

BAN BIÊN TẬP TẠP CHÍ NÔNG NGHIỆP VÀ PHÁT TRIỂN

STT	Họ tên	Đơn vị	Nhiệm vụ
I Thành viên trong nước			
1	Nguyễn Hay	Trường Đại học Nông Lâm TP.HCM	Tổng biên tập
2	Chế Minh Tùng	Trường Đại học Nông Lâm TP.HCM	Phó tổng biên tập
3	Nguyễn Đình Phú	Trường Đại học Nông Lâm TP.HCM University of California, Irvine, Mỹ	Biên tập viên
4	Lê Đình Đôn	Trường Đại học Nông Lâm TP.HCM	Biên tập viên
5	Lê Quốc Tuấn	Trường Đại học Nông Lâm TP.HCM	Biên tập viên
6	Nguyễn Bạch Đằng	Trường Đại học Nông Lâm TP.HCM	Biên tập viên
7	Nguyễn Huy Bích	Trường Đại học Nông Lâm TP.HCM	Biên tập viên
8	Phan Tại Huân	Trường Đại học Nông Lâm TP.HCM	Biên tập viên
9	Nguyễn Phú Hòa	Trường Đại học Nông Lâm TP.HCM	Biên tập viên
10	Võ Thị Trà An	Trường Đại học Nông Lâm TP.HCM	Biên tập viên
11	Tăng Thị Kim Hồng	Trường Đại học Nông Lâm TP.HCM	Biên tập viên
II Thành viên nước ngoài			
12	Tô Phúc Tường	Nguyên chuyên gia IRRI, Việt Nam	Biên tập viên
13	Peeyush Soni	Asian Institute of Technology, Thái Lan	Biên tập viên
14	Ta-Te Lin	National Taiwan University, Đài Loan	Biên tập viên
15	Glenn M. Young	University of California, Davis, Mỹ	Biên tập viên
16	Soroosh Sorooshian	University of California, Irvine, Mỹ	Biên tập viên
17	Katleen Raes	Ghent University, Bỉ	Biên tập viên
18	Vanessa Louzier	Lyon University, Pháp	Biên tập viên
19	Wayne L. Bryden	The University of Queensland, Úc	Biên tập viên
20	Jitender Singh	Sardar Vallabhbhai Patel University of Agriculture and Technology, Ấn Độ	Biên tập viên
21	Kevin Fitzsimmons	University of Arizona, Mỹ	Biên tập viên
22	Cyril Marchand	University of New-Caledonia, Đức	Biên tập viên
23	Koichiro Shiomori	University of Miyazaki, Nhật Bản	Biên tập viên
24	Kazunari Tsuji	Saga University, Nhật Bản	Biên tập viên
25	Sreeramanan Subramaniam	Universiti Sains Malaysia, Malaysia	Biên tập viên

BAN THƯ KÝ TẠP CHÍ NÔNG NGHIỆP VÀ PHÁT TRIỂN

STT	Họ tên	Đơn vị	Nhiệm vụ
1	Huỳnh Tiến Đạt	Trường Đại học Nông Lâm TP.HCM	Trưởng ban thư ký
2	Trương Quang Bình	Trường Đại học Nông Lâm TP.HCM	Trưởng ban trị sự
3	Huỳnh Hữu Nhân	Trường Đại học Nông Lâm TP.HCM	Thành viên

Tạp chí Nông nghiệp và Phát Triển

Giấy phép xuất bản:
567/GP-BVHTT-24/12/2002
175/GP-BTTTT-20/04/2018

Tòa soạn:

Trường Đại học Nông Lâm TP.HCM
Khu phố 6, Phường Linh Trung, Quận Thủ Đức, TP.HCM
Điện thoại: (028)37245670
Email: jad@hcmuaf.edu.vn

MỤC LỤC (CONTENT)

- Kinh tế nông nghiệp (Agribusiness)**
- 1 Nong Lam University students' perceptions of corporate social responsibility: A case study
Na Le
- Nghiên cứu nhận thức của sinh viên Trường Đại học Nông Lâm Thành phố Hồ Chí Minh về trách nhiệm xã hội của doanh nghiệp
Lê Na
- Nông học, Lâm nghiệp (Agronomy and Forestry Sciences)**
- 10 Evaluation of growth and development of some varieties of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill) under nethouse conditions in Chau Doc
Chuong V. Nguyen
- Khảo sát khả năng sinh trưởng và phát triển của một số giống cà chua (*Lycopersicon esculentum* Mill) trong điều kiện nhà lưới tại Thành phố Châu Đốc
Nguyễn Văn Chương
- 18 Evaluation of chemical composition and inhibitory effects of *Hypochoeris radicata* L. extracts on seed germination and growth of *Echinochloa crus-galli* L.
Men T. Tran, Tuan T. Nguyen, Ly H. Sam, Khang T. Do, & Yen D. H. Nguyen
- Đánh giá thành phần hóa học và tác dụng ức chế sự nảy mầm và phát triển của hạt cỏ lồng vực (*Echinochloa crus-galli* L.) từ cao chiết cây bồ công anh (*Hypochoeris radicata* L.)
Trần Thanh Mến, Nguyễn Trọng Tuấn, Sâm Hải Lý, Đỗ Tấn Khang & Nguyễn Đình Hải Yến
- Chăn nuôi, Thú y, Thủy sản (Animal Sciences, Veterinary Medicine and Aquaculture)**
- 24 Genotype by environment interaction for growth and survival rate in black tiger shrimp (*Penaeus monodon*) in generation 4
Sang V. Nguyen, Luan T. Nguyen, & Nhien V. Tran
- Tương tác giữa kiểu gen và môi trường đến tính trạng tăng trưởng và tỷ lệ sống trên tôm sú (*Penaeus monodon*) chọn giống thế hệ thứ 4
Nguyễn Văn Sáng, Nguyễn Thành Luân & Trần Văn Nhiên
- 33 Effects of replacement of black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae meal in the diets on growth performance of discus fish (*Symphysodon* sp.)
Tu P. C. Nguyen, Ha N. Nguyen, Linh T. T. Nguyen, & Tri N. Nguyen
- Ảnh hưởng của việc bổ sung nhộng ruồi lính đen (*Hermetia illucens*) vào thức ăn lên tăng trưởng của cá đĩa (*Symphysodon* sp.)
Nguyễn Phúc Cẩm Tú, Nguyễn Ngọc Hà, Nguyễn Thị Thùy Linh & Nguyễn Như Trí

- 43 Identification of the tolerant capacity to aquatic environment factors (temperature, pH and dissolved oxygen) of Asian bumblebee catfish (*Pseudomystus siamensis* Regan, 1913)
Binh T. T. Vo, Chau M. Pham, Truc T. T. Nguyen, Tuan V. Vo, & Tu V. Nguyen

Xác định khả năng chịu đựng một số yếu tố môi trường nước (nhiệt độ, pH và oxy hòa tan) của cá chót bông (*Pseudomystus siamensis* Regan, 1913)

Võ Thị Thanh Bình, Phạm Minh Châu, Nguyễn Thị Thanh Trúc, Võ Văn Tuấn & Nguyễn Văn Tư

- 52 Genetic characteristics in four farmed tilapia (*Oreochromis niloticus*) populations evaluated by microsatellite markers

Ha T. T. Tran, Trang T. Vu, Nam P. Nguyen, Giang T. H. Luu, Nhat H. Pham, & Diep H. Nguyen

Đặc điểm di truyền một số quần đàn cá rô phi vằn (*Oreochromis niloticus*) qua phân tích chỉ thị microsatellite

Trần Thị Thúy Hà, Vũ Thị Trang, Nguyễn Phương Nam, Lưu Thị Hà Giang, Phạm Hồng Nhật & Nguyễn Hồng Diệp

Công nghệ sinh học (Biotechnology)

- 62 Cloning, expressing and purification of recombinant C-terminal PMT of *Pasteurella multocida*

Hung K. Vu, Thinh T. Nguyen, Hang T. T. Trinh, Thuy T.T. Nguyen, Giang T. T. Nguyen, Anh T. T. Do, & Truong X. Nguyen

Tạo dòng, biểu hiện và tinh sạch protein tái tổ hợp tPMT-C780 của *Pasteurella multocida*
Vũ Khắc Hùng, Nguyễn Thị Thịnh, Trinh Thị Thu Hằng, Nguyễn Thị Thu Thủy, Nguyễn Thị Thu Giang, Đỗ Thị Trung Anh & Nguyễn Xuân Trường

Công nghệ thực phẩm (Food Science and Technology)

- 70 Optimization of alcoholic fermentation of custard apple juice by *Saccharomyces cerevisiae* using response surface methodology

Huan T. Phan, & Hien M. Nguyen

Tối ưu hoá quá trình lên men rượu dịch quả măng cầu ta bằng *Saccharomyces cerevisiae* sử dụng phương pháp bề mặt đáp ứng

Phan Tại Huân & Nguyễn Minh Hiền

Môi trường và Tài nguyên (Environmental and Natural Resources)

- 79 Estimating the economic value of absorbing and storing carbon in dipterocarp forests in Ia Pa district, Gia Lai province

Trang T. Q. Nguyen, & Phuong T. B. Tran

Ước tính giá trị kinh tế từ việc hấp thụ và lưu trữ cacbon của rừng khộp tại huyện Ia Pa, tỉnh Gia Lai

Nguyễn Thị Quỳnh Trang & Trần Thị Bích Phượng

- 87 Survey of ornamental plants functioned as medicinal plants at some ornamental gardens in Ho Chi Minh City and applying them in garden design

Tien T. M. Duong, & Phuc T. Le

Khảo sát các cây cảnh có giá trị dược liệu tại một số vườn kiếng ở Thành phố Hồ Chí Minh và ứng dụng trong thiết kế sân vườn

Dương Thị Mỹ Tiên & Lê Thị Phúc

- 98 Climate change vulnerability zoning for suburban districts of Ho Chi Minh City
Linh T. Vu, Lam T. Vo, Dung M. Ho, & Loi K. Nguyen

Phân vùng tổn thương do biến đổi khí hậu đến các huyện ngoại thành của Thành Phố Hồ Chí Minh

Vũ Thùy Linh, Võ Thị Lâm, Hồ Minh Dũng & Nguyễn Kim Lợi

**Nong Lam University students' perceptions of corporate social responsibility:
A case study**

Na Le

Faculty of Economics, Nong Lam University, Ho Chi Minh City, Vietnam

ARTICLE INFO

Research Paper

Received: June 13, 2019

Revised: September 20, 2019

Accepted: September 30, 2019

Keywords

Behavior

Corporate social responsibility

Nong Lam University students

Perceptions

Corresponding author

Le Na

Email: lena@hcmuaf.edu.vn

ABSTRACT

This study was conducted to assess students' perceptions of corporate social responsibility (CSR) and the impacts of those perceptions on their thinking and behavior. Structural equation modelling (SEM) was used to examine the proposed correlations by analysing the data collected from 787 students at Nong Lam University. Results showed that there were positive correlations from relatives, social activity participation, demographics, and self-perception of students' perception of CSR. Besides, we also found that perception would positively affect students' thinking and behavior.

Cited as: Le, N. (2019). Nong Lam University students' perceptions of corporate social responsibility: A case study. *The Journal of Agriculture and Development* 18(5), 1-9.

Nghiên cứu nhận thức của sinh viên Trường Đại học Nông Lâm Thành phố Hồ Chí Minh về trách nhiệm xã hội của doanh nghiệp

Lê Na

Khoa Kinh Tế, Trường Đại Học Nông Lâm TP.HCM, TP. Hồ Chí Minh

THÔNG TIN BÀI BÁO

Bài báo khoa học

Ngày nhận: 13/06/2019

Ngày chỉnh sửa: 20/09/2019

Ngày chấp nhận: 30/09/2019

Từ khóa

Hành vi

Nhận thức

Sinh viên Trường Đại học Nông Lâm TP.HCM

Trách nhiệm xã hội của doanh nghiệp

*Tác giả liên hệ

Lê Na

Email: lena@hcmuaf.edu.vn

TÓM TẮT

Nghiên cứu nhằm xem xét các yếu tố ảnh hưởng đến nhận thức của sinh viên về trách nhiệm xã hội của doanh nghiệp (CSR), và tác động của nhận thức đến ý nghĩ và hành vi của các sinh viên khảo sát. Mô hình cấu trúc (SEM) được sử dụng để kiểm định các mối quan hệ thông qua dữ liệu thu thập từ 787 sinh viên Trường Đại học Nông Lâm TP. Hồ Chí Minh. Kết quả nghiên cứu chỉ ra có sự tác động cùng chiều từ các biến: gia đình - người thân, tham gia hoạt động phong trào, nhân khẩu học và tự nhận thức tới nhận thức về CSR của sinh viên. Mặt khác có sự tác động cùng chiều từ nhận thức của sinh viên về CSR đến ý nghĩ và hành vi của chính mình.

1. Đặt Vấn Đề

Trách nhiệm xã hội của doanh nghiệp (CSR) đã được nghiên cứu từ những năm 30 của thế kỷ hai mươi với những công trình nghiên cứu của Berle & Means (1932), Luo & Bhattacharya (2006) và Nguyen (2010). Trách nhiệm xã hội của doanh nghiệp là vấn đề quan trọng trong quản lý doanh nghiệp, nó tác động đến nhiều mặt khác nhau như kinh tế (economic responsibilities), pháp lý (legal responsibilities), đạo đức (ethical responsibilities) và từ thiện (philanthropic responsibilities) (Carroll, 1991). Nghiên cứu của Balabanis & ctv. (1998) đã chỉ ra mối liên hệ giữa CSR và sự phát triển kinh tế trong hoạt động của doanh nghiệp, và các nghiên cứu khác cũng chỉ ra rằng CSR làm cho doanh nghiệp phát triển tốt hơn thông qua sự hài lòng của khách hàng, ảnh hưởng tới hành vi tiêu dùng sản phẩm, làm gia tăng giá trị cho doanh nghiệp (Luo & Bhattacharya, 2006; Marin & ctv., 2009). Nghiên cứu của Sweeney (2009) khẳng định CSR tác động trực tiếp đến hoạt động

tài chính thông qua tiếp cận nguồn vốn, giúp thu hút và thúc đẩy sự phát triển doanh nghiệp và đặc biệt là giữ chân nhân viên. Còn Ali & ctv. (2010) kết luận, CSR là yếu tố quan trọng để giữ chân khách hàng. Tóm lại, đã có nhiều nghiên cứu về CSR xuất phát từ doanh nghiệp hoặc chủ doanh nghiệp nhằm mục đích phát triển doanh nghiệp lâu dài.

Sinh viên là đối tượng được đào tạo bài bản, có kiến thức tốt và trình độ chuyên môn cao, vì được đào tạo cả kiến thức, kỹ năng và thái độ. Họ phần lớn là thanh niên, trẻ trung, nhiều hoài bão khởi nghiệp, sẽ là những người lao động tương lai trong các doanh nghiệp có trách nhiệm xã hội và là trụ cột trong phát triển và bảo vệ đất nước. Vì vậy việc nghiên cứu nhận thức của sinh viên về CSR là rất quan trọng. Sinh viên có nhận thức tốt về CSR khi ra trường làm việc sẽ phát triển xã hội, đất nước được tốt hơn. Đã có vài nghiên cứu về nhận thức về CSR của sinh viên (Fitzpatrick, 2013; Teixeira & ctv., 2018) các nghiên cứu đã chỉ ra CSR ảnh hưởng bởi giới tính, trình độ, kinh

nghiệm và tuổi tác. Burcea & Marinescu (2011) đã nhấn mạnh tầm quan trọng của nhận thức về CSR của sinh viên tại cấp độ học thuật, tác động tới mức độ tham gia vào các hoạt động học thuật, tập huấn, hoạt động cộng đồng. Nghiên cứu trong nước nhấn mạnh nhận thức về CSR của sinh viên gồm trách nhiệm pháp lý, đạo đức, kinh tế và từ thiện (Nguyen & ctv., 2014). Vì vậy, thực hiện một nghiên cứu để đánh giá thực trạng và đo lường các yếu tố ảnh hưởng tới nhận thức về CSR của sinh viên là rất cần thiết, từ đó đề ra các giải pháp nhằm nâng cao nhận thức về CSR cho sinh viên.

2. Cơ Sở Lý Luận và Phương Pháp Nghiên Cứu

2.1. Nhận thức về trách nhiệm xã hội của doanh nghiệp

Theo Ủy ban cộng đồng Châu Âu, CSR là khái niệm theo đó các công ty tích hợp các mối quan tâm xã hội và môi trường trong hoạt động kinh doanh và trong sự tương tác của họ với các bên liên quan trên cơ sở tự nguyện (Dahlsrud, 2008). Hội đồng kinh doanh thế giới vì sự phát triển bền vững tuyên bố năm 2000, thì CSR là cam kết tiếp tục của doanh nghiệp để hành xử có đạo đức và đóng góp cho phát triển kinh tế, đồng thời cải thiện chất lượng cuộc sống của lực lượng lao động và gia đình của họ, cũng như cộng đồng địa phương và xã hội (Dahlsrud, 2008). Nhiều nghiên cứu đưa ra các yếu tố trách nhiệm xã hội khác nhau, nhưng hầu hết đều đồng nhất có 4 nhóm là trách nhiệm kinh tế; pháp lý; đạo đức và từ thiện.

Mặt khác, các nghiên cứu chỉ ra có nhiều yếu tố ảnh hưởng tới nhận thức CSR của sinh viên như tuổi tác, bằng cấp, giới tính và kinh nghiệm... Từ sự kế thừa các nghiên cứu (Carroll, 1991; Fitzpatrick, 2013; Teixeira & ctv., 2018) và thảo luận, rút ra kết luận “có nhiều yếu tố ảnh hưởng tới nhận thức về CSR của sinh viên” có thể được chia làm 4 nhóm như sau.

Gia đình - người thân: Gia đình - thầy cô - bạn bè thường gọi “Gia đình - người thân”, là tập hợp những cá nhân luôn bên cạnh dạy dỗ kiến thức, chia sẻ kỹ năng và truyền đạt kinh nghiệm cho sinh viên. Hằng ngày sinh viên chịu các tác động trực tiếp từ gia đình và thầy cô, cũng như ảnh hưởng trong quá trình giao lưu kết nối từ bạn bè. Vì vậy, nếu gia đình - người thân có ý thức trách

nhệm tốt về CSR sẽ ảnh hưởng tới nhận thức về CSR của sinh viên. Từ đó đặt ra giả thuyết H1: Gia đình - người thân ảnh hưởng tích cực tới nhận thức của sinh viên về CSR.

Hoạt động phong trào: Hoạt động phong trào là quá trình sinh viên tham gia vào hoạt động của Đoàn thanh niên, Hội sinh viên, các câu lạc bộ, đội nhóm. Các hoạt động phong trào ngoài tạo ra sân chơi, rèn luyện sức khỏe, kỹ năng, còn giáo dục sinh viên sống có trách nhiệm hơn với công đồng và xã hội. Nên có giả thuyết H2: Tham gia hoạt động phong trào ảnh hưởng tích cực tới nhận thức về CSR của sinh viên.

Nhân khẩu học: Nhân khẩu học là các yếu tố như tuổi tác, giới tính, kinh nghiệm, học vấn. Nhiều nghiên cứu đã chỉ ra nhân khẩu học ảnh hưởng tới nhận thức CSR (Fitzpatrick, 2013; Teixeira & ctv., 2018). Mỗi giai đoạn tuổi tác khác nhau thì nhận thức về CSR của con người sẽ khác nhau, nhưng theo hướng nhiều tuổi thì nhận thức càng tốt hơn. Nhận thức về CSR của nữ tốt hơn nam giới, người có học vấn cao sẽ nhận thức được CSR rất quan trọng, các nghiên cứu còn chỉ ra rằng khi CSR tốt, doanh nghiệp thường làm ăn hiệu quả hơn (Fitzpatrick, 2013; Teixeira & ctv., 2018). Nên có giả thuyết H3: Nhân khẩu học ảnh hưởng tích cực tới nhận thức của sinh viên về CSR.

Tự nhận thức: Tự nhận thức là quá trình con người suy nghĩ, đánh giá các vấn đề bằng tư duy lập luận, kiến thức học tập và quan sát thông qua hoạt động sống. Là quá trình phát triển của não bộ, làm cho con người biết được đúng-sai, việc gì nên-không nên làm (Bem, 1967; Efron, 1969; Bem, 1972). Tự nhận thức đưa con người bước tới cấp độ nhận thức cao hơn, và ảnh hưởng đến suy nghĩ và hành vi. Nên có giả thuyết H4: Tự nhận thức ảnh hưởng tích cực tới nhận thức về CSR của sinh viên

2.1.1. Ý nghĩ

Ý nghĩ là những suy nghĩ bên trong, nên tăng của thái độ mỗi cá nhân. Theo McShane & Von Glinow (2003), thái độ là những phát biểu hay những đánh giá, phản ánh cảm thấy như thế nào về một điều gì đó. Ý nghĩ, được thể hiện thông qua 3 thành phần của thái độ. Thành phần nhận thức, bao gồm ý kiến hoặc niềm tin. Thành phần ảnh hưởng, là cảm nhận hay cảm xúc. Thành phần hành vi, là chủ ý cư xử theo một cách nào đó với một người hay một việc gì đó. Trong tổ

chức ý nghĩ, thái độ quan trọng vì nó ảnh hưởng tới hành vi. Theo Bui (2011), thái độ là những biểu đạt có tính đánh giá, liên quan đến các vật thể, con người và các sự kiện. Mặt khác, ý nghĩ và thái độ xuất phát từ nhận thức. Vì vậy có giả thuyết H5: Nhận thức của sinh viên về CSR ảnh hưởng tích cực đến ý nghĩ của chính mình.

2.1.2. Hành vi

Hành vi là hành động của con người trong chừng mực nào đó, khi và chỉ khi cá nhân hành động gắn với một ý nghĩa chủ quan. Hành vi là hành động hướng đến người khác, mang tính chủ quan, xuất phát từ suy nghĩ (Bailey & Gayle, 2003). Động cơ, đạo đức sẽ quyết định tới hành vi và hành động của người đó. Thường người có ý nghĩ tốt sẽ có hành vi tốt (Le & Nguyen, 2016). Nên có giả thuyết H6: Ý nghĩ của sinh viên về CSR ảnh hưởng tích cực tới hành vi của chính mình.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Nghiên cứu thực hiện phỏng vấn 787 sinh viên Trường Đại học Nông Lâm TP.HCM, vào tháng 12 năm 2018. Kết quả nam 43,10%; nữ 56,90%. Ở ký túc xá 42,60%; thuê phòng 39,30%; ở với gia đình 11,80% và ở với họ hàng 3,90%. Sinh viên của mẫu khảo sát có 1,70% bộ môn Công nghệ hóa học; 4,10% bộ môn Công nghệ sinh học; 4,30% khoa Công nghệ thông tin; 9,30% khoa Công nghệ thực phẩm; 17,30% khoa Chăn nuôi thú y; 7,60% khoa Cơ khí công nghệ; 16,50% khoa Kinh tế; 2,40% khoa Lâm nghiệp; 7,60% khoa Môi trường tài nguyên; 2,30% khoa Ngoại ngữ sư phạm; 9,70% khoa Nông học; 10,90% khoa Quản lý đất đai và bất động sản và 6,40% khoa Thủy sản. Mẫu khảo sát khá cân đối về giới tính, chỗ ở và ngành học của các sinh viên, và đều đạt yêu cầu về cỡ mẫu, nên độ tin cậy trong thống kê.

Các thang đo được kế thừa từ các nghiên cứu trước (Luo & Bhattacharya, 2006; Sweeney, 2009; Teixeira & ctv., 2018) và tổng hợp xây dựng thêm. Kết quả khảo sát được sử dụng để đánh giá và kiểm định mô hình thang đo, mô hình nghiên cứu cùng các giả thuyết nghiên cứu và cuối cùng dùng để so sánh mô hình cấu trúc đa nhóm. Thực hiện kiểm định qua 2 bước: Đánh giá độ tin cậy của các thang đo thông qua chỉ số Cronbach alpha ($0,95 \geq \text{Cronbach alpha} \geq 0,6$) (Nunnally & Bernstein, 1994) và thực hiện phân

tích nhân tố khám phá EFA (Exploratory Factor Analysis), thang đo được chấp nhận khi tổng phương sai trích $\geq 50\%$ và hệ số KMO $> 0,5$ (Anderson & Gerbing, 1988). Kiểm định mô hình nghiên cứu sử dụng CFA (Confirmatory Factor Analysis) phân tích yếu tố khẳng định để khẳng định độ tin cậy và độ giá trị thang đo, sử dụng mô hình cấu trúc SEM (Structural Equation Model) để ước lượng mô hình thang đo và mô hình cấu trúc, kiểm tra mối quan hệ phức hợp trong mô hình.

3. Kết Quả và Thảo Luận

3.1. Thực trạng nhận thức về CSR của sinh viên

Nhận định về giai đoạn hình thành ý thức trách nhiệm của con người, 34,40% sinh viên được hỏi cho rằng từ giai đoạn sinh ra đến 12 tuổi, và 44,00% cho rằng từ giai đoạn 13 đến 17 tuổi, và 19,60% lại cho rằng từ giai đoạn 18 đến 22 tuổi. Tóm lại, có 98,00% sinh viên được hỏi cho rằng ý thức trách nhiệm của con người được hình thành trong giai đoạn từ lúc sinh ra đến 22 tuổi.

Nhận định về nguồn gốc chủ yếu hình thành trách nhiệm của con người, 47,40% sinh viên cho rằng phải được đào tạo, 31,40% cho rằng có thể đào tạo được và 14,60% cho rằng do yếu tố bẩm sinh.

Sinh viên nhận định yếu tố ảnh hưởng tới sự hình thành ý thức trách nhiệm của con người, 31,40% cho rằng do tự ý thức được, 45,20% cho rằng do yếu tố giáo dục của gia đình; 5,50% cho rằng do thầy cô và bạn bè, 9,50% cho rằng do chương trình đào tạo và 8,40% cho rằng do các yếu tố khác.

3.2. Đo lường các yếu tố ảnh hưởng tới nhận thức trách nhiệm xã hội của sinh viên

3.2.1. Kiểm định thang đo

Kết quả phân tích nhân tố khám phá Cronbach alpha cho thấy, Cronbach alpha các biến độc lập và phụ thuộc đều $> 0,6$ cụ thể: Gia đình người thân GDNT (0,667); Hoạt động phong trào HDPT (0,741); Nhân khẩu học NKH (0,783); Tự nhận thức TNT (0,696); Nhận thức về CSR NT (0,748); Ý nghĩ YN (0,838); Hành vi HV (0,846) (Bảng 1). Các Alpha loại biến $< \text{Cronbach alpha}$ biến tổng. Phân tích EFA cho trị số KMO = 0,848 và Tổng phương sai trích = 50,535%.

Bảng 1. Kết quả phân tích EFA, ma trận xoay

Khái niệm	Biến quan sát	Yếu tố						
		1	2	3	4	5	6	7
Gia đình - người thân	GDNT1							0,510
	GDNT2							0,804
	GDNT3							0,598
Hoạt động phong trào	HDPT1						0,646	
	HDPT2						0,756	
	HDPT3						0,684	
Nhân khẩu học	NKH1			0,635				
	NKH2			0,791				
	NKH3			0,739				
Tự nhận thức	TNT1					0,668		
	TNT2					0,484		
	TNT3					0,785		
	TNT4					0,477		
Nhận thức về CSR	NTTN1				0,642			
	NTTN2				0,712			
	NTTN3				0,579			
	NTTN4				0,656			
Ý nghĩ	YN1		0,918					
	YN2		0,715					
	YN3		0,769					
Hành vi	HV1	0,520						
	HV2	0,648						
	HV3	0,770						
	HV4	0,826						
	HV5	0,825						
Eigenvalues		5,866	2,722	1,885	1,583	1,531	1,271	1,112
Tổng phương sai trích = 50,535%		21,535	9,162	5,646	4,661	4,153	3,027	2,351
Cronbach's Alpha		0,846	0,838	0,783	0,748	0,696	0,741	0,667

Phân tích CFA áp dụng kết hợp với phương pháp ước lượng ML. Kết quả các biến độc lập, trung gian và phụ thuộc là các thang đo đơn hướng, nên ta có mô hình tối hạn với Chi-square = 537,544; df = 253; ($P = 0,000$). Chỉ số CMIN/df=2,125 đạt yêu cầu cho độ tương thích, (CFI = 0,949; TLI = 0,948; CFI = 0,957) và RMSEA = 0,038 kết luận mô hình đạt độ tương thích với dữ liệu thị trường.

Kết quả CFA mô hình tối hạn khẳng định tính đơn hướng (do sự phù hợp của mô hình và không có tương quan giữa các sai số các biến quan sát) và giá trị hội tụ của 7 thang đo đơn hướng gồm Gia đình người thân (GDNT); Hoạt động phong trào (HDPT); Nhân khẩu học (NKH); Tự nhận thức (TNT); Nhận thức về CSR (NT); Ý nghĩ (YN) và Hành vi (HV) đều có trọng số (λ_i) khá cao (thấp nhất là TNT2 = 0,49) và $text < 0,05$. Kết luận các biến quan sát dùng để đo lường

các khái niệm đơn hướng đều đạt giá trị hội tụ. Ngoài ra, độ tin cậy tổng hợp thang đo các khái niệm đơn hướng đều đạt giá trị cao (thấp nhất là GDNT = 0,680) và tổng phương sai trích đều khá lớn (bé nhất là TNT = 0,377) khẳng định các thang đo là đơn hướng và đạt yêu cầu về độ giá trị và độ tin cậy trong nghiên cứu (Bảng 2). Các hệ số tương quan giữa các khái niệm nghiên cứu đều < 1 ; $P = 0,000$ và hệ số tối hạn C.R > 2 , nói cách khác, các khái niệm nghiên cứu đạt giá trị phân biệt (Bảng 3).

3.2.2. Kiểm định mô hình nghiên cứu và các giả thuyết

Kết quả phân tích SEM có df = 260; Chi-square = 795,315 ($P = 0,000$); CMIN/df = 3,059 và (GFI = 0,927; TLI = 0,905; CFI = 0,918 và RMSEA = 0,051) đều phù hợp. Kết luận mô hình nghiên cứu thích hợp với dữ liệu thu thập từ thị

Bảng 2. Tóm tắt kết quả kiểm định thang đo các khái niệm đơn hướng

Thành phần	Số biến quan sát	Độ tin cậy tổng hợp	Tổng phương sai trích	Trung bình hệ số tải	Giá trị hội tụ và phân biệt
Gia đình người thân (GDNT)	3	0,680	0,427	0,638	Thỏa mãn
Hoạt động phong trào (HDPT)	3	0,743	0,492	0,701	Thỏa mãn
Nhân khẩu học (NKH)	3	0,785	0,550	0,741	Thỏa mãn
Tự nhận thức (TNT)	4	0,704	0,377	0,608	Thỏa mãn
Nhận thức về CSR (NT)	4	0,749	0,428	0,654	Thỏa mãn
Ý nghĩa (YN)	3	0,847	0,650	0,805	Thỏa mãn
Hành vi (HV)	5	0,832	0,500	0,704	Thỏa mãn

Bảng 3. Kết quả kiểm định giá trị phân biệt giữa các khái niệm nghiên cứu

Mối quan hệ	E	S.E	C.R	P
GDNT ↔ HDPT	0,209	0,035	22,663	0,000
HDPT ↔ NKH	0,107	0,035	25,164	0,000
NKH ↔ TNT	0,001	0,036	27,990	0,000
GDNT ↔ NKH	0,124	0,035	24,735	0,000
HDPT ↔ TNT	0,129	0,035	24,609	0,000
GDNT ↔ TNT	0,104	0,035	25,241	0,000
GDNT ↔ NT	0,154	0,035	23,989	0,000
GDNT ↔ YN	0,099	0,036	25,369	0,000
GDNT ↔ HV	0,093	0,036	25,523	0,000
HDPT ↔ NT	0,153	0,035	24,014	0,000
HDPT ↔ YN	0,134	0,035	24,484	0,000
HDPT ↔ HV	0,157	0,035	23,916	0,000
NKH ↔ NT	0,216	0,035	22,497	0,000
NKH ↔ YN	0,250	0,035	21,703	0,000
NKH ↔ HV	0,075	0,036	25,990	0,000
TNT ↔ NT	0,127	0,035	24,659	0,000
TNT ↔ YN	0,029	0,036	27,217	0,000
TNT ↔ HV	0,107	0,035	25,164	0,000
NT ↔ YN	0,186	0,035	23,212	0,000
NT ↔ HV	0,150	0,035	24,088	0,000
YN ↔ HV	0,082	0,036	25,807	0,000

trường.

Ước lượng $R^2_{(\text{Nhận thức})} = 0,464$, biến Nhận thức của sinh viên về CSR (NT) được giải thích bởi 4 yếu tố Gia đình - người thân (GDNT); Hoạt động phong trào (HDPT); Nhân khẩu học (NKH) và Tự nhận thức (TNT). $R^2_{(\text{Ý nghĩa})} = 0,205$, biến Ý nghĩa (YN) được giải thích bởi yếu tố Nhận thức về CSR (NT) của sinh viên. $R^2_{(\text{Hành vi})} = 0,031$, biến Hành vi (HV) được giải thích bởi nhân tố Ý nghĩa (YN) của sinh viên.

Kiểm định Bootstrap với số lượng mẫu lặp lại $N = 1000$, kết quả $< 0,001$ kết luận các ước lượng

trong mô hình là tin cậy. Hơn thế, kết quả SEM ước lượng mô hình chuẩn hóa cho thấy các giả thuyết H1, H2, H3, H4, H5 và H6 có $P = 0,000$ nên được chấp nhận (Bảng 4). So sánh sự khác biệt của mô hình nghiên cứu theo biến định tính nam - nữ. Kết quả không có sự khác biệt theo nhóm kiểm định (Bảng 5).

3.3. Thảo luận

Kết quả nghiên cứu chỉ ra 4 nhân tố ảnh hưởng tới nhận thức về CSR của sinh viên với $R^2 = 46,4\%$. Vậy để nâng cao nhận thức CSR cho sinh viên cần thực hiện những biện pháp sau.

Bảng 4. Quan hệ giữa các khái niệm trong mô hình

Giả thuyết	Mối quan hệ	Estimate	S.E.	C.R.	Kiểm định	
H1	GDNT ↔ NT	0,120	0,033	26,283	0,000	Chấp nhận
H2	HDPT ↔ NT	0,130	0,033	26,133	0,000	Chấp nhận
H3	NKH ↔ NT	0,438	0,027	21,004	0,000	Chấp nhận
H4	TNT ↔ NT	0,347	0,029	22,641	0,000	Chấp nhận
H5	NT ↔ YN	0,452	0,026	20,741	0,000	Chấp nhận
H6	YN ↔ HV	0,177	0,032	25,418	0,000	Chấp nhận

Bảng 5. Sự khác biệt theo giới tính

Biến kiểm định	Mô hình so sánh	Chi-square	Df	P
Giới tính (Nam–Nữ)	Bất biến từng phần	1141,446	520	0,000
	Khả biến	1151,857	526	0,000
	Giá trị khác biệt	10,411	6	0,108

3.3.1. Biện pháp rút ra từ phân tích các biến nhân khẩu học cho sinh viên

Biến Nhân khẩu học (NKH) tác động đến biến Nhận thức về CSR (NT) của sinh viên với hệ số 0,438, kết quả này cũng thống nhất với nghiên cứu của Fitzpatrick (2013) và Teixeira & ctv. (2018). Kết quả 3 thang đo của biến Nhân khẩu học là (Giới tính) NKH2 = 0,786 với P = 0,000; (Vùng miền) NKH3 = 0,723 với P = 0,000; và (Trình độ, bằng cấp) NKH1 = 0,713 với P = 0,000. Để nhận thức về CSR tăng cần thúc đẩy các giá trị nhân khẩu học cho sinh viên. Yếu tố trình độ, bằng cấp có thể cải thiện được trong ngắn và trung hạn. Sinh viên có trình độ sẽ biết được nội dung và tầm quan trọng của CSR. Việc nâng cao trình độ cho sinh viên hết sức quan trọng, sinh viên cần được trang bị các kiến thức chuyên ngành và các kiến thức về tự nhiên, xã hội, đạo đức, pháp lý, trách nhiệm xã hội,... để ra trường làm tốt các công việc. Mặt khác, việc đa dạng vùng miền giúp sinh viên có cơ hội giao lưu và thích nghi với nhiều vùng văn hóa, học hỏi được tính ưu việt của các vùng miền giúp phát triển bản thân và nhận thức được tốt hơn về CSR.

3.3.2. Nâng cao khả năng tự nhận thức cho sinh viên

Biến Tự nhận thức (TNT) ảnh hưởng tới biến Nhận thức về CSR (NT) của sinh viên với hệ số là 0,347. Biến TNT được đo bằng 4 thang đo với hệ số tác động là TNT1 Ý thức tự giác (0,612); TNT2 Môi trường sống (0,490); TNT3 Chịu trách nhiệm về đạo đức (0,728) và TNT4 Ý thức trách nhiệm (0,593) đều đạt ý nghĩa thống kê. Vì vậy,

để tăng cường nhận thức của sinh viên về CSR cần nâng cao khả năng tự nhận thức. Khi sinh viên tự nhận thức được CSR sẽ phát huy được tính độc lập trong suy nghĩ và hành động. Để làm được việc này, chương trình học cần cung cấp các học phần về tư duy, pháp luật, văn hóa doanh nghiệp, hơn nữa là các học phần liên quan tới CSR,... Việc bổ sung các học phần về CSR vào chương trình đào tạo các trường đại học trên thế giới đã thực hiện từ khá sớm, không những ở các chương trình sau đại học mà ngay cả chương trình đào tạo đại học (Thøger Christensen & ctv., 2008). Thông qua chương trình, dạy cho sinh viên tư duy độc lập, phương pháp phản biện logic, kiến thức về đạo đức, trách nhiệm. Từ đó sinh viên sẽ nhận thức được những gì là đúng-sai, sẽ tự nâng cao được ý thức tự giác, tự chịu trách nhiệm, nâng cao hơn khả năng nhận thức về CSR của mình.

3.3.3. Tăng cường hoạt động phong trào cho sinh viên

Biến Hoạt động phong trào (HDPT) tác động tới biến Nhận thức của sinh viên về CSR (NT) là 0,130. Biến HDPT được đo lường bằng 3 thang đo với kết quả là HDPT1 Tham gia hoạt động Đoàn-Hội (0,674); HDPT2 Tham gia hoạt động tình nguyện (0,719) và HDPT3 Tham gia hoạt động các câu lạc bộ (0,710) đều đạt ý nghĩa thống kê. Để tăng nhận thức về CSR cho sinh viên cần tăng cường hoạt động phong trào. Thông qua trải nghiệm các hoạt động phong trào sinh viên sẽ nhận thức tốt hơn tầm quan trọng của CSR. (Hiện một số hoạt động phong trào giáo dục CSR cho sinh viên rất tốt như: Mùa hè xanh

tình nguyện; Xuân tình nguyện; Trung thu cho em; Ngày môi trường thế giới 5/6; Hiến máu tình nguyện,...). Vậy để nâng cao hơn nhận thức về CSR cho sinh viên cần có thêm các chương trình có tính liên tục, cụ thể như “Ngày chủ nhật xanh” đề xuất mỗi sinh viên thực hiện 1 ngày chủ nhật xanh trong mỗi học kỳ, nhà trường cho sinh viên đăng ký online và thực hiện, sẽ đạt các mục tiêu (1) Gắn trách nhiệm của sinh viên với môi trường sống; (2) Tạo khuôn viên trường xanh sạch đẹp; (3) giảm chi phí nhờ sức lao động của sinh viên; (4) Có thể tạo hiệu ứng tích cực trong xã hội, việc áp dụng giao cho Đoàn Thanh niên, Hội Sinh viên lên kế hoạch và thực hiện.

3.3.4. Nâng cao CSR cho Gia đình - người thân

Biến Gia đình - người thân (GDNT) tác động lên biến Nhận thức về CSR (NT) của sinh viên là 0,120. Biến GDNT được đo bằng 3 thang đo với kết quả là GDNT1 Bạn bè (0,523); GDNT2 Thầy cô (0,838) và GDNT3 Gia đình (0,552) đều đạt ý nghĩa thống kê. Vậy muốn tăng cường nhận thức về CSR cho sinh viên cần nâng cao nhận thức CSR của gia đình và người thân. Tác động của thang đo GDNT2 là vượt trội so với hai thang đo còn lại, nên ảnh hưởng của thầy cô lên biến Gia đình - người thân là rất lớn. Vậy Thầy cô cần làm gương để sinh viên noi theo, như trong công việc cần hết lòng thương yêu giúp đỡ học trò, có trách nhiệm với chất lượng đào tạo, trong đánh giá cần công bằng, chuẩn mực... tạo nên đạo đức nghề nghiệp tốt và lan tỏa cho sinh viên. Mặt khác, để con cháu cụ thể là sinh viên có CSR tốt, trước tiên phụ huynh cần gương mẫu, con cháu sẽ noi theo. Để nâng cao kết quả giáo dục sinh viên cần có sự kết hợp chặt chẽ giữa nhà trường và gia đình, hai bên cần thường xuyên trao đổi về tình hình học tập và phát triển của sinh viên.

3.3.5. Hàm ý góp phần tác động hành vi của sinh viên

Nhận thức về CSR sẽ ảnh hưởng tới ý nghĩ và hành vi của sinh viên, kết quả nghiên cứu đã chỉ ra Nhận thức về CSR (NT) tác động đến Ý nghĩ (YN) là 0,452 và Ý nghĩ (YN) tác động đến Hành vi (HV) là 0,177. Vì vậy để ý nghĩ và hành vi được tốt cần thực hiện đào tạo cân bằng giữa “kiến thức”; “kỹ năng”; “thái độ”. Từ trước tới nay các trường đại học Việt Nam nói chung và Trường Đại học Nông Lâm TP. Hồ Chí Minh nói riêng đào tạo nặng về hàn lâm, nay ngoài kiến thức

chuyên ngành, cần trang bị cho sinh viên về kỹ năng (tư duy; thu thập đánh giá thông tin; giao tiếp...) và thái độ, vì thường thái độ tốt sẽ dẫn đến hành vi tốt. Để làm được việc này, chương trình đào tạo cần được bổ sung thêm tín chỉ về kỹ năng và thái độ.

4. Kết Luận và Kiến Nghị

4.1. Kết luận

Kết quả nghiên cứu đóng góp 2 mặt, là phương pháp nghiên cứu và giá trị sử dụng.

Về mặt phương pháp: Nghiên cứu đã bổ sung thêm các thang đo của các biến nghiên cứu: gia đình người thân, hoạt động phong trào, nhân khẩu học, tự nhận thức, nhận thức về CSR của sinh viên, ý thức và hành vi. Các thang đo đều đạt được độ tin cậy và giá trị phân biệt, đã mở thêm hướng đo lường nhận thức về CSR.

Về mặt giá trị nội dung: Từ kết quả tổng hợp 787 quan sát, nghiên cứu đã chỉ ra được giai đoạn hình thành và các yếu tố ảnh hưởng tới nhận thức về CSR của sinh viên. Bên cạnh đó nghiên cứu còn chỉ ra được các biến và thang đo dùng để đo lường nhận thức về CSR của sinh viên là gia đình người thân, hoạt động phong trào, nhân khẩu học và tự nhận thức. Mặt khác kết quả còn chỉ ra có mối liên quan từ nhận thức về CSR tới ý nghĩ và hành vi. Từ đó đã đề ra được một số giải pháp nhằm nâng cao nhận thức về CSR cho sinh viên có ý nghĩa thực tiễn cho các nhà quản trị đại học Việt Nam nói chung và Trường Đại học Nông Lâm TP. Hồ Chí Minh là rất cần thiết.

4.2. Kiến nghị

Tương tự các nghiên cứu khác, khi sử dụng kết quả cần lưu ý.

Nghiên cứu chỉ xem xét 4 yếu tố tác động đến Nhận thức về CSR của sinh viên (gia đình - người thân; hoạt động phong trào; nhân khẩu học và tự nhận thức), nhưng trong thực tế có nhiều yếu tố khác tác động như chương trình đào tạo, văn hóa, tín ngưỡng,...

Để có giải pháp tốt hơn cho các nhà quản trị đại học, việc thu thập số liệu nên được phủ khắp TP. Hồ Chí Minh hoặc cả nước khi đó kết quả sẽ khách quan hơn.

Tài Liệu Tham Khảo (References)

- Ali, I., Rehman, K. U., Yilmaz, A. K., Nazir, S., & Ali, J. F. (2010). Effects of corporate social responsibility on consumer retention in the cellular industry of Pakistan. *African Journal of Business Management* 4(4), 475-485.
- Anderson, J. C., & Gerbing, D. W. (1988). Structural equation modelling in practice: A review and recommended two-step approach. *Psychological Bulletin* 103(3), 411.
- Bailey, G., & Gayle, N. (2003). *Social theory: Essential readings*. Toronto, Canada: Oxford University Press.
- Balabanis, G., Phillips, H. C., & Lyall, J. (1998). Corporate social responsibility and economic performance in the top British companies: are they linked? *European Business Review* 98(1), 25-44.
- Bem, D. J. (1967). Self-perception: An alternative interpretation of cognitive dissonance phenomena. *Psychological Review* 74(3), 183.
- Bem, D. J. (1972). Self-perception theory. In *Advances in experimental social psychology* (Vol. 6, 1-62). Massachusetts, USA: Academic Press.
- Berle, A., & Means, G. (1932). *Private property and the modern corporation*. New York, USA: Macmillan.
- Burcea, M., & Marinescu, P. (2011). Students' Perceptions on Corporate Social Responsibility at the Academic Level. Case Study: The Faculty of Administration and Business, University of Bucharest. *Amfiteatru Economic Journal* 13(29), 207-220.
- Bui, T. A., & Pham, H. T. (2011). *Organizational Behavioral Curriculum* (1st ed.). Ha Noi, Vietnam: National Economics University Press.
- Carroll, A. B. (1991). The pyramid of corporate social responsibility: Toward the moral management of organizational stakeholders. *Business Horizons* 34(4), 39-48.
- Dahlsrud, A. (2008). How corporate social responsibility is defined: an analysis of 37 definitions. *Corporate Social Responsibility and Environmental Management* 15(1), 1-13.
- Efron, R. (1969). What is perception? In *Proceedings of the Boston Colloquium for the Philosophy of Science 1966/1968* (137-173). Dordrecht, Netherlands: Springer.
- Fitzpatrick, J. (2013). Business students' perceptions of corporate social responsibility. *College Student Journal* 47(1), 86-95.
- Le, N., & Nguyen, T. T. M. (2016). University personality, external prestige and university reputation on supporting the attitude of university student. *Journal of Agricultural Science and Technology* 2, 106-114.
- Luo, X., & Bhattacharya, C. B. (2006). Corporate social responsibility, customer satisfaction, and market value. *Journal of Marketing* 70(4), 1-18.
- Marin, L., Ruiz, S., & Rubio, A. (2009). The role of identity salience in the effects of corporate social responsibility on consumer behavior. *Journal of Business Ethics* 84(1), 65-78.
- McShane, S. L., & Von Glinow, M. A. (2003). The employment relationship and career dynamics. *Organizational behavior: Emerging realities for the workplace revolution* (International ed., 552-555). New York, America: McGraw-Hill Education.
- Nguyen, T. N. (2010). Linking human resource management with CSR. *Ha Noi National University Journal of Science, Economics and Business* (26), 232-238.
- Nguyen, H. D., Tran, K. T., & Le, X. T. T. (2014). CSR from the perception of university students. *Journal of Science, Ho Chi Minh City Open University* 5(38), 28-40.
- Nunnally, J. C., & Bernstein, I. H. (1994). *Psychological theory*. New York, USA: MacGraw-Hill.
- Sweeney, L. (2009). A study of the current practice of corporate social responsibility (CSR) and an examination of the relationship between CSR and financial performance using structural equation modelling (SEM). (Unpublished doctoral dissertation). Technological University, Dublin, Ireland.
- Teixeira, A., Ferreira, M. R., Correia, A., & Lima, V. (2018). Students' perceptions of corporate social responsibility: evidence from a Portuguese higher education institution. *International Review on Public and Nonprofit Marketing* 15(2), 235-252.
- Thøger Christensen, L., Fuat Fırat, A., & Torp, S. (2008). The organisation of integrated communications: toward flexible integration. *European Journal of Marketing* 42(3/4), 423-452.

Evaluation of growth and development of some varieties of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill) under nethouse conditions in Chau Doc

Chuong V. Nguyen

Faculty of Agriculture and Natural Resources, An Giang University, An Giang, Vietnam

ARTICLE INFO

Research Paper

Received: December 19, 2018

Revised: September 06, 2019

Accepted: September 16, 2019

Keywords

Black tomatoes

Chau Doc City

Nethouse

Corresponding author

Nguyen Van Chuong

Email: nvchuong@agu.edu.vn

ABSTRACT

This study was carried out under nethouse conditions in Chau Doc city with 6 types of black tomatoes to select the potential ones suitable for the local ecological conditions. The objective of this research was to evaluate growth parameters, fruit quality, and adaptability characteristics of black tomato varieties under nethouse conditions in Chau Doc city. The results showed that some promising cultivars had an early harvest ranging from 90 days to 103 days such as Indigo Rose, Viagra Socolate, black Russia, Cherry Chocolte, Black Baron and Savior. All cultivars had a plant structure well adapted to the local nethouse conditions in Chau Doc city. Variety Cherry Chocolate gained the highest fruit setting with 203. Viagra Socolate, black Russia, Cherry Chocolte gained higher at over 4,0 tons/1,000 m². The lowest yield of the Black Baron was obtained at 2,83 tons/1,000 m². The Savior was obtained at 7.05 tons/1,000 m² with a relatively good fruit quality. Briefly, the promising cultivars are Viagra Socolate, Cherry Chocolte, black Russia and further research is needed to evaluate their real field production.

Cited as: Nguyen, C. V. (2019). Evaluation of growth and development of some varieties of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill) under nethouse conditions in Chau Doc. *The Journal of Agriculture and Development* 18(5), 10-17.

Khảo sát khả năng sinh trưởng và phát triển của một số giống cà chua (*Lycopersicon esculentum* Mill) trong điều kiện nhà lưới tại Thành phố Châu Đốc

Nguyễn Văn Chương

Khoa Nông Nghiệp, Trường Đại Học An Giang, An Giang

THÔNG TIN BÀI BÁO

Bài báo khoa học

Ngày nhận: 19/12/2018

Ngày chỉnh sửa: 06/09/2019

Ngày chấp nhận: 16/09/2019

Từ khóa

Cà chua đen

Nhà lưới

Thành phố Châu Đốc

Tác giả liên hệ

Nguyễn Văn Chương

Email: nvchuong@agu.edu.vn

TÓM TẮT

Nghiên cứu được thực hiện tại Thành phố Châu Đốc trong điều kiện nhà lưới với 06 giống cà chua đen để chọn được giống cà chua phù hợp điều kiện sinh thái địa phương với mục tiêu đánh giá các chỉ tiêu sinh trưởng, phẩm chất trái và đặc tính thích nghi của các giống cà chua đen trong điều kiện nhà lưới tại TP. Châu Đốc. Kết quả nghiên cứu cho thấy 06 giống kết thúc thu hoạch gồm Indigo Rose, Viagra Socolate, Đen Nga, Cherry Chocolte, Baron Đen và Savior từ 90 đến 103 ngày. Tất cả các giống trong nghiên cứu có cấu trúc thân thích nghi tốt với điều kiện trong nhà lưới tại Châu Đốc. Tỷ lệ đậu quả của giống Cherry Chocolate cao nhất đạt 203 trái. Các giống Viagra Socolate, Đen Nga, Cherry Chocolte có năng suất thực thu cao trên 4 tấn/1.000 m², trong đó thấp nhất là Baron Đen chỉ đạt 2,83 tấn/1.000 m², cao nhất là Savior đạt 7,05 tấn/1.000 m² và chất lượng quả tương đối tốt. Tóm lại, các giống Viagra Socolate, Đen Nga, Cherry Chocolte cần được tiếp tục nghiên cứu trong các vụ mùa tiếp theo nhằm đánh giá tiềm năng của các giống này và áp dụng vào thực tế sản xuất.

1. Đặt Vấn Đề

Cà chua (*Lycopersicon esculentum* Mill) là loại rau ăn quả mang hiệu quả kinh tế và giá trị về dinh dưỡng cao, bên cạnh đó cà chua có ý nghĩa tích cực trong việc luân canh tăng vụ. Châu Đốc không trồng được cà chua, đến năm 2013 đã thành công với mô hình trồng cà chua ghép gốc. Đồng thời, việc áp dụng kỹ thuật ghép gốc cà tím giúp cây cà chua sinh trưởng và chống chịu với điều kiện ngoại cảnh cũng như áp lực sâu bệnh tốt hơn. Sau đó tiếp tục mở rộng diện tích trồng cà chua ghép và phát triển hơn nữa với mô hình trồng cà chua trong nhà màng với kỹ thuật trồng bán thủy canh trên giá thể, tưới nhỏ giọt tiếp tục cho kết quả khả quan. Trong năm 2015 và 2016, nông dân đã tiến hành trồng thử giống cà chua đen kết quả nhận được rất khả quan, cây trồng phát triển tốt, giá cao hơn so với cà chua thường. Cà chua đen là loại cây trồng cho giá trị sản xuất và thành phần dinh dưỡng cao với hàm lượng vitamin và chất chống oxy hóa rất cao, chứa anthocyanin, chất chống oxy hóa có trong quả việt

quất (Dang & ctv., 2009). Đồng thời, anthocyanin cũng là thành phần không thể thiếu trong các loại thực phẩm chức năng và thực phẩm khác, điều đó hoàn toàn phù hợp với xu hướng hiện nay của các nước trên thế giới là nghiên cứu khai thác tính ưu việt của các hợp chất từ thiên nhiên phục vụ cho các nhu cầu nâng cao cuộc sống của con người. Do vậy, mục tiêu nghiên cứu nhằm đánh giá các chỉ tiêu sinh trưởng, phẩm chất trái và đặc tính thích nghi của các giống cà chua đen trong điều kiện nhà lưới tại TP. Châu Đốc, tỉnh An Giang.

2. Vật Liệu và Phương Pháp Nghiên Cứu

2.1. Vật liệu

Thí nghiệm được tiến hành trong nhà lưới vụ Hè Thu từ tháng 5/2017 đến tháng 9/2017, tại phường Châu Phú B, TP. Châu Đốc, tỉnh An Giang.

Sáu giống cà chua đen: Indigo Rose, Viagra Socolate, Đen Nga, Cherry Chocolte, Baron Đen và Savior (giống do công ty Syngenta Việt Nam

phân phối) được ghép gốc cà tím EG 203 chịu úng và chịu hạn tốt của Trung tâm Nghiên cứu và phát triển Châu Á (AVRDC).

Giá thể trồng: được phối trộn hỗn hợp tro trấu, trấu sống, xơ dừa, phân hữu cơ ủ oai, phân hữu cơ vi sinh, phân lân tỉ lệ 30:10:30:10:5:2,5 (%) và nấm Trichoderma.

Chậu nhựa đường kính 40 cm.

Hệ thống ống tưới nhỏ giọt kết hợp tưới nước với dinh dưỡng (Công ty Khang Thịnh). Dinh dưỡng sẽ được pha vào nước, phối hợp tưới nước và bón phân vào các đợt bón. Giai đoạn mới trồng không sử dụng nhiều phân đạm và chất kích thích sinh trưởng dễ làm hỏng, bung vết ghép. Phân bón và nồng độ: 0 - 52 - 34, 12 - 61 - 0, K_2SO_4 , hữu cơ 5.4.3, Mg, Ca, Zn, Bo, Super Cal 8, Tomato Plus, Obaone 90 WG, Chess, Close, Prevathone, Benivia, Tricoderma, phối hợp chất bám dính khi phun thuốc bệnh và dầu khoáng khi phun thuốc trừ sâu, rầy.

2.2. Phương pháp

2.2.1. Bố trí thí nghiệm

Thí nghiệm được bố trí theo thể thức khối hoàn toàn ngẫu nhiên theo chiều biến động ánh sáng bao gồm 6 nghiệm thức, mỗi nghiệm thức là 1 giống cà chua đen và 1 nghiệm thức làm đối chứng (Savior). Mỗi nghiệm thức có 6 chậu (cây), 4 lần lặp lại. Các nghiệm thức gồm NT1: Cà chua đen Indigo Rose, NT2: Cà chua Viagra Socolate, NT3: Cà chua Đen Nga, NT4: Cà chua Cherry Chocolate, NT5: Cà chua Baron đen, NTĐC: Cà chua Savior. Khoảng cách trồng bố trí các túi cách túi 40 cm, hàng cách hàng 80 cm. Mật độ 3.000 chậu/1.000 m². Mỗi nghiệm thức 2 m² (6 chậu). Diện tích thí nghiệm: 2 m² × 6 NT × 4 = 48 m².

2.2.2. Kỹ thuật canh tác

Chuẩn bị cây con: Gốc ghép cà tím EG 203 được gieo trước 3 - 7 ngày. Ngọn ghép cà chua đen gieo trên khay với giá thể hỗn hợp mụn xơ dừa và phân hữu cơ vi sinh, tỉ lệ 10:0,5 trộn đều, tưới thật ẩm. Khi cây cao 10 cm - 15 cm, có 4 - 6 lá thật đối với gốc cà tím và cao 15 cm - 18 cm đối với ngọn cà đen, cây cứng cáp, không sâu bệnh, đường kính gốc và ngọn tương đương nhau thì tiến hành ghép. Khoảng 12 - 15 ngày sau khi ghép, cây khỏe mạnh, không sâu bệnh, liền vết ghép là đủ tiêu chuẩn để trồng.

Trồng cây ghép: Trồng vào buổi chiều mát, vết ghép phải nằm trên mặt đất, cố định cây ghép tránh làm tổn thương vết ghép. Tia bỏ các chồi của ngọn ghép khi vừa nhú ra, mỗi cây chỉ để lại 1 thân chính và 2 nhánh cấp 1 ở sát dưới chùm hoa thứ nhất, sau đó để cây ra nhiều nhánh sẽ cho nhiều hoa. Tiến hành làm giàn sau khi trồng 2 - 3 tuần, cây cao 30 cm - 40 cm.

Bón phân: Phân bón sẽ được pha vào nước, phối hợp tưới nước và bón phân vào các đợt bón. Giai đoạn mới trồng không sử dụng nhiều phân đạm và chất kích thích sinh trưởng dễ làm hỏng, bung vết ghép. Lượng phân bón được trình bày trong Bảng 1.

2.2.3. Các chỉ tiêu theo dõi

Các chỉ tiêu theo dõi gồm: Thời gian sinh trưởng của các giống cà chua; chiều cao cây (cm): đo dọc theo thân chính từ cổ rễ đến đỉnh sinh trưởng của cây; thành phần năng suất: Số trái trên cây được xác định bằng cách đếm số trái trên từng cây qua tất cả các lần thu hoạch rồi cộng tổng; trọng lượng trái trên cây (kg/cây): Cân tất cả trái của từng cây ở các lần thu hoạch, rồi cộng tổng; phẩm chất trái: Độ khác màu vỏ trái và hàm lượng Anthocyanin trong trái, hàm lượng vitamin C thịt trái (mg/100 g).

2.2.4. Phương pháp phân tích

Màu vỏ trái được đo bằng máy đo màu Chroma Meter CR - 400, đo ở vị trí đầu, giữa và ở cuối trái. Hàm Lượng Anthocyanin trong trái được đo bằng phương pháp pH vi sai. Hàm lượng vitamin C thịt trái (mg/100 g) được đo bằng phương pháp xác định hàm lượng vitamin C (Axit Ascobic) theo tiêu chuẩn Việt Nam - TCVN 4715:1989.

2.3. Phương pháp xử lý số liệu

Sử dụng chương trình Microsoft Excel nhập liệu, vẽ đồ thị và phần mềm MSTASC để thống kê và phân tích số liệu.

3. Kết Quả và Thảo Luận

3.1. Thời gian sinh trưởng của các giống cà chua

Kết quả Bảng 2, thời gian từ khi trồng đến trở hoa của các giống không cách nhau nhiều. Hai giống Cherry Chocolate và Savior trở hoa sớm

Bảng 1. Lượng phân bón (1.000 m²)

Loại phân	Tổng số	Giá thể	Dinh dưỡng ngày sau trồng				
			0 - 15	15 - 30	30 - 45	45 - 75	75 - 105
Borat (kg)	0,5	0,5	-	-	-	-	-
Tricoderma (lít)	16	16	-	-	-	-	-
12 - 6 - 0 (kg)	38	-	Cách ngày/lần		-	-	-
0 - 52 - 34 (kg)	44	-	Cách ngày/lần		-	-	-
K ₂ SO ₄ (kg)	36	-	-	-	-	Cách ngày/lần	
HC 5.4.3 (lít)	10	-	-	-	-	Cách ngày/lần	
Mg (kg)	40	-	Cách ngày/lần				
Ca (kg)	30	-	Cách ngày/lần				
Phân bón trung, vi lượng (Zn, Bo) (g)	13	-	2 - 3 ngày 1 lần tùy nhu cầu dinh dưỡng từng giai đoạn				
Super Cal 8 (lít)	1	-	-	-	-	7 ngày/lần phun trái	
Tomato Plus (lít)	0,5	-	-	-	-	7 ngày/lần phun lá	

Bảng 2. Thời gian trổ, thu hoạch, kéo dài và kết thúc thu hoạch của giống cà chua tại nhà lưới Tp. Châu Đốc, tỉnh An Giang

Giống	Thời gian sau khi trồng (ngày)			Thời gian kéo dài thu hoạch (ngày)
	Trổ hoa	Bắt đầu thu hoạch	Kết thúc thu hoạch	
Indigo Rose	23	45	103	58
Viagra Socolate	21	50	105	55
Đen Nga	23	50	95	45
Cherry Chocolte	19	52	97	45
Baron Đen	22	60	90	30
Savior	19	45	105	60

(19 NSKT), kế đó là giống Viagra (21 NSKT), trễ nhất là 2 giống Indigo Rose và Đen Nga (23 NSKT).

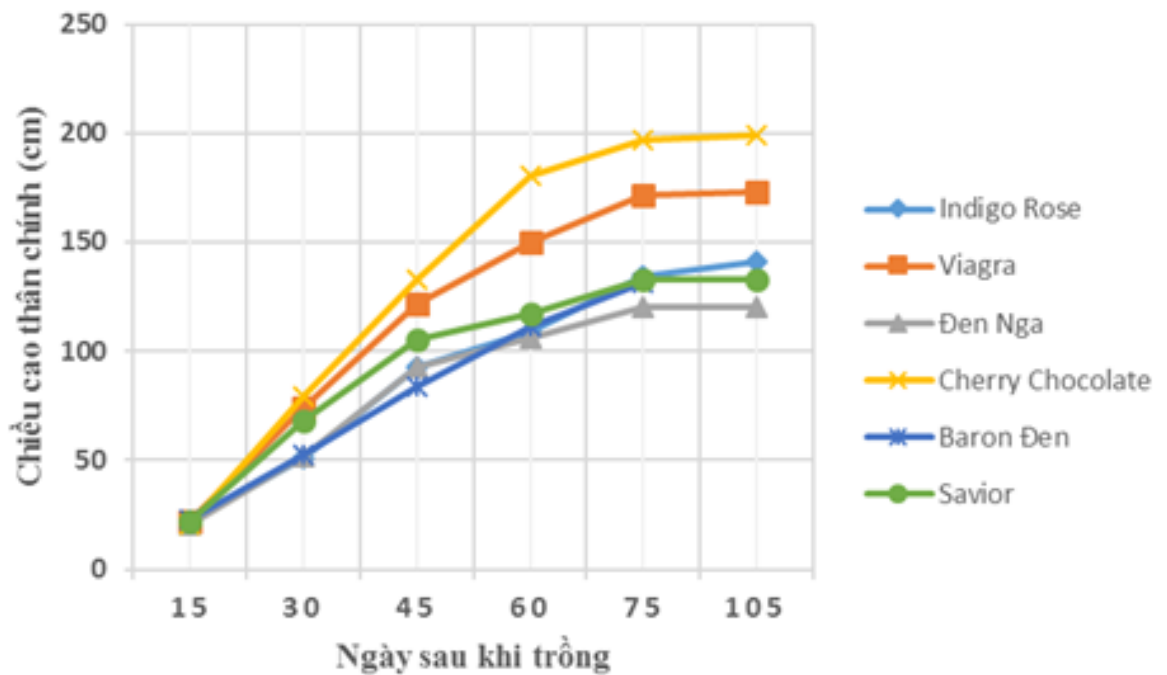
Thời gian thu hoạch sớm nhất là giống Indigo Rose và Savior (45 NSKT), các giống còn lại có thời gian thu trái muộn hơn từ 50 - 60 NSKT. Riêng giống Baron Đen phải thực hiện biện pháp rung cây vào buổi sáng để hỗ trợ thụ phấn.

Mặc dù được trồng trong điều kiện kỹ thuật canh tác giống nhau nhưng thời gian kéo dài, thu hoạch không giống nhau giữa các giống. Thời gian thu hoạch dài nhất là giống Savior (60 ngày), kế đến là giống Indigo Rose (58 ngày), giống Baron Đen có thời gian thu hoạch ngắn nhất (30 ngày), thời gian thu hoạch có thể do đặc tính di truyền của giống và khả năng thích nghi với điều kiện ngoại cảnh.

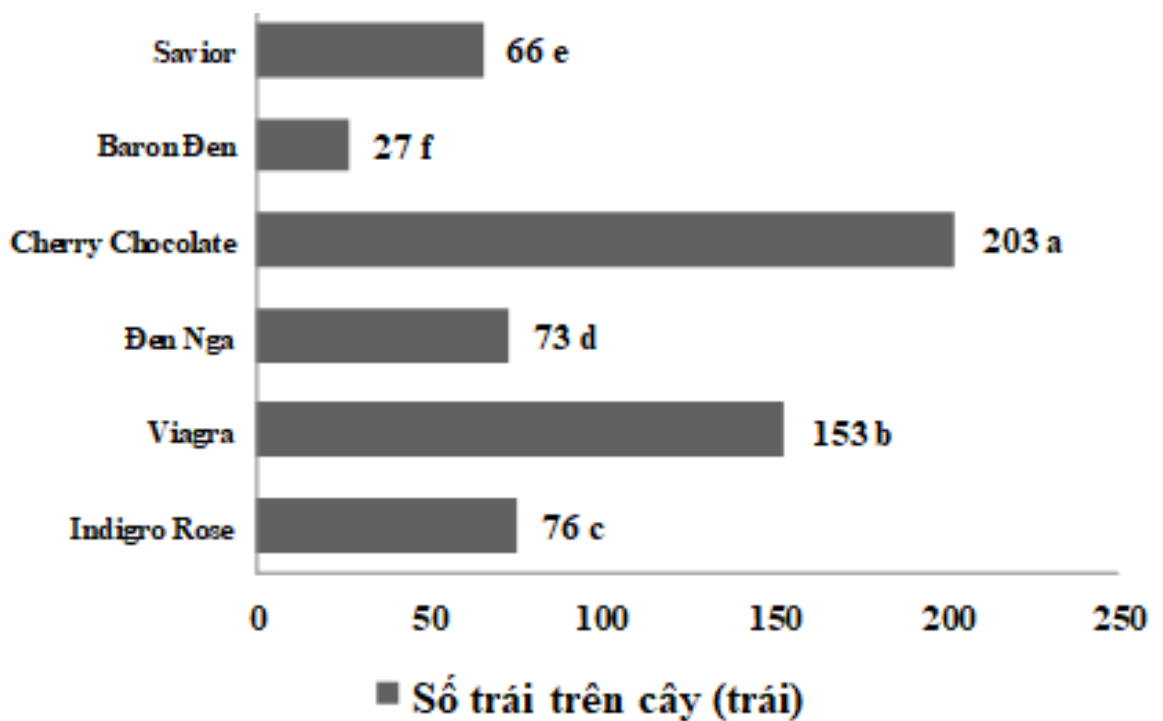
Các giống khảo nghiệm hầu hết là giống nhập nội từ Nga và Mỹ nên so về điều kiện khí hậu tại Việt Nam có phần khác biệt nhiều đặc biệt là nhiệt độ. Đây có thể là nguyên nhân ảnh hưởng đến sinh trưởng và phát triển của cây trồng.

3.2. Chiều cao thân chính

Kết quả Hình 1 cho thấy trong thời gian khảo sát chiều cao thân chính của các giống cà chua trồng trong nhà lưới qua các giai đoạn có sự khác biệt thống kê ở mức ý nghĩa 1%, giống Cherry Chocolate có chiều cao thấp nhất tại giai đoạn 15 NSKT là 20,8 cm nhưng lại cao nhất ở giai đoạn 105 NSKT (199 cm), kế đến là giống Viagra (173 cm) và giống Indigo Rose (141 cm). Giống Đen Nga có chiều cao thấp nhất (120 cm). Tốc độ tăng trưởng chiều cao thân chính của các giống cà có khác nhau qua từng giai đoạn. Giống Cherry Chocole tăng trưởng mạnh nhất từ giai đoạn 15 - 60 ngày (3,61 cm/ngày - 3,97 cm/ngày - 3,11 cm/ngày), kế đến là Viagra. Giai đoạn 30 - 45 NSKT là giai đoạn các giống có tốc độ tăng trưởng mạnh nhất (2,11 cm/ngày - 3,97 cm/ngày). Từ giai đoạn 45 NSKT về sau hầu hết các giống tăng trưởng chậm dần và chậm nhất ở giai đoạn 75 - 105 NSKT gần như không đáng kể (0,03 cm/ngày - 0,12 cm/ngày), giai đoạn này chủ yếu cung cấp dinh dưỡng để kết trái và nuôi trái.



Hình 1. Chiều cao thân chính của 6 giống cà chua tại nhà lưới TP. Châu Đốc, tỉnh An Giang (Tháng 05 - 09/2017).



Hình 2. Số trái trên cây của 6 giống cà chua tại nhà màng (Châu Đốc, 05 - 09/2017).

Bảng 3. Trọng lượng trái trên cây và năng suất của 6 giống cà chua tại nhà lưới

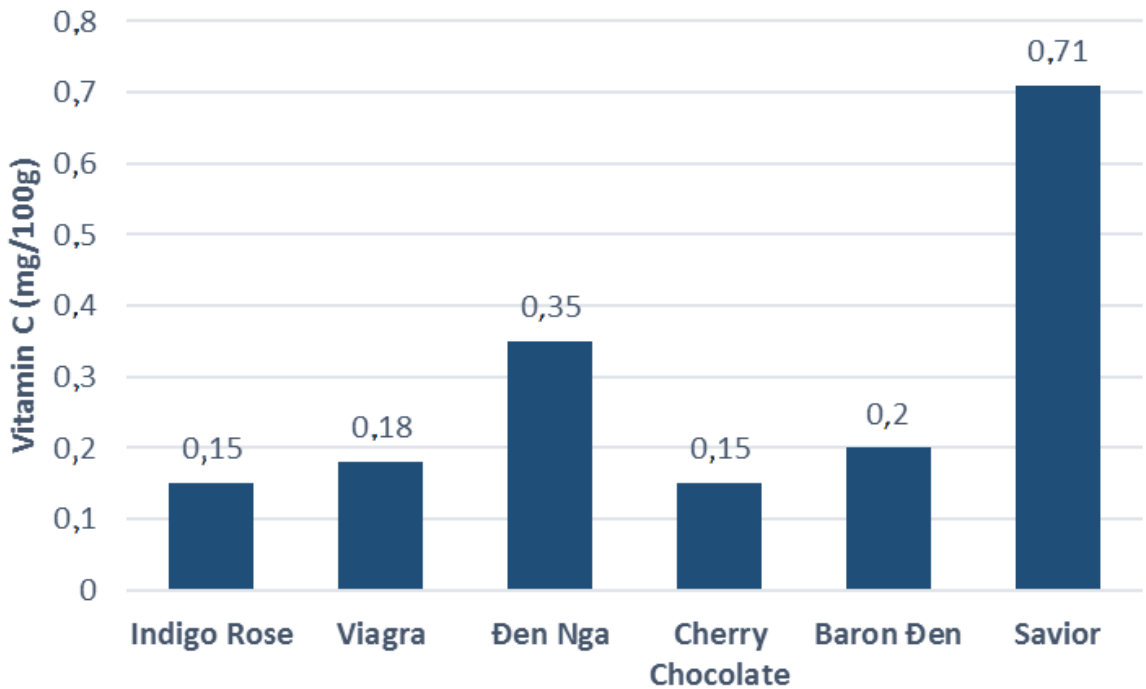
Giống	TL trái/cây (kg/cây)	Năng suất (tấn/1.000 m ²)
Indigo Rose	1,89 ^b	5,66 ^b
Viagra	1,47 ^c	4,42 ^c
Đen Nga	1,68 ^{bc}	5,03 ^{bc}
Cherry Chocolate	1,71 ^b	5,14 ^b
Baron Đen	0,94 ^d	2,83 ^d
Savior	2,35 ^a	7,05 ^a
F	**	**
CV (%)	9,38	9,39

^{a-d}Các số trong cùng cột có chữ số theo sau giống nhau thì không có khác biệt qua phân tích Duncan;
^{**} Khác biệt mức ý nghĩa 1%.

Bảng 4. Độ khác màu vỏ trái và hàm lượng anthocyanin của 6 giống cà chua trồng tại nhà lưới (Châu Đốc, 05 - 09/2017)

Giống	Độ khác màu vỏ trái	Anthocyanin (µg/kg)
Indigo Rose	30,7	1,70
Viagra	32,9	1,50
Đen Nga	29,5	1,70
Cherry Chocolate	31,0	1,10
Baron Đen	29,7	1,90
Savior	35,1	1,40
F ¹	ns	ns
CV (%)	11,5	12,9

¹ns: khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($P > 0,05$).



Hình 3. Hàm lượng Vitamin C của 6 giống cà tại nhà lưới (Châu Đốc, 05 – 09/2017).

Giai đoạn đầu khi cây mới vào nhà (1 - 15 NSKT) cây có biểu hiện lá xoăn và vàng nhẹ nhưng sau đó lại ổn định trở lại, đến giai đoạn 30 - 45 NSKT cây có bộ rễ đã phát triển lại và đã dần thích nghi với điều kiện bên trong nhà nên sinh trưởng nhanh.

3.3. Thành phần năng suất

3.3.1. Số trái trên cây

Kết quả Hình 2 cho thấy, tổng số trái trên cây của 6 giống cà chua có sự khác biệt thống kê mức ý nghĩa 1%, giống Cherry Chocolate cho số trái trên cây cao nhất (203 trái) và giống Baron Đen có số trái trên cây thấp nhất (27 trái). Trong khi giống Savior có số trái trên cây thấp (66 trái) đứng vị trí thứ 2 về mặt thống kê. Điều này phù hợp với nghiên cứu của Ta (2005), số lượng trái trên cây phụ thuộc vào đặc tính di truyền của giống và tương quan chặt với năng suất. Đồng thời, cũng chịu tác động lớn của điều kiện ngoại cảnh và kỹ thuật canh tác.

3.3.2. Trọng lượng trái trên cây

Kết quả từ Bảng 3 cho thấy trọng lượng trái trên cây của 6 giống cà chua có sự khác biệt thống kê ở mức ý nghĩa 1%, cao nhất là giống Savior (2,35 kg/cây) và thấp nhất là giống Baron Đen (0,940 kg/cây), 2 giống Indigo Rose và Cherry Chocolate có trọng lượng trái lần lượt là 1,89 kg/cây và 1,71 kg/cây đứng vị trí thứ 2 và không khác biệt. Giống Savior có số trái trên cây ít nhưng có trọng lượng trung bình trái lại cao (33,1 g/trái) điều này làm cho giống Savior đạt trọng lượng trái cao nhất. Năng suất của 6 giống cà chua có sự khác biệt thống kê ở mức ý nghĩa 1% cao nhất là giống Savior (7,05 tấn/1.000 m²), thấp nhất là giống Baron Đen (2,83 tấn/1.000 m²). Giống Indigo Rose và Cherry Chocolate cho năng suất lần lượt là 5,66 tấn/1.000 m² và 5,14 tấn/1.000 m² không khác biệt, trái lên màu đẹp về cảm quan, rất được người tiêu dùng ưa thích.

3.4. Phẩm chất trái

3.4.1. Hàm lượng Vitamin C (mg/100 g)

Hàm lượng vitamin C có sự khác biệt thống kê ở mức ý nghĩa 1% (Hình 3). Giống Savior có hàm lượng vitamin C cao nhất (0,71 mg/100 g), giống Indigo Rose có hàm lượng vitamin C thấp nhất và tương đương với Cherry Chocolate (0,15 mg/100

g). Các giống còn lại có hàm lượng vitamin C lần lượt là 0,18 mg/100 g - 0,2 và 0,35 mg/100 g. Theo Ta (2005), hàm lượng vitamin C được qui định bởi đặc tính giống.

3.4.2. Độ khác màu vỏ trái và hàm lượng anthocyanin

Màu sắc quả là yếu tố quyết định trực tiếp đến giá trị thương phẩm và là đặc trưng của giống nhưng cũng chịu tác động mạnh của điều kiện ngoại cảnh, đặc biệt là ánh sáng và nhiệt độ không khí.

Màu sắc vỏ trái của 6 giống không có sự khác biệt thống kê. Nhìn chung, màu sắc vỏ trái của 6 giống cà chua có 3 màu: vỏ trái màu đỏ (giống Savior và Viagra), vỏ trái màu nâu (chocolate) là giống Cherry Chocolate và màu nâu đen ở 3 giống Indigo Rose, Đen nga và Baron Đen. Theo Ta (2002) sắc tố hình thành ở nhiệt độ 20°C, màu sắc quả là đặc trưng của giống.

Kết quả từ Bảng 4 cho thấy trong trong các giống khảo sát có chứa một lượng anthocyanin mặc dù hàm lượng không cao và không có sự khác biệt thống kê, dao động từ 1,1 µg/kg - 1,9 µg/kg. Theo Dai (2008), anthocyanin là hợp chất màu hữu cơ có nguồn gốc tự nhiên, thuộc nhóm flavonoid, có màu đỏ, đỏ tím.

4. Kết Luận

Kết quả nghiên cứu cho thấy 06 giống kết thúc thu hoạch gồm Indigo Rose, Viagra Socolate, Đen Nga, Cherry Chocolte, Baron Đen và Savior từ 90 đến 103 ngày. Tỷ lệ đậu quả của giống Cherry Chocolate cao nhất đạt 203 trái. Các giống Viagra Socolate, Đen Nga, Cherry Chocolte có năng suất thực thu cao trên 4 tấn/1.000 m², trong đó thấp nhất là Baron Đen chỉ đạt 2,83 tấn/1.000 m², cao nhất là Savior đạt 7,05 tấn/1.000 m² và chất lượng quả tương đối tốt. Sáu giống khảo sát có chứa một lượng anthocyanin dao động từ 1,1 µg/kg - 1,9 µg/kg. Các giống triển vọng là Viagra Socolate, Đen Nga, Cherry Chocolte cần tiếp tục nghiên cứu các giống triển vọng được đề xuất trong các vụ mùa tiếp theo nhằm đánh giá tốt tiềm năng của các giống và áp dụng vào thực tế sản xuất.

Tài Liệu Tham Khảo (References)

Dai, B. D. (2008). *Natural bioactive compounds used for preventing some diseases in human and animals*. Hà

- Noi, Vietnam: Science and Technics Publising House.
- Dang, T. T., To, A. K., Le, H. Q., Do, L. N., Nguyen, S. T. X., Le, T. N., & Do, V. H. (2009). *Basic biotechnology. T2 - Biochemical technology*. Ha Noi, Vietnam: Vietnam Education Publishing House.
- Ta, C. T. (2005). *Lectures: Techniques for growing vegetables*. Ha Noi, Vietnam: Ha Noi Publishing House.
- Ta, C. T. (2002). *Techniques for growing tomatoes*. Ha Noi, Vietnam: Agricultural Publishing House.

Evaluation of chemical composition and inhibitory effects of *Hypochoeris radicata* L. extracts on seed germination and growth of *Echinochloa crus-galli* L.

Men T. Tran*, Tuan T. Nguyen, Ly H. Sam, Khang T. Do, & Yen D. H. Nguyen
College of Natural Sciences, Can Tho University, Can Tho, Vietnam

ARTICLE INFO**Research Paper**

Received: May 22, 2019

Revised: August 30, 2019

Accepted: September 20, 2019

Keywords

Allelopathic

Barnyard-grass

Germination inhibition

Hypochoeris radicata L.

Phenolic acids

***Corresponding author**

Tran Thanh Men

Email: ttmn@ctu.edu.vn

ABSTRACT

Allelopathy is a common plant-resistance mechanism in nature, this mechanism demonstrates the growth of this plant that may affect the growth and development of other nearby plant species through the production of secondary compounds. In this study, the allelopathic ability of ethanol extracts from *Hypochoeris radicata* L. on *Echinochloa crus-galli* L. was investigated in laboratory conditions. The extracts from stems of *Hypochoeris radicata* L. at the concentration of 5 mg/mL showed highest inhibition (73.33%) on seed germination of barnyard-grass (*Echinochloa crus-galli* L.). In this study, total polyphenol and flavonoids in *Hypochoeris radicata* L. were determined by spectrophotometry. Polyphenol and flavonoids present in all parts of the *Hypochoeris radicata* L. were investigated. The highest polyphenol content in leaves was 9.67 mg/g extract and the flavonoid content in roots was 29.56 mg/g extract. Phenolic acids in extracts from leaves, flowers, and roots were identified by HPLC. The results showed the presence of 7 phenolic acids including chlorogenic, syringic, vanillic, synapic, p-coumaric, benzoic and ellagic in the extracts. The findings highlighted that *Hypochoeris radicata* L. is a wild plant species with great potential for allelochemicals.

Cited as: Tran, M. T., Nguyen, T. T., Sam, L. H., Do, K. T., & Nguyen, Y. D. H. (2019). Evaluation of chemical composition and inhibitory effects of *Hypochoeris radicata* L. extracts on seed germination and growth of *Echinochloa crus-galli* L. *The Journal of Agriculture and Development* 18(5), 18-23.

Đánh giá thành phần hóa học và tác dụng ức chế sự nảy mầm và phát triển của hạt cỏ lồng vực (*Echinochloa crus-galli* L.) từ cao chiết cây bồ công anh (*Hypochaeris radicata* L.)

Trần Thanh Mến*, Nguyễn Trọng Tuân, Sầm Hải Lý, Đỗ Tấn Khang & Nguyễn Đình Hải Yến
Khoa Khoa Học Tự Nhiên, Trường Đại Học Cần Thơ, Cần Thơ

THÔNG TIN BÀI BÁO

Bài báo khoa học

Ngày nhận: 22/05/2019

Ngày chỉnh sửa: 30/08/2019

Ngày chấp nhận: 20/09/2019

Từ khóa

Bồ công anh

Cỏ lồng vực

Kháng cỏ

Sự ức chế cảm nhiễm

Ức chế nảy mầm

*Tác giả liên hệ

Trần Thanh Mến

Email: ttmen@ctu.edu.vn

TÓM TẮT

Sự ức chế cảm nhiễm (allelopathy) là một cơ chế đối kháng thực vật phổ biến trong tự nhiên, cơ chế này thể hiện khi sự phát triển của loài thực vật này có thể ảnh hưởng đến sự sinh trưởng và phát triển các loài thực vật lân cận thông qua việc sản sinh các hợp chất thứ cấp. Trong nghiên cứu này, khả năng kháng cỏ lồng vực (CLV) của cao chiết ethanol từ cây bồ công anh (BCA) được khảo sát trong điều kiện phòng thí nghiệm. Kết quả khảo sát cho thấy, tại nồng độ 5 mg/mL cao chiết của thân BCA có tác dụng ức chế nảy mầm hạt CLV cao nhất là 73,3%. Bên cạnh đó, hàm lượng polyphenol và flavonoid tổng số trong cây BCA được xác định bằng phương pháp đo quang phổ. Các hợp chất polyphenol và flavonoid có trong tất cả các bộ phận của cây được khảo sát. Hàm lượng polyphenol cao nhất trong lá là 9,67 mg/mL cao, flavonoid có hàm lượng nhiều nhất trong rễ là 29,56 mg/mL cao. Mẫu cao chiết từ các bộ phận cây BCA cũng được sử dụng để định tính các acid phenolic bằng phương pháp HPLC. Có bảy loại acid phenolic hiện diện trong các mẫu cao chiết BCA, đó là chlorogenic, syringic, vanillic, synapic, p-coumaric, benzoic và ellagic. Từ các số liệu cho thấy BCA là một loài thực vật hoang dại rất có tiềm năng trong nghiên cứu về các hợp chất tự nhiên có hoạt tính kháng cỏ.

1. Đặt Vấn Đề

Cỏ dại được xem là một trong bốn nhóm dịch hại nguy hiểm nhất trên ruộng lúa, cùng với sâu hại, bệnh hại và chuột. Các số liệu thống kê cho thấy cỏ dại gây thiệt hại về năng suất lúa cao hơn nhiều so với côn trùng và sâu bệnh (Khang & ctv., 2016). Đã có nhiều biện pháp phòng trừ cỏ dại đã được áp dụng, trong đó phổ biến nhất là dùng thuốc diệt cỏ hóa học. Bên cạnh hiệu quả tích cực do thuốc diệt cỏ hóa học mang lại thì việc sử dụng quá mức các loại thuốc này đã dẫn đến những tác động tiêu cực cho con người và các hệ sinh thái (Chung & ctv., 2006). Ức chế cảm nhiễm (allelopathy) là hiện tượng phổ biến trong tự nhiên, hiện tượng này được hiểu là sự phát triển một loài thực vật này đôi khi ảnh hưởng đến sự phát triển của những loài thực vật khác sống lân cận, thông qua việc sản xuất ra các hợp chất thứ cấp được gọi là các chất đối kháng sinh

học (allelochemical). Các chất đối kháng này có thể làm hạn chế sự sinh trưởng và phát triển hay thậm chí tiêu diệt một số loài khác trong cùng khu vực (Thi & ctv., 2014). Các nhà khoa học trên thế giới đã dựa vào hiện tượng này để nghiên cứu và tìm ra các hợp chất kháng cỏ có nguồn gốc tự nhiên vừa có hiệu quả kháng cỏ, vừa thân thiện với môi trường. Các nghiên cứu cho rằng hợp chất có hoạt tính kháng cỏ thường có trong các loài thực vật hoang dại, xâm lấn (Ilori & ctv., 2010; Khang & ctv., 2016). Cây bồ công anh (BCA) có tên khoa học *Hypochaeris radicata* L., đây là một loài thực vật hoang dại thuộc họ Cúc. BCA là loài cỏ có nguồn gốc từ Châu Âu, sau đó phát tán đến các nước khác như Úc, New Zealand, Hàn Quốc, Nhật Bản và Việt Nam. Kim & ctv. (2005) đã xác định rễ và lá của BCA có các acid phenolic, các hợp chất này cũng đã được chứng minh là có hoạt tính kháng cỏ. Dù vậy, các số liệu về tác dụng kháng cỏ của BCA chưa được công bố rõ

ràng và cụ thể. Nghiên cứu này nhằm mục tiêu đánh giá tiềm năng kháng cổ lông vược (CLV) của các cao chiết và xác định các hợp chất hoá học có trong các mẫu cao chiết BCA mọc tại Việt Nam.

2. Vật Liệu và Phương Pháp Nghiên Cứu

2.1. Hóa chất và vật liệu thí nghiệm

Các hóa chất được sử dụng trong thí nghiệm: Methanol, ethanol, Na₂SO₄, Quercetin, AlCl₃, acid gallic, Na₂CO₃, NaNO₂, NaOH (Trung Quốc), quercetin, Folin-Ciocalteu (Merck), acid acetic (Việt Nam), các acid phenolic chuẩn: chlorogenic, syringic, vanillic, synapic, p-coumaric, benzoic và ellagic (Trung Quốc).

Mẫu cây BCA ở giai đoạn đang có hoa được thu tại Đà Lạt vào tháng 7/2017. Việc định danh mẫu cây BCA được thực hiện bởi tiến sĩ Nguyễn Thị Kim Huệ (Bộ môn Sinh học, Khoa Khoa học Tự nhiên, Trường Đại học Cần Thơ) dựa vào đặc điểm hình thái và mẫu được lưu giữ tại Phòng thí nghiệm Thực vật 2, Bộ môn Sinh học, Khoa Khoa học Tự nhiên, Trường Đại học Cần Thơ. Sau khi mang về phòng thí nghiệm, mẫu cây được rửa sạch và để ráo nước trong 6 giờ. Các bộ phận lá, hoa, thân và rễ được sấy khô ở nhiệt độ 50°C, tán thành bột thô và ngâm với 1 L dung môi ethanol trong 7 ngày (mỗi loại gồm 250 g mẫu khô), dung dịch ngâm được lọc để lấy dịch chiết và cô quay để thu được các mẫu cao chiết ethanol.

2.2. Khảo sát khả năng ức chế nảy mầm và phát triển của các cao chiết trong điều kiện phòng thí nghiệm

Thí nghiệm khảo sát khả năng ức chế nảy mầm của cao chiết trong điều kiện phòng thí nghiệm được thực hiện theo phương pháp của Thi & ctv. (2014), các bước được tiến hành như sau:

Chuẩn bị dung dịch thử: Các cao chiết rễ, lá, thân và hoa được chuẩn bị lần lượt ở ba nồng độ khác nhau bằng cách pha với methanol. Giấy lọc whatman được đặt vào các đĩa petri đã chuẩn bị trước. Lần lượt cho 1 mL cao chiết từ các phần rễ, thân, lá và hoa với các nồng độ 1; 2,5 và 5 mg/mL vào đĩa petri (50 mm). Đặt đĩa trong tủ hút trong 4 giờ để methanol bay hơi hoàn toàn chỉ còn lại cao chiết trên giấy lọc.

Tiến hành thử: Hạt CLV đã nứt nanh được cho vào đĩa có giấy lọc để sẵn như miêu tả ở các bước trên. Các đĩa petri được đặt trong điều kiện đầy đủ ánh sáng, (12 giờ sáng/12 giờ tối; ánh sáng

tự nhiên, nhiệt độ 25°C). Thí nghiệm đối chứng không sử dụng cao chiết. Mỗi nghiệm thức được lặp lại 3 lần.

Thời gian theo dõi và các chỉ tiêu quan sát: Các chỉ tiêu như số hạt nảy mầm, chiều dài rễ, chiều dài thân và trọng lượng khô được ghi nhận sau 7 ngày thí nghiệm.

2.3. Xác định hàm lượng polyphenol và flavonoid tổng số trong các cao

Phương pháp xác định hàm lượng polyphenol tổng số bằng phương pháp đo quang được thực hiện theo mô tả của Dewanto & ctv. (2002), quy trình được thực hiện như sau: Lấy 500 µL dịch cao chiết có nồng độ 1 g/mL (pha trong methanol) cho vào tuýp, sau đó thêm 250 µL thuốc thử Folin-Ciocalteu đã được pha trước đó, lắc mạnh và để yên trong 5 phút. Thêm tiếp 250 µL dung dịch Na₂CO₃ 10%, lắc đều và ủ trong 30 phút ở nhiệt độ 40°C. Sau đó các mẫu được tiến hành đo ở bước sóng 765 nm bằng máy đo quang phổ 96 giếng kết nối phần mềm Multiskan Go (Thermo Scientific, Phần Lan). Hàm lượng polyphenol được xác định dựa vào phương trình đường chuẩn của acid gallic được chuẩn bị từ dãy nồng độ từ 0 – 12 µg/mL.

Hàm lượng flavonoid tổng số được xác định bằng phương pháp đo quang được Zhishen & ctv. (1999) hiệu chỉnh như sau: Lấy 1 mL dịch cao chiết có nồng độ 100 µg/mL (pha trong methanol) cho vào tuýp, tiếp tục thêm vào 1 mL nước cất và 200 µL dung dịch NaNO₂ 5%, trộn đều và để yên trong 5 phút. Thêm tiếp vào hỗn hợp dung dịch 200 µL AlCl₃ 10%, để yên trong 6 phút. Sau đó 2 mL NaOH 1 M được thêm vào dung dịch, 600 µL nước cất được thêm tiếp vào để thể tích cuối trong tuýp có được là 5 mL. Các mẫu được tiến hành đo ở bước sóng 510 nm. Hàm lượng flavonoid được xác định dựa vào phương trình đường chuẩn của quercetin được chuẩn bị từ dãy nồng độ từ 0 - 100 µg/mL.

2.4. Định tính các acid phenolic bằng phương pháp HPLC

Các mẫu cao chiết lá, hoa và rễ cây BCA được sử dụng để xác định sự hiện diện các acid phenolic bằng HPLC (sắc ký lỏng cao áp, High Performance Liquid Chromatography) Shimadzu (LC-2010AHT) tại Khoa Khoa học Tự nhiên, Trường Đại học Cần Thơ theo mô tả của Khang & ctv. (2016). Một số acid phenolic được xác định dựa

Bảng 1. Tỷ lệ ức chế sự nảy mầm và sinh trưởng của hạt CLV từ các cao chiết BCA¹

Nghiệm thức	Tỷ lệ ức chế nảy mầm (%)	Chiều dài rễ (mm)	Chiều dài thân (mm)	Trọng lượng khô (mg)
Đối chứng	0	4,8 ± 0,52	4,4 ± 0,44	17,1 ± 0,002
Rễ-1	26,7	4,4 ± 0,41	4,4 ± 0,12	14,3 ± 0,003
Rễ-2,5	40,0	3,40,88	3,7 ± 0,89	10,5 ± 0,000
Rễ-5	56,7	2,0 ± 0,66	3,0 ± 0,11	6,1 ± 0,007
Hoa-1	20,0	4,0 ± 0,61	4,1 ± 0,40	16,2 ± 0,002
Hoa-2,5	20,0	2,6 ± 0,32	3,8 ± 0,76	14,6 ± 0,004
Hoa-5	60,0	1,1 ± 0,32	2,4 ± 0,96	5,3 ± 0,001
Thân-1	23,3	4,0 ± 0,79	4,0 ± 0,48	12,2 ± 0,003
Thân-2,5	43,3	1,9 ± 0,93	3,9 ± 0,22	9,3 ± 0,003
Thân-5	73,3	0,4 ± 0,04	1,2 ± 2,98	3,5 ± 0,003
Lá-1	30,0	4,2 ± 0,82	4,9 ± 0,57	13,4 ± 0,003
Lá-2,5	46,7	2,7 ± 0,80	3,9 ± 0,99	10,7 ± 0,003
Lá-5	60,0	1,5 ± 0,44	2,7 ± 0,99	6,7 ± 0,002

¹CLV: Cỏ lồng vực; BCA: Bò công anh.

vào các acid phenolic chuẩn sau: chlorogenic, syringic, vanillic, synapic, p-coumaric, benzoic và ellagic.

3. Kết Quả và Thảo Luận

3.1. Tác dụng ức chế sự nảy mầm và phát triển hạt CLV của cao chiết BCA

Tác dụng ức chế nảy mầm hạt CLV của các cao chiết cây BCA được trình bày ở Bảng 1. Từ kết quả thí nghiệm cho thấy cao chiết từ rễ, hoa, thân và lá của cây BCA có ảnh hưởng đến nảy mầm và phát triển của CLV trong điều kiện phòng thí nghiệm phụ thuộc vào nồng độ, nồng độ càng cao khả năng ức chế nảy mầm và sự phát triển của CLV càng mạnh, khi so sánh với thí nghiệm đối chứng không sử dụng cao chiết.

Mức độ ức chế CLV tỉ lệ thuận với nồng độ cao chiết. Ở nồng độ 5 mg/mL, cao chiết thân có khả năng ức chế nảy mầm cao nhất (73,3%), cao chiết rễ, lá và hoa ức chế hạt CLV nảy mầm từ 56,7 - 60%. Nghiên cứu của Baličević & Ravlić (2015) cho thấy hoạt tính ức chế thực vật của cao chiết thân cây cúc la mã (*Tripleurospermum inodorum*) mạnh hơn cao chiết lá. Nghiên cứu khác của Abu-Romman (2016) thử nghiệm dịch trích của cây *Achillea biebersteinii* (một loài thực vật thuộc chi cỏ Thi, họ Cúc) trên lúa mạch hoang dại cũng cho thấy, dịch trích thân của *Achillea biebersteinii* có hoạt tính ức chế sự phát triển của rễ lúa mạch hoang dại cao hơn dịch trích rễ. Trong nghiên cứu này, các nghiệm thức ở nồng

độ thấp cho thấy có khả năng ức chế nảy mầm nhưng không mạnh như ở nồng độ 5 mg/mL. Bên cạnh đó, các chỉ tiêu như chiều dài rễ, chiều dài thân và trọng lượng khô của CLV được ghi nhận trong thí nghiệm này cũng bị ảnh hưởng khi xử lý bằng các cao chiết. Đây là các chỉ tiêu thể hiện sự sinh trưởng và phát triển của CLV. Tuy nhiên, sự ảnh hưởng này chỉ khác biệt có ý nghĩa khi được xử lý cao chiết ở nồng độ cao. Ở nồng độ 5 mg/mL, cao chiết từ các bộ phận của cây BCA có khả năng ức chế sự phát triển của rễ và tích lũy sinh khối của CLV hơn 50% so với đối chứng không sử dụng cao chiết. Cây BCA là loài thực vật thuộc họ Cúc, một số cây khác thuộc họ Cúc như dã quỳ, hướng dương và cỏ hôi đã được chứng minh là có hoạt tính kháng cỏ dại (Ilori & ctv., 2010). Từ các số liệu trên có thể cho rằng trong cao chiết từ lá, hoa và rễ cây BCA có chứa các chất hoặc hợp chất có khả năng kháng cỏ.

3.2. Hàm lượng polyphenol và flavonoid tổng số

Kết quả thí nghiệm được trình bày ở Bảng 2 cho thấy hàm lượng polyphenol tổng số có trong 1 g cao chiết rễ cây BCA tương đương với 8,67 mg acid gallic, ở hoa là 3,03 mg, ở lá là 9,67 mg và ở thân là 3,5 mg. Hàm lượng flavonoid tổng số có trong 1 g cao chiết rễ, hoa, thân và lá lần lượt là 29,56 mg, 27,00 mg, 21,35 mg và 22,64 mg. Polyphenol và flavonoid là hai nhóm hợp chất đã được nghiên cứu và chứng minh là có hoạt tính ức chế thực vật (Li & ctv., 2010;

Bảng 2. Hàm lượng polyphenol và flavonoid tổng số có trong các cao chiết bồ công anh

Cao chiết	Hàm lượng polyphenol tổng (mg/g cao chiết) ¹	Hàm lượng flavonoid tổng (mg/g cao chiết) ²
Rễ	8,67 ± 0,429 ^a	29,56 ± 2,565 ^a
Hoa	3,03 ± 0,093 ^b	27,00 ± 0,237 ^{ab}
Thân	3,50 ± 0,446 ^b	21,35 ± 0,311 ^c
Lá	9,67 ± 0,244 ^a	22,64 ± 0,573 ^{bc}

¹Các giá trị trong cột này được xác định dựa vào phương trình đường chuẩn của acid gallic ($y = 0,084x + 0,0411$, $r^2 = 0,9987$).

²Các giá trị trong cột này được xác định dựa vào phương trình đường chuẩn của quercetin ($y = 0,0568x - 0,0149$, $r^2 = 0,9969$).

Số liệu là giá trị trung bình của ba lần lặp lại.

^{a-c}Các số có chữ cái theo sau trong cùng một cột giống nhau thì khác biệt không ý nghĩa 5% bằng phép thử Tukey.

Weston & Mathesius, 2013). Trong một khảo sát của Pejman & ctv. (2011) cho thấy, chiết xuất từ cây hoa hướng dương *Helianthus annuus* L. (thuộc họ Cúc) có hoạt tính đối kháng ức chế sự nảy mầm và phát triển các loại hạt như *Amaranthus retroflexus*, *Portulaca oleracea*, *Lolium rigidum*, *Hordeum spontaneum*, *Triticum aestivum* và *Carthamus tinctorius*. Bên cạnh đó nghiên cứu này cũng cho rằng tác nhân gây hiện tượng ức chế sự nảy mầm và phát triển của hạt chính là polyphenol và flavonoid (Pejman & ctv., 2011). Từ đó cho thấy, các chiết xuất ethanol từ cây BCA có thể có chứa các nhóm chất có hoạt tính kháng thực vật. Hoạt tính này có được có thể là do có sự hiện diện của nhóm chất polyphenol và flavonoid.

3.3. Kết quả định tính acid phenolic bằng HPLC trong cao

Kết quả thí nghiệm định tính cho thấy, có bảy loại acid phenolic được phát hiện trong các cao chiết từ cây BCA, đó là chlorogenic, syringic, vanillic, synapic, p-coumaric, benzoic và ellagic. Trong đó, ellagic và chlorogenic là hai acid phenolic có hiện diện ở cả lá, hoa và rễ BCA. Wang & ctv. (2017) cho rằng các acid phenolic như chlorogenic, benzoic và p-coumaric có hoạt tính kháng cỏ đuôi trâu (*Festuca arundinace*) và kháng cây cao lương (*Sorghum sudanense*). Một khảo sát khác của Jabran (2017) chứng minh syringic và vanillic là hai acid phenolic có hoạt tính kháng cỏ. Acid synapic cũng đã được Xuan & ctv. (2003) xếp vào nhóm chất có khả năng kháng cỏ dại. Đáng lưu ý trong nghiên cứu này là acid ellagic, đây là acid phenolic có hiện diện nhiều ở cả lá, hoa và rễ của cây BCA, đã được chứng minh có khả năng ức chế sự nảy mầm hạt sà lách (*Latuca sativa* L.) (Cameron & Julian, 1980). Như vậy, có

thể thấy rằng bảy loại acid phenolic được phát hiện có trong cây BCA của nghiên cứu này đều được chứng minh là có hoạt tính kháng lại một số loài thực vật khác từ các công trình nghiên cứu trước đây. Do đó kết quả của nghiên cứu này cho thấy rằng cây BCA mọc ở Việt Nam có khả năng tổng hợp các hợp chất thứ cấp có hoạt tính kháng cỏ.

4. Kết Luận

Cao chiết BCA có khả năng ức chế tương đối mạnh sự nảy mầm và phát triển của hạt CLV ở nồng độ 5 mg/mL với phần trăm ức chế tối đa là 73,3%. Kết quả định lượng cho thấy hàm lượng polyphenol có trong lá, hoa, thân và rễ của cây BCA lần lượt là 9,67 ± 0,244; 3,03 ± 0,093; 3,50 ± 0,446 và 8,67 ± 0,429 mg/g cao chiết. Hàm lượng flavonoid có trong lá, hoa, thân và rễ của cây BCA lần lượt là 22,64 ± 0,573, 27,00 ± 0,237; 21,35 ± 0,311 và 29,56 ± 2,565 mg/g cao chiết. Có bảy loại acid phenolic có hoạt tính kháng cỏ dại được phát hiện có trong cây BCA thu hái tại Đà Lạt bằng phương pháp HPLC, đó là chlorogenic, syringic, vanillic, synapic, p-coumaric, benzoic và ellagic. Từ những kết quả trên cho thấy cây BCA mọc tại Đà Lạt là một loài thực vật hoang dại có khả năng tổng hợp các các chất có hoạt tính kháng cỏ. Đây là một loài thực vật có nhiều tiềm năng để nghiên cứu các hợp chất kháng cỏ dại có nguồn gốc tự nhiên.

Tài Liệu Tham Khảo (References)

- Abu-Romman, S. (2016). Differential allelopathic expression of different plant parts of *Achillea biebersteinii*. *Acta Biologica Hungarica* 67(2), 159-168.
- Balićević, R., & Ravlić, M. (2015). Allelopathic effect

- of scentless mayweed extracts on carrot. *Herbologia* 15(1), 11-18.
- Cameron, H. J., & Julian, G. R. (1980). Inhibition of protein synthesis in lettuce (*Lactuca sativa* L.) by allelopathic compounds. *Journal of Chemical Ecology* 6(6), 989-995.
- Chung, I. M., Kim, J. T., & Kim, S. H. (2006). Evaluation of allelopathic potential and quantification of momilactone A, B from rice hull extracts and assessment of inhibitory bioactivity on paddy field weeds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54(7), 2527-2536.
- Dewanto, V., Xianzhong, W., Adom, K. K., & Liu, R. H. (2002). Thermal processing enhances the nutritional value of tomatoes by increasing total antioxidant activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50(10), 3010-3014.
- Ilori, O. J., Otusanya, O. O., Adelusi, A. A., & Sanni, R. O. (2010). Allelopathic activities of some weeds in the Asteraceae family. *International Journal of Botany* 6(2), 161-163.
- Jabran, K. (2017). *Manipulation of allelopathic crops for weed control. Springer briefs in plant science Switzerland*. Berlin, Germany: Springer.
- Khang, D. T., Anh, L. H., Ha, P. T. T., Tuyen, P. T., Quan N. V., Minh, L. T., Quan N.T., Minh, T. N., Xuan, T.D., Khanh, T. D., & Trung, K. H. (2016). Allelopathic activity of dehulled rice and its allelochemicals on weed germination. *International Letters of Natural Sciences* 58(2), 1-10.
- Kim, O. Y., Park, S. I., Jung, I. M., & Ha, S. Y. (2005). The allelopathic effects of aqueous extracts of *Hypochaeris radicata* L. on forage crops. *Journal of Life Science* 15(6), 871-878.
- Li, Z. H., Qiang W., Xiao R., Cun-De P., & De-An J. (2010). Phenolics and plant allelopathy. *Molecules* 15, 8933-8952.
- Pejman, N., Hassan, K., Morteza, M., & Nayereh, A. S. H. (2011). Allelopathic potential of sunflower on weed management in safflower and wheat. *Australian Journal of Crop Science* 5(11), 1434-1440.
- Thi, H. L., Lin, C. H., Smeda, R. J., Leigh, N. D., Wycoff, W. G., & Fritschi, F. B. (2014). Isolation and identification of an allelopathic phenylethylamine in rice. *Phytochemistry* 108, 109-121.
- Wang, R. L., Liu, S. W., Xin, X. W., Chen, S., Peng, G. X., Su, Y. J., & Song, Z. K. (2017). Phenolic acids contents and allelopathic potential of 10-cultivars of Alfalfa and their bioactivity. *Allelopathy Journal* 40(1), 63-70.
- Weston, L. A., & Mathesius, U. (2013). Flavonoids: their structure, biosynthesis and role in the rhizosphere, including allelopathy. *Journal of Chemical Ecology* 39(2), 283-297.
- Xuan, T. D., Tsuzuki, E., Terao, H., Matsuo, M., Khanh, T. D., Murayama, S., & Hong, N. H. (2003). Alfalfa, rice by-products and their incorporation for weed control in rice. *Weed Biology and Management* 3(2), 137-144.
- Zhishen, J., Mengcheng, T., & Jianming, W. (1999). The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chemistry* 64(4), 555-559.

Genotype by environment interaction for growth and survival rate in black tiger shrimp (*Penaeus monodon*) in generation 4

Sang V. Nguyen*, Luan T. Nguyen, & Nhien V. Tran

Research Institute for Aquaculture No. 2, Ho Chi Minh City, Vietnam

ARTICLE INFO

Research Paper

Received: May 02, 2019

Revised: August 01, 2019

Accepted: August 08, 2019

Keywords

Black tiger shrimp

Genotype by environment interaction

Growth

Survival rate

*Corresponding author

Nguyen Van Sang

Email: nguyenvansang1973@yahoo.com

ABSTRACT

Genotype by environment interaction for growth rate in G1 of the same selection program has been published. However, there is no repeated figure in later generations for confirming and well-planning the design of selection program for further improvement. The experiment was conducted using selective population of generation 4 with 97 families tested in 3 environments. Growth (body weight) and survival rate at harvest weight were recorded and evaluated. There was no genotype by environment interaction for both traits with high genetic correlations of the same traits tested between ponds in the Central and in the South of Vietnam of 0.80 and 0.83, respectively. There was also no genotype by environment interaction for growth rate between ponds in the South of Vietnam and bio-security indoor tank with high genetic correlation of 0.91. These results indicated that the number of testing environments would be reduced to save the operation cost for a breeding program. Estimated genetic response was from moderate to high for growth trait corresponding to moderate to high heritabilities (0.20 - 0.45) and high for survival rate corresponding to high heritabilities (0.34 - 0.45).

Cited as: Nguyen, S. V., Nguyen, L. T., & Tran, N. V. (2019). Genotype by environment interaction for growth and survival rate in black tiger shrimp (*Penaeus monodon*) in generation 4. *The Journal of Agriculture and Development* 18(5), 24-32.

Tương tác giữa kiểu gen và môi trường đến tính trạng tăng trưởng và tỷ lệ sống trên tôm sú (*Penaeus monodon*) chọn giống thế hệ thứ 4

Nguyễn Văn Sáng*, Nguyễn Thành Luân & Trần Văn Nhiên

Viện Nghiên Cứu Nuôi Trồng Thủy Sản II, TP. Hồ Chí Minh

THÔNG TIN BÀI BÁO

Bài báo khoa học

Ngày nhận: 02/05/2019

Ngày chỉnh sửa: 01/08/2019

Ngày chấp nhận: 08/08/2019

Từ khóa

Tăng trưởng

Tôm sú

Tương tác kiểu gen và môi trường

Tỷ lệ sống

*Tác giả liên hệ

Nguyễn Văn Sáng

Email: nguyenvansang1973@yahoo.com

TÓM TẮT

Tương tác giữa kiểu gen và môi trường tính trạng tăng trưởng đã được công bố trên quần thể chọn giống G1 cùng chương trình, nhưng chưa có dữ liệu lặp lại trên các thế hệ tiếp theo nhằm khẳng định sự tồn tại tương tác này hay không và có định hướng tốt cho thiết kế chương trình chọn giống tiếp theo. Nghiên cứu được thực hiện trên 97 gia đình tôm sú chọn giống thế hệ thứ 4 nuôi ở 3 môi trường khác nhau. Hai tính trạng tăng trưởng (khối lượng) và tỷ lệ sống được đánh giá trên tôm khi thu hoạch. Kết quả phân tích cho thấy không có tương tác kiểu gen và môi trường đối với tính trạng tăng trưởng và tỷ lệ sống, trong đó tương quan di truyền cùng tính trạng ở hai môi trường ao nuôi miền Trung và miền Nam tương ứng là 0,80 và 0,83. Không có tương tác kiểu gen và môi trường cho tính trạng tăng trưởng giữa tôm nuôi ao ở miền Nam và bể an toàn sinh học trong nhà với tương quan di truyền là 0,91. Hiệu quả chọn lọc ước tính mang lại ở mức trung bình đến cao cho tính trạng tăng trưởng và cao cho tính trạng tỷ lệ sống với hệ số di truyền tương ứng là 0,20 - 0,45 và 0,34 - 0,45.

1. Đặt Vấn Đề

Tôm sú (*Penaeus monodon*) được nuôi phổ biến ở Việt Nam trong các mô hình nuôi khác nhau. Mô hình nuôi cho sản lượng cao là bán thâm canh và thâm canh, tập trung chính ở miền Trung và miền Nam (MARD, 2015). Hàng năm, nhu cầu tôm sú bố mẹ ước khoảng 30.000 con và nguồn tôm bố mẹ hiện nay chủ yếu được đánh bắt từ tự nhiên, đầm ao nuôi quảng canh và số ít từ chọn giống (DF, 2018). Việc dựa vào nguồn tôm bố mẹ từ tự nhiên và từ đầm nuôi là nguồn lan truyền mầm bệnh cũng như làm giảm nguồn lợi.

Do đó, chương trình chọn giống và sản xuất tôm sú bố mẹ trong điều kiện an toàn sinh học là rất cần thiết. Yêu cầu của chương trình chọn giống phải đảm bảo đánh giá các tính trạng và chọn lọc dựa trên các thông số di truyền tính toán được từ các gia đình tôm nuôi theo các môi trường hay mô hình nuôi phổ biến để đảm bảo tính chính xác cho chọn lọc và mang lại hiệu quả cao. Tuy

nhien, tôm chọn giống phải thực hiện trong điều kiện an toàn sinh học (ATSH) để đảm bảo sạch bệnh, trong khi người dân nuôi tôm thương phẩm trong ao, nên cần có đánh giá tương tác kiểu gen và môi trường.

Tương tác kiểu gen và môi trường ($G \times E$) xuất hiện khi một môi trường nuôi nào đó thay đổi làm thay đổi đáng kể kiểu gen nhiều hơn so với các môi trường nuôi khác. Một cách để ước tính $G \times E$ là xem một tính trạng được đánh giá ở các môi trường khác nhau như là các tính trạng khác nhau, từ đó ước tính tương quan di truyền giữa chúng và dựa vào đó để xác định có tương tác $G \times E$ hay không. Nếu tương quan di truyền (r_g) giữa các tính trạng gần bằng 1, thì xem như không có tương tác $G \times E$ (Falconer & Mackay, 1996). Theo Robertson (1959) đề nghị rằng tương tác $G \times E$ được xem là có ý nghĩa khi $r_g < 0,8$. Trong chọn giống thủy sản, đa số các công bố là không hoặc nếu có thì tương đối thấp về tương tác $G \times E$ trên tính trạng tăng trưởng. Một số tác giả cũng thảo luận ở mức r_g khác nhau và đề xuất

định hướng của chương trình chọn giống nên như thế nào (Mulder & Bijma, 2005; Bentsen & ctv., 2012).

Đối với quần thể tôm sú chọn giống tại Việt Nam, MARD (2018) đã công bố ban đầu về r_g tính trạng tăng trưởng ở quần thể chọn giống G1. Để có số liệu lặp lại ở các thế hệ chọn giống xa hơn nhằm khẳng định có tồn tại tương tác $G \times E$ hay không từ đó định hướng cho chương trình chọn giống hoặc phương pháp chọn lọc, nghiên cứu đánh giá tương tác giữa kiểu gen và môi trường ($G \times E$) tính trạng tăng trưởng và tỷ lệ sống đã được thực hiện trên quần thể tôm sú chọn giống thế hệ G4 khi nuôi ở ba môi trường nuôi khác nhau.

2. Vật Liệu và Phương Pháp Nghiên Cứu

2.1. Vật liệu và quần thể chọn giống

2.1.1. Ghép cặp cho sinh sản

Từ 1.067 con tôm thuộc 65 gia đình tôm chọn giống thế hệ thứ 3 (G3) năm 2017 của chương trình chọn giống tại Viện Nghiên cứu Nuôi trồng Thủy sản II từ năm 2013 đến nay. Số tôm này được nuôi tiên thành thực và lựa chọn 784 con (402 cái và 382 đực) thuộc 60 gia đình có khối lượng trên 70 g/con (tôm đực) và trên 90 g/con (tôm cái) có ngoại hình đẹp, túi tinh ở con đực và buồng trứng ở con cái phát triển, tôm sạch các mầm bệnh WSSV, YHV, EHP, IHNV, LSNV và *Vibrio parahaemolyticus*, tôm được đeo dấu mắt, dấu đuôi (đối với tôm cái) và bố trí nuôi riêng ở các bể thể tích 10 m³/bể với số lượng 20 - 30 con/bể. Cho tôm ăn thức ăn tươi sống bao gồm mực, hào và giun nhiều tơ với tỷ lệ từ 15 - 20% khối lượng thân.

Việc tạo ra các gia đình half - sib (cùng cha khác mẹ) và full - sib (cùng cha cùng mẹ) thế hệ G4 được thực hiện bằng phép phối thứ bậc. Tôm cái thành thực sau khi lột xác, cấy tinh, cắt mắt (Primavera, 1978) và được thả về bể nuôi sinh sản. Hai túi tinh của 1 cá thể tôm đực được cấy cho 2 cá thể tôm cái khác nhau. Căn cứ vào hình dạng và màu sắc của buồng trứng để xác định chính xác giai đoạn phát triển của buồng trứng và chuyển tôm cái vào từng bể để riêng biệt với 1 cá thể tôm cái/bể 1 m³. Thu trứng, rửa trứng, ấp trứng và cuối cùng thu, định lượng, bố trí ấu trùng cho giai đoạn ương trong các bể composite theo từng gia đình riêng biệt (MARD, 2018). Tổng số 116 gia đình được sản xuất trong

32 ngày và ấu trùng được ương theo từng gia đình (Bảng 1).

2.1.2. Ương từ giai đoạn ấu trùng nauplii đến hậu ấu trùng (PL) và lên kích cỡ đánh dấu

Các gia đình được tiến hành ương trong điều kiện an toàn sinh học. Áp dụng quy trình ương ấu trùng tôm sú gia hóa sạch bệnh theo MARD (2018). Mỗi gia đình ương trong 1 bể composite 0,5 m³ (40.000 nauplii/gia đình). Khi tôm đạt PL₄ chuyển sang ương bể 1 m³. Khi tôm ở các gia đình đạt cỡ PL₂₀ và nuôi đến kích cỡ đánh dấu trung bình 2,9 g/con thì tiến hành 3 lần lọc và giảm mật độ nuôi: 10.000 con/bể, 5.000 con/bể, 1.000 con/bể và 500 con/bể. Sử dụng thức ăn công nghiệp UP (Uni-President), trên 42% protein, lượng cho ăn dao động từ 10 - 15% khối lượng thân tôm/ngày. Chất lượng nước được kiểm soát bằng kết hợp sử dụng vi sinh (*Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus pumilus* tổng mật độ 5×10^{10} cfu/g) với liều lượng khác nhau và thay nước tùy theo các chỉ tiêu thủy hoá gồm pH, NH₃, NO₂ và độ kiềm được đo hằng ngày. Khi đạt kích cỡ đánh dấu, tôm được kiểm tra các bệnh WSSV, YHV, EHP, IHNV, LSNV và *Vibrio parahaemolyticus* trước khi đánh dấu. Số lượng gia đình đạt được đến đánh dấu là 97 gia đình, trong đó 76 full-sib và 21 half-sib (Bảng 1).

2.2. Đánh dấu, nuôi đánh giá tăng trưởng và tỷ lệ sống ở các môi trường nuôi khác nhau

2.2.1. Đánh dấu theo gia đình

Tôm của từng gia đình được chọn ngẫu nhiên để đánh dấu phẩm màu huỳnh quang (Visible Implant Elastomer - VIE) phục vụ nuôi đánh giá các tính trạng với số lượng tương ứng là 45, 45 và 60 - 150 con/gia đình cho 3 môi trường nuôi khác nhau là ao ở Phú Yên (miền Trung), ao ở Bạc Liêu (miền Nam) và bể tuần hoàn an toàn sinh học trong nhà (trong nhà ATSH). Đối với nuôi ATSH trong nhà, một số gia đình không đủ số lượng 150 con thì đánh dấu hết số lượng cá thể còn lại. Năm phẩm màu được sử dụng là đỏ, cam, xanh lá cây, xanh nước biển và trắng, 2 trong 4 vị trí được lựa chọn để đánh dấu ở phần mặt bụng, 2 vị trí ở đốt bụng thứ 1 (bên trái, bên phải) và đốt bụng thứ 6 (bên trái, bên phải). Tổng cộng có 4.365; 4.365 và 9.720 con tôm được đánh dấu cho nuôi tương ứng trong ao 2.000 m² ở miền Trung,

Bảng 1. Kết quả sinh sản, ương và đánh dấu, nuôi đánh giá các tính trạng trên quần thể chọn giống G4

Chỉ tiêu	Kết quả
Thời gian sản xuất gia đình	24/03- 25/04/2018
Khối lượng tôm tham gia sinh sản	80 - 90 g/đực 90 - 110/cái
Số lượng gia đình ương thành công đến đánh dấu	97
Thời gian từ khi sinh sản đến đánh dấu (ngày, TB ± SD*)	66 - 108 (75,9 ± 18,2)
Thời gian từ khi đánh dấu đến thu thập số liệu (ngày, TB ± SD*)	56 - 95 (90,0 ± 8,9)
Số lượng cá thể đánh dấu theo từng gia đình (con/gia đình) theo môi trường nuôi:	
Ao miền Trung	45
Ao miền Nam	45
Trong nhà ATSH	60 - 150
Tổng số cá thể được đánh dấu cho nuôi đánh giá tính trạng theo môi trường nuôi (con/môi trường):	
Ao miền Trung	4.365
Ao miền Nam	4.365
Trong nhà ATSH	9.720
Số lượng cá thể và gia đình thu hoạch theo môi trường nuôi (con và gia đình):	
Ao miền Trung	2.038, 94
Ao miền Nam	1.897, 96
Trong nhà ATSH	8.303, 96

*TB là Trung bình và SD là độ lệch chuẩn.

ao 1.500 m² ở miền Nam có độ sâu 1,2 m và 520 m² bể (2 bể 60 m²/bể và 2 bể 200 m²/bể) trong nhà ATSH có độ sâu 1,0 m. Ao nuôi ở miền Trung tại xã An Hiệp, huyện Tuy An, tỉnh Phú Yên. Ao nuôi ở miền Nam tại Trại Thực nghiệm Thủy sản Bạc Liêu, phường Nhà Mát, TP. Bạc Liêu, tỉnh Bạc Liêu. Bể nuôi trong nhà ATSH thuộc Trung tâm Quốc gia Giống Hải sản Nam Bộ, phường Thới Tam, TP. Vũng Tàu, tỉnh Bà Rịa - Vũng Tàu.

2.2.2. Đánh giá các tính trạng của các gia đình thế hệ G4

Kỹ thuật nuôi trong ao tại miền Trung và miền Nam được thống nhất giống nhau, ngoại trừ một số phần khác nhau gồm mật độ 10,5 con/m² so với 13,3 con/m² và thời gian nuôi trung bình là 56 ngày so với 64 ngày. Ngoài số lượng tôm đánh dấu như đã nêu ở trên, tôm không đánh dấu tương ứng 16.350 con và 15.350 con cũng được thả nuôi chung để đạt mật độ này.

Kỹ thuật nuôi trong bể ATSH trong nhà được thực hiện như mô tả của MARD (2018) với mật

độ dao động 16 - 20 con/m² tùy theo bể nuôi, thức ăn viên Lucky star (Taiwan Hung Kuo Industrial Co., Ltd.), kiểm soát chất lượng nước như mô tả trong phần ương ở bên trên và thời gian nuôi là 70 - 95 ngày tùy theo bể nuôi (Bảng 1).

2.3. Thu thập và xử lý số liệu

2.3.1. Thu thập số liệu

Sau thời gian nuôi đánh giá các tính trạng, các số liệu thu thập gồm tổ hợp dấu, giới tính, khối lượng cho từng cá thể và tỷ lệ sống theo từng gia đình. Tổng số tôm còn sống và truy được dấu cho thu thập số liệu theo từng môi trường nuôi tương ứng là 2.038; 1.897 và 8.303 con, với số lượng cá thể dao động 3 - 42 con, 4 - 39 con và 16 - 149 con thuộc tương ứng 94, 96 và 96 gia đình cho ao nuôi miền Trung, miền Nam và bể trong nhà ATSH.

2.3.2. Xử lý số liệu

Số liệu được quản lý và kiểm tra bằng phần mềm Microsoft Excel 2016. Các phương sai thành

phần và thông số di truyền được ước tính bằng phần mềm ASReml phiên bản 3.0 (Gilmour & ctv., 2009). Dữ liệu phá hệ cho xử lý số liệu được truy xuất đến quần thể chọn giống ban đầu G_0 .

Đối với tính trạng tăng trưởng (khối lượng lúc thu hoạch), mô hình tuyến tính hỗn hợp cá thể được sử dụng. Ảnh hưởng cố định thử nghiệm đưa vào mô hình toán bao gồm khối lượng tôm mẹ, khối lượng tôm bố, ngày sinh sản, thời gian ương đến đánh dấu, khối lượng lúc đánh dấu (TW), thời gian nuôi tăng trưởng từ lúc đánh dấu đến cân đo (GrowAge), thời gian nuôi tăng trưởng từ PLs đến cân đo, giới tính (Sex), nhưng sau đó loại những ảnh hưởng không có ý nghĩa thống kê còn giữ lại TW, GrowAge và Sex trong mô hình:

$$\begin{aligned} \text{Khối lượng}_{ijk} = & \mu + \text{Sex}_j + \beta_1 \times \text{TW}_{ijk} \\ & + \beta_2 \times \text{GrowAge}_{ijk} + \text{cá thể}_i \quad (1) \\ & + \text{tôm mẹ}_k + e_{ijk} \end{aligned}$$

Trong đó: Khối lượng_{ijk} là khối lượng của cá thể i khi thu hoạch, μ là trung bình của quần thể, β_1 là hệ số hồi quy của hiệp biến TW_{ijk}, β_2 là hệ số hồi quy của hiệp biến GrowAge_{ijk}, cá thể _{i} là ảnh hưởng ngẫu nhiên của cá thể i , cá mẹ _{k} là ảnh hưởng ngẫu nhiên của môi trường ương nuôi riêng rẽ đến đánh dấu trùng với ảnh hưởng ngẫu nhiên tôm mẹ và e_{ijk} là ảnh hưởng ngẫu nhiên của số dư. Phương sai thành phần ước tính được tương ứng với các ảnh hưởng ngẫu nhiên này gồm σ_a^2 là phương sai di truyền cộng gộp, σ_c^2 là phương sai ảnh hưởng của môi trường ương riêng rẽ, σ_e^2 là phương sai số dư. Phương sai kiểu hình $\sigma_p^2 = \sigma_a^2 + \sigma_c^2 + \sigma_e^2$. Hệ số di truyền được ước tính là $h^2 = \frac{\sigma_a^2}{\sigma_a^2 + \sigma_c^2 + \sigma_e^2}$ và ảnh hưởng của môi trường ương riêng rẽ được ước tính là $c^2 = \frac{\sigma_c^2}{\sigma_a^2 + \sigma_c^2 + \sigma_e^2}$.

Đối với tính trạng tỷ lệ sống, số liệu dạng nhị phân được sử dụng. Các cá thể còn sống tại thời điểm cân đo thu thập số liệu được mã hóa là 1, các cá thể không hiện diện tại thời điểm thu hoạch được xem là đã chết và được mã hóa là 0. Các ảnh hưởng cố định được thử nghiệm đưa vào mô hình toán như mô hình 1, nhưng chỉ có SPdate và GrowAge ảnh hưởng có ý nghĩa thống kê nên giữ lại trong mô hình. Các phương sai thành phần của tính trạng tỷ lệ sống được ước tính bằng mô

hình tuyến tính hỗn hợp cá thể:

$$\begin{aligned} \text{Tỷ lệ sống}_{ijk} = & \mu + \text{SPdate}_j + \beta_1 \\ & \times \text{GrowAge}_{ijk} + \text{cá thể}_i \quad (2) \\ & + \text{tôm mẹ}_k + e_{ijk} \end{aligned}$$

Trong đó: Tỷ lệ sống_{ijk} là ước tính tuyến tính của tỷ lệ sống cá thể, các ảnh hưởng ngẫu nhiên còn lại như mô tả trong mô hình 1. Hệ số di truyền và ảnh hưởng của môi trường ương riêng rẽ được ước tính như cho tính trạng tăng trưởng.

Các phương sai thành phần và tương quan di truyền của tính trạng khối lượng thu hoạch và tỷ lệ sống cá thể trong từng môi trường được ước tính bằng các mô hình 2 biến với các ảnh hưởng như mô tả trong Mô hình 1 (cho khối lượng thu hoạch) và mô hình 2 (cho tỷ lệ sống). Vì mỗi cá thể tôm chỉ được nuôi trong một môi trường duy nhất, nên hiệp phương sai của số dư giữa 2 môi trường được đặt là zero. Tương quan di truyền (r_a) giữa tính trạng khối lượng thu hoạch và tỷ lệ sống cá thể được ước tính theo công thức $r_a = \frac{\sigma_{12}}{\sqrt{\sigma_1^2} \times \sqrt{\sigma_2^2}}$, trong đó σ_{12} là hiệp phương sai của ảnh hưởng di truyền cộng gộp của hai tính trạng, σ_1^2 và σ_2^2 lần lượt là phương sai của ảnh hưởng di truyền cộng gộp của khối lượng thu hoạch và tỷ lệ sống (Falconer & Mackay, 1996).

Tương tác giữa kiểu gen và môi trường cho từng tính trạng khối lượng lúc thu hoạch và tỷ lệ sống ở 3 môi trường nuôi (ao miền Trung, ao miền Nam và bể trong nhà ATSH) được ước tính thông qua tương quan di truyền (r_a) theo mô hình từng cặp 2 biến giống mô hình 1 và mô hình 2 tương ứng cho 2 tính trạng do mô hình ba biến gặp phải vấn đề hội tụ (converged) trong xử lý. r_a tính theo công thức $r_a = \frac{\sigma_{12}}{\sqrt{\sigma_1^2} \times \sqrt{\sigma_2^2}}$, trong đó σ_{12} là hiệp phương sai của ảnh hưởng di truyền cộng gộp của cùng tính trạng cho 2 môi trường, σ_1^2 và σ_2^2 lần lượt là phương sai của ảnh hưởng di truyền cộng gộp của cùng tính trạng (khối lượng thu hoạch hoặc tỷ lệ sống) cho 2 môi trường (Falconer & Mackay, 1996).

3. Kết Quả và Thảo Luận

3.1. Thống kê mô tả các tính trạng

Trung bình, độ lệch chuẩn (SD, đơn vị tính trạng) và hệ số biến thiên (CV, %) các tính trạng TW và HW từng cá thể và SUR theo gia đình

Bảng 2. Kết quả nuôi đánh giá các tính trạng trên quần thể tôm sú chọn giống G4

Chỉ tiêu thống kê mô tả theo tính trạng và môi trường nuôi		Kết quả
TW (g)	Trung bình (g)	2,90
	SD (g)	0,60
	CV (%)	20,69
<hr/>		
HW (g)	Trung bình (g)	23,46
	SD (g)	8,60
	CV (%)	36,68
Miền Trung	Trung bình (g)	22,62
	SD (g)	6,36
	CV (%)	28,13
Miền Nam	Trung bình (g)	27,83
	SD (g)	9,73
	CV (%)	34,98
Trong nhà ATSH	Trung bình (g)	56,79
	SD (g)	19,23
	CV (%)	33,86
<hr/>		
SUR (%)	Trung bình (%)	49,45
	SD (%)	15,80
	CV (%)	31,95
Miền Trung	Trung bình (%)	85,90
	SD (%)	17,70
	CV (%)	20,70
Miền Nam	Trung bình (%)	56,79
	SD (%)	19,23
	CV (%)	33,86
Trong nhà ATSH	Trung bình (%)	49,45
	SD (%)	15,80
	CV (%)	31,95

TW = khối lượng đánh dấu, HW = khối lượng thu hoạch, SUR = tỷ lệ sống, SD = độ lệch chuẩn, CV = hệ số biến thiên, ATSH: An toàn sinh học.

ở 3 môi trường nuôi khác nhau được thể hiện trong Bảng 2. HW của tôm nằm trong khoảng kích cỡ tôm thu hoạch phổ biến ở các mô hình nuôi hiện nay, tương ứng là 23,46, 22,62 và 27,83 g cho các môi trường nuôi miền Trung, miền Nam và trong nhà ATSH. Đối với SUR tương ứng là 56,79, 49,45 và 85,90% cho 3 môi trường nuôi, cao nhất ở bể nuôi trong nhà ATSH. CV của cả 2 tính trạng HW và SUR tương ứng trong khoảng 28,13 - 36,68% và 20,70 - 33,86% cho 3 môi trường nuôi khác nhau, nằm trong khoảng phổ biến của các tính trạng này trên các đối tượng thủy sản khác trên thế giới (Gjedrem, 2005).

3.2. Hệ số di truyền và tương quan di truyền 2 tính trạng HW và SUR

Phương sai thành phần (σ^2), hệ số di truyền (h^2), ảnh hưởng của ương riêng rẽ các gia đình đến đánh dấu (c^2) và tương quan di truyền (r_a) các tính trạng HW và SUR trên quần thể tôm G4 nuôi ở các môi trường khác nhau được thể hiện trong Bảng 3. Hầu hết kết quả h^2 , c^2 và ra

khác không (zero) có ý nghĩa thống kê, ngoại trừ c^2 cho HW ở miền Trung, c^2 cho SUR trong nhà ATSH và ra giữa HW và SUR ở miền Trung và trong nhà ATSH. Hệ số di truyền cho tính trạng tăng trưởng (khối lượng thu hoạch, HW) trong khoảng trung bình (tương ứng 0,20 và 0,28) ở môi trường ao nuôi miền Trung và miền Nam và ở mức cao (0,45) ở bể nuôi trong nhà ATSH. Với h^2 này cho phép chúng ta dự đoán hiệu quả sẽ đạt từ trung bình đến cao nếu chúng ta áp dụng chọn lọc theo HW. Hệ số di truyền cho tính trạng HW trên thế hệ G4 có thấp hơn kết quả nghiên cứu trên quần thể G1 cùng chương trình chọn giống khi nuôi ở ao (0,60) và ở trong nhà ATSH (0,56) (Nguyen & ctv., 2017). Hệ số di truyền của HW trên thế hệ G4 tương đồng với kết quả được báo cáo của các nghiên cứu trước đây là từ 0,23 - 0,56 với thời gian nuôi từ 4 - 10 tháng tuổi trên tôm sú (Kenway & ctv., 2006; Coman & ctv., 2010; Krishna & ctv., 2011).

Đối với tính trạng tỷ lệ sống, hệ số di truyền cao được ước tính trong cả 3 môi trường miền Trung, miền Nam và trong nhà ATSH tương ứng là 0,45,

0,44 và 0,34 (Bảng 3), cho phép chúng ta dự đoán hiệu quả mang lại sẽ cao nếu chúng ta chọn lọc theo tính trạng này. Mặc dù tỷ lệ sống ở bể trong nhà ATSH cao (85,90%), nhưng hệ số di truyền thấp hơn ở 2 môi trường còn lại có thể là do hệ số biến thiên CV của tỷ lệ sống ở môi trường này thấp (20,70% so với 31,95% và 33,86%). Kết quả h^2 ở thế hệ chọn giống G4 cao hơn kết quả ước tính ở thế hệ G1 cùng chương trình chọn giống (tương ứng là 0,18 và 0,19 cho môi trường nuôi miền Trung và trong nhà ATSH) (MARD, 2018). Kết quả trong nghiên cứu này là tương đồng với khoảng h^2 được báo cáo bởi Kenway & ctv. (2006) trong khoảng 0,37 - 0,70 cho tính trạng tỷ lệ sống trên tôm sú được ghi nhận trong các khoảng thời gian nuôi khác nhau từ 4 - 35 tuần tuổi.

Tương quan di truyền thuận và khác không (zero) có ý nghĩa thống kê giữa tính trạng tăng trưởng và tỷ lệ sống là 0,46 ở quần thể G4 ở môi trường nuôi miền Nam (Bảng 3), nghĩa là SUR có thể được cải thiện nếu chọn lọc nâng cao HW. Kết quả tương tự được tìm thấy ở quần thể G1 cùng chương trình chọn giống ở môi trường nuôi miền Trung và trong nhà ATSH tương ứng là 0,40 và 0,29 (MARD, 2018).

3.3. Tương tác kiểu gen và môi trường 2 tính trạng HW và SUR ở 3 môi trường nuôi khác nhau

Đối với tính trạng tăng trưởng thể hiện qua HW, tương quan di truyền (r_a) thuận và cao được tìm thấy giữa các môi trường nuôi ở ao miền Trung, ao ở miền Nam và bể trong nhà ATSH (Bảng 4). r_a thuận và cao nhất được tìm thấy giữa ao nuôi miền Nam và bể trong nhà ATSH (0,91), cho thấy tương tác giữa kiểu gen và môi trường ($G \times E$) là không đáng kể giữa 2 môi trường nuôi này. r_a thuận và cao của HW giữa tôm nuôi ở ao miền Trung và ao ở miền Nam là 0,80 trong nghiên cứu này cho thấy tương tác $G \times E$ không có ý nghĩa lớn về mặt sinh học như nhận xét của Robertson (1959) ($r_a \geq 0,8$). Hai mức r_a thuận và cao này cho HW cho thấy trong tương lai có thể giảm bớt chi phí nghiên cứu đánh giá tăng trưởng ngoài thực địa bởi vì kết quả đánh giá tốc độ tăng trưởng ở môi trường nuôi trong nhà ATSH có thể đại diện cho ao nuôi ở miền Nam và cho ao nuôi miền Nam có thể đại diện cho ao nuôi ở miền Trung. Tuy nhiên, trong nghiên cứu này cho thấy có tương tác $G \times E$ ở mức thấp do tương quan di truyền thuận của HW giữa tôm nuôi ở ao miền Trung và trong bể ATSH trong nhà (0,74).

Bảng 3. Các phương sai thành phần, hệ số di truyền và tương quan di truyền các tính trạng khảo sát theo các môi trường nuôi trên quần thể G4

Môi trường nuôi	Tính trạng	Phương sai thành phần và thông số di truyền						
		σ_a^2	σ_c^2	σ_e^2	σ_p^2	h^2	c^2	r_a
Miền Trung	HW (g)	8,81	1,69	33,91	44,42	0,20 ± 0,05	0,04 ± 0,02	0,25 ± 0,14
	SUR (%)	0,0112	0,0035	0,0101	0,0248	0,45 ± 0,08	0,14 ± 0,06	
Miền Nam	HW (g)	10,67	6,55	20,34	37,57	0,28 ± 0,06	0,17 ± 0,06	0,46 ± 0,14
	SUR (%)	0,0042	0,0014	0,0039	0,0096	0,44 ± 0,09	0,15 ± 0,07	
Trong nhà ATSH	HW (g)	35,28	18,77	24,01	78,06	0,45 ± 0,08	0,24 ± 0,07	0,10 ± 0,20
	SUR (%)	0,0013	0,0002	0,0022	0,0037	0,34 ± 0,06	0,06 ± 0,04	

HW = khối lượng thu hoạch, SUR = tỷ lệ sống, ATSH: An toàn sinh học.

Bảng 4. Tương quan di truyền (r_a) cùng tính trạng ở 3 môi trường nuôi khác nhau (r_a) (ước tính \pm sai số chuẩn) xem như là 3 tính trạng khác nhau (tương tác kiểu gen và môi trường - $G \times E$) ở quần thể G4

Địa điểm nuôi/ Tính trạng	Miền Nam	Trong nhà ATSH
HW (g)		
Miền Trung	0,80 \pm 0,08	0,74 \pm 0,08
Miền Nam		0,91 \pm 0,03
SUR (%)		
Miền Trung	0,83 \pm 0,04	0,02 \pm 0,14
Miền Nam		0,08 \pm 0,13

HW = khối lượng thu hoạch, SUR = tỷ lệ sống, ATSH: An toàn sinh học.

Trong tương lai, nếu diện tích nuôi tôm tập trung chính ở miền Nam hơn là miền Trung như hiện nay, thì việc đánh giá $G \times E$ ở ao nuôi miền Trung có thể làm tăng thêm chi phí của chương trình chọn giống.

Có tương tác $G \times E$ ở mức thấp của HW giữa ao nuôi miền Trung và bể trong nhà ATSH ($r_a = 0,74$) ở thể hệ G4, cũng phù hợp với kết quả thể hệ G1 ($r_a = 0,75$) của cùng chương trình chọn giống cho 2 môi trường nuôi này công bố bởi MARD (2018). Tuy nhiên, không có tương tác $G \times E$ của HW giữa ao nuôi miền Nam và bể trong nhà ATSH ($r_a = 0,91$) được tính toán ở thể hệ G4, nhưng không có số liệu ở G1. Do đó, để xác định đầy đủ tương tác giữa kiểu gen và môi trường ($G \times E$) cho 2 môi trường nuôi này, chúng ta cần xem xét số liệu qua các thể hệ khác. Trong chọn giống thủy sản, một số tác giả cũng đã công bố hầu như không có tương tác $G \times E$ hoặc nếu có thì tương đối thấp trên tính trạng tăng trưởng là chính và một vài tính trạng khác trên các đối tượng khác nhau (Gitterle & ctv., 2005; Gjedrem, 2005; Krishna & ctv., 2011).

Tương quan di truyền cao ($r_a = 0,83$) cho tính trạng tỷ lệ sống được ghi nhận giữa 2 môi trường ao nuôi miền Nam và miền Trung cho thấy việc đánh giá các thông số di truyền cho tính trạng tỷ lệ sống có thể chỉ cần thiết thực hiện tại một trong hai môi trường này để giảm bớt chi phí trong quá trình nghiên cứu. Hệ số tương quan thấp (gần bằng 0), lần lượt là $0,08 \pm 0,13$ và $0,02 \pm 0,14$, khác 0 (zero) không có ý nghĩa thống kê được quan sát giữa hai môi trường nuôi ngoài ao miền Nam và miền Trung với bể nuôi trong nhà ATSH. Các kết quả này chỉ ra rằng, các số liệu ước tính cho tỷ lệ sống trong nhà ATSH không thể sử dụng để đánh giá cho tỷ lệ sống tại môi trường ao nuôi miền Nam và miền Trung.

Trong nghiên cứu này, nếu chúng ta thực hiện chọn giống 2 tính trạng HW và SUR đồng thời thì chúng ta cần thiết phải nuôi đánh giá 2 tính trạng này ở điều kiện nuôi ao miền Nam - là nơi nuôi chính đối tượng tôm sú và dựa vào số liệu nuôi miền Nam để chọn lọc. Khi đó, hiệu quả mang lại sẽ cao cho HW và SUR cho môi trường nuôi ao miền Nam và tương đối chấp nhận được cho ao nuôi miền Trung (r_a cho HW giữa ao nuôi miền Nam và miền Trung 0,80 và r_a cho SUR là 0,83).

4. Kết Luận

Ở quần thể tôm sú chọn giống thứ 4, tương tác kiểu gen và môi trường không đáng kể cho tính trạng tăng trưởng (khối lượng lúc thu hoạch) và tỷ lệ sống với tương quan di truyền cùng tính trạng ở hai môi trường nuôi miền Trung và miền Nam cao. Tương tác kiểu gen và môi trường không đáng kể cho tính trạng tăng trưởng giữa tôm nuôi ao ở miền Nam và bể trong nhà ATSH. Những kết quả này cần được xem xét để áp dụng giảm chi phí nuôi đánh giá ở một hoặc hai môi trường nuôi trong chương trình chọn giống.

Hiệu quả chọn lọc ước tính mang lại ở mức trung bình đến cao cho tính trạng tăng trưởng và cao cho tính trạng tỷ lệ sống do hệ số di truyền tương ứng được tìm thấy trong nghiên cứu.

Lời Cảm Ơn

Nhóm tác giả xin chân thành cảm ơn Chương trình Ứng dụng Công nghệ Sinh học trong lĩnh vực Nông nghiệp - Thủy sản, Bộ Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn cấp kinh phí cho nghiên cứu. Chúng tôi xin trân trọng cảm ơn ThS. Nguyễn Hữu Thanh, ThS. Nguyễn Quyết Tâm

và TS. La Xuân Thảo đã có đóng góp vào nuôi vỗ, cho sinh sản và ương nuôi quần thể chọn giống thế hệ thứ 4 của nghiên cứu này.

Tài Liệu Tham Khảo (References)

- Bentsen, H. B., Gjerde, B., Nguyen, N. H., Rye, M., Ponzoni, R. W., de Vera, M. S. P., Bolivar, H. L., Velasco, R. R., Danting, J. C., & Dionisio, E. E. (2012). Genetic improvement of farmed tilapias: Genetic parameters for body weight at harvest in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) during five generations of testing in multiple environments. *Aquaculture* (338), 56-65.
- MARD (Ministry of Agriculture and Rural Development). Decision No. 5528/QĐ-BNN-TCTS dated on December 31, 2015. Planning on culturing brackish water shrimp in Mekong Delta to 2020, with a vision to 2030. Retrieved January 19, 2019 from <https://thuvienphapluat.vn/van-ban/linh-vuc-khac/quyet-dinh-5528-qd-bnn-tcts-2015-quy-hoach-nuoi-tom-nuoc-lo-vung-dong-bang-song-cuu-long-365023.aspx>.
- Coman, G. J., Arnold, S. J., Wood, A. T., & Kube, P. D. (2010). Age: age genetic correlations for weight of *Penaeus monodon* reared in broodstock tank systems. *Aquaculture* (307), 1-5.
- Falconer, D. S., & Mackay, T. F. C. (1996). *Introduction to quantitative genetics*. Harlow, England: Prentice Hall.
- Gilmour, A. R., Gogel, B. J., Cullis, B. R., & Thompson, R. (2009). *ASReml user guide*. Hemel Hempstead, UK: VSN International.
- Gitterle, T., Rye, M., Salte, R., Cock, J., Johansen, H., Lozano, C., & Gjerde, B. (2005). Genetic (co) variation in harvest body weight and survival in *Penaeus (Litopenaeus) vannamei* under standard commercial conditions. *Aquaculture* 243(1-4), 83-92.
- Gjedrem, T. (2005). *Selection and breeding programs in aquaculture*. (AKVAFORSK) Berlin Germany: Springer.
- Kenway, M., Macbeth, M., Salmon, M., McPhee, C., Benzie, J., Wilson, K., & Knibb, W. (2006). Heritability and genetic correlations of growth and survival in black tiger prawn *Penaeus monodon* reared in tanks. *Aquaculture* (259), 138-145.
- Krishna, G., Gopikrishna, G., Gopal, C., Jahageerdar, S., Ravichandran, P., Kannappan, S., Pillai, S. M., Paulpandi, S., Kiran, R.P., & Saraswati, R. (2011). Genetic parameters for growth and survival in *Penaeus monodon* cultured in India. *Aquaculture* (318), 74-78.
- Mulder, H., & Bijma, P. (2005). Effects of genotype × environment interaction on genetic gain in breeding programs. *Journal of Animal Science* 83, 49-61.
- Nguyen, H. H., Nguyen, H. V., Lai, H. V., Phan, Q. M., & Trinh, T. Q. (2017). Genetic improvement of body weight in black tiger shrimp (*Penaeus monodon*). *Science and Technology Journal of Agriculture and Rural Development* (Special issue: plant and livestock breeding), 135-141.
- MARD (Ministry of Agriculture and Rural Development). Report No. 633/HD-KHCN-CNSH dated on May, 15, 2018. Application of quantitative genetics and molecular genetics to create the initial material for black tiger shrimp breeding according to growth traits. Retrieved January 19, 2019 from <http://sti.vista.gov.vn/tw/Pages/ket-quathnv.aspx?ItemID=50928>.
- Primavera, J. (1978). Induced maturation and spawning in five-month-old *Penaeus monodon* Fabricius by eye-stalk ablation. *Aquaculture* (13), 355-359.
- Robertson, A. (1959). The sampling variance of the genetic correlation coefficient. *Biometrics* 15, 469-485.
- DF (Directorate of Fisheries). 2018. Improving the quality of post larvae from importing stage of broodstock. Retrieved November 12, 2018 from <https://tongcucthuysan.gov.vn/vi-vn/nuoi-trong-thuy-san/-san-xuat-giong/doc-tin/010001/2018-03-06/nang-cao-chat-luong-tom-giong-ngay-tu-khi-nhap-khau-tom-bo-me>.

Effects of replacement of black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae meal in the diets on growth performance of discus fish (*Symphysodon* sp.)

Tu P. C. Nguyen^{1*}, Ha N. Nguyen², Linh T. T. Nguyen¹, & Tri N. Nguyen¹

¹Faculty of Fisheries, Nong Lam University, Ho Chi Minh City, Vietnam

²Research Institute for Biotechnology and Environment, Nong Lam University, Ho Chi Minh City, Vietnam

ARTICLE INFO

Research Paper

Received: March 23, 2019

Revised: September 12, 2019

Accepted: September 24, 2019

Keywords

Black soldier fly larvae

Discus fish

Formulated feed

Frozen beefheart

Growth rate

*Corresponding author

Nguyen Phuc Cam Tu

Email: npctu@hcmuaf.edu.vn

ABSTRACT

This study was conducted to evaluate the replacement of fishmeal by black soldier fly larvae (*Hermetia illucens*) (BSF) meal, frozen beefheart, and commercial pellet on growth performance, survival rate, and feed utilization of discus fish (*Symphysodon* sp.). Discus juveniles were graded into small, medium and large size groups as block in a completely randomized block design. Five trial diets included frozen beefheart (T1), commercial feed for discus fish (T2) and three diets containing graded levels of BSF as replacements for protein from fishmeal of 0% (T3), 25% (T4), and 50% (T5). The results showed that TAN and nitrite levels in the beefheart treatment were higher than those in the other ones. Moreover, discus fish in treatment 1 had a higher growth rate and a lower feed conversion ratio than those in the other treatments. On the other hand, no statistically significant differences among the pellet treatments were observed for growth rates of discus's weight, length and height and feed conversion ratio ($P > 0.05$). Moreover, the results showed that discus fish in the two BSF treatments did not suffer from diseases and had higher survival rates than those in the other treatments.

Cited as: Nguyen, T. P. C., Nguyen, H. N., Nguyen, L. T. T., & Nguyen, T. N. (2019). Effects of replacement of black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae meal in the diets on growth performance of discus fish (*Symphysodon* sp.). *The Journal of Agriculture and Development* 18(5), 33-42.

Ảnh hưởng của việc bổ sung nhộng ruồi lính đen (*Hermetia illucens*) vào thức ăn lên tăng trưởng của cá dĩa (*Symphysodon* sp.)

Nguyễn Phúc Cẩm Tú^{1*}, Nguyễn Ngọc Hà², Nguyễn Thị Thùy Linh¹ & Nguyễn Như Trí¹

¹Khoa Thủy Sản, Trường Đại Học Nông Lâm TP.HCM, TP. Hồ Chí Minh

²Viện Nghiên Cứu Công Nghệ Sinh Học và Môi Trường, Trường Đại học Nông Lâm TP.HCM, TP. Hồ Chí Minh

THÔNG TIN BÀI BÁO

Bài báo khoa học

Ngày nhận: 23/03/2019

Ngày chỉnh sửa: 12/09/2019

Ngày chấp nhận: 24/09/2019

Từ khóa

Cá dĩa

Nhộng ruồi lính đen

Tăng trưởng

Thức ăn viên

Tim bò tươi

*Tác giả liên hệ

Nguyễn Phúc Cẩm Tú

Email: npctu@hcmuaf.edu.vn

TÓM TẮT

Nghiên cứu này được thực hiện nhằm đánh giá khả năng thay thế protein bột cá bằng bột nhộng ruồi lính đen (*Hermetia illucens*) (RLĐ) cũng như thức ăn tim bò tươi và thức ăn viên thương mại lên tăng trưởng, tỷ lệ sống và hiệu quả sử dụng thức ăn của cá dĩa (*Symphysodon* sp.). Thí nghiệm được bố trí theo kiểu khối hoàn toàn ngẫu nhiên một yếu tố với cỡ cá như là khối. Yếu tố thí nghiệm là loại thức ăn gồm 5 nghiệm thức (NT): tim bò tươi xay nhuyễn (NT1), thức ăn thương mại (NT2) và 3 NT thức ăn viên có tỷ lệ thay thế protein bột cá bằng bột nhộng RLD khác nhau: 0% (NT3), 25% (NT4) và 50% (NT5). Kết quả cho thấy hàm lượng TAN và nitrite ở NT1 cao hơn các NT khác. Ngoài ra, cá dĩa ở NT1 có tốc độ tăng trưởng nhanh hơn và hệ số FCR thấp hơn và khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê so với các NT còn lại. Trái lại, khi so sánh giữa các NT thức ăn viên, tốc độ tăng trưởng về trọng lượng, chiều dài và chiều cao của cá và FCR không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P > 0,05$). Kết quả thí nghiệm cũng cho thấy, ở hai NT bổ sung nhộng RLD cá ít bị bệnh và có tỷ lệ sống cao hơn các NT còn lại.

1. Đặt Vấn Đề

Cá dĩa (*Symphysodon* sp.) là một trong những loài cá cảnh đẹp. Vì vậy, cá dĩa là một trong những loài cá cảnh có giá trị thương mại cao (Chong & ctv., 2000). Tuy nhiên, các nghiên cứu về nhu cầu dinh dưỡng và thức ăn của cá dĩa vẫn còn tương đối ít. Theo Chong & ctv. (2000), cá dĩa có nhu cầu protein khá cao (45%). Người nuôi cá dĩa chủ yếu dựa vào nguồn thức ăn tươi được chế biến như tim bò, sò huyết, tôm và cà rốt và các loại thức ăn tươi sống (live feed) như trùn chỉ, Artemia và ấu trùng muỗi (Chong & ctv., 2000). Các nguồn thức ăn này dễ lây lan mầm bệnh và làm ô nhiễm môi trường nước nuôi. Thức ăn viên cho cá dĩa thường được thiết kế và đóng gói chủ yếu thích hợp cho người chơi cá cảnh, không phù hợp về mặt kinh tế cho các trang trại sản xuất cá cảnh lớn (Chong & ctv., 2003).

Nguồn protein từ bột cá dùng để sản xuất thức ăn thủy sản đang ngày càng khan hiếm và giá thành cao. Việc tìm kiếm các nguồn nguyên liệu thay thế giàu protein làm thức ăn cho thủy sản đang được nhiều nhóm nghiên cứu quan tâm. Trong bối cảnh này, một giải pháp khả thi có thể dùng để thay thế cho bột cá trong thức ăn thủy sản là sử dụng ấu trùng của các loài côn trùng như sâu gạo *Tenebrio molitor*, ruồi nhà *Musca domestica* và đặc biệt là ruồi lính đen, là những loại nguyên liệu sẵn có, giá rẻ và có giá trị dinh dưỡng cao (Huis & ctv., 2013). Ruồi lính đen (*Hermetia illucens*) (RLĐ) có sẵn trong môi trường tự nhiên, không lây truyền mầm bệnh như các loài ruồi khác vì RLD trưởng thành không có phụ bộ miệng và không ăn, không cắn phá gây hại cho người, vật nuôi. Vì vậy, RLD đã được sử dụng trong xử lý phân thải chăn nuôi gia súc, gia cầm (Huis & ctv., 2013). Khi ấu trùng RLD chuyển

hóa thành tiền nhộng/nhộng có hàm lượng dinh dưỡng cao: 40% protein và 30% lipid (tính trên trọng lượng khô) (Sheppard & ctv., 1994; Newton & ctv., 2005), thích hợp để làm thức ăn cho các loài cá nuôi như cá nheo Mỹ *Ictalurus punctatus* (Bondari & Sheppard, 1981; 1987), cá hồi vân *Oncorhynchus mykiss* (St-Hilaire & ctv., 2007; Sealey & ctv., 2011), cá rô phi *Oreochromis aureus* (Bondari & Sheppard, 1981; Hem & ctv., 2008). Đối với cá cảnh, các nghiên cứu thức ăn từ côn trùng để thay thế bột cá cũng đang dần mở rộng. Nghiên cứu của Ganguly & ctv. (2014) khi thay thế bột cá bằng bột con cào cào ở mức 25% và 50% thì không ảnh hưởng đến tăng trưởng của cá molly *Poecilia sphenops*.

Nghiên cứu này được thực hiện nhằm đánh giá ảnh hưởng của việc thay thế bột cá bằng bột nhộng ruồi lính đen (*Hermetia illucens*) lên tăng trưởng, tỷ lệ sống và hiệu quả sử dụng thức ăn của cá đĩa (*Symphysodon* sp.). Ngoài ra, nghiên cứu cũng nhằm so sánh hiệu quả của các loại thức ăn thay thế này với tim bò tươi và thức ăn viên thương mại.

2. Vật Liệu và Phương Pháp Nghiên Cứu

2.1. Thời gian và địa điểm

Nghiên cứu được thực hiện từ tháng 05/2018 đến tháng 09/2018 tại trại thực nghiệm Thủy sản, Khoa Thủy sản, Trường Đại học Nông Lâm TP.HCM (ĐHNL). Các chỉ tiêu chất lượng nước được phân tích tại phòng thí nghiệm của Viện Nghiên cứu Công Nghệ Sinh Học và Môi trường (RIBE) và Khoa Thủy sản, ĐHNL. Nhộng RLD được nuôi từ bã nành và bã dứa theo qui trình của RIBE tại khu thực nghiệm nuôi RLD, RIBE. Nhộng sử dụng trong nghiên cứu được thu hoạch sau 15 ngày kể từ khi trứng nở.

Cá đĩa giống được mua từ trại cá cảnh Châu Tổng và chuyển về trại thực nghiệm Khoa Thủy sản, ĐHNL. Trước khi tiến hành thí nghiệm, cá được nuôi thích nghi trong bể composite (200 L) trong 4 tuần và cho ăn thức ăn dành cho cá đĩa của Công ty Fwusow Industry, Đà Loan ba lần/ngày.

2.2. Bố trí thí nghiệm

Thí nghiệm được bố trí theo kiểu khối hoàn toàn ngẫu nhiên một yếu tố. Yếu tố thí nghiệm là loại thức ăn gồm 5 nghiệm thức (NT): tim bò tươi xay nhuyễn (NT1), thức ăn thương mại (NT2) và

ba NT thức ăn viên thay thế protein bột cá bằng bột nhộng RLD: 0% (NT3), 25% (NT4) và 50% (NT5). Cơ cá thí nghiệm được chia thành ba cỡ được bố trí như là khối: nhỏ ($4,30 \pm 0,74$ g/con), trung bình ($6,06 \pm 0,80$ g/con) và lớn ($8,70 \pm 0,77$ g/con). Mỗi NT được lặp lại ba lần, mỗi lần trong một bể kính (kích thước 60 cm × 40 cm × 40 cm, tổng cộng có 15 bể kính), mỗi bể bố trí 12 con.

Thức ăn viên thương mại cho cá đĩa dùng trong thí nghiệm là thức ăn viên công nghiệp của Công ty Fwusow Industry, Đà Loan với thành phần nguyên liệu gồm: bột mì, bột cá, bột tôm, bột đậu nành, bột sò điệp, bột mầm lúa mì, bột nhuyễn thể, bột mực, bột rong biển, bột nấm men, β -carotene, L-lysine, DL-methionine, dầu cá, vitamin premix, khoáng premix và ethoxyquin. Tim bò tươi sau khi rửa sạch được loại bỏ gân, xay nhuyễn và trữ đông với lượng đủ cho cá ăn từ đầu đến cuối thí nghiệm. Khi cho cá ăn, tim bò được rã đông và chia ra thành từng miếng nhỏ vừa miệng cá.

Thành phần dinh dưỡng của các nguyên liệu chính được sử dụng tạo thức ăn thí nghiệm như: bột cá (65% đạm), bột nhộng RLD, bột khoai mì, bã đậu nành,... được cho ở Bảng 1.

Công thức thức ăn thay thế bột cá bằng bột nhộng RLD được phối trộn từ các nguyên liệu: bột cá, bột nhộng RLD, bột khoai mì, bã đậu nành, dầu cá biển, premix khoáng, premix vitamin, chất kết dính,...(Bảng 2). Sau khi thiết kế các công thức thức ăn thay thế, nguyên liệu được trộn đều và dùng máy xay thịt cầm tay để tạo viên thức ăn có đường kính khoảng 1,5 mm, sấy khô ở 60°C trong vòng 24 giờ và đóng gói bảo quản lạnh để cho cá ăn trong suốt thời gian tiến hành thí nghiệm. Khi cho ăn, dùng tay bẻ viên thức ăn vừa cỡ miệng của cá. Các công thức thức ăn thí nghiệm được trình bày trong Bảng 2.

Sau khi chế biến, thức ăn được lấy mẫu phân tích tại phòng thí nghiệm của Công ty TNHH thức ăn gia súc Lái Thiêu để xác định thành phần dinh dưỡng của từng NT (Bảng 3).

2.3. Quản lý và chăm sóc

Trong quá trình thí nghiệm cá được cho ăn ba lần mỗi ngày bằng sàng cho ăn vào lúc 8 giờ sáng, 12 giờ trưa và 16 giờ chiều với lượng ăn thỏa mãn nhu cầu, mỗi lần cho ăn kéo dài khoảng 1 giờ. Thức ăn được rải đều vào khay nhiều lần cho đến khi cá ngừng ăn. Sau khi cho ăn cá ăn khoảng 1

Bảng 1. Thành phần dinh dưỡng (%) của các nguyên liệu làm thức ăn thí nghiệm

Nguyên liệu	Ẩm độ	Đạm	Lipid	Tro	Xơ
Bột cá (65%)	6,71	63,81	7,93	20,5	-
Bột nhộng ruồi lính đen	14,24	48,56	24,72	5,62	9,51
Bột khoai mì	11,54	3,31	0,48	2,29	2,29
Bã nành	11,48	47,74			3,47
Cám gạo tươi	10,15	13,74	17,91	8,63	5,64
Bột phụ phẩm gia cầm	3,44	68,39	13,29	11,49	
Bột huyết	6,03	90,09		5,48	

Bảng 2. Công thức thức ăn thay thế bột cá bằng bột nhộng ruồi lính đen

Thành phần (%)	NT3	NT4	NT5
Bột cá	20,00	15,00	10,00
Bột nhộng ruồi lính đen	0,00	6,40	12,80
Bã nành	22,00	22,00	22,00
Bột khoai mì	19,92	20,22	19,99
Dầu cá biển	1,00	1,00	1,00
Dầu đậu nành	2,45	1,20	0,00
Cám gạo tươi	10,00	10,00	10,00
Monocalcium phosphate	0,30	0,30	0,30
Bột phụ phẩm gia cầm	20,00	20,00	20,00
Bột huyết	2,00	2,00	2,00
Premix vitamin và khoáng	0,35	0,35	0,35
Stay C 35%	0,03	0,03	0,03
Chất kết dính (CMC)	1,00	1,00	1,00
Methionine	0,265	0,270	0,270
Lysine	0,080	0,120	0,145
Threonine	0,355	0,350	0,340
Tryptophan	0,090	0,102	0,112
Choline chloride	0,10	0,10	0,10
Chất chống oxy hóa	0,03	0,03	0,03
Chất chống mốc	0,03	0,03	0,03
Tổng	100,00	100,00	100,00

Bảng 3. Thành phần dinh dưỡng của các nghiệm thức (NT) thức ăn (%), tính theo vật chất khô

Thành phần	NT1	NT2	NT3	NT4	NT5
Protein	74,66	44,90	39,76	38,99	38,87
Xơ	0,67	3,06	2,06	2,54	2,78
Lipid	13,12	9,08	7,54	8,70	7,45
Tro	6,68	10,89	9,00	8,84	8,08
Độ ẩm	74,90	6,25	9,11	9,14	9,19

giờ tiến hành thu thức ăn thừa bằng sàng. Thức ăn thừa được dự trữ trong tủ đông đến khi kết thúc thí nghiệm tiến hành rã đông, sấy khô nhằm tính toán lượng thức ăn thừa cho cả thí nghiệm.

Mỗi ngày siphon và thay nước 30 - 50%, nước sử dụng trong suốt thí nghiệm là nước máy đã qua xử lý chlorine. Hệ thống thí nghiệm có sử dụng thiết bị sục khí và cây sủi, đảm bảo các chỉ tiêu môi trường như hàm lượng oxy hòa tan

và nhiệt độ đều nằm trong khoảng thích hợp cho sự tăng trưởng và phát triển của cá.

Kết thúc thí nghiệm, chúng tôi tiến hành đếm số cá ở từng NT để tính tỷ lệ sống. Cân tất cả các cá thể ở từng NT và đo chiều dài, chiều cao của từng cá thể để tính tăng trưởng, chiều dài, chiều cao của cá và xác định hệ số chuyển đổi thức ăn. Trước khi đo chiều dài và chiều cao, cá được gây mê nhẹ bằng sản phẩm AQUI-S® (Công ty Bayer, Việt Nam) với liều lượng 10 mL/m³ nước.

2.4. Chỉ tiêu theo dõi

2.4.1. Các chỉ tiêu chất lượng nước

Trong thí nghiệm, chất lượng nước được kiểm tra hàng ngày. Nhiệt độ, pH và oxy hòa tan đo bằng máy đo cầm tay tại từng bể thí nghiệm 2 lần/ngày vào lúc 7 giờ và 15 giờ. Hàm lượng amoniac tổng số (TAN) và nitrite (NO₂₋) trong nước được lấy đi phân tích hai lần/tuần bằng phương pháp trắc quang tương ứng là indophenol và diazo hóa theo phương pháp chuẩn của APHA (2012) tại phòng thí nghiệm Khoa Thủy sản.

2.4.2. Tăng trưởng và hiệu quả sử dụng thức ăn của cá đĩa thí nghiệm

Trọng lượng cá (tất cả cá có trong bể) được cân ngay ngày đầu bố trí thí nghiệm và khi kết thúc thí nghiệm. Chiều dài cá (chiều dài tổng cộng) được xác định theo đường thẳng từ müt đầu (miệng cá) đến cuối của vây đuôi; trong khi đó chiều cao thân cá được đo tại điểm rộng nhất của cơ thể. Đếm số cá còn lại sau thí nghiệm để tiến hành đánh giá tỷ lệ sống và sự tăng trưởng, hệ số chuyển đổi thức ăn.

Tốc độ tăng trưởng tuyệt đối về trọng lượng (weight gain – WG, g):

$$WG \text{ (g/ngày)} = (W_t - W_0)/t$$

Trong đó:

W₀: Trọng lượng trung bình cá ban đầu (g).

W_t: Trọng lượng trung bình cá cuối thí nghiệm (g).

t: thời gian thí nghiệm (70 ngày).

Tốc độ tăng trưởng chuyên biệt về trọng lượng (specific growth rate – SGR_W, %/ngày):

$$SGRW \text{ (%/ngày)} = (\ln W_t - \ln W_0)/t \times 100$$

Tốc độ tăng trưởng chuyên biệt về chiều dài (%/ngày):

$$SGRL \text{ (%/ngày)} = (\ln L_t - \ln L_0)/t \times 100$$

Trong đó:

L₀: Chiều dài cá đầu thí nghiệm (cm).

L_t: Chiều dài cá khi kết thúc thí nghiệm (cm).

Tốc độ tăng trưởng chuyên biệt về chiều cao thân (%/ngày)

$$SGRH \text{ (%/ngày)} = (\ln H_t - \ln H_0)/t \times 100$$

Trong đó:

H₀: Chiều cao cá đầu thí nghiệm (cm).

H_t: Chiều cao cá khi kết thúc thí nghiệm (cm).

Tỷ lệ sống (survival ratio, SR):

$$SR \text{ (%) } = FF \times 100/IF$$

Trong đó:

IF: số lượng cá ban đầu (con).

FF: số lượng cá cuối thí nghiệm (con).

Hệ số chuyển đổi thức ăn (feed conversion ratio, FCR):

$$FCR = F_s/(M_f - M_i + M_c)$$

Trong đó:

F_s: Tổng khối lượng thức ăn cung cấp (g) tính theo vật chất khô

M_i: Tổng khối lượng cá ban đầu (g).

M_f: Tổng khối lượng cá cuối thí nghiệm (g).

M_c: Tổng khối lượng cá chết (g).

2.5. Phương pháp xử lý số liệu

Các phân tích thống kê thực hiện theo hướng dẫn của Gomez & Gomez (1984) và Bhujel (2008). Phần trăm (%) tỷ lệ sống được chuyển hóa bằng arcsin trước khi tiến hành phân tích thống kê, nhưng số liệu thô chưa chuyển hóa được thể hiện trong bảng. Phân tích phương sai một yếu tố (One way ANOVA) được sử dụng để so sánh sự khác biệt giữa các nghiệm thức về các số liệu tăng trưởng của cá như trọng lượng, chiều dài và chiều cao (đầu, cuối), WG, SGRW, SGRL, SGRH, tỷ lệ sống và FCR. Kiểm định Duncan được dùng để so sánh sự khác biệt giữa các mức của yếu tố thí nghiệm. Mức xác suất $P < 0,05$ được chấp nhận như tiêu chuẩn đánh giá sự khác biệt có ý nghĩa thống kê. Tất cả các phân tích thống kê được thực hiện bằng phần mềm IBM SPSS Statistics for Windows, Version 19.0 (Armonk, NY: IBM Corp).

3. Kết Quả và Thảo Luận

3.1. Các thông số môi trường trong bể kính thí nghiệm

3.1.1. Nhiệt độ

Trong quá trình thí nghiệm, nhiệt độ của các NT vào buổi sáng dao động trong khoảng 27⁰C - 31⁰C; trong khi đó, nhiệt độ vào buổi chiều có xu hướng tăng cao hơn trong khoảng 29,5 - 31,5⁰C (Bảng 4). Sự ổn định về nhiệt độ này là do thí nghiệm được bố trí trong khu vực được che chắn và có sử dụng dụng cụ sưởi trong bể. So với các loài cá nhiệt đới khác, cá đĩa cần nhiệt độ nước nuôi cao hơn (28 - 30⁰C) (Pirhonen & ctv., 2014; Livengood & ctv., 2016).

3.1.2. Giá trị pH

Sự biến động pH nước bể nuôi trong thời gian thí nghiệm được thể hiện ở Bảng 4. Trong thí nghiệm, pH ban đầu tương đối ổn định ở khoảng 7,5 - 8,0 và có sự biến động theo thời gian tiến hành thí nghiệm thấp nhất là 7,2 và cao nhất là 8,8. Càng về cuối thí nghiệm pH của các nghiệm thức có sự dao động quá lớn và có xu hướng tăng lên.

3.1.3. Hàm lượng oxy hòa tan (DO)

Kết quả theo dõi và ghi nhận DO trong quá trình thí nghiệm thể hiện ở Bảng 4. Trong 10 tuần nuôi thí nghiệm, hàm lượng DO trong nước nuôi cá đĩa vào buổi sáng và buổi chiều dao động trong khoảng từ 5,85 - 6,15 mg/L. Mức dao động này nằm trong ngưỡng tối ưu cho sự sống và phát triển bình thường của cá đĩa.

3.1.4. Ammonia

Hàm lượng TAN trung bình trong suốt quá trình tiến hành thí nghiệm dao động từ 1,46 - 3,83 mg/L (Bảng 4). Trong đó, ở NT cho ăn thức ăn tằm tươi (NT1) có hàm lượng TAN trung bình (3,83 ± 3,90 mg/L) cao hơn các NT khác trong suốt thời gian thí nghiệm; cho thấy thức ăn tươi sống có ảnh hưởng lớn đến chất lượng nước. Tuy nhiên, do môi trường nước được kiểm tra thường xuyên, khi thấy hàm lượng TAN tăng đột biến, chúng tôi đã tiến hành thay nước và tăng cường sục khí.

Bảng 4. Các thông số môi trường (trung bình ± độ lệch chuẩn) trong quá trình thí nghiệm

Nghiệm thức	Nhiệt độ (°C)		pH		DO (mg/L)		TAN (mg/L)	Nitrite (mg/L)
	Sáng	Chiều	Sáng	Chiều	Sáng	Chiều		
NT1	30,2 ± 0,5	30,7 ± 0,4	7,64 ± 0,26	7,62 ± 0,31	5,89 ± 0,72	5,85 ± 0,73	3,83 ± 3,90	1,46 ± 1,01
NT2	30,1 ± 0,5	30,5 ± 0,3	7,70 ± 0,28	7,70 ± 0,28	6,15 ± 0,73	6,15 ± 0,73	1,46 ± 1,89	0,39 ± 0,52
NT3	30,2 ± 0,5	30,5 ± 0,4	7,67 ± 0,26	7,65 ± 0,29	5,94 ± 0,74	5,91 ± 0,74	2,59 ± 3,33	0,51 ± 0,42
NT4	30,0 ± 0,5	30,5 ± 0,4	7,68 ± 0,26	7,67 ± 0,29	6,07 ± 0,72	6,10 ± 0,72	1,75 ± 2,40	0,36 ± 0,32
NT5	30,2 ± 0,5	30,6 ± 0,4	7,67 ± 0,25	7,66 ± 0,28	5,96 ± 0,74	5,94 ± 0,74	2,28 ± 2,83	0,37 ± 0,37

3.1.5. Nitrite

Hàm lượng nitrite trung bình trong suốt quá trình thí nghiệm dao động trong khoảng 0,36 – 1,46 mg/L (Bảng 4). Trong đó, ở NT cho ăn thức ăn tim bò (NT1) có hàm lượng nitrite ($1,46 \pm 1,01$ mg/L) cao hơn so với các NT còn lại trong suốt thời gian thí nghiệm. Để kiểm soát hàm lượng nitrite quá cao và giảm độc tính, chúng tôi tiến hành thay nước và bổ sung muối NaCl ở nồng độ 3 g/L.

3.2. Tỷ lệ sống, tốc độ tăng trưởng và hiệu quả sử dụng thức ăn của cá đĩa

Tỷ lệ sống và tốc độ tăng trưởng của đối tượng nuôi là những yếu tố quan trọng quyết định đến hiệu quả sản xuất. Số liệu về các chỉ tiêu tăng trưởng, tỷ lệ sống và hiệu quả sử dụng thức ăn được trình bày ở Bảng 5.

Kết quả thí nghiệm cho thấy cá đĩa ở NT cho ăn tim bò (NT1) có tốc độ tăng trưởng cao hơn và khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê so với các NT cho thức ăn viên bao gồm thức ăn thương mại (NT2) và các loại thức ăn thay thế bột cá bằng nhộng RLD ở các tỷ lệ (NT3, NT4 và NT5) (one-way ANOVA, $P < 0,05$) (Bảng 5). Trong khi đó, khi so sánh giữa các NT còn lại với nhau, trọng lượng trung bình cuối thí nghiệm, tốc độ tăng trưởng đối về trọng lượng, chiều dài và chiều cao của cá không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P > 0,05$) (Bảng 5).

Trọng lượng cá trung bình cuối thí nghiệm, tăng trưởng tuyệt đối và tương đối về trọng lượng cá ở NT1 là cao nhất (lần lượt là $24,86 \pm 8,46$ g/con; $21,36 \pm 8,43$ g và $2,12 \pm 0,08\%$ /ngày), tiếp theo là các NT cho ăn thức viên thay thế (dao động lần lượt từ $15,94 \pm 6,53$ g/con; $9,58 \pm 6,64$ g và $1,31 \pm 0,01\%$ /ngày ở NT5 đến $17,67 \pm 8,72$ g/con; $11,29 \pm 8,722$ g và $1,41 \pm 0,31\%$ /ngày ở NT3) và thấp nhất là ở NT cho ăn thức ăn viên thương mại (NT2 $13,92 \pm 4,20$ g/con; $7,62 \pm 3,69$ g và $1,15 \pm 0,06\%$ /ngày).

Tương tự, tốc độ tăng trưởng về chiều dài (chiều dài cuối: $6,19 \pm 0,59$ cm và SGRL: $0,36 \pm 0,05\%$ /ngày) và chiều cao (chiều cao cuối: $4,47 \pm 0,69$ cm và SGRH: $0,36 \pm 0,02\%$ /ngày) cũng thấp nhất là ở NT cho ăn thức ăn viên thương mại, tiếp theo là các NT cho ăn thức viên thay thế và cao nhất là ở NT cho ăn tim bò tươi xay nhuyễn (chiều dài cuối: $7,43 \pm 0,85$ cm; SGRL: $0,60 \pm 0,01\%$ /ngày; chiều cao cuối: $6,06 \pm 1,07$

cm và SGRH: $0,72 \pm 0,07\%$ /ngày).

Kết quả này chứng minh rằng khi cá đĩa được cho ăn tim bò sẽ có tốc độ tăng trưởng nhanh hơn so với NT cho ăn thức ăn viên. Tuy nhiên, khi so sánh giữa các NT cho ăn thức ăn viên, thức ăn có bổ sung nhộng RLD (NT4 và NT5) có tốc độ tăng trưởng cao hơn so với thức ăn thương mại. Điều này có thể được giải thích bởi một số lý do sau: hàm lượng protein trong tim bò tươi xay nhuyễn (74,66%) cao hơn nhiều so với các loại thức ăn viên (dao động trong khoảng 38,87 - 44,90%) (Bảng 3). Kết quả tương tự cũng được báo cáo bởi Wen & ctv. (2018). Khi nghiên cứu ảnh hưởng của việc thay thế tim bò tươi bằng tim vịt và bột tôm trong khẩu phần thức ăn của cá đĩa *S. haraldi*, các tác giả này nhận thấy khi tỷ lệ tim bò trong khẩu phần giảm thì làm giảm tốc độ tăng trưởng về trọng lượng, chiều dài và chiều cao của cá đĩa. Ngoài ra, có lẽ do thức ăn tim bò tươi xay nhuyễn ở dạng mềm nên cá dễ bắt mồi hơn so với các thức ăn viên sấy khô.

Kết quả thí nghiệm cho thấy mặc dù tỷ lệ sống ở hai NT bổ sung nhộng RLD (NT4 và NT5) cao hơn các NT còn lại, nhưng sự khác biệt này không có ý nghĩa về mặt thống kê ($P > 0,05$) (Bảng 4). Trong khi đó, khi so sánh giữa các NT còn lại với nhau, tỷ lệ sống của cá cũng không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P > 0,05$) (Bảng 4). Trong quá trình thí nghiệm, chúng tôi nhận thấy cá ở NT cho ăn tim bò tươi có tần suất xuất hiện bệnh nhiều hơn so với các NT còn lại, đặc biệt là so với các NT thức ăn có bổ sung nhộng RLD. Ví dụ: ở ngày thứ 40 – 43 của thí nghiệm, tất cả ba lô (36 con) của NT ăn tim bò đều bị đen thân, trong khi đó ở NT bổ sung nhộng RLD cá không bị bệnh. Điều này có lẽ liên quan đến sự biến động chất lượng nước trong các bể nuôi cá cho ăn bằng tim bò tươi. Như đã đề cập ở trên, hàm lượng TAN và nitrite trong các bể cho ăn tim bò tươi xay nhuyễn thường cao hơn các NT còn lại, đặc biệt là từ ngày nuôi thứ 35 trở đi. Ngoài ra, kết quả của nhiều nghiên cứu cho thấy nhộng RLD nói riêng và côn trùng nói chung có chứa các nhóm chất có hoạt tính sinh học có giá trị cao. Các hợp chất này bao gồm các phân tử có được tính khác nhau như kháng virus, kháng khuẩn và khả năng tăng cường đáp ứng miễn dịch ở người, gia súc, gia cầm và thủy sản nuôi. Bên cạnh đó, chitin và các dẫn xuất của chitin có trong vỏ côn trùng có khả năng kích thích miễn dịch (Ido & ctv., 2015; Park & ctv., 2015). Việc sử dụng nhộng ruồi nhà từ một loại thức ăn có hoạt tính sinh học bổ

Bảng 5. Tốc độ tăng trưởng, tỷ lệ sống và hiệu quả sử dụng thức ăn của cá đìa trong thời gian thí nghiệm

Chỉ tiêu	Thí nghiệm thức				
	NT1	NT2	NT3	NT4	NT5
TLTB ban đầu (g)	6,34 ± 1,91 ^a	6,31 ± 2,00 ^a	6,38 ± 2,01 ^a	6,36 ± 2,01 ^a	6,37 ± 1,98 ^a
TLTB kết thúc (g)	24,86 ± 8,46 ^b	13,92 ± 4,20 ^a	17,67 ± 8,72 ^a	16,40 ± 6,23 ^a	15,94 ± 6,53 ^a
WG (g)	21,36 ± 8,43 ^b	7,62 ± 3,69 ^a	11,29 ± 8,72 ^a	10,04 ± 5,83 ^a	9,58 ± 6,64 ^a
SGRW (%/ngày)	2,12 ± 0,08 ^b	1,15 ± 0,06 ^a	1,41 ± 0,31 ^a	1,34 ± 0,07 ^a	1,31 ± 0,01 ^a
Chiều dài khi bố trí (cm)	4,90 ± 0,52 ^a	4,83 ± 0,56 ^a	4,89 ± 0,55 ^a	5,02 ± 0,55 ^a	4,86 ± 0,52 ^a
Chiều dài khi kết thúc (cm)	7,43 ± 0,85 ^b	6,19 ± 0,59 ^a	6,65 ± 0,95 ^a	6,58 ± 0,58 ^a	6,54 ± 0,85 ^a
Chiều cao khi bố trí (cm)	3,66 ± 0,41 ^a	3,69 ± 0,51 ^a	3,65 ± 0,52 ^a	3,68 ± 0,50 ^a	3,51 ± 0,47 ^b
Chiều cao khi kết thúc (cm)	6,06 ± 1,07 ^b	4,47 ± 0,69 ^a	5,20 ± 1,09 ^a	5,00 ± 0,80 ^a	5,02 ± 0,81 ^a
SGR _L (%/ngày)	0,60 ± 0,01 ^b	0,36 ± 0,05 ^a	0,44 ± 0,10 ^a	0,38 ± 0,05 ^a	0,42 ± 0,05 ^a
SGR _H (%/ngày)	0,72 ± 0,07 ^b	0,36 ± 0,02 ^a	0,50 ± 0,13 ^a	0,43 ± 0,10 ^a	0,51 ± 0,03 ^a
Tỷ lệ sống (%)	97,22 ± 4,81 ^a	97,22 ± 4,81 ^a	97,22 ± 4,81 ^a	100 ± 0,00 ^a	100 ± 0,00 ^a
FCR	1,19 ± 0,12 ^a	1,87 ± 0,10 ^b	2,06 ± 0,27 ^b	2,46 ± 0,12 ^c	2,69 ± 0,12 ^c

^{a-c}Các giá trị trên được biểu diễn dưới dạng số trung bình ± độ lệch chuẩn. Các giá trị trong một hàng có cùng chữ cái thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($P > 0,05$); TLTB: trọng lượng trung bình

sung vào thức ăn cá tráp đỏ nhằm tăng tốc độ tăng trưởng, tỷ lệ sống và hiệu quả sử dụng thức ăn đã được các nhà khoa học ở Nhật Bản nghiên cứu thành công (Ido & ctv., 2015).

Ngược lại, hệ số chuyển đổi thức ăn (FCR) của NT1 (1,31) là thấp nhất và khác biệt rất có ý nghĩa về mặt thống kê so với các NT còn lại ($P < 0,001$). Trong khi đó FCR của NT2 và NT3 thấp hơn so với NT4 và NT5. Tuy nhiên, không có sự khác biệt thống kê về FCR giữa các NT2 (1,87) và NT3 (2,06) và giữa NT4 (2,46) và NT5 (2,69) (Bảng 4). Như vậy, việc sử dụng thức ăn có bổ sung nhộng RLD có hệ số FCR cao hơn so với thức ăn thương mại. Điều này có lẽ là do hàm lượng protein trong thức ăn tim bò (74,66%) và thương mại (44,90%) cao hơn thức ăn viên thí nghiệm (dao động từ 38,87 - 39,76%). Ngoài ra, hàm lượng xơ trong thức ăn tim bò (0,67%) thấp hơn các NT thức ăn viên (dao động từ 2,06 - 3,06%) (Bảng 3).

Các nghiên cứu đánh giá về việc bổ sung nhộng RLD vào thức ăn của cá cảnh hầu như chưa có. Tuy nhiên, kết quả của nghiên cứu này đối với cá đĩa tương tự như các nghiên cứu trước đây cho các loài cá nuôi thương phẩm khác. Ở cá hồi vân *O. mykiss*, cá được cho ăn thức ăn chứa 15% bột nhộng RLD có trọng lượng trung bình cuối thí nghiệm, tăng trọng tuyệt đối và FCR tương tự như cá cho ăn thức ăn đối chứng chứa 36% bột cá cơm; nhưng khi cho ăn thức ăn chứa 30% bột nhộng RLD, các chỉ tiêu tăng trưởng của cá giảm đáng kể (St-Hilaire & ctv., 2007). Tương tự, cá rô phi vằn *Oreochromis niloticus* cho ăn thức ăn có bột nhộng ruồi nhà đã giảm tăng trưởng và tăng hệ số chuyển đổi thức ăn (FCR) so với cá nuôi bằng thức ăn có chứa 52% bột cá (Slawski & ctv., 2008). Khi thí nghiệm trên cá bơn (*Psetta maxima*) ở giai đoạn giống, Kroeckel và ctv (2012) cũng báo cáo rằng tăng trưởng và lượng ăn của cá giảm khi tăng tỷ lệ thay thế bột cá bằng bột nhộng RLD (16,5 - 75,6%). Theo các tác giả này tăng trưởng của cá giảm có thể là do độ tiêu hóa của thức ăn giảm khi tăng tỷ lệ bột nhộng RLD vì độ tiêu hóa protein của bột nhộng RLD chỉ 63,1% so với của bột cá là 88 - 98%. Giá trị độ tiêu hóa thấp là do hàm lượng chitin có trong vỏ nhộng mà cá không có khả năng tiêu hóa. Chitin có thể ức chế quá trình hấp thu chất dinh dưỡng từ ống tiêu hóa làm cho tăng trưởng của cá giảm (Cummins & ctv., 2017).

Từ kết quả của nghiên cứu này cho thấy việc thay thế protein của bột cá bằng bột nhộng RLD

trong khẩu phần ăn không ảnh hưởng đến tốc độ tăng trưởng của cá đĩa. Nhộng RLD có tốc độ tăng trưởng nhanh, sinh sản dễ dàng và chuyển hóa hiệu quả vật chất hữu cơ có chất lượng thấp thành nguồn protein và lipid có giá trị cao. Với giá cả tăng và thiếu hụt nguồn cung của bột cá, nhộng RLD có thể là một thành phần nguồn nguyên liệu thức ăn tiết kiệm và bền vững và được dùng như một nguồn protein chất lượng cao trong ngành NTTS. Việc bổ sung nguồn nguyên liệu rẻ tiền, bền vững và sẵn có ở địa phương trong thức ăn cá đĩa nói riêng và thủy sản nói chung góp phần phát triển bền vững ngành NTTS.

4. Kết Luận

Qua thời gian thí nghiệm cho thấy các thông số chất lượng nước cơ bản như nhiệt độ, pH và DO luôn được duy trì trong khoảng thích hợp cho sự tăng trưởng và phát triển bình thường của cá đĩa và không có sự khác biệt giữa các NT. Tuy nhiên, hàm lượng TAN và nitrite ở NT cho ăn tim bò tươi thường dao động trong khoảng cao hơn các NT còn lại. Kết quả thí nghiệm cho thấy cá đĩa ở NT cho ăn tim bò có tốc độ tăng trưởng nhanh hơn và hệ số FCR nhỏ hơn và khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê so với các NT cho thức ăn viên bao gồm thức ăn thương mại và các loại thức ăn thay thế bột cá bằng bột nhộng RLD với các tỷ lệ khác nhau. Trong khi đó, khi so sánh giữa các NT còn lại với nhau, tốc độ tăng trưởng về trọng lượng, chiều dài và chiều cao của cá và FCR không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê. Kết quả thí nghiệm cũng cho thấy, ở hai NT bổ sung bột nhộng RLD cá ít bị bệnh và có tỷ lệ sống cao hơn các NT còn lại. Điều này chứng tỏ việc bổ sung bột nhộng RLD chưa cải thiện được hiệu quả tăng trưởng và sử dụng thức ăn của cá đĩa, nhưng có khả năng làm tăng tính đáp ứng miễn dịch ở cá. Trên cơ sở này, chúng tôi đề xuất cần tiếp tục hoàn thiện thiết kế công thức thức ăn của cá đĩa và nghiên cứu đánh giá ảnh hưởng của việc bổ sung bột nhộng RLD lên tính kháng bệnh và đáp ứng miễn dịch ở cá đĩa và các loài thủy sản khác.

Lời Cảm Ơn

Tập thể tác giả xin chân thành cảm ơn Trường Đại học Nông Lâm TP.HCM đã tài trợ kinh phí thực hiện (Mã số: CS-SV17-TS-02). Nhộng RLD được nuôi từ khu thực nghiệm nuôi RLD được tài trợ bởi Công ty CJ, Hàn Quốc.

Tài Liệu Tham Khảo (References)

- APHA (American Public Health Association). (2012). *Standard Methods for the examination of water and wastewater*. (22nd ed.). Washington D. C., USA: American Public Health Association.
- Bhujel, R. C. (2008). *Statistics for aquaculture*. New Jersey, USA: Wiley-Blackwell.
- Bondari, K., & Sheppard, D. C. (1981). Soldier fly larvae as feed in commercial fish production. *Aquaculture* 24(0), 103-109.
- Bondari, K., & Sheppard, D. C. (1987). Soldier fly, *Hermetia illucens* L., larvae as feed for channel catfish, *Ictalurus punctatus* (Rafinesque), and blue tilapia, *Oreochromis aureus* (Steindachner). *Aquaculture Research* 18(3), 209-220.
- Cummins, V. C., Rawles, S. D., Thompson, K. R., Velasquez, A., Kobayashi, Y., Hager, J., & Webster, C. D. (2017). Evaluation of black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae meal as partial or total replacement of marine fish meal in practical diets for Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Aquaculture* 473, 337-344.
- Chong, A., Hashim, R., & Ali, A. B. (2003). Assessment of soybean meal in diets for discus (*Symphysodon aequifasciata* HECKEL) farming through a fishmeal replacement study. *Aquaculture Research* 34(11), 913-922.
- Chong, A. S. C., Hashim, R., & Ali, A. B. (2000). Dietary protein requirements for discus (*Symphysodon* spp.). *Aquaculture Nutrition* 6(4), 275-278.
- Ganguly, A., Chakravorty, R., Sarkar, A., Mandal, D. K., Haldar, P., Ramos-Elorduy, J., & Moreno, J. M. P. (2014). A preliminary study on *Oryza fuscovittata* (Marschall) as an alternative nutrient supplement in the diets of *Poecilia spheonops* (Valenciennes). *PLoS One* 9(11), e111848.
- Gomez, K. A., & Gomez, A. A. (1984). *Statistical procedures for agricultural research* (2nd ed.). New Jersey, USA: John Wiley & Sons.
- Hem, S., Toure, S., Sagbla, C., & Legendre, M. (2008). Bioconversion of palm kernel meal for aquaculture: experiences from the forest region (Republic of Guinea). *African Journal of Biotechnology* 7(8), 1192-1198.
- Huis, A. V., Itterbeeck, J. V., Klunder, H., Mertens, E., Halloran, A., Muir, G., & Vantomme, P. (2013). *Edible insects: future prospects for food and feed security*. Rome, Italy: Food and Agriculture Organization.
- Ido, A., Iwai, T., Ito, K., Ohta, T., Mizushige, T., Kishida, T., Miura, C., & Miura, T. (2015). Dietary effects of housefly (*Musca domestica*) (Diptera: Muscidae) pupae on the growth performance and the resistance against bacterial pathogen in red sea bream (*Pagrus major*) (Perciformes: Sparidae). *Applied Entomology and Zoology* 50(2), 213-221.
- Kroeckel S., Harjes A.G.E., Roth I., Katz H., Wuertz S., Susebeth A., & Schulz C., 2012. When a turbot catches a fly: Evaluation of a pre-pupae meal of the Black Soldier Fly (*Hermetia illucens*) as fish meal substitute - Growth performance and chitin degradation in juvenile turbot (*Psetta maxima*). *Aquaculture* 364(0),345-352.
- Livngood, E. J., Ohs, C. L., & Chapman, F. A. (2016). *Candidate species for Florida aquaculture: Discus Symphysodon spp., a profitable but challenging species for Florida aquaculture*. University of Florida IFAS Extension, Florida, USA.
- Newton, G. L., Sheppard, D. C., Watson, D. W., Burtle, G. J., Dove, C. R., Tomberlin, J. K., & Thelen, E. E. (2005). The black soldier fly, *Hermetia illucens*, as a manure management/resource recovery tool. *Symposium on the State of the Science of Animal Manure and Waste Management*. San Antonio, Texas, USA: National Center for Manure & Animal Waste Management.
- Park, S. I., Kim, J. W., & Yoe, S. M. (2015). Purification and characterization of a novel antibacterial peptide from black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae. *Developmental & Comparative Immunology* 52(1), 98-106.
- Pirhonen, J., Aaltonen, S., & Järvenpää, H. (2014). Growth of domesticated discus *Symphysodon* sp. at constant temperatures. *Aquaculture Research* 45(5), 940-943.
- Sealey, W. M., Gaylord, T. G., Barrows, F. T., Tomberlin, J. K., McGuire, M. A., Ross, C., & St-Hilaire, S. (2011). Sensory analysis of Rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, fed enriched black soldier fly prepupae, *Hermetia illucens*. *Journal of the World Aquaculture Society* 42(1), 34-45.
- Sheppard, D. C., Newton, G. L., Thompson, S. A., & Stan, S. (1994). A value added manure management system using the black soldier fly. *Bioresource Technology* 50(3), 275-279.
- Slawski, H., Schulz, C., & Ogunji, J. O. (2008). Evaluation of housefly maggot meal as an alternative protein source in the diet of *Oreochromis niloticus*. *World Aquaculture* 39(2), 16-18.
- St-Hilaire, S., Sheppard, C., Tomberlin, J. K., Irving, S., Newton, L., McGuire, M. A., Mosley, E. E., Hardy, R. W., & Sealey, W. (2007). Fly prepupae as a feedstuff for rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Journal of the World Aquaculture Society* 38(1), 59-67.
- Wen, B., Chen, Z., Qu, H., & Gao, J. (2018). Growth and fatty acid composition of discus fish *Symphysodon haraldi* given varying feed ratios of beef heart, duck heart, and shrimp meat. *Aquaculture and Fisheries* 3(2), 84-89.

Identification of the tolerant capacity to aquatic environment factors (temperature, pH and dissolved oxygen) of Asian bumblebee catfish (*Pseudomystus siamensis* Regan, 1913)

Binh T. T. Vo*, Chau M. Pham, Truc T. T. Nguyen, Tuan V. Vo, & Tu V. Nguyen

Faculty of Fisheries, Nong Lam University, Ho Chi Minh City, Vietnam

ARTICLE INFO

Research Paper

Received: May 07, 2019

Revised: September 09, 2019

Accepted: September 24, 2019

Keywords

Asian bumblebee catfish

Dissolved oxygen

pH, temperature

Tolerant capacity

***Corresponding author**

Vo Thi Thanh Binh

Email: vtbinh1975@yahoo.com

ABSTRACT

Asian bumblebee catfish (*Pseudomystus siamensis*) belongs to Bagridae family and is an economic value ornamental species. However, biological characteristics of this fish species have been rarely reported in the literature. A study to identify tolerant capacity to aquatic environment factors (incipient lethal temperature (ILT) and incipient lethal pH (ILpH) and oxygen threshold) of Asian bumblebee catfish at three developmental stages namely embryo, hatchling and ten-day post hatching (dph) was carried out from July 2018 to January 2019 at the Experimental Farm for Aquaculture of Fisheries Faculty - Nong Lam University in HCM City. The results showed that the incipient upper and lower lethal temperatures (IULT and ILLT) were 32.5⁰C and 22.3⁰C for embryos, 36.7⁰C and 18.7⁰C for hatchlings, and 38.6⁰C and 15.9⁰C for 10 dph fish, respectively. The incipient upper and lower lethal pHs (IULpH and ILLpH) were 10.7 and 4.4 for embryos, 10.2 and 3.7 for hatchlings, and 10.2 and 3.8 for 10 dph fish, respectively. The oxygen thresholds of the catfish at the three stages were 4.7, 1.1 and 1.0 mg O₂/L, respectively. The Asian bumblebee catfish at post hatching stages appears to tolerate to unfavorable environmental factors compared to embryonic one. The study results would be an important scientific base for researches on seed production and conservation of the fish in the future.

Cited as: Vo, B. T. T., Pham, C. M., Nguyen, T. T. T., Vo, T. V., & Nguyen, T. V. (2019). Identification of the tolerant capacity to aquatic environment factors (temperature, pH and dissolved oxygen) of Asian bumblebee catfish (*Pseudomystus siamensis* Regan, 1913). *The Journal of Agriculture and Development* 18(5), 43-51.

Xác định khả năng chịu đựng một số yếu tố môi trường nước (nhiệt độ, pH và oxy hòa tan) của cá chốt bông (*Pseudomystus siamensis* Regan, 1913)

Võ Thị Thanh Bình*, Phạm Minh Châu, Nguyễn Thị Thanh Trúc,
Võ Văn Tuấn & Nguyễn Văn Tư

Khoa Thủy Sản, Trường Đại Học Nông Lâm TP.HCM, TP. Hồ Chí Minh

THÔNG TIN BÀI BÁO

Bài báo khoa học

Ngày nhận: 07/05/2019

Ngày chỉnh sửa: 09/09/2019

Ngày chấp nhận: 24/09/2019

Từ khóa

Cá chốt bông

Khả năng chịu đựng

Nhiệt độ

Ôxy hòa tan

pH

*Tác giả liên hệ

Võ Thị Thanh Bình

Email: vtbinh1975@yahoo.com

TÓM TẮT

Cá chốt bông (*Pseudomystus siamensis*) thuộc họ cá ngạnh Bagridae và là loài cá cảnh có giá trị kinh tế. Tuy nhiên cho đến nay các công bố về đặc điểm sinh học của loài cá này còn rất hạn chế. Nghiên cứu về khả năng chịu đựng một số yếu tố môi trường nước (nhiệt độ, pH và oxy hòa tan) của cá chốt bông ở các giai đoạn phôi, cá mới nở và cá 10 ngày tuổi đã được thực hiện từ tháng 7/2018 đến tháng 1/2019 tại Khoa Thủy Sản - Trường Đại học Nông Lâm TP.HCM. Các kết quả nghiên cứu cho thấy ngưỡng nhiệt độ cao và thấp của phôi là 32,5⁰C và 22,3⁰C; cá mới nở là 36,7⁰C và 18,7⁰C; cá 10 ngày tuổi là 38,6⁰C và 15,9⁰C. Ngưỡng pH cao và thấp ở giai đoạn phôi là 10,7 và 4,4; cá mới nở là 10,2 và 3,7; cá 10 ngày tuổi là 10,2 và 3,8. Ngưỡng oxy của cá chốt bông giai đoạn phôi, cá mới nở và cá 10 ngày tuổi lần lượt là 4,7; 1,1; 1,0 mg O₂/L. Cá chốt bông giai đoạn sau nở chịu đựng những yếu tố bất lợi của môi trường tốt hơn giai đoạn phôi. Kết quả nghiên cứu là cơ sở khoa học quan trọng cho các nghiên cứu về sản xuất giống và bảo tồn loài cá này trong tương lai.

1. Đặt Vấn Đề

Cá chốt bông (*Pseudomystus siamensis* Regan, 1913) thuộc giống cá chốt *Pseudomystus*, họ cá ngạnh Bagridae. Bagridae là một trong những họ lớn với các thành viên có thể tìm thấy khắp châu Á, châu Phi và Trung Đông. Ở châu Á, cá chốt bông phân bố ở lưu vực các sông Mekong và Chao Phraya, và bán đảo Thái Lan. Nhóm cá ngạnh này được quan tâm đặc biệt do có nhiều loài cá có giá trị làm cá cảnh so với các họ cá da trơn (catfish) châu Á khác. Ngày nay, phần lớn các loài dùng làm cá cảnh thuộc giống *Pseudomystus* do chúng sở hữu sự đa dạng về màu sắc, có các màu tương phản nổi bật với các dãy hoặc vệt màu tương phản nằm trên thân và vây. Trong số các loài cá cảnh thuộc giống *Pseudomystus* thì cá chốt bông được ưa chuộng hơn cả và được xuất/nhập khẩu với tên gọi 'bumblebee catfish' (Linder, 2000a & b). Tuy nhiên, loài cá này

chỉ được khai thác từ tự nhiên nên số lượng có giới hạn. Ngày nay, nhu cầu tiêu thụ nguồn cá này cho mục đích chơi cảnh tương đối cao dẫn tới việc khai thác quá mức loài cá này ngoài tự nhiên.

Ở Việt Nam, cá chốt bông được người dân khai thác nhiều ở vùng Tân Châu, Thoại Sơn (An Giang) và hồ Trị An (Trảng Bom - Đồng Nai). Theo kinh nghiệm của người dân thì cá chốt bông ở các địa phương này thường bắt gặp vào đầu mùa mưa và được đánh bắt, khai thác chủ yếu vào các tháng 10, 11 hằng năm (Vo, 2015).

Ngoài nghiên cứu định loại (Vo, 2015), cho đến nay có rất ít nghiên cứu về đặc điểm sinh học trên loài cá này. Vì vậy, việc tiến hành nghiên cứu xác định khả năng chịu đựng các yếu tố môi trường chính (nhiệt độ, pH, oxy hòa tan) của cá chốt bông là hết sức cần thiết để làm cơ sở khoa học việc thuần dưỡng, sản xuất giống, phát triển nuôi và bảo vệ nguồn lợi tự nhiên đối tượng này

trong tương lai.

2. Vật Liệu và Phương Pháp Nghiên Cứu

Nghiên cứu được tiến hành từ tháng 7/2018 đến tháng 1/2019 tại Trại thực nghiệm Khoa Thủy Sản, Trường Đại học Nông Lâm TP.HCM.

Cá chốt bông bố mẹ được tuyển chọn từ đàn cá chốt bông tự nhiên thu từ các tỉnh miền Tây và Đông Nam Bộ. Cá bố mẹ được nuôi vỗ trong ao lót bạt và được kích thích sinh sản với HCG. Cá sau khi nở được ương nuôi với thức ăn là *Moina* và trùn chỉ *Limnodrilus hoffmeisteri*.

2.1. Thí nghiệm xác định ngưỡng nhiệt độ của cá chốt bông

Thí nghiệm xác định nhiệt độ bắt đầu gây chết (incipient lethal temperature, ILT) - nhiệt độ gây chết 50% đối tượng thí nghiệm khi được xử lý với một loạt các nhiệt độ tăng hay giảm ở khoảng thời gian 24 giờ (Beitinger & ctv., 2000) - được bố trí theo kiểu hoàn toàn ngẫu nhiên với 3 lần lặp lại. Đối tượng nghiên cứu (phôi đã phát triển xa hơn giai đoạn phôi vị, cá mới nở và cá 10 ngày tuổi) được chứa trong các bình nhựa có 2 lít nước với mật độ 20 mẫu/bình. Các bình thí nghiệm được đặt trong một thùng xốp có chứa nước. Dùng nước nóng (xác định nhiệt độ cao gây chết (IU(pper)LT)) hay nước lạnh (xác định nhiệt độ thấp gây chết (IL(ower)LT)) thêm vào nước trong thùng xốp để gián tiếp tăng hay giảm nhiệt độ nước của bình chứa mẫu vật với mức 1^oC ở mỗi lần tăng hay giảm. Đặt nhiệt kế trong bình thí nghiệm để theo dõi nhiệt độ và đảm bảo nhiệt độ trong bình tăng hay giảm không quá 0,2^oC/giờ. Sau khi đạt nhiệt độ mong muốn, nhiệt độ trong bình được giữ ổn định và ghi nhận số mẫu vật bị chết liên tục trong 24 giờ. Biểu hiện của phôi chết là sự biến đổi màu và trở nên mờ đục, của cá mới nở là sự ngừng vận động và của cá 10 ngày tuổi là sự ngừng cử động của nắp mang.

2.2. Thí nghiệm xác định ngưỡng pH của cá chốt bông

Thí nghiệm xác định pH bắt đầu gây chết (incipient lethal pH, ILpH) - pH gây chết 50% đối tượng thí nghiệm khi được xử lý với một loạt các pH tăng hay giảm ở khoảng thời gian 24 giờ - cũng được bố trí theo kiểu hoàn toàn ngẫu nhiên với 3 lần lặp lại. Đối tượng nghiên cứu được chứa trong các bình nhựa có 2 lít nước với mật độ 20

mẫu/bình. Điều chỉnh pH nước trong bình thí nghiệm với dung dịch NaOH 0,1N để tăng pH (xác định pH cao gây chết (IU(pper)LpH)) và H₂SO₄ 0,1N để giảm pH (xác định pH thấp gây chết (IL(ower)LpH)) để có giá trị pH theo yêu cầu với mức 1 giá trị pH ở mỗi lần tăng hay giảm. Sau khi đạt pH mong muốn, pH trong bình được giữ ổn định và ghi nhận số mẫu vật bị chết liên tục trong 24 giờ.

Trong cả 2 thí nghiệm trên, các bình được sục khí nhẹ để đảm bảo oxy hòa tan đầy đủ. Các mẫu vật chết được vớt bỏ ngay để tránh ảnh hưởng xấu đến chất lượng nước trong bình. Nhiệt độ hay pH cao và thấp gây chết mẫu vật được tính toán dựa trên phân tích hồi qui tuyến tính của tỷ lệ chết ở 24 giờ theo nhiệt độ hay pH.

2.3. Thí nghiệm xác định ngưỡng oxy của cá chốt bông

Ngưỡng oxy của cá được xác định bằng phương pháp bình kín (Wokoma & Marioghae, 1996). Cho nước vào đầy bình thủy tinh 500 mL, thả mẫu mật độ 20 con nhẹ nhàng vào bình và đậy nắp thật kín (tránh không có bọt khí). Tiếp tục theo dõi đến khi nào > 50% phôi trở nên mờ đục hay cá không còn hoạt động nữa thì lấy ra một mẫu nước để xác định oxy hòa tan - được xem như ngưỡng oxy của phôi hay cá (Nguyen, 2005).

Nhiệt độ được đo với nhiệt kế thủy ngân (0 – 50^oC), pH được đo với pH meter hiệu HANNA và oxy hòa tan được xác định với phương pháp chuẩn độ kiềm Winkler.

2.4. Xử lý số liệu

Tất cả số liệu về tỷ lệ chết được chuyển đổi thành arcsin $\sqrt{}$ và được phân tích ANOVA một yếu tố (One-way ANOVA) với phép thử DUCAN bằng phần mềm SPSS. Phân tích hồi qui tuyến tính của tỷ lệ chết (được chuyển đổi thành probit) ở 24 giờ theo nhiệt độ hay pH (được chuyển đổi thành Log10) sử dụng phần mềm Excel.

3. Kết Quả và Thảo Luận

3.1. Ngưỡng nhiệt độ của cá chốt bông

3.1.1. Giai đoạn phôi

- Ngưỡng nhiệt độ cao gây chết (IULT)

Phôi không chết ở các nhiệt độ 30 và 31^oC. Hiện tượng phôi chết xảy ra ở các nghiệm thức

có giá trị nhiệt độ từ 32 - 39⁰C. Tỷ lệ phơi chết tích lũy ở 24 giờ ở nhiệt độ 32⁰C là 38,3%, tăng lên 90% ở 33⁰C và ở các nhiệt độ cao hơn (34 - 39⁰C) có tỷ lệ phơi chết 100% sau 1 giờ thí nghiệm. Tỷ lệ phơi chết tích lũy ở 24 giờ ở 33⁰C là khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$) so với tỷ lệ chết ở các nhiệt độ khác.

Phương trình hồi qui tuyến tính của tỷ lệ phơi chết (y) theo nhiệt độ cao (x) là $y = 207,91x - 309,36$ ($R^2 = 0,9535$). Như vậy, trong thí nghiệm này, nhiệt độ cao gây chết (IULT) cá chốt bông giai đoạn phơi được xác định là 32,5⁰C (Hình 1).

- Ngưỡng nhiệt độ thấp gây chết (ILLT)

Tương tự như ở thí nghiệm nhiệt độ cao, phơi không chết ở các nhiệt độ từ 26 - 24⁰C. Hiện tượng phơi chết xảy ra ở các nghiệm thức có giá trị nhiệt độ từ 23,5 - 14⁰C. Tỷ lệ phơi chết tích lũy ở 24 giờ ở nghiệm thức 23,5⁰C là 56,6%, tăng lên 68,3% ở 23⁰C, 75% ở 21⁰C và 76,6% ở 22⁰C; còn ở các nhiệt độ thấp hơn (20 - 14⁰C), tỷ lệ phơi chết là 100% sau 1 giờ thí nghiệm. Tỷ lệ phơi chết tích lũy ở 24 giờ ở 21 và 22⁰C là khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($P > 0,05$) nhưng khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$) so với tỷ lệ chết ở các nhiệt độ khác.

Phương trình hồi qui tuyến tính của tỷ lệ phơi chết (y) theo nhiệt độ thấp (x) là $y = - 74,411x + 105,32$ ($R^2 = 0,6435$). Trong thí nghiệm này, nhiệt độ thấp gây chết (ILLT) cá chốt bông giai đoạn phơi được xác định là 22,3⁰C (Hình 1).

3.1.2. Giai đoạn cá mới nở

- Ngưỡng nhiệt độ cao gây chết (IULT)

Cá không chết ở các nhiệt độ từ 30 - 34⁰C. Hiện tượng cá chết xảy ra ở các nghiệm thức có giá trị nhiệt độ từ 35 - 39⁰C. Tỷ lệ cá chết tích lũy ở 24 giờ ở nghiệm thức 35⁰C là 21,6%, tăng lên 55% ở nhiệt độ 37⁰C và 71,6% ở nhiệt độ 38⁰C; ở nhiệt độ cao hơn (39⁰C), tỷ lệ cá chết là 100% sau 1 giờ thí nghiệm. Tỷ lệ cá chết tích lũy ở 24 giờ ở các nhiệt độ 35 - 38⁰C là khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$) và cũng khác biệt so với tỷ lệ chết ở các nhiệt độ khác.

Phương trình hồi qui tuyến tính của tỷ lệ cá chết (y) theo nhiệt độ cao (x) là $y = 117,19x - 178,42$ ($R^2 = 0,8552$). Như vậy trong thí nghiệm này, nhiệt độ cao gây chết (IULT) cá chốt bông giai đoạn mới nở được xác định là 36,7⁰C (Hình 2).

- Ngưỡng nhiệt độ thấp gây chết (ILLT)

Cá không chết ở các nhiệt độ từ 26 - 21⁰C. Hiện tượng cá chết xảy ra ở các nghiệm thức có giá trị nhiệt độ từ 20 - 14⁰C. Tỷ lệ cá chết tích lũy ở 24 giờ ở nghiệm thức 20⁰C là 13,3%, tăng lên 53,3% ở 19⁰C và 60,0% ở 18⁰C; còn ở các nhiệt độ thấp hơn (17 - 14⁰C), tỷ lệ cá chết là 100% sau 1 giờ thí nghiệm. Tỷ lệ cá chết tích lũy ở 24 giờ ở các nhiệt độ 20 - 18⁰C là khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$) và cũng khác biệt so với tỷ lệ chết ở các nhiệt độ khác.

Phương trình hồi qui tuyến tính của tỷ lệ cá chết (y) theo nhiệt độ thấp (x) là $y = - 81,739x + 109,01$ ($R^2 = 0,8949$). Trong thí nghiệm này, nhiệt độ thấp gây chết (ILLT) cá chốt bông giai đoạn mới nở được xác định là 18,7⁰C (Hình 2).

3.1.3. Giai đoạn cá 10 ngày tuổi

- Ngưỡng nhiệt độ cao gây chết (IULT)

Cá không chết ở các nhiệt độ từ 30 - 37⁰C. Hiện tượng cá chết xảy ra ở các nghiệm thức có giá trị nhiệt độ từ 38 - 39⁰C. Tỷ lệ cá chết tích lũy ở 24 giờ ở nghiệm thức 38⁰C là 46,6% và tăng lên 55,0% ở nhiệt độ 39⁰C. Tỷ lệ cá chết tích lũy ở 24 giờ ở 38 và 39⁰C là khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$) và cũng khác biệt so với tỷ lệ chết ở các nhiệt độ khác.

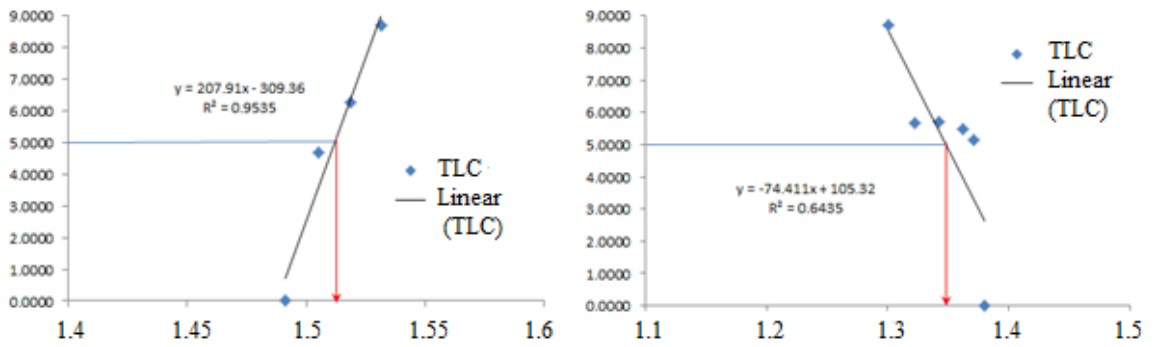
Phương trình hồi qui tuyến tính của tỷ lệ cá chết (y) theo nhiệt độ cao (x) là $y = 225,08x - 352,21$ ($R^2 = 0,7871$). Nhiệt độ cao gây chết (IULT) cá chốt bông giai đoạn 10 ngày tuổi được xác định là 38,6⁰C (Hình 3).

- Ngưỡng nhiệt độ thấp gây chết (ILLT)

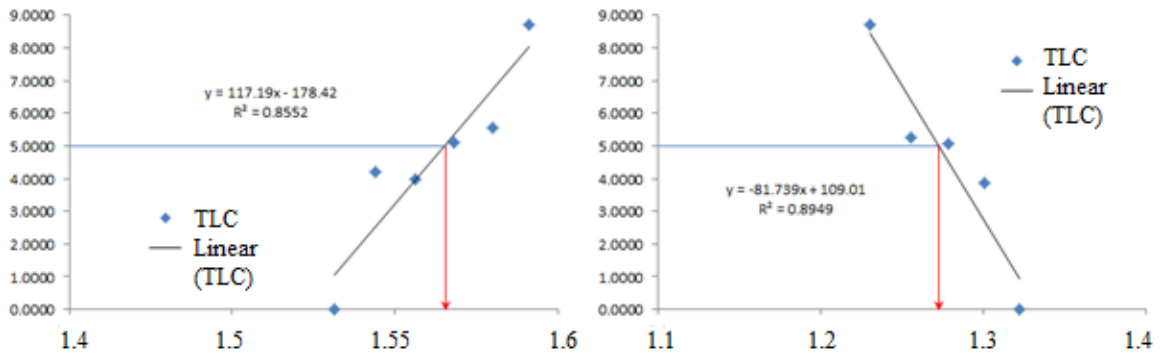
Cá không chết ở các nhiệt độ từ 26 - 18⁰C. Hiện tượng cá chết xảy ra ở các nghiệm thức có giá trị nhiệt độ từ 17 - 14⁰C; trong đó, ở nhiệt độ 14⁰C tỷ lệ cá chết là 100% sau 1 giờ thí nghiệm. Ở các nghiệm thức 17, 16 và 15⁰C, tỷ lệ cá chết tích lũy sau 24 giờ là tương đương nhau và khác biệt có ý nghĩa thống kê so với các nghiệm thức còn lại ($P < 0,05$).

Phương trình hồi qui tuyến tính của tỷ lệ cá chết (y) theo nhiệt độ thấp (x) là $y = - 63,332x + 81,073$ ($R^2 = 0,7643$). Nhiệt độ thấp gây chết (ILLT) cá chốt bông giai đoạn 10 ngày tuổi được xác định là 15,9⁰C (Hình 3).

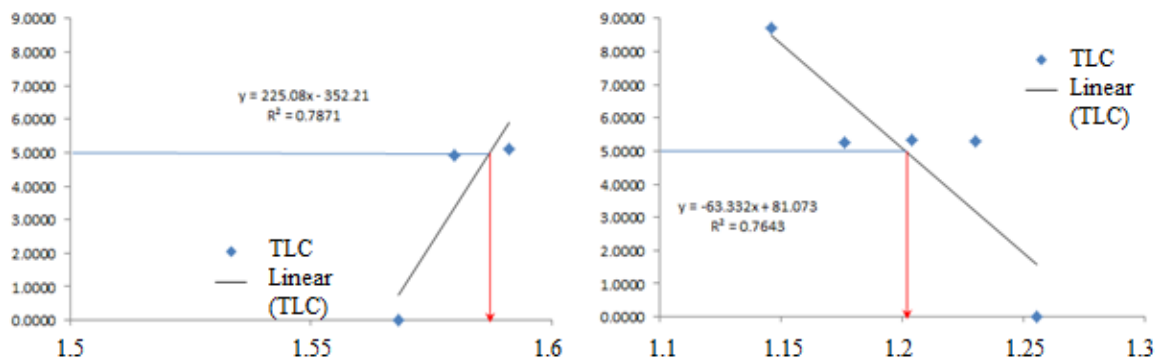
Hầu hết các loài cá nuôi phân bố tự nhiên ở Đồng bằng sông Cửu Long (ĐBSCL) và những vùng phân bố có vĩ độ thấp thì nhiệt độ thích hợp cho phơi phát triển từ 27 - 31⁰C (Pham & Nguyen, 2009). Trong suốt quá trình phát triển



Hình 1. Phương trình hồi qui tuyến tính của tỷ lệ chết phôi cá chốt bông theo nhiệt độ cao (trái) và thấp (phải)



Hình 2. Phương trình hồi qui tuyến tính của tỷ lệ chết cá chốt bông giai đoạn mới nở theo nhiệt độ cao (trái) và thấp (phải).



Hình 3. Phương trình hồi qui tuyến tính của tỷ lệ chết cá chốt bông giai đoạn 10 ngày tuổi theo nhiệt độ cao (trái) và thấp (phải).

phôi có hai thời kỳ nhạy cảm nhất với các yếu tố môi trường. Đó là thời kỳ phôi vị và thời kỳ phân đuôi tách khỏi noãn hoàng. Khi nhiệt độ 30 - 31°C tỉ lệ dị hình của phôi 60 - 70% và tỉ lệ phôi chết trước khi nở 50 - 60% (Nguyễn, 2005).

Theo Trương (2003), nhiệt độ thích hợp cho đa số các loài cá nuôi nước ngọt từ 25 - 32°C, giới hạn nhiệt độ cho phép là 10 - 40°C. Theo Fishbase (<https://www.fishbase.se/summary/11987>), cá chốt bông là loài cá sống ở vùng nhiệt đới,

thích hợp phát triển ở nhiệt độ từ 20-26⁰C.

Trong nghiên cứu này nhiệt độ cao gây chết (IULT) cá chốt bông giai đoạn 10 ngày tuổi (38,6⁰C) là cao hơn giai đoạn mới nở (36,7⁰C) và của giai đoạn mới nở là cao hơn giai đoạn phôi (32,5⁰C). Ngược lại, nhiệt độ thấp gây chết (ILLT) cá chốt bông giai đoạn 10 ngày tuổi (15,9⁰C) là thấp hơn giai đoạn mới nở (18,7⁰C) và của giai đoạn mới nở thấp hơn giai đoạn phôi (22,3⁰C). Điều này có thể kết luận rằng khả năng chịu đựng nhiệt độ bất lợi của cá chốt bông tăng dần theo sự phát triển và tuổi cá. Khi cơ thể cá ngày càng hoàn chỉnh thì chịu đựng điều kiện bất lợi của môi trường tốt hơn.

Nhìn chung, biên độ nhiệt độ gây chết cá chốt bông là hẹp hơn so với một số loài cá nuôi ở ĐBSCL. So với cá chép *Cyprinus carpio* và cá thác lác còm *Chitala chitala* thì nhiệt độ cao gây chết cá chốt bông thấp hơn nhưng nhiệt độ thấp gây chết cao hơn. Ngưỡng nhiệt độ cao và thấp của cá chép lần lượt là 41,1⁰C và 4,5 - 9,2⁰C (Nguyen, 2004) và của cá thác lác còm là 41 - 41,7⁰C và 10,1 - 11⁰C (La, 2012). Nhiệt độ cao gây chết cá chốt bông cũng thấp hơn cá tra *Pangasianodon hypophthalmus* (40,8⁰C) và cá basa *Pangasius bocourti* (40,3⁰C) nhưng nhiệt độ thấp gây chết là tương đương cá tra (16,7⁰C) ở giai đoạn giống (Duong, 2003). Sự khác biệt này có thể do sự khác nhau về phương pháp nghiên cứu cũng như khả năng chịu đựng của loài.

3.2. Ngưỡng pH của cá chốt bông

3.2.1. Giai đoạn phôi

- Ngưỡng pH cao gây chết (IULpH)

Phôi không chết ở các pH từ 7 - 9. Hiện tượng phôi chết xảy ra ở các nghiệm thức có giá trị pH từ 10 - 11; trong đó, tỷ lệ phôi chết tích lũy ở 24 giờ ở pH = 10 là 21,3% và tăng lên 52,3% ở pH = 11. Tỷ lệ phôi chết tích lũy ở 24 giờ ở pH = 10 và 11 là khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$) và cũng khác biệt so với tỷ lệ chết ở các pH khác.

Phương trình hồi qui tuyến tính của tỷ lệ phôi chết (y) theo pH cao (x) là $y = 58,627x - 55,455$ ($R^2 = 0,8911$). Như vậy, trong thí nghiệm này, pH cao gây chết (IULpH) cá chốt bông giai đoạn phôi được xác định là 10,7 (Hình 4).

- Ngưỡng pH thấp gây chết (ILLpH)

Phôi không chết ở pH = 7. Hiện tượng phôi chết xảy ra ở các nghiệm thức có giá trị pH từ

6 - 3. Tỷ lệ phôi chết tích lũy ở 24 giờ ở nghiệm thức pH = 6, 7 và 8 là tương đương nhau (20,3 - 21,3%), và tỷ lệ phôi chết là 100% sau 7 giờ thí nghiệm ở pH = 3. Tỷ lệ phôi chết tích lũy ở 24 giờ ở cá pH = 6, 7 và 8 là khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($P > 0,05$) nhưng khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$) so với tỷ lệ chết ở các pH khác.

Phương trình hồi qui tuyến tính của tỷ lệ phôi chết (y) theo pH thấp (x) là $y = - 19,099x + 17,252$ ($R^2 = 0,81$). Trong thí nghiệm này, pH thấp gây chết (ILLpH) cá chốt bông giai đoạn phôi được xác định là 4,4 (Hình 4).

3.2.2. Giai đoạn cá mới nở

- Ngưỡng pH cao gây chết (IULpH)

Kết quả cho thấy cá không chết ở các pH từ 7 - 9. Hiện tượng cá chết xảy ra ở các nghiệm thức có giá trị pH từ 10 - 11. Tỷ lệ cá chết tích lũy ở 24 giờ ở nghiệm thức pH = 10 là 38,0%, tăng lên 55,3% ở pH = 10,5; ở pH cao hơn (pH = 11), tỷ lệ cá chết là 100% sau 1 giờ thí nghiệm. Tỷ lệ cá chết tích lũy ở 24 giờ ở pH = 10 và 10,5 là khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$) và cũng khác biệt so với tỷ lệ chết ở các pH khác.

Phương trình hồi qui tuyến tính của tỷ lệ cá chết (y) theo pH cao (x) là $y = 93,58x - 89,337$ ($R^2 = 0,9617$). Như vậy trong thí nghiệm này, pH cao gây chết (IULpH) cá chốt bông giai đoạn mới nở được xác định là 10,2 (Hình 5).

- Ngưỡng pH thấp gây chết (ILLpH)

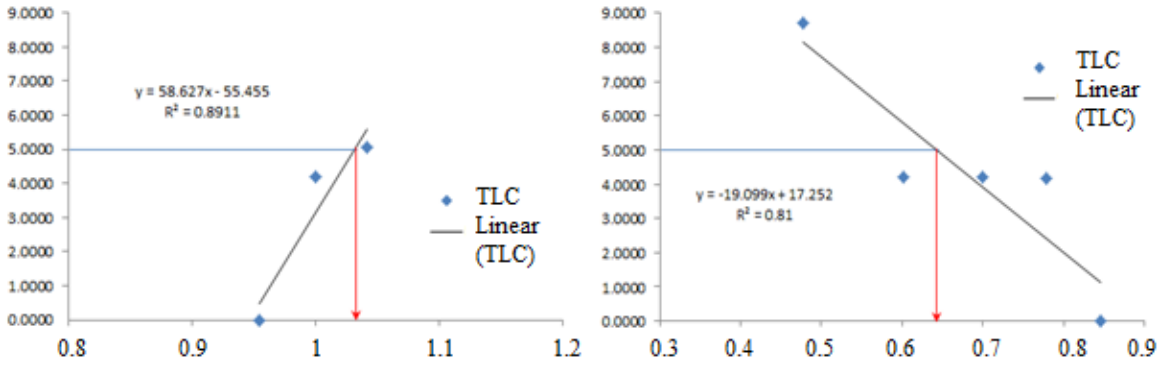
Tương tự, cá không chết ở các pH từ 7 - 5. Hiện tượng cá chết xảy ra ở các nghiệm thức có giá trị pH từ 4 - 3. Tỷ lệ cá chết tích lũy ở 24 giờ ở nghiệm thức pH = 4 là 31,6%, tăng lên 51,6% ở pH = 3,5; ở pH thấp hơn (pH = 3), tỷ lệ cá chết là 100% sau 2 giờ thí nghiệm. Tỷ lệ cá chết tích lũy ở 24 giờ ở pH = 4 và 3,5 là khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$) và cũng khác biệt so với tỷ lệ chết ở các pH khác.

Phương trình hồi qui tuyến tính của tỷ lệ cá chết (y) theo pH thấp (x) là $y = - 37,282x + 26,214$ ($R^2 = 0,9617$). Trong thí nghiệm này, pH thấp gây chết (ILLpH) cá chốt bông giai đoạn mới nở được xác định là 3,7 (Hình 5).

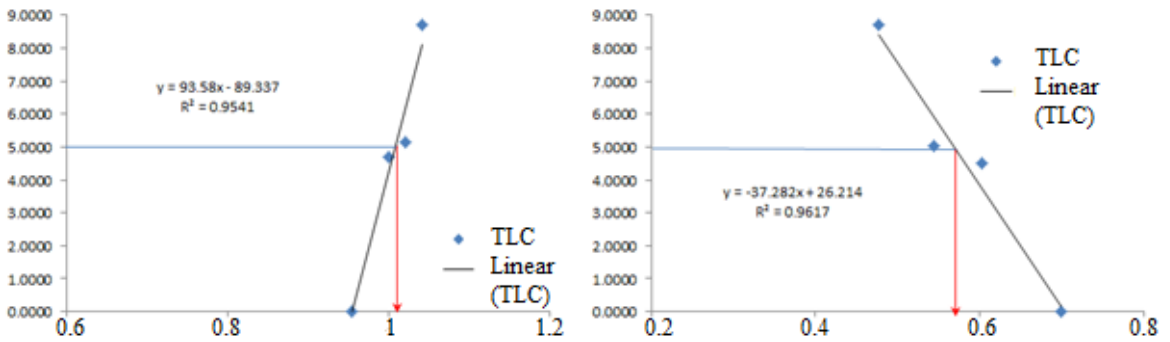
3.2.3. Giai đoạn cá 10 ngày tuổi

- Ngưỡng pH cao gây chết (IULpH)

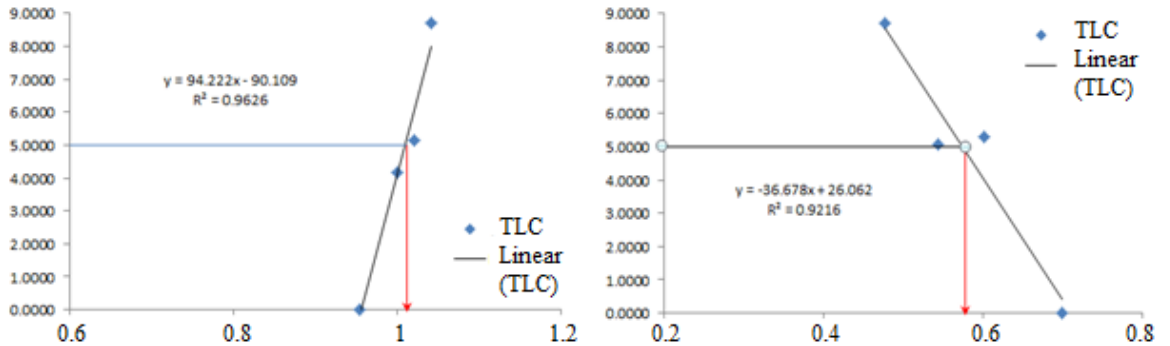
Tương tự thí nghiệm trên, cá không chết ở các pH từ 7 - 9. Hiện tượng cá chết xảy ra ở các



Hình 4. Phương trình hồi qui tuyến tính của tỷ lệ chết phôi cá chốt bông theo pH cao (trái) và thấp (phải).



Hình 5. Phương trình hồi qui tuyến tính của tỷ lệ chết cá chốt bông giai đoạn mới nở theo pH cao (trái) và thấp (phải).



Hình 6. Phương trình hồi qui tuyến tính của tỷ lệ chết cá chốt bông giai đoạn 10 ngày tuổi theo pH cao (trái) và thấp (phải).

thực nghiệm có giá trị pH từ 10 - 11. Tỷ lệ cá chốt tích lũy ở 24 giờ ở thực nghiệm pH = 10 là 20,0%, tăng lên 56,3% ở pH = 10,5 và tỷ lệ cá chốt là 100% sau 1 giờ thí nghiệm ở pH = 11. Tỷ lệ cá chốt tích lũy ở 24 giờ ở pH = 10 và 10,5 là khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$) và cũng

khác biệt so với tỷ lệ chết ở các pH khác.

Phương trình hồi qui tuyến tính của tỷ lệ cá chốt (y) theo pH cao (x) là $y = 94,222x - 90,109$ ($R^2 = 0,9626$). pH cao gây chết (IUL_{pH}) cá chốt bông giai đoạn 10 ngày tuổi được xác định là 10,2 (Hình 6).

Bảng 1. Ngưỡng oxy hòa tan (mg O₂/L) của cá chột bông ở các giai đoạn phát triển khác

Lần lặp lại	Giai đoạn phôi	Giai đoạn mới nở	Giai đoạn 10 ngày tuổi
1	4,8	0,9	1,2
2	4,3	1,0	0,8
3	5,2	1,3	1,0
Trung bình	4,7 ± 0,5	1,1 ± 0,2	1,0 ± 0,2

- Ngưỡng pH thấp gây chết (ILLpH)

Cá không chết ở các pH từ 7 - 5. Hiện tượng cá chết xảy ra ở các nghiệm thức có giá trị pH từ 4 - 3. Tỷ lệ cá chết tích lũy ở 24 giờ của nghiệm thức pH = 4 là 61,6% và của pH = 3,5 là 52,3%; tỷ lệ cá chết tích lũy của nghiệm thức pH = 3 là 100% sau 2 giờ thí nghiệm. Tỷ lệ cá chết tích lũy ở 24 giờ ở pH = 4 và 3,5 là khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$) và cũng khác biệt so với tỷ lệ chết ở các pH khác.

Phương trình hồi qui tuyến tính của tỷ lệ cá chết (y) theo pH thấp (x) là $y = -36,678x + 26,062$ ($R^2 = 0,9216$). pH thấp gây chết (ILLpH) cá chột bông giai đoạn 10 ngày tuổi được xác định là 3,8 (Hình 6).

Theo Trung (2003), pH là một trong những yếu tố môi trường ảnh hưởng rất lớn đến đời sống cá. pH có ảnh hưởng trực tiếp đến các giai đoạn phát triển ban đầu của cá. Đa số các loài cá có thể chịu đựng một giới hạn rộng của pH, từ 5-9. Trong nghiên cứu về ảnh hưởng của pH trên cá *Prochilodus lineatus*, Reynalte-Tataje & ctv. (2015) đã tìm thấy ở pH 5,0 toàn bộ trứng bị chết sau 4 giờ. Trứng được ấp ở pH từ 6,0 - 8,5 có tỉ lệ thụ tinh và tỉ lệ sống tương tự nhau nhưng ở pH 6,0 trứng có đường kính nhỏ hơn và ấu trùng cá có chiều dài ngắn hơn so với trứng được ấp ở môi trường trung tính hay kiềm. Trong giai đoạn ương nuôi ấu trùng, tỉ lệ sống của hậu ấu trùng cao nhất ở pH 7,0. Jellyman & Harding (2014) nghiên cứu trên 5 loài cá nước ngọt ở New Zealand tìm thấy tất cả các loài cá bị chết khi pH nước < 4 nhưng cá trưởng thành có thể sống ở pH 4,5 và cá trưởng thành chịu đựng pH thấp tốt hơn cá con.

Kết quả các thí nghiệm trên cho thấy pH cao gây chết (IULpH) cá chột bông giai đoạn 10 ngày tuổi (10,2) là bằng giai đoạn mới nở (10,2) và thấp hơn giai đoạn phôi (10,7). Ngược lại, pH thấp gây chết (ILLpH) cá chột bông giai đoạn 10 ngày tuổi (3,8) là tương đương giai đoạn mới nở (3,7) và thấp hơn giai đoạn phôi (4,4). Điều này có thể kết luận rằng khả năng chịu đựng pH bất

lợi của cá chột bông sau nở là kém hơn phôi đối với pH cao và tốt hơn đối với pH thấp.

Nhìn chung, pH cao gây chết phôi cá chột bông là thấp hơn so với phôi của cá rô đồng *Anabas testudineus* (pH = 11) và cá sặc rằn *Trichogaster pectoralis* (pH = 11,8) (Le, 2010). pH cao gây chết cá chột bông là tương đương với cá chép (9,5 - 10,8) (Nguyen, 2004), cá tai tượng *Osphronemus goramy* (9,5 - 11) (Trang, 2010). pH thấp gây chết cá chột bông là tương đương so với cá thát lát còm *Notopterus chitala* (3,5 - 4,5) (La, 2012), thấp hơn so với cá chép (4,2 - 4,5) (Nguyen, 2004) và cá tai tượng (4,0 - 4,5) (Trang, 2010), và cao hơn so với cá sặc rằn (2,4) (Le, 2010). Sự khác biệt này cũng có thể do sự khác nhau về phương pháp nghiên cứu cũng như khả năng chịu đựng của loài.

3.3. Ngưỡng oxy hòa tan (DO) của cá chột bông

Kết quả thí nghiệm xác định ngưỡng oxy ở các giai đoạn phát triển khác nhau của cá chột bông được trình bày ở Bảng 1.

Theo Nguyen (2005), hàm lượng oxy hòa tan trong nước thích hợp cho cá hoạt động sinh trưởng và phát triển, để đảm bảo cho phôi phát triển bình thường là 3-5 mg/L. Trong hầu hết trường hợp, hàm lượng oxy hòa tan trong nước thấp hơn 2 mg/L thì phôi sẽ chết ngạt. Giai đoạn còn nhỏ, cá con có ngưỡng oxy cao, cao nhất đó là giai đoạn phôi tự do và cá bột (Pham & Nguyen, 2009).

Ngưỡng oxy của cá chột bông là thấp hơn rất nhiều so với của phôi. Ngưỡng oxy của cá chột bông cao hơn so với cá chép (0,22 - 0,11 mg O₂/L), cá trắm cỏ *Ctenopharyngodon idella* (0,49 - 0,22 mg O₂/L), cá mè trắng *Hypophthalmichthys harmandi* (0,89 - 0,55 mg O₂/L) và cá trôi *Labeo rohita* (0,97 - 0,66 mg O₂/L) (Nguyen, 2004; Tran, 2007).

4. Kết Luận và Kiến Nghị

4.1. Kết luận

Ngưỡng nhiệt độ cao và thấp của phôi là 32,5⁰C và 22,3⁰C; cá mới nở là 36,7⁰C và 18,7⁰C; cá 10 ngày tuổi là 38,6⁰C và 15,9⁰C. Ngưỡng pH cao và thấp ở giai đoạn phôi là 10,7 và 4,4; cá mới nở là 10,2 và 3,7 cá 10 ngày tuổi là 10,2 và 3,8. Ngưỡng oxy của cá chột bông giai đoạn phôi, cá mới nở và cá 10 ngày tuổi lần lượt là 4,7; 1,1; 1,0 mg O₂/L.

4.2. Kiến Nghị

Cần nghiên cứu ảnh hưởng của nhiệt độ, pH và oxy hòa tan đến quá trình thành thực sinh dục và sinh sản của cá chột bông.

Cần tiến hành thêm các nghiên cứu để xác định các ngưỡng của các yếu tố môi trường khác của cá chột bông như độ mặn, ammonia, nitrite,...

Tài Liệu Tham Khảo (References)

- Beitinger, T. L., Bennett, W. A., & McCauley, R. W. (2000). Temperature tolerances of North American freshwater fishes exposed to dynamic changes in temperature. *Environmental Biology of Fishes* 58, 237-275.
- Duong, Y. T. (2003). *Study on some morphological, growth and physiological characteristics of basa (Pangasius bocourti), tra (Pangasius hypophthalmus) and their hybrid.* (Unpublished master's thesis). Can Tho University, Can Tho, Vietnam.
- Jellyman, P. G., & Harding, J. S. (2014). Variable survival across low pH gradients in freshwater fish species. *Journal of Fish Biology* 85, 1746-1752.
- La, N. A. (2012). Study on some biological characteristics of knife fish (*Chitala chitala*) at embryonic, larval and fingerling stages. Can Tho University Journal of Science 21b, 62-67.
- Le, K. P. (2010). *Effects of salinity and pH on the growth of embryo and larvae of climbing perch.* (Unpublished master's thesis). Can Tho University, Can Tho, Vietnam.
- Linder, R. S. (2000a). The catfishes of Asia family bagridae. (Part one). Cat Chat 1. Retrieved April 1, 2019, from https://www.planetcatfish.com/shanesworld/shanesworld.php?article_id=185.
- Linder, R. S. (2000b). The catfishes of Asia family bagridae. (Part one). Cat Chat 1. Retrieved April 1, 2019, from https://www.planetcatfish.com/shanesworld/shanesworld.php?article_id=186.
- Nguyen, K. V. (2004). *Some morphological, ecological, biochemical and genetic characteristics of three common carp strains (yellow, white and Hungary) in Mekong river delta.* (Unpublished doctoral dissertation). Nha Trang Fisheries University, Nha Trang, Vietnam.
- Nguyen, K. V. (2005). *Textbook on fish seed production.* Can Tho University, Can Tho, Vietnam.
- Nguyen, T. V. (2005). *Lecture on physiology of fish and crustacean.* Nong Lam University, Ho Chi Minh City, Vietnam.
- Pham T. M., & Nguyen K. V. (2009). *Scientific basis and technique of fish seed production.* Ho Chi Minh City, Vietnam: Agricultural Publishing House.
- Reynalte-Tataje, D. A., Baldisserotto, B., & Zaniboni-Filho, E. (2015). The effect of water pH on the incubation and larviculture of curimatá *Prochilodus lineatus* (Valenciennes, 1837) (Characiformes: Prochilodontidae). *Neotropical Ichthyology* 13(1), 179-186.
- Tran, V. V. (2007). *Textbook on Fisheries.* Ha Noi, Vietnam: University of Education Publishing House.
- Trang, P. V. (2010). *Study on effects of salinity on growth and osmotic regulation of snake-skin gouramy (Trichogaster pectoralis Regan, 1910).* (Unpublished master's thesis). Can Tho University, Can Tho, Vietnam.
- Truong, P. Q. (2003). *Water quality management of freshwater fish pond.* Ho Chi Minh City, Vietnam: Agricultural Publishing House.
- Vo, B. T. T. (2015). *Study on some biological characteristics of Asian bumblebee catfish (Pseudomystus siamensis Regan, 1913).* Report of scientific research. Nong Lam University, Ho Chi Minh City, Vietnam.
- Wokoma, K., & Marioghae, I. E. (1996). Survival of *Tilapia guineensis* under conditions of low dissolved oxygen and low pH. In Pullin, R. S. V., Lazard, J., Legendre, M., Amon Kothlas, J. B., & Pauly, D. (Eds.). *ICLARM Conferenc 41: The Third International Symposium on Tilapia in Aquaculture* (442-448). Makati City, Philippines.

Genetic characteristics in four farmed tilapia (*Oreochromis niloticus*) populations evaluated by microsatellite markers

Ha T. T. Tran^{1*}, Trang T. Vu¹, Nam P. Nguyen², Giang T. H. Luu¹,
Nhat H. Pham¹, & Diep H. Nguyen¹

¹Research Institute for Aquaculture No. 1, Bac Ninh, Vietnam

²Faculty of Biotechnology, Vietnam National University of Agriculture, Ha Noi, Vietnam

ARTICLE INFO

Research Paper

Received: May 16, 2019

Revised: October 03, 2019

Accepted: October 07, 2019

Keywords

Genetic diversity

Microsatellite

Nile tilapia

*Corresponding author

Trần Thị Thúy Hà

Email: thuyha@rial.org

ABSTRACT

In this study, genetic characteristics of four tilapia strains including NOVIT4, 13th GIFT generation, China and Philippine were investigated by analysis the genotype at 6 microsatellite loci. It was found that all loci showed high polymorphism with 51 identified alleles, in which GM139 and UNH995 loci were the highest polymorphism with the appearance of 14 and 11 alleles, respectively. Deficiency of expected heterozygosity occurred in all tilapia strains, the H_o value of which was lower than the H_e one. Besides, 17/24 loci was significantly different from the Hardy-Weinberg principle ($P < 0,05$). The F_{st} ranging from 0.012 to 0.025 indicated that the genetic difference among populations was small. However, the analysis of molecular variance (AMOVA) showed that the genetic diversity at the molecular level among individuals within the same population and among individuals were high, corresponding to 36.69% and 61%, respectively. The findings of this study are useful in term of giving the genetic information of four Nile tilapia strains for the selective breeding program.

Cited as: Tran, H. T. T., Vu, T. T., Nguyen, N. P., Luu, G. T. H., Pham, N. H., & Nguyen, D. H. (2019). Genetic characteristics in four farmed tilapia (*Oreochromis niloticus*) populations evaluated by microsatellite markers. *The Journal of Agriculture and Development* 18(5), 52-61.

Đặc điểm di truyền một số quần đàn cá rô phi vằn (*Oreochromis niloticus*) qua phân tích chỉ thị microsatellite

Trần Thị Thúy Hà^{1*}, Vũ Thị Trang¹, Nguyễn Phương Nam², Lưu Thị Hà Giang¹,
Phạm Hồng Nhật¹ & Nguyễn Hồng Điệp¹

¹Viện Nghiên Cứu Nuôi Trồng Thủy Sản I, Bắc Ninh

²Khoa Công Nghệ Sinh Học, Học Viện Nông Nghiệp Việt Nam, Hà Nội

THÔNG TIN BÀI BÁO

Bài báo khoa học

Ngày nhận: 16/05/2019

Ngày chỉnh sửa: 03/10/2019

Ngày chấp nhận: 07/10/2019

Từ khóa

Cá rô phi vằn
Đa dạng di truyền
Microsatellite

*Tác giả liên hệ

Trần Thị Thúy Hà
Email: thuyha@rial.org

TÓM TẮT

Đặc điểm di truyền của cá rô phi vằn các dòng NOVIT4, GIFT thể hệ thứ 13, Trung Quốc và Philippine đã được tìm hiểu trong nghiên cứu này qua phân tích kiểu gen tại 06 vị trí microsatellite. Tất cả các vị trí nghiên cứu đều thể hiện tính đa hình cao với 51 alen được xác định, trong đó locus GM139 và UNH995 có tính đa hình alen cao nhất với sự xuất hiện tương ứng 14 và 11 alen. Hiện tượng thiếu hụt dị hợp tử mong đợi xuất hiện ở các dòng cá rô phi nghiên cứu với giá trị Ho thấp hơn He. Di truyền của 17/24 vị trí microsatellite ở bốn dòng cá sai khác có ý nghĩa so với định luật Hardy-Weinberg ($P < 0,05$). Giá trị Fst dao động từ 0,012 đến 0,025 thể hiện sự sai khác di truyền nhỏ giữa các dòng nghiên cứu. Tuy nhiên, kết quả phân tích biến đổi phân tử (AMOVA) thể hiện đa dạng di truyền ở mức độ phân tử giữa các cá thể trong cùng một dòng và giữa các cá thể với nhau là cao, lần lượt đạt 36,69% và 61%. Kết quả nghiên cứu này cung cấp các thông tin di truyền của các dòng cá rô phi vằn phục vụ các nghiên cứu về lựa chọn các quần đàn cá bố mẹ thích hợp khi đưa vào chương trình chọn giống tiếp theo.

1. Đặt Vấn Đề

Cá rô phi là đối tượng thủy sản nước ngọt quan trọng trên thế giới và ở Việt Nam. Chọn giống cá rô phi đã thực hiện từ rất sớm, như chọn giống cá rô phi sinh trưởng nhanh, chịu lạnh, và màu sắc. Thông thường, trước khi thực hiện chương trình chọn giống, tìm hiểu đặc điểm di truyền của các quần đàn ban đầu là cần thiết và sẽ góp phần phục vụ công tác lai tạo có hiệu quả.

Cho đến nay, đã có không ít nghiên cứu sử dụng chỉ thị microsatellite trong đánh giá đa dạng di truyền trên cá rô phi. Hassanien & Gilbey (2005) nghiên cứu đa dạng di truyền của 5 quần đàn cá rô phi vằn (*Oreochromis niloticus*) qua phân tích kiểu gen của 6 chỉ thị microsatellite. Kết quả cho thấy các chỉ thị này rất hữu hiệu trong đánh giá đa dạng và ứng dụng trong chọn lọc các tính trạng chọn giống mong muốn. Bên cạnh đó, Boris & ctv. (2011) đã sử dụng 5 microsatellite (UNH106, UNH222, UNH172, UNH123 và UNH216) nghiên

cứu đặc điểm di truyền của cá rô phi đen (*O. mossambicus*) và đã chọn lọc được các đàn cá vật liệu ban đầu cho chọn giống.

Ở Việt Nam, việc phân tích đa dạng di truyền sử dụng chỉ thị microsatellite đã được thực hiện trên một số đàn cá rô phi. Nghiên cứu sử dụng 04 chỉ thị microsatellite đánh giá 16 tổ hợp lại từ 4 dòng cá rô phi vằn (dòng Thái Lan, Đài Loan, Israel và dòng cá chọn giống NOVIT-4), đã lựa chọn 5/16 tổ hợp lại để hình thành vật liệu ban đầu phục vụ chọn giống cá rô phi (Tran & ctv., 2013). Bên cạnh đó, Nguyen & ctv. (2014) đã sử dụng ba dòng cá rô phi GIFT, Đài Loan và NOVIT4 làm vật liệu ban đầu để chọn giống cá có khả năng chịu mặn (15 - 20 ppt). Sau bốn thế hệ chọn lọc, giá trị chọn giống cho tính trạng trọng lượng tăng dao động từ 1,1 - 1,6.

Trong các nghiên cứu trên, chỉ thị phân tử microsatellite được sử dụng nhiều do có tính ưu việt (Liu & Cordes, 2004). Microsatellite có tính đa hình rất cao, là marker đồng trội và tuân theo

định luật Mendel. Vì vậy, hiệu quả và độ chính xác của những phép tính di truyền quần thể dựa trên chỉ thị này so với một số chỉ thị phân tử khác được tăng lên. Vị trí của microsatellite có thể dễ dàng xác định bằng PCR từ một lượng DNA rất nhỏ. Ở cá, một microsatellite được tìm thấy trên mỗi 1,87 kb của DNA. Bên cạnh đó, với số lần lặp lớn (≥ 10), trình tự lặp lại thường đơn giản (2 - 4 nucleotide), microsatellite đã và đang được sử dụng nhiều trong nuôi trồng thủy sản (Deepak & ctv., 2017).

Nghiên cứu này đánh giá đa dạng di truyền 4 dòng cá rô phi vằn dựa trên 6 chỉ thị microsatellite theo các nghiên cứu của Hassanien & Gilbey (2005) và Boris & ctv. (2011). Kết quả nghiên cứu sẽ là cơ sở cho việc hình thành quần đàn ban đầu phục vụ công tác chọn giống.

2. Vật Liệu và Phương Pháp Nghiên Cứu

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Mẫu cá rô phi vằn được thu từ 4 quần đàn cá rô phi có nguồn gốc khác nhau, đang được nuôi giữ tại Trung tâm chọn giống cá rô phi Quảng Nam, thuộc Viện Nghiên cứu Nuôi trồng Thủy sản I (Viện NCNT Thủy sản I), bao gồm: Cá rô phi vằn dòng NOVIT-4 thế hệ thứ 12; Cá rô phi vằn chọn giống dòng GIFT thế hệ thứ 13; Cá rô phi vằn chọn giống sinh trưởng nhanh dòng Trung Quốc và dòng Philippine.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Thu mẫu

Mẫu vây ngực được thu từ 4 quần đàn cá rô phi (30 cá thể/quần đàn), bảo quản trong cồn 98% và vận chuyển về phòng thí nghiệm Sinh học phân tử, Trung tâm Công nghệ sinh học Thủy sản, Viện Nghiên cứu Nuôi Trồng Thủy Sản I. Mẫu được giữ ở 4°C cho đến khi phân tích.

2.2.2. Tách chiết DNA

DNA tổng số được tách chiết theo phương pháp của Sambrook & Russell (2001). DNA tổng số được kiểm tra định tính bằng cách điện di trên thạch agarose 0,8% trong dung dịch đệm TBE 1×, dưới hiệu điện thế 120 V, 60 mA, 30 phút. Nồng độ và độ tinh sạch của DNA tổng số được xác định bằng máy Nanodrop 2000C. Lượng DNA mỗi lần đo là 1 μ L. DNA được coi là sạch protein

và RNA nếu có các chỉ số như sau: $OD_{260/280} = 1,8 - 2,0$; $OD_{260/230} = 1,8 - 2,2$.

2.2.3. Tối ưu phản ứng PCR

Lựa chọn chỉ thị microsatellite: Trong nghiên cứu này, chúng tôi lựa chọn 6 chỉ thị microsatellite: UNH136, UNH104, UNH203, UNH103, UNH995, GM139 (Bảng 1). Các chỉ thị được lựa chọn dựa vào kết quả của các nghiên cứu trước đây, tính đa hình của các chỉ thị và không có sự sai khác với quy luật di truyền Hardy-Weinberg.

Tối ưu phản ứng PCR: Phản ứng PCR được tối ưu dựa vào quy trình của bộ kit 2× Master mix (Thermo Scientific). Thành phần phản ứng trong thể tích 25 μ L gồm: 1 μ L (50 - 100 ng) DNA khuôn; 5 μ L PCR Master; 1 μ L mỗi 10× mỗi loại và 17 μ L dd H₂O khử trùng. Phản ứng được tiến hành trên máy PCR Mastercycler proS (Eppendorf) với các điều kiện của phản ứng như sau: biến tính sợi khuôn ở 94°C trong 5 phút; 35 chu kỳ (94°C trong 30 giây, Ta (°C) trong 45 giây, 72°C trong 1 phút); 72°C trong 10 phút và giữ ở 4°C. Tuy nhiên, các điều kiện trên sẽ được điều chỉnh tối ưu để phù hợp với nhiệt độ gắn mỗi của từng môi cụ thể phụ thuộc vào đặc tính của môi và được trích dẫn ở Bảng 1.

2.2.4. Phản ứng phân tích đoạn

Phân tích đoạn được thực hiện trên hệ thống phân tích di truyền đa năng GenomeLab GeXP (Beckman Coulter). Sản phẩm PCR được pha loãng theo tỷ lệ 1 μ L sản phẩm PCR với 3 μ L nước tinh khiết. Chuẩn bị dung dịch hỗn hợp cho 8 mẫu phân tích đoạn bao gồm: 240 μ L SLS (Solution Loading Sample) và 2 μ L Size Standard 600, trộn đều. Sau đó lấy 29 μ L dung dịch hỗn hợp vào mỗi giếng trên đĩa mẫu. Thêm 1 μ l sản phẩm PCR đã được pha loãng vào mỗi giếng, trộn đều. Thêm 1 giọt dầu lên trên mỗi giếng chứa mẫu.

2.2.5. Phân tích số liệu

Mẫu sau khi chạy xong được ghi nhận alen bằng phần mềm GeneMarker V.2.2.0. Các thông số di truyền (tần số alen, số alen ở mỗi vị trí microsatellite, Ho, He, Fis và HWE test) được phân tích bằng phần mềm GenAlex 6.5 (Peakall & Smouse, 2006). Mức độ đa hình của các locus microsatellite (PIC) được tính dựa trên Website online: PIC calculator. Nghiên cứu biến dị di

Bảng 1. Chỉ thị microsatellite sử dụng đánh giá đa dạng di truyền cá rô phi vằn

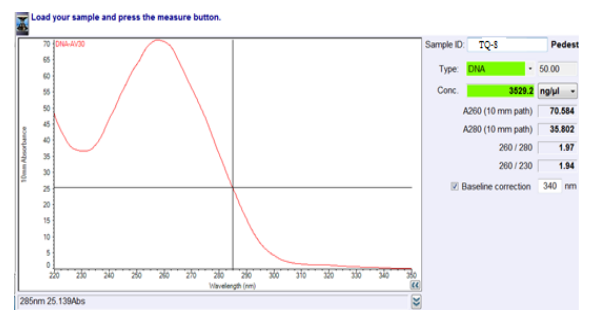
Môi	Trình tự motif (5'-3')	Kiểu lặp	Ta (°C)	Kích thước dự kiến (bp)	Số hiệu GenBank	Tác giả
UNH136	F: TGTGAGAATTCACATATCACTA R: TACTCCAGTGACTCCTGA	(CA) _n	44,8	173	G12288.1	Ukenye & ctv., 2016
UNH104	F: GCAGTTATTTGTGGTCACTA R: GGTATATGTCTAACTGAAATCC	(CA) _n	43,7	138 - 189	G12257.1	Cnaani & Kocher, 2008
UNH203	F: CACAAAGATGTCTAAACATGT R: GAATTTGACAGTTTGTGTTTAC	(CA) _n	43,4	103	G12354.1	Fessehaye & ctv., 2006
UNH995	F: CCAGCCCTTCGCATAAAGAC R: GAATTTGACAGTTTGTGTTTAC	(CA) _n	52,6	137 - 236	G68274.1	Carleton & ctv., 2002
GM139	F: GTGGGATCTACCAAGAAGAG R: TTTGAGTAACCCACTAACAC	(GT) _n	48,2	155 - 267	BV005327.1	Cnaani & Kocher, 200
UNH103	F: CAATGTCCATCCTTCCT R: CTGTCTGACTGCATAATGTAA	(CA) _n	45,8	171 - 260	G12256.1	Lee & ctv., 2005

truyền qua chỉ số FST và khoảng cách di truyền của các quần đàn được kiểm định bằng phân tích AMOVA trên phần mềm Arlequin 3.1 (Excoffier & ctv., 1992).

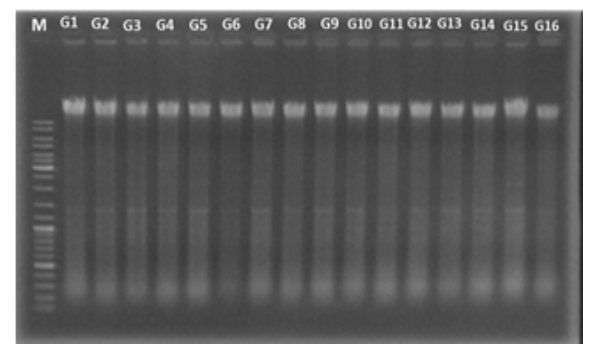
3. Kết Quả và Thảo Luận

3.1. Kết quả DNA tổng số

Kết quả kiểm tra định lượng DNA (Hình 1) cho thấy các mẫu DNA tổng số có nồng độ dao động trong khoảng 60 ng/μL đến 3.108 ng/μL. Nồng độ DNA khác nhau là do chất lượng và lượng mẫu đầu vào khác nhau. Tỷ lệ OD260/280 và OD260/230 của tất cả các mẫu đều dao động trong khoảng cho phép là 1,8 đến 2,2; chứng tỏ DNA không lẫn tạp protein và RNA. Kết quả điện di (Hình 2) đều cho các băng DNA sáng rõ, đảm bảo tốt cho phản ứng khuếch đại DNA (PCR).



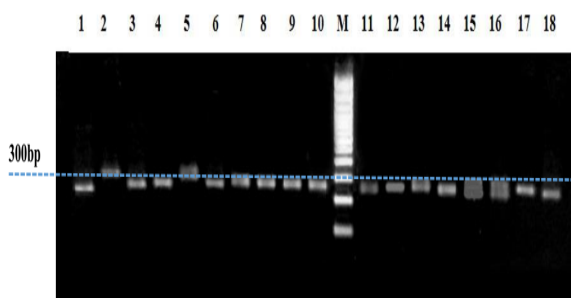
Hình 1. Kết quả định lượng và kiểm tra độ tinh sạch của DNA tổng số mẫu TQ-5 (Trung Quốc-5).



Hình 2. Kết quả điện di DNA tổng số mẫu cá rô phi dòng GIFT trên gel agarose 0,8%. M: ladder 1kb, G1 đến G16 là DNA tổng số của cá rô phi dòng GIFT mẫu số 1 đến mẫu số 16.

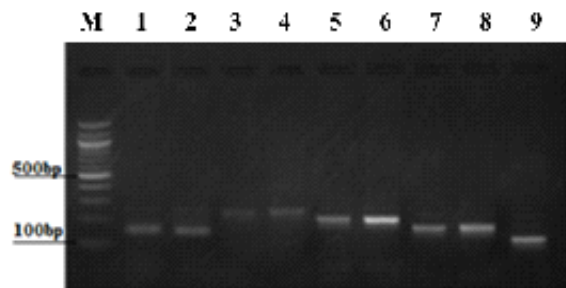
3.2. Tối ưu phản ứng PCR

Kết quả tối ưu PCR cho thấy 6 mỗi cho băng vạch sáng, rõ nét và không có sản phẩm phụ. Sản phẩm PCR có kích thước nằm trong khoảng 100-300 bp và phù hợp với kích thước dự kiến trong các nghiên cứu trước đây của Kocher & ctv. (1998); Pham & Quyên (2008); Nguyen & Luu (2013). Theo đó sản phẩm PCR mỗi GM139 và các mỗi UNH104, UNH103, UNH995, UNH136, UNH203 kích thước nằm trong khoảng như được trình bày ở Bảng 1 và minh họa ở Hình 3 và 4.



Hình 3. Hình ảnh điện di sản phẩm PCR khuếch đại bằng chỉ thị GM139 trên gel agarose 2%.

Giếng 1-10: sản phẩm PCR dòng GIFT; Giếng 11 - 18: sản phẩm PCR dòng Trung Quốc; M: ladder 100 bp



Hình 4. Kết quả điện di sản phẩm PCR với mỗi huỳnh quang trên gel agarose 2%.

Giếng M: ladder 100 bp; Giếng 1,2: sản phẩm PCR mỗi UNH 104; Giếng 3,4: sản phẩm PCR mỗi UNH 103; Giếng 5,6: sản phẩm PCR mỗi UNH 995; Giếng 7,8: sản phẩm PCR mỗi UNH 136; Giếng 9: sản phẩm PCR mỗi UNH 203.

3.3. Kết quả phân tích đoạn trên hệ thống GenomeLab GeXP

Nghiên cứu đã xác định được kích thước các alen của từng vị trí microsatellite mẫu phân tích

và được biểu thị bằng hình ảnh tín hiệu đồ. Hình ảnh tín hiệu đồ rõ nét và không nhiễu. Đối với các cá thể đồng hợp sẽ quan sát được duy nhất 1 đỉnh tín hiệu đồ. Ngược lại, với các cá thể dị hợp sẽ quan sát được 2 đỉnh của tín hiệu đồ riêng rẽ tương ứng với 2 alen tách biệt (Hình 5).

3.4. Đa dạng di truyền của các quần đàn cá rô phi vằn

3.4.1. Đa hình các locus microsatellite (SSR)

- Tần số alen và độ đa dạng của alen

Kết quả 6 locus microsatellite (Bảng 2) trong nghiên cứu đều thể hiện tính đa hình cao với tổng cộng 51 alen được xác định, kích thước dao động từ 100 - 300 bp. Trong đó, 2 locus GM139 và UNH995 có tính đa hình alen cao nhất với sự xuất hiện tương ứng 14 alen và 11 alen; ít nhất là 3 alen tại locus UNH136. Nhìn chung, số lượng alen của từng locus SSR là nhiều hơn so với các nghiên cứu trước đây trên cá rô phi ở trong nước. Cụ thể, số alen tại locus UNH104 trong nghiên cứu của Pham & Quyên (2008) là 3 alen, trong nghiên cứu của Nguyen & Luu (2013) là 4 alen trên cá rô phi vằn.

Bên cạnh các alen xuất hiện với tần số cao, có một số alen hiếm, xuất hiện với tần số thấp. Cụ thể, tại locus UNH995, alen 172; alen 160 và alen 186 chỉ xuất hiện tương ứng ở quần đàn NOVIT-4, Trung Quốc và Philippin. Sự khác biệt này có thể do trong các chương trình chọn giống; như chọn giống sinh trưởng, chịu lạnh trên dòng NOVIT-4; chọn giống sinh trưởng nhanh trên dòng Philippin và Trung Quốc đã xuất hiện những alen mới khác biệt với các quần đàn chọn giống ban đầu thể hiện sự thích nghi với điều kiện môi trường. Bên cạnh đó, có thể do quá trình đột biến, tái tổ hợp, trôi dạt di truyền và chọn lọc tự nhiên. Với tần số xuất hiện rất thấp trong quần đàn, các alen này có thể dễ dàng mất đi nếu không có sự lai tạo để duy trì hoặc cũng có thể tạo ưu thế lai cho thế hệ sau nếu tiếp tục chọn lọc. Sự xuất hiện của các alen có tần số thấp ở tất cả các locus phân tích cũng xuất hiện trong nghiên cứu của Bui & ctv. (2011).

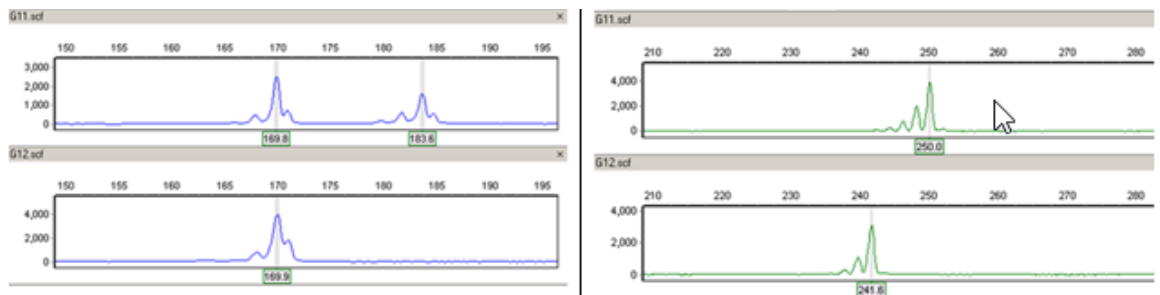
- Mức độ đa hình của mỗi locus, PIC

Chỉ số PIC thường được sử dụng trong di truyền học như một thước đo tính đa hình của các chỉ thị (Shete & ctv., 2000). Theo Botstein & ctv. (1980), PIC là chỉ số về mức độ biến đổi di truyền; PIC > 0,5 được coi là có mức độ đa hình cao; 0,25

Bảng 2. Đặc điểm đa dạng di truyền của 4 quần đàn cá rô phi vằn

Quần đàn	Locus	N	N _a	N _e	H _o	H _e	PIC	F _{is}	HWE test
GIFT	UNH136	28	1	1,000	0,000	0,000	0	0,000	ns
	UNH104	29	7	3,468	0,310	0,712	0,666	0,565	***
	UNH203	28	5	3,516	0,500	0,716	0,675	0,302	*
	UNH103	30	8	6,593	0,933	0,848	0,830	-0,100	*
	UNH995	24	8	3,972	0,792	0,748	0,715	-0,059	*
	GM139	26	10	6,288	0,846	0,841	0,819	-0,006	ns
Trung bình ± SE		27,50 ± 0,89	6,5 ± 0,13	4,14 ± 0,84	0,56 ± 0,15	0,64 ± 0,13	0,62 ± 0,31	0,117	
Trung Quốc	UNH136	29	3	1,190	0,172	0,160	0,151	-0,075	ns
	UNH104	29	6	3,649	0,483	0,726	0,684	0,335	**
	UNH203	29	5	3,602	0,483	0,722	0,682	0,331	*
	UNH103	24	7	6,295	0,708	0,841	0,821	0,158	***
	UNH995	24	8	3,918	0,583	0,745	0,708	0,217	ns
	GM139	25	9	4,941	0,520	0,798	0,775	0,348	ns
Trung bình ± SE		26,67 ± 1,05	6,33 ± 0,88	3,93 ± 0,69	0,49 ± 0,07	0,67 ± 0,10	0,64 ± 0,24	0,219	
Philippin	UNH136	28	2	1,036	0,036	0,035	0,034	-0,029	ns
	UNH104	30	6	3,333	0,367	0,700	0,663	0,476	***
	UNH203	30	6	4,787	0,667	0,791	0,760	0,157	ns
	UNH103	25	9	7,143	0,560	0,860	0,844	0,349	***
	UNH995	27	6	4,326	0,889	0,769	0,735	-0,156	ns
	GM139	26	11	5,956	0,731	0,832	0,789	0,121	ns
Trung bình ± SE		27,67 ± 0,84	6,67 ± 1,26	4,43 ± 0,87	0,54 ± 0,12	0,67 ± 0,13	0,64 ± 0,33	0,153	
NOVIT4	UNH136	28	2	1,036	0,036	0,035	0,034	-0,029	ns
	UNH104	30	9	4,891	0,467	0,796	0,769	0,413	**
	UNH203	28	7	5,244	0,429	0,809	0,783	0,470	**
	UNH103	26	8	5,302	0,731	0,811	0,782	0,099	*
	UNH995	28	9	4,962	0,821	0,798	0,773	-0,029	ns
	GM139	30	9	5,325	0,767	0,812	0,794	0,055	ns
Trung bình ± SE		28,33 ± 0,62	7,33 ± 1,12	4,46 ± 0,69	0,54 ± 0,12	0,68 ± 0,13	0,66 ± 0,30	0,163	

N: số mẫu nghiên cứu; N_a: số alen trên locus; N_e: số alen hiệu quả; H_o: dị hợp tử quan sát; H_e: dị hợp tử mong đợi; PIC: mức độ đa hình; F_{is}: Hệ số cận huyết; *Sai khác có ý nghĩa so với định luật Hardy - Weinberg (P < 0,05). **Sai khác có ý nghĩa so với định luật Hardy - Weinberg (P < 0,01). ***Sai khác có ý nghĩa so với định luật Hardy - Weinberg (P < 0,001). ns: Sai khác không có ý nghĩa so với định luật Hardy - Weinberg.



Hình 5. Kết quả phân tích đoạn locus UNH995 (trái) và locus GM139 (phải) trên hai mẫu cá rô phi dòng GIFT (G11 và G12)

$< PIC < 0,5$ là có mức độ đa hình trung bình; và $PIC < 0,25$ là mức độ đa hình nhỏ. Trong nghiên cứu này, chỉ số PIC dao động trong khoảng 0,6 - 0,8; trung bình là 0,68; 5 locus có mức độ đa hình cao và chỉ duy nhất locus UNH136 có mức độ đa hình nhỏ (dao động từ 0 - 0,1); có thể do locus này có mức độ đa dạng alen thấp (chỉ có một đến ba alen trong quần đàn). Do đó, 5 locus UNH103, UNH104, UNH203, UNH995 và GM139 phù hợp để sử dụng trong đánh giá đặc điểm đa dạng di truyền quần thể và xác định sự khác biệt về di truyền. Sun & ctv. (2015) đã nghiên cứu trên tổng số 120 chỉ thị SSRs, phát hiện 18 locus có tính đa hình cao (giá trị PIC trung bình là 0,5) được chọn để thử nghiệm tương quan với khả năng sinh trưởng ở một loài cá biển (Mandarin fish). Trong nghiên cứu đánh giá đa dạng các quần đàn cá rô phi tại tỉnh Quảng Châu, Trung Quốc đã sử dụng 10 locus microsatellite, trong đó 8 locus microsatellite có mức độ đa hình locus cao và 02 locus có mức độ đa hình locus vừa phải và cả 10 locus này đều được chọn để đánh giá đa dạng di truyền các quần đàn rô phi, trong đó có locus UNH995 (Gu & ctv., 2014).

3.4.2. Đa dạng di truyền của quần thể

- Tính dị hợp tử

Bảng 2 cho thấy, tất cả các locus ở 4 dòng cá rô phi đều có sự thiếu hụt dị hợp tử mong đợi, giá trị dị hợp tử quan sát (H_o) thấp hơn giá trị dị hợp tử mong đợi (H_e). Cụ thể, giá trị H_o trung bình của dòng GIFT, Trung Quốc, Philippine và NOVIT-4 lần lượt là 0,56; 0,49; 0,54; 0,54 tương ứng với giá trị H_e trung bình là 0,64; 0,67; 0,67; 0,68. Sự thiếu hụt dị hợp tử thường xuyên được đề cập trong các nghiên cứu trên đối tượng thủy sản qua phân tích kiểu gen bằng chỉ thị microsatellite (Launey &

ctv., 2001). Điều này có thể giải thích do giao phối cận huyết trong các chương trình chọn giống, nên xuất hiện các alen lặn. Sự xuất hiện của các alen “câm” hay lỗi trong phản ứng khuếch đại cũng có thể là nguyên nhân (Cruz & ctv., 2004). Các giá trị H_o và H_e trong nghiên cứu này tương đương so với nghiên cứu của Pham & Quyên (2008) khi xem xét sự biến đổi di truyền của các quần đàn cá rô phi vằn dòng GIFT, Đài Loan và Viện 1 sử dụng 4 cặp mồi UNH216; UNH104; UNH124 và IGF - MS03 (giá trị H_o , H_e dao động tương ứng 0,64 - 0,69; 0,56 - 0,83).

- Hệ số cận huyết

Lai cận huyết là việc sinh ra con từ việc lai tạo của các cá thể hoặc sinh vật có quan hệ gần gũi về mặt di truyền. Hệ số cận huyết (Fis) là xác suất để hai alen ở bất kỳ locus nào giống hệt nhau do có nguồn gốc từ một tổ tiên chung. Giá trị Fis dao động từ 0 đến 1. Fis bằng 0 có nghĩa quần thể đang ở trạng thái cân bằng Hardy-Weinberg hay nói cách khác là quần thể không có giao phối hay lai cận huyết. $Fis < 0$ trong trường hợp có quá nhiều dị hợp tử quan sát được (H_o) (Wright, 1950; Kincaid, 1983). Trong nghiên cứu này, giá trị Fis trung bình từ 6 locus của 4 dòng cá rô phi nhìn chung là thấp, có nghĩa là mức độ cận huyết thấp. Các giá trị Fis lần lượt là 0.117 (dòng GIFT); 0.153 (dòng Philippin); 0.163 (dòng NOVIT4) và 0.219 (dòng Trung Quốc) (Bảng 3).

- Cân bằng Hardy-Weinberg (HW)

Di truyền của 17/24 microsatellite trên các dòng cá nghiên cứu sai khác có ý nghĩa so với định luật cân bằng HW ($P < 0,05$) (Bảng 2). Trong đó, di truyền của 3 locus UNH995 và GM139 và UNH136 đều lệch khỏi cân bằng HW ở cả bốn dòng cá nghiên cứu. Sự cân bằng HW trong quần đàn có ý nghĩa rất quan trọng trong xác định

Bảng 3. Hệ số sai khác di truyền (F_{ST}) giữa các dòng cá rô phi vằn

GIFT	Trung Quốc	Philippine	NOVIT 4	
0,000				GIFT
0,025	0,000			Trung Quốc
0,018	0,012	0,000		Philippine
0,016	0,018	0,016	0,000	NOVIT 4

Bảng 4. Kết quả phân tích phương sai phân tử (AMOVA) của các quần đàn nghiên cứu dựa trên dữ liệu của 6 locus microsatellite

Nguồn biến động	Độ tự do	Tổng bình phương	Thành phần biến động	Phần trăm biến động
Giữa các quần đàn	3	6,042	0,01704 V^a	2,31
Giữa các cá thể trong một quần đàn	116	115,00	0,27069 V_b	36,69
Giữa các cá thể	120	54,000	0,45000 V_c	61,00
Tổng	239	175,042	0,73773	

tần số alen lặn, tần số của các “thể mang” và trong đánh giá di truyền thế hệ sau của quần đàn. Theo Nei (1978), lạc dòng di truyền, giao phối cận huyết, cách ly địa lý có thể là một trong những nguyên nhân dẫn đến không cân bằng di truyền của một quần đàn. Trong nghiên cứu này, locus UNH136 có mức độ đa hình các alen thấp, mức độ dị hợp tử thấp có thể là nguyên nhân làm mất cân bằng HW. Ở 2 locus UNH995 và GM 139 đều xuất hiện những alen có tần số rất thấp. Những alen này có thể dễ dàng mất đi nếu không có cách thức duy trì và quản lý tốt. Việc lai tạo giữa các dòng cá rô phi có nguồn gốc khác nhau là một giải pháp hữu hiệu giúp duy trì đa dạng alen và có thể phục hồi một phần sự đa dạng di truyền mất đi cũng như hạn chế mức độ cận huyết như đề xuất của Freitas & ctv. (2007) và Zou & ctv. (2015). Tình trạng mất cân bằng HW của các dòng cá rô phi chọn giống cũng được đề cập trong nghiên cứu của Bui & ctv. (2011) trên cá rô phi đỏ, với tất cả các dòng trên tất cả các locus nghiên cứu đều lệch khỏi định luật HW.

- Quan hệ di truyền và hệ số sai khác di truyền (F_{ST})

Sự khác biệt về di truyền các quần thể thường được đánh giá dựa trên khoảng cách di truyền giữa chúng (Nei, 1987; Laval & Claude, 2002) và hệ số sai khác di truyền F_{ST} của Wright (1969). Theo Nei (1972) nếu giá trị $F_{ST} < 0,05$ được cho là sai khác di truyền nhỏ; $0,05 < F_{ST} < 0,15$ được cho là sai khác di truyền trung bình và $F_{ST} > 0,15$ được cho là sai khác di truyền rõ rệt.

Bảng 3 cho thấy giá trị F_{ST} dao động từ 0,012 đến 0,025; không có sự sai khác di truyền lớn

giữa các quần đàn nghiên cứu. Quần đàn Trung Quốc và Philippin có quan hệ di truyền gần gũi hơn so với các quần đàn còn lại. Kết quả báo cáo của Bui & ctv. (2011) sử dụng 6 microsatellite (OM02; OM05; UNH216; UNH231; UNH159; UNH172) cũng cho thấy giá trị F_{ST} không có sự khác biệt di truyền có ý nghĩa giữa bốn dòng cá rô phi trong nghiên cứu. Theo Freitas & Galetti (2005) và Refstie & Gjedrem (2005) nhân giống dựa vào kiểu hình và giao phối cận huyết đã góp phần thúc đẩy đáng kể tạo nên sự tương đồng di truyền giữa các quần thể.

AMOVA là một phương pháp để phát hiện mức độ khác biệt di truyền giữa các quần thể khác nhau sử dụng các chỉ thị phân tử (Excoffier & ctv., 1992). Kết quả phân tích AMOVA (Bảng 4) cho thấy, đa dạng di truyền mức độ phân tử cao giữa các cá thể trong cùng một quần đàn (36,69%) và giữa các cá thể với nhau (61,00%). Mức độ đa dạng giữa 4 quần thể cá rô phi vằn tương đối thấp (2,31%). Điều này cho thấy không có cấu trúc quần thể rõ ràng ở 4 quần đàn nghiên cứu và hầu như không có sự biến đổi di truyền trên các locus được khảo sát. Kết quả của nghiên cứu này tương đồng với kết quả của Eguia & ctv. (2004) và Boris & ctv. (2011) trên quần thể cá rô phi vằn và cá rô phi đỏ chọn giống có khác biệt di truyền thấp.

Qua đánh giá mức độ khác biệt di truyền giữa các quần thể và các cá thể, việc lai chéo giữa các cá thể khác nhau trong cùng hoặc khác quần thể là một giải pháp tối ưu nâng cao đa dạng di truyền và hạn chế tác động tiêu cực của cận huyết cũng như nâng cao ưu thế lai, những đặc tính tốt (sinh trưởng, chịu lạnh) của các dòng cá rô phi

vẫn trong nghiên cứu.

4. Kết Luận

Trong nghiên cứu này 5 locus (UNH103, UNH104, UNH203, UNH995 và GM139) có tính đa hình cao với tổng số alen là 7-14 alen, mức độ đa hình các locus cao (chỉ số PIC trung bình là 0,6). Một số alen hiếm xuất hiện tần số thấp ở dòng cá NOVIT-4, Trung Quốc và Philippin. Sự sai khác di truyền của 4 quần đàn cá rô phi không rõ rệt, hệ số sai khác di truyền nhỏ. Bốn dòng cá rô phi đều có sự thiếu hụt dị hợp tử ở tất cả các locus do giá trị dị hợp tử quan sát (Ho) nhỏ hơn giá trị dị hợp tử mong đợi (He). Kết quả phân tích AMOVA thể hiện đa dạng di truyền ở mức độ phân tử giữa các cá thể trong cùng một quần đàn và giữa các cá thể với nhau là cao. Như vậy, 4 quần đàn cá rô phi vẫn sử dụng trong nghiên cứu này đều có tính đa dạng di truyền ở mức độ trung bình và chênh lệch không đáng kể. Kết quả này là cơ sở khoa học về di truyền phục vụ các nghiên cứu về chọn dòng cá bố mẹ thích hợp trong chương trình chọn giống.

Lời Cám Ơn

Nghiên cứu này được thực hiện dưới sự hỗ trợ kinh phí từ đề tài cấp Bộ “Nghiên cứu chọn giống nâng cao tốc độ tăng trưởng của cá rô phi vân *Oreochromis niloticus*” – Bộ Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn. Nhóm tác giả xin chân thành cảm ơn Trung tâm chọn giống cá rô phi Quảng Nam đã hỗ trợ thu mẫu cá để chúng tôi hoàn thành nghiên cứu này.

Tài Liệu Tham Khảo (References)

- Boris, B. R., Xenia, C. O., & Marcela, S. V. (2011). Genetic diversity of six populations of red hybrid tilapia, using microsatellites genetic markers. *Revista MVZ Córdoba* 16(2), 2491-2498.
- Botstein, D., White, R. L., Skolnick, M., & Davis, R. W. (1980). Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. *American Journal of Human Genetics* 32(3), 314-331.
- Bui, T. L. H., Le, C., Nguyen, D., & Trinh, Q. T. (2011). Genetic diversity of Red Tilapia (*Oreochromis* spp) by microsatellite. *Collection of 35 years of Research Institute for Aquaculture No.2*. Ha Noi, Vietnam: Agricultural Publishing House.
- Carleton, K. L., Streelman, J. T., Lee, B. Y., Garnhart, N., Kidd, M., & Kocher, T. D. (2002). Rapid isolation of CA microsatellites from the tilapia genome. *Animal Genetics* 33(2), 140-144.
- Cnaani, A., & Kocher, T. D. (2008). Sex-linked markers and microsatellite locus duplication in the cichlid species *Oreochromis tanganyicae*. *Biology letters* 4(6), 700-703.
- Cruz, A. M., Mills, K., Rodriguez, F., Schoua, C., Yurrita, M. M., Molina, E., Palmieri, M., & Black, W. C. (2004). Gene flow among *Anopheles albimanus* populations in Central America, South America, and the Caribbean assessed by microsatellites and mitochondrial DNA. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 71(3), 350-359.
- Deepak, J., Ram, R. N., & Pushpa. (2017). Microsatellite markers and their application in fisheries International *Journal of Advances in Agricultural Science and Technology* 4 (10), 67-104.
- Eguia, M. R., Ikeda, M., U Basiao, Z., & Taniguchi, N. (2004). Genetic diversity in farmed Asian Nile and red hybrid tilapia stocks evaluated fro microsatellite and mitochondrial DNA analysis. *Aquaculture* 236(1),131-150.
- Excoffier, L. E., Smouse, P., & Quattro, J. (1992). Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: Application to human mitochondrial DNA restriction Data. *Genetics* 131(2), 479-491.
- Fessehaye, Y., Elbially, Z., Rezk, M. A., Crooijmans, R. P., Bovenhuis, H., & Komen, H. (2006). Mating systems and male reproductive success in Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) in breeding hapas: A microsatellite analysis. *Aquaculture* 256(1),148-158.
- Freitas, P. D., & Galetti, P. M. (2005). Assessment of the genetic diversity in five generations of a commercial broodstock line of *Litopenaeus vannamei* shrimp. *African Journal of Biotechnology* 4, 1362-1367.
- Freitas, P. D., Calgaro, M. R., & Galetti Jr, P. M. (2007). Genetic diversity within and between broodstocks of the white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) (Decapoda, Penaeidae) and its implication for the gene pool conservation. *Brazilian Journal of Biology* 67(4), 939-943.
- Gu, D., Mu, X., Song, H., Luo, D., Xu, M., Luo, J., & Hu, Y. C. (2014). Genetic diversity of invasive *Oreochromis* spp. (tilapia) populations in Guangdong province of China using microsatellite markers. *Biochemical Systematics and Ecology* 55, 198-204.
- Hassanien, H. A., & Gilbey, J. (2005). Genetic diversity and differentiation of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) revealed by DNA microsatellites. *Aquaculture Research* 36(14), 1450-1457.
- Kincaid, H. L. (1983). Inbreeding in fish populations used for aquaculture. *Aquaculture* 33(1), 215-227.
- Kocher, T. D., Lee, W. J., Sobolewska, H., Penman, D., & McAndrew, B. (1998). A genetic linkage map of a cichlid fish, the tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Genetics* 148(3), 1225-1232.

- Launey, S., Barre, M., Gerard, A., & Naciri-Graven, Y. (2001). Population bottleneck and effective size in *Bonamia ostrea*-resistant populations of *Ostrea edulis* as inferred by microsatellite markers. *Genet Res* 78(3), 259-270.
- Laval, G., & Claude, C. (2002). Measuring genetic distances between breeds: Use of some distances in various short term evolution models. *Genetics Selection Evolution* 34(4), 481-507.
- Lee, B. Y., Lee, W. J., Streelman, J. T., Carleton, K. L., Howe, A. E., Hulata, G., Slettan, A., Stern, J. E., Terai, Y., & Kocher, T. D. (2005). A second-generation genetic linkage map of tilapia (*Oreochromis* spp.). *Genetics* 170(1), 237-244.
- Liu, Z. J., & Cordes, J. F. (2004). DNA marker technologies and their applications in aquaculture genetics. *Aquaculture* 238(1), 1-37.
- Nei, M. (1987). *Molecular Evolutionary Genetics*. New York, USA: Columbia University Press.
- Nei, M. (1978). Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetic* 89(3), 585-590.
- Nei, M. (1972). Genetic distance between population. *American Naturalist* 106, 283-292.
- Nguyen, H. N., & Luu, T. H. G. (2013). Genetic study of microsatellite markers on hybrid tilapia producing all male fish. *Journal of Agriculture and Rural Development* 2, 71-76.
- Nguyen, H. N., Ngo, P. T., Knibb, W., & Nguyen, H. N. (2014). Selection for enhanced growth performance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) in brackish water (15-20ppt) in Vietnam. *Aquaculture* 428-429, 1-6.
- Peakall, R. & Smouse P. E. (2006). GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Molecular Ecology Notes* 6(1), 288-295.
- Pham, T. A., & Quyen, T. D. (2008). Comparison of microsatellite polymorphism on Prl-1 promoter gene and growth in tilapia (*Oreochromis niloticus*) cultured in salt water. *Journal of Science and Development* VI(4), 348-352.
- Refstie, T., & Gjedrem, T. (2005) Reproductive traits in aquatic animals. In: Gjedrem T. (Ed.) *Selection and breeding programs in aquaculture*. Dordrecht, Netherlands: Springer.
- Sambrook, J., & Russell, D. (2001). *Molecular cloning: A laboratory manual*. New York, USA: Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- Shete, S., Tiwari, H., & Elston, R. C. (2000). On estimating the heterozygosity and polymorphism information content value. *Theoretical Population Biology* 57(3), 265-271.
- Sun, L., Li, J., Liang, X., Yi, T., Fang, L., Sun, J., & Yang, M. (2015). Microsatellite DNA markers and their correlation with growth traits in mandarin fish (*Siniperca chuatsi*). *Genetics and Molecular Research* 14(4), 19128-19135.
- Tran, H. T. T., Vu, T. T., Nguyen, T. H., & Nguyen, H. N. (2013). Assessment of genetic characteristics for tilapia combinations (*Oreochromis niloticus*) by microsatellite markers. National Biotechnology Conference (854-858). Ha Noi, Vietnam.
- Ukenye, E. A., Taiwo, I. A., Oguntade, O. R., Oketoki, T. O., & Usman, A. B. (2016). Molecular characterization and genetic diversity assessment of Tilapia guineensis from some coastal rivers in Nigeria. *African Journal of Biotechnology* 15(1), 20-28.
- Wright, S. (1969). Evolution and the genetics of populations, volume 2: The theory of gene frequencies. University of Chicago Press.
- Wright, S. (1950). Genetic structure of populations. *British Medical Journal* 2(4669), 36-36.
- Zou, Z., Li, D., Zhu, J., Han, J., Xiao, W., Yang, H. (2015). Genetic variation among four bred populations of two tilapia strains, based on mitochondrial D-loop sequences. *Mitochondrial DNA* 26(3), 426-430.

Cloning, expressing and purification of recombinant C-terminal PMT of *Pasteurella multocida*

Hung K. Vu^{1*}, Thinh T. Nguyen¹, Hang T. T. Trinh¹, Thuy T.T. Nguyen¹,
Giang T. T. Nguyen¹, Anh T. T. Do², & Truong X. Nguyen¹

¹Institute of Veterinary Research and Development of Central Vietnam, Khanh Hoa, Vietnam

²Biotechnology and Environment Institute, Nha Trang University, Khanh Hoa, Vietnam

ARTICLE INFO

Research Paper

Received: March 19, 2019

Revised: September 10, 2019

Accepted: October 15, 2019

Keywords

Escherichia coli BL21

Pasteurella multocida

PMT

tPMT-C780

*Corresponding author

Vũ Khắc Hùng

Email: vukhac68@hotmail.com

ABSTRACT

Pasteurella multocida strains produce heat-stable toxin Pasteurella Multocida Toxin (PMT) which is the main virulence factor causing pasteurellosis in pigs. Therefore, PMT protein is considered as a promising candidate to study recombinant vaccine against pasteurellosis in pigs. In this study, we cloned the nucleotide sequence coding C-terminal fragment of PMT (tPMT-780), from acid amine 506 to acid amine 1285, into pRSET-A vector and expressed it on *Escherichia coli* BL21 bacteria. The SDS-PAGE result showed that tPMT-C780 was well-expressed by IPTG 1mM induction and determined to be insoluble protein, therefore it was purified by denaturation method using Ni-NTA beads. The protein elution samples contained only one protein band similar with the size of tPMT-C780 and positively reacted with PMT-specific antibody. These results suggested that we were successful in expressing and purifying C-terminal protein of PMT toxin, tPMT-C780. This is the primary material for further studies to produce recombinant vaccine against pasteurellosis in pigs.

Cited as: Vu, H. K., Nguyen, T. T., Trinh, H. T. T., Nguyen, T. T. T., Nguyen, G. T. T., Do, A. T. T., & Nguyen, T. X. (2019). Cloning, expressing and purification of recombinant C-terminal PMT of *Pasteurella multocida*. *The Journal of Agriculture and Development* 18(5), 62-69.

Tạo dòng, biểu hiện và tinh sạch protein tái tổ hợp tPMT-C780 của *Pasteurella multocida*

Vũ Khắc Hùng^{1*}, Nguyễn Thị Thịnh¹, Trịnh Thị Thu Hằng¹, Nguyễn Thị Thu Thủy¹,
Nguyễn Thị Thu Giang¹, Đỗ Thị Trung Anh² & Nguyễn Xuân Trường¹

¹Phân Viện Thú Y Miền Trung, Khánh Hòa

²Viện Công Nghệ Sinh Học và Môi Trường, Trường Đại Học Nha Trang, Khánh Hòa

THÔNG TIN BÀI BÁO

Bài báo khoa học

Ngày nhận: 19/03/2019

Ngày chỉnh sửa: 10/09/2019

Ngày chấp nhận: 15/10/2019

Từ khóa

Escherichia coli BL21

Pasteurella multocida

PMT

tPMT-C780

*Tác giả liên hệ

Vũ Khắc Hùng

Email: vukhac68@hotmail.com

TÓM TẮT

Chúng độc lực *Pasteurella multocida* tiết ra nội độc tố chịu nhiệt Pasteurella Multocida Toxin (PMT), là yếu tố độc lực chủ yếu gây bệnh tụ huyết trùng trên lợn. Vì vậy, độc tố PMT là một yếu tố tiềm năng cho các nghiên cứu chế tạo vắc xin tái tổ hợp phòng bệnh tụ huyết trùng lợn. Trong nghiên cứu này, chúng tôi đã tiến hành tạo dòng, biểu hiện đoạn protein đầu C của PMT (tPMT-C780) (từ amino axit 506 đến 1285 của PMT) trên vi khuẩn *Escherichia coli* BL21 bằng vector biểu hiện là plasmid pRSET-A. Kết quả SDS-PAGE cho thấy protein tái tổ hợp tPMT-C780 biểu hiện mạnh khi cảm ứng với IPTG 1 mM, và được xác định là protein không tan nên đã được tinh sạch theo phương pháp biến tính qua cột Ni-NTA. Dịch protein thu được sau khi tinh sạch chỉ chứa một vạch protein có kích thích tương đương với tPMT-C780 và cho phản ứng dương tính với kháng thể đặc hiệu PMT, chứng tỏ chúng tôi đã biểu hiện và tinh sạch thành công protein đầu C của độc tố PMT. Đây là nguồn nguyên liệu ban đầu cho các nghiên cứu tiếp theo để chế tạo vắc xin tái tổ hợp phòng bệnh tụ huyết trùng lợn do vi khuẩn *Pasteurella multocida* gây ra.

1. Đặt Vấn Đề

Bệnh tụ huyết trùng trên lợn do một loại vi khuẩn đa hình thái tên gọi là *Pasteurella multocida* gây ra. Bình thường chúng phát triển tốt trong chất nhầy có trên màng nhầy của mũi, amidal chứ không phải sống trên các biểu mô của mũi. Đây là một bệnh rất nguy hiểm đối với lợn, đặc biệt ở những cơ sở chăn nuôi tập trung công nghiệp bởi sự thiệt hại to lớn về kinh tế do bệnh gây nên (Le, 2015). Ngoài ra, tụ huyết trùng còn là một trong những bệnh thứ phát của hội chứng rối loạn hô hấp – sinh sản (tai xanh), làm cho bệnh ngày càng nghiêm trọng, và là nguyên nhân chính dẫn đến tỷ lệ chết cao. Ở Việt Nam, bệnh tụ huyết trùng là một trong những nguyên nhân chính gây chết lợn tại các ổ dịch tai xanh. Vi khuẩn *P. multocida* gây bệnh trên lợn thường thuộc nhóm A, B và D (Phan, 2000).

Trước đây, bệnh tụ huyết trùng lợn xảy ra

mạnh ở các tỉnh phía Nam và xảy ra lẻ tẻ ở các tỉnh phía Bắc. Trong những năm 70, có 80% số ổ dịch và 84% số thiệt hại gia súc do bệnh tụ huyết trùng thuộc các tỉnh phía Nam. Trong những năm 90, có 20 - 25 tỉnh thông báo có bệnh tụ huyết trùng lưu hành tại địa phương. Trong các năm từ 1996 - 1998 trên cả nước đã xảy ra 620 ổ dịch tụ huyết trùng lợn với 145.337 con mắc bệnh (Cao, 2002; Bui, 1998). Những năm gần đây, nhờ áp dụng tốt công tác phòng bệnh cũng như sử dụng vắc xin phòng bệnh hiệu quả, mặc dù không bùng phát thành dịch lớn, song hàng năm các ổ dịch tụ huyết trùng vẫn xảy ra và để lại hậu quả không nhỏ cho người chăn nuôi (Hoang, 2004; Nguyen, 2010).

Hiện nay, trên thị trường đang sử dụng hai loại vắc xin phòng bệnh tụ huyết trùng đó là vắc xin vô hoạt (vắc xin chết) và vắc xin sống nhược độc (vắc xin sống). Tuy nhiên, những loại vắc xin này có một số hạn chế nhất định như: vắc xin vô hoạt

có độ dài miễn dịch ngắn, vắc xin sống nhược độc có thể biến đổi trở lại thành cường độc (Qureshi & Saxena, 2014). Việc sử dụng công nghệ tái tổ hợp để phát triển vắc xin có thể sớm cách mạng hóa các loại vắc xin hiện tại. Kháng nguyên tái tổ hợp có thể được tổng hợp từ các hệ thống biểu hiện khác nhau sau khi kháng nguyên đích được xác định. Nhiều nghiên cứu sử dụng protein tái tổ hợp làm vắc xin tiểu phân đã khẳng định vắc xin đạt các chỉ tiêu an toàn và hiệu lực (Hussaini & ctv., 2012). Do đó công nghệ tái tổ hợp trở lên đầy hứa hẹn và có thể được sử dụng để phát triển các loại vắc xin hiệu quả giúp bảo vệ chống lại hầu hết các chủng *P. multocida*. Để tạo nguồn nguyên liệu ban đầu cho việc chế tạo vắc xin tái tổ hợp phòng bệnh tụ huyết trùng do vi khuẩn *P. multocida* gây ra trên lợn, chúng tôi đã tiến hành tạo dòng, biểu hiện và tinh sạch protein tái tổ hợp tPMT-C780 trên vi khuẩn *E. coli* BL21.

2. Vật Liệu và Phương Pháp Nghiên Cứu

2.1. Vật liệu

Chủng vi sinh vật: Chủng vi khuẩn *P. multocida* phân lập được từ các mẫu bệnh phẩm của lợn mắc bệnh tụ huyết trùng mang gen mã hóa độc tố PMT, được sử dụng làm nguồn để nhân lên trình tự nucleotide mã hóa protein tPMT-C780.

Chủng biến nạp: *E. coli* DH5 α dùng để biến nạp trong tạo dòng, lưu giữ plasmid tái tổ hợp, *E. coli* BL21(DE3) dùng trong biểu hiện protein.

Vector: Vector pGEMT (Promega, Mỹ) là vector có hai đầu hở mang nucleotide T, được sử dụng để tạo dòng gen sau khi khuếch đại bằng phản ứng PCR. Vector pRSET-A (V35120, Thermo Fisher Scientific). Vector biểu hiện này mang gen kháng ampicillin, có trình tự T7 promoter, cảm ứng sinh tổng hợp protein bằng Isopropyl β -D-1-thiogalactopyranoside (IPTG) và có trình tự mã hóa cho đuôi dung hợp -6xHistidine (His). Đuôi dung hợp -6xHis giúp tăng biểu hiện của protein mục tiêu và giúp tinh chế protein bằng hạt Ni-NTA.

Môi phản ứng PCR: Các môi cho phản ứng PCR sử dụng trong nghiên cứu này được tổng hợp bởi công ty First Base (Singapore). Các cặp môi được gắn thêm trình tự cắt đặc hiệu của 2 enzyme *Bam*HI và *Sac*I ở đầu 5'. Trình tự các cặp môi như sau:

tPMT-780F: GATGGATCCGCAGAAATTA
CTGACG

tPMT-780R: GCGGAGCTCTAGTGCCTTTG
TTAAG

T7 promoter: TAATACGACTCACTATAGGG

2.2. Tạo dòng plasmid pRSET-A/tPMT-C780

DNA tổng số của vi khuẩn *P. multocida* mang gen mã hóa độc tố PMT được tách chiết bằng bộ kit Wizard Genomic DNA Purification (Qiagen) để làm khuôn cho phản ứng PCR nhân gen mã hóa protein tPMT-C780. Phản ứng PCR sử dụng cặp môi tPMT-780F, tPMT-780R với chu trình nhiệt: 95 $^{\circ}$ C/3 phút, 35 chu kỳ của 95 $^{\circ}$ C/30 giây, 60 $^{\circ}$ C/30 giây, 72 $^{\circ}$ C/60 giây, sau đó xử lý 72 $^{\circ}$ C/10 phút và giữ ở 4 $^{\circ}$ C. Sản phẩm PCR sau đó được nối với pGEMT và biến nạp vào *E. coli* DH5 α . Sau khi kiểm tra trình tự, đoạn tPMT-780 được cắt khỏi vector pGEMT bằng enzyme *Bam*HI (New England Biolabs, #R0136S) và *Sac*I (New England Biolabs, #R0138S). Vector pRSET-A cũng được cắt với enzyme *Bam*HI và *Sac*I. Đoạn tPMT-780 sau khi tinh sạch được nối với vector pRSET-A. Plasmid tạo thành được biến nạp vào *E. coli* DH5 α . Những khuẩn lạc tạo thành sau đó được sàng lọc bằng phản ứng colony PCR bằng môi T7 promoter và tPMT-780R với chu trình nhiệt: 95 $^{\circ}$ C/3 phút, 40 chu kỳ của 95 $^{\circ}$ C/30 giây, 60 $^{\circ}$ C/30 giây, 72 $^{\circ}$ C/60 giây, sau đó xử lý 72 $^{\circ}$ C/10 phút và giữ ở 4 $^{\circ}$ C.

Sau khi sàng lọc, những khuẩn lạc mang plasmid pRSET-A/ tPMT-780 được nuôi cấy, tách chiết plasmid bằng bộ kit QIAprep Spin Miniprep Kit (QIAGEN, Cat. No. 27149) và kiểm tra đoạn cài bằng cách cắt lại với enzyme giới hạn *Bam*HI và *Sac*I đã sử dụng trước đó.

2.3. Biểu hiện protein tPMT-C780 trong *E. coli* BL21(DE3)

Plasmid pRSET-A/tPMT-780 được biến nạp vào dòng *E. coli* BL21(DE3) để biểu hiện protein. Các khuẩn lạc được sàng lọc trên môi trường LB có bổ sung 100 μ g/mL ampicillin. Các khuẩn lạc được kiểm tra lại bằng phản ứng colony PCR bằng môi T7 promoter và tPMT-780R với chu trình nhiệt: 95 $^{\circ}$ C/3 phút, 40 chu kỳ của 95 $^{\circ}$ C/30 giây, 60 $^{\circ}$ C/30 giây, 72 $^{\circ}$ C/60 giây, sau đó xử lý 72 $^{\circ}$ C/10 phút và giữ ở 4 $^{\circ}$ C.

Khuẩn lạc mang plasmid pRSET-A/tPMT-780 được nuôi lắc 200 vòng/phút trong 200 mL môi trường LB có bổ sung 100 μ g/mL ampicilin và cảm ứng IPTG 1 mM, ethanol 1 - 3% tại OD₆₀₀

= 0,7, thời gian cảm ứng 18 giờ, nhiệt độ nuôi 28^oC.

2.4. Kiểm tra tính tan và tinh sạch protein

Để kiểm tra tính tan của protein được biểu hiện, chúng tôi tiến hành phá tế bào trong dung dịch đệm phosphate buffer saline (PBS), lysozyme 1 mg/mL, chứa và không chứa urea 6 M. Sau đó, tế bào được xử lý bằng sóng siêu âm tần số 20 KHz, trong 10 phút (rung 10 giây, nghỉ 10 giây). Dung dịch sau đó được ly tâm 13000 vòng/phút, 15 phút, dịch và cặn được thu lại để kiểm tra trên gel SDS-PAGE.

Protein sau đó được tinh sạch bằng phương pháp sắc ký ái lực sử dụng hạt Ni-NTA (Promega). Protein bám trên hạt Ni-NTA sau đó được rửa và thu lại bằng dung dịch Imidazole 250 mM.

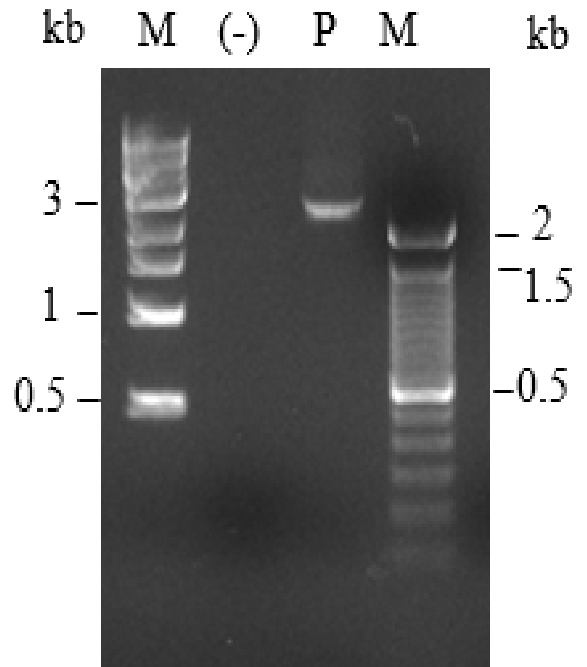
2.5. Phản ứng Western blot

Dịch protein thu được sau khi tinh sạch được chạy phân tách trên gel SDS-acrylamide 10%, sau đó được chuyển sang màng nitrocellulose bằng hệ thống máy chuyển màng ECL semi-dry blotters (AmershamTM) tại điện thế 25 V trong 1 giờ. Màng chứa protein sau khi được ủ trong dung dịch sữa skimmilk 5% trong 1 giờ tại nhiệt độ phòng sẽ được ủ lắ với dung dịch chứa kháng thể sơ cấp đặc hiệu của PMT với tỷ lệ pha loãng là 1: 5000 (Anti-Pasteurella multocida Toxin antibody, rabbit polyclonal, BioAcademia 01-507) tại 4^oC qua đêm. Sau khi rửa 3 lần với dung dịch rửa TPBS (PBS, Tween 20 0,1%), màng được ủ lắ với dung dịch chứa kháng thể thứ cấp (horseradish peroxidase secondary rabbit antibody, AmershamTM) với tỷ lệ pha loãng 1:10.000 tại nhiệt độ phòng. Sau 1 giờ, màng được rửa 5 lần với dung dịch rửa và ngâm vào dung dịch thuốc nhuộm 3, 3', 5'-Tetramethylbenzidine (TMB) để đọc kết quả.

3. Kết Quả và Thảo Luận

3.1. Kết quả tạo dòng pRSET-A/tPMT-780

Để biểu hiện được protein đầu C của PMT, trước hết chúng tôi phải có được trình tự gen mã hóa cho trình tự protein này. Gen tPMT-780 được thiết kế mã hóa cho trình tự amino axit từ 506 đến 1285 của PMT protein. Gen này được nhân lên bằng phản ứng PCR từ DNA tổng số của vi

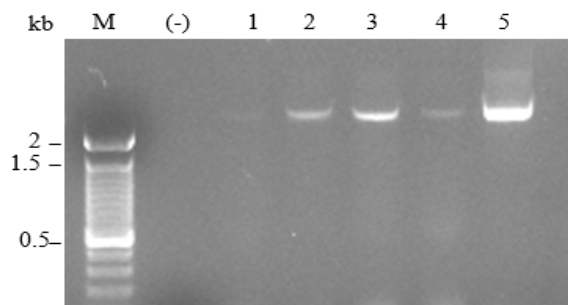


Hình 1. Kết quả PCR nhân gen tPMT-C780 từ DNA tổng số của vi khuẩn *P. multocida* NCTC12178 (A). M: thang chuẩn DNA; (-): đối chứng âm, P: sản phẩm PCR gen tPMT-C780.

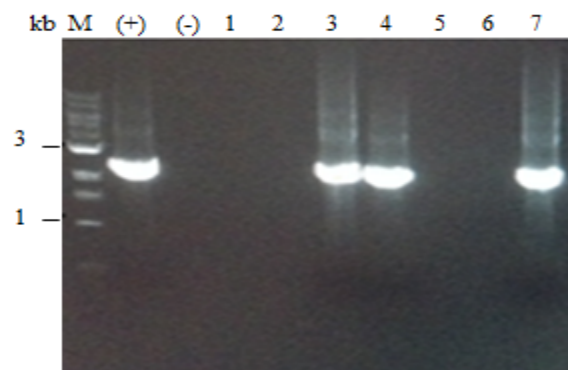
khẩn *P. multocida* đã được xác định mang gen mã hóa độc tố PMT. Kết quả hình 1 cho thấy, chúng tôi đã nhân lên được trình tự gen có kích thước tương đương kích thước của tPMT-C780 là 2337bp. Như vậy, có thể chúng tôi đã khuếch đại thành công đoạn gen tPMT-C780 (Hình 1).

Sản phẩm PCR thu được sau đó được lai tạo dòng với vector pGEMT. Kết quả kiểm tra plasmid pGEMT/tPMT-780 bằng cặp mồi tPMT-C780F/PMT-C780R (Hình 2) cho thấy, chúng tôi thu được nhiều khuẩn lạc cho kết quả dương tính với gen tPMT-C780. Các khuẩn lạc này được tách chiết thu plasmid và gửi giải trình tự. Kết quả cho thấy chúng tôi đã thu được trình tự tương đồng 100% với trình tự gốc mã hóa tPMT-C780. Như vậy, chúng tôi đã tạo dòng thành công gen tPMT-C780 từ genome vi khuẩn *P. multocida*.

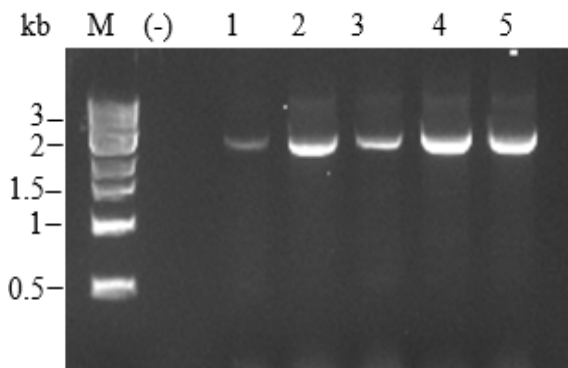
Đoạn gen tPMT-C780 sau đó được cắt từ vector pGEMT, lai vào vector biểu hiện pRSET-A, và biến nạp vào vi khuẩn *E. coli* DH5 α . Các khuẩn lạc mọc trên môi trường LB chứa ampicillin 100 μ g/mL được sàng lọc bằng phản ứng colony PCR với mồi T7 promoter và tPMT-780R. Kết quả thể hiện ở Hình 3 cho thấy, chúng tôi đã thu được những khuẩn lạc dương tính với 1 vạch DNA



Hình 2. Kết quả colony PCR kiểm tra gen tPMT-C780 trong plasmid pGEMT. M: thang chuẩn DNA; (-): đối chứng âm, 1-5: 5 khuẩn lạc *E. coli* DH5 α /pGEMT/tPMT-C780.



Hình 3. PCR kiểm tra đoạn gen tPMT-C780 trên plasmid pRSET-A trong vi khuẩn *E. coli* DH5 α . M: thang chuẩn DNA, (+): đối chứng dương với khuôn là plasmid pGEMT/tPMT-C780, (-): đối chứng âm; 1-7: khuẩn lạc *E. coli* DH5 α 1-7.



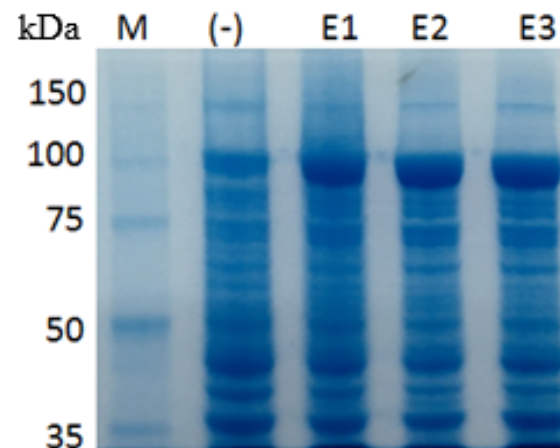
Hình 4. Kết quả colony PCR kiểm tra sự có mặt của plasmid pRSET-A/tPMT-C780 sau khi cấy chuyển 5 ngày liên tiếp. M: Thang chuẩn DNA, (+): đối chứng dương với khuôn là plasmid pGEMT/tPMT-C780, (-): đối chứng âm, 1-5: khuẩn lạc *E. coli* BL21/pRSET-A/tPMT-C780 tại các ngày cấy chuyển 1 đến 5.

rõ nét tương đương kích thước 2337 bp của gen tPMT-780. Như vậy chúng tôi đã tạo dòng được gen tPMT-780 trên vector biểu hiện pRSET-A.

Plasmid từ những khuẩn lạc dương tính được biến nạp vào *E. coli* BL21(DE3) và kiểm tra sự tồn tại qua nhiều đời bằng cách cấy chuyển 5 ngày liên tiếp trên môi trường thạch LB chứa 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ampicillin ở 37 $^{\circ}\text{C}$. Kết quả kiểm tra bằng colony PCR (Hình 4) cho thấy plasmid pRSET-A/tPMT-C780 ổn định và tồn tại qua nhiều lần cấy chuyển. Như vậy chúng tôi đã tạo dòng thành công đoạn gen tPMT-C780 trên plasmid biểu hiện pRSET-A, plasmid này ổn định và tồn tại qua nhiều thế hệ trên *E. coli* BL21(DE3).

3.2. Kết quả biểu hiện protein tPMT-C780 ở vi khuẩn *E. coli* BL21

Vi khuẩn *E. coli* BL21/pRSET-A/tPMT-C780 được nuôi cấy ở 37 $^{\circ}\text{C}$ cho đến khi đạt mật độ OD \sim 0,7, thì được cảm ứng với IPTG 1 mM và ethanol nồng độ 1% và 3% tại 28 $^{\circ}\text{C}$ trong 18 giờ. Kết quả SDS kiểm tra biểu hiện protein tPMT-C780 được thể hiện như Hình 5.



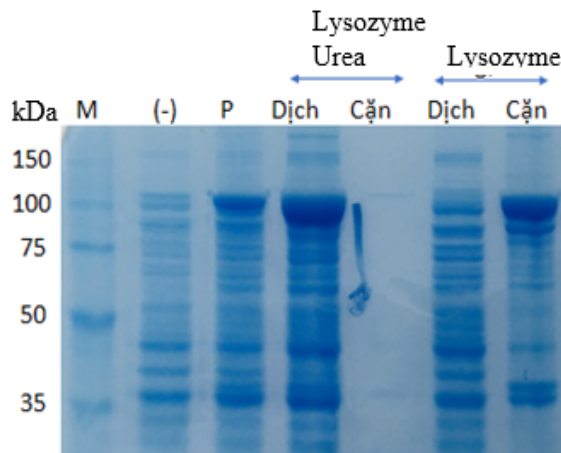
Hình 5. Biểu hiện protein tPMT-C780 trên *E. coli* BL21. M: Thang protein chuẩn, (-): mẫu không cảm ứng, E1: cảm ứng IPTG 1mM; E2: cảm ứng IPTG 1mM + Ethanol 1%; E3: cảm ứng IPTG 1mM + ethanol 3%.

Kết quả biểu hiện cho thấy tPMT-C780 được biểu hiện tốt khi cảm ứng với IPTG 1 mM, và không có sự khác biệt khi kết hợp cảm ứng IPTG với ethanol 1 - 3%. Protein biểu hiện mạnh, có kích thước khoảng 100 kDa, tương đương với kích thước protein tPMT-C780 mà chúng tôi thiết kế. Như vậy, tPMT-C780 đã được tạo dòng, biểu hiện

thành công, và có thể sử dụng để tiến hành các thí nghiệm tinh sạch tiếp theo.

3.3. Kết quả kiểm tra tính tan và tinh sạch protein

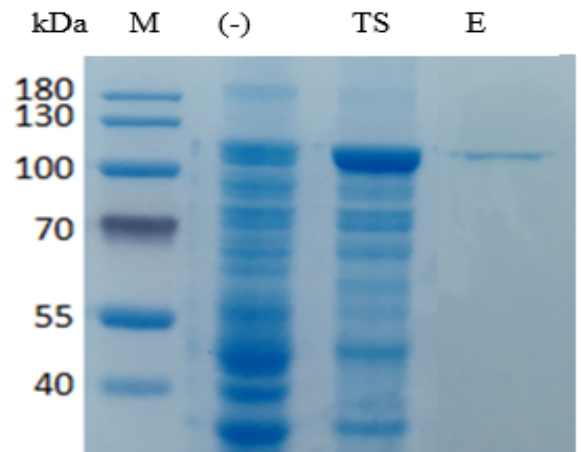
Để tinh sạch, protein biểu hiện cần được hòa tan trong dung dịch để gắn lên hạt Ni-NTA. Các nghiên cứu trước đây cho thấy, nhiều protein tái tổ hợp sau khi được biểu hiện là protein không tan, phần lớn nằm trong cặn tế bào. Vì vậy, các protein này được hòa tan biến tính trong dung dịch urea 6 - 8 M trước khi tiến hành các bước tinh sạch. Trong nghiên cứu này, chúng tôi tiến hành ủ sinh khối tế bào *E.coli* BL21/pRSET-A/tPMT-C780 2 giờ, tại 4⁰C trong dung dịch đệm phosphate buffer saline (PBS), lysozyme 1mg/ml, chứa và không chứa urea 6 M. Sau đó, tế bào được phá vỡ bằng sóng siêu âm, ly tâm để phân tách dịch và cặn tế bào, và tiến hành phân tách trên gel SDS-PAGE. Kết quả thể hiện ở Hình 6 cho thấy, protein biểu hiện chủ yếu nằm trong cặn tế bào khi phá tế bào trong dung dịch không chứa urea 6 M. Như vậy, tPMT-C780 là protein không hòa tan, nên chúng tôi phải sử dụng urea 6 M để hòa tan biến tính protein này vào dung dịch để tiến hành các bước tinh sạch tiếp theo bằng phương pháp sắc ký ái lực sử dụng hạt Ni-NTA.



Hình 6. Phân bố protein tPMT-C780 trong dịch và cặn tế bào. M: thang protein chuẩn, (-): mẫu protein *E.coli* BL21/pRSET-A/tPMT-C780 không cảm ứng, P: protein *E.coli* BL21/pRSET-A/tPMT-C780 cảm ứng IPTG 1 mM trước khi phá tế bào.

Dịch thu được sau khi phá tế bào bằng dung dịch đệm PBS, lysozyme 1 mg/mL chứa urea 6 M

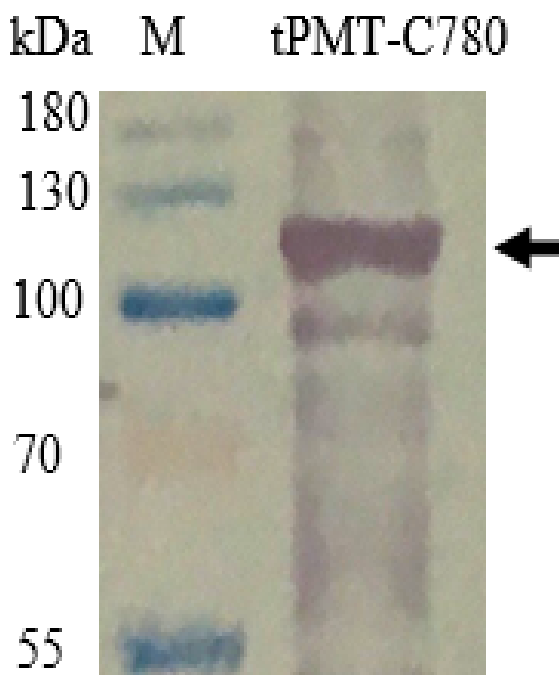
được ủ với hạt Ni-NTA ở 4⁰C trong 2 giờ để gắn His-tPMT-C780 protein lên hạt Ni-NTA. Sau đó, hạt Ni-NTA được ly tâm, thu, và rửa 5 lần với dung dịch đệm PBS chứa urea 6 M, và imidazole 20 mM để loại bỏ các protein không mong muốn. Hạt Ni-NTA sau đó được ủ với dung dịch PBS chứa urea 6 M và imidazole 250 mM trong 30 phút để thu lại His- tPMT-C780 từ hạt Ni-NTA. Kết quả SDS-PAGE cho thấy, dung dịch protein thu được sau tinh sạch chỉ chứa 1 vạch protein có kích thước tương đương với protein tPMT-C780 (Hình 7). Kết quả này cho thấy, protein tPMT-C780 đã được tinh sạch thành công, và đạt yêu cầu về độ sạch.



Hình 7. Kết quả tinh sạch protein tPMT-C780. M: thang protein chuẩn, (-): protein tổng số không cảm ứng, TS: protein tổng số cảm ứng IPTG; E: mẫu protein sau khi tinh sạch.

3.4. Kiểm tra protein tinh sạch bằng phản ứng western blot

Để kiểm tra protein đã biểu hiện và được tinh sạch có chính xác là trình tự đầu C của độc tố PMT hay không, chúng tôi phân tách dịch protein tinh sạch trên gel SDS-acrylamide, sau đó thực hiện phản ứng lai với kháng thể đặc hiệu của độc tố PMT (Anti-Pasteurella multocida Toxin antibody, rabbit polyclonal, BioAcademia). Tương tác giữa kháng thể và protein được xác định bằng phản ứng màu giữa enzyme peroxidase và cơ chất TMB. Kết quả thể hiện ở Hình 8 cho thấy, protein tinh sạch tại vị trí hơn 100 kDa có phản ứng dương tính mạnh với kháng thể đặc hiệu PMT. Như vậy, protein biểu hiện và tinh sạch mà chúng tôi thu được chính xác là protein đầu C của PMT (tPMT-C780) mà chúng tôi mong muốn.



Hình 8. Kết quả western blot của protein tinh sạch với kháng thể đặc hiệu PMT (Anti-Pasteurella multocida Toxin antibody, rabbit polyclonal, BioAcademia). M: thang chuẩn protein (Thermo Scientific); tPMT-C780: mẫu protein tinh sạch. Mũi tên chỉ band vị trí của tPMT-C780.

3.5. Thảo luận

PMT là gen độc tố chính của *P. multocida*, rất nhiều tác giả đã dựa trên trình tự của gen PMT để nghiên cứu độc lực của *P. multocida* cũng như tìm hướng sản xuất vắc xin tái tổ hợp từ độc tố này (Kim & ctv., 2006). Protein PMT gồm 1285 amino axit (García & ctv., 2011), là một dạng ngoại độc tố gây hoại tử niêm mạc (demonecrotic toxin), gồm: đầu (PMT- N) vị trí từ amino axit 1 đến 568 là vùng liên kết thụ thể và vận chuyển độc tố vào tế bào vật chủ; đầu C (PMT-C) có vai trò tương tác và sửa đổi các protein G trong tế bào, gây độc cho tế bào vật chủ (Busch & ctv., 2001; Okay & ctv., 2012).

Vắc xin tái tổ hợp dựa trên độc tố PMT có đáp ứng miễn dịch tốt và an toàn hơn so với vắc xin toàn khuẩn (Freddy & ctv., 2004; Hussaini & ctv., 2011). Kết quả nghiên cứu của một số tác giả trước đây cho thấy, protein tái tổ hợp tạo ra từ gen PMT đều tạo ra miễn dịch thể và miễn dịch trung gian tế bào (Liao & ctv., 2006; Lee & Woo, 2010; Lee & ctv., 2012). Theo kết

quả nghiên cứu của Lee & Woo (2010), trình tự đầu C của PMT có khả năng gây đáp ứng miễn dịch mạnh và có khả năng bảo hộ tốt trên động vật thí nghiệm Lee & Woo (2010). Vì vậy, trong nghiên cứu này, chúng tôi đã tạo dòng, biểu hiện và tinh sạch trình tự đầu C từ amino axit 506 đến 1285 của protein PMT. Kết quả ban đầu cho thấy, chúng tôi đã tổng hợp và tinh sạch được protein tPMT-C780, đây là cơ sở để chúng tôi tiến hành các nghiên cứu tiếp theo chế tạo vắc xin tái tổ hợp phòng bệnh tụ huyết trùng trên lợn.

4. Kết Luận

Chúng tôi đã tạo dòng, biểu hiện và tinh sạch thành công protein tái tổ hợp tPMT-C780, là trình tự protein đầu C từ amino axit 506 đến 1285 của độc tố vi khuẩn *P. multocida*, PMT. Kết quả này là thành công bước đầu để chúng tôi tiến hành chế tạo vắc xin tái tổ hợp phòng bệnh tụ huyết trùng trên lợn.

Cam Đoan

Chúng tôi cam đoan tất cả các tác giả đều đồng ý với nội dung của bài báo này.

Lời Cảm Ơn

Nghiên cứu được cấp kinh phí bởi chương trình Công nghệ Sinh học, Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn.

Tài Liệu Tham Khảo (References)

- Bui, H. Q. (1998). Characteristics of pasteurellosis in Vietnam in recent years. *Veterinary Sciences and Techniques* 5(1), 9-94.
- Cao, H. V. (2002). *Epidemiology of pasteurellosis in buffaloes, cows, and swines in Dak Lak, and some preventive and treatment measures*. (Unpublished doctoral dissertation) Vietnam National University of Agriculture. Ha Noi, Vietnam.
- Freddy, H., Frank, P., Koen, C., Dominiek, M., Richard, D., & Annemie, D. (2004). Efficacy of vaccines against bacterial diseases in swine. *Veterinary Microbiology* 100, 255-268.
- García, N., Fernández-Garayzábal, J. F., Goyache, J., Domínguez, L. & Vela, A. I. (2011). Associations between biovar and virulence factor genes in *Pasteurella multocida* isolates from pigs in Spain. *Veterinary Record* 169, 362-366.

- Hoang, H. D. (2004). *Study epidemiological characteristics and factors influencing pasteurellosis in buffaloes, and cows in Bac Giang (1995-2001), and suggest preventive and treatment measures*. (Unpublished doctoral dissertation). Hanoi Agriculture and Forestry University, Ha Noi, Vietnam.
- Hussaini, J., Abdullahi, M. A., & Ismail, S. (2012). Expression and immunogenicity determination of recombinant clone of *Pasteurella multocida* serotype B against *Haemorrhagic septicaemia*: Towards a vaccine development. *Journal of Animal and Veterinary Advances* 11 (3), 351-356.
- Hussaini, J., Nazmul, M. H. M., Abdullah, M. A., & Ismail S. (2011). Recombinant clone ABA392 protects laboratory animals from *Pasteurella multocida* serotype B. *African Journal Microbiology Research* 5, 2596-2599.
- Kim, T. J., Lee, J. I., & Lee, B. J. (2006). Development of a PMT Gene Knock-out Mutant of *Pasteurella multocida* and evaluation of its protective effects. *Journal of Microbiology* 44(3), 320-326.
- Le, N. V. (2015). *Diseases in Vietnam swines: Effective treatment measures*. Ho Chi Minh City, Vietnam: Agricultural Publishing House.
- Lee, J., & Woo H. J. (2010). Antigenicity of Partial Fragments of Recombinant *Pasteurella multocida* Toxin. *Journal of Microbiology and Biotechnology* 20(12), 1756-1763.
- Lee, K. E., Jeoung, H. Y., Lee, J. Y., Lee, M. H., Choi, H. W., Chang, K. S., Oh, Y. H., & An, D. J. (2012). Phenotypic characterization and random amplified polymorphic DNA (RAPD) analysis of *Pasteurella multocida* isolated from Korean Pigs. *Bacteriology* 74(5), 567-573.
- Liao, C. M., Huang, C., Hsuan, S. L., Chen, Z. W., Lee, W. C., Liu, C. I., Winton, J. R., & Chien, M. S. (2006). Immunogenicity and efficacy of three recombinant subunit *Pasteurella multocida* toxin vaccines against progressive atrophic rhinitis in pigs. *Vaccine* 24(1), 27-35.
- Nguyen, D. T. K. (2010). Determination of *Pasteurella multocida* causing pasteurellosis in buffaloes, cows in Ha Giang, Cao Bang, and initial tests of autovaccine. (Unpublished master's thesis). Thai Nguyen University, Thai Nguyen, Vietnam.
- Okay, S., Özcengiz, E., Gursel, I., & Özcengiz, G. (2012). Immunogenicity and protective efficacy of the recombinant *Pasteurella* lipoprotein E and outer membrane protein H from *Pasteurella multocida* A: 3 in mice. *Research In Veterinary Science* 93, 1261-1265.
- Phan, P. T. (2000). Pasteurellosis of animal and poultry and its control measures. *Veterinary Sciences and Techniques* 7(2), 78-86.
- Qureshi, S., & Saxena, H. M. (2014). Estimation of titers of antibody against *Pasteurella multocida* in cattle vaccinated with haemorrhagic septicemia alum precipitated vaccine. *Veterinary World* 7(4), 224-228.

Optimization of alcoholic fermentation of custard apple juice by *Saccharomyces cerevisiae* using response surface methodology

Huan T. Phan*, & Hien M. Nguyen

Faculty of Food Science and Technology, Nong Lam University, Ho Chi Minh City, Vietnam

ARTICLE INFO

Research Paper

Received: March 30, 2019

Revised: August 15, 2019

Accepted: September 03, 2019

Keywords

Custard apple juice

Fermentation

Response surface methodology

Saccharomyces cerevisiae

*Corresponding author

Phan Tai Huan

Email: pthuan@hcmuaf.edu.vn

ABSTRACT

In recent years, custard apple fruit has been applied in food processing with various products. The objective of this study was to valorize a fermented fruit drink from a Vietnamese local custard apple fruit by the alcoholic fermentation of the juice using *Saccharomyces cerevisiae*. Response surface methodology was used to describe dependency of soluble solid content, inoculum size of yeast and fermentation time on ethanol production during fermentation of custard apple juice by *Saccharomyces cerevisiae* SLS. The experiments were performed according to the central composite design with total soluble solid content ranging from 16 to 20^oBrix, inoculum size of yeast from 1% to 3%, and fermentation time from 42 to 48 h. A quadratic model was developed to correlate the variables to the ethanol yield and sensory score. The results showed that a production of ethanol from the custard apple juice could be achieved reaching up to 5.1% (v/v) at optimum conditions of 19^oBrix, 2% yeast and 44-h fermentation time. The model predictions agreed satisfactorily with the experimental values.

Cited as: Phan, H. T., & Nguyen, H. M.. (2019). Optimization of alcoholic fermentation of custard apple juice by *Saccharomyces cerevisiae* using response surface methodology. *The Journal of Agriculture and Development* 18(5), 70-78.

Tối ưu hoá quá trình lên men rượu dịch quả măng cầu ta bằng *Saccharomyces cerevisiae* sử dụng phương pháp bề mặt đáp ứng

Phan Tại Huân* & Nguyễn Minh Hiền

Khoa Công Nghệ Thực Phẩm, Trường Đại Học Nông Lâm TP.HCM, TP. Hồ Chí Minh

THÔNG TIN BÀI BÁO

Bài báo khoa học

Ngày nhận: 30/03/2019

Ngày chỉnh sửa: 15/08/2019

Ngày chấp nhận: 03/09/2019

Từ khóa

Dịch quả măng cầu ta

Lên men

Phương pháp bề mặt đáp ứng
Saccharomyces cerevisiae

*Tác giả liên hệ

Phan Tại Huân

Email: pthuan@hcmuaf.edu.vn

TÓM TẮT

Trong những năm gần đây, nhiều sản phẩm được sản xuất từ trái măng cầu ta. Mục tiêu của nghiên cứu này nhằm nâng cao giá trị sử dụng cho loại măng cầu ta địa phương với sản phẩm nước lên men sử dụng nấm men *Saccharomyces cerevisiae*. Phương pháp bề mặt đáp ứng được sử dụng nhằm lựa chọn các điều kiện tối ưu về hàm lượng chất rắn hòa tan, tỉ lệ nấm men và thời gian lên men nhằm để lên men rượu dịch quả măng cầu ta bằng nấm men *Saccharomyces cerevisiae* SLS. Thí nghiệm được bố trí theo phương pháp quy hoạch thực nghiệm kiểu thí nghiệm phối hợp có tâm với hàm lượng chất rắn hòa tan trong khoảng từ 16 đến 20⁰Brix, tỉ lệ nấm men từ 1 đến 3%, và thời gian lên men từ 42 đến 48 giờ. Sử dụng bề mặt đáp ứng trong mô hình tối ưu bậc 2 để thể hiện sự ảnh hưởng của các yếu tố khảo sát đến độ cồn và điểm cảm quan. Điều kiện tối ưu để lên men sản phẩm đạt 5,1% (v/v) độ cồn được xác định bao gồm hàm lượng chất rắn hòa tan 19⁰Brix, tỉ lệ men 2% và thời gian lên men là 44 giờ. Giá trị mô hình tối ưu dự đoán phù hợp với các giá trị thực nghiệm.

1. Đặt Vấn Đề

Măng cầu ta (*Annonasquamosa*) có nguồn gốc ở vùng nhiệt đới Châu Mỹ. Nhu cầu sử dụng măng cầu ta rất cao do đây là loại trái cây với phần thịt trái có hương rất thơm, độ axit thấp (Mowry & ctv., 1941). Trái măng cầu ta là loại trái cây có đỉnh hô hấp đột biến. Trái chín bình thường ở nhiệt độ 15 - 30⁰C, nhiệt độ dưới 15⁰C dễ bị tổn thương lạnh. Điều kiện đề nghị bảo quản trái măng cầu ở 15 - 20⁰C, nồng độ O₂ và ethylen thấp, 10% CO₂ và 85 - 90% độ ẩm trong không khí. Hàm lượng axit ascorbic và glucose tăng tối đa tại đỉnh đột biến nhưng lại giảm khi trái quá chín (Broughton & Guat, 1979). Mặt khác, măng cầu ta được xem là loại trái ngọt nhất trong họ măng cầu với thành phần dinh dưỡng khá cao. Tổng lượng carbohydrate 19,6 ± 1 g/100 g trong đó fructose (3,5%), glucose (5,1%) và oligosaccharides (1,2 - 2,5%). Thịt trái măng cầu ta là nguồn cung cấp tốt carbohydrate và chất xơ (Hassan & ctv., 2008). Măng cầu ta có hàm lượng các chống

oxi hóa cao. Hàm lượng phenolic được tìm thấy trong măng cầu ta có tỉ lệ khá cao 223 ± 23,8 mg/100 g (Reddy & ctv., 2010).

Tây Ninh là tỉnh có vườn măng cầu ta lớn nhất nước, chủ yếu các xã ven chân núi Bà Đen và các vùng phụ cận. Giống như các loại măng cầu khác măng cầu ta dễ bị tổn thương và mềm nhanh chóng trong quá trình chín, trở nên mềm nhão và khó giữ tươi ngon (Raphael & Omokaro, 2009). Gần đây xuất hiện xu hướng nghiên cứu và phát triển để gia tăng giá trị sử dụng cho nông sản địa phương (Phan & Nguyen, 2016; Le & ctv., 2017). Trong nhiều nghiên cứu khoa học, phương pháp bề mặt đáp ứng được áp dụng để tối ưu hóa thông số kỹ thuật với số lượng nghiệm thức vừa phải (Ngo & ctv., 2016; Živković & ctv., 2018). Nhằm nâng cao giá trị sử dụng, góp phần đa dạng hóa sản phẩm, nghiên cứu này thực hiện với mục tiêu làm tiền đề chế biến sản phẩm nước trái cây lên men từ trái măng cầu ta. Mục tiêu của nghiên cứu là tối ưu hóa quá trình lên men rượu dịch quả măng cầu ta bằng cách sử dụng nấm men

Saccharomyces cerevisiae SLS.

2. Vật Liệu và Phương Pháp Nghiên Cứu

Nguyên liệu: Trái mãng cầu ta có nguồn từ núi Bà Đen, tỉnh Tây Ninh.

Chủng vi sinh vật: Nấm men *Saccharomyces cerevisiae* SLS do Viện Vi Sinh Vật và Công Nghệ Sinh Học, Đại học quốc gia Hà Nội cung cấp.

Hóa chất: Môi trường Potato Dextrose Broth (PDB) để trừ giống nấm men với thành phần gồm 200 g khoai tây, 20 g đường glucose và 1000 mL nước cất. Trong đó, khoai tây rửa sạch cắt hình khối 1 cm, cho nước vừa đủ vào đun sôi 15 - 20 phút, gạn lấy dịch trong (nước chiết khoai tây) thêm nước vừa đủ 1000 mL, cho vào đường, khuấy đều và đun lửa nhỏ cho tan hết, cho vào bình khử trùng bằng autoclave ở 121°C trong 15 phút.

Chuẩn bị mẫu: Quy trình lên men nước mãng cầu ta được thể hiện như Hình 1.

Cách tiến hành: Mãng cầu ta được lột vỏ, tách hạt và cuống; bổ sung nước với tỷ lệ 1:2,5 (w/v), bổ sung $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$ với hàm lượng là 0,1% thịt quả (Okeke & ctv., 2015); xay nhuyễn, lọc lấy dịch, thêm đường đến độ Brix khảo sát; bổ sung tỷ lệ *Saccharomyces cerevisiae* SLS (% nấm men, v/v) khảo sát với mật độ 10^7 tế bào/mL; lên men chính ở điều kiện kỵ khí, nhiệt độ phòng.

Tối ưu quá trình lên men: Xử lý số liệu thí nghiệm theo phương pháp quy hoạch thực nghiệm kiểu thí nghiệm phối hợp có tâm (CCD), được bố trí bằng phần mềm JMP 10. Mối quan hệ giữa yếu tố khảo sát và chỉ tiêu theo dõi thể hiện dưới dạng bề mặt đáp ứng. Các yếu tố trong thí nghiệm là độ Brix (X_1), % nấm men (X_2), thời gian lên men (X_3) theo các mức thể hiện ở Bảng 1.

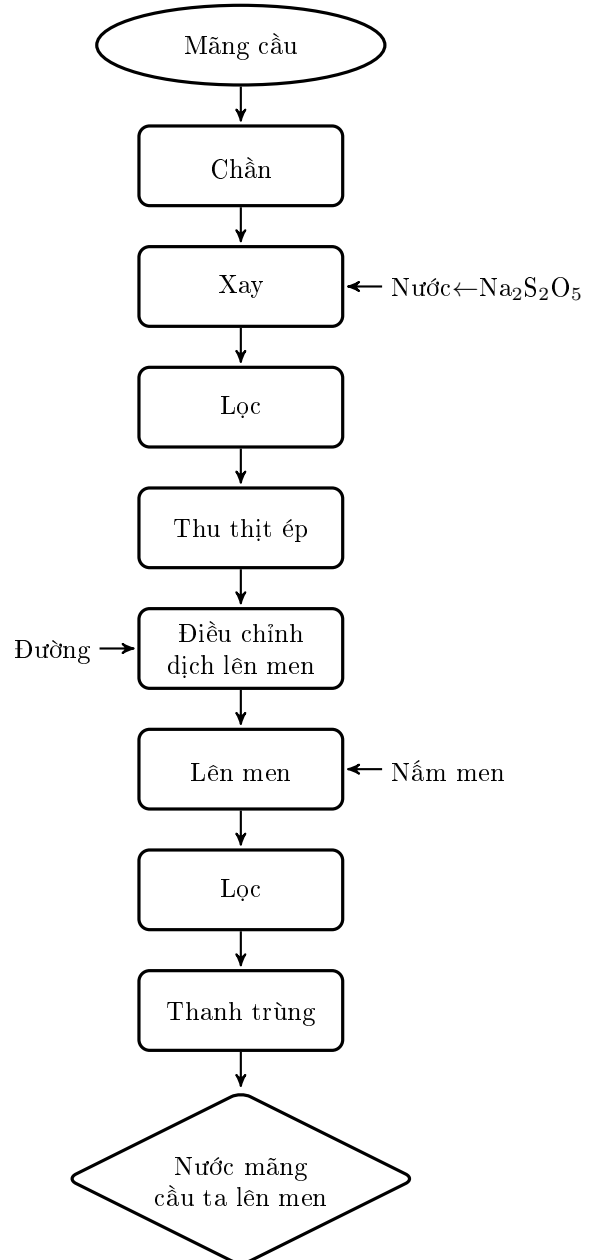
Trên cơ sở xác định X_1 , X_2 , X_3 phương trình hồi quy được xây dựng để xác định ảnh hưởng của 3 yếu tố đến chỉ tiêu theo dõi là độ cồn Y_1 (% v/v) và điểm cảm quan (Y_2). Phương trình hồi quy có dạng tổng quát:

$$Y = a_0 + a_1x_1 + a_2x_2 + a_3x_3 + a_{12}x_1x_2 + a_{13}x_1x_3 + a_{23}x_2x_3 + a_{11}x_1^2 + a_{22}x_2^2 + a_{33}x_3^2$$

Được tối ưu hóa theo hướng điểm cảm quan sản phẩm đạt giá trị tối đa trong khi độ cồn sản phẩm nằm trong khoảng độ cồn phổ biến của nước trái cây lên men là 4,5 - 5,5% (v/v).

Các phương pháp phân tích hóa lý:

Hàm lượng chất rắn hòa tan (độ Brix) được đo bằng khúc xạ kế Atago 0 - 32⁰Brix ($\pm 0,1$ ⁰Brix).



Hình 1. Quy trình lên men nước mãng cầu ta.

Bảng 1. Bố trí thí nghiệm tối ưu hóa quá trình lên men

Biến (yếu tố)	Mức và mã hóa mức của biến		
	-1	0	+1
X ₁ : Độ Brix	16	18	20
X ₂ : % Nấm men	1	2	3
X ₃ : Thời gian lên men (giờ)	42	45	48

Bảng 2. Một số chỉ tiêu hóa lý của thịt quả măng cầu ta xay nhuyễn

Chỉ tiêu	Kết quả (X ± SD) ¹
Hàm lượng chất rắn hòa tan	21,2 ± 0,12
pH	5,13 ± 0,01
Vitamin C	45,86 ± 0,02 mg/100 mL
Polyphenol	33,26 ± 0,03 mg/100 mL

¹X ± SD: Giá trị trung bình ± độ lệch chuẩn

pH của mẫu được đo bằng máy đo pH (Hanna pH211 – USA).

Hàm lượng ethanol được xác định theo TCVN 6429: 2007.

Hàm lượng polyphenol tổng được xác định bằng phương pháp Folin – Ciocalteu theo ISO 14502-1: 2005.

Hàm lượng vitamin C được xác định bằng phương pháp quang phổ UV – Vis (Kapur & ctv., 2012).

Phương pháp cảm quan: Đánh giá chất lượng sản phẩm bằng phương pháp cảm quan cho điểm dựa theo TCVN 3217-79 (Rượu – Cảm quan – Phương pháp cho điểm). Thí nghiệm được bố trí theo kiểu bố trí khối không đầy đủ cân đối (Balanced incomplete block). Mẫu được đánh giá cảm quan theo phương pháp cho điểm với thang điểm 20. Hội đồng cảm quan viên gồm các thành viên có khả năng đánh giá khách quan, có khả năng phân biệt cảm giác tốt, có kiến thức chuyên môn và kiến thức phân tích cảm quan. Cảm quan viên đánh giá 4 mẫu trong 15 mẫu thí nghiệm. Mỗi mẫu được đánh giá với số lần đánh giá như nhau. Khối mẫu cũng được bố trí ngẫu nhiên cho mỗi cảm quan viên. Thứ tự trình bày mẫu trong khối phải ngẫu nhiên trong tất cả các trường hợp.

3. Kết Quả và Thảo Luận

3.1. Khảo sát chất lượng nguyên liệu măng cầu ta

Do đặc tính của nguyên liệu là một trong những chỉ tiêu rất quan trọng quyết định trực tiếp đến chất lượng sản phẩm cũng như khả năng phát

triển, lên men của nấm men và giá trị cảm quan của sản phẩm. Đây là điều kiện cần thiết giúp ta có thể điều chỉnh các thông số và phối chế dịch lên men để tạo ra một sản phẩm có chất lượng về mặt dinh dưỡng cũng như cảm quan. Kết quả xác định một số chỉ tiêu trong nguyên liệu được trình bày ở Bảng 2.

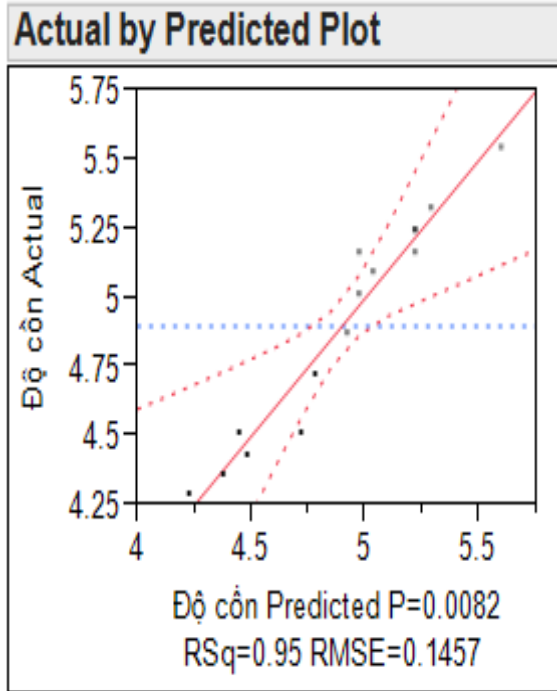
Kết quả cho thấy trái măng cầu ta có lượng đường tương đối cao với hàm lượng chất rắn hòa tan vào khoảng 21,2⁰Brix. Vitamin C của măng cầu ta vào khoảng 45,86 mg/100 mL gần bằng với dứa (51 mg/100 mL) và thấp hơn so với ổi (130 - 300 mg/100 mL) (Quach & ctv., 2008). Tuy nhiên đó là hai loại trái cây giàu vitamin C nên cũng vẫn có thể kết luận được rằng măng cầu ta là trái cây có lượng vitamin tương đối cao. Chính vì vậy việc chế biến và đa dạng hóa các sản phẩm từ loại quả này là rất tốt cho sức khỏe người tiêu dùng.

Khi lên men ethanol, pH của dịch quả cũng là yếu tố cần được chú ý. Trái măng cầu ta được nghiên cứu có pH 5,3 nằm ở khoảng pH 4,5 - 5,5, thích hợp để nấm men phát triển (Luong, 2009). Đó cũng chính là lý do trong nghiên cứu này sẽ không điều chỉnh pH khi lên men nước măng cầu ta.

Bên cạnh đó polyphenol là các hợp chất có vai trò quan trọng trong các quá trình trao đổi chất (điều khiển trao đổi năng lượng và tái tạo protein) của rau quả. Hợp chất polyphenol dễ bị oxy hóa tạo thành flobafen có màu nâu hay đỏ với tốc độ rất nhanh và là nguyên nhân chính gây sẫm màu các quả khi chế biến. Trong măng cầu ta có lượng polyphenol tương đối cao (33,26 mg/100 mL). Do đó khi chế biến cần có những biện pháp xử lý để tránh làm sẫm màu sản phẩm.

3.2. Ảnh hưởng của các yếu tố khảo sát đến độ cồn sản phẩm

Với sản phẩm nước trái cây lên men thì độ Brix, tỷ lệ men và thời gian lên men là các yếu tố có tầm ảnh hưởng quyết định tới chất lượng sản phẩm. Kết quả tối ưu quá trình lên men khảo sát các yếu tố độ Brix 16 – 20, tỉ lệ nấm men 1 - 3% và thời gian lên men 42 - 48 giờ được thể hiện ở Bảng 3.



Hình 2. Sự tương quan giữa độ cồn thực tế và dự đoán.

Hệ số tương thích của độ cồn ($R^2 = 0,95$) được thể hiện trong Hình 2. Điều đó có nghĩa là mô hình được lựa chọn cho bố trí thí nghiệm là phù hợp và tương thích với các số liệu thí nghiệm. Giá trị $P = 0,0082$ ($P < 0,05$) cho thấy các yếu tố khảo sát như độ Brix, % nấm men và thời gian lên men ảnh hưởng có ý nghĩa đến sự biến thiên độ cồn.

Phương trình hồi quy với ba yếu tố của hàm mục tiêu (độ cồn) theo mô hình tối ưu đã chọn có dạng như phương trình: $Y_1 = 4,97 + 0,4X_1 + 0,15X_2 + 0,13X_3$.

Trong đó:

Các hệ số tương ứng được chọn khi có ảnh hưởng ý nghĩa về mặt thống kê đến chỉ tiêu theo

đôi ($P < 0,05$). Ba yếu tố độ Brix, nồng độ nấm men và thời gian lên men đều ảnh hưởng mạnh mẽ đến độ cồn tổng thu được.

Y_1 là độ cồn (%); X_1 độ Brix, X_2 tỉ lệ nấm men (%), X_3 thời gian lên men (giờ). Dấu đứng trước các hệ số, cho biết chiều ảnh hưởng của các yếu tố là dương hay âm, nói cách khác là độ biến thiên của các yếu tố tỉ lệ nghịch hay thuận đối với độ biến thiên của chỉ tiêu theo dõi. Từ phương trình, ta thấy được, cả ba yếu tố đều tương quan tỉ lệ thuận với độ cồn. Mức độ ảnh hưởng của các yếu tố thể hiện qua biểu đồ Pareto (Hình 3).

Kết quả cho thấy độ Brix có mức ảnh hưởng đến sự biến thiên độ cồn nhất. Điều này cho thấy độ Brix là yếu tố quan trọng nhất ảnh hưởng đến độ cồn sau khi lên men, theo đó đến tỉ lệ nấm men và thời gian lên men là yếu tố có ảnh hưởng yếu hơn. Ngoài ra, chiều hướng tác động của từng yếu tố khảo sát được biểu diễn chi tiết tại Hình 4.

Ba yếu tố đều ảnh hưởng đến độ cồn theo đường gần như thẳng. Điều này đã được biết đến qua phương trình hồi quy, các yếu tố khảo sát đều ảnh hưởng ở hàm bậc một. Trong phạm vi khảo sát hạn chế, khi tăng giá trị của yếu tố tới một giới hạn nhất định thì độ cồn tăng dần đến giá trị cực đại. Nghiên cứu của Yan & ctv. (2012) cũng cho thấy nồng độ đường càng lớn sẽ càng làm giảm quá trình chuyển hóa rượu. Đường có trong dịch lên men đóng vai trò là nguồn carbon phục vụ cho quá trình sinh trưởng và lên men của nấm men. Tuy nhiên, nếu hàm lượng đường quá cao sẽ ức chế hoạt động sống của nấm men do tăng áp suất thẩm thấu giữa tế bào với môi trường (Attri, 2009). Trong khi đó theo Bui (2009) thời gian lên men tác động lớn đến quá trình lên men nước trái cây. Nếu kéo dài thời gian lên men sẽ dẫn đến hàm lượng cồn tăng cao. Khi đó sản phẩm không còn là nước trái cây lên men mà là rượu trái cây. Nên việc canh chỉnh thời gian trong nước trái cây lên men là một trong các yếu tố quan trọng quyết định hàm lượng cồn sinh ra nhiều hay ít.

3.3. Ảnh hưởng của các yếu tố khảo sát đến điểm cảm quan sản phẩm

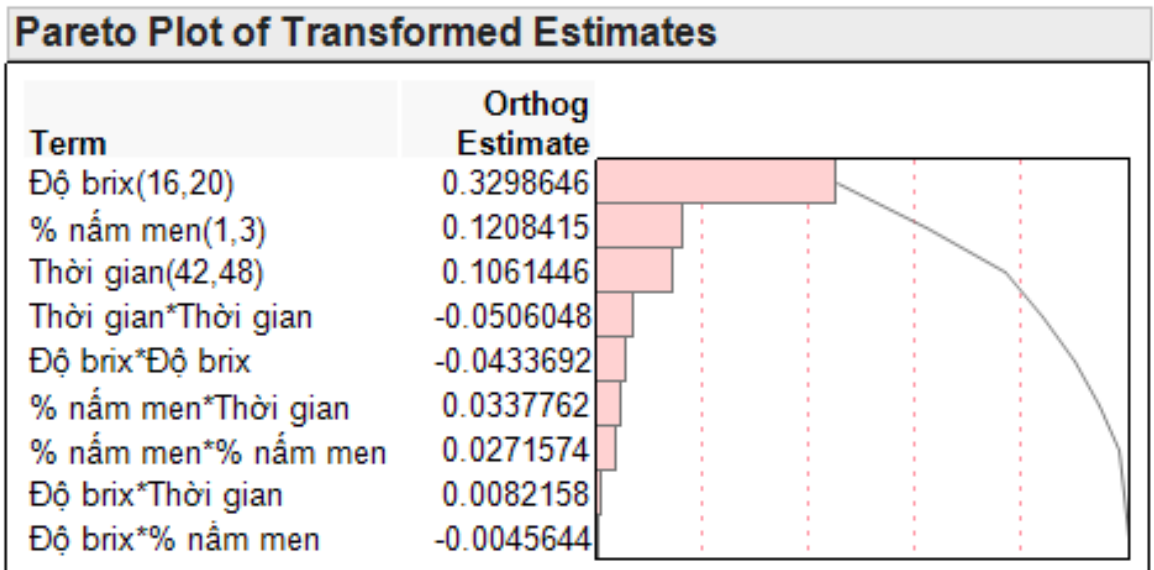
Bên cạnh khảo sát đáp ứng độ cồn, thí nghiệm còn khảo sát thêm đáp ứng điểm cảm quan. Kết quả xử lý cho thấy hệ số tương thích của điểm cảm quan ($R^2 = 0,93$) được thể hiện như Hình 5 Điều đó cũng có nghĩa là mô hình được chọn cho bố trí thí nghiệm là phù hợp. Giá trị $P = 0,019$

Bảng 3. Kết quả tối ưu quá trình lên men bố trí theo kiểu CCD

NT	Độ Brix %	Nấm men	Thời gian (giờ)	Độ cồn (% v/v)	Điểm cảm quan
1	16	1	42	4,29	15,6
2	20	1	42	5,09	17,0
3	16	3	42	4,51	15,0
4	16	1	48	4,36	17,4
5	20	3	42	5,24	17,2
6	20	1	48	5,16	17,2
7	16	3	48	4,72	16,8
8	20	3	48	5,54	17,4
9	18	2	45	5,01	16,4
10	18	2	42	4,51	16,2
11	18	2	48	5,16	17,6
12	18	1	45	4,87	16,6
13	18	3	45	5,24	17,2
14	16	2	45	4,43	14,8
15	20	2	45	5,32	16,8

Bảng 4. Độ cồn và điểm cảm quan theo dự đoán của mô hình tối ưu và thực tế

	Yếu tố khảo sát			Độ cồn (%)	Cảm quan
	Độ Brix	% nấm men	Thời gian (giờ)		
Giá trị dự đoán	19,16	1,90	43,96	5,10	16,51
Giá trị hiệu chỉnh	19,00	2,00	44,00	5,09	16,51
Thực nghiệm kiểm chứng	19,00	2,00	44,00	5,10	16,47

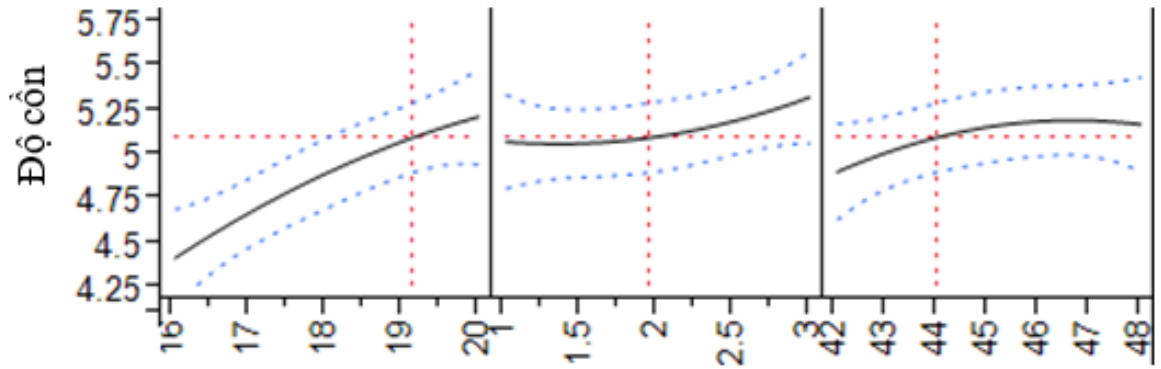


Hình 3. Mức độ ảnh hưởng của 3 yếu tố khảo sát đến chỉ tiêu độ cồn.

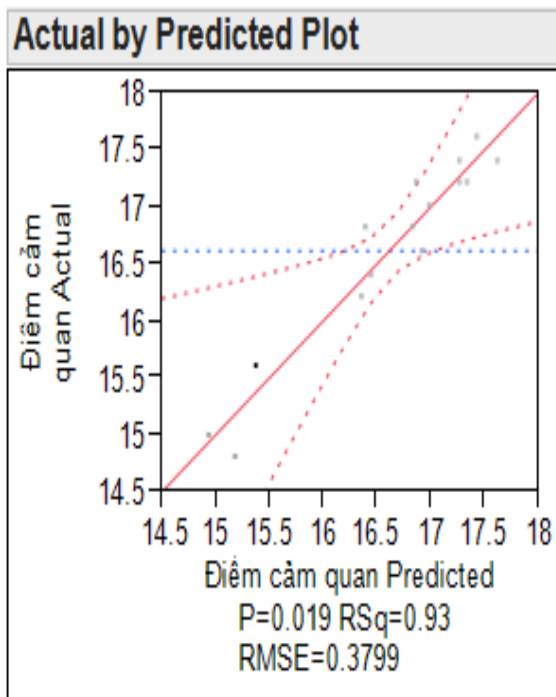
($P < 0,05$) cho thấy các yếu tố khảo sát như độ Brix, % nấm men *Saccharomyces cerevisiae* SLS và thời gian có ảnh hưởng ý nghĩa đến sự biến thiên về điểm cảm quan.

Phương trình hồi quy bậc hai với ba yếu tố của hàm mục tiêu điểm cảm quan theo mô hình tối ưu đã chọn có dạng như phương trình:

$$Y_2 = 16,44 + 0,6X_1 + 0,54X_3 - 0,64X_1^2 -$$



Hình 4. Chiều hướng tác động của 3 yếu tố khảo sát đến chỉ tiêu độ cồn.



Hình 5. Sự tương quan giữa điểm cảm quan thực tế và dự đoán.

$0,4X_1X_3$

Trong đó: Y_2 là điểm trung bình cảm quan; X_1 độ brix, X_2 tỉ lệ nấm men (%), X_3 thời gian lên men (giờ).

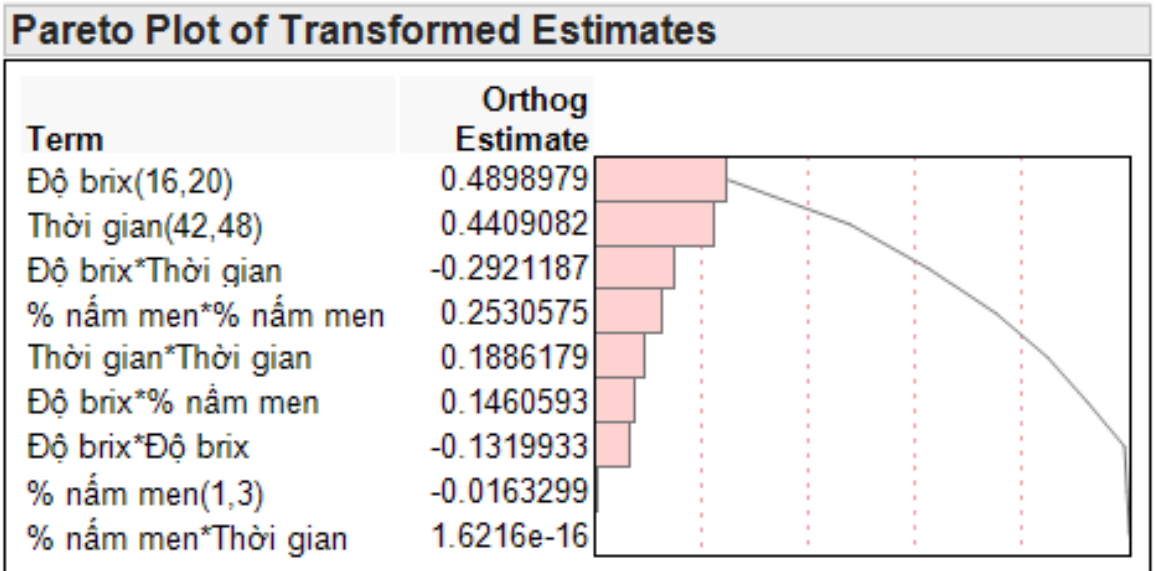
Phân tích Pareto cho thấy yếu tố độ Brix ảnh hưởng nhiều nhất đến điểm quan, tiếp đó là thời gian lên men (Hình 6). Điều này có thể giải thích độ Brix ảnh hưởng nhiều đến vị của sản phẩm. Yếu tố % nấm men được cho là không ảnh hưởng đáng kể đến điểm cảm quan.

Chiều hướng tác động của ba yếu tố khảo sát đến điểm cảm quan được thể hiện trong Hình 7. Các ảnh hưởng này đều thể hiện theo đường cong, tương thích với phương trình hồi quy bậc hai. Trong khoảng khảo sát, điểm cảm quan tăng dần theo độ Brix tuy nhiên sẽ giảm nếu độ Brix nằm trong khoảng hơn 19,5. Điểm cảm quan cũng tăng dần theo thời gian khảo sát. Yếu tố % nấm men không có ảnh hưởng đáng kể đến điểm cảm quan.

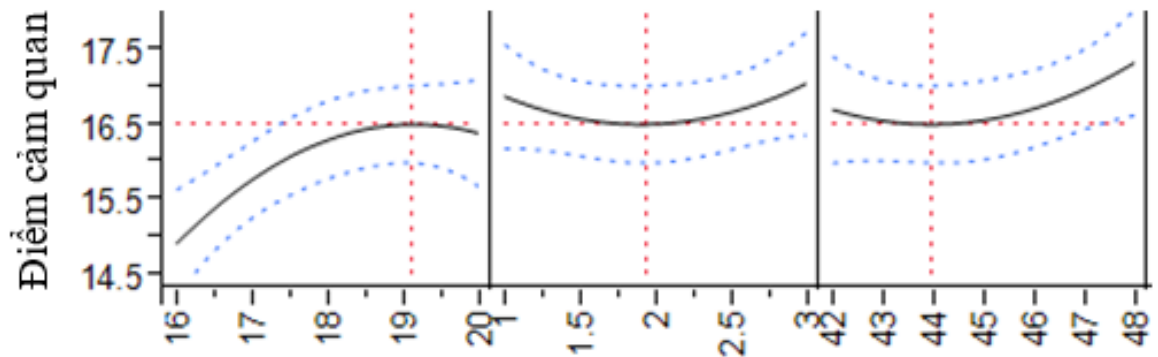
3.4. Tối ưu hóa quá trình lên men

Kết quả tối ưu hóa theo giá trị điểm cảm quan đạt được với hàm lượng chất rắn hoà tan 19,1⁰Brix; tỉ lệ nấm men 1,9%; thời gian lên men 44 giờ. Giá trị điểm cảm quan cực đại đạt được là 16,5. Tại giá trị cực đại này, độ cồn dự đoán là 5,1% (v/v) phù hợp hoàn toàn với khoảng cho phép 4,5 - 5,5% (v/v) đối với nước trái cây lên men. Do đó kết quả này được lựa chọn làm giá trị tối ưu cho quá trình lên men nước măng cầu ta. Kết quả này cũng khá tương thích với kết quả của nhiều nghiên cứu khác như lên men rượu vang điều (Attri, 2009), rượu vang ổi (Sevda & Rodrigues, 2010), và lên men rượu vang từ xơ mít (Nguyen, 2010).

Từ kết quả dự đoán của mô hình, thực hiện kiểm chứng thực tế với các số liệu được hiệu chỉnh làm tròn cho phù hợp được thể hiện như trong Bảng 4. Kết quả giá trị thực tế cho thấy phù hợp với dự đoán là 5,1% (v/v). Điểm cảm quan cho giá trị thực tế là 16,47, đạt loại khá. So với giá trị dự đoán, cả hai đáp ứng độ cồn và điểm cảm quan đều cho kết quả sai khác không có ý nghĩa ($P < 0,05$).



Hình 6. Mức độ ảnh hưởng của 3 yếu tố khảo sát đến chỉ tiêu điểm cảm quan.



Hình 7. Chiều hướng tác động của 3 yếu tố khảo sát đến điểm cảm quan.

4. Kết Luận

Trái mãng cầu ta với giá trị trung bình hàm lượng chất rắn hòa tan 21,2⁰Brix, pH 5,13, Vitamin C 45,86 mg/100 mL và polyphenol 33,26 mg/100 mL có thể được sử dụng dịch quả để lên men bằng nấm men *Saccharomyces cerevisiae* SLS. Bằng phương pháp quy hoạch thực nghiệm sử dụng bề mặt đáp ứng trong mô hình tối ưu bậc 2, điều kiện tối ưu cho 3 thông số kỹ thuật chính của quá trình lên men được xác định. Với giá trị tối ưu hàm lượng chất rắn hòa tan của dịch lên men là 19⁰Brix, tỷ lệ nấm men sử dụng 2% và thời gian lên men 44 giờ cho sản phẩm lên men đạt giá trị tốt nhất. Giá trị đạt được dự đoán

theo mô hình tối ưu không có sự khác biệt đáng kể so với giá trị thực nghiệm. Sản phẩm thu được có độ cồn 5,1% (v/v) nằm trong vùng phổ biến của nước trái cây lên men và có điểm cảm quan là 16,47, đạt loại khá theo TCVN.

Lời Cảm Ơn

Nghiên cứu được tài trợ bởi Sở Khoa Học Và Công Nghệ Tây Ninh.

Tài Liệu Tham Khảo (References)

Attri, B. L. (2009). Effect of initial sugar concentration on the physico-chemical characteristics and sensory qualities of cashew apple wine. *Natural Product Radiance*

- 8(4), 374-379.
- Broughton, W. J., & Guat, T. (1979). Storage conditions and ripening of the custard apple *Annona squamosa* L. *Scientia Horticulturae* 10(1), 73-82.
- Bui, A. (2009). *Fermentation technology applied in food technology*. Ho Chi Minh City, Vietnam: VNU Ho Chi Minh Publishing House.
- Hassan, L. G., Muhammad, M. U., Umar, K. J., & Sokoto, A. M. (2008). Comparative Study on the proximate and mineral contents of the seed and pulp of sugar apple (*Annona squamosa*). *Nigerian Journal of Basic and Applied Sciences* 16(2), 179-182.
- Phan, H. T., & Nguyen, H. T. M. (2016). Polyphenol content and antioxidant capacity of herbal tea from Vietnamese water hyssop (*Bacopa monnieri*). *International Journal on Advanced Science, Engineering and Information Technology* 6(1), 61-68.
- Kapur, A., Haskovic, A., Copra-Janicijevic, A., Klepo, L., Topcagic, A., Tahirovic, I., & Sofic, E. (2012). Spectrophotometric analysis of total ascorbic acid content in various fruits and vegetables. *Bulletin of the Chemists and Technologists of Bosnia and Herzegovina* 38 (4), 39-42.
- Le, T. T., Phan, T. H., & Raes, K. (2017). Establishment of a processing procedure for manufacturing dried dragon fruit. *Journal of Agricultural Sciences and Technology* 6, 32-38.
- Luong, P. D. (2009). *Industrial Yeasts*. Ha Noi, Vietnam: Science and Technics Publishing House.
- Mowry, H., Toy, L. R., & Wolfe, H. S. (1941). Miscellaneous tropical and subtropical florida fruits. *Bulletin - University of Florida Agricultural Extension Service* 109, 11-21.
- Ngo, N. T. T., Phan, H. T., & Nguyen, T. T. B. (2016). Screening of fungal strains grown in solid-state culture for production of pectinase from coffee husk. *International Journal on Advanced Science, Engineering and Information Technology* 6(3), 273-276.
- Nguyen, S. T. T. (2010). Experimental fermentation of wine from ripe jackfruit. *Journal of Sciences and Application* 12, 28-29.
- Okeke, B. C., Agu, K. C., Uba, P. O., Awah, N. S., Anaukwu, C. G., Archibong, E. J., Uwanta, L. I., Ezeneche, J. N., Ezenwa, C. U., & Orji, M. U. (2015). Wine Production from Mixed Fruits (Pineapple and Watermelon) Using High Alcohol Tolerant Yeast Isolated from Palm Wine. *Universal Journal of Microbiology Research* 3(4), 41-45.
- Quach, D., Nguyen, T. V., & Nguyen, T. V. (2008). *Fruits and vegetables preservation and processing*. Ha Noi, Vietnam: Science and Technics Publishing House.
- Raphael, N. O., & Omokaro, O. (2009). Mycoflora and production of wine from fruits of soursop (*Annona muricata* L.). *International Journal of Wine Research* 1, 1-9.
- Reddy, C., Vijaya, K., Sreeramulu, D., & Raghunath, M. (2010). Antioxidant activity of fresh and dry fruits commonly consumed in India. *Food Research International* 43(1), 285-288.
- Sevda, S. B., & Rodrigues, L. (2011). Fermentative behavior of *Saccharomyces* strains during Guava (*Psidium guajava* L.) must fermentation and optimization of guava wine production. *Journal of Food Processing and Technology* 2 (4), 1-18.
- Yan, L., Wei, Z., Chunjie, L., Kei, S., Shuzo, T., & Hainan K. (2012). Factors affecting ethanol fermentation using *Saccharomyces cerevisiae* BY4742. *Biomass and Bioenergy* 47, 395-401.
- Živković, J., Šavikin, K., Janković, T., Čujić, N., & Menković, N. (2018). Optimization of ultrasound-assisted extraction of polyphenolic compounds from pomegranate peel using response surface methodology. *Separation and Purification Technology* 194, 40-47.

Estimating the economic value of absorbing and storing carbon in dipterocarp forests in Ia Pa district, Gia Lai province

Trang T. Q. Nguyen*, & Phuong T. B. Tran

Faculty of Environment, Ho Chi Minh University of Natural Resources and Environment,
Ho Chi Minh City, Vietnam

ARTICLE INFO

Research Paper

Received: April 10, 2019

Revised: May 18, 2019

Accepted: July 25, 2019

Keywords

Absorption CO₂

Cumulative CO₂

Dry dipterocarp forest

Greenhouse gas

IaPa district

*Corresponding author

Nguyen Thi Quynh Trang

Email: ntqtrang@hcmunre.edu.vn

ABSTRACT

Dry dipterocarp forest is one of the ecosystems that features variety of rare plants and animals. The forest in Ia Pa district, Gia Lai province is declining owing to illegal logging and encroachment of forest land for cultivation. Forest degradation can reduce CO₂ sequestration, contributing to increasing greenhouse gas emission and global warming. The study was carried out in the 4 quadrats (each 2,500 m² = 50 × 50 m) in dry dipterocarp forest of Ia Pa district. In each quadrat, 5 sub-quadrats (each 25 m² = 5 × 5 m) were set up, one at a central point and four at four corners of the quadrat, respectively. Based on the relationship between carbon stock and above-ground biomass, we found that CO₂ accumulation in dry dipterocarp forest was 105.6 tons/ha corresponding to the economic value of 12,299,760 VND/ha. Thus, it is necessary to improve forest quality towards sustainable management of dry dipterocarp forest ecosystem and increase the economic value of the forest with respect to environmental services.

Cited as: Nguyen, T. T. Q., & Tran, P. T. B. (2019). Estimating the economic value of absorbing and storing carbon in dipterocarp forests in Ia Pa district, Gia Lai province. *The Journal of Agriculture and Development* 18(5), 79-86.

Ước tính giá trị kinh tế từ việc hấp thụ và lưu trữ cacbon của rừng khộp tại huyện Ia Pa, tỉnh Gia Lai

Nguyễn Thị Quỳnh Trang* & Trần Thị Bích Phượng

Khoa Môi Trường, Trường Đại Học Tài Nguyên và Môi Trường TP.HCM, TP. Hồ Chí Minh

THÔNG TIN BÀI BÁO

Bài báo khoa học

Ngày nhận: 10/04/2019

Ngày chỉnh sửa: 18/05/2019

Ngày chấp nhận: 25/07/2019

Từ khóa

Hấp thụ CO₂

Huyện IaPa

Khí nhà kính

Lưu trữ CO₂

Rừng khộp

*Tác giả liên hệ

Nguyễn Thị Quỳnh Trang

Email: ntqtrang@hcmunre.edu.vn

TÓM TẮT

Rừng khộp là một trong những rừng có hệ sinh thái đặc trưng với nhiều loại động vật quý hiếm. Diện tích rừng khộp thuộc huyện Ia Pa, tỉnh Gia Lai đang suy giảm do người dân khai thác rừng trái phép, lấn chiếm đất rừng làm nương rẫy. Suy giảm rừng làm giảm khả năng hấp thụ CO₂ góp phần làm gia tăng phát thải khí nhà kính vào môi trường, gây nên hiện tượng nóng lên toàn cầu. Nghiên cứu được thực hiện trong 4 ô tiêu chuẩn sơ cấp (2.500 m² = 50 × 50 m) tại rừng khộp, huyện Ia Pa với 5 ô thứ cấp (25 m² = 5 × 5 m) được bố trí ở 4 góc và 1 ô ở trung tâm của mỗi ô tiêu chuẩn sơ cấp. Dựa vào mối tương quan giữa cacbon và các loài thực vật trên mặt đất, nghiên cứu đã tính được lượng CO₂ tích lũy của rừng khộp là 105,6 tấn/ha, tương ứng với giá trị kinh tế trên thị trường là 12.299.760 VND/ha. Như vậy, cần thiết nâng cao chất lượng rừng hướng tới quản lý bền vững hệ sinh thái rừng khộp, tạo cơ sở nâng cao giá trị kinh tế của rừng khộp dựa vào giá trị môi trường.

1. Đặt Vấn Đề

Mối quan hệ giữa biến đổi khí hậu (BĐKH) và hàm lượng phát thải khí CO₂ là một vấn đề đang được quan tâm trên toàn cầu. Theo Hội đồng liên chính phủ về BĐKH dự báo khoảng 1,5 tỷ tấn cacbon sẽ phát thải hàng năm, chiếm 1/5 khí CO₂ phát thải trên toàn thế giới do thay đổi sử dụng đất rừng (IPCC, 2006). Nhằm hỗ trợ chương trình giảm phát thải khí nhà kính do mất rừng và suy thoái rừng ở các nước đang phát triển, quản lý bền vững tài nguyên rừng nâng cao trữ lượng lưu trữ cacbon thì việc nghiên cứu trữ lượng lưu trữ cacbon để đóng góp vào việc ứng phó BĐKH là cần thiết.

Ở Việt Nam, rừng khộp phân bố ở một số tỉnh thuộc khu vực Tây Nguyên như Gia Lai, Kon Tum, Đắk Lắk, Lâm Đồng,... Rừng khộp ngoài vai trò cung cấp lâm sản như gỗ còn có vai trò điều hòa khí hậu, bảo vệ môi trường sinh thái, hấp thụ được lượng lớn khí CO₂ làm giảm khả

năng phát thải khí vào môi trường,... Tuy nhiên, hiện nay những giá trị môi trường của rừng vẫn chưa được lượng hóa cụ thể, dẫn đến việc người dân chưa thấy được vai trò quan trọng của rừng tại khu vực. Xuất phát từ thực tế trên, nghiên cứu này được thực hiện nhằm mục đích đánh giá khả năng hấp thụ, lưu trữ cacbon của rừng khộp thuộc huyện IaPa, tỉnh Gia Lai. Trên cơ sở đó tính toán được giá trị kinh tế từ giá trị môi trường của rừng khộp mang lại.

2. Vật Liệu và Phương Pháp Nghiên Cứu

2.1. Khu vực nghiên cứu

Ia Pa là một huyện phía Đông Nam của tỉnh Gia Lai. Phía Bắc giáp các huyện Chư Sê, Mang Yang, Kông Chro; phía Nam giáp huyện Krông Pa; Đông giáp huyện Đông Xuân, tỉnh Phú Yên và Tây giáp huyện Phú Thiện, thị xã Ayun Pa. Huyện Ia Pa tập trung chủ yếu là rừng khộp.

Đây là hệ sinh thái đặc trưng với các cây thuộc họ Dầu lá rộng (Dipterocarpaceae) chiếm ưu thế. Tổng diện tích đất lâm nghiệp huyện Ia Pa là 53.391,75 ha. Trong đó, diện tích rừng khộp tự nhiên là 46.869,37 ha, rừng trồng 47,17 ha, đất lâm nghiệp chưa có rừng 6.475,21 ha (IPDFPD, 2018).

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp điều tra thực địa

Đề tài tiến hành lập 4 ô tiêu chuẩn (OTC) để tính toán giá trị trung bình cho khu vực nghiên cứu (Bảng 1). Mỗi OTC (còn gọi là ô sơ cấp) có diện tích 2.500 m² (50 × 50 m) để điều tra tầng cây cao. Trong mỗi OTC sẽ bố trí 5 ô thứ cấp bao gồm 4 ô ở 4 góc và 1 ô ở trung tâm của ô sơ cấp để điều tra tầng cây bụi thảm tươi và vật rơi rụng (VRR), mỗi ô diện tích là 25 m² (5 × 5 m) (Vu & Vo, 2014). Trong mỗi OTC sẽ lấy điểm trung tâm với tọa độ như sau:

Đối với tầng cây cao: Xác định tên cây, đo đường kính cây (D_{1,3}) và chiều cao cây (H_{vn}) của toàn bộ cây gỗ có đường kính D_{1,3} > 30 cm trong ô sơ cấp; đo H_{vn} của toàn bộ cây gỗ có D_{1,3} = 5 - 30 cm trong ô thứ cấp để xác định tầng cây cao. Chúng tôi xác định lượng cacbon lưu trữ trong cây dựa vào việc đo đếm sinh khối tầng cây gỗ (Vu & Vo, 2014).

Đối với tầng cây bụi, thảm tươi: Sử dụng phương pháp chặt hạ để đo đếm sinh khối của tầng cây bụi, thảm tươi. Tiến hành tách riêng từng bộ phận thân, lá, cành và cân ngay tại hiện trường để xác định sinh khối tươi. Thu 0,5 kg mỗi bộ phận thân cành, lá của cây bụi, thảm tươi đem về phòng thí nghiệm sấy để xác định sinh khối khô.

Tiến hành thu nhặt toàn bộ VRR trong ô có diện tích 25 m², cân ngay tại hiện trường để xác định sinh khối tươi. Thu 0,5 kg VRR đem về phòng thí nghiệm sấy khô để xác định sinh khối khô. Số liệu trọng lượng được sử dụng để phân tích sinh khối của thực vật khu vực nghiên cứu.

2.2.2. Phương pháp phân tích, tính toán, xử lý số liệu

Đối với tầng cây cao: Mỗi quan hệ giữa lượng cacbon lưu trữ trên mặt đất của cây cá thể của loài ưu thế trong sinh cảnh rừng khộp với D_{1,3} và H_{vn} để tính lượng cacbon tích lũy trong tầng cây gỗ được thể hiện trong Bảng 2.

Đối với cây bụi thảm tươi và VRR: Xác định sinh khối khô.

Độ ẩm của từng mẫu lá, thân cành của thảm tươi và VRR sẽ được tính theo công thức:

$$D (\%) = [(m_1 - m_2)/m_1] \times 100$$

Trong đó, D là độ ẩm (%); m₁ là trọng lượng tươi của mẫu; m₂ là trọng lượng khô của mẫu.

Sinh khối khô của từng bộ phận thành phần của thảm tươi tính bằng kg bao gồm thân cây, lá cây bụi, cành cây bụi và vật rơi rụng được tính theo các công thức:

$$SKK(tc) = SKT(tc) \times (1 - D(tc))$$

$$SKK(lá) = SKT(lá) \times (1 - D(lá))$$

$$SKK(c) = SKT(c) \times (1 - D(c))$$

$$SKK(vrr) = (SKT(vrr) \times (1 - D(vrr)))$$

Trong đó, SKK(tc), SKK(lá), SKK(c), SKT(vrr) là sinh khối khô tính bằng kg của thân cây, lá, cành, vật rơi rụng; SKT(tc), SKT(lá), SKT(c), SKT(vrr) lần lượt là sinh khối tươi tính bằng kg của thân cây, lá, cành, vật rơi rụng; D(tc), D(lá), D(vrr), D(c), D(vrr) lần lượt là độ ẩm tính bằng % của thân cây, lá, cành và vật rơi rụng.

Tổng sinh khối khô thảm tươi, cây bụi được tính như sau:

$$SKK_{\text{cây bụi thảm tươi}} = SKK(tc) + SKK(lá) + SKK(c)$$

Lượng cacbon tích lũy phần trên mặt đất trong các trạng thái lớp phủ thực vật bao gồm cacbon tích lũy trong thảm thực vật (cây gỗ, cây bụi, thảm tươi) và vật rơi rụng. Lượng cacbon tích lũy được tính dựa trên tổng SKK trên mặt đất theo công thức sau:

$$W_{\text{cacbon}} = CF \times DW_{\text{above}} \text{ (tấn C/ha)}$$

Trong đó, CF là hệ số hàm lượng cacbon; CF đối với tầng cây gỗ, tầng cây bụi và thảm tươi là 0,47; CF đối với tầng vật rụng là 0,37 (IPCC, 2006).

W_{cacbon} là lượng cacbon tích lũy trong sinh khối (tấn/ha); DW_{above} là lượng sinh khối khô trên mặt đất (tấn/ha). DW_{above1} = W_{wood} + W_{shrub} (tấn/ha); DW_{above2} = W_{litter} (tấn/ha).

W_{wood} là lượng sinh khối khô của tầng cây gỗ (tấn/ha); W_{shrub} là lượng sinh khối khô của tầng cây bụi, thảm tươi (tấn/ha); W_{litter} là lượng sinh khối khô của tầng vật rụng (tấn/ha).

Bảng 1. Tọa độ trung tâm của 4 OTC¹

OTC ¹	Vị trí	Tọa độ	
		OX	OY
1	Lô 3, khoảnh 3, tiểu khu 1251	503.130	1484.124
2	Lô 1, khoảnh 3, tiểu khu 1248	504.965	1484.196
3	Lô 7, khoảnh 5, tiểu khu 1248	506.268	1483.728
4	Lô 4, khoảnh 8, tiểu khu 1244	507.939	1486.081

¹OTC: Ô tiêu chuẩn.**Bảng 2.** Phương trình tương quan giữa lượng cacbon trên mặt đất của cây cá thể loài ưu thế trong sinh cảnh rừng khộp với D_{1,3} và H_{vn}

Loài	Phương trình quan hệ ¹
Cà chít	$C_{ct} = 0,710 \times \left(\sqrt{D_{1,3}^2 \times H_{vn}} \right)^{1,170}$
Cắm liên	$C_{ct} = 0,051 \times \left(\sqrt{D_{1,3}^2 \times H_{vn}} \right)^{1,695}$
Chiêu liêu đen	$C_{ct} = 0,068 \times \left(\sqrt{D_{1,3}^2 \times H_{vn}} \right)^{1,681}$
Chiêu liêu ổi	$C_{ct} = 0,229 \times \left(\sqrt{D_{1,3}^2 \times H_{vn}} \right)^{1,400}$
Dầu đồng	$C_{ct} = 0,025 \times \left(\sqrt{D_{1,3}^2 \times H_{vn}} \right)^{1,891}$
Dầu trà beng	$C_{ct} = 0,024 \times \left(\sqrt{D_{1,3}^2 \times H_{vn}} \right)^{1,996}$
Chung các loài cây	$C_{ct} = 0,055 \times \left(\sqrt{D_{1,3}^2 \times H_{vn}} \right)^{1,669}$

¹C_{ct} là lượng cacbon lưu trữ của cây cá thể (kg) (Vu & Vo, 2014).

2.2.3. Phương pháp đánh giá giá trị tài nguyên và môi trường

Nghiên cứu sử dụng các phương pháp lượng giá hiện hành để lượng giá giá trị cacbon của rừng tại rừng khộp huyện Ia Pa.

Công thức tổng quát để xác định là: $V_{CO_2} = M_{CO_2} \times Pc$ (Luong & ctv., 2011).

Lượng CO₂ hấp thụ chuyển đổi từ cacbon tích lũy: M_{CO_2} (tấn/ha) = $W_{Cacbon} \times (44/12)$.

Trong đó, V_{CO_2} là giá trị kinh tế trên cơ sở hấp thụ CO₂ bằng USD hoặc đồng cho 1 ha; M_{CO_2} là lượng CO₂ tính bằng tấn CO₂/ha; Pc là giá bán tín chỉ cacbon CER trên thị trường tính bằng USD hoặc đồng/tấn CO₂.

3. Kết Quả và Thảo Luận

3.1. Lượng cacbon lưu trữ trong tầng cây gỗ

Kết quả điều tra tại khu vực nghiên cứu trong 4 OTC sơ cấp được tính toán bình quân trong 1 ha rừng khộp xác định có 22 loài cây của tầng cây cao gồm: Bằng lăng (*Lagerstromia flos-*

reginae Retz), Bình linh (*Vitex pubescens Vahl*), Bứa núi (*Garcinia oliveri Pierre*), Cà chít (*Shorea obtusa Wall*), Cắm (*Parinarium anamensis Han ce*), Cắm liên (*Pentaome siamensis Kniz*), Cắm xe (*Xylia dolabriformis Benth*), Chiêu liêu (*Terminalia Chebula Roxb*), Dầu lông (*Dipterocarpus sp*), Gạo (*Bombax malabaricum D.C*), Gáo vàng (*Indina sessifolia Hook*), Ké (*Nephelium sp*), Kơ nia (*Irvingia malayana Oliver*), Thành ngành (*Cratoxylon formosum B.et.H*), Thầu tàu (*Aporosa microcalyx Hassh*), Trám hồng (*Canarium sp*), Trăn sừng (*Eugenia chanlos Gagnep*), Vừng (*Careya sphaerica Roxb*), xoài rừng (*Mangiera indica Linn*). Từ số lượng các loài cây và Bảng 2, lượng lưu trữ cacbon trong các cá thể được tính toán và thể hiện trong Bảng 3.

Từ Bảng 3 cho thấy rằng, ở tầng cây gỗ lượng cacbon lưu trữ là cao nhất là loài Cà chít (đạt 7,13 tấn/ha chiếm 25,26%), tiếp đến là Dầu lông (đạt 4,6 tấn/ha chiếm 16,29%) và Chiêu liêu (đạt 2,7 tấn/ha chiếm 9,56%) còn lại là các loài cây khác. Như vậy, rừng khộp ở Ia Pa đặc trưng với 3 nhóm cây chính là Cà chít, Dầu lông, và Chiêu liêu với mật độ và phân bố cây chiếm đa số.

Bảng 3. $D_{1,3}$, H_{vn} và lượng cacbon lưu trữ của các loài cây gỗ trong 4 OTC sơ cấp

OTC ¹	STT	Loài	Số lượng cây	$D_{1,3}$ (cm)	H_{vn} (m)	Cct (kg/cây)	Cct (kg/cây)
1	1	Bình linh	4	14,3	13,5	40,91	0,65
	2	Cà chít	17	13,8	13,7	70,78	4,81
	3	Cám	1	14	12	35,80	0,14
	4	Cắm liên	1	13	12	32,38	0,13
	5	Cắm xe	3	15	13	42,94	0,52
	6	Chiêu liêu	5	17,2	15,8	82,59	1,65
	7	Dầu lông	17	16,5	14,3	54,51	3,71
	8	Kơ nia	3	15,3	14	47,21	0,57
	9	Sp6	2	19	17,5	81,64	0,65
	10	Sp7	2	21,5	16	93,12	0,74
	11	Thành ngành	2	13,5	15	40,58	0,32
	12	Thầu tấu	2	15	13,5	44,31	0,35
	13	Trâm	3	17,7	14,7	62,71	0,75
Tổng cộng:						729,49	15,01
2	1	Bằng lăng	2	21	22,5	119,00	0,95
	2	Bình linh	4	16,5	18,8	68,49	1,10
	3	Cà chít	19	15,3	21,5	103,95	7,90
	4	Cám	4	24	22,5	148,71	2,38
	5	Cắm xe	4	15	21,8	66,10	1,06
	6	Chiêu liêu	9	18,6	22,7	127,73	4,60
	7	Dầu lông	17	16,2	21,9	75,45	5,13
	8	Gáo vàng	1	12	24	49,35	0,20
	9	Kơ nia	4	30,3	26,5	251,53	4,02
	10	Sp7	3	14,3	23,3	64,52	0,77
	11	Thành ngành	2	18	23	93,71	0,75
	12	Thầu tấu	2	11,5	25	47,56	0,38
	13	Trâm	4	19,5	25	114,82	1,84
Tổng cộng:						1330,91	31,08
3	1	Bằng lăng	1	23	32	185,84	0,74
	2	Bình linh	8	20	20,6	101,91	3,26
	3	Bứa núi	1	20	22	107,65	0,43
	4	Cà chít	16	20,2	21,6	144,27	9,23
	5	Cám	3	22,7	20,3	124,36	1,49
	6	Cắm xe	3	17,3	19,7	77,07	0,92
	7	Chiêu liêu	6	16,7	21,5	101,81	2,44
	8	Dầu lông	15	18,9	20,8	93,48	5,61
	9	Gạo	1	14	16	45,51	0,18
	10	Gáo vàng	1	12	17	37,01	0,15
	11	Kơ nia	3	30,3	25	239,59	2,88
	12	Sp7	3	13	19,7	47,84	0,57
	13	Thầu tấu	1	15	17	53,71	0,21
	14	Trám	1	18	19	79,90	0,32
	15	Trâm	1	12	16	35,18	0,14
	16	Vùng quả to	1	14	17	47,87	0,19
	17	Xoài rừng	1	40	21	329,30	1,32
Tổng cộng:						1852,30	30,10

Bảng 3. $D_{1,3}$, H_{v_n} và lượng cacbon lưu trữ của các loài cây gỗ trong 4 OTC sơ cấp (tiếp theo trang 83)

OTC ¹	STT	Loài	Số lượng cây	$D_{1,3}$ (cm)	H_{v_n} (m)	Cct (kg/cây)	Cct (kg/cây)
4	1	Bằng lăng	6	20,7	20,7	108,37	2,60
	2	Bình linh	3	22,7	23	138,02	1,66
	3	Bứa núi	1	20	24	115,76	0,46
	4	Cà chít	11	20,2	23	149,67	6,59
	5	Cám	1	12	19	40,61	0,16
	6	Căm xe	2	14	19	52,53	0,42
	7	Chiêu liêu	7	14,1	20,7	74,20	2,08
	8	Dầu lông	11	17,7	22,2	88,46	3,89
	9	Gáo vàng	4	19,3	24,3	110,22	1,76
	10	Ké	1	30	30	274,37	1,10
	11	Kơ nia	3	35	24,7	301,73	3,62
	12	Sén mủ	2	17	20	75,80	0,61
	13	Sp7	5	35	24,6	300,71	6,01
	14	Thành ngạnh	2	21	22	116,79	0,93
	15	Thấu tấu	2	23,5	27	167,17	1,34
	16	Trám	1	15	19	58,94	0,24
	17	Trâm	8	19,1	22,5	101,58	3,25
Tổng cộng:						2.274,91	36,72
Tổng cộng TBC ² của 4 OTC:						1.546,90	28,23

¹OTC: ô tiêu chuẩn.

²TBC là giá trị trung bình cộng của 4 OTC.

3.2. Lượng cacbon lưu trữ trong tầng cây bụi thảm tươi, vật rơi rụng

Kết quả nghiên cứu tại 5 ô thứ cấp, sinh khối tươi và sinh khối khô của cây bụi thảm tươi và VRR được tổng hợp tại Bảng 4.

Kết quả Bảng 4 cho thấy, sinh khối tươi cây bụi thảm tươi dưới tán rừng khộp dao động từ 4,67 - 5,61 kg/25 m² (1,87 - 2,24 tấn/ha). Sinh khối tươi của cây bụi thảm tươi được tính trung bình cho toàn bộ khu vực nghiên cứu là 2,01 tấn/ha. Sinh khối khô của từng bộ phận cây bụi và thảm tươi ở các vị trí khác nhau, dao động từ 2,21 - 3,41 kg/25 m² (0,88 - 1,37 tấn/ha). Trung bình sinh khối khô của cây bụi thảm tươi là 1,07 tấn/ha. Vật rơi rụng bao gồm thân, cành, lá, hoa, quả rơi rụng và thảm mục. Trong 4 OTC sơ cấp thì sinh khối tươi của VRR dao động từ 0,74 - 0,93 kg/25 m² (0,30 - 0,37 tấn/ha), trung bình sinh khối tươi VRR đạt 0,34 tấn/ha. Sinh khối khô của VRR trung bình là 0,19 tấn/ha. Như vậy, kết quả tính sinh khối khô của tầng cây bụi thảm tươi và VRR cho thấy sinh khối khô tập trung trong tầng cây bụi thảm tươi (1,07 tấn/ha) nhiều hơn trong VRR (0,19 tấn/ha) (Bảng 5).

3.3. Lượng cacbon lưu trữ trong toàn lâm phần rừng khộp huyện Ia Pa

Lượng sinh khối khô cây bụi thảm tươi và VRR trên mặt đất, DW_{above} là 1,26 tấn/ha. Lượng cacbon tích lũy trong sinh khối cây bụi thảm tươi $W_{carbon1} = 0,5$ tấn C/ha. Lượng cacbon tích lũy trong sinh khối VRR, $W_{carbon} = 0,07$ tấn C/ha. Lượng cacbon tích lũy trong sinh khối cây bụi thảm tươi và VRR, $W_{carbon} = 0,57$ tấn C/ha. Lượng cacbon tích lũy trong toàn lâm phần rừng khộp được tính bằng tổng lượng cacbon tích lũy trong tầng cây gỗ, cây bụi thảm tươi và VRR, $W = W_{carbon} + W_{tầng\ cây\ gỗ} = 28,8$ tấn C/ha. Như vậy, lượng CO₂ hấp thụ chuyển đổi từ cacbon tích lũy, M_{CO_2} là 105,6 tấn/ha.

Ước lượng giá trị kinh tế trên cơ sở hấp thụ CO₂: Giá hấp thụ cacbon rừng của đề tài được tính bằng phương pháp giá thị trường. Dựa trên diễn biến giá bán CER trên thị trường, nghiên cứu lựa chọn giá mua bán tính chỉ cacbon trên thị trường (World Bank, 2017). Theo đó, trên thị trường thế giới thì có tới 75% tổng số nước được thống kê sử dụng mức giá < 10 USD/tấn CO₂. Trong đó, số nước sử dụng mức giá 5 USD/tấn

Bảng 4. SKT và SKK của từng bộ phận cây bụi thảm tươi và VRR của 5 OTC thứ cấp¹

OTC	Sinh khối	Bộ phận	Ô 1	Ô 2	Ô 3	Ô 4	Ô 5	TBC (kg/ô thứ cấp)	TBC (tấn/ha)	
1	SKT	Thân	1,90	2,50	2,20	2,00	2,10	2,14	0,86	
		Lá	1,10	1,25	1,30	1,15	1,20	1,20	0,48	
		Cành	1,50	0,95	1,10	1,65	1,45	1,33	0,53	
		Cây bụi thảm tươi							4,67	1,87
		VRR	1,20	0,98	0,75	0,80	0,68	0,88	0,88	0,35
	SKK	Thân	1,10	1,55	0,97	1,20	1,13	1,19	1,19	0,48
		Lá	0,33	0,50	0,44	0,51	0,46	0,45	0,45	0,18
		Cành	0,57	0,48	0,59	0,69	0,52	0,57	0,57	0,23
		Cây bụi thảm tươi							2,21	0,88
		VRR	0,94	0,82	0,27	0,43	0,30	0,55	0,55	0,22
2	SKT	Thân	2,5	2,2	2,5	2,1	2,7	2,40	0,96	
		Lá	1,15	1,35	1,35	1,05	1,45	1,27	0,51	
		Cành	1,6	1,1	1,2	1,18	1,55	1,33	0,53	
		Cây bụi thảm tươi							5,00	2,00
		VRR	0,7	0,85	0,82	0,6	0,75	0,74	0,74	0,30
	SKK	Thân	1	1,14	0,9	0,92	1,08	1,01	1,01	0,40
		Lá	0,71	0,78	0,70	0,61	0,81	0,72	0,72	0,29
		Cành	1,18	0,59	0,65	0,61	1,12	0,83	0,83	0,33
		Cây bụi thảm tươi							2,56	1,02
		VRR	0,46	0,65	0,66	0,42	0,45	0,53	0,53	0,21
3	SKT	Thân	3,10	2,55	2,80	3,05	2,50	2,80	1,12	
		Lá	1,25	1,40	1,35	1,55	1,22	1,35	0,54	
		Cành	1,40	1,68	1,50	1,45	1,25	1,46	1,46	0,58
		Cây bụi thảm tươi							5,61	2,24
		VRR	0,95	1,12	0,75	0,90	0,93	0,93	0,93	0,37
	SKK	Thân	2,23	1,99	1,57	2,32	1,70	1,96	1,96	0,78
		Lá	0,48	0,70	0,57	0,87	0,59	0,64	0,64	0,26
		Cành	0,67	1,04	1,02	0,75	0,58	0,81	0,81	0,33
		Cây bụi thảm tươi							3,41	1,37
		VRR	0,55	0,52	0,35	0,61	0,52	0,51	0,51	0,20
4	SKT	Thân	2,10	1,65	2,54	2,90	2,60	2,36	0,94	
		Lá	1,10	0,95	1,15	0,98	0,80	1,00	1,00	0,40
		Cành	1,60	1,78	1,35	1,55	1,20	1,50	1,50	0,60
		Cây bụi thảm tươi							4,85	1,94
		VRR	0,90	0,60	0,75	0,95	0,80	0,80	0,80	0,32
	SKK	Thân	1,05	0,96	1,27	1,97	1,61	1,37	1,37	0,55
		Lá	0,33	0,40	0,44	0,49	0,27	0,39	0,39	0,15
		Cành	0,64	1,03	0,84	0,74	0,62	0,78	0,78	0,31
		Cây bụi thảm tươi							2,53	1,01
		VRR	0,54	0,38	0,21	0,40	0,27	0,36	0,36	0,14

¹SKT: sinh khối tươi; SKK: sinh khối khô; VRR: vật rơi rụng; OTC: ô tiêu chuẩn.

Bảng 5. Trung bình SKT và SKK của từng bộ phận cây bụi thảm tươi và VRR của 4 OTCSC¹

Sinh khối	TBC (kg/25 m ²)	TBC (tấn/ha)
SKT _{cây bụi thảm tươi}	5,03	2,01
SKK _{cây bụi thảm tươi}	2,68	1,07
SKT _{VRR}	0,84	0,34
SKK _{VRR}	0,54	0,19

¹SKT: sinh khối tươi; SKK: sinh khối khô; VRR: vật rơi rụng; OTCSC: Ô tiêu chuẩn sơ cấp; TBC: Trung bình cộng.

Bảng 6. Giá trị kinh tế ước tính từ việc hấp thụ CO₂ của rừng tại huyện Ia Pa

STT	Loại đất rừng	Diện tích (ha)	Thành tiền (VNĐ)
Tổng diện tích đất lâm nghiệp		53.391,75	657.141.013.917
1	Rừng tự nhiên	46.869,37	576.482.002.351

CO₂ chiếm tỉ lệ cao nhất. Vì vậy, nghiên cứu chọn mức giá 5 USD/tấn CO₂ để tính. Như vậy, ước tính giá trị kinh tế hấp thụ CO₂ của huyện Ia Pa được trình bày trong Bảng 6.

Từ kết quả ước lượng trên cho thấy lượng CO₂ tích lũy trong 1 ha rừng khộp khoảng 105,60 tấn (gồm lượng CO₂ hấp thụ từ cây thân gỗ, cây bụi thảm tươi và VRR trên mặt đất), tương ứng với giá trị tiền bán ra thị trường là 528 USD/ha tương đương 12.299.760 VND/ha. Huyện Ia Pa với 46.869,37 ha rừng tự nhiên tương đương với giá trị kinh tế hấp thụ CO₂ khoảng 576 tỷ VNĐ. Đây là một giá trị không hề nhỏ đối với người quản lý rừng, đặc biệt là các cộng đồng dân tộc thiểu số vùng cao đang quản lý các khu rừng cộng đồng, đây thực sự là nguồn thu lợi nhuận rất đáng quan tâm.

4. Kết Luận

Huyện Ia Pa với 46.869,37 ha rừng tự nhiên tương đương với giá trị kinh tế hấp thụ CO₂ khoảng 576 tỷ VNĐ. Đây là một trong những giá trị môi trường rất lớn đối với rừng khộp tại đây. Tuy nhiên, năng lượng hấp năng hấp thụ cacbon có thể thay đổi theo mùa, đặc biệt là những mùa tiêu điểm của cháy rừng thì lượng cacbon tích lũy trong sinh khối rất ít. Vì vậy, cần có các nghiên cứu về khả năng hấp thụ cacbon theo mùa của rừng khộp tại Ia Pa.

Tài Liệu Tham Khảo (References)

- IPCC (The Intergovernmental Panel on Climate). (2006). *IPCC Guidelines for National Greenhouse Gas Inventories*. Hayama, Japan: IGES.
- Luong, T. V., Vu, P. T., & Luong, H. X. (2011). Research on the effectivity of Carbon sequestration values of big timber plantations in Vietnam. *Vietnam Journal of Forest Science* 4, 1-7.
- Vu, Q. D., & Vo, H. D. (2014). Study on carbon storage ability of dry dipterocarp forest in Central Highlands in Vietnam. *Vietnam Journal of Forest Science* 2, 3308-3317.
- World bank. (2017). *State and Trends of Carbon Pricing 2017*. Washington DC, USA: World bank.
- IPDFPD (Ia Pa District Forest Protection Department). (2018). Report on forest protection and management in 9 months and directions, tasks in the last 3 months of 2018. Gia Lai, Vietnam: IPDFPD Office.

Survey of ornamental plants functioned as medicinal plants at some ornamental gardens in Ho Chi Minh City and applying them in garden design

Tien T. M. Duong*, & Phuc T. Le

Faculty of Environment and Natural Resources, Nong Lam University, Ho Chi Minh City, Vietnam

ARTICLE INFO

Research Paper

Received: November 19, 2018

Revised: April 10, 2019

Accepted: May 02, 2019

Keywords

Garden design

Medicinal ornamental garden

Medicinal plants

Ornamental herb garden

Ornamental plants

*Corresponding author

Duong Thi My Tien

Email: duongmytien@hcmuaf.edu.vn

ABSTRACT

The objective of the study was to identify some of common ornamental plants functioned as medicinal plants. The study was carried out in the Ho Chi Minh City, from September 2016 to June 2018 using some methods such as survey, identification, statistics, and applying these plants in garden design with site analysis, computer-aided design and drafting base on main idea. One hundred and twenty popular species belonging to 69 families with medicinal values were identified. Two cases for concept design, instant tree list, shrub and cover list were also proposed. The completed design drawings included function layout plan, master plan, sections and some details of garden, master perspective, detailed perspectives.

Cited as: Duong, T. T. M., & Le, P. T. (2019). Survey of ornamental plants functioned as medicinal plants at some ornamental gardens in Ho Chi Minh City and applying them in garden design. *The Journal of Agriculture and Development* 18(5), 87-97.

Khảo sát các cây cảnh có giá trị dược liệu tại một số vườn kiếng ở Thành phố Hồ Chí Minh và ứng dụng trong thiết kế sân vườn

Dương Thị Mỹ Tiên* & Lê Thị Phúc

Khoa Môi Trường và Tài Nguyên, Trường Đại Học Nông Lâm TP.HCM, TP. Hồ Chí Minh

THÔNG TIN BÀI BÁO

Bài báo khoa học

Ngày nhận: 19/11/2018

Ngày chỉnh sửa: 10/04/2019

Ngày chấp nhận: 02/05/2019

Từ khóa

Cây cảnh

Cây cảnh dược liệu

Cây dược liệu

Thiết kế sân vườn

Vườn cảnh quan cây dược liệu

*Tác giả liên hệ

Dương Thị Mỹ Tiên

Email: duongmytien@hcmuaf.edu.vn

TÓM TẮT

Đề tài được tiến hành tại Thành phố Hồ Chí Minh trong thời gian từ tháng 9 năm 2016 đến tháng 6 năm 2018, với mục tiêu nhận dạng một số cây cảnh phổ biến có giá trị dược liệu. Đề tài được thực hiện bằng phương pháp điều tra và khảo sát cây cảnh tại các vựa kiếng và vườn ươm, định danh cây đã điều tra, thống kê, phân tích dữ liệu và ứng dụng trong thiết kế sân vườn với các phương pháp đánh giá hiện trạng khu vườn, thể hiện ý tưởng thiết kế chi tiết bằng việc sử dụng các phần mềm thiết kế cảnh quan. Đề tài điều tra được 120 loài thuộc 69 họ thực vật có dược tính, ứng dụng thiết kế 2 trường hợp sân vườn, với hồ sơ thiết kế ý tưởng, đề xuất danh mục cây xanh, vật liệu, thiết bị sử dụng trong thiết kế, thuyết minh thiết kế chi tiết. Đồ án hoàn thành được các bản vẽ: mặt bằng phân khu chức năng, mặt bằng tổng thể, các mặt bằng cây xanh, mặt cắt, các chi tiết của sân vườn và phối cảnh tổng thể cũng như phối cảnh các phân khu, các tiểu cảnh làm điểm nhấn.

1. Đặt Vấn Đề

Việt Nam được đánh giá là một trong những nước có tiềm năng lớn về cây dược liệu trong khu vực Đông Nam Á (Thu, 2017) với khoảng 3.780 loài chiếm 11% trong số 35.000 loài cây dược liệu được biết trên thế giới (Tran & ctv., 2016). Dân tộc Việt Nam có truyền thống lâu đời trong việc sử dụng các loài cây để làm thuốc thông qua việc tích lũy kinh nghiệm dân gian, sự sưu tầm ghi chép của nhiều thầy thuốc (Do, 2004) và với quan niệm nổi tiếng “Nam dược trị nam nhân” bên cạnh sự vận động người dân trồng cây dược liệu trong vườn nhà của danh y Tuệ Tĩnh. Ngoài dược tính, cây dược liệu còn có giá trị làm đẹp cho khung cảnh nhà vườn được ghi nhận như hình dáng, màu sắc, kết cấu, mùi thơm... như những loài cây cảnh quan khác. Do đó, trong những năm gần đây, nhu cầu sử dụng cây dược liệu trang trí

không gian sống kết hợp với mục đích bảo vệ sức khỏe con người đang ngày một tăng cao, cây cảnh không chỉ cho ta nhìn thấy vẻ đẹp và hương thơm mà đó còn là những vị thuốc quý để chữa bệnh.

Nghiên cứu này nhằm mục tiêu khảo sát và thống kê những loài cây cảnh quan hiện đang được ươm tạo và buôn bán trên thị trường cây cảnh của TP. Hồ Chí Minh có giá trị làm thuốc chữa bệnh và đề xuất trồng những loài này trong thiết kế sân vườn để tạo ra tính đa dụng cho chức năng của khu vườn nhà phố.

Dựa trên một số tài liệu tra cứu và nhận diện cây cảnh trong và ngoài nước của các tác giả như Phạm (2002) trong từ điển về cây cỏ Việt Nam. Le & Phạm (1993) đã chia cây trồng đô thị gồm cây bóng mát thuộc 4 nhóm (cây bóng mát có hoa đẹp, cây bóng mát có hoa thơm, cây bóng mát ăn quả, cây bóng mát thường) và cây trang trí thuộc 9 nhóm (cây họ tre trúc, cây họ cau dừa, cây cảnh

dáng đẹp, cây cảnh hoa đẹp, cây cảnh quả đẹp, cây cảnh leo giàn, cây hàng rào, cây viền bồn, cây hoa). Tran (1998) phân loại cây xanh - cây cảnh thành 8 nhóm bao gồm các nhóm cây xanh đường phố (cây bóng mát), nhóm cây gỗ thân cột làm cảnh, nhóm cây leo làm cảnh, nhóm cây thân mọng nước làm cảnh, nhóm cây làm bonsai, nhóm cây có lá làm cảnh, nhóm cây có hoa làm cảnh, nhóm cây có quả và nước làm cảnh. Min & ctv. (2003) đã điều tra và thống kê được hơn 1.200 loài cây xanh hoa cảnh ở Singapore về đặc điểm thực vật, nhu cầu nước tưới, ánh sáng và độ ẩm của các loài cây cảnh.

Về cây dược liệu, Pham & ctv. (2000) đã đề cập đến hầu hết các cây dược liệu được xác minh và nghiên cứu biết rõ hoạt chất hoặc theo kinh nghiệm đã được đúc kết, khoảng trên 700 cây dược liệu đã được ghi nhận, đồng thời 327 cây dược liệu phổ biến trong thực tế cũng như các bài thuốc kèm theo để tham khảo sử dụng. Với số lượng cây dược liệu phong phú hơn, Do (2004) đã định danh, mô tả các cây dược liệu và trình bày tác dụng dược lý, công dụng kèm theo của 901 cây dược liệu, phân chia thành 20 nhóm công dụng với các bảng tra cứu hình ảnh của 249 cây dược liệu khác nhau và các bảng tra cứu cây dược liệu xếp theo họ thực vật, cây dược liệu theo vị thuốc và hoạt chất theo tên Việt Nam, theo danh pháp khoa học. Sau đó, Vo (2012) đã phản ánh hầu hết thực tế phong phú của cây dược liệu ở Việt Nam thông qua những nghiên cứu cá nhân, cùng với những công trình khoa học viết về thực vật học và dược học cùng với những sự tìm hiểu từ các lương y ở nhiều địa phương trong cả nước.

Về sự phối hợp của chức năng dược liệu và làm cảnh, Dung (2017) đã mô tả 100 cây cảnh đẹp làm thuốc và kèm theo mỗi cây cảnh là một số vị thuốc sử dụng chính cây cảnh đó để chữa bệnh. Ngoài ra, trong một tài liệu khác, tác giả này cũng liệt kê 56 loài cây dược liệu làm cảnh phổ biến trong nhà trường và nêu công thức làm 21 loại nước giải khát từ quả và lá cây giúp phòng và chữa bệnh (Nguyen, 2003a). Nghiên cứu của Abdullah (2015) về xác định cây cảnh có chức năng dược liệu dựa trên hình dạng lá, kết cấu và màu sắc của nó cũng cho thấy tầm quan trọng của cây cảnh có dược tính. Trong thực tế, mô hình kinh doanh vườn ươm cây cảnh có giá trị dược liệu tại Đà Lạt mang về lợi nhuận lớn, chứng tỏ người dân rất quan tâm đến sự đa dụng của cây cảnh (Gia, 2016). Đây là nền tảng để đề tài được tiến hành.

2. Vật Liệu và Phương Pháp Nghiên Cứu

Khảo sát cây cảnh có giá trị dược liệu được thực hiện tại các vườn kiểng, vừa kiểng ở những khu vực tập trung trồng, sản xuất và buôn bán hoa kiểng sầm uất của TP. Hồ Chí Minh như làng hoa Gò Vấp là trung tâm giao dịch hoa cây cảnh (Dung, 2017), làng nghề hoa kiểng Thủ Đức có khoảng 90,05 ha vào năm 2015 với các chủng loại như mai, lan, bonsai kiểng cổ, kiểng lá (TDPC, 2016). Ngoài ra, các quận 7, 10 và Tân Bình cũng có những khu vực, những con đường chuyên sưu tập và kinh doanh cây hoa kiểng nổi tiếng, là địa chỉ mà người dân mỗi khi có nhu cầu trồng hoa cảnh hay đến lựa chọn.

Các vườn kiểng được lựa chọn theo phương pháp chọn mẫu ngẫu nhiên đơn giản. Đối tượng khảo sát là cây cảnh. Khảo sát được thực hiện thông qua mẫu phiếu khảo sát. Mỗi phiếu khảo sát là 1 vừa kiểng. Tổng số lượng phiếu khảo sát là 98 phiếu. Khảo sát tất cả các cây có tại vườn kiểng được chọn. Nội dung phiếu khảo sát gồm 2 phần: phần 1 là các thông tin về vừa kiểng (tên vừa, địa chỉ, tên chủ vừa kiểng, ngày khảo sát) và phần 2 về cây kiểng (tên cây thông thường, đặc điểm cây kiểng thân, lá, hoa, quả, giá bán). Hình thức khảo sát là tiến hành hỏi, quan sát, chụp ảnh, lấy mẫu và ghi chép: (i) Chụp ảnh cả cây, chụp riêng hoa, lá, quả và ghi chú mã số hình ảnh vào phiếu khảo sát; (ii) Lấy mẫu cây cảnh để ép mẫu lưu trữ và tra cứu.

Công tác nội nghiệp chính là định danh loài cây và dược tính bằng dùng những hình ảnh chụp được và mẫu ép để đối chiếu các đặc điểm hình thái xác định tên loài, họ thực vật bằng các tài liệu tra cứu như Cây cỏ Việt Nam (Pham, 2002) và Cây xanh và cây cảnh Sài Gòn (Tran, 1998), Từ Điển Cây Thuốc Việt Nam (Vo, 2012),... Sau đó, lập danh sách và thống kê các dữ liệu thu thập được, tính tần số, tần suất và tỷ lệ (%) các kết quả điều tra và khảo sát... thiết lập các bảng thống kê, vẽ biểu đồ so sánh.

Với hai công trình sân vườn, tác giả đã khảo sát hiện trạng bằng các phương pháp chụp ảnh công trình từ nhiều hướng, quan sát địa hình, tham khảo bản đồ, hướng giao thông và vị trí khu đất, khảo sát công trình liên quan xung quanh khu đất thiết kế, tham khảo ý kiến chủ đầu tư sau đó tổng hợp thông tin và phân tích, đánh giá hiện trạng thiết kế. Các bước thiết kế được thực hiện gồm phân tích thiết kế, tìm ý tưởng, và thể hiện bằng các phần mềm đồ họa chuyên ngành như:

AutoCad, Sketchup và Photoshop.

3. Kết Quả và Thảo Luận

3.1. Số lượng vườn kiếng và số lượng loài

Khảo sát 98 vườn kiếng ở TP. Hồ Chí Minh, trong đó ở Gò Vấp có 48 vườn kiếng (49%), ở quận 7 có 13 vườn kiếng (13,2%), quận Tân Bình có 5 vườn kiếng (5,1%), quận 10 có 17 vườn (17,3%) và quận Thủ Đức có 15 vườn kiếng (15,3%). Các vườn kiếng được khảo sát ở 5 quận có phân bố tập trung để phát triển thành các khu chuyên kinh doanh cây cảnh, tạo điều kiện thuận lợi cho việc chọn mua cây cảnh của người dân. Đề tài đã định danh được 220 loài cây xanh hoa kiếng thuộc 81 họ thực vật trong đó có 120 loài có giá trị dược liệu thuộc 69 họ thực vật, trong đó họ Apocynaceae có số loài đa dạng nhất có 7 loài, họ Lamiaceae có 6 loài, họ Euphorbiaceae có 5 loài, họ Araceae, Asteraceae và Moraceae cùng có 4 loài, kể đến là họ Amaryllidaceae, Araliaceae, Arecaceae, Cucurbitaceae, Myrtaceae, Rubiaceae và họ Rutaceae có 3 loài, các họ còn lại có từ 1 đến 2 loài. Cây cảnh có giá trị dược liệu khảo sát được ở các vườn kiếng đa dạng hơn hẳn so với các cây dược liệu có giá trị cảnh quan ứng dụng vào thiết kế thực tiễn ở Thảo Cầm Viên TP. Hồ Chí Minh (58 loài thuộc 41 họ thực vật) (Nguyen, 2009) và với số loài cây cảnh có tác dụng dược liệu được trồng ở các hộ gia đình (9 loài trồng làm thuốc, 4 loài vừa làm cảnh vừa làm thuốc) (Vu, 2012). Tuy vậy, so với các cây dược liệu hiện được ghi nhận ở nước ta thì số loài cây cảnh có dược tính chỉ chiếm 13,3% trong số 901 loài thuốc nam (Do, 2004), do giới hạn đề tài chỉ khảo sát tập trung vào cây kiếng ở TP. Hồ Chí Minh. Các cây cảnh có giá trị dược liệu ở các vườn kiếng đa dạng và có thể đáp ứng ngay nhu cầu sử dụng của người dân.

3.2. Tần số và tần suất xuất hiện các cây dược liệu ở các vườn kiếng

Tần số và tần suất xuất hiện của các cây cảnh có giá trị dược liệu có sự khác nhau, loài có tần số/tần suất xuất hiện nhiều nhất cây Lưỡi Hổ (*Sansevieria trifasciata parain* var. *laurentii* (De Willd.) N.E.Brown) (72 lần/73,5%). Xuất hiện nhiều tiếp theo có những loài như Ngũ Gia Bì (*Schefflera heptaphylla* (L.) Frodin) và Thủy Trúc (*Cyperus flabelliformis* Rottb.) với (66 lần/67,3%). Kể đến là các loài như

Vạn Niên Thanh (*Aglaonema siamense* Engl.) và Dâm Bụt (*Hibiscus rosa sinensis* L.) (51 lần/52%). Những loài có tần suất xuất hiện ít nhất như: Đại Tướng Quân (*Criminum asiaticum* L.), Mướp Đắng (*Momordica charantia* L.), Bâu (*Langennaria siceraria* (Molina) Standl.), Bướm Bạc (*Mussaenda frondosa* L.), Chè (*Camellia sinensis* (L.) Kuntze), Sung (*Ficus racemosa* L.), Lộc Vừng (*Barringtonia acutangula* (L.) Gaertn), Nhất Mạt Hương (*Plectranthus macranthus* Hook.f.) (17 lần/17,3%).

3.3. Phân nhóm các cây cảnh có giá trị dược liệu

Đề tài này thực hiện phân nhóm cây cảnh có giá trị dược liệu theo 2 cách:

(i) Phân nhóm theo đặc điểm hình thái: gồm 8 nhóm là cây gỗ (23%), cây có hoa làm cảnh (19%), cây có lá làm cảnh (12%), dây leo (13%), cây rau (8%), cây thân cột (6%), cây có thân mọng nước (16%) và cây thủy sinh (3%).

(ii) Phân nhóm theo công dụng dược liệu của cây cảnh: dựa vào công dụng của các cây cảnh có dược tính được tra cứu theo Vo (2012), tác giả đã chia thành 8 nhóm là nhóm cây cảnh có tác dụng an thần trị mất ngủ, nhóm cây cảnh có tác dụng chữa bệnh phụ nữ, nhóm cây cảnh có tác dụng cầm máu, nhóm cây cảnh có thể dùng làm thực phẩm và dùng dưới dạng tươi sống, nhóm cây cảnh có tinh dầu, nhóm cây cảnh chữa các bệnh ngoài da, nhóm cây cảnh có tác dụng chữa cảm sốt và nhóm cây cảnh có tác dụng chữa các bệnh về đường hô hấp.

3.4. Nhóm cây cảnh có tác dụng an thần, trị mất ngủ

Có 8 loài có tác dụng trị an thần, mất ngủ và thuộc 8 họ thực vật khác nhau trong nhóm 5 nhóm hình thái là nhóm cây gỗ có cây Táo (*Ziziphus mauritiana* Lam.) và cây Chè, nhóm cây thân mọng nước có 2 cây là cây Đại Lá Tù (*Plumeria obtusa* L.) và cây Ngô Đồng Cảnh (*Jatropha podagrica* Hook.), nhóm cây thủy sinh có 2 cây là Sen (*Nelumbo nucifera* Gaertn.) và Súng (*Nymphaea stellata* Willd.), nhóm cây leo làm cảnh có một cây là Thiên Lý (*Telosma cordata* (Burm. f.) Merr.), nhóm cây hoa làm cảnh có cây Nhài (*Jasminum sambac* (L.), Ait).

Theo khảo sát, cây Táo có tần số lớn nhất (43 lần) rồi đến cây Nhài với 37 lần, tiếp đến cây Sen và cây Súng với 35 lần.

3.5. Nhóm cây cảnh có tác dụng chữa bệnh phụ nữ

Nhóm này có 12 loài có tác dụng trị bệnh phụ nữ thuộc 9 họ thực vật khác nhau, trong đó họ Rubiaceae có nhiều loài nhất 3 loài là Trang Đỏ (*Ixora coccinea* L.), Trang Vàng (*Ixora lutea* Hutch.) và Hoa Hồng (*Rosa chinensis* Jacq.). Nhóm công dụng này có mặt ở 6 nhóm hình thái là nhóm cây hoa làm cảnh với 4 loài là Cẩm Chướng Gấm (*Dianthus chinensis* L.), Trang Đỏ, Trang Vàng và cây Hoa Hồng, nhóm cây rau với 3 loài là Nha Dam (*Alove vera* (L.) Burm.f.), Ngải Cứu (*Artemisia vulgaris* L.) và Diệp Cá (*Houttuynia cordata* Thunb.), nhóm cây leo làm cảnh có cây Đắng Tiêu (*Campsis radicans* Seem.), nhóm cây lá làm cảnh với 2 loài là Thiên Niên Kiện (*Homalomena occulta* (Lour.) Schott.) và Trạng Nguyên (*Euphorbia pulcherrima* Willd. ex Klotzsch), nhóm cây thân cột có cây Huyết Dụ (*Cordyline fruticosa* L.).

Cây Trang Đỏ có tần số lớn nhất với 66 lần, tiếp theo là Trạng Nguyên (35 lần) và cây Nha Dam với 28 lần.

3.6. Nhóm cây cảnh có tác dụng cầm máu

Trong nhóm này, có 5 loài có tác dụng cầm máu thuộc 5 họ thực vật khác nhau và được chia thành 4 nhóm hình thái là nhóm cây hoa làm cảnh và cây thân cột có số loài nhiều nhất (2 loài) lần lượt là các cây như Mào Gà Đỏ (*Celosia argentea* L. var. *cristata*) và Hoa Hồng; Cau Kiểng Vàng (*Chrysalidocarpus lutescens* H. Wendl.) và Huyết Dụ. Nhóm cây thân mọng nước có cây Sống Đời (*Kalanchoe pinnata* (Lam.) Pers.) và nhóm cây thủy sinh có cây Sen. Cây Mào Gà Đỏ gặp nhiều nhất với 43 lần, cây Cau Kiểng Vàng (37 lần), cây Sống Đời với 35 lần.

3.7. Nhóm cây cảnh làm thực phẩm và dùng dưới dạng tươi sống

Trong nhóm này có 24 cây có thể dùng làm thực phẩm và dùng dưới dạng tươi sống thuộc 20 họ thực vật khác nhau. Trong đó, họ Asteraceae gồm các loài là Rau Ngổ (*Enhydra fluctuans* Lour.) và loài Ngải Cứu, họ Cucurbitaceae gồm 2 loài là Mướp (*Luffa cylindrical* (L.) M.Roem.) và Mướp Đắng, họ Lamiaceae với 2 loài Tần Lá Dày (*Coleus amboinicus* Lour.) và Tía Tô (*Perilla frutescens* (L.) Britton). Các cây thuộc 7 nhóm hình thái là nhóm cây rau như: Rau Ngót

(*Sauropus androgynus* (L.) Merr.), Diệp Cá, Nha Dam, Cây Ót (*Capsicum frutescens* L.), Mồng Tơi (*Basella alba* L.), Ngải Cứu, Tía Tô, Rau Răm (*Polygonum odoratum* Lour.), Rau Ngổ và Mã Đề (*Plantago major* L.); nhóm cây gỗ có các cây Cóc Chua (*Spondias pinnata* (L.f.) Kurz.), Lộc Vừng, Ổi (*Psidium guajava* L.), Táo, Quất (*Fortunella japonica* Thunb.) và cây Xirô (*Carissa carandas* L.); nhóm cây leo làm cảnh có 3 cây là Mướp, Mướp Đắng và cây Nho (*Vitis vinifera* L.); nhóm cây thân mọng nước có 2 loài là Thài Lài Tía (*Zebrina pendula* Schnizl.) và Tần Lá Dày; nhóm cây hoa làm cảnh, lá làm cảnh và thân cột có 1 loài lần lượt là cây Mua (*Melastoma candidum* D.Don), Cỏ Tồng Đuôi Lươn (*Codiaeum variegatum* (L.) Blume) và Đu Đủ (*Carica papaya* L.). Cây Ổi có tần số lớn nhất (48 lần), tiếp theo cây Thài Lài Tía, cây Táo và cây Quất (32 lần).

3.8. Nhóm cây cảnh có tinh dầu

Nhóm này có 9 cây có tinh dầu thuộc 6 họ thực vật khác nhau. Trong đó, họ Lamiaceae có nhiều loài nhất với 4 loài Hương Thảo (*Rosmarinus officinalis* L.), Tần Lá Dày, Bạc Hà (*Mentha arvensis* L.) và Nhất Mạt Hương. Về mặt hình thái, nhóm này đa phần thuộc nhóm cây lá làm cảnh (Bạc Hà, Hương Thảo và Lá Dứa (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.)) và nhóm cây gỗ (Chanh (*Citrus aurantifolia* (Christm. & Panzer) Swingle), Bưởi (*Citrus grandis* L.) và Quất), nhóm cây thân mọng nước với 2 loài cây là Tần Lá Dày và Nhất Mạt Hương, nhóm cây hoa làm cảnh và cây rau có 1 loài lần lượt là cây Nhài và Cây Sả (*Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf). Theo khảo sát, cây gặp lại nhiều nhất là cây Hương Thảo (49 lần), cây Nhài, (37 lần), xuất hiện nhiều tiếp theo là cây Quất.

3.9. Nhóm cây cảnh chữa các bệnh ngoài da

Có 29 loài có tác dụng trị các bệnh ngoài da thuộc 22 họ thực vật khác nhau. Trong đó, họ Araliaceae có 3 loài như Ngũ Gia Bì, Rau Má Thái (*Hydrocotyle bonariensis* Comm.ex Lam.) và Đinh Lăng Đuôi Phụng (*Polyscias fruticosa* L.H.Bailey), 5 họ có 2 loài thuộc nhóm chữa bệnh ngoài da là họ Begoniaceae, Cucurbitaceae, Moraceae, Myrtaceae, Rubiaceae, các họ còn lại có 1 loài. Về hình thái, nhóm cây gỗ chiếm số lượng nhiều nhất với 10 loài (Lộc Vừng, Đa Búp Đỏ (*Ficus elastica* Roxb. ex Horn.),...); nhóm cây

leo làm cảnh gồm 7 loài như Thiên Lý, Đậu Biếc (*Clitoria ternatea* L.), Huỳnh Anh (*Allamanda cathartica* L.), Tóc Tiên (*Quamoclit penanata* (Lam.) Bojer) và Đấng Tiếu; nhóm cây thân mọng có 4 loài như Đại Tướng Quân, Xương Khô (*Euphorbia tirucalli* L.), Thu Hải Đường (*Begonia semperflorens* Link et Otto); nhóm cây hoa làm cảnh và cây rau cùng có 3 loài; nhóm cây thân cột và cây thủy sinh chỉ có 1 loài. Cây có tần số xuất hiện nhiều nhất là cây Trang Đỏ và Ngũ Gia Bì (66 lần), tiếp đến là cây Dâm Bụt, Mít (*Artocarpus heterophyllus* Lam.) với 51 lần, tiếp theo cây Đinh Lăng Đuôi Phụng và cây Ổi 48 lần.

3.10. Nhóm cây cảnh có tác dụng chữa cảm sốt

Theo kết quả thống kê, có 19 loài có tác dụng trị cảm sốt thuộc 16 họ thực vật khác nhau. Trong đó họ Araliaceae có nhiều loài nhất với 3 loài Ngũ Gia Bì, Rau Má Thái, Đinh Lăng Đuôi Phụng và họ Lamiaceae có 2 loài Tía Tô và Bạc Hà. Các loài cây phân bố ở cả 8 nhóm hình thái, trong đó nhóm cây gỗ chiếm số lượng nhiều nhất với 7 loài như Bàng (*Terminalia catappa* L.), Đa Búp Đỏ, Chanh, cây Chè...; nhóm cây rau có 4 loài gồm Tía Tô, Rau Má Thái, Mã Đề và cây Sả; nhóm cây có lá làm cảnh với 3 loài Môn Đốm (*Caladium bicolor* (Aiton) Vent.), Trắc Bách Diệp (*Thuja orientalis* L.) và Bạc Hà; các nhóm cây còn lại có 1 loài. Cây được gặp lại nhiều nhất là cây Ngũ Gia Bì, xuất hiện nhiều tiếp theo cây Đinh Lăng Đuôi Phụng.

3.11. Nhóm cây cảnh có tác dụng chữa các bệnh về đường hô hấp

Có 20 loài cây cảnh có tác dụng chữa các bệnh về đường hô hấp thuộc 20 họ thực vật khác nhau và nằm trong 7 nhóm hình thái. Nhóm cây thân mọng nước chiếm số lượng nhiều nhất với 5 loài như Lê Bạ (*Tradescantia discolor* L'Her), Lưỡi Hổ, Đại Tướng Quân... Các nhóm cây có 3 loài là nhóm cây gỗ, lá làm cảnh, hoa làm cảnh và cây leo làm cảnh, kể đến nhóm cây rau có 2 loài và nhóm cây thân cột có 1 loài. Các cây có tần số lớn nhất gồm Lưỡi Hổ, Vạn Niên Thanh và Dâm Bụt.

Đề tài cũng nhận thấy, trong mỗi nhóm công dụng của các cây cảnh được liệt kê đều có những nhóm hình thái đặc trưng như: cây cảnh có thể dùng dưới dạng tươi sống thuộc nhóm cây rau (10

loài/24 loài), cây cảnh có tác dụng chữa cảm sốt thì thuộc nhóm hình thái cây gỗ nhiều nhất (10 loài/19 loài) và cây có tác dụng chữa các bệnh về đường hô hấp thuộc nhóm thân mọng nước là đa số (5 loài/20 loài).

Ngoài việc ứng dụng và phối kết theo các tiêu chí hình dáng, màu sắc, tỷ lệ và theo mùa như cây cảnh thông thường, nhóm tác giả kết hợp đặc điểm hình thái, sinh lý và đặc điểm về dược tính của cây đề xuất một số nguyên tắc ứng dụng cây cảnh được liệt kê trong thiết kế sân vườn như sau: các cây có tinh dầu giúp tinh thần thư thái nên được bố trí trong vườn nghỉ ngơi hoặc khu thưởng trà, khu tập yoga, thiền; cây có dáng đẹp và hoa thơm nhẹ được bố trí trong vườn ngắm cảnh; khu vườn rau vừa cung cấp một số loại rau phổ biến theo sở thích gia chủ vừa có thể được xem như một tiểu cảnh trang trí sân vườn, ngoài ra, đây còn có thể là nơi trồng một số loài cây có tác dụng chữa bệnh thông thường; các cây gia vị có thể trồng cạnh khu tổ chức tiệc nhỏ ngoài trời.

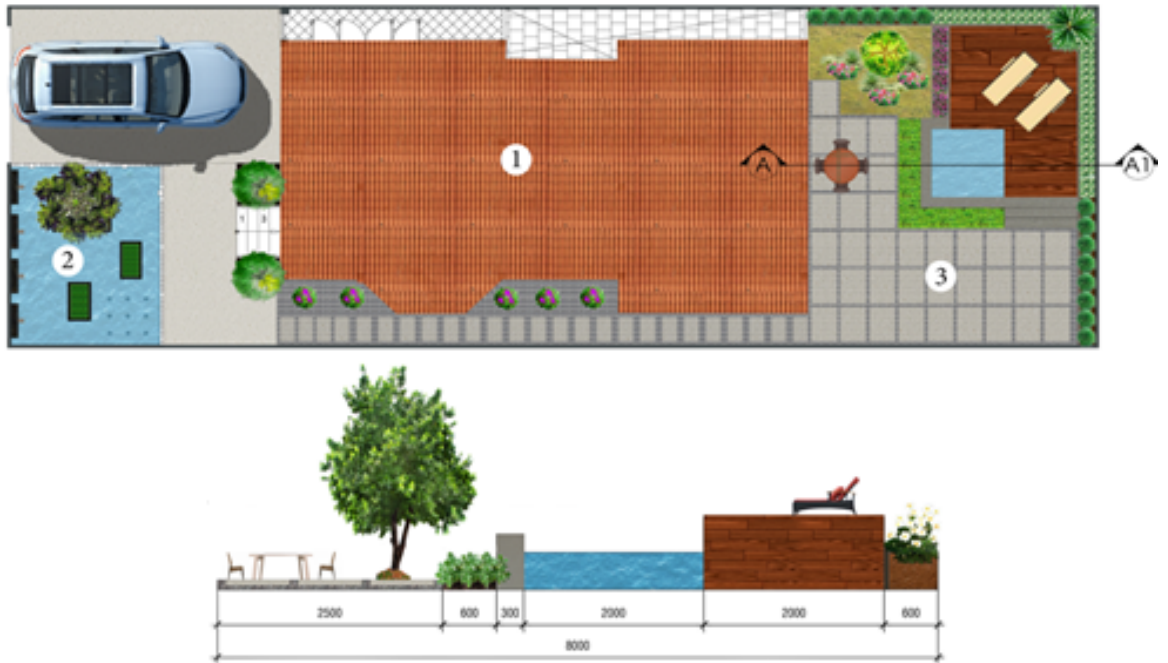
Ứng dụng các loài cây cảnh được liệt kê đã khảo sát được vào thiết kế 2 mẫu sân vườn biệt thự nhà phố với các nguyên tắc thiết kế cảnh quan và được thực hiện theo yêu cầu của gia chủ là người yêu cây được liệt kê và mong muốn trang trí sân vườn bằng những loài cây này.

3.11.1. Mẫu sân vườn 1

Mẫu sân vườn 1 là mẫu sân vườn nhà phố tọa lạc tại đường Xuân Thủy, phường An Phú, Quận 2, TP.HCM có tổng diện tích là 300 m² trong đó, diện tích ngôi nhà là 110 m² còn lại là diện tích sân vườn 190 m². Khảo sát hiện trạng cho thấy bên phải và bên trái khu đất tiếp giáp các căn nhà phố khác, phía sau khu đất là diện tích đất chưa xây dựng.

Nhà phố này có phong cách thiết kế hiện đại, sử dụng gam màu trắng là chủ đạo. Chủ nhà thích vườn mang hơi thở hiện đại nhưng vẫn giữ được nét truyền thống Việt Nam. Do đó, sân vườn được thiết kế gồm 3 khu là khu nhà ở, khu ngắm cảnh và khu nghỉ ngơi. Trong đó, vườn ngắm cảnh có diện tích 10 m × 7,4 m nằm ở mặt trước của ngôi nhà, vườn nghỉ ngơi có diện tích 10 m × 7 m nằm ở mặt sau ngôi nhà (Hình 1).

Vườn ngắm cảnh bao gồm sân đậu xe, lối đi và tiểu cảnh. Thiết kế tiểu cảnh nước với dòng thác nhỏ đổ xuống mặt nước tạo nên những âm thanh róc rách làm cho không gian trở nên đa dạng và sống động, bên trong hồ nước bố trí các bồn



Hình 1. Mặt bằng tổng thể sân vườn nhà và mặt cắt vườn nghỉ ngơi.

để trồng cây. Cây được dùng cho tiểu cảnh gồm Thủy Trúc, Đại Lá Tù và Bạch Trinh Biển (*Hymenocallis littoralis* (Jacq.) Salisb.). Điểm nhấn chính là cây Đại Lá Tù với dáng cây đẹp và hoa thơm nhẹ. Dòng chảy của nước kết hợp với màu xanh của cây lá và màu trắng của hoa tạo cho con người cảm giác mát mẻ. Gia chủ có thể ngắm cảnh từ trong nhà thông qua cửa kính phòng khách, khách đến chơi nhà có thể nghe được âm thanh vui tai của nước và ngắm hoa Bạch trinh nở quanh năm.

Tiểu cảnh sân sau là vườn nghỉ ngơi (Hình 2) được thiết kế theo phong cách hiện đại, tận dụng khoảng không gian này để làm nơi vui chơi, nghỉ ngơi của gia đình với sàn gỗ ngoài trời có ghế nằm nghỉ hóng mát. Bồn hoa Cúc Bách Nhật (*Gomphrena globosa* L.) dọc theo sàn gỗ làm cho sàn gỗ bớt đơn điệu khô khan. Hồ nước động phía trước sàn gỗ làm cho không gian trở nên sinh động hơn. Vì là khu nghỉ ngơi nên cây trồng ở khu này chủ yếu là các cây có tinh dầu giúp tinh thần thư thái hơn sau mỗi ngày làm việc như cây Nhài, Nhất Mạt Hương, Bưởi kết hợp với các cây Mạch Môn (*Ophipogon japonicus* 'Kyoto Dwarf'), Cúc Bách Nhật, Agao mỹ (*Agave americana* L.), Dừa Cạn (*Catharanthus roseus* (L) G.Don).

Vì bao quanh nhà phố là tường rào đóng kín



Hình 2. Phối cảnh sân vườn nghỉ ngơi.

nên tác giả bố trí một số loài cây xanh để góc tường bớt khô cứng, nặng nề. Màu trắng của hoa nhài trồng trong bồn ôm chân tường đem lại không khí tươi mát cho sân vườn. Ngoài ra, các cây dùng ở vườn sau còn có tác dụng chữa các bệnh ngoài da, tim mạch và các bệnh về đường hô hấp. Danh mục cây xanh bố trí trong mẫu vườn 1 thể hiện ở Bảng 1.

3.11.2. Mẫu sân vườn 2

Mẫu sân vườn 2 là mẫu sân vườn biệt thự tọa lạc tại 430K Tây Hòa, Phước Long A, quận 9,

Bảng 1. Danh mục cây xanh bố trí trong mẫu vườn 1

STT	Tên thông thường	Tên khoa học	Họ thực vật	Quy cách ¹	Đơn vị tính	Số lượng
1	Agao Mỹ	<i>Agave americana</i> L.	Agavaceae	Cao 45 cm	cây	3
2	Cúc bách nhật	<i>Gomphrena globosa</i> L.	Amaranthaceae	Cao 30 cm	m ²	1
3	Phong huê	<i>Zephyranthes rosea</i> Lindl.	Amaryllidaceae	Cao 15 cm	cây	5
4	Bạch trinh biển	<i>Hymenocallis littoralis</i> (Jacq.) Salisb	Amaryllidaceae	Cao 40 cm	m ²	2
5	Dừa cạn	<i>Catharanthus roseus</i> (L.) G.Don	Apocynaceae	Cao 17 cm	cây	3
6	Đại lá tù	<i>Plumeria obtusa</i> L.	Apocynaceae	DK gốc 10 cm DK tán 3 m Cao 3,5 m	cây	1
7	Mạch môn	<i>Ophiopogon japonicus</i> Kyoto Dwarf [†]	Asparagaceae	Cao 15 cm	cây	15
8	Thủy trúc	<i>Cyperus flabelliformis</i> Rottb.	Cyperaceae	Cao 50 cm	m ²	1
9	Nhất mạch hương	<i>Plectranthus macranthus</i> Hook.	Lamiaceae	Cao 12 cm	m ²	3,3
10	Nhài	<i>Jasminum sambac</i> (L.), Ait.	Oleaceae	Cao 45 cm	m ²	4,7
11	Cây bưởi	<i>Citrus grandis</i> L.	Rutaceae	DK gốc 2 cm DK tán 1 m Cao 1,5 m	cây	1
12	Quất	<i>Fortunella japonica</i> Thunb.	Rutaceae	Cao 50 cm	cây	2

[†]DK: Đường kính.

Bảng 2. Danh mục cây xanh bố trí trong mẫu vườn 2

STT	Tên thông thường	Tên khoa học	Họ thực vật	Quy cách ¹	Đơn vị tính	Số lượng
1	Nha đam	<i>Aloe vera</i> (L.) Burm.f.	Aloaceae	Cao 30 cm	cây	5
2	Xoài	<i>Mangifera indica</i> L.	Anacardiaceae	ĐK gốc 2 cm ĐK tán 1 m Cao 1,5 m	cây	1
3	Cúc sao nhái	<i>Cosmos bipinnatus</i> Cav.	Asteraceae	Cao 30 cm	m ²	17
4	Cẩm chướng gấm	<i>Dianthus chinensis</i> L.	Caryophyllaceae	Cao 15 cm	cây	4
5	Trắc bách diệp	<i>Thuja orientalis</i> L.	Cupressaceae	Cao 47 cm	m ²	2,3
6	Tía tô	<i>Perilla frutescens</i> (L.) Britton	Lamiaceae	Cao 30 cm	cây	3
7	Tần lá dày	<i>Coleus amboinicus</i> Lour.	Lamiaceae	Cao 30 cm	cây	2
8	Súng	<i>Nymphaea stellata</i> Willd.	Nymphaeaceae		cây	4
9	Mã đề	<i>Plantago major</i> L.	Plantaginaceae	Hạt giống	m ²	2,4
10	Rau răm	<i>Polygonum odoratum</i> Lour.	Polygonaceae	Cao 7 cm	cây	2
11	Dương xỉ	<i>Pteris ensiformis</i> Burm.f.	Pteridiaceae	Cao 20 cm	m ²	0,6
12	Mận	<i>Syzygium samarangense</i> (Blume) Merr. & L.M. Perry)	Rosaceae	ĐK gốc 7 cm ĐK tán 1,5 m Cao 1,8 m	cây	1
13	Quất	<i>Fortunella japonica</i> Thunb.	Rutaceae	Cao 50 cm	cây	2
14	Vú sữa	<i>Chrysophyllum cainito</i> L.	Sapotaceae	ĐK gốc 10 cm ĐK tán 2,5 m Cao 3,5 m	cây	1
15	Diếp cá	<i>Houttuynia cordata</i> Thunb.	Sauraceae	Cao 17 cm	m ²	2,7
16	Ớt	<i>Capsicum frutescens</i> L.	Solanaceae	Cao 30 cm	m ²	0,5

¹ĐK: Đường kính.

TP.HCM, có tổng diện tích là 253 m² trong đó, diện tích ngôi nhà là 76 m², còn lại là diện tích sân vườn 177 m². Kiến trúc ngôi nhà được thiết kế theo xu hướng hiện đại nên cảnh quan sân vườn cũng thiết kế theo phong cách này. Chủ nhà rất yêu thích yếu tố nước nên diện tích mặt nước chiếm phần lớn sân vườn.

Sân vườn được thiết kế gồm 5 khu là khu nhà ở, khu ngắm cảnh, vườn rau, khu tiểu cảnh và khu thưởng trà. Trong đó khu ngắm cảnh nằm ở sân trước ngôi nhà, vườn rau nằm ngay bên phải biệt thự gần phòng ăn, khu uống trà nằm phía sau ngôi nhà, khu tiểu cảnh nằm bên trái biệt thự (Hình 3).



Hình 3. Mặt bằng tổng thể sân vườn biệt thự và mặt cắt khu thưởng trà.

Khu ngắm cảnh có điểm nhấn là đài phun nước dạng xoắn ốc. Hồ nước tĩnh trồng hoa sen bên phải để phân chia không gian lối đi và khu ngôi ngắm cảnh. Chủ nhà có thể ngồi nghỉ ngơi, ngắm cảnh bên dưới giàn leo. Khu này trồng các cây bóng mát như Vú Sữa (*Chrysophyllum cainito* L.) và Mận (*Syzygium samarangense* (Blume) Merr. & L.M.Perry).

Vườn rau (Hình 4) tiếp giáp với phòng ăn, với diện tích không lớn của khu vườn nên tác giả đã thiết kế thành vườn theo dạng tầng bậc với một số loại rau như: Diếp Cá, Mã Đề, Ớt,... Các cây này ngoài công dụng là những cây rau sử dụng trong đời sống hằng ngày còn có những công dụng được liệu khác như cây Diếp Cá trị táo bón, viêm đau mắt đỏ, viêm tai giữa... , cây Mã Đề dùng chữa cảm lạnh ho, viêm phế quản... Xen kẽ các bồn để trồng rau là các chậu trồng Nha Đam, Tía Tô, Tần Lá Dày.

Sàn gỗ lộ thiên được bố trí ngay cạnh bên cây Vú Sữa. Lối đi dẫn đến sàn gỗ bằng những phiến



Hình 4. Phối cảnh vườn rau.

gạch vuông màu trắng nổi bật trên nền xanh của thảm cỏ là một yếu tố tạo hình quan trọng của sân vườn (Hình 5).



Hình 5. Phối cảnh khu uống trà.

Góc nhìn từ cổng vào là thảm cỏ được bố trí xích đu để ngồi nghỉ ngơi ngắm nhìn cảnh ở sân trước. Phía xa là tiểu cảnh nước chảy tràn, thiết kế bố trí cây Trắc Bách Diệp bên dưới tiểu cảnh để che đi phần kết cấu bên trong của tiểu cảnh, cây Trắc Bách Diệp có được tính là cầm máu, chữa ho sốt và lợi tiểu. Danh mục cây xanh bố trí trong mẫu vườn 2 thể hiện ở Bảng 2.

4. Kết Luận

Đề tài đã khảo sát và định danh được 120 loài cây cảnh có giá trị dược liệu thuộc 69 họ thực vật tại các vườn kiếng ở quận Gò Vấp, quận 7, quận 10, quận Thủ Đức, quận Tân Bình, Thành phố Hồ Chí Minh. Qua phân tích và tổng hợp số liệu, đề tài đã xác định được tần số và tần suất xuất hiện của các loại cây cảnh trên. Việc phân nhóm

các cây cảnh có giá trị dược liệu theo hình thái và theo công dụng đã hỗ trợ ứng dụng trong thiết kế 2 mẫu sân vườn theo phong cách vườn hiện đại với các bản vẽ mặt bằng, mặt cắt và phối cảnh.

Cần có những nghiên cứu khảo sát sâu rộng hơn điều tra về các cây cảnh dược liệu không chỉ tại Thành phố Hồ Chí Minh. Đồng thời, cần tìm hiểu nhu cầu cụ thể của người dân về việc sử dụng cây cảnh dược liệu.

Tài Liệu Tham Khảo (References)

- Abdullah, I. N. (2015). *Identification of ornamental plant which possess medicinal function based on its leaf shape, texture, and color features*. (Unpublished doctoral dissertation). School of Science and Engineering, Saga University, Indonesia.
- Do, L. T. (2004). *Vietnam's medicinal plants and herbs*. Ha Noi, Vietnam: Medical Publishing House.
- Dung, T. N. (2017). Visit the Go Vap flower village on Tet holiday. Retrieved February 10, 2017, from <http://cand.com.vn/Xa-hoi/Tham-lang-hoa-Go-Vap-khi-Xuan-ve-172936/>.
- Gia, B. (2016). The 8X Da Lat generation successfully started its business from planting. Retrieved February 25, 2017, from <https://baodautu.vn/8x-da-lat-khoi-nghiep-thanh-cong-tu-trong-cay-kieng-duoc-lieu-d50460.html>.
- Le, T. P., & Pham, C. K. (1993). *Urban trees*. Ha Noi, Vietnam: Construction Publishing House.
- Min, B. C., Omar-Hor, K., & Chow Lin, O. Y. (2003). *1001 Garden plants in Singapore*. Singapore: Nation Parks Board.
- Nguyen, D. H. (2003a). *Beautiful ornamental plants used as medicinal herbs or treatments for disease*. Ha Noi, Vietnam: Ha Noi Publishing House.
- Nguyen, D. H. (2003b). *Ornamental plants – medicinal herbs in school grounds*. Ha Noi, Vietnam: Vietnam Education Publishing House.
- Nguyen, M. T. N. (2009). *Identification of medicinal plants with landscape values in the Sai Gon zoo and botanical gardens of Ho Chi Minh City*. (Unpublished bachelor thesis). Nong Lam University, Ho Chi Minh City, Vietnam.
- Pham, H., Bui, C. V., & Le, T. V. (2000). *Medicinal plants, remedies, and proprietary medicines*. Ha Noi, Vietnam: Medical Publishing House.
- Pham, H. H. (2002). *An illustrated Flora of Vietnam*. Ho Chi Minh City, Vietnam: Tre Publishing House.
- TDPC (Thu Duc District People's Committee). (2016). Planning for development of ornamental plants in Thu Duc district in the period of 2016 - 2020. Retrieved April 18, 2019, from <http://quantri.thuduc.hochiminhcity.gov.vn/Data/UBND/thuduc/Attachments/VB%20ch%E1%BB%89%20%C4%91%E1%BA%A1o/Th%C3%A1ng%203/67-110316.pdf>.
- Thu, P. (2017). Vietnamese medicine plants have a chance of reaching the world market. Retrieved June 15, 2017, from <https://www.vietnamplus.vn/duoc-lieu-viet-nam-co-co-hoi-vuon-ra-thi-truong-the-gioi/442613.vnp>.
- Tran, H. (1998). *Trees and ornamental plants in Sai Gon – Ho Chi Minh city*. Ha Noi, Vietnam: Agricultural Publishing House.
- Tran, H. (2016). *Viet Nam ornamental plants resources, Volume No. 2*. Ha Noi, Vietnam: Agricultural Publishing House.
- Tran, T. T. H., Cusi, M., Ta, S. M., Nguyen, C. D. T., Eugui, D. V., Dent, R., & Durlava, M. (2016). The interface between access and benefit-sharing rules and BioTrade in Viet Nam. *United Nations Conference on Trade and Development*. Retrieved January 7, 2019, from http://unctad.org/en/PublicationsLibrary/webditcted2016d9_en.pdf.
- Vo, C. V. (2012). *Dictionary of Vietnamese medicinal plants*. Ha Noi, Vietnam: Medical Publishing House.
- Vu, L. T. T. (2012). *Investigation of medicinal bonsai plants in Ho Chi Minh City and coordinating them in the landscape*. (Unpublished bachelor thesis). Nong Lam University, Ho Chi Minh City, Vietnam.

Climate change vulnerability zoning for suburban districts of Ho Chi Minh City

Linh T. Vu^{1*}, Lam T. Vo², Dung M. Ho³, & Loi K. Nguyen⁴

¹Institute for Environment and Resources, Vietnam National University Ho Chi Minh City, Vietnam

²Department of Agriculture and Rural Development of Ho Chi Minh City, Ho Chi Minh City, Vietnam

³The Institute for Computational Science and Technology, Ho Chi Minh City, Vietnam

⁴Research Center for Climate Change, Nong Lam University, Ho Chi Minh City, Vietnam

ARTICLE INFO

Research Paper

Received: October 02, 2018

Revised: December 16, 2018

Accepted: February 20, 2019

Keywords

Adaptation

Climate change

GIS

Ho Chi Minh City

Vulnerability zoning

*Corresponding author

Vu Thuy Linh

Email: vtlinh.uk@gmail.com

ABSTRACT

The study aimed to partition vulnerabilities caused by climate change in suburban districts of Ho Chi Minh City by integrating the use of AHP and GIS. The subjects used data collected from different departments, from surveys in the study area, and consulted with experts in the field of research to assess the weight of factors: Exposure, sensitivity and adaptability. After overlapping component maps, the results showed that the high vulnerability to climate change in five suburban districts of Ho Chi Minh City by 2025 was dominated by Binh Chanh, Nha Be and Hoc. Area of 35,865.57 ha (accounting for 22.84%). The low and medium damage was concentrated in Cu Chi and Can Gio (the respective area was 36,354.33 ha, equivalent to 23.16% and 84,762.27 ha, equivalent to 54%). In addition, the study proposed solutions to increase adaptation and mitigation of the impacts of climate change on the lives of people in the affected area.

Cited as: Vu, L. T., Vo, L. T., Ho, D. M., & Nguyen, L. K. (2019). Climate change vulnerability zoning for suburban districts of Ho Chi Minh City. *The Journal of Agriculture and Development* 18(5), 98-107.

Phân vùng tổn thương do biến đổi khí hậu đến các huyện ngoại thành của Thành Phố Hồ Chí Minh

Vũ Thùy Linh^{1*}, Võ Thị Lâm², Hồ Minh Dũng³ & Nguyễn Kim Lợi⁴

¹Viện Môi Trường và Tài Nguyên, Đại Học Quốc Gia TP.HCM, TP. Hồ Chí Minh

²Sở Nông Nghiệp và Phát Triển Nông Thôn TP.HCM, TP. Hồ Chí Minh

³Viện Khoa Học Công Nghệ Tính Toán, TP. Hồ Chí Minh

⁴Khoa Môi Trường và Tài Nguyên, Trường Đại Học Nông Lâm TP.HCM, TP. Hồ Chí Minh

THÔNG TIN BÀI BÁO

Bài báo khoa học

Ngày nhận: 02/10/2018

Ngày chỉnh sửa: 16/12/2018

Ngày chấp nhận: 20/02/2019

Từ khóa

Biến đổi khí hậu

GIS

Phân vùng tổn thương

Thành phố Hồ Chí Minh

Thích ứng

*Tác giả liên hệ

Vũ Thùy Linh

Email: vtlinh.uk@gmail.com

TÓM TẮT

Nghiên cứu nhằm phân vùng tổn thương do biến đổi khí hậu tại các huyện ngoại thành của TP. Hồ Chí Minh bằng cách tích hợp sử dụng phương pháp AHP và GIS. Đề tài sử dụng các số liệu thu thập được từ các Sở ban ngành, từ điều tra khảo sát trên địa bàn nghiên cứu và tham vấn ý kiến của các chuyên gia trong lĩnh vực nghiên cứu nhằm đánh giá trọng số cho các yếu tố phơi nhiễm, mức độ nhạy cảm và khả năng thích ứng. Sau khi chồng lớp các bản đồ thành phần, kết quả đạt được cho thấy vùng nguy cơ tổn thương cao do biến đổi khí hậu trong huyện ngoại thành của TP. Hồ Chí Minh vào năm 2025 chủ yếu là Bình Chánh, Nhà Bè và Hóc Môn với diện tích 35.865,57 ha (chiếm 22,84%). Phần tổn thương thấp và trung bình tập trung ở Củ Chi và Cần Giờ (diện tích tương ứng là 36.354,33 ha tương đương 23,16% và 84.762,27 ha tương đương 54%). Bên cạnh đó, nghiên cứu còn đề xuất các giải pháp nhằm tăng khả năng thích ứng và giảm thiểu tác động của biến đổi khí hậu đến đời sống của người dân trong khu vực bị ảnh hưởng.

1. Đặt Vấn Đề

Kể từ thế kỷ 20 cho đến nay, biểu hiện của biến đổi khí hậu (BĐKH) đã diễn ra ngày càng rõ ràng hơn trên quy mô toàn cầu và ở từng khu vực. Thành phố Hồ Chí Minh (TP.HCM) được coi là một trong 10 thành phố hàng đầu trên thế giới có thể bị ảnh hưởng nghiêm trọng nhất bởi BĐKH, xếp thứ 5 về số dân có thể bị ảnh hưởng của BĐKH vào năm 2070 (Kreft & Eckstein, 2013). Tính dễ bị tổn thương do BĐKH của TP.HCM là một mối lo ngại đặc biệt vì nó ảnh hưởng mạnh đến sự phát triển của Việt Nam khi thành phố này đóng góp tới 23% GDP và 20% tổng vốn đầu tư nước ngoài trực tiếp. Theo MONRE (2012 & 2016), tùy theo từng kịch bản gia tăng mực nước biển mà mức độ và phạm vi ảnh hưởng đến TP.HCM cũng sẽ khác nhau. Theo

đó, nó sẽ có khoảng từ 13,3% - 36,2% diện tích thành phố nguy cơ bị ngập tương ứng với sự gia tăng mực nước biển từ 0,5 - 2,0 m. Hơn nữa, khoảng từ 4,5% - 13,7% dân số thành phố bị ảnh hưởng trực tiếp tương ứng với sự gia tăng mực nước biển này.

Rõ ràng là BĐKH sẽ ảnh hưởng bất lợi đến TP.HCM, đặc biệt là các huyện ngoại thành là nơi có tốc độ đô thị hóa còn thấp, còn nhiều hộ dân sống dựa vào ngành nông nghiệp và trình độ dân trí còn thấp. Vì vậy, để xây dựng bức tranh toàn cảnh tính dễ bị tổn thương do BĐKH cho các huyện ngoại thành của TP.HCM được thực hiện nhằm các mục tiêu xác định ảnh hưởng của BĐKH đến các huyện ngoại thành TP.HCM; Xây dựng bộ tiêu chí và đánh giá trọng số cho từng yếu tố phơi nhiễm, độ nhạy cảm và khả năng thích ứng; Thành lập bản đồ phân vùng tổn thương do

BDKH tại các huyện ngoại thành TP.HCM.

2. Vật Liệu và Phương Pháp Nghiên Cứu

Đề tài sử dụng thuật toán AHP và công cụ GIS để lập bản đồ phân vùng tổn thương do BDKH theo phương pháp tổng quát của IPCC, 2007.

Tổn thương BDKH = Mức độ phơi nhiễm trước hiểm họa + Tính nhạy cảm - Khả năng phục hồi:
 $Y = E + S - AC$.

Trong đó, Y là hệ số phân vùng tổn thương do BDKH; E là chỉ số mức độ phơi nhiễm trước hiểm họa (là mối đe dọa trực tiếp, mức độ thay đổi các yếu tố như mưa, nhiệt độ,...); S là chỉ số nhạy cảm. Mô tả các điều kiện môi trường của con người có thể làm trầm trọng thêm mức độ nguy hiểm, cải thiện những mối nguy hiểm hoặc gây ra một tác động nào đó hoặc các yếu tố kinh tế xã hội do tác nhân của con người gây ra; A là chỉ số khả năng phục hồi, thể hiện qua các giải pháp mà con người sử dụng trước, trong hoặc sau thiên tai để đối phó với các hậu quả bất lợi và là một hàm của các yếu tố xã hội. Với cách tiếp cận như trên, phương pháp luận nghiên cứu được thể hiện chi tiết như Hình 1.

2.1. Phương pháp điều tra

Tiến hành thu thập dữ liệu thứ cấp về điều kiện kinh tế - xã hội và nhận thức, kinh nghiệm của người dân về BDKH và tác động của BDKH đến người dân trong vùng nghiên cứu và sự hỗ trợ của chính quyền.

Số lượng mẫu điều tra: Xác định theo công thức của Yamane (1967): $n = N / (1 + N \times e^2)$.

Trong đó, n là số lượng mẫu cần xác định cho nghiên cứu điều tra; N là tổng số dân TP.HCM năm 2014; e là mức độ chính xác mong muốn (1- độ tin cậy) (chọn độ tin cậy là 92%).

Dựa vào tỉ lệ dân số của từng huyện, tác giả sẽ lựa chọn đối tượng ngẫu nhiên với cỡ mẫu cần điều tra trên từng huyện cụ thể: Huyện Củ Chi có 40 phiếu và tập trung vào xã Tân Phú Trung vì xã này chuyên trồng rau an toàn; Huyện Hóc Môn có 41 phiếu; Huyện Bình Chánh với 55 phiếu tập trung vào xã Tân Nhựt là xã trồng lúa và cũng thường xuyên xảy ra ngập lụt; Huyện Cần Giờ với 8 phiếu tương đương 4,9% tập trung tại xã Long Hòa; Huyện Nhà Bè với 13 phiếu tập trung tại xã Phước Hiệp, xã có mức độ ngập cao và hay xảy ra sạt lở.

2.2. Phương pháp AHP

Trên cơ sở mục tiêu đánh giá vùng tổn thương do BDKH dựa trên AHP, bước đầu tiên cần tiến hành đó là tổng hợp các yếu tố ảnh hưởng đến phân vùng tổn thương BDKH trên khu vực nghiên cứu. Để có được thông tin đầy đủ, đúng đắn về vấn đề này, phương pháp lược khảo tài liệu và điều tra thực địa được sử dụng. Lược khảo tài liệu giúp nhà nghiên cứu tổng hợp bức tranh toàn cảnh về BDKH trên địa bàn nghiên cứu từ quá khứ đến hiện tại. Trong khi đó, khảo sát thực địa giúp nhà nghiên cứu hiểu rõ hơn về thực trạng tác động của BDKH tại khu vực nghiên cứu cũng như đời sống người dân như thế nào, mối quan hệ giữa BDKH với họ ra sao, những yếu tố tiềm tàng nào có thể tác động đến tính tổn thương trong thời gian sắp tới.

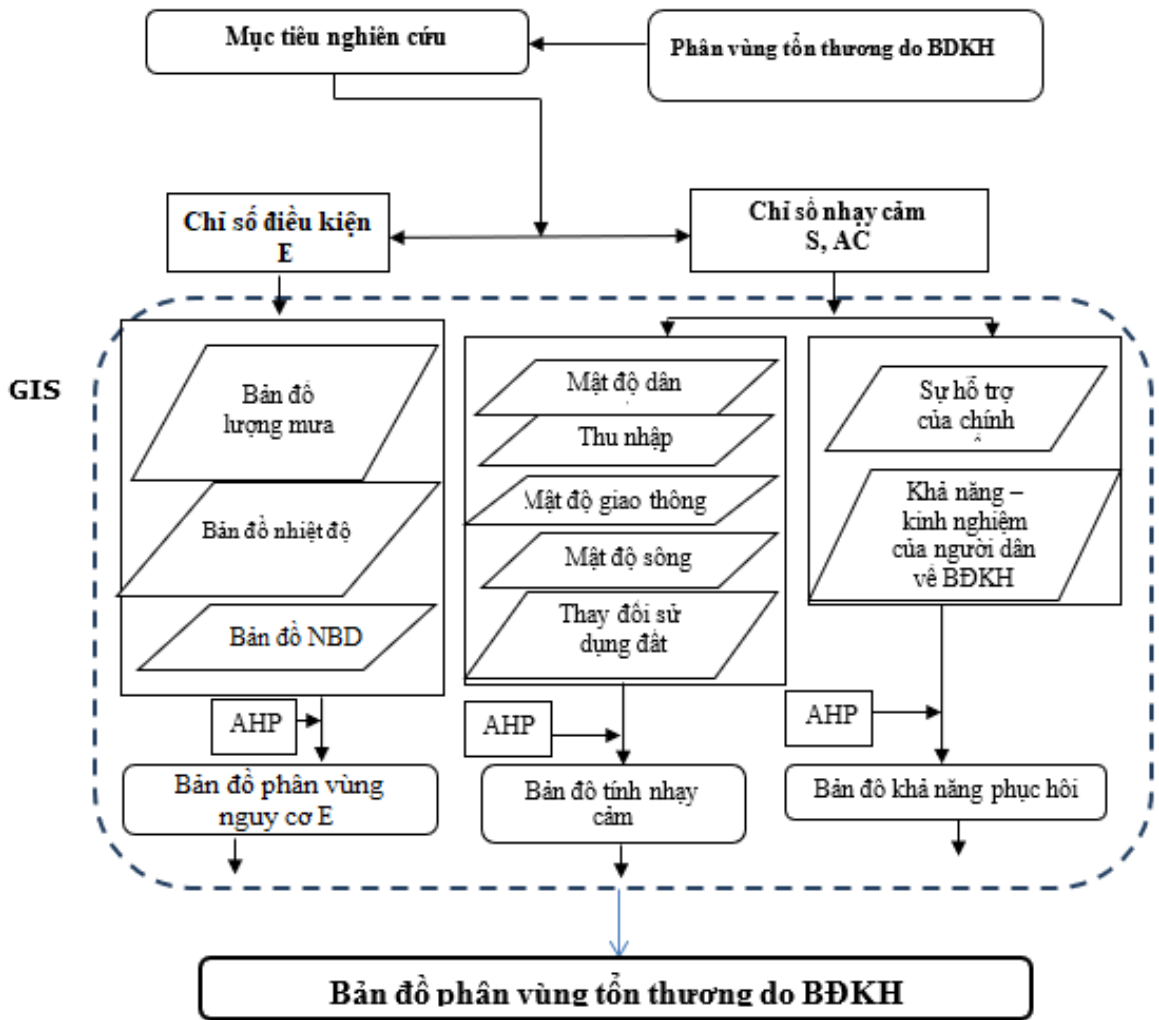
Từ kết quả lược khảo tài liệu và điều tra thực địa, một danh sách các yếu tố ảnh hưởng đến phân vùng tổn thương do BDKH được xây dựng. Những yếu tố này có thể phân thành 4 nhóm: tự nhiên, kinh tế, xã hội, cơ sở hạ tầng.

Dựa trên danh sách các yếu tố ảnh hưởng đến phân vùng tổn thương do BDKH đã thống kê, tiến hành lựa chọn ra những yếu tố ảnh hưởng lớn nhất. Sau đó, một cấu trúc thứ bậc được xây dựng để sắp xếp các yếu tố đã chọn theo từng cấp bậc khác nhau, tạo tiền đề cho quá trình so sánh cặp.

Sau khi đã thiết lập thứ bậc cho các tiêu chí, tiếp theo là cho điểm so sánh theo cặp giữa các tiêu chí. Công việc này đòi hỏi cần có sự tham vấn nhiều chuyên gia đến từ các trường đại học, viện nghiên cứu, cơ quan chính phủ và chính quyền địa phương đại diện cho các lĩnh vực khác nhau. Một bảng câu hỏi được chuẩn bị theo từng chủ đề: (1) Lựa chọn các yếu tố ảnh hưởng đến phân vùng tổn thương do BDKH, (2) Đánh giá việc lựa chọn các yếu tố, (3) So sánh mức độ quan trọng giữa từng cặp yếu tố. Điểm số so sánh cặp cuối cùng cho các tiêu chí sẽ được tất cả các chuyên gia thảo luận và thống nhất.

Do giá trị điểm số trong ma trận so sánh cặp chỉ là định tính nên cần phải chuyển đổi chúng thành các giá trị định lượng và kiểm tra tính nhất quán của ma trận. Quá trình này được thực hiện thông qua AHP. Cuối cùng, nếu tỉ số nhất quán (CR) $\leq 10\%$, kết quả tính toán trọng số của từng yếu tố sẽ được công nhận. Ngược lại, sẽ cần thực hiện lại bước phân tích ý kiến chuyên gia.

Dựa trên trọng số tính toán, kết hợp với việc



Hình 1. Sơ đồ phương pháp luận.

phân cấp, chuẩn hóa tổn thương cho từng tiêu chí, tiến hành chồng lớp thành lập bản đồ phân vùng tổn thương BDKH cho toàn vùng nghiên cứu.

2.3. Phương pháp GIS phân vùng tổn thương do BDKH

Xác định được trọng số các yếu tố nghiên cứu và xây dựng được các lớp thuộc tính cho các bản đồ lượng mưa, xâm nhập mặn, nước biển dâng, xu thế tăng nhiệt độ, kinh tế - xã hội sau đó tiến hành chồng lớp các bản đồ trên để xác định được điểm số vùng tổn thương BDKH. Điểm số này thể hiện dưới phương trình tuyến tính sau:

$$Y = \sum_{i=0}^n (W_{Ei} \times X_{Ei}) + \sum_{j=0}^n (W_{Sj} \times X_{Sj}) -$$

$$\sum_{k=0}^n (W_{Ak} \times X_{Ak}).$$

Trong đó, Y là hệ số phân vùng nguy cơ dễ bị tổn thương do ảnh hưởng của BDKH; W_{Ei} là trọng số các thành phần của E; X_{Ei} là điểm các thành phần của E; W_{Sj} là trọng số các thành phần của S; X_{Sj} là điểm các thành phần của S; W_{Ak} là trọng số các thành phần của A; X_{Ak} là điểm thành phần của A. Thang đánh giá mức độ nguy cơ tai biến nói chung thường có ít nhất 2 cấp và nhiều nhất là 7 cấp (Nguyen, 2006). Số lượng các cấp phụ thuộc vào mục tiêu nghiên cứu, mức độ tài liệu có thể có, tỷ lệ nghiên cứu. Thang đánh giá mức độ nguy cơ thường được diễn tả theo mức độ tăng lên như sau:

Thang 3 cấp: yếu (nhẹ, thấp), trung bình (vừa,...), cao (nặng, mạnh,...).

Thang 5 cấp: rất yếu (rất nhẹ, rất thấp,...), yếu (nhẹ thấp, ...), trung bình (vừa,...), mạnh (nặng, cao,...), rất mạnh (rất nặng, rất cao,...).

Qua tìm hiểu, thống kê phân tích đánh giá các tài liệu có được và căn cứ vào sự phân hóa thực tế của mỗi yếu tố ảnh hưởng đến nguy cơ tổn thương do BDKH, tác giả tiến hành phân chứng thành 4 cấp (Tổn thương thấp, Trung bình, Cao và Rất cao), tương ứng với thang điểm số từ 0 đến 3. Trên cơ sở đó khi phân cấp các tiêu chuẩn cũng được dựa theo thang phân của nguy cơ tổn thương do BDKH.

3. Kết Quả và Thảo Luận

3.1. Xác định trọng số tiêu chí của các yếu tố đánh giá tính dễ bị tổn thương

Các câu hỏi được tác giả thiết kế thành bảng câu hỏi và phỏng vấn chuyên gia, các chuyên gia dùng kiến thức của mình để so sánh mức độ quan trọng của các yếu tố với nhau và cho điểm. Thang điểm được thiết lập từ 0 - 9, tại mỗi giá trị sẽ tương ứng với một thang điểm khác nhau. Sau khi có kết quả của 9 chuyên gia, nhóm tác giả sẽ tính toán chỉ số nhất quán cho từng chuyên gia trước khi tổng hợp lại thành một ma trận chung cho 9 chuyên gia.

3.1.1. Trọng số đối với các tiêu chí của yếu tố độ phơi nhiễm (E)

Trên cơ sở lược khảo tài liệu, các tiêu chí nhiệt độ, lượng mưa, nước biển dâng được sử dụng để thành lập bản đồ cho yếu tố phơi nhiễm do BDKH. Với 9 bảng trả lời của chuyên gia, trọng số cho từng tiêu chí được trình bày trong Bảng 1.

3.1.2. Trọng số đối với các tiêu chí của yếu tố độ nhạy cảm (S)

Đối với yếu tố độ nhạy cảm thì các tiêu chí về Dân số, Thu nhập, Mật độ giao thông, Mật độ sông ngòi và Hiện trạng sử dụng đất được sử dụng đất. Khảo sát 9 chuyên gia, trọng số cho từng tiêu chí được trình bày trong Bảng 2.

3.1.3. Trọng số đối với các tiêu chí của các yếu tố khả năng thích ứng

Các tiêu chí tượng trưng cho yếu tố khả năng phục hồi được tác giả lựa chọn là kinh nghiệm phòng chống các biểu hiện của BDKH với sự hỗ

trợ của chính quyền địa phương (Bảng 3).

3.2. Phân vùng tổn thương do BDKH ở các huyện ngoại thành TP.HCM

3.2.1. Xây dựng bản đồ phơi nhiễm

Sau khi tính toán hệ số nguy cơ của khu vực nghiên cứu vào năm 2015 và 2025, so sánh kết quả của 2 năm thấy rằng độ phơi nhiễm của năm 2025 cao hơn so với năm 2015. Năm 2015 còn có vùng phơi nhiễm thấp nhưng qua năm 2025 chỉ có vùng phơi nhiễm trung bình, cao và rất cao (Hình 2). Kết quả năm 2025 so với năm 2015 thì diện tích vùng phơi nhiễm trung bình và rất cao tăng lên trong khi diện tích vùng phơi nhiễm thấp và cao giảm (Bảng 4). Phân cấp độ phơi nhiễm và diện tích từng vùng được thể hiện như sau: Cấp 1 là vùng có mức độ tổn thương thấp nhất; Cấp 2 là vùng tổn thương trung bình; Cấp 3 là mức tổn thương cao; Cấp 4 là mức tổn thương rất cao.

3.2.2. Xây dựng bản đồ độ nhạy cảm

Đối với năm 2015, vùng nhạy cảm thấp phân bố rải rác trên toàn khu vực nghiên cứu và tập trung chủ yếu ở Cần Giờ, vùng nhạy cảm trung bình phân bố ở cả khu vực nghiên cứu, vùng nhạy cảm cao tập trung chủ yếu ở Hóc Môn (Hình 3). Trong khi đó, năm 2025, vùng nhạy cảm trung bình nằm rải rác trên toàn khu vực nghiên cứu, nhiều nhất là Cần Giờ, vùng nhạy cảm cao trải dài cả khu vực nghiên cứu, vùng nhạy cảm rất cao chủ yếu là Hóc Môn và Nhà Bè. Phân cấp độ nhạy cảm và diện tích từng vùng được thể hiện như sau (Bảng 5): Cấp 1 là vùng có mức độ nhạy cảm thấp nhất; Cấp 2 là vùng nhạy cảm trung bình; Cấp 3 là mức nhạy cảm cao; Cấp 4 là mức nhạy cảm rất cao.

3.2.3. Xây dựng bản đồ khả năng thích ứng

Các yếu tố tượng trưng cho khả năng thích ứng được tác giả lựa chọn là kinh nghiệm phòng chống các biểu hiện của BDKH với sự hỗ trợ của chính quyền địa phương. Các số liệu này được tác giả thực hiện thông qua điều tra phỏng vấn. Giả sử, khả năng thích ứng không thay đổi cho giai đoạn nghiên cứu 2025 (Hình 4).

Kết quả tính toán cho thấy giá trị hệ số khả năng phục hồi chạy từ 2 đến 3, được phân thành 3 cấp như sau:

Cấp 1: Chủ yếu phân bố ở huyện Bình Chánh,

Bảng 1. Trọng số các tiêu chí của yếu tố độ phơi nhiễm (E)¹

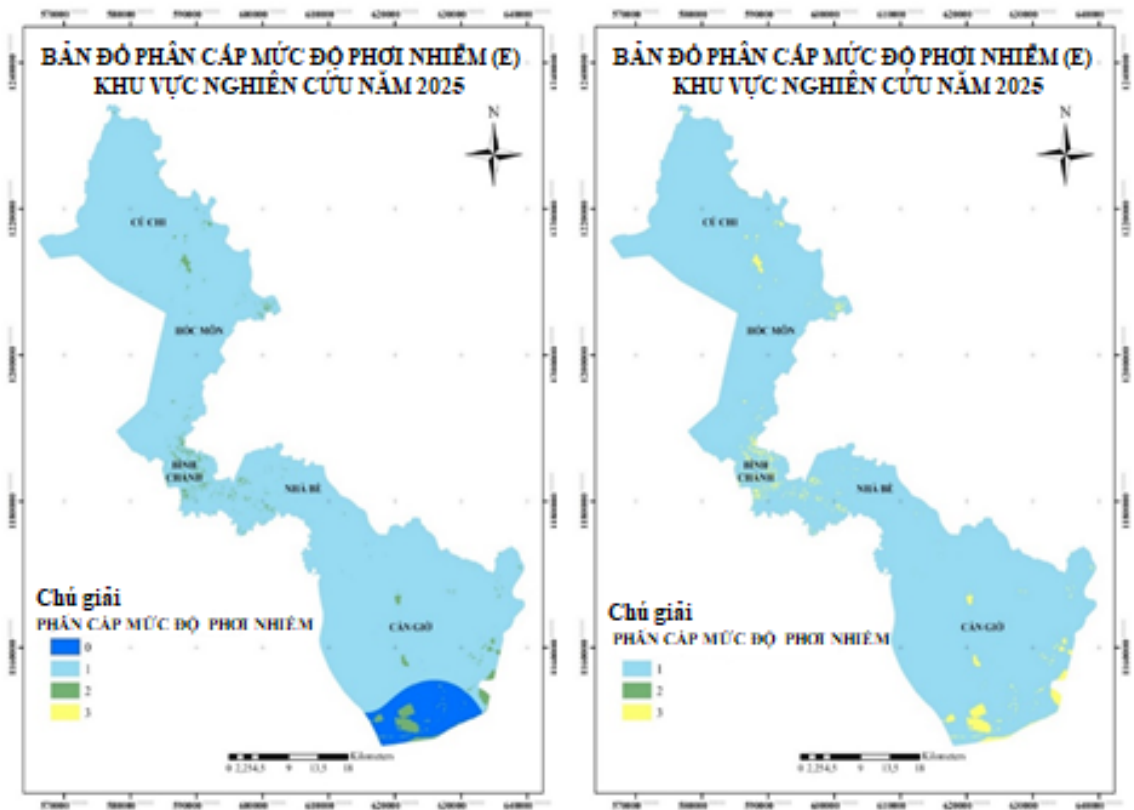
Tiêu chí	Nhiệt độ (E ₁)	Lượng mưa (E ₂)	NBD (E ₃)
Nhiệt độ (E ₁)	1	0,5	0,5
Lượng mưa (E ₂)	2	1	0,5
NBD (E ₃)	2	2	1
Trọng số	0,1103	0,3460	0,5438

¹Kết quả tính toán cho thấy CR = 0,047 < 0,1. Như vậy, ma trận so sánh trên là nhất quán.

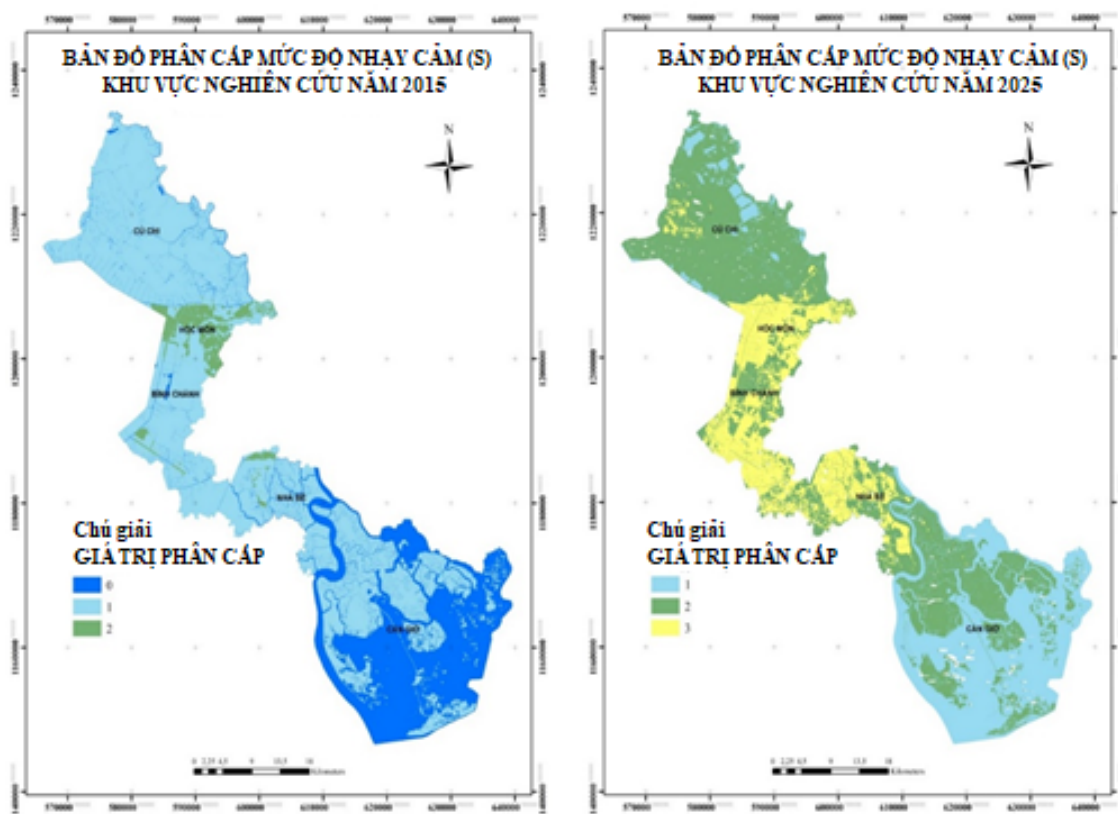
Bảng 2. Trọng số các yếu tố nhạy cảm¹

Yếu tố	Dân số	Thu nhập	Mật độ đường giao thông	Mật độ sông ngòi	Hiện trạng sử dụng đất
Dân số	1	1	2	1	0,667
Thu nhập	1	1	2,200	2,250	2,500
Mật độ đường giao thông	0,500	0,455	1	1,125	0,333
Mật độ sông ngòi	1	0,444	0,889	1	1
Hiện trạng sử dụng đất	1,500	1	3	1	1
Trọng số	0,203	0,313	0,1	0,164	0,22

¹Kết quả tính toán cho thấy CR = 0,058 < 0,1. Như vậy, ma trận so sánh trên là nhất quán.



Hình 2. Bản đồ độ phơi nhiễm của khu vực nghiên cứu năm 2015 và 2025.



Hình 3. Bản đồ phân vùng nhạy cảm khu vực nghiên cứu năm 2015 và 2025.

Bảng 3. Trọng số các tiêu chí yếu tố khả năng thích ứng¹

Tiêu chí	Kinh nghiệm chống BDKH của người dân	Sự hỗ trợ chống BDKH của chính quyền
Kinh nghiệm chống BDKH của người dân	1/1	0,33
Sự hỗ trợ chống BDKH của chính quyền	3	1/1
Trọng số	0,25	0,75

¹Kết quả tính toán cho thấy $CR = 0,002 < 0,1$. Như vậy, ma trận so sánh trên là nhất quán.

Nhà Bè, Cần Giờ. Cấp này chiếm diện tích 104.995,7 ha.

Cấp 2: Vùng có khả năng thích ứng trung bình có giá trị chạy từ 2 đến 2,25. Phân bố chủ yếu huyện Hóc Môn. Cấp này có diện tích 10.908,36 ha.

Cấp 3: Vùng có khả năng thích ứng cao có giá trị chạy từ 2,25 đến 3. Vùng có khả năng phục hồi cao và rất cao chủ yếu tập trung ở huyện Củ Chi. Diện tích tương ứng là 43.409,43 ha.

3.2.4. Xây dựng bản đồ tổn thương do BDKH đến khu vực nghiên cứu

Bản đồ phân vùng tổn thương do BDKH được xây dựng trên cơ sở chồng lấp ba bản đồ thành phần là yếu tố phơi nhiễm (E), độ nhạy cảm (S) và khả năng thích ứng (A) theo công thức $Y = E + S - A$.

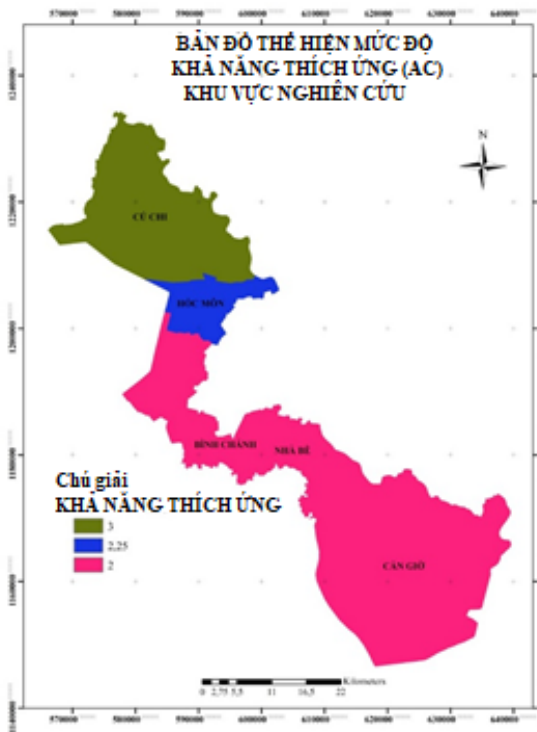
Bản đồ tổng thương được phân theo 4 cấp: Cấp 1 là vùng có mức độ tổn thương thấp nhất; Cấp 2 là vùng tổn thương trung bình; Cấp 3 là mức tổn thương cao; Cấp 4 là mức tổn thương rất cao.

Bảng 4. Diện tích phân cấp nguy cơ do biến đổi khí hậu tại các huyện ngoại thành

TT	Phân cấp	Năm 2015		Năm 2025	
		Diện tích (ha)	Tỷ lệ (%)	Diện tích (ha)	Tỷ lệ (%)
1	Thấp	8.578,08	5,38	0,00	0,00
2	Trung bình	14.7018,51	92,28	155.596,59	97,67
3	Cao	3.716,28	2,33	15,66	0,01
4	Rất cao	0,63	0,01	3.701,25	2,32

Bảng 5. Diện tích phân cấp nhạy cảm do biến đổi khí hậu tại các huyện ngoại thành

TT	Phân cấp	Năm 2015		Năm 2025	
		Diện tích (ha)	Tỷ lệ (%)	Diện tích (ha)	Tỷ lệ (%)
1	Thấp	47.715,21	29,95	0,00	0,00
2	Trung bình	105.161,67	66,01	47.824,11	30,47
3	Cao	6.436,62	4,04	79.509,51	50,65



Hình 4. Bản đồ thích ứng khu vực nghiên cứu.

Năm 2015 mức tổn thương thấp và trung bình chiếm phần lớn diện tích, mức tổn thương cao và rất cao chỉ rải rác và tập trung chủ yếu ở khu vực Bình Chánh, Nhà Bè và Cần Giuộc (Bảng 6). Năm 2025 mức độ tổn thương cao và rất cao chiếm tỷ lệ tương đối lớn. Chiếm hầu hết khu vực Bình Chánh, Nhà Bè, một phần Cần Giuộc và có cả huyện Hóc Môn và Củ Chi.

So sánh 2 bản đồ năm 2015 và năm 2025, mức độ tổn thương của năm 2025 cao hơn năm 2015, mức độ tổn thương thấp và trung bình giảm, tỷ lệ tổn thương cao và rất cao tăng nhanh (Hình 5).

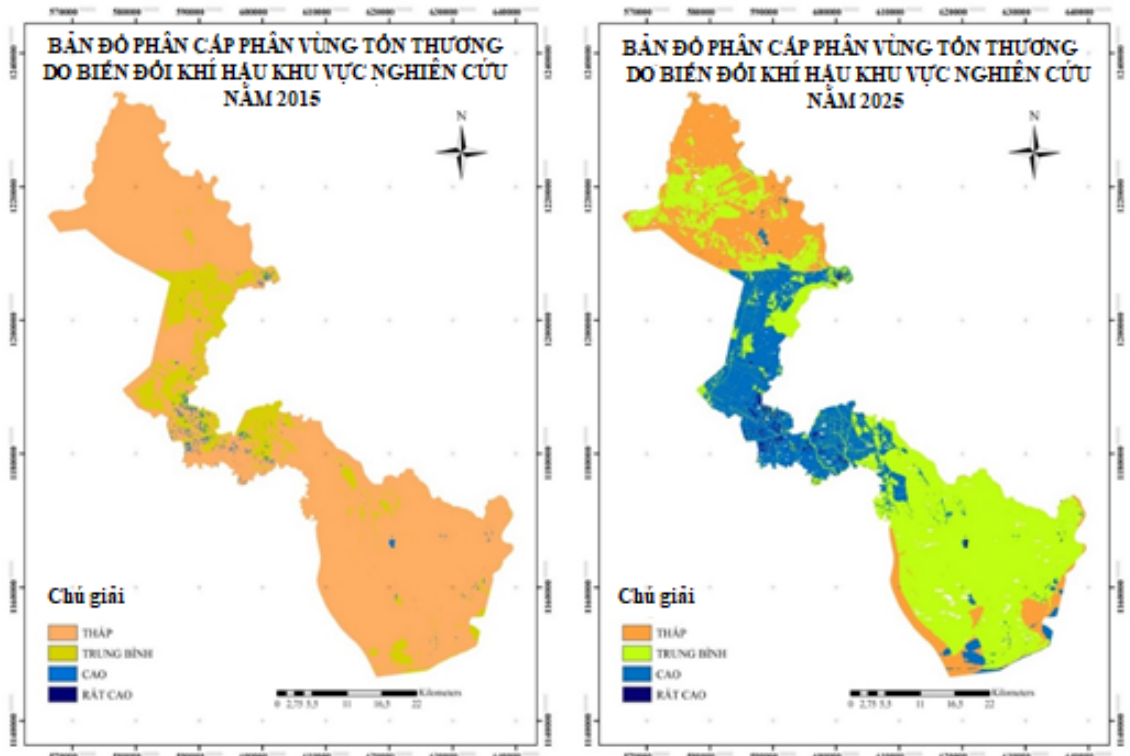
3.3. Đề xuất các biện pháp thích ứng, giảm thiểu tác động của BĐKH đến khu vực nghiên cứu

Đây là các vùng ven của TP.HCM, là các huyện có sản xuất nông nghiệp, lâm nghiệp và nuôi trồng thủy sản. Trong tương lai, các huyện ngoại thành có hướng tới đô thị hóa nhưng vẫn đảm bảo một phần diện tích để sản xuất nông nghiệp, nông nghiệp cao. Các giải pháp đưa ra nhằm đảm bảo được tính đặc thù của khu vực:

Giải pháp phi công trình: Trong quá trình đô thị hóa, cần phải lồng ghép các tác động của BĐKH vào quy hoạch tổng thể hệ thống thoát nước của thành phố, quy hoạch tổng thể thoát nước,... để giảm hiện tượng ngập lụt tại các vùng có mức độ tổn thương cao; Nâng cao năng lực dự báo, phòng chống ngập lụt; Xây dựng và ban hành các quy định về cốt không chế xây dựng, về hồ điều tiết, về hệ số mặt phủ tại các khu đô thị mới, quy chế về không gian dành cho nước... nhằm đảm bảo các yêu cầu thoát nước, ngăn chặn phát sinh điểm ngập mới được lồng ghép chặt chẽ trong lĩnh vực quy hoạch, xây dựng và quản lý đô thị; Tăng cường quản lý, giải quyết tình trạng lấn chiếm trái phép, xả rác trên các sông, kênh, rạch thoát nước trên địa bàn thành phố; tăng cường kiểm tra, xử lý tình trạng nhà dân lấn chiếm trái phép sông, kênh, rạch thoát nước và cải tạo, nạo vét thông thoáng toàn bộ kênh rạch thoát nước;

Bảng 6. Diện tích phân vùng tổn thương do biến đổi khí hậu tại các huyện ngoại thành

TT	Phân cấp	Năm 2015		Năm 2025	
		Diện tích (ha)	Tỷ lệ (%)	Diện tích (ha)	Tỷ lệ (%)
1	Thấp	136.751,94	85,84	36.354,33	23,16
2	Trung bình	21.160,89	13,28	84.762,27	54
3	Cao	1.399,95	0,87	34.602,21	22,04
4	Rất cao	0,72	0,01	1.260,36	0,8

**Hình 5.** Bản đồ phân vùng tổn thương do BĐKH khu vực nghiên cứu năm 2015 và 2025.

Tuyên truyền giáo dục người dân về tác động của BĐKH và hình thành ý thức chủ động ứng phó với BĐKH; Thiết lập quy trình vận hành hồ chứa đa mục tiêu và thiết lập hệ thống cảnh báo sớm cũng như quy trình ứng phó; Bảo vệ rừng ngập mặn Cần Giờ, bảo tồn đa dạng sinh học, chú trọng bảo vệ và phát triển các hệ sinh thái, các giống, loài có sức chống chịu tốt với các thay đổi khí hậu; Bảo vệ và bảo tồn nguồn gen và các giống loài có khả năng bị tuyệt chủng do tác động của BĐKH; Phát triển các loại cây trồng có khả năng chống chịu với điều kiện ngoại cảnh khắc nghiệt cũng như tăng cường các giống cây có thể chịu nhiệt, chịu hạn, chịu lụt ngăn ngày

(do mưa úng) và các giống cây có biên độ sinh thái rộng. Đặc biệt, phát triển các loại cây hoa màu ngắn ngày; Cần phải xây dựng phương án phân ranh mặn - ngọt nhất là khu vực huyện Cần Giờ và tươi - tiêu tách rời trong điều kiện BĐKH. Từng bước chủ động tiêu nước bằng trạm bơm; Xây dựng phương án di dời các nhà ở ven sông, ven biển và vùng ngập trũng, nhằm đảm bảo tính mạng và tài sản nhân dân huyện Cần Giờ, Nhà Bè và Bình Chánh khi có bão, lụt lớn, sạt lở xảy ra.

Giải pháp công trình: Nâng cấp, hiện đại hóa các hệ thống công trình thủy lợi hiện hữu với việc

đầu tư trang thiết bị thông tin, hệ thống quan trắc tự động, quản lý điều hành hệ thống một cách chủ động, khoa học, hiệu quả, đặc biệt các hệ thống cống đầu mối; Xây dựng các hệ thống ngầm chống ngập thông minh để điều tiết nước khi có mưa to và triều lớn nhằm giảm thiểu ngập úng xảy ra; Đầu tư xây dựng, nâng cấp các hệ thống thủy lợi, đê biển, đê sông, đê cửa sông phòng chống lụt bão, nạo vét thông thoáng các kênh rạch hiện hữu đang bị bồi lắng nhằm phục vụ cấp nước, tiêu thoát nước bảo đảm an toàn cho dân sinh và vùng sản xuất, bảo vệ môi trường sinh thái; Áp dụng các giải pháp tưới tiên tiến, tiết kiệm nước cho các loại cây trồng cạn, cây công nghiệp, cây ăn quả có giá trị hàng hóa và kinh tế cao; Xây dựng phương án di dời các nhà ở ven sông, ven biển và vùng ngập trũng, nhằm đảm bảo tính mạng và tài sản nhân dân huyện Cần Giờ, Nhà Bè và Bình Chánh khi có bão; Xây dựng hệ thống kiểm soát, phòng chống dịch bệnh cây trồng và vật nuôi trong điều kiện BĐKH.

4. Kết Luận

Với việc sử dụng phương pháp phân tích đa tiêu chí MCA cụ thể là tiến trình phân tích thứ bậc AHP, kết hợp với GIS để phân vùng tổn thương do BĐKH tại các huyện ngoại thành của TP.HCM, nghiên cứu đã phân vùng tổn thương do BĐKH, hầu như trên cả khu vực nghiên cứu đều tổn thương do BĐKH gây ra, khu vực tổn thương cao và rất cao hầu như tập trung ở Bình Chánh, Nhà Bè, Hóc Môn, Cần Giờ (diện tích là 35.862,57 ha tương đương 22,84%). Phần tổn thương thấp và trung bình tập trung ở Củ Chi và Cần Giờ (diện tích tương ứng là 36.354,33 ha tương đương 23,16% và 84.762,27 ha tương đương 54%).

Dựa trên kết quả nghiên cứu, nhóm tác giả đã đề xuất các giải pháp về công trình và phi công trình nhằm tăng khả năng thích ứng và giảm thiểu tác động của BĐKH đến đời sống của người dân trong khu vực bị ảnh hưởng.

Lời Cảm Ơn

Nghiên cứu này là một phần kết quả Đề tài Ứng dụng GIS và mô hình hóa cho bản đồ đánh giá tính dễ bị tổn thương của biến đổi khí hậu ở TP.HCM và đề xuất giải pháp thích ứng giai đoạn đến năm 2050 theo hợp đồng số 29/2017/HĐ-SKHCHN ngày 31/10/2017 với Viện Khoa học và Công nghệ Tính Toán Thành phố Hồ Chí Minh. Nhóm nghiên cứu trân trọng cảm ơn Sở Khoa học và Công nghệ và Viện Khoa học và Công nghệ Tính Toán Thành phố Hồ Chí Minh cấp kinh phí cho đề tài này.

Tài Liệu Tham Khảo (References)

- IPCC (Intergovernmental Panel on Climate Change). (2007). *Climate Change 2007: The AR4 Synthesis Report*. Geneva, Switzerland: The Intergovernmental Panel on Climate Change.
- Kreft, S., & Eckstein, D. (2013). *Global climate risk index 2014: Who suffers most from extreme weather events*. Berlin, Germany: Germanwatch.
- MONRE (Ministry of Natural Resources and Environment). (2012). *Climate change scenarios, sea level rise for Vietnam*. Ha Noi, Vietnam.
- MONRE (Ministry of Natural Resources and Environment). (2016). *Climate change scenarios, sea level rise for Vietnam*. Ha Noi, Vietnam.
- Nguyen T. Y. (2006). *Research on zoning map of natural disasters in Vietnam - KC-08-01*. (Unpublished research report). Institute of Geological Science.
- Yamane, T. (1967). *Statistics: An introductory analysis* (2nd ed.). New York, America: Harper and Row.