng hiệu quả ngăn ngừa sự xâm nhập và phát triển của tổng số vi sinh vật hiếu khí. Vì thế, dựa vào chỉ tiêu vi sinh vật, hạn chế hiện tượng sản phẩm có độ ngọt đậm không thích hợp với thị hiếu người tiêu dùng và tiết kiệm chi phí trong quá trình chế biến, sử dụng

công thức CT-C để tiến hành các nghiên cứu tiếp theo.

3.1.3. Chỉ tiêu cảm quan của mứt vỏ chanh leo

Cảm quan là chỉ tiêu quan trọng để đánh giá chất lượng của sản phẩm, dựa vào chỉ tiêu cảm quan là tiêu chí đầu tiên mà người tiêu dùng có quyết định lựa chọn sản phẩm đó hay không. Vì

vậy, việc xác định chỉ tiêu cảm quan của mứt vỏ chanh leo là rất cần thiết, là cơ sở khoa học để lựa chọn công thức phù hợp cho việc xây dựng quy trình chế biến sản phẩm. Kết quả xác định chỉ tiêu cảm quan của mứt vỏ chanh leo được thể hiện ở bảng 3.

Bảng 3. Chỉ tiêu cảm quan của mứt vỏ quả chanh leo

Chỉ tiêu cảm quan	Điểm cảm quan				
	CT-A	CT-B	CT-C	CT-D	CT-E
Màu sắc	2,74 ± 0,03	2,91 ± 0,03	3,67 ± 0,02	3,64 ± 0,02	3,24 ± 0,03
	Màu vàng nhạt, hơi thâm	Màu vàng nhạt	Màu hồng nhạt có các hạt đường bám đều trên bề mặt	Màu hồng nhạt có các hạt đường bám dày đặc trên bề mặt	Màu hồng nhạt xen lẫn màu trắng có các hạt đường bám dày đặc trên bề mặt
Mùi	3,06 ± 0,01	3,17 ± 0,02	3,93 ± 0,03	3,89 ± 0,02	3,71 ± 0,03
	Mùi bình thường	Mùi thơm bình thường	Mùi thơm đặc trưng hài hòa	Mùi thơm xen lẫn mùi của đường	Mùi thơm xen lẫn mùi của đường
Vị	2,68 ± 0,01	3,15 ± 0,03	3,89 ± 0,04	3,84 ± 0,02	3,54 ± 0,02
	Vị ngọt nhẹ	Vị ngọt	Vị ngọt hài hòa	Vị ngọt đậm	Vị ngọt đậm và gắt
Trạng thái, cấu trúc	2,79 ± 0,03	2,93 ± 0,04	3,92 ± 0,03	3,86 ± 0,02	3,76 ± 0,04
	Trạng thái rắn, khô, cấu trúc dai	Trạng thái rắn, khô, cấu trúc dai	Trạng thái rắn, không bị ướt, cấu trúc giòn	Trạng thái rắn, nhưng hơi ướt, cấu trúc dai	Trạng thái rắn, ướt, cấu trúc dai
Tổng điểm	11,27 ± 0,02	12,16 ± 0,03	15,41 ± 0,03	15,23 ± 0,02	14,25 ± 0,03
Xếp loại	Trung bình	Trung bình	Khá	Khá	Trung bình

Bảng 3 cho thấy, mẫu mứt vỏ chanh leo ở công thức CT-A có màu vàng nhạt, hơi thâm, mùi bình thường, vị ngọt nhẹ, trạng thái rắn, khô, cấu trúc dai, tổng điểm cảm quan là 11,27 điểm và được xếp loại trung bình. Mẫu mứt vỏ chanh leo ở công thức CT-B có màu vàng nhạt, mùi thơm bình thường, vị ngọt, trạng thái rắn, khô, cấu trúc dai, tổng điểm cảm quan là 12,16 điểm và được xếp loại trung bình. Trong khi đó, mẫu mứt vỏ chanh leo ở công thức CT-C có màu hồng nhạt có các hạt đường bám đều trên bề mặt, mùi thơm đặc trưng hài hòa, vị ngọt hài hòa, trạng thái rắn, không bị ướt, cấu trúc giòn, tổng điểm cảm quan là 15,41 điểm và được xếp loại khá. Nhưng khi tăng hàm lượng đường lên 50 g và dịch chanh leo lên 40 ml ở

công thức CT-D, 55 g đường và 50 ml dịch chanh leo ở công thức CT-E thì có hiện tượng các hạt đường bám dày đặc trên bề mặt sản phẩm, sản phẩm bị ướt và cấu trúc dai, có mùi thơm xen lẫn mùi của đường và khi sấy thì mất nhiều thời gian hơn so với mẫu mứt ở công thức CT-C, nhưng sản phẩm vẫn có hiện tượng ướt. Khi bỏ ra ngoài môi trường tự nhiên không bao gói kín thì chảy nước nhanh chóng, nguyên nhân do hàm lượng đường cao, hút ẩm nhanh và gây ra chảy nước. Trong 5 mẫu mứt vỏ chanh leo thì có hai mẫu là mẫu mứt vỏ chanh leo ở công thức CT-C và CT-D đều được xếp loại khá. Các thành viên hội đồng cảm quan đều cho rằng, mẫu mứt vỏ chanh leo ở công thức CT-C có nhiều ưu điểm hơn, đó là màu hồng nhạt

có các hạt đường bám đều trên bề mặt, mùi thơm đặc trưng hài hòa, vị ngọt hài hòa, trạng thái rắn, không bị ướt và cấu trúc dòn. Do đó, dựa chỉ tiêu cảm quan, hạn chế hiện tượng sản phẩm có độ ngọt đậm không thích hợp với thị hiếu người tiêu dùng và tiết kiệm chi phí trong quá trình chế biến, chọn công thức CT-C để thực hiện các nghiên cứu tiếp theo.

3.2. Ảnh hưởng của nhiệt độ gia nhiệt đến thời gian và chỉ tiêu cảm quan của sản phẩm

Khi gia nhiệt ở nhiệt độ quá cao sẽ làm biến tính protein, phá hủy các vitamin và các hợp chất

có hoạt tính sinh học trong sản phẩm. Tuy nhiên, sự biến đổi này nhiều hay ít còn phụ thuộc vào thiết bị chế biến, nhưng nếu gia nhiệt ở nhiệt độ quá thấp sẽ làm kéo dài thời gian gia nhiệt, không ức chế, kìm hãm được sự hoạt động của vi sinh vật và enzyme, do đó sẽ ảnh hưởng đến thời hạn bảo quản. Thí nghiệm được tiến hành gia nhiệt ở các dải nhiệt độ 70°C, 75°C, 80°C, 85°C và 90°C, thời gian gia nhiệt 90 phút, tỷ lệ các nguyên liệu thực hiện theo công thức CT-C và tỷ lệ nguyên liệu/thể tích thiết bị (kg/l) là 0,4 kg/l. Kết quả được thể hiện ở bảng 4.

Bảng 4. Ảnh hưởng của nhiệt độ gia nhiệt đến thời gian và chỉ tiêu cảm quan của sản phẩm

TT	Nhiệt độ gia nhiệt (°C)	Thời gian gia nhiệt (phút)	Điểm trung bình/xếp loại cảm quan	Đặc điểm cảm quan của sản phẩm
1	70	140	14,85 ± 0,02	Sản phẩm có màu hồng nhạt hơi thâm, có các hạt đường bám đều trên bề mặt, mùi thơm, vị ngọt hài hòa, trạng thái bên trong và bên ngoài còn ướt, cấu trúc sản phẩm dai.
			Trung bình	
2	75	110	15,06 ± 0,03	Sản phẩm có màu hồng nhạt hơi thâm, có các hạt đường bám đều trên bề mặt, mùi thơm, vị ngọt hài hòa, trạng thái bên trong và bên ngoài hơi ướt, cấu trúc sản phẩm hơi dai.
			Trung bình	
3	80	90	15,97 ± 0,02	Sản phẩm có màu hồng nhạt, có các hạt đường bám đều trên bề mặt, mùi thơm đặc trưng hài hòa, vị ngọt hài hòa, trạng thái rắn, không bị ướt, cấu trúc dòn.
			Khá	
4	85	70	15,62 ± 0,03	Sản phẩm có màu hồng nhạt xen lẫn màu nâu, có các hạt đường bám đều trên bề mặt, mùi thơm xen lẫn mùi hơi khét, vị ngọt xen lẫn vị hơi đắng, trạng thái bên trong rắn, khô, cấu trúc hơi dai.
			Khá	
5	90	50	14,64 ± 0,02	Sản phẩm có màu hồng nhạt xen lẫn màu nâu đen, có hiện tượng ướt trên bề mặt, mùi thơm xen lẫn mùi hơi khét, vị ngọt xen lẫn vị hơi đắng, trạng thái bên trong rắn, khô, cấu trúc dai và cứng.
			Trung bình	

Khi gia nhiệt ở nhiệt độ 70°C phải tiêu tốn 140 phút sản phẩm mới đạt độ thấm đường, độ chín và độ ẩm 40%. Khi đó, sản phẩm có màu hồng nhạt hơi thâm, có các hạt đường bám đều trên bề mặt, mùi thơm, vị ngọt hài hòa, trạng thái bên trong và bên ngoài còn ướt, cấu trúc sản phẩm dai. Tăng nhiệt độ gia nhiệt lên 75°C tiêu tốn hết 110 phút, khi đó sản phẩm mới đạt độ thấm đường, độ chín và độ ẩm 40%, sản phẩm có màu hồng nhạt hơi thâm, có các hạt đường bám đều trên bề mặt, mùi thơm, vị ngọt hài hòa, trạng thái bên trong và bên ngoài hơi ướt, cấu trúc sản phẩm hơi dai. Tiếp tục tăng nhiệt độ gia nhiệt lên 80°C thì thời gian gia nhiệt giảm xuống còn 90 phút, sản phẩm đã đạt độ thấm đường, độ chín và độ ẩm 40%. Ở điều kiện này, sản phẩm có màu hồng nhạt, có các hạt đường bám đều trên bề mặt, mùi thơm đặc trưng hài hòa, vị ngọt hài hòa, trạng thái rắn, không bị ướt và cấu trúc giòn. Nhưng khi tăng nhiệt độ gia nhiệt lên 85°C thì thời gian gia nhiệt giảm xuống còn 70 phút, sản phẩm đã đạt độ thấm đường, độ chín và độ ẩm 40%, tuy nhiên làm cho sản phẩm có màu hồng nhạt xen lẫn màu nâu, có các hạt đường bám đều trên bề mặt, mùi thơm xen lẫn mùi hơi khét, vị ngọt xen lẫn vị hơi đắng, trạng thái bên

trong rắn, khô và cấu trúc hơi dai. Thực hiện gia nhiệt ở nhiệt độ 90°C thì thời gian gia nhiệt là 50 phút, sản phẩm đã đạt độ thấm đường, độ chín và độ ẩm 40%. Nhưng ở thông số kỹ thuật này, sản phẩm có hiện tượng xuất hiện lớp vỏ cứng hơi cháy ở trên bề mặt, ngăn cản sự thoát hơi nước từ bên trong sản phẩm, dẫn tới sản phẩm chín không đồng đều, bên ngoài thì cứng và hơi cháy, nhưng bên trong thì vẫn còn hơi sống. Sản phẩm có màu hồng nhạt xen lẫn màu nâu đen, có hiện tượng ướt trên bề mặt, mùi thơm xen lẫn mùi hơi khét, vị ngọt xen lẫn vị hơi đắng do đường cháy, trạng thái bên trong hơi sống, cấu trúc dai và cứng. Vì vậy, chọn nhiệt độ gia nhiệt 80°C, thời gian gia nhiệt 90 phút và tỷ lệ nguyên liệu/thể tích thiết bị (kg/l) bằng 0,4 kg/l là phù hợp để thực hiện các nghiên cứu tiếp theo.

3.3. Ảnh hưởng của tỷ lệ nguyên liệu/thể tích thiết bị đến thời gian và chỉ tiêu cảm quan sản phẩm

Thí nghiệm được lặp lại 3 lần với tỷ lệ nguyên liệu/thể tích của dụng cụ thiết bị được khảo sát ở các mức 0,2; 0,3; 0,4; 0,5 và 0,6 kg/l để tìm ra tỷ lệ thích hợp cho chế biến mứt vỏ chanh leo. Kết quả nghiên cứu được thể hiện ở bảng 5.

Bảng 5. Ảnh hưởng của tỷ lệ nguyên liệu/thể tích thiết bị đến thời gian và chỉ tiêu cảm quan sản phẩm

TT	Tỷ lệ nguyên liệu/thể tích thiết bị (kg/l)	Thời gian gia nhiệt (phút)	Điểm trung bình/xếp loại cảm quan	Đặc điểm cảm quan của sản phẩm
1	0,2	70	$14,73 \pm 0,03$	Sản phẩm có màu hồng nhạt xen lẫn màu nâu đen, có hiện tượng ướt trên bề mặt, mùi thơm xen lẫn mùi hơi khét, vị ngọt xen lẫn vị hơi đắng, trạng thái bên trong rắn, khô, cấu trúc dai và cứng, sản phẩm đạt độ chín đồng đều.
			Trung bình	
2	0,3	80	$15,69 \pm 0,02$	Sản phẩm có màu hồng nhạt xen lẫn màu nâu, có các hạt đường bám đều trên bề mặt, mùi thơm xen lẫn mùi hơi khét, vị ngọt xen lẫn vị hơi đắng, trạng thái bên trong rắn, khô, cấu trúc hơi dai, sản phẩm đạt độ chín đồng đều.
			Khá	

3	0,4	90	16,12 ± 0,01	Sản phẩm có màu hồng nhạt, có các hạt đường bám đều trên bề mặt, mùi thơm đặc trưng hài hòa, vị ngọt hài hòa, trạng thái rắn, không bị ướt, cấu trúc giòn, sản phẩm đạt độ chín đồng đều.
			Khá	
4	0,5	110	14,16 ± 0,02	Sản phẩm có màu hồng nhạt hơi thâm, có các hạt đường bám đều trên bề mặt, mùi thơm, vị ngọt hài hòa, trạng thái bên trong và bên ngoài hơi ướt, cấu trúc sản phẩm hơi dai.
			Trung bình	
5	0,6	130	13,97 ± 0,02	Sản phẩm có màu hồng nhạt hơi thâm, có các hạt đường bám đều trên bề mặt, mùi thơm, vị ngọt hài hòa, trạng thái bên trong và bên ngoài còn ướt, cấu trúc sản phẩm dai, độ chín không đồng đều giữa sản phẩm ở phía bên trên và phía bên dưới đáy của thiết bị, sản phẩm ở phía dưới đáy của dụng cụ thiết bị hơi cháy và ngọt hơn sản phẩm ở phía bên trên.
			Trung bình	

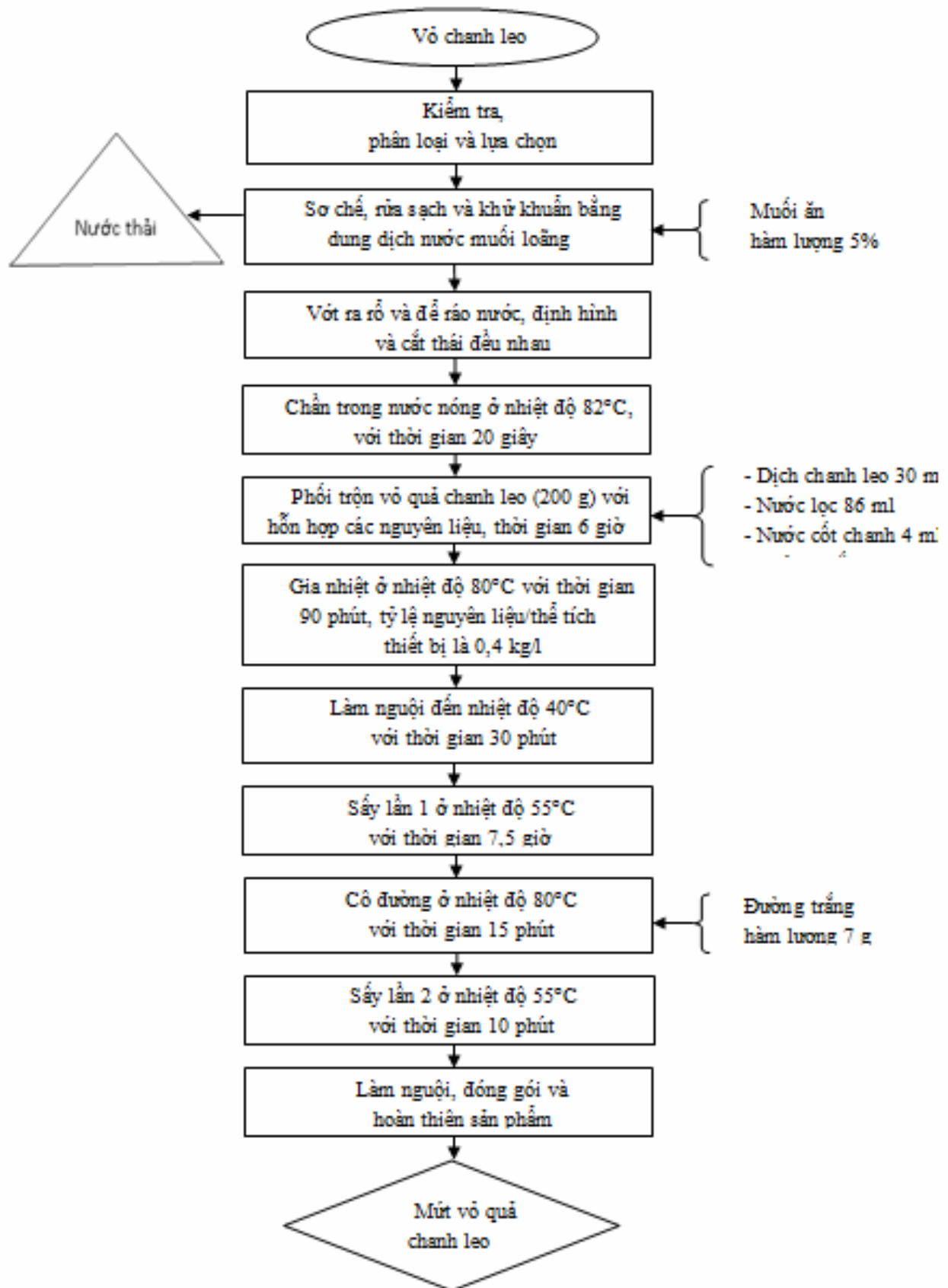
Bảng 5 cho thấy, khi gia nhiệt với tỷ lệ nguyên liệu/thể tích thiết bị là 0,2 kg/l thì thời gian gia nhiệt là 70 phút sản phẩm đã đạt độ thấm đường, độ chín và độ ẩm 40%. Sản phẩm có màu hồng nhạt xen lẫn màu nâu đen, có hiện tượng ướt trên bề mặt, mùi thơm xen lẫn mùi hơi khét, vị ngọt xen lẫn vị hơi đắng, trạng thái bên trong rắn, khô, cấu trúc dai và cứng, sản phẩm đạt độ chín đồng đều. Khi tăng tỷ lệ nguyên liệu/thể tích thiết bị là 0,3 kg/l thì thời gian gia nhiệt là 80 phút sản phẩm đã đạt độ thấm đường, độ chín và độ ẩm 40%. Ở điều kiện này, sản phẩm có màu hồng nhạt xen lẫn màu nâu, có các hạt đường bám đều trên bề mặt, mùi thơm xen lẫn mùi hơi khét, vị ngọt xen lẫn vị hơi đắng, trạng thái bên trong rắn, khô, cấu trúc hơi dai, sản phẩm đạt độ chín đồng đều. Tiếp tục tăng tỷ lệ nguyên liệu/thể tích thiết bị là 0,4 kg/l thì thời gian gia nhiệt là 90 phút sản phẩm đã đạt độ thấm đường, độ chín và độ ẩm 40%. Khi đó, sản phẩm có màu hồng nhạt, có các hạt đường bám đều trên bề mặt, mùi thơm đặc trưng hài hòa, vị ngọt hài hòa, trạng thái rắn, không bị ướt, cấu trúc giòn, sản phẩm đạt độ chín đồng đều. Ở tỷ lệ nguyên liệu/thể tích thiết bị là 0,5 kg/l thì thời gian gia nhiệt là 110 phút sản phẩm đã đạt độ thấm đường, độ chín và độ ẩm 40%, sản phẩm có màu

hồng nhạt hơi thâm, có các hạt đường bám đều trên bề mặt, mùi thơm, vị ngọt hài hòa, trạng thái bên trong và bên ngoài hơi ướt, cấu trúc sản phẩm hơi dai. Nhưng khi tăng tỷ lệ nguyên liệu/thể tích thiết bị là 0,6 kg/l thì thời gian gia nhiệt là 130 phút sản phẩm đã đạt độ thấm đường, độ chín và độ ẩm 40%. Sản phẩm khi đó có màu hồng nhạt hơi thâm, có các hạt đường bám đều trên bề mặt, mùi thơm, vị ngọt hài hòa, trạng thái bên trong và bên ngoài còn ướt, cấu trúc sản phẩm dai, độ chín không đồng đều giữa sản phẩm ở phía bên trên và phía bên dưới đáy của thiết bị, sản phẩm ở phía dưới đáy của dụng cụ thiết bị hơi cháy và ngọt hơn sản phẩm ở phía bên trên. Khi tỷ lệ nguyên liệu/thể tích thiết bị càng nhỏ thì thời gian gia nhiệt càng ngắn và ngược lại. Vì vậy, chọn tỷ lệ nguyên liệu/thể tích thiết bị là 0,4 kg/l, với nhiệt độ gia nhiệt 80°C, thời gian gia nhiệt 90 phút, tỷ lệ các nguyên liệu thực hiện theo công thức CT-C để thực hiện các nghiên cứu tiếp theo.

3.4. Quy trình chế biến mứt vỏ chanh leo

3.4.1. Sơ đồ quy trình chế biến mứt vỏ chanh leo

Từ các kết quả nghiên cứu ở trên, đã đưa ra sơ đồ quy trình chế biến mứt vỏ chanh leo như sau:



Hình 1. Sơ đồ quy trình chế biến mứt vỏ chanh leo

3.4.2. Thuyết minh quy trình chế biến mứt vỏ chanh leo

Bước 1. Nguồn nguyên liệu: Sử dụng vỏ chanh leo tươi, dày, có mùi thơm đặc trưng và đảm bảo chất lượng an toàn vệ sinh thực phẩm. Không sử dụng vỏ chanh leo héo úa hay mềm nhũn. Chỉ lựa chọn những vỏ chanh leo đảm bảo các tiêu chuẩn chất lượng, đạt độ chín kỹ thuật, vỏ căng nhẵn và có màu tím, không bị sâu, bệnh và không bị tổn thương.

Bước 2. Sơ chế và xử lý nguyên liệu: Vỏ chanh leo được rửa sạch bằng nước rửa có pha muối ăn với hàm lượng 5%. Bóc lớp màng trắng bên trong và rửa sạch, sau đó vớt ra và để ráo nước. Sau khi rửa sạch, vớt ra để ráo nước, sau đó định hình và cắt thái đều nhau, có thể cắt thái hình chữ nhật chiều dài 2 cm, chiều rộng 1,5 cm hay hình tam giác cân mỗi cạnh 2 cm tùy thuộc vào hình dạng của vỏ chanh leo.

Bước 3. Chần trong nước nóng ở nhiệt độ 82°C, với thời gian 20 giây, vớt ra rửa để ráo nước: Vỏ chanh leo sau khi định hình và cắt thái, cho vào muôi inox đục lỗ và chần trong nước nóng nhiệt độ 82°C, thời gian 20 giây, vớt ra và nhúng vào nước lạnh nhiệt độ 5°C, sau đó vớt ra để ráo nước. Mục đích của quá trình này là ức chế hoạt động của các enzyme oxy hóa khử để chống biến màu cho sản phẩm và làm mềm sản phẩm.

Bước 4. Phối trộn vỏ chanh leo với hỗn hợp các nguyên liệu khác: Vỏ chanh leo sau khi chần được phối trộn theo tỷ lệ nguyên liệu là vỏ chanh leo 200 g, dịch chanh leo 30 ml, nước lọc 86 ml, nước cốt chanh 4 ml và đường trắng 38 g. Tiến hành đảo trộn đều, tránh hiện tượng làm dập nát vỏ chanh leo, sau đó đậy nắp nhưng không kín hoàn toàn và để ở nhiệt độ phòng với thời gian 6 giờ.

Bước 5. Gia nhiệt ở nhiệt độ 80°C với thời gian 90 phút, tỷ lệ nguyên liệu/thể tích thiết bị là 0,4 kg/l: Hỗn hợp nguyên liệu sau khi phối trộn được gia nhiệt ở nhiệt độ 80°C với thời gian 90 phút, tỷ lệ nguyên liệu/thể tích thiết bị là 0,4 kg/l. Khi tỷ lệ nguyên liệu/thể tích thiết bị càng nhỏ thì thời gian gia nhiệt càng ngắn và ngược lại. Trong quá trình gia nhiệt thường xuyên đảo đều hỗn hợp để đường

và các nguyên liệu khác thấm đều vào vỏ chanh leo, đồng thời để hạn chế hiện tượng sản phẩm bị cháy. Thiết bị sử dụng để gia nhiệt là chảo inox có tác dụng chống dính và có lắp đáy bằng inox hoặc bằng thủy tinh chuyên dụng.

Bước 6. Làm nguội đến nhiệt độ 40°C với thời gian 30 phút: Sau khi gia nhiệt xong bán thành phẩm mứt vỏ chanh leo được làm nguội đến nhiệt độ 40°C với thời gian 30 phút. Quá trình làm nguội được thực hiện trong phòng sạch có máy lạnh hoặc quạt gió.

Bước 7. Sấy lần 1 ở nhiệt độ 55°C với thời gian 7,5 giờ: Bán thành phẩm sau khi được làm nguội, xếp vào khay inox đưa vào tủ sấy chuyên dụng, đóng nắp chặt và sấy ở nhiệt độ 55°C với thời gian 7,5 giờ. Mục đích của quá trình này là loại bớt nước trong sản phẩm, thuận tiện cho quá trình bảo quản.

Bước 8. Cô đường ở nhiệt độ 80°C với thời gian 15 phút: Bán thành phẩm sau khi sấy lần 1 được lấy trong tủ sấy ra và nhúng vào đường, sau đó cho vào thiết bị gia nhiệt đảo đều trong 5 phút, sử dụng đường trắng với hàm lượng 7 g. Mục đích của quá trình cô đường là tạo cho các tinh thể đường bám trên bề mặt sản phẩm. Trong quá trình cô đường phải đảo đều để các tinh thể đường bám đều trên bề mặt sản phẩm và hạn chế sản phẩm bị cháy.

Bước 9. Sấy lần 2 ở nhiệt độ 55°C với thời gian 10 phút: Sau khi cô đường, hỗn hợp được sấy lần 2 ở nhiệt độ 55°C với thời gian sấy là 10 phút. Hỗn hợp này được dải đều ra khay inox và đưa vào tủ sấy chuyên dụng để làm khô sản phẩm. Quá trình này nhằm mục đích tách bớt ẩm trong bán thành phẩm khi cô đường để thuận tiện cho quá trình bảo quản và hạn chế hiện tượng chảy nước, cũng như hút ẩm của sản phẩm sau này.

Bước 10. Làm nguội, đóng gói và hoàn thiện sản phẩm: Bán thành phẩm sau khi sấy lần 2 được làm nguội xuống nhiệt độ thường, sau đó cho vào túi nilon dán kín, mỗi gói được kèm theo một gói hút ẩm. Gói mứt này được đựng trong hộp nhựa có nắp đậy kín, dán nhãn và bảo quản nơi khô ráo, thoáng mát.

4. KẾT LUẬN

Đã phân tích các chỉ tiêu dinh dưỡng, chỉ tiêu vi sinh và chỉ tiêu cảm quan của sản phẩm mứt vỏ chanh leo ở 5 công thức thí nghiệm, chọn được công thức CT-C (vỏ chanh leo 200 g, dịch chanh leo 30 ml, nước lọc 86 ml, nước cốt chanh 4 ml và đường trắng 45 g) để xây dựng quy trình chế biến sản phẩm mứt từ vỏ chanh leo. Đồng thời, xác định được các thông số kỹ thuật của quy trình chế biến mứt vỏ chanh leo là gia nhiệt ở nhiệt độ 80°C với thời gian 90 phút, tỷ lệ nguyên liệu/thể tích thiết bị là 0,4 kg/l. Sản phẩm chế biến theo công thức này có đường tổng số 45,12%, pectin 0,56%, vitamin C 8,35 mg/100 g, vitamin A 0,05 mg/100 g, protein tổng số 4,65%, canxi 812 mg/100g, photpho 0,33 mg/100 g, kali 6.003 mg/100 g, natri 253 mg/100 g, có màu hồng nhạt, có các hạt đường bám đều trên bề mặt, mùi thơm đặc trưng hài hòa, vị ngọt hài hòa, trạng thái rắn, không bị ướt và cấu trúc giòn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nguyễn Văn Lợi (2018). *Thực phẩm và an toàn thực phẩm*. Nxb Đại học Bách khoa Hà Nội, 94 - 95.
2. Lê Anh Tuấn, Nguyễn Văn Lợi (2023). Ứng dụng chế phẩm enzyme pectinase để khai thác và thu hồi dịch quả chanh leo của tỉnh Cao Bằng. *Tạp chí Khoa học, Trường Đại học Sư phạm Hà Nội*, 68 (1), 53 - 62.
3. Alexandra M. G. N. M, Antonio G. S, Eder J. O, Adriana F (2017). Volatile composition of sweet passion fruit (*Passiflora alata* Curtis). *Journal of Chemistry*, 34, 1 - 9.
4. Giuffrè A. M (2007). Chemical composition of purple passion fruit (*Passiflora edulis* Sims var. *edulis*) seed oil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 42, 359 - 367.
5. Nguyễn Văn Lợi, Lê Anh Tuấn, Trần Văn Quy (2023). Xác định thời điểm thu hoạch quả chanh leo thích hợp cho quá trình chế biến. *Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển nông thôn*, 9, 79 - 87.
6. Tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 9017:2011. Quả tươi - Phương pháp lấy mẫu trên vườn sản xuất, 1 - 5.
7. Nguyễn Văn Lợi, Lê Anh Tuấn (2023). Nghiên cứu xây dựng quy trình chế biến thạch từ quả nhàu. *Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển nông thôn*, 7, 35 - 45.
8. Tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 4594:1988. Đồ hộp - Phương pháp xác định đường tổng số, đường khử và tinh bột, 1 - 4.
9. Wai W. W, Alkarkhi A. F, Easa A. M (2009). Optimization of pectin extraction from durian rind (*Durio zibethinus*) using response surface methodology. *Journal of Food Science*, 74 (8), 637 - 641.
10. Yadav S. R, Khan. Z. H, Kunjwani S. S, Mular S. M (2015). Extraction and characterization of pectin from different fruits. *International Journal of Applied Research*, 1 (9), 91 - 94.
11. Tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 6427-2:1998. Rau quả và các sản phẩm rau quả - Xác định hàm lượng axit ascorbic, 1 - 6.
12. Tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 8972-1:2011. Thực phẩm - Xác định vitamin A bằng sắc ký lỏng hiệu năng cao, 1 - 5.
13. Tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 9936:2013. Tinh bột và sản phẩm tinh bột - Xác định hàm lượng nitơ bằng phương pháp Kjeldahl - Phương pháp chuẩn độ, 1 - 5.
14. Tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 10641:2014. Thực phẩm - Xác định hàm lượng canxi, đồng, sắt, magie, mangan, phospho, kali, natri và kẽm trong thức ăn công thức dành cho trẻ sơ sinh - Phương pháp đo phổ phát xạ plasma cảm ứng cao tần, 1 - 5.
15. Tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 4884:2001. Vi sinh vật học - Hướng dẫn chung về định lượng vi sinh vật - Kỹ thuật đếm khuẩn lạc ở 30°C, 1 - 6.
16. Tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 8989:2012. Vi sinh vật trong thực phẩm - Phương pháp định lượng *Aspergillus parasiticus* và *Aspergillus versicolor*, 1 - 7.
17. Tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 3215:1979. Sản phẩm thực phẩm - Phân tích cảm quan - Phương pháp cho điểm, 1 - 5.

STUDY AND DEVELOP THE PROCESSING PROCESS JAM FROM PASSION FRUIT PEEL**Nguyen Van Loi¹, Le Anh Tuan¹, Nguyen Thi Thanh Ngoc²**¹*University of Science, Vietnam National University, Hanoi,*²*East Asia University of Technology,***Summary**

Jam is a sweet food made from fruits and some tubers cooked with sugar and other ingredients until dry from 65 - 70%. Jam passion fruit peel is a product made from passion fruit peel with sugar and some food additives. Passion fruit peel contains a lot of pectin and other nutritional ingredients that are also important ingredients for processing jam. The purpose of this study and develop the processing process jam from passion fruit peel, the experiment is arranged according to 5 formula, analyze the nutritional index, microbiological index and sensory index of the jam product passion fruit in these 5 formula. From there, the CT-C formula (200 g passion fruit peel, 30 ml passion fruit juice, 86 ml filtered water, 4 ml lemon juice and 45 g white sugar) was chosen to study and develop the processing process jam product. At the same time, the technical parameters of the passion fruit peel jam processing process were determined: heating at a temperature of 80°C for 90 minutes, the ratio of ingredients/equipment volume is 0.4 kg/l. Products processed according to this formula have total sugar 45.12%, pectin 0.56%, vitamin C 8.35 mg/100 g, vitamin A 0.05 mg/100 g, total protein 4.65%, calcium 812 mg/100 g, phosphor 0.33 mg/100 g, potassium 6.003 mg/100 g, sodium 253 mg/100 g, light pink color, sugar particles sticking evenly on the surface, harmonious characteristic aroma, harmonious sweet taste, solid state, does not get wet and the structure is brittle. The product does not contain total aerobic microorganisms, total yeast and mold.

Keywords: *Jam, processing process, technology parameters, mixing ratio, passion fruit peel.*

Người phản biện: TS. Nguyễn Thị Hồng Hà

Ngày nhận bài: 20/10/2023

Ngày thông qua phản biện: 19/11/2023

Ngày duyệt đăng: 18/12/2023

NGHIÊN CỨU ĐẶC ĐIỂM SINH HỌC SINH SẢN CỦA CÁ MĂNG (*Elopichthys bambusa* Richardson, 1845) TRONG ĐIỀU KIỆN NUÔI GIỮ

Nguyễn Hải Sơn^{1, *}, Võ Văn Bình¹, Đặng Thị Lụa²

TÓM TẮT

Nghiên cứu về đặc điểm sinh học sinh sản của cá măng (*Elopichthys bambusa* Richardson, 1845) trong điều kiện nuôi giữ được thực hiện từ tháng 1 - 12/2021. 120 cá thể (60 cá thể cái, 60 cá thể đực), khối lượng từ 2,4 - 5,2 kg/con, độ tuổi từ 2⁺ - 5⁺ được sử dụng cho nghiên cứu. Cá thí nghiệm được chia thành 4 nhóm kích cỡ có độ tuổi khác nhau (tuổi 2⁺, tuổi 3⁺, tuổi 4⁺ và tuổi 5⁺), mỗi nhóm (30 cá thể, tỷ lệ đực:cái = 1:1) được nuôi chung trong 1 ao rộng 500 m². Kết quả nghiên cứu cho thấy, có thể phân biệt cá đực và cá cái thông qua một số đặc điểm hình thái bên ngoài (vây ngực, vây đuôi), nhưng đặc điểm khác biệt này chỉ tồn tại trong thời gian cá tham gia sinh sản. Trong điều kiện nuôi nhốt, cá cái thành thực lần đầu ở độ tuổi 4⁺, cá đực thành thực ở tuổi 3⁺, cá sinh sản 1 lần/năm, mùa vụ sinh sản từ tháng 4 - 6, tập trung chủ yếu vào tháng 5. Sức sinh sản trung bình tuyệt đối của cá từ 30.192 - 83.688 trứng/cá cái với khối lượng trung bình của cá từ 3.287 ± 129,6 - 4.998,6 ± 146,3 g/con. Sức sinh sản tương đối dao động 9,1 - 16,7 trứng/g cá cái. Kết quả này là cơ sở rất quan trọng, tạo điều kiện thuận lợi cho việc tiến hành các thử nghiệm sản xuất giống nhân tạo cá măng.

Từ khóa: Cá măng, mùa vụ sinh sản, sức sinh sản.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cá măng thuộc họ cá chép (Cyprinidae), phân họ cá tuế (Leuciscinae) có tên khoa học là *Elopichthys bambusa* [1]. Với kích thước lớn, thịt thơm ngon nên cá măng có giá trị kinh tế cao, được người tiêu dùng ưa thích [2]. Do cá măng đã bị khai thác quá mức nên nhiều năm gần đây ít bắt gặp loài cá này trong tự nhiên [2]. Sách Đỏ Việt Nam (2007) [3] đã xếp cá măng ở mức VU (sẽ nguy cấp). Liên minh Bảo tồn Thiên nhiên quốc tế (IUCN) xếp cá măng ở cấp độ DD (data deficient - thiếu dữ liệu về tình trạng hiện nay) [4].

Nhằm mục tiêu bảo vệ và phát triển nuôi loài cá quý hiếm này, đã có nhiều nghiên cứu về cá măng được thực hiện như: Nghiên cứu về đặc điểm hình thái [5]; đặc điểm phân bố [1]; đặc điểm dinh dưỡng [6], sinh sản nhân tạo [7].... Có thể thấy, nhiều nghiên cứu về cá măng đã được thực hiện, tuy nhiên đến nay chỉ có một công trình

nghiên cứu về sinh sản cá măng được thực hiện ở Việt Nam với kết quả là cá hương chỉ sống được đến 13 ngày tuổi [7].

Nguyên nhân chủ yếu của việc chưa thành công trong sinh sản nhân tạo cá măng tại Việt Nam trước đây được cho là thiếu những thông tin về đặc điểm sinh học sinh sản, thiếu những nghiên cứu đánh giá về ảnh hưởng của môi trường trong điều kiện nuôi giữ, nên kết quả sản xuất giống còn hạn chế. Vì thế, việc nghiên cứu các đặc điểm sinh học sinh sản của cá măng trong điều kiện nuôi giữ là cần thiết, làm cơ sở khoa học cho việc xây dựng quy trình sản xuất giống cá măng, qua đó sẽ chủ động được nguồn giống, góp phần bảo tồn và phát triển bền vững nghề nuôi loài cá này ở nước ta.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

2.1.1. Thời gian nghiên cứu

Nghiên cứu các chỉ tiêu về đặc điểm sinh học sinh sản của cá măng trong điều kiện nuôi giữ được thực hiện từ tháng 1 - 12/2021.

2.1.2. Địa điểm nghiên cứu

¹ Trung tâm Quốc gia Giống thủy sản nước ngọt miền Bắc

² Viện Nghiên cứu Nuôi trồng thủy sản I

*Email: nhson@ria1.orrng

Các thí nghiệm nghiên cứu về đặc điểm sinh học sinh sản của cá măng được triển khai tại Trung tâm Quốc gia giống thủy sản nước ngọt miền Bắc (Trung tâm QGGTSNNMB), phường Tân Dân, thành phố Chí Linh, tỉnh Hải Dương.

2.1.3. Đối tượng nghiên cứu

Đối tượng là loài cá măng nước ngọt *Elopichthys bambusa* (Richardson, 1845), trong đó 120 cá thể (60 cá thể cái, 60 cá thể đực), khối lượng từ 2,4 - 5,2 kg/con, độ tuổi từ tuổi 2⁺ - 5⁺.

2.1.4. Ao nuôi thí nghiệm

Gồm 4 ao, thuộc khu ao D (D4, D5, D6, D7) của Trung tâm QGGTSNNMB, mỗi ao có diện tích 500 m², ao có bờ lát bê tông, độ sâu mực nước 1,8 - 2,0 m, độ sâu bùn đáy 0,2 m. Nguồn nước cấp cho ao được lấy trực tiếp từ ao chứa nước của Trung tâm QGGTSNNMB thông qua hệ thống ống nhựa PVC có đường kính 250 mm.

2.1.5. Thức ăn thí nghiệm

Sử dụng thức ăn là cá tươi (cá mè, cá rô phi, cá trôi) được thu mua từ các cơ sở nuôi cá tại huyện Nam Sách, tỉnh Hải Dương. Trước khi sử dụng làm thức ăn, cá được rửa sạch, loại bỏ vây, đuôi và cắt nhỏ thành từng miếng bằng máy cắt cá chuyên dụng (công suất máy 3 kw, 17 lưỡi dao, năng suất máy 200 kg cá/giờ).

2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Bố trí thí nghiệm

Cá thí nghiệm được chia thành 4 nhóm kích cỡ có độ tuổi khác nhau. Mỗi nhóm (15 cá thể cái, 15 cá thể đực) được nuôi chung trong 1 ao, trong đó nghiệm thức 1: khối lượng 2,0 - 2,7 kg/con, chiều dài thân 40,0 - 52,0 cm/con, tuổi 2⁺ (nuôi tại ao D4); nghiệm thức 2: khối lượng 2,8 - 3,3 kg/con, chiều dài thân 53,8 - 59,6 cm/con, tuổi 3⁺ (ao D5); nghiệm thức 3: khối lượng 3,4 - 4,3 kg/con, chiều dài thân 60,0 - 63,0 cm/con, tuổi 4⁺ (ao D6); nghiệm thức 4: khối lượng 4,4 - 5,2 kg/con, chiều dài thân 62,5 - 66,8 cm/con, tuổi 5⁺ (ao D7).

Sử dụng cá tươi cắt nhỏ làm thức ăn cho cá, khẩu phần ăn là 6% khối lượng cá/ngày. Thức ăn được cho vào sàng ăn, sau 1 giờ, kiểm tra sàng ăn, thu và cân lại lượng thức ăn dư thừa để tính toán và

điều chỉnh lượng thức ăn cho cá. Cho cá ăn 2 lần/ngày (8 và 17 giờ), định kỳ thay nước 1 lần/tháng, mỗi lần thay 20% lượng nước trong ao nuôi.

- *Chỉ tiêu theo dõi*: Định kỳ 1 lần/tháng thu mẫu cá của mỗi nhóm tuổi để xác định các chỉ tiêu: phân biệt giới tính; xác định đường kính trứng; tuổi và kích thước cá sinh sản lần đầu; mùa vụ sinh sản; sức sinh sản. Sử dụng lưới kéo để thu mẫu (lưới không có túi, chiều dài 50 m, chiều cao 3 m, mắt lưới 2a = 2 cm).

2.2.2. Phương pháp sử dụng

+ *Phương pháp xác định giới tính*: Giới tính của cá được phân biệt bằng quan sát trực tiếp hình thái bên ngoài của từng cá thể theo phương pháp của Pravdin (1973) [8], kết hợp với giải phẫu cơ quan sinh dục của cá. Phương pháp được tiến hành như sau:

+ *Quan sát hình thái bên ngoài*: Dùng cho cá ăn 1 ngày trước khi kéo lưới, bắt cá để tiến hành kiểm tra hình thái bên ngoài. Tiến hành bắt từng cá thể và chuyển vào thùng chứa dung dịch thuốc gây mê (sử dụng Aqui-S pha với nồng độ 25 ml/m³ nước). Khi thấy cá nằm im, bắt cá lên và tiến hành quan sát hình thái bên ngoài của cá (bụng cá, vây lưng, vây ngực, vây đuôi và cơ quan sinh dục của cá).

+ *Giải phẫu cơ quan sinh dục*: Tiến hành mổ cá, dùng kéo nhọn rạch một đường giữa bụng tương đương với vị trí gốc vây ngực kéo dài tới sát lỗ sinh dục phụ, sau đó dùng kéo từ từ tách ruột và mỡ cho tới khi nhìn thấy rõ tuyến sinh dục của cá. Quan sát, mô tả các đặc điểm nhận dạng tuyến sinh dục của cá đực và cá cái.

+ Xác định đường kính trứng qua các giai đoạn

Đường kính trứng được đo theo phương pháp của Wylie và cs (2019) [9]. Trứng cá sau khi thu được giữ trong dung dịch Ringer (120 mM NaCl; 5 mM KCl; 3,5 mM CaCl₂; 3,5 mM MgSO₄; 3 mM NaH₂PO₄; 10 mM HEPES; pH 7,4) có thành phần điện giải giống dịch ngoại tế bào trứng để ngăn sự thay đổi hình dạng và kích thước trứng. Đo kích thước trứng (20 trứng/cá thể) bằng kính hiển vi gắn với trắc vi thị kính (Kruss optronic Đức).

+ *Xác định tuổi và kích thước cá thành thực lần đầu*

Phương pháp xác định tuổi cá: Dùng dao lấy vảy cá vùng bên sườn, trên đường bên ngay dưới vây bụng của cá. Mỗi cá thể lấy 3 vảy. Ngâm mẫu vảy trong dung dịch NaOH 4% trong bát sứ để làm sạch màng, mỡ, các sắc tố bám trên vảy. Sau đó dùng panh kẹp bông làm sạch những sắc tố còn bám trên vảy để được mẫu vảy trong suốt. Rửa lại bằng nước sạch, lau khô, đưa lên kính hiển vi soi nổi (Optika SZX-B, độ phóng đại 10 lần) quan sát, đọc các vòng sinh trưởng. Mỗi vòng sinh trưởng tương ứng 1 năm tuổi của cá.

Phương pháp xác định tuổi và kích thước cá thành thực lần đầu: Từ tháng 3 - 7, mỗi tháng, dùng que thăm trứng lấy hạt trứng thông qua lỗ niệu sinh dục để kiểm tra độ thành thực của cá tại 4 nhóm tuổi (mức bố trí thí nghiệm), mỗi nhóm tuổi kiểm tra 10 cá cái. Tỷ lệ cá thành thực được tính theo công thức: Tỷ lệ cá thành thực (%) = Cá thành thực sinh dục (giai đoạn IV)/tổng số cá kiểm tra.

+ *Xác định mùa vụ sinh sản*

Trong ao nuôi thí nghiệm với nhóm cá có độ tuổi 4⁺ và 5⁺ (mỗi nhóm 15 cá thể cái), ngay từ tháng 2, tiến hành kiểm tra sự phát triển sinh dục của cá cái. Phương pháp kiểm tra là quan sát phía bụng cá (cá cái thành thực sinh dục có biểu hiện bụng căng tròn đều, lỗ sinh dục to, ứng hồng, vây ngực tròn nhẵn) và thăm trứng bằng que thăm trứng. Từ tháng 4, tiến hành mổ ngẫu nhiên 3 cá thể để lấy trứng. Khi có hơn 50% số cá kiểm tra có buồng trứng phát triển đến giai đoạn IV thì xác định đó là mùa vụ sinh sản của cá.

+ *Xác định sức sinh sản của cá*

Khi cá cái đã thành thực (tháng 4 - 6), tiến hành bắt ngẫu nhiên 3 cá cái đã thành thực ở mỗi nhóm cá thí nghiệm, cân khối lượng từng cá thể bằng cân đồng hồ 10 kg (sai số 0,5 g) và giải phẫu lấy buồng trứng. Buồng trứng của mỗi cá thể được cân với độ chính xác 0,01 g, sau đó lấy mẫu để đếm trứng tại 3 vị trí: phần đầu, phần giữa và phần cuối của buồng trứng. Mẫu trứng sau khi lấy được làm khô, cân khối lượng (sai số 0,01 g) và cố định trong dung dịch formaline 2,5% để đếm số trứng. Sức sinh sản của cá được xác định trên khối lượng trứng của cá cái có tuyến sinh dục ở giai đoạn IV và tính theo công thức của Biswas (1993) [10].

Sức sinh sản tuyệt đối (F): Được xác định theo công thức:

$F (\text{trứng cá/cá thể cá cái}) = nG/g;$

G là khối lượng buồng trứng (g);

N là số trứng ở giai đoạn IV có trong mẫu đại diện;

g là khối lượng mẫu trứng được lấy ra đếm.

Sức sinh sản tương đối (F_A): Là số lượng trứng trên 1 g khối lượng cơ thể cá, được xác định theo công thức:

$F_A (\text{trứng cá/gam cá cái}) = F/W,$ trong đó:

F là sức sinh sản tuyệt đối;

W là khối lượng thân cá (g).

+ *Phương pháp theo dõi các chỉ tiêu môi trường nước ao nuôi*

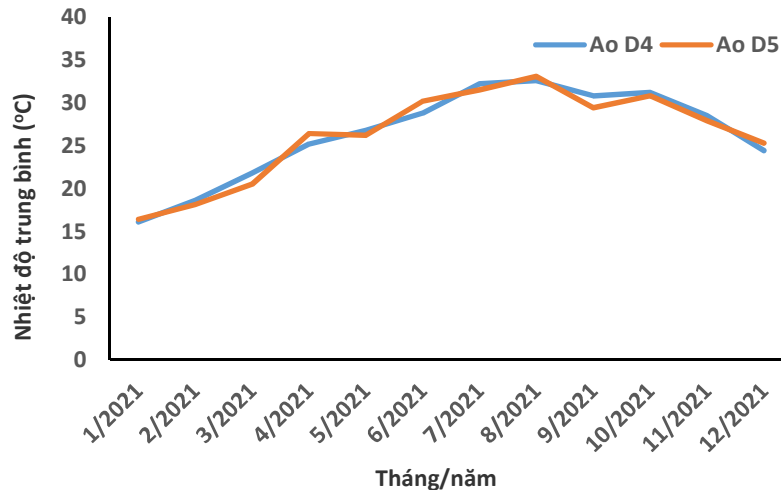
Trong quá trình nuôi thí nghiệm, một số yếu tố môi trường nước ao nuôi như nhiệt độ nước, pH, ôxy hòa tan và NH₃ được xác định bằng các dụng cụ chuyên dùng, thời gian và chu kỳ đo được trình bày ở bảng 1.

Bảng 4. Các yếu tố môi trường nước và phương pháp phân tích

TT	Chỉ tiêu	Thời gian đo (giờ)	Chu kỳ đo	Dụng cụ đo
1	Nhiệt độ (°C)	8 và 14 giờ	Hàng ngày	Máy đo nhiệt độ cầm tay DO model 550 ^a do hãng YIS – Mỹ sản xuất
2	pH	8 và 14 giờ	Hàng ngày	Máy đo pH cầm tay do Trung Quốc sản xuất
3	Ôxy hòa tan (mg/l)	8 và 14 giờ	Hàng ngày	Máy đo ô xy cầm tay DO model 550 ^a do hãng YIS – Mỹ sản xuất
4	NH ₃ (mg/l)	8 giờ	7 ngày/lần	Test kit Sera của Đức sản xuất

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN**3.1. Kết quả nghiên cứu đặc điểm sinh sản của cá măng trong điều kiện nuôi giữ****3.1.1. Biến động một số yếu tố môi trường nước ao nuôi cá thí nghiệm****3.1.1.1. Biến động về nhiệt độ**

Trong cả 4 ao nuôi thí nghiệm (D4, D5, D6 và D7), từ tháng 1 - 12/2021, nhiệt độ có sự thay đổi theo biên độ nhiệt của vùng khí hậu, dao động trung bình giữa các tháng từ 16,2 - 33,4°C, cao nhất vào tháng 7 (33,4°C), thấp nhất vào tháng 2 (16,1°C) (Hình 1).



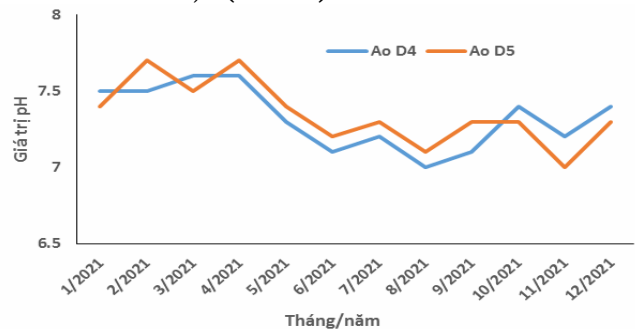
Hình 1. Biến động nhiệt độ nước trung bình trong các ao thí nghiệm

Theo Boyd (1990) [11], khoảng nhiệt độ thích hợp cho sự phát triển của cá nước ngọt vùng nhiệt đới dao động 20 - 31°C. Trong khi sự biến động về nhiệt độ nước trong quá trình nuôi tại các ao dao động 16,2 - 33,4°C, có thời điểm thấp hơn và cao hơn ngưỡng thích hợp, tuy nhiên thời gian này không kéo dài nên khoảng biến động nhiệt độ này vẫn thích hợp cho sự sinh trưởng và phát triển của cá.

Kết quả theo dõi sự biến động về nhiệt độ nước ao cho thấy, trong các tháng 7, 8 và 9, nhiệt độ chênh lệch ngày và đêm lên đến 6°C, ở độ sâu 20 cm nhiệt độ chênh lệch 4°C, ở đáy ao nhiệt độ ngày, đêm chênh lệch 2°C. Trên cơ sở đó, để giảm bớt hiện tượng cá bị sốc do chênh lệch nhiệt độ ngày và đêm quá lớn trong mùa hè, cần đảm bảo độ sâu mực nước trong ao. Vì vậy, các ao nuôi cá măng nên bổ sung nước vào mùa hè để đảm bảo độ sâu tối thiểu 1,5 m.

3.1.1.2. Biến động về độ pH trong các ao nuôi thí nghiệm

Giá trị pH trung bình theo tháng trong 4 ao nuôi thí nghiệm dao động 7,0 - 7,8, thấp nhất là 7,0 và cao nhất là 7,8 (Hình 2).



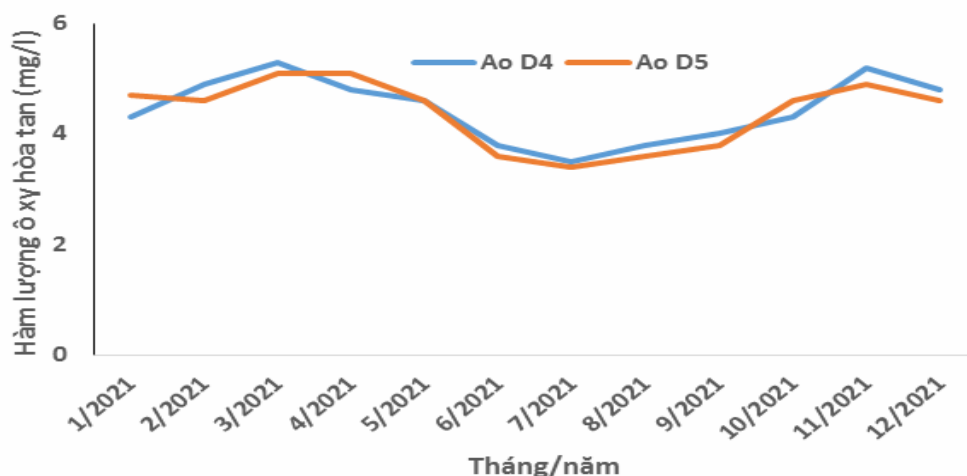
Hình 2. Biến động pH trong các ao nuôi cá thí nghiệm

Hình 2 cho thấy, tháng 1, 2, 3 và 4 là các tháng có giá trị pH trung bình cao nhất (7,4 - 7,8) trong năm. Các tháng có pH thấp trong khoảng 7,0 - 7,4 gồm tháng 7, 8 và 9. Thời điểm có pH thấp thường rơi vào những tháng có mưa nhiều, tuy nhiên độ pH biến động không nhiều trong ngày, thường

bằng hoặc dưới 0,2 đơn vị. Có thể thấy, trong các ao thí nghiệm có sự biến động pH nhẹ theo mùa trong năm và tuân theo qui luật biến động ở khu vực Bắc bộ. Theo Boyd (1990) [11] thì điểm chết axit và kiềm của cá là pH = 4 và pH = 11, giá trị pH nước thích hợp nhất cho cá là 7 - 9. Vì vậy, có thể kết luận pH của ao nuôi cá thí nghiệm dao động 7,0 - 7,8 là phù hợp cho sự phát triển của cá nuôi.

3.1.1.3. Biến động ôxy hòa tan trong các ao nuôi thí nghiệm

Hàm lượng ôxy hòa tan trong thời gian nuôi thí nghiệm của cả 4 ao trung bình đạt 4,5 mg/L, thấp nhất 3,4 mg/L, cao nhất là 5,4 mg/L. Hàm lượng oxy hòa tan trong môi trường nước ao nuôi nhất thấp vào tháng 6, 7, 8 và 9, trùng với thời điểm có nhiệt độ nước (31,5 - 33,4°C) cao nhất trong năm. Tháng có hàm lượng ôxy hòa tan cao nhất là tháng 1, 2, 3, 4, tháng 11 và tháng 12 đạt trung bình từ 4,3 - 5,4 mg/L, tương đương với thời điểm có nhiệt độ nước là thấp nhất trong quá trình nuôi (Hình 3).



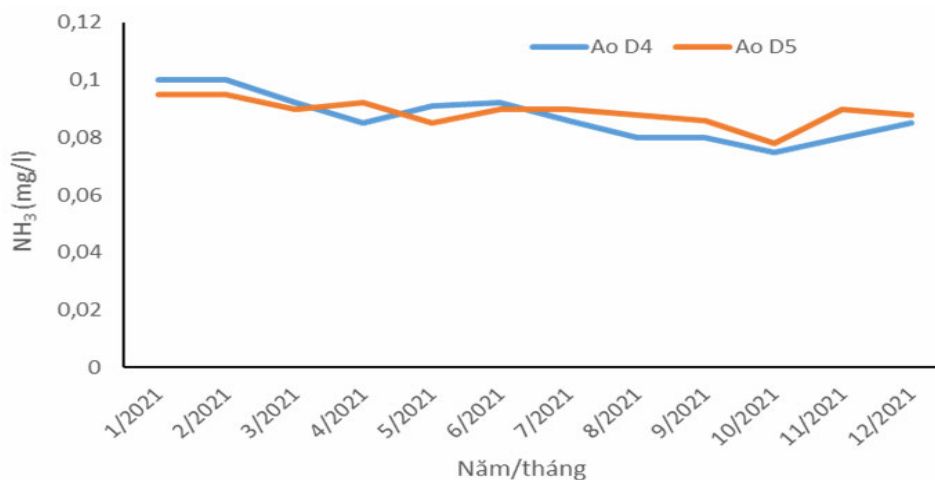
Hình 3. Biến động hàm lượng ô xy hòa tan trong các ao nuôi cá thí nghiệm

Nghiên cứu của Boyd (1990) [11] cũng chỉ ra rằng, những loài cá sống trong vùng nhiệt đới sẽ chết nếu hàm lượng ôxy dưới 0,3 mg/l trong ít giờ. Nồng độ ôxy 1 mg/l là nồng độ cần thiết để cá chống chịu ở trạng thái nghỉ ngơi trong vài giờ. Nồng độ ôxy thích hợp cho cá phải lớn hơn 3,5 mg/l. Vì vậy, kết quả phân tích ôxy hòa tan tại 4 ao nuôi cá măng thí nghiệm (3,5 - 5,4 mg/l) là phù

hợp cho cá sinh trưởng và phát triển.

3.1.1.4. Biến động NH_3

Kết quả phân tích hàm lượng NH_3 trong nước ao thí nghiệm cho thấy, hàm lượng NH_3 trung bình trong năm dao động 0,08 - 0,12 mg/L, cao nhất vào tháng 1, 2 (1,2 mg/L), thấp nhất vào tháng 9, 10 (0,08 mg/L) (Hình 4).



Hình 4. Biến động hàm lượng NH_3 trong các ao nuôi cá thí nghiệm

Theo Boyd (1990) [11], nồng độ NH_3 an toàn khi tiếp xúc lâu dài khoảng 0,05 mg/L đến 0,15 mg/L đối với cá nước ngọt vùng nhiệt đới. Mức NH_3 cao thường phổ biến nhất trong ao nuôi sử dụng thức ăn có hàm lượng protein cao [11]. Hàm lượng NH_3 có xu hướng tăng khi lượng thức ăn sử dụng tăng để đáp ứng nhu cầu tăng trưởng của cá. Trong nghiên cứu này, thức ăn cho cá được cho vào sàng ăn, thức ăn dư thừa được thu lại sau 1 giờ cho cá ăn, kết hợp với việc thay nước ao thường xuyên nên hàm lượng NH_3 trong ao luôn thấp, chất lượng nước được đảm bảo.

3.2. Kết quả nghiên cứu về đặc điểm phân biệt giới tính

3.2.1. Phân biệt qua các đặc điểm hình thái

Kết quả quan sát hình thái và tuyến sinh dục của -6 mẫu cá măng tuổi 3⁺ và -6 mẫu cá măng tuổi 4⁺ cho thấy, một số đặc điểm có thể sử dụng để xác định giới tính cá gồm: (i) cá cái có tuyến sinh dục phát triển, thường bụng to hơn bụng cá đực; (ii) nhìn ngang thân cá đực thường nhỏ, thon và dài hơn cá cái; (iii) vây ngực cá cái mềm, trơn, vây ngực cá đực thô, ráp. Kết quả quan sát và giải phẫu tuyến sinh dục cá măng cũng cho thấy, khi cá đã thành thục, cá cái có lỗ sinh dục sưng to, có màu

hồng, bụng cá phình to, có vết lõm rõ ràng ở giữa bụng khi lật ngửa cá. Cá đực có bụng hẹp, phẳng, khi cá đã thành thục (trong mùa sinh sản), lật ngửa cá, dùng tay ấn nhẹ lên bụng cá phần sát vây hậu môn có thể thấy tinh dịch màu trắng đục chảy ra.

Tuy nhiên, theo Mai Đình Yên (1991) [12], sự khác biệt về một số đặc điểm hình thái giữa cá đực và cá cái ở một số loài cá tồn tại suốt đời, nhưng ở một số loài cá khác chúng chỉ khác nhau trong thời gian sinh sản. Ở cá măng cũng vậy, kết quả nghiên cứu này cho thấy, có thể phân biệt cá đực và cá cái thông qua một số đặc điểm hình thái bên ngoài (vây ngực, vây đuôi), nhưng sự khác biệt này chỉ tồn tại trong thời gian cá tham gia sinh sản. Do vậy, trong quá trình tạo đàn cá măng bố mẹ phục vụ cho sản xuất giống, việc đánh dấu cá đực và cá cái hoặc nuôi riêng cá đực và cá cái sẽ thuận lợi hơn khi lựa chọn cá bố mẹ cho sinh sản.

3.2.2. Phân biệt qua kích thước cá đực và cá cái

Về kích thước, ở cùng một độ tuổi (từ tuổi 2⁺ - 5⁺), cá măng cái có chiều dài thân và khối lượng thân lớn hơn cá măng đực (Bảng 2).

Bảng 2. So sánh khối lượng và kích thước giữa cá cái và cá đực ở cùng độ tuổi

Độ tuổi	Giới tính			
	Cá măng cái		Cá măng đực	
	TL (cm)	BW (kg)	TL (cm)	BW (kg)
2 ⁺	48,2 ± 4,6	2,9 ± 0,3	44,5 ± 4,3	2,4 ± 0,4
3 ⁺	59,8 ± 5,1	3,4 ± 0,3	54,6 ± 4,6	2,9 ± 0,4
4 ⁺	63,4 ± 4,6	4,2 ± 0,5	61,3 ± 4,9	2,5 ± 0,4
5 ⁺	65,8 ± 4,6	5,2 ± 0,4	62,7 ± 4,0	4,4 ± 0,5

Ghi chú: TL là chiều dài trung bình thân cá ± SD; BW là khối lượng trung bình thân cá ± SD.

Trong tự nhiên, sự phát triển tuyến sinh dục của các loài cá có liên quan đến sự hình thành các đặc điểm sinh dục phụ, trong đó khác biệt thông thường nhất là kích thước cá đực và cá cái [13]. Cá cái thường lớn hơn cá đực, điều đó có ý nghĩa thích nghi vì nhờ đó mà đảm bảo mức sinh sản của đàn cá trong tự nhiên cao [13].

Với cá măng, kết quả nghiên cứu của Liang (1984) [14] cũng đã ghi nhận, trong tự nhiên kích thước cá măng cái lớn hơn cá măng đực ở cùng độ tuổi, khi cá càng lớn thì sự khác biệt này càng rõ

ràng. Nghiên cứu của Mi và cs (2007) [15] cũng cho thấy, ngoài tự nhiên khi cá măng trưởng thành (tuổi 4⁺), cá đực thường có kích thước nhỏ, thân thon dài hơn thân cá cái. Tóm lại, để phân biệt chính xác cá đực và cá cái trong điều kiện nuôi, cần nhận biết thông qua các đặc điểm về hình dạng, kích thước và một số đặc điểm hình thái bên ngoài (vây ngực, vây đuôi, cơ quan sinh sản) của cá. Trong đó, đặc điểm phân biệt giới tính rõ nhất ở cá măng là vây ngực cá cái mềm trơn, vây ngực cá đực thô, ráp khi cá đã thành thục. Đây là những

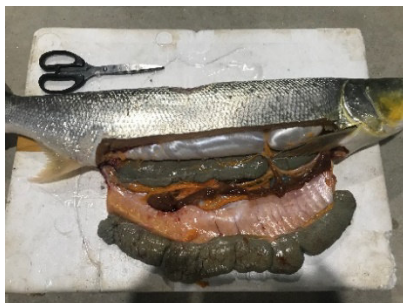
đặc điểm chính giúp phân biệt và lựa chọn cá măng đực và cá măng cái cho tham gia sinh sản nhân tạo.

3.3. Cấu tạo tuyến sinh dục của cá măng

3.3.1. Cấu tạo buồng trứng và kích thước noãn bào

- Cấu tạo buồng trứng

Kết quả giải phẫu 4 mẫu cá măng (khối lượng 3,4, 3,8, 4,2 và 4,9 kg) có buồng trứng đã phát triển cho thấy, buồng trứng cá măng là một tuyến đôi, gồm 2 nhánh có hình túi dài nằm trong xoang bụng và treo lên vách xoang cơ thể nhờ màng treo buồng trứng. Hai nhánh này nằm ở hai bên ruột và ở dưới bóng hơi. Hai nhánh của buồng trứng phát triển đồng đều, ít chênh lệch nhau về kích thước.



Khi thành thực, buồng trứng có kích thước khá lớn, chiếm hầu hết xoang cơ thể, có màu sắc biến đổi từ xanh nhạt, xanh đến xanh đậm. Trên màng buồng trứng có hai mạch máu chính chạy ở giữa dọc theo chiều dài buồng trứng. Từ mạch máu chính phân ra nhiều mao mạch phân bố khắp màng buồng trứng. Hai nhánh của buồng trứng hợp lại ở phía cuối và thông ra ngoài qua lỗ sinh dục. Buồng trứng chứa nhiều tế bào trứng có kích thước nhỏ, trứng có màu xanh xám, hạt trứng nhỏ, đồng đều, có kích thước trung bình $1,6 \pm 0,4$ mm. Trứng cá đã thành thực (giai đoạn IV) khi tiếp xúc với nước không xuất hiện tính dính, trứng trương nước nhanh, gia tăng về kích thước (Hình 5).



Hình 5. Buồng trứng điển hình của cá măng

Như vậy, trứng cá măng cái có các đặc điểm cấu tạo buồng trứng tương tự các loài cá xương, có tập tính đẻ trứng trôi nổi (trứng không có tính dính, trương nước nhanh, gia tăng kích thước khi tiếp xúc với nước). Những loài cá này thường không có tập tính bảo vệ trứng và cá con nên có sức sinh sản cao, điều đó có ý nghĩa thích nghi đáng kể vì nhờ đó mà đảm bảo được sự duy trì quần đàn ngoài tự nhiên [13]. Với những loài cá này, khi thu trứng cá để thụ tinh cần bắt cá nhẹ nhàng, vuốt nhẹ bụng cá từ trên xuống hậu môn để thu trứng và không để nước vào bát trứng khi trứng chưa thụ tinh [15].

- Kích thước noãn bào

Kích thước noãn bào ở giai đoạn sinh trưởng chất và biến đổi nhân dao động $41,8 - 59,7$ μm . Sang giai đoạn tích lũy noãn hoàng, noãn bào có kích thước tăng lên đáng kể và dao động $125,5 - 290$ μm . Ở giai đoạn chín và rụng trứng, noãn bào có kích thước trung bình $308,5 \pm 24,4$ μm (Bảng 3).

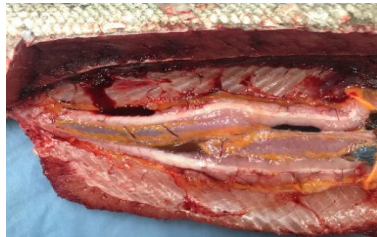
Bảng 3. Kích thước noãn bào ở các pha phát triển khác nhau

Các pha phát triển của noãn bào	Đường kính (μm)
Pha 1, 2 (Pha nhân, tiền ngoại vi nhân)	$41,8 \pm 6,1$
Pha 3 (Pha ngoại vi nhân)	$59,7 \pm 7,6$
Pha 4 (Pha không bào hóa)	$125,5 \pm 12,4$
Pha 5 (Pha thể noãn hoàng)	$294,0 \pm 19,2$
Pha 6 (Pha cực hóa, chín, rụng)	$308,5 \pm 24,4$

Sự phát triển và cấu trúc mô học noãn sào cá măng cũng giống với cá mè trắng, cá mè hoa, cá Rohu. Các noãn bào đều trải qua các quá trình biến đổi phức tạp và tuân theo quy luật chung của các loài cá xương. Ở nghiên cứu này, noãn bào thời kỳ III và IV chỉ phát hiện được trong các noãn sào ở các tháng 4, 5 và 6. Qua đó, bước đầu có thể nhận định được mùa vụ sinh sản của cá măng trong môi trường nuôi là từ tháng 4 - 6 trong năm và sớm hơn so với kết quả nghiên cứu về mùa vụ sinh sản của cá măng trên sông Trường Giang (Trung Quốc) (tháng 5 - 7) của Mi (2007) [15]. Điều này có thể được giải thích do điều kiện tự

nhiên, nhiệt độ nước sông (sông Trường Giang) biến động từ 22 - 28°C từ tháng 4 - 7 hàng năm là thấp hơn nhiệt độ ở các ao nuôi cá trong thí nghiệm này (28 - 31°C) nên cá ngoài tự nhiên có thời gian tích lũy tổng nhiệt thành thực chậm hơn so với nuôi trong ao, do đó cá ngoài tự nhiên thường có mùa sinh sản muộn hơn so với cá nuôi trong ao.

3.3.2. Cấu tạo tinh sào



Hình 6. Tinh sào cá măng

Kết quả mô tả ở trên cho thấy, tuyến tinh sào của cá măng có cấu tạo hình túi theo mô hình chung của cá xương. Cá đực của những loài cá này có cấu trúc tuyến tinh sào dạng hình túi, không phân thùy, nằm thẳng theo xoang bụng nên trong sinh sản nhân tạo có thể thu tinh cá bằng cách vuốt nhẹ bụng cá từ đầu xuống phía hậu môn để thu tinh cá như hầu hết các loài cá có vảy nước ngọt khác. Đặc điểm này rất quan trọng, giúp định

Về cấu tạo tuyến tinh sào, kết quả giải phẫu cho thấy, tuyến tinh sào có phần trước rộng hơn và hẹp dần lại ở phần sau. Ở giai đoạn còn non, tuyến tinh sào của cá măng là một dải màu trắng trong, nhỏ, mảnh nằm thẳng theo xoang bụng, gần xương sống và các xương sườn. Kích thước của tinh sào tăng dần trong quá trình phát triển và thay đổi màu sắc từ trắng trong qua trắng đục (Hình 6).

hướng và lựa chọn phương pháp phù hợp nhất để thu tinh cá đực, phục vụ cho sinh sản nhân tạo cá măng.

3.4. Tuổi và kích thước cá thành thực lần đầu

Kết quả kiểm tra tỉ lệ thành thực của cá măng cái theo 4 nhóm tuổi và kích thước từ tháng 3 - 7/2021 được trình bày ở bảng 4.

Bảng 4. Tỉ lệ thành thực của cá măng cái theo độ tuổi

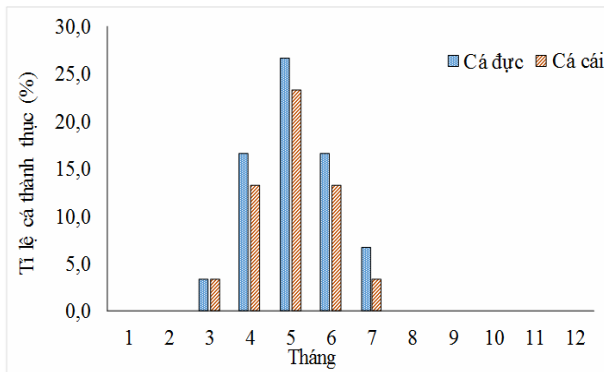
Tuổi	Kích thước (cm)	Khối lượng (kg)	Tuổi	Số cá thể thành thực giai đoạn III, IV	Số cá thể trong nhóm (con)	Tỉ lệ thành thực (%)
2 ⁺	40,0 - 52,0	2,0 - 2,7	2 ⁺	0	15	0
3 ⁺	53,8 - 59,6	2,8 - 3,3	3 ⁺	1	15	6,7
4 ⁺	60,0 - 63,0	3,4 - 4,3	4 ⁺	6	15	40
5 ⁺	63,5 - 66,8	4,4 - 5,2	5 ⁺	8	15	53,3

Kết quả ở bảng 4 cho thấy, nhóm cá có độ tuổi 2⁺ tương ứng khối lượng 2,0 - 2,7 kg/con không có cá thể nào thành thực; nhóm cá tuổi 3⁺ có tỉ lệ cá mang tuyến sinh dục ở giai đoạn III, IV là 6,7%, tương ứng với kích thước 2,8 - 3,4 kg/con. Nhóm tuổi 4⁺ và tuổi 5⁺ mang tuyến sinh dục giai đoạn III, IV chiếm tỉ lệ khá cao từ 40 - 53,3%, tương ứng với kích thước 3,4 - 4,3 kg/con và 4,4 - 5,2 kg/con. Như vậy, cá măng cái ở nhóm tuổi 3⁺ có tỉ lệ cá

thành thực là 6,7%, xét về số lượng chỉ có 1 cá thể cá cái thành thực trong tổng số 15 cá thể theo dõi. Kết quả này chưa đủ cơ sở để khẳng định cá măng cái thành thực ở độ tuổi 3⁺. Với nhóm cá có độ tuổi 4⁺ và 5⁺, tỉ lệ cá thành thực đạt 40 - 53,3%, với tỉ lệ thành thực này, bước đầu có thể nhận định, cá măng cái trong điều kiện nuôi giữ, thành thực lần đầu khi cá đạt khối lượng trung bình từ 3,4 kg/con trở lên với độ tuổi 4⁺.

Trong nghiên cứu về đặc điểm sinh học sinh sản của cá măng, Zhang Quin (2016) [17] đã nhận thấy cá măng cái ngoài tự nhiên thành thực sinh dục lần đầu ở độ tuổi 5⁺ với khối lượng cá từ 5,0 kg/con trở lên. Tuy nhiên, trong điều kiện nuôi giữ nhân tạo, nghiên cứu này lại ghi nhận rằng cá măng cái thành thực ở độ tuổi 4⁺ với khối lượng > 4 kg. Như vậy, cũng như các kết quả nghiên cứu trước đây, kết quả nghiên cứu này cho thấy, cá măng trong điều kiện nuôi giữ, tuổi thành thực lần đầu của cá sớm hơn 1 tuổi so với cá ngoài tự nhiên. Những cá thể cá cái có khối lượng từ 3,4 kg/con trở lên ở độ tuổi 4⁺ đều có thể tham gia sinh sản.

3.5. Mùa vụ sinh sản của cá măng trong môi trường nuôi giữ



Hình 7. Tỉ lệ thành thực của cá măng qua các tháng trong năm (n = 15)

Qua 12 tháng theo dõi (từ tháng 1 - 12/2021) nhận thấy, tỉ lệ thành thực tuyến sinh dục của cá cái và cá đực bắt đầu tăng nhanh từ tháng 4 - 6, cao nhất vào tháng 5 (cá cái: 33,3%; cá đực: 40,0%). Sau thời gian này, tỉ lệ cá măng có buồng trứng giai

đoạn IV giảm dần, từ tháng 8 trở đi, từ tháng 9 - 12 thì tỉ lệ thành thực của cá là 0% (Hình 7).

Wang và Tian (1990) [16] khi nghiên cứu về đặc điểm sinh sản của cá măng ngoài tự nhiên (tại hồ chứa Weishuei, tỉnh Hồ Bắc, Trung Quốc) đã ghi nhận, cá sinh sản tự nhiên tại hồ từ tháng 5 - 7 trong năm, tỉ lệ thành thực của cá đạt cao nhất vào tháng 6 và 7, dao động từ 55,7 - 58,3% với cá cái, 61,4 - 67,5% với cá đực. Nghiên cứu của Li Zhen (2011) [14] cũng cho rằng, mùa vụ sinh sản của cá măng ngoài tự nhiên trên sông (sông Trường Giang, Trung Quốc) thành thực từ tháng 5 - 7 hàng năm với tỉ lệ thành thực ở cá cái từ 57,4 - 61,3%, cá đực 71,3 - 73,7%. Với cá măng trong môi trường nuôi giữ, kết quả trong nghiên cứu này cho thấy cá măng bố mẹ được nuôi trong ao có mùa vụ sinh sản từ tháng 4 - 6, sớm hơn 1 tháng so với cá ngoài tự nhiên trong nghiên cứu của Wang và Tian (1990) [16], Zhang Quin (2016) [17]. Nguyên nhân chính có thể là do nhiệt độ nước ao nuôi trong năm (16,2 - 33,4°C) của nghiên cứu này cao hơn so với nhiệt độ nước hồ chứa Weishuei (12,4 - 30,2°C) trong nghiên cứu của Wang và Tian (1990) [16]. Kết quả này là cơ sở khoa học để xây dựng được thời gian lựa chọn và tiến hành nuôi vỗ cá măng bố mẹ một cách phù hợp để đưa vào thực tiễn sản xuất.

3.6. Sức sinh sản của cá măng trong môi trường nuôi giữ

Sức sinh sản tuyệt đối của cá dao động 30.192 - 83.687 trứng, sức sinh sản tương đối dao động 9,1 - 16,7 trứng/g cá cái (Bảng 5).

Bảng 5. Sức sinh sản của cá măng trong môi trường nuôi giữ

Nhóm kích thước (kg)	Chiều dài thân cá (cm)	Khối lượng thân cá (g)	Số mẫu	Sức sinh sản tuyệt đối (trứng/cá cái)	Sức sinh sản tương đối (trứng/g cá cái)
3,4 - 4,1	57,4 ± 4,2	3.287 ± 129,6	3	30.192 ± 2286	9,2 ± 0,9
4,2 - 4,7	61,8 ± 6,1	3.759,8 ± 172,3	3	54.476 ± 5077	14,5 ± 1,5
4,8 - 5,2	68,8 ± 5,7	4.998,6 ± 146,3	3	83.687 ± 8.424	16,7 ± 1,4

Kết quả nghiên cứu cho thấy, sức sinh sản của cá măng cái tỉ lệ thuận với khối lượng thân cá (giai đoạn 3.287 - 4.998,6 g/con), cá có kích thước càng lớn thì sức sinh sản tuyệt đối càng cao. Cá có khối lượng trung bình 3.287 ± 129,6 g/con có sức sinh

sản tuyệt đối trung bình 30.192 ± 2.286 trứng/cá cái, cá có khối lượng trung bình 3.759,8 ± 172,3 g/con đạt trung bình 54.476 ± 5.077 trứng/cá cái và cá có khối lượng trung bình 4.998,6 ± 146,3 g/con đạt trung bình 83.687 ± 8.424 trứng/cá cái.

Kết quả nghiên cứu này thấp hơn nhiều so với nghiên cứu về cá măng ngoài tự nhiên của Mi và cs (2007) [15] với sức sinh sản tuyệt đối của cá măng từ 105.000-378.000 trứng/cá cái, của Zhang Quin (2016) [17] từ 105.000-315.000 trứng/cá cái. Nguyên nhân có thể là do khối lượng cá cái trong nghiên cứu này (3.287 - 4.998,6 g/con) là nhỏ hơn nhiều so với khối lượng cá cái trong nghiên cứu của Mi và cs (2007) [15], Zhang Quin (2017) [17] với khối lượng từ 6.000 g/con trở lên.

4. KẾT LUẬN

Trong điều kiện nuôi giữ (trong ao, trong lồng), cá măng cái thành thực lần đầu ở độ tuổi 4⁺, với khối lượng trung bình 3,4 kg/con; cá sinh sản 1 lần trong năm. Mùa vụ sinh sản của cá từ tháng 4 - 6, tập trung nhiều vào tháng 5; sức sinh sản trung bình tuyệt đối của cá từ 30.192 - 83.688 trứng/cá cái tương ứng với khối lượng của cá từ 3,4 - 5,2 kg/con.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Kottelat, M (2001). Fishes of Laos, Printed in Srilanka by Gunaratne Offest ltd.
2. Võ Văn Bình và Nguyễn Hải Sơn (2019). Hiện trạng khai thác nguồn lợi cá măng (*Elopichthys bambusa* Richardson, 1845) ở một số tỉnh miền Bắc và Bắc Trung bộ Việt Nam. *Tạp chí Khoa học nông nghiệp*. No: 7, 558 - 565.
3. Bộ Khoa học và Công nghệ (2007). Sách Đỏ Việt Nam, phần động vật (Red data book of Vietnam). NXB Khoa học Tự nhiên và Công nghệ Quốc gia.
4. Huckstorf, V (2012). "*Elopichthys bambusa*". The IUCN Red List of Threatened Species.
5. Froese, Rainer, Pauly and Daniel (2019). "*Elopichthys bambusa*" in FishBase. March 2019 version
6. Yang Wei, Fan QiXue, Zong KeJin, Song Lin, Zhang YunLong, Peng Cong & Hu PeiPei (2012). Studies on the growth of *Elopichthys bambusa* and its utilization in fisheries in Weishuei Reservoir. *Chinese Journal of Animal Nutrition*. Vol. 24 No. 7 pp. 1255 - 1263 ref. 28.
7. Võ Văn Bình, Phạm Văn Phong, Nguyễn Quang Huy & Nguyễn Hải Sơn (2017). Nghiên cứu thử nghiệm sinh sản nhân tạo cá măng (*Elopichthys bambusa* Richardson, 1845). *Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển nông thôn kỳ 2, tháng 9/2017*, 124 - 128.
8. Pravdin I. F (1973). Hướng dẫn nghiên cứu cá (Người dịch Phạm Thị Minh Giang). Hà Nội (VN): Nxb Khoa học và Kỹ thuật; 1973. 275 p.
9. Wylie M, Symonds J, Setiawan A, Irvine G, Liu H, Elizur A & Lokman P. (2019), Transcriptomic changes during previtellogenic and vitellogenic stages of ovarian development in Wreckfish (*Hapuku*), *Polyprius oxygeneios* (Perciformes). *Fishes*, 4 (1), 16.
10. Biswas S. P (1993). Manual of methods in Fish Biology, South Asian Publishers, Pvt Ltd. New Delhi, 157 pp.
11. Boyd, C. E (1990). Water quality in ponds for aquaculture. Agriculture Experiment Station, Auburn University, Alabama, 482 pages.
12. Mai Đình Yên (1991). Nguồn lợi cá tự nhiên ở các thủy vực nước ngọt và vấn đề quản lý trong thời gian tới. Các công trình nghiên cứu khoa học kỹ thuật thủy sản (1986 - 1990). Vụ Quản lý Khoa học kỹ thuật và Tập san Thủy sản (trang 51 - 55).
13. Nicolsky G. V (1963). Ecology of fishes. London (UK): Academic press London.
14. Liang Zhi Sang (1984). Tập tính sinh sản và sự phát triển tuyến sinh dục của cá măng *Elopichthys bambusa* (Richardson, 1845) tại sông Trường Giang và Hán Giang. *Tạp chí Sinh học thủy sản*, 1984 (4): 389 - 400 (in Chinese).
15. Mi. G. Q, Shen. T. S, Xu. G. X, Huang. X. M, Gu. Z. M, Jia. Y. Y & Liu Q. W (2007). Artificial propagation and embryonic development of *Elopichthys bambusa*, *J. Fish. China* 31 (5), 639 - 646.
16. Wang. D & Tian. J. L (1990). Studies on the growth of *Elopichthys bambusa* and its utilization in fisheries in Weishuei Reservoir, *Acta Ecol. Sin.* 10 (4) (1990) 349 - 354.
17. Zhang Quin (2016). Kỹ thuật thuần dưỡng và sinh sản nhân tạo cá măng *Elopichthys bambusa* (Richardson, 1845). *Tạp chí Thủy sản Hồ Bắc*, 2016, 1: 47 - 48 (Tài liệu tiếng Trung).

**STUDY ON THE REPRODUCTION BIOLOGY CHARACTERISTICS OF YELLOWCHEEK
(*Elopichthys bambusa* Richardson, 1844) UNDER CULTURE CONDITIONS**

Nguyen Hai Son¹, Vo Van Binh¹, Dang Thi Lua²

¹*National Freshwater Broodstock Centre*

²*Research Institute for Aquaculture No1*

Summary

Study on yellowcheek's reproductive characteristics in captivity was conducted from 1 - 12/2021. Selecting 120 fish (60 male and 60 female) with a weight of 2.4 - 5.2 kg per individual at age of 2⁺ - 5⁺ was used for the experiment. The experimental fish was divided into four different age groups (2⁺, 3⁺, 4⁺ and 5⁺) with each group containing 15 female and 15 male. All fish in each group was stocked in a same pond, with an area of 500 m². Research indicated that male and female fish exhibit distinguishable external morphological characteristics, such as pectoral and caudal fins, during the reproductive time. In the captivity, females reached maturity at age 4⁺, male reached maturity at age 3⁺. The fish typically spawns once a year from April to June, with the peak season in May. Depending on body weight, absolute female fecundity ranged from 30,192 eggs (BW: 3,287 ± 129,6 grams) to 83,688 eggs (BW: 4,998,6 ± 146,3 grams) per captive individual. This result provides technical conditions for yellowcheek seed production trials.

Keywords: *Yellowcheek, spawning season, fecundity.*

Người phản biện: TS. Phan Đình Phúc

Ngày nhận bài: 3/10/2023

Ngày thông qua phản biện: 11/12/2023

Ngày duyệt đăng:

HIỆN TRẠNG VÀ MỘT SỐ GIẢI PHÁP PHÁT TRIỂN BỀN VỮNG NGHỀ NUÔI CÁ LỒNG TẠI HỒ HÒA BÌNH, TỈNH HÒA BÌNH

Kim Minh Anh¹, Vũ Đức Mạnh^{1,4},

Vũ Tuấn Anh⁵, Nguyễn Thị Hạnh Tiên²,

Nguyễn Thị Thu Hiền³, Hoàng Thị Thu Hương³, Kim Văn Vạn^{1,*}

TÓM TẮT

Bài báo cung cấp hiện trạng nuôi cá lồng tại hồ Hòa Bình, tỉnh Hòa Bình trên cơ sở phương pháp điều tra khảo sát thực tiễn của 60 cơ sở nuôi cá với 811 lồng trong thời gian từ tháng 10/2022 đến tháng 7/2023. Kết quả cho thấy, hầu hết các cơ sở nuôi cá lồng ở khu vực điều tra đều ở quy mô hộ gia đình (chiếm 86,7%), phổ biến là nuôi các loài thủy đặc sản giá trị cao, ngoài ra một số cơ sở kết hợp phát triển du lịch sinh thái để tăng thêm thu nhập. Về nguồn gốc cá giống: Chủ yếu thu gom đánh bắt từ tự nhiên, chưa chủ động sản xuất được con giống một số loài cá. Tỷ lệ lồng bỏ trống chiếm 23,7% do cơ sở nuôi vận hành lồng không hiệu quả hoặc đang chuẩn bị cho vụ nuôi mới. Hầu hết các cơ sở nuôi sử dụng lồng lưới khung kim loại có kích thước 6 x 6 x 3 m, lồng nuôi công nghệ cao đã bắt đầu xuất hiện. Đa số cơ sở được điều tra thường kết hợp thức ăn viên và cá tạp. Chất lượng cá thương phẩm nuôi lồng trên hồ Hòa Bình được đánh giá cao tuy nhiên tiêu thụ sản phẩm còn khó khăn. Một số giải pháp bao gồm: Giám sát sự phát triển lồng nuôi trong vùng quy hoạch, thực hiện quy định về thuốc hóa chất, nâng cao trình độ chuyên môn người nuôi, đầu tư sản xuất giống và quản lý môi trường vùng nuôi và tăng cường liên kết sản xuất - tiêu thụ.

Từ khóa: *Hiện trạng, giải pháp, nuôi cá lồng, hồ Hòa Bình.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Hồ Hòa Bình có diện tích trên 10.450 ha nằm trên địa bàn tỉnh Hòa Bình và các huyện: Cao Phong, Đà Bắc, Tân Lạc, Mai Châu với chiều dài trên 80 km. Hồ Hòa Bình có tiềm năng lớn về diện tích mặt nước phát triển nghề nuôi cá lồng với các đối tượng nuôi bản địa như cá trắm cỏ, cá chép, cá bống và một số loài có giá trị kinh tế như cá nheo mỳ, cá chiên, cá tầm...[1]. Hiện nay, hồ Hòa Bình được định hướng phát triển nuôi cá lồng quy mô

lớn, là trọng điểm của khu vực phía Bắc. Tính riêng năm 2022, theo Chi cục Thủy sản tỉnh Hòa Bình thống kê có 4.890 lồng cá thuộc hơn 1.000 cơ sở nuôi, sản lượng đạt gần 10.000 tấn [2]. Song hành cùng với nghề nuôi, thương hiệu cá sông Đà của hồ Hòa Bình đã xây dựng từ nhiều năm nay và được thị trường ghi nhận. Do đó, nuôi cá lồng là một trong những sinh kế quan trọng, mang lại việc làm và thu nhập cho người dân khu vực lòng hồ.

Tuy nhiên, việc phát triển nghề nuôi cá lồng hiện đang gặp phải một số khó khăn, hạn chế như vấn đề về ô nhiễm môi trường cục bộ, thị trường tiêu thụ gặp nhiều khó khăn, giá cả nguyên liệu đầu vào tăng cao,... ảnh hưởng đến hiệu quả và tính bền vững trong sản xuất. Để thúc đẩy nghề nuôi cá lồng phát triển bền vững, những thông tin liên quan đến các đối tượng nuôi này cần được cập

¹ Khoa Thủy sản, Học viện Nông nghiệp Việt Nam

² Trường Đại học Phenikaa

³ Đại học Bách khoa Hà Nội

⁴ NCS Viện Nghiên cứu Nuôi trồng Thủy sản 1

⁵ Học viên Cao học, Khoa Thủy sản, Học Viện Nông nghiệp Việt Nam

*Email: kvvan@vnua.edu.vn

nhật thường xuyên để đưa giải pháp kịp thời. Một số nghiên cứu về hiện trạng kỹ thuật cũng đã chỉ ra các thuận lợi và khó khăn của nghề nuôi cá lồng nói chung ở khu vực lòng hồ Thác Bà, Yên Bái [3] và nghề nuôi cá nheo mỹ nói riêng tại một số vùng nuôi trọng điểm khu vực phía Bắc, trong đó có Hòa Bình [4]. Nghiên cứu này được thực hiện để đánh giá hiện trạng và đề xuất một số giải pháp nhằm góp phần phát triển bền vững nghề nuôi cá lồng tại Hòa Bình.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Thời gian, địa điểm nghiên cứu

Nghiên cứu được thực hiện từ tháng 10/2022 đến tháng 7/2023 tại hồ Hòa Bình, tỉnh Hòa Bình (thành phố Hòa Bình và 3 huyện Đà Bắc, Cao Phong, Tân Lạc), đây là vùng chủ lực tập trung nhiều cơ sở nuôi cá lồng trên hồ chứa, có sản lượng cá và quy hoạch phát triển nuôi cá lồng thành vùng nuôi tập trung.

2.2. Phương pháp điều tra, thu thập thông tin, xử lý số liệu

2.2.1. Thu thập thông tin thứ cấp

Thông tin, số liệu được thu thập qua các xuất bản thống kê, báo cáo của các đơn vị liên quan của tỉnh Hòa Bình (Chi cục Thủy sản, Sở Nông nghiệp và PTNT, Phòng Nông nghiệp huyện) và báo cáo, ấn phẩm khoa học làm cơ sở để điều tra, khảo sát.

2.2.2. Phương pháp lựa chọn mẫu điều tra, khảo sát

Chọn mẫu điều tra: Quá trình điều tra được thực hiện trên cơ sở chọn mẫu phân tầng với chỉ tiêu lựa chọn vùng có nuôi trồng thủy sản quan trọng thông qua số liệu thống kê. Phương pháp chọn mẫu điều tra tại các huyện được bốc thăm ngẫu nhiên tối thiểu 10% tổng số cơ sở nuôi cá lồng. Qua việc chọn ngẫu nhiên, 60 cơ sở nuôi đã được lựa chọn để thực hiện quá trình điều tra, khảo sát.

2.2.3. Phương pháp điều tra, khảo sát

Phương pháp đánh giá nhanh nông thôn có sự tham gia của người dân (PRA): Bao gồm 8 bước theo mô tả của Nguyễn Duy Cần và Nico Vromant (2009) [5] và Vũ Đức Mạnh và cs (2022) [4].

Phương pháp điều tra bổ sung: Số liệu được thu thập thông qua việc xây dựng bộ câu hỏi điều tra, lựa chọn phương pháp phỏng vấn và tiến hành phỏng vấn trực tiếp các cơ sở nuôi cá lồng. Điều tra các hộ nuôi cá lồng chứa các thông tin vụ nuôi trước kia và hiện tại bao gồm: Số ô lồng, loài nuôi, ngày thả, quản lý và chăm sóc cá lồng. Bộ câu hỏi được xây dựng sau khi điều tra thử đối với 5 hộ, sau đó điều chỉnh sửa đổi cho phù hợp trước khi chính thức điều tra phỏng vấn 60 hộ [1].

2.2.4. Phương pháp phân tích và xử lý số liệu

Số liệu điều tra phỏng vấn được mã hóa, xử lý trên phần mềm Excel 2016. Sử dụng thống kê mô tả: trung bình $\pm$ độ lệch chuẩn, lớn nhất, nhỏ nhất, tỷ lệ (%) và kiểm định mẫu.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Các yếu tố tự nhiên và tiềm năng nuôi cá lồng khu vực hồ Hòa Bình

Hồ Hòa Bình có nhiều lợi thế, tiềm năng để phát triển nghề nuôi cá lồng bè, đặc biệt là trên hồ thủy điện. Các vị trí nuôi cá lồng khu vực hồ Hòa Bình được thể hiện ở hình 1.

Kết quả khảo sát và thu thập số liệu thứ cấp cho thấy, hồ Hòa Bình có hơn 10.000 ha mặt nước đáp ứng điều kiện cho phát triển nuôi cá lồng theo QCVN02-33-3:2021/BNNPTNT (Bảng 1) [6]. Tuy nhiên, chỉ một phần trong số đó được đưa vào khai thác với 16 lưu vực sông (32,0%) và 13 hồ chứa lớn (44,8%). Các hộ gia đình nuôi nhỏ lẻ đăng ký lồng bè còn gặp khó khăn do quy định về giao, cho thuê mặt nước [7]. Bên cạnh đó, khó khăn trong phân định ranh giới với giao thông đường thủy cũng là một thách thức đối với người dân.



3.2. Hiện trạng nuôi cá lồng khu vực hồ Hòa Bình

3.2.1. Tình hình nuôi cá lồng khu vực hồ Hòa Bình

Theo số liệu điều tra, đa phần các cơ sở đều có quy mô gia đình, chỉ một phần nhỏ đạt quy mô

doanh nghiệp, hoặc hợp tác xã. Quy mô nuôi nhỏ lẻ đã gây không ít khó khăn trong việc quản lý tình hình dịch bệnh, chất lượng sản phẩm không đồng nhất gây bất cập trong xây dựng hệ thống truy xuất nguồn gốc và thương hiệu của sản phẩm.

Bảng 1. Thông tin cơ bản vùng nuôi cá lồng khu vực hồ Hòa Bình

Huyện/thành phố	Tổng số cơ sở điều tra	Tổng số lồng nuôi	Quy mô cơ sở nuôi	
			Doanh nghiệp	Hộ gia đình
Cao Phong	3	130	2	1
Đà Bắc	8	35	0	8
Hoà Bình	30	479	4	26
Tân Lạc	19	167	2	17
Tổng (tỷ lệ)	60	811	8 (13,3%)	52 (86,7%)

Chú thích: Quy mô trang trại có giá trị sản xuất bình quân đạt ≥ 2 tỷ đồng/năm hoặc tổng diện tích đất sản xuất $\geq 1,0$ ha; quy mô cơ sở gia đình có giá trị sản xuất và diện tích thấp hơn quy mô trang trại (theo Thông tư số 02/2020/TT-BNNPTNT)

Theo kết quả điều tra, đa số lồng nuôi có kích thước rộng 6 m x dài 6 m x sâu 3 m (81,7%) và có khung kim loại (85,0%) (Hình 2). Lồng nuôi HDPE theo công nghệ Na Uy đã được ứng dụng tại một

số cơ sở nuôi, tuy nhiên chưa phát triển rộng rãi nuôi lồng trên hồ do chi phí vận hành cao, đồng thời sản xuất sản lượng ở ạt sẽ gặp khó khăn trong tiêu thụ sản phẩm.



(A)

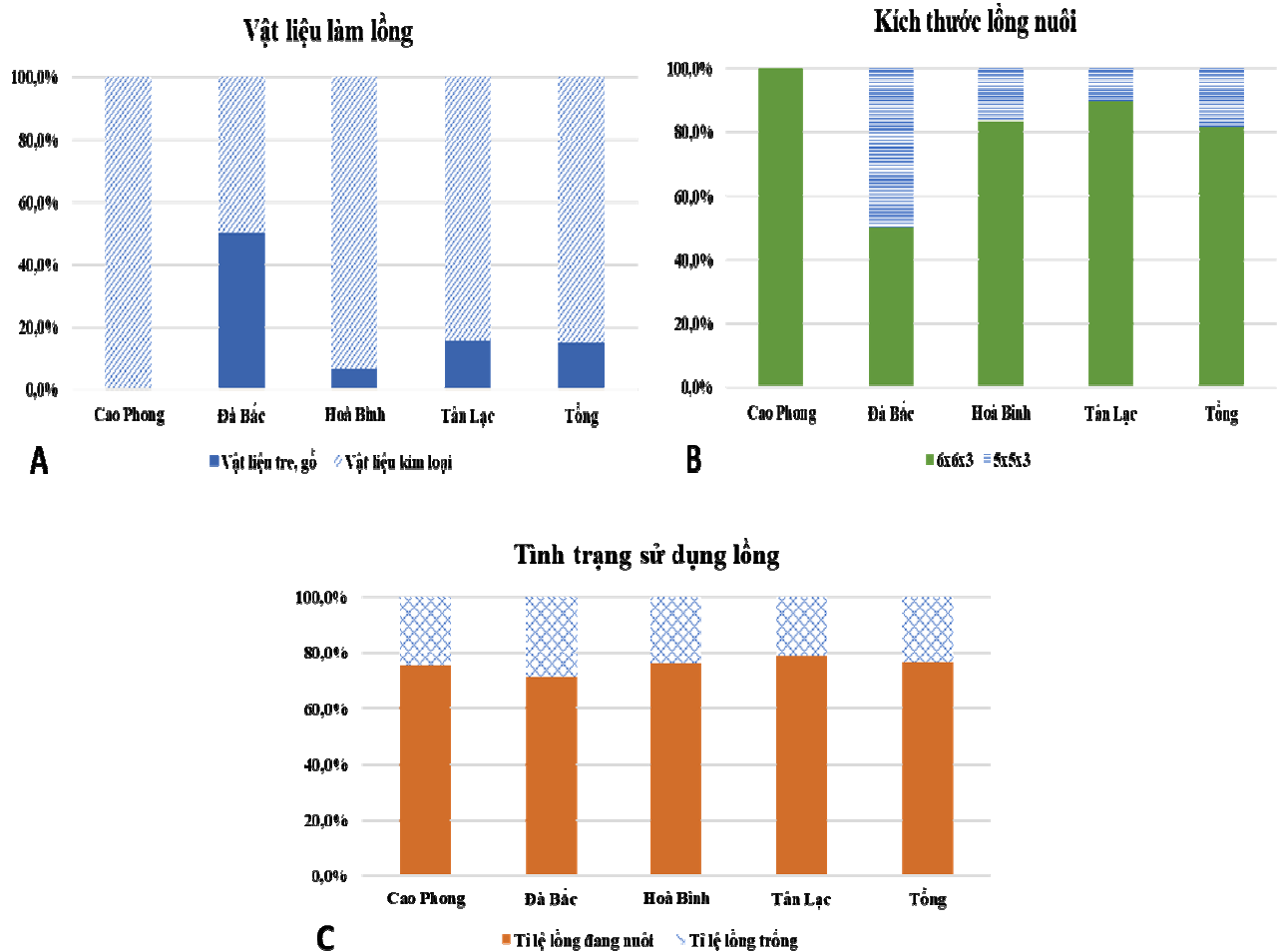


(B)

Hình 2. Vật liệu làm lồng được làm bằng kim loại (A) và bằng gỗ (B)

Tại thời điểm điều tra (tháng 4/2023), tỉ lệ số lồng bị bỏ trống, chưa sử dụng ở các cơ sở nuôi cá lồng khu vực hồ Hòa Bình chiếm 23,7%, số lượng

lồng bỏ trống cao xuất phát từ 2 nguyên nhân: Hiệu quả kinh tế thấp hoặc đang trong thời gian chuẩn bị cho vụ nuôi mới.



Hình 3. Kích cỡ, vật liệu và tỷ lệ lồng được sử dụng tại một số huyện của tỉnh Hoà Bình

Ghi chú: A. Vật liệu làm lồng; B. Kích thước lồng nuôi; C. Tình trạng sử dụng lồng

Qua phỏng vấn các chủ cơ sở nuôi về lý do bỏ trống lồng, kết quả cho thấy, một số hộ nuôi mới thu hoạch cá và đang tiến hành vệ sinh lồng, lưới chuẩn bị cho vụ mới. Mặt khác, một số hộ nuôi gặp vấn đề khó khăn về kiểm soát dịch bệnh trong môi trường nuôi hở gây thiệt hại kinh tế lớn. Bên cạnh đó, thị trường tiêu thụ các sản phẩm thủy sản

từ đầu năm 2023 (tết âm lịch) gặp nhiều khó khăn, giá cá thương phẩm xuống thấp, thức ăn công nghiệp tăng giá nên các cơ sở đã giảm số lượng lồng và mật độ nuôi. Trong đợt điều tra này, có rất ít cơ sở xây dựng lồng mới và mở rộng quy mô nuôi lồng.

Bảng 2. Cơ cấu loài cá nuôi lồng tại các cơ sở được điều tra

Huyện/thành phố	Số hộ điều tra	Số hộ nuôi cá						
		Trắm cỏ	Trắm đen	Nheo mỹ	Chiên	Ngạnh	Rô phi	Khác
Cao Phong	3	1	1	2	1	0	1	0
Đà Bắc	8	3	4	3	5	4	3	0
Hoà Bình	30	12	14	15	7	10	6	2
Tân Lạc	19	10	6	5	5	6	7	0
Tổng	60	26	25	25	18	20	17	2

Dữ liệu trên cho thấy, sự đa dạng về loài cá được nuôi trong khu vực gồm trắm cỏ, trắm đen và nheo mỳ là những loài cá phổ biến và được nuôi rộng rãi tại các vùng nuôi. Cá chiên và cá ngạnh cũng được nuôi ở một số hộ, trong khi cá rô phi và các loài cá khác có số lượng hộ nuôi ít hơn. Điều

này cho thấy, sự khác biệt ở nhu cầu thị trường và sự phát triển của từng loài cá trong khu vực. Tuy nhiên, để có cách nhìn tổng quan hơn về cơ cấu loài nuôi cá, cần có thông tin về tổng số hộ nuôi cá và tỷ lệ của từng loài cá so với tổng số hộ điều tra.



(A)



(B)

Hình 4. Mô hình nuôi ếch (A), cá tầm (B) thương phẩm trong lồng trên hồ thủy điện

Ngoài các loài cá kể trên, có những hộ đã thử nghiệm nuôi lồng một số loài mới nhằm tăng thêm thu nhập và đa dạng hoá loài nuôi như cá tầm, ếch Thái Lan (Hình 4).

3.2.2. Lao động nuôi

Theo số liệu điều tra, có tới 51/60 chủ cơ sở được phỏng vấn, tương đương 85,0% lấy nghề nuôi

cá lồng làm công việc chính, đặc biệt là người nuôi tại các lồng hồ có phương tiện đi lại chủ yếu bằng xuồng, thuyền máy tự chế, không chủ động thời gian nên ít người nhận thêm các việc khác (Bảng 3). Đây là điều kiện thuận lợi cho phát triển nuôi thâm canh tại các vùng quy hoạch tập trung.

Bảng 3. Đặc điểm của lao động nuôi cá lồng tại khu vực điều tra (n=60)

Thông tin		Chủ cơ sở nuôi (người)	Tỷ lệ (%)
Nghề chính	Nuôi trồng, đánh bắt thủy sản	51	85,0
	Nghề khác	9	15,0
Học vấn	≥ Trung cấp	2	3,3
	THCS – THPT	18	30,0
	< THCS	40	66,7
Kinh nghiệm	> 5 năm	32	53,3
	≤ 5 năm	28	46,7

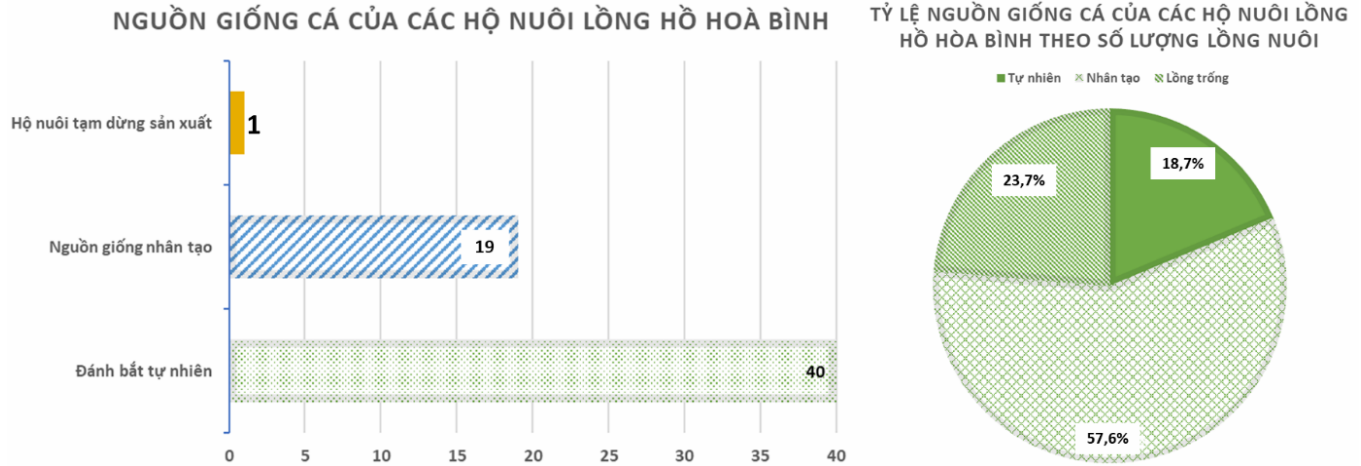
Hơn 50% chủ cơ sở nuôi được phỏng vấn tại thời điểm điều tra đều có kinh nghiệm trên 5 năm và không nhiều kỹ thuật viên được đào tạo từ trình độ trung cấp, cao đẳng trở lên. Do đó, đa phần các cơ sở nuôi theo kinh nghiệm truyền miệng, sử dụng nguồn lao động trong gia đình, khả năng tiếp cận các tiến bộ khoa học kỹ thuật còn chậm, vận hành quản lý và vốn đầu tư kém hiệu quả. Đây là

một trong những yếu tố gây ảnh hưởng đến hiệu quả nuôi cá lồng [8]. Bên cạnh đó, một số cơ sở, doanh nghiệp còn kết hợp phát triển du lịch sinh thái thành một mô hình phát triển kết hợp hiệu quả rất đáng chú ý trong những năm trở lại đây. Nhiều hộ nuôi chọn hướng đi kết hợp du lịch sinh thái (homestay, resort, ...) có kết hợp nuôi lồng với số lượng nhỏ phục vụ nhu cầu khách du lịch.

3.3. Con giống phục vụ nuôi lồng

Con giống là yếu tố quan trọng hàng đầu, có vai trò quyết định sự thành công của vụ nuôi. Hiện nay, cá giống phục vụ cho nuôi lồng trên địa bàn

tỉnh Hòa Bình là vấn đề luôn được quan tâm từ phía người nuôi và cơ quan quản lý. Nguồn gốc cá giống được thể hiện ở hình 5.



Hình 5. (A) Nguồn gốc giống cá phục vụ nuôi lồng; (B) tỷ lệ giống cá theo số lượng lồng nuôi

Có 40 hộ trong số 60 hộ tham gia điều tra trả lời rằng nguồn gốc giống cá một số loài ở các lồng nuôi được đánh bắt từ tự nhiên như cá ngạnh sông, cá chiên, ... Một phần cá đánh bắt được sẽ bán cho các thương lái, một phần sẽ được thả và nuôi trong lồng tùy vào mục đích sử dụng. Có 19 hộ nuôi ghi nhận rằng một số loài cá nuôi lồng như cá trắm cỏ, trắm đen được nhập từ các tỉnh, thành phố: Hải Dương, Hà Nội, Vĩnh Phúc. Một số loài như cá tầm, cá nheo mỹ được nhập từ nguồn trôi nổi thông qua thương lái.

Tuy ghi nhận phần lớn cá trong lồng của các hộ nuôi được đánh bắt từ tự nhiên, với quy mô hộ gia đình, số lượng lồng nuôi ít. Nhưng khi so sánh theo số lượng lồng nuôi, nhận thấy rằng các lồng cá nuôi được đánh bắt từ tự nhiên chiếm 19% tổng số lồng. Trong khi các lồng nuôi theo quy mô

doanh nghiệp, với số lồng lớn (57%), thường chọn lựa nguồn giống nhân tạo, đảm bảo chất lượng. Dù vậy, vẫn có một lượng đáng kể số lồng bị bỏ trống (24%) do gặp nhiều khó khăn về vốn, giá cá, giá thức ăn cũng như đầu ra sản phẩm.

3.4. Thức ăn sử dụng nuôi cá lồng

Người nuôi thường sử dụng loại thức ăn cho cá có vậy chứa hàm lượng protein từ 28 – 30%. Tuy nhiên, việc sử dụng 100% thức ăn công nghiệp chỉ chiếm 21,7% tổng số cơ sở nuôi được điều tra và đa phần tập trung ở các cơ sở thuộc thành phố Hoà Bình. Đa số các cơ sở nuôi sử dụng xen kẽ thức ăn công nghiệp cùng cá tạp (với tỉ lệ 70: 30) chiếm 46,7% và chủ yếu sử dụng ở giai đoạn đầu vụ nuôi. Ngoài ra, có 30,0% số cơ sở quy mô nhỏ, chỉ sử dụng cá tạp làm thức ăn cho cá nuôi lồng (cá lăng, trắm đen, cá chiên, ...) (Bảng 4).

Bảng 4. Thức ăn sử dụng trong nuôi cá lồng hồ Hoà Bình

Huyện/thành phố	Tổng số cơ sở điều tra	Loại thức ăn		
		Thức ăn viên	Kết hợp	Cá tạp
Cao Phong	3	1	2	0
Đà Bắc	8	2	2	4
Hoà Bình	30	9	11	10
Tân Lạc	19*	1	13	4
Tổng (tỷ lệ %)	60*	13 (21,7%)	28 (46,7%)	18 (30,0%)

Ghi chú: *hộ tại Tân Lạc (1,7%) chưa đi vào khai thác, sử dụng, do đó không có số liệu về thức ăn.

Người nuôi cho biết, tỉ lệ sử dụng thức ăn công nghiệp có xu hướng giảm và tăng việc sử dụng cá tạp làm thức ăn một phần do gần đây giá thức ăn công nghiệp cao (tăng tới 4.000 đồng/kg/năm). Bên cạnh đó, giá cá thương phẩm

thấp và khó tiêu thụ nên người nuôi có xu thế cho ăn cầm chừng. Hơn nữa, cá nuôi bằng tép dầu có giá cao hơn cá sử dụng hoàn toàn thức ăn công nghiệp dẫn đến chuyển dịch cơ cấu thức ăn nói trên.



Hình 6. Một số loại thức ăn được sử dụng trong nuôi cá lồng hiện nay

Việc điều tiết, quản lý tốt chế độ cho ăn có thể giúp giảm chi phí khi nuôi cá nheo mỹ [4]. Các cơ sở nuôi đa phần cho cá ăn một bữa trong ngày vào khoảng 6 - 7 giờ (có khi chỉ 2 ngày mới ăn 1 bữa) và không xác định được chính xác khối lượng thức ăn cho cá ăn. Tính riêng số cơ sở nuôi cá nheo mỹ trong lồng trên các hồ chứa có đến hơn 90% số cơ sở nuôi sử dụng cá tạp được thu gom ngay tại các hồ chứa làm thức ăn cho cá nheo mỹ, kết hợp sử dụng thức ăn công nghiệp [1]. Việc thiếu kiến thức chuyên môn trong việc sử dụng và quản lý thức ăn công nghiệp có thể gây ra vấn đề về dư thừa thức ăn, dẫn đến khả năng phú dưỡng trên hồ.

3.5. Quản lý và chăm sóc

Tình hình dịch bệnh khi nuôi cá lồng hồ Hòa Bình nói chung ít nghiêm trọng hơn so với nuôi ao, lồng trên sông [9] tại Hải Dương [10], Bắc Ninh. Trong đó có thể kể tới một số bệnh thường

gặp như rận cá trắm cỏ, lở loét trên cá nheo mỹ, ... Bệnh đốm trắng nội tạng do ấu trùng sán ít thấy xuất hiện so với nuôi lồng trên sông [9]. Theo người nuôi, cá giống mới chuyển ra lồng trong thời gian đầu thường hao hụt do chưa quen môi trường nước.

Người nuôi thường chẩn đoán các bệnh dựa vào phương pháp lâm sàng, việc gửi mẫu xét nghiệm lên các phòng thí nghiệm để xét nghiệm còn ít. Khi diễn ra dịch bệnh, đa số người nuôi sẽ tự xử lý bệnh, hoặc tham khảo các hộ nuôi xung quanh dẫn tới việc sử dụng sai thuốc, sử dụng hóa chất cấm khiến hiệu quả điều trị thấp.

Tại một số lồng nuôi cá tại Thung Nai, huyện Cao Phong phát hiện những vết lở loét trên thân cá với số lượng lớn. Những vết lở loét này không gây chết, không làm giảm sức ăn, tuy nuôi cùng một khu vực nhưng không thấy lan rộng ra các lồng khác.

**A. Cá chép nhợt nhạt, yếu ớt tại gốc vây****B. Cá Trắm nổi đầu, đen đầu sau mưa****Hình 7. Cá nuôi lồng hồ Hòa Bình bị bệnh**

Hiện tại không có cơ sở nào trong nhóm được phỏng vấn đã áp dụng quy trình cụ thể cho việc xử lý thuốc, hóa chất khi dịch bệnh xảy ra. Một số cơ sở nuôi sử dụng hóa chất không rõ nguồn gốc, nhãn mác dẫn đến hiệu quả điều trị thấp và có nguy cơ ảnh hưởng đến chất lượng nước hồ phục vụ làm nước sinh hoạt cho thủ đô Hà Nội.

3.6. Đề xuất một số giải pháp phát triển bền vững nghề nuôi cá lồng trên hồ Hòa Bình

Nghề nuôi cá lồng khu vực lòng hồ thủy điện Hòa Bình bên cạnh việc tạo sinh kế và thu nhập cho các hộ nuôi cá trên hồ cũng đang phải đối mặt với nhiều khó khăn, thách thức, đặc biệt là vấn đề môi trường. Để giải quyết các vấn đề đã phân tích, các giải pháp sau đây được đề xuất:

Tăng cường quản lý, giám sát chặt chẽ việc phát triển nuôi cá lồng theo quy hoạch vùng nuôi tập trung và sử dụng thuốc và hóa chất theo quy định; đồng thời xử lý các cơ sở vi phạm hành lang an toàn giao thông đường thủy.

Tổ chức các lớp bồi dưỡng nâng cao trình độ chuyên môn cho người nuôi, tập trung vào ương giống lớn ngay tại các lồng nuôi để giảm giá thành và chủ động nguồn giống cho nuôi lồng, cải tiến quy trình nuôi, phòng trừ dịch bệnh, hạch toán kinh tế và bảo vệ nguồn nước công cộng.

Đẩy mạnh hỗ trợ kinh phí nghiên cứu, nâng cao năng lực sản xuất giống cá để chủ động nguồn giống. Tăng cường đầu tư kinh phí cho công tác quản lý sức khỏe động vật thủy sản nuôi và môi trường nước hồ.

Tăng cường xúc tiến thương mại, thúc đẩy liên kết sản xuất - tiêu thụ trong nước giúp ổn định đầu ra sản phẩm cá nuôi lồng hồ Hòa Bình. Đặc biệt khâu liên kết chuỗi trong nuôi và tiêu thụ cá lồng hồ Hòa Bình.

Xây dựng cơ chế gắn hoạt động nuôi cá lồng với du lịch sinh thái, trải nghiệm trên lòng hồ để nâng cao giá trị sản xuất và khai thác hiệu quả tiềm năng điều kiện tự nhiên, sinh thái và môi trường trên hồ Hòa Bình.

4. KẾT LUẬN

Hồ Hòa Bình có nhiều tiềm năng lớn và lợi thế để phát triển nghề nuôi cá lồng, tuy nhiên chưa được khai thác toàn diện và chưa có kế hoạch bảo vệ chất lượng nước vùng nuôi. Chiếm đa số là các cơ sở nuôi nhỏ lẻ, quy mô hộ gia đình, thiếu vốn thiếu kỹ thuật, được thực hiện mang tính chất tự phát. Lồng nuôi công nghệ cao đã nhen nhóm nhưng chưa được phát huy, tận dụng lợi thế sẵn có của hồ. Nguồn giống cá vẫn còn phụ thuộc nhiều vào các địa phương khác. Cá tầm, chép, trắm, trôi

đen nuôi lồng trong hồ đã mở ra một hướng mới cho nghề nuôi cá lồng trên hồ. Thức ăn công nghiệp kết hợp với cá tạp được sử dụng chủ yếu tùy theo loài và giai đoạn nuôi, thức ăn tự nhiên vẫn được sử dụng nhiều trong nuôi cá lồng. Tỷ lệ lồng nuôi bỏ trống nhiều, gây lãng phí cho sự đầu tư. Hiện không thấy phát triển thêm các khu nuôi mới hoặc các cơ sở nuôi mở rộng quy mô. Chất lượng cá lồng nuôi hồ được đánh giá cao nhưng tiêu thụ sản phẩm chưa tốt nên vẫn chưa đưa được sản phẩm chất lượng cao tới rộng rãi người tiêu dùng và vẫn tiềm ẩn nhiều nguy cơ gây ô nhiễm môi trường nước lồng hồ nếu không được quản lý đúng cách.

Để phát triển bền vững nghề nuôi cá lồng trong khu vực lồng hồ Hòa Bình, cần thực hiện các giải pháp như tăng cường quản lý và giám sát, nâng cao trình độ chuyên môn của người nuôi, đầu tư vào nghiên cứu và phát triển giống cá, cùng với việc thúc đẩy liên kết sản xuất và tiêu thụ. Ngoài ra, cần đưa ra các biện pháp quản lý dịch bệnh và chăm sóc cá hiệu quả để đảm bảo sức khỏe của nguồn cá nuôi và chất lượng môi trường nước hồ. Bằng việc thực hiện các giải pháp này tổng thể, nghề nuôi cá lồng trong khu vực lồng hồ Hòa Bình có thể phát triển bền vững, góp phần nâng cao thu nhập cho người nuôi và đóng góp vào phát triển kinh tế và xã hội của địa phương.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được tài trợ bởi Quỹ Phát triển khoa học và công nghệ Quốc gia (NAFOSTED) trong đề tài mã số 12/2022/TN. Các tác giả xin trân trọng cảm ơn sự phối hợp của các cơ quan, ban ngành địa phương và các cơ sở nuôi cá lồng tại Hoà Bình đã hỗ trợ để thu thập số liệu trong thời gian thực hiện nghiên cứu.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Kim Văn Vạn và Nguyễn Thành Trung (2018). Hiện trạng và giải pháp phát triển nuôi cá lồng trên địa bàn tỉnh Bắc Ninh. *Tạp chí Khoa học*

và Công nghệ. Số 9: 93-100.

2. Chi cục Thủy sản Hòa Bình (2022). Báo cáo kết quả nuôi trồng thủy sản năm 2022.

3. Thái Thanh Bình và Lê Phi Hùng (2021). Hiện trạng kỹ thuật và giải pháp phát triển nghề nuôi cá lồng ở hồ Thác Bà, tỉnh Yên Bái. *Tạp chí Nông nghiệp và PTNT*. Số 406: 109-115.

4. Vũ Đức Mạnh, Chu Đức Quý, Trương Đình Hoài & Kim Văn Vạn (2022). Hiện trạng nuôi cá nheo mỹ (*Ictalurus punctatus*) trong lồng tại một số vùng nuôi trọng điểm miền Bắc. *Tạp chí Nông nghiệp và PTNT*, Bộ Nông nghiệp và PTNT, 18: 101-109.

5. Nguyễn Duy Cần và Nico Vromant (2009). *PRA - Đánh giá nông thôn với sự tham gia của người dân*. Nxb Nông nghiệp.

6. Quy chuẩn kỹ thuật Quốc gia QCVN 02 - 33 - 3:2021/BNNPTNT giống cá nước ngọt - Phần 3.

7. Sở Nông nghiệp và PTNT Hòa Bình (2020). Báo cáo kết quả nuôi trồng thủy sản năm 2019, xây dựng kế hoạch năm 2020.

8. Lưu Thị Thảo và Lê Đình Hải (2019). Phát triển nghề nuôi cá lồng tại vùng hồ thủy điện Hòa Bình, tỉnh Hòa Bình. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Lâm nghiệp*. Số 3: 191 - 200.

9. Vũ Đức Mạnh, Kim Minh Anh, Nguyễn Mạnh Hùng, Đỗ Đình Hùng, Trương Đình Hoài, Đặng Thị Lua, Kim Văn Vạn (2022). Bệnh đốm trắng nội tạng cá nheo mỹ (*Ictalurus punctatus*) nuôi lồng khu vực phía Bắc do ấu trùng sán lá *Dollfustrema bagarii* gây ra. *Tạp chí Khoa học kỹ thuật Thú y* 29 (6): 62-69.

10. Kim Văn Vạn, Nguyễn Văn Hòa, Kim Minh Anh, Vũ Đức Mạnh, Trương Đình Hoài (2023). Hiện trạng nuôi cá trắm cỏ (*Ctenopharyngodon idella*) trong lồng trên sông Luộc và sông Thái Bình tại huyện Tứ Kỳ, tỉnh Hải Dương. *Tạp chí Khoa học, Đại học Hạ Long*. Số 7: 101-107.

**CURRENT STATUS AND SOME SOLUTIONS FOR SUSTAINABLE DEVELOPMENT OF
CAGE CULTURE IN HOABINH RESERVOIR, HOA BINH PROVINCE**

Kim Minh Anh¹, Vu Duc Manh^{1,4}, Vu Tuan Anh⁵,

Nguyen Thi Hanh Tien², Nguyen Thi Thu Hien³,

Hoang Thi Thu Huong³, Kim Van Van¹

¹Faculty of Fisheries, Vietnam National University of Agriculture

²Phenika University

³Ha Noi University of Science and Technology

⁴Research Institute for Aquaculture No.1

⁵Master student in Faculty of Fisheries, Vietnam National University of Agriculture

Summary

The article provides the current status of cage fish farming in Hoa Binh reservoir, based on the survey conducted from October 2022 to July 2023 in 60 fish farms with 811 cages. The study shows that the majority of cage fish farms in Hoa Binh reservoir were small-scale family operations, accounting for 86.7% (52 farms raising high-value aquatic specialties). In addition, there were some establishments that are combining eco-tourism development to increase income. Regarding fingerling, having mainly collected from the wild and it had not yet actively produced seed. The proportion of unused cages was high (23.7%) due to ineffective operation and in preparation for a new cycle of production. Most farms used metal-framed and mesh cages measuring of 6 x 6 x 3 m, high-tech cages farming had begun starting. Most of the farms investigated used the combination of commercial pellet feed and small fish caught. The high quality of fish produced in Hoa Binh reservoir was highly appreciated but the consumption is limited. The recommended solutions are monitoring the development of cages in the planning area, implement regulations on chemical drugs, improve the technical level of farmers, investment for fish seed production and management environmental pollution as well as strengthen production - consumption connection.

Keyword: *Cage culture, Hoabinh reservoir, Status, Solutions.*

Người phản biện: TS. Nguyễn Thanh Hải

Ngày nhận bài: 30/7/2023

Ngày thông qua phản biện: 26/10/2023

Ngày duyệt đăng: 28/12/2023