

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, Pháp	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
26	Thomas L. Rost	University of California, Davis, Mỹ	Biên tập viên
27	James E. Hill	University of California, Davis, Mỹ	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 Phương Long	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, TP. Thủ Đức, TP.HCM
Điện thoại: (028)37245670
Email: jad@hcmuaf.edu.vn

MỤC LỤC (CONTENT)

Công nghệ sinh học (Biotechnology)

- 1 Evaluation of the control potential to root - knot nematode *Meloidogyne incognita* of *Purpureocillium lilacinum* 11BB strain
Oanh T. K. Tran, Hanh T. Mai, Tuyen T. T. Doan, Thanh T. L. Bien, & Phong V. Nguyen

Đánh giá khả năng kiểm soát tuyến trùng sưng rễ *Meloidogyne incognita* của dòng nấm *Purpureocillium lilacinum* 11BB
Trần Thị Kiều Oanh, Mai Thị Hạnh, Đoàn Thị Thanh Tuyền, Biện Thị Lan Thanh & Nguyễn Vũ Phong

- 9 Effect of NaOCl, growth media, and plant growth regulators on *in vitro* propagation of disease-free KM140 cassava cultivar (*Manihot esculenta* Crantz)
Duyen T. T. Nguyen, Nien C. Nguyen, Thanh T. Duong, & My T. Nguyen

Ảnh hưởng của NaOCl, môi trường và các chất điều hòa sinh trưởng đến nhân giống sắn KM140 sạch bệnh (*Manihot esculenta* Crantz) bằng phương pháp *in vitro*
Nguyễn Thị Thanh Duyen, Nguyễn Châu Nien, Dương Tấn Thành & Nguyễn Thị Mỹ

- 17 Evaluating the genetic potential of *Hevea* genetic resources originating from the state of Rondonia in Brazil conserved in Vietnam
Truong V. Vu, Dinh D. Huynh, Thao T. Nguyen, Thanh Tran, Minh D. Tran, An B. Tra, Vincent Le Guen, & Biet V. Huynh

Đánh giá tiềm năng di truyền của nguồn gen cây cao su có nguồn gốc từ bang Rondonia của Brazil đang bảo tồn ở Việt Nam
Vũ Văn Trường, Huỳnh Đức Định, Nguyễn Thị Thảo, Trần Thanh, Trần Đình Minh, Trần Bình An, Le Guen Vincent & Huỳnh Văn Biết

- 28 Evaluating the extraction of oil and sugars from spent coffee grounds
Hanh M. Ho, Ha L. N. Tran, Truc T. T. Tran, Anh T. V. Nguyen, & Ly T. P. Trinh

Nghiên cứu chiết dầu và thu nhận đường từ bã cà phê
Hồ Mỹ Hạnh, Trần Lê Nhật Hạ, Trần Thị Thanh Trúc, Nguyễn Thị Vân Anh & Trịnh Thị Phi Ly

Công nghệ thực phẩm (Food Science and technology)

- 40 Measurement of fermentation parameters and preservation conditions of *Phyllanthus acidus* (L.) SKEELS wine
Tam N. T. Huynh, Trang N. P. Nguyen, Thi T. M. Tran, Nguyen T. T. Nguyen, & Nhi T. Lam

Nghiên cứu các thông số lên men và điều kiện bảo quản rượu vang chùm ruột (*Phyllanthus acidus* (L.) SKEELS)

Huỳnh Ngọc Thanh Tâm, Nguyễn Ngọc Phương Trang, Trần Thị Mai Thi, Nguyễn Thanh Thảo Nguyễn & Lâm Thảo Nhi

Nông học, Lâm nghiệp (Agronomy and Forestry Sciences)

- 48 Evaluation of combining ability and heterosis of six bitter gourd (*Momordica charantia* L.) self-pollinated lines at S₅ generation

Nien C. Nguyen, Duyen T. T. Nguyen, & Gam H. Pham

Đánh giá khả năng kết hợp và ưu thế lai của sáu dòng khổ qua (*Momordica charantia* L.) tự phối đời S₅

Nguyễn Châu Niên, Nguyễn Thị Thanh Duyên & Phạm Hồng Gấm

- 58 Evaluation of compost quality through germination index, plant yield and nitrogen use efficiency on Japanese Watercress (*Nasturtium officinale*)

Toan D. Tran, Luan A. Ha, Ngan T. Long, Nhat X. Doan, & Binh T. Nguyen

Đánh giá chất lượng phân ủ compost qua kiểm tra chỉ số nảy mầm, năng suất và hiệu quả sử dụng đạm trên cây cải xoong Nhật (*Nasturtium officinale*)

Trần Duy Toàn, Hà Anh Luân, Long Thị Ngân, Đoàn Xuân Nhật & Nguyễn Thanh Bình

- 65 Relationship between species diversity and biomass of evergreen broadleaf forests in the Central-Central Highlands

Anh T. Pham, Hung T. Vu, Hien T. T. Cao, Dung T. Hoang, Duc V. Viet, & Hai H. Nguyen

Quan hệ giữa đa dạng loài và sinh khối của rừng lá rộng thường xanh ở miền Trung-Tây Nguyên

Phạm Thế Anh, Vũ Tiến Hưng, Cao Thị Thu Hiền, Hoàng Thị Dung, Vi Việt Đức & Nguyễn Hồng Hải

Evaluation of the control potential to root - knot nematode *Meloidogyne incognita* of *Purpureocillium lilacinum* 11BB strain

Oanh T. K. Tran, Hanh T. Mai, Tuyen T. T. Doan, Thanh T. L. Bien, & Phong V. Nguyen*

Faculty of Biological Sciences, Nong Lam University, Ho Chi Minh City, Vietnam

ARTICLE INFO

Research Paper

Received: July 21, 2021

Revised: November 07, 2021

Accepted: November 16, 2021

Keywords

Bitter melon (Biological control

Chitinase

Meloidogyne incognita

Protease

Purpureocillium lilacinum
11BB

*Corresponding author

Nguyen Vu Phong

Email:

nvphong@hcmuaf.edu.vn

ABSTRACT

Parasitic fungi are considered effective biological agents to control plant - parasitic nematodes. Based on morphology and ITS sequence, seven *Purpureocillium lilacinum* strains were isolated from 144 soil samples collected from Chau Duc district, Ba Ria - Vung Tau province, and Dinh Quan district, Dong Nai province. After 96 h of culture in medium supplemented with casein, chitin, and tween 20, seven strains showed protease, chitinase, and lipase activity. In laboratory conditions, both 11BB and 11SN strains parasitized 31 – 34% eggs and 58 – 62% eggmass, respectively. In greenhouse conditions, the 11BB strain decreased 79.0 - 80.3% of juveniles (J2s) and 77.4 - 79.7% of egg numbers on tomato plants as compared with the control. Results showed that the 11BB fungal strain could be used in control of root - knot nematodes.

Cited as: Nguyen, O. T. K., Mai, H. T., Doan, T. T. T., Bien, T. T. L., & Nguyen, P. V. (2022). Evaluation of the control potential to root - knot nematode *Meloidogyne incognita* of *Purpureocillium lilacinum* 11BB strain. *The Journal of Agriculture and Development* 21(1), 1-8.

Đánh giá khả năng kiểm soát tuyến trùng sừng rễ *Meloidogyne incognita* của dòng nấm *Purpureocillium lilacinum* 11BB

Trần Thị Kiều Oanh, Mai Thị Hạnh, Đoàn Thị Thanh Tuyền, Biện Thị Lan Thanh & Nguyễn Vũ Phong*

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

THÔNG TIN BÀI BÁO

Bài báo khoa học

Ngày nhận: 21/07/2021

Ngày chỉnh sửa: 07/11/2021

Ngày chấp nhận: 16/11/2021

Từ khóa

Chitinase

Kiểm soát sinh học

Meloidogyne incognita

Protease

Purpureocillium lilacinum
11BB

*Tác giả liên hệ

Nguyễn Vũ Phong

Email:

nvphong@hcmuaf.edu.vn

TÓM TẮT

Nấm ký sinh được đánh giá là tác nhân sinh học tiềm năng phòng trừ tuyến trùng hiệu quả. Từ 144 mẫu đất nông nghiệp thuộc huyện Châu Đức, Bà Rịa - Vũng Tàu và huyện Định Quán tỉnh Đồng Nai đã phân lập được 7 dòng nấm *Purpureocillium lilacinum* dựa vào hình thái và trình tự ITS. Sau 96 giờ nhân nuôi trên môi trường bổ sung casein, chitine, tween 20, 7 dòng nấm cho thấy có khả năng tạo protease, chitinase và lipase. Ở điều kiện phòng thí nghiệm, 2 dòng nấm 11BB và 11SN ký sinh 31 – 34% trứng và 58 – 62% túi trứng. Ở điều kiện nhà lưới, dòng nấm 11BB có khả năng làm giảm từ 79,0 - 80,3% số tuyến trùng tuổi 2 (J2) và 77,4 - 79,7% số trứng tuyến trùng trên cây cà chua so với đối chứng. Các kết quả thực nghiệm cho thấy dòng nấm 11BB có tiềm năng ứng dụng trong phòng trừ tuyến trùng sừng rễ.

1. Đặt Vấn Đề

Thiệt hại do tuyến trùng ký sinh đối với cây trồng nông nghiệp mỗi năm ước tính lên đến hàng trăm tỷ USD (Nicol & ctv., 2011). Tuyến trùng sừng rễ *Meloidogyne* là tác nhân gây hại chính trên hầu hết các loại cây trồng. Tuyến trùng ký sinh làm cho rễ cây sừng lên, thối đen rồi chết hoặc làm giảm khả năng hút nước và hấp thụ dinh dưỡng làm cây sinh trưởng kém, còi cọc, lá úa vàng. Chẳng những gây hại rễ mà tuyến trùng còn mở đường cho các tác nhân gây hại khác như nấm bệnh, vi khuẩn, virus tấn công rễ làm cho năng suất và chất lượng nông sản giảm đi nghiêm trọng.

Sử dụng thuốc bảo vệ thực vật trong nông nghiệp là một biện pháp có hiệu quả nhanh và đang được sử dụng rất phổ biến tại Việt Nam.

Tuy nhiên phương pháp sử dụng thuốc bảo vệ thực vật có thể để lại dư lượng trên nông sản, gây ảnh hưởng đến sức khỏe cộng đồng cũng như môi trường sinh thái. Do vậy, xu hướng quay trở lại nền nông nghiệp hữu cơ với việc tăng cường sử dụng các loại chế phẩm sinh học đang là xu hướng chung và lâu dài của toàn cầu. Các vi nấm có hệ enzyme gồm chitinase, protease, lipase được đánh giá là có hiệu quả trong việc phòng trừ tuyến trùng gây hại. *Purpureocillium lilacinum* là một loài đại diện của chi nấm *Paecilomyces*, nấm phát triển tốt trong khoảng nhiệt độ 15 - 30°C, thích nghi với khoảng pH rộng nên có khả năng cạnh tranh với các vi sinh vật trong đất nông nghiệp (Atkins & ctv., 2005). Với hệ enzyme ngoại bào đa dạng, *P. Lilacinum* được quan tâm nghiên cứu và ứng dụng trong phòng trừ tuyến trùng, đặc biệt là tuyến trùng sừng rễ *Meloidogyne*.

Nghiên cứu này trình bày kết quả phân lập và chọn dòng nấm *Purpureocillium lilacinum* có khả năng ký sinh tuyến trùng sùng rế *Meloidogyne* làm cơ sở phát triển chế phẩm sinh học phòng trừ tuyến trùng gây hại cây trồng.

2. Vật Liệu và Phương Pháp Nghiên Cứu

2.1. Phân lập và định danh nấm

Mẫu đất được thu ở các vườn trồng hồ tiêu ở Châu Đức, Bà Rịa - Vũng Tàu và Định Quán - Đồng Nai. Lấy 100 g đất bên dưới lớp xác bã thực vật mục nát khoảng 10 cm cho vào túi nhựa, dán nhãn kí hiệu. Phân lập nấm theo phương pháp pha loãng mẫu (Pau & ctv., 2012): Hút 0,1 mL từ mỗi ống pha loãng 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} cho vào đĩa petri có chứa môi trường Rose Bengal chitin agar, mỗi nồng độ trên 3 đĩa, dùng que cấy trang đều, ủ ở 30°C. Sau 7 ngày, chọn các tản nấm có màu trắng, tơ nấm mọc dày, đồng nhất, đường kính khoảng 2 mm cấy làm thuần trên môi trường thạch khoai tây (PDA). Quan sát đặc điểm hình thái tản nấm và chuẩn bị tiêu bản để quan sát hình dạng vi thể của nấm. Dựa vào hình thái tản nấm, đặc điểm hiển vi theo khóa phân loại Samson (1974), Luangsa - Ard & ctv. (2011) để chọn ra dòng nấm nghi ngờ là *P. Lilacinum*.

Tách DNA của dòng nấm chọn lọc được dựa trên phương pháp của Izumitsu & ctv. (2012) có cải tiến: 1 µg sợi nấm được cho vào 100 µL TE trong eppendorf 1,5 mL; gia nhiệt bằng microwave trong 2 phút, để ở nhiệt độ phòng trong 30 giây, tiếp tục gia nhiệt bằng microwave 2 phút, sau đó để ở - 20°C trong 10 phút. Sử dụng cặp primer PaeF (5' - CTC AGT TGC CTC GGC GGG AA - 3') và PaeR (5' - GTG CAA CTC AGA GAA GAA ATT CCG - 3') (Atkins & ctv., 2005) khuếch đại vùng ITS trong rRNA. Sản phẩm khuếch đại được giải trình tự và so sánh với trình tự sẵn có trên ngân hàng gen để xác định tên loài.

2.2. Khảo sát hệ enzyme ngoại bào của dòng nấm *Purpureocillium lilacinum*

Khảo sát khả năng sinh enzyme protease và chitinase của các dòng nấm phân lập được thực hiện trên môi trường Gause I với các cơ chất casein và chitin, thuốc thử lần lượt là TCA và lugol, enzyme lipase sử dụng môi trường có chứa tween 20 (Gopinath & ctv., 2013). Nấm *P. Lilacinum* được nuôi cấy trên môi trường PDA trong 7 ngày,

sau đó dùng khoan cắt thạch, chọn vùng nấm có màu tím đồng đều, cắt một khoanh tròn đường kính 4 mm đặt úp vào các môi trường bổ sung casein, chitin và tween 20, ủ ở nhiệt độ phòng. Theo dõi và ghi nhận đường kính tản nấm, đường kính vòng phân giải qua 4 mốc thời gian là 24; 48; 96; 120 giờ. Tính hiệu số D - d, với D là đường kính vòng phân giải, d là đường kính tản nấm. Thí nghiệm được bố trí theo kiểu hoàn toàn ngẫu nhiên, với 3 lần lặp lại, mỗi lần lặp lại 5 đĩa. Phân cấp hoạt tính enzyme theo Mustafa & ctv. (2010).

2.3. Đánh giá khả năng ký sinh trứng tuyến trùng

Thực hiện theo Khan & ctv. (2006), trộn 100 µL dịch trứng tuyến trùng *Meloidogyne incognita* (500 trứng/mL) với 900 µL dịch nấm có mật độ 10^8 CFU/mL vào eppendorf 1,5 mL, đặt ở nhiệt độ phòng (Nguyen, 2018). Sau 7, 14 ngày nhuộm hỗn hợp này với trypan blue trong 5 phút, ly tâm thu phần trứng tuyến trùng và nấm và quan sát, đếm số trứng bị ký sinh dưới kính hiển vi phóng đại 400 lần.

Thực hiện trên môi trường bán rắn: Cấy nấm vào giữa đĩa petri chứa môi trường water agar 20g/L(WA), bổ sung chloramphenicol nồng độ 0,1 g/L. Sau 5 ngày hút 200 µL dịch chứa 100 trứng tuyến trùng, nhỏ đều xung quanh tản nấm. Sau 5 ngày, đo đường kính tản nấm. Nhuộm đĩa nấm bằng lactophenol cotton blue trong 5 phút. Dùng nước cất rửa kỹ đĩa cấy, ly tâm thu dịch nấm và đếm số lượng trứng bị ký sinh, so sánh đường kính tản nấm so với các đĩa đối chứng gồm đĩa nuôi trứng và đĩa cấy nấm.

2.4. Đánh giá khả năng ký sinh túi trứng tuyến trùng

Nấm được nuôi trên đĩa petri chứa môi trường WA bổ sung kháng sinh chloramphenicol. Tách các túi trứng từ nốt sùng rế cây cà chua ngâm trong dung dịch sodium hypochloride 0,7% trong 5 phút và dung dịch streptomycin 1 g/L trong 5 phút. Đặt 8 túi trứng đã xử lý xung quanh mép tản nấm 5 ngày nuôi, đặt đĩa ở nhiệt độ phòng. Sau 7 ngày, thu lấy các túi trứng nhuộm trong lactophenol cotton blue 5 phút, tiếp đến rửa sạch với nước cất. Quan sát các túi trứng dưới kính hiển vi có độ phóng đại 40 lần. Thí nghiệm được bố trí 3 lần lặp lại, mỗi lần lặp lại 3 đĩa. So sánh kết quả với đối chứng gồm đĩa đặt túi trứng và đĩa nuôi cấy nấm.

2.5. Đánh giá khả năng ký sinh tuyến trùng của nấm điều kiện nhà lưới

Thí nghiệm được bố trí theo kiểu hoàn toàn ngẫu nhiên đơn yếu tố gồm 4 nghiệm thức gồm (NT1) xử lý nấm 7 ngày trước lây nhiễm tuyến trùng; (NT2) xử lý nấm 7 ngày sau lây nhiễm tuyến trùng; (NT3) xử lý nấm 14 ngày sau lây nhiễm tuyến trùng (NT4): lây nhiễm tuyến trùng (đối chứng). Mỗi nghiệm thức gồm 15 chậu nhựa kích thước 10 x 16 cm, chứa 3 kg giá thể bao gồm đất: cát: phân chuồng hoai (1:1:1) đã hấp khử trùng. Cây cà chua 15 ngày tuổi được trồng vào trong chậu. Sau 15 ngày, tiến hành lây nhiễm 1.000 tuyến trùng tuổi 2 (J2)/chậu. Ba gram sinh khối nấm *P. Lilacinum* với mật số 1.10^8 bào tử/g được hòa trong 100 mL nước tưới vào chậu theo các nghiệm thức. Chiều cao của cây cà chua được đo sau xử lý nấm và tuyến trùng 2, 4, 6 tuần. Do chiều dài bộ rễ cà chua sau xử lý nấm và tuyến trùng 6 tuần. Đánh giá chỉ số bệnh của cây cà chua thông qua các thông số như nốt sừng trên bộ rễ, số lượng tuyến trùng/100 g đất, số lượng trứng tuyến trùng/5 g rễ cây cà chua. Hiệu quả kiểm soát tuyến trùng được xác định nhờ vào hệ số sinh sản (R_f) (Zhang & Schmitt, 1994) là tỉ số của số lượng tuyến trùng sau 6 tuần và số lượng tuyến trùng sử dụng lây nhiễm.

2.6. Phân tích số liệu

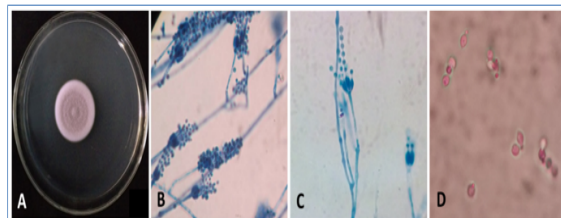
Các số liệu được phân tích phương sai (ANOVA) và trắc nghiệm phân hạng bằng Tukey HSD Test.

3. Kết Quả và Thảo Luận

3.1. Phân lập mẫu nấm nghi ngờ *Purpureocillium lilacinum*

Từ 114 mẫu đất thu thập tại các vườn tiêu ở huyện Châu Đức, tỉnh Bà Rịa – Vũng Tàu và huyện Định Quán, tỉnh Đồng Nai đã phân lập được 7 dòng nấm nghi ngờ là *P. Lilacinum* (Bảng 1). Các dòng nấm được tìm thấy trong đất ở các vườn hồ tiêu khác nhau với mật số dao động từ 6.10^3 bào tử/g (11SN) đến $1,2.10^4$ bào tử/g (11BB). Cả 7 dòng đều được phân lập từ các vườn có hiện tượng cây bị vàng lá, chết chậm. Các dòng nấm đều có đặc điểm đại thể và hiển vi tương tự *P. Lilacinum* theo Samson (1974), Luangsa - Ard & ctv. (2011). Tán nấm nhỏ xuất hiện sau 5 - 7 ngày nuôi cấy trên môi trường Rose Bengal chitin

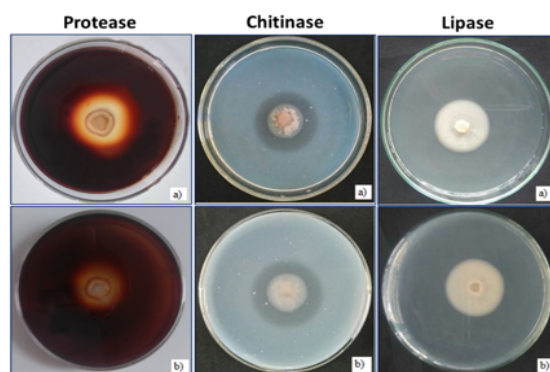
agar, tán nấm có màu tím hồng, nhẵn mịn. Sau khi được cấy sang môi trường PDA tán nấm phát triển nhanh trong 7 ngày, màu sắc tán nấm từ màu trắng trở nên vàng, vàng nâu, và cuối cùng chuyển sang màu tím hồng. Cuống sinh bào tử phân nhánh thẳng đứng, thể bình phình ở phần gốc dần dần hẹp kéo dài thành cổ. Bào tử có hình elip, sắp xếp thành chuỗi dài và không phân nhánh từ đầu mút của thể bình (Hình 1).



Hình 1. Hình thái của mẫu nấm phân lập 11BB. (A) Tán nấm trên môi trường thạch khoai tây; (B, C) Cuống sinh bào tử; (D) Bào tử nấm.

Để định danh các dòng nấm phân lập, sản phẩm PCR vùng ITS được giải trình tự hai chiều, kiểm tra, hiệu đính và so sánh bằng công cụ BLAST. Kết quả cho thấy các mẫu nấm phân lập tương đồng 92% với dòng *Purpureocillium lilacinum* (Genbank: MW113416).

3.2. Hệ enzyme ngoại bào của các dòng nấm phân lập



Hình 2. Hoạt tính enzyme protease, chitinase, lipase của dòng nấm *Purpureocillium lilacinum* 11BB. (a) mặt trên; (b) mặt dưới.

Kết quả theo dõi qua 4 mốc thời gian 24; 48; 96; 120 giờ cho thấy ở 96 giờ kích thước vòng

Bảng 1. Khả năng phân giải cơ chất của các dòng nấm sau 96 giờ

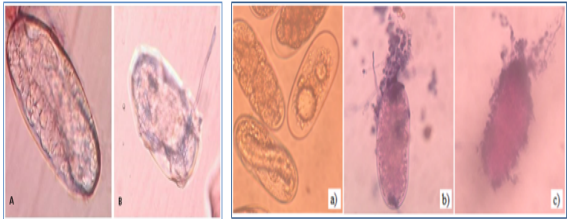
Tên dòng	Protease			Chitinase			Lipase		
	D (cm)	d (cm)	D - d (cm)	D (cm)	d (cm)	D - d (cm)	D (cm)	d (cm)	D - d (cm)
11BB	2,81 ± 0,03	1,41 ± 0,04	1,40 ± 0,03	3,01 ± 0,03	1,20 ± 0,03	1,81 ± 0,01	2,99 ± 0,07	1,24 ± 0,01	1,70 ± 0,06
31SN	2,45 ± 0,04	1,39 ± 0,25	1,06 ± 0,02	2,89 ± 0,03	1,19 ± 0,01	1,73 ± 0,02	2,94 ± 0,03	1,20 ± 0,01	1,68 ± 0,02
11SN	2,83 ± 0,03	1,46 ± 0,01	1,37 ± 0,03	2,90 ± 0,02	1,17 ± 0,02	1,70 ± 0,02	2,83 ± 0,08	1,17 ± 0,02	1,82 ± 0,07
31DB	2,51 ± 0,02	1,47 ± 0,02	1,04 ± 0,01	2,83 ± 0,03	1,17 ± 0,01	1,74 ± 0,02	2,62 ± 0,03	1,17 ± 0,01	1,35 ± 0,02
12SN	2,42 ± 0,02	1,45 ± 0,02	0,98 ± 0,02	2,61 ± 0,03	1,15 ± 0,00	1,47 ± 0,03	1,47 ± 0,03	1,15 ± 0,01	1,25 ± 0,01
13BB	2,22 ± 0,03	1,36 ± 0,01	0,86 ± 0,02	2,73 ± 0,04	1,13 ± 0,02	1,54 ± 0,03	2,41 ± 0,02	1,15 ± 0,01	1,47 ± 0,01
02PT	3,88 ± 0,05	2,50 ± 0,02	2,50 ± 0,02	2,74 ± 0,15	1,40 ± 0,17	1,34 ± 0,12	-	1,98 ± 0,13	-

(-): giá trị không xác định.

phân giải ổn định, màu sắc đồng đều, tản nấm phát triển tốt (Hình 2). Bầy dòng nấm đều có khả năng tiết enzyme phân giải chitin, protein và lipid (ngoại trừ dòng 02PT) (Bảng 1). Theo phân cấp của Mustafa & ctv. (2010), các dòng nấm có hoạt tính protease từ thấp (12SN, 13BB) đến trung bình; hoạt tính chitinase và lipase trung bình. Trong đó hai dòng nấm 11BB và 11SN có hoạt tính chitinase, protease, lipase cao nhất được đánh giá khả năng ký sinh tuyến trùng.

3.3. Khả năng ký sinh trứng và túi trứng tuyến trùng của các dòng nấm được chọn lọc

Sau 7 ngày ủ trứng và túi trứng tuyến trùng với nấm, có 31 – 34% trứng và 58 - 62% túi trứng bị nấm ký sinh. Bên cạnh đó, số trứng nở cũng bị giảm đáng kể từ 57 – 65% so với đối chứng (Bảng 2). Ban đầu, tơ nấm bám vào và quấn xung quanh trứng, sau đó sợi nấm phân nhánh, mọc vắt ngang bề mặt trứng và đi vào bên trong vỏ trứng. Thời gian đầu trứng bị nhiễm sưng lên, sau đó biến dạng, teo tóp lại. Có trường hợp sau khi lấp đầy trứng, sợi nấm trồi lên bề mặt trứng tiếp tục sinh trưởng và phát triển (Hình 3).



Hình 3. Khả năng ký sinh trứng tuyến trùng của nấm *Purpureocillium lilacinum*.

(A) Trứng tuyến trùng; (B) Trứng tuyến trùng bị ký sinh bởi nấm 11SN; (a) Trứng tuyến trùng; (b) Trứng tuyến trùng sau lây nhiễm nấm 11BB 5 ngày; (c) Trứng tuyến trùng sau lây nhiễm nấm 11BB 14 ngày.

3.4. Đánh giá khả năng ký sinh tuyến trùng của nấm 11BB trong điều kiện nhà lưới

Chiều cao cây cà chua sau xử lý nấm và tuyến trùng từ tuần thứ 6 có sự khác biệt giữa các nghiệm thức. Ở nghiệm thức có xử lý nấm, sinh trưởng của cây tốt hơn với chiều cao cây tăng từ 132% so với đối chứng. Giữa các nghiệm thức có xử lý nấm không có sự khác biệt. Tương tự, có

Bảng 2. Khả năng ký sinh tuyến trùng của hai dòng nấm

Nghiem thức	Trứng bị ký sinh (%)	Số trứng nở (%)	Số trứng không bị ký sinh (%)	Túi trứng bị ký sinh (%)	Số túi trứng không bị ký sinh (%)
11BB	34,6 ^b	36,2 ^b	7,3 ^b	58,3 ^b	41,7 ^b
11SN	31,1 ^b	29,6 ^b	6,5 ^b	62,5 ^b	37,5 ^b
Đối chứng	0,0 ^a	85,3 ^a	3,3 ^a	0,0 ^a	100 ^a

Các ký tự khác nhau theo sau số liệu biểu thị sự khác biệt ở mức độ $P \leq 0,01$ bằng trắc nghiệm LSD.

sự khác biệt về chiều dài bộ rễ giữa các nghiệm thức có xử lý nấm với nghiệm thức đối chứng. Ở nghiệm thức đối chứng, bộ rễ phát triển chậm, xuất hiện u sưng, khả năng ra rễ tơ kém hơn các nghiệm thức có xử lý nấm. Giữa các nghiệm thức có xử lý chế phẩm nấm không có sự khác biệt (Bảng 3).

**Hình 4.** Thân và rễ cà chua các nghiệm thức ở 6 tuần sau lây nhiễm tuyến trùng.

NT1: xử lý nấm 7 ngày trước lây nhiễm tuyến trùng; NT2: xử lý nấm 7 ngày sau lây nhiễm tuyến trùng; NT3: xử lý nấm 14 ngày sau lây nhiễm tuyến trùng; NT4: lây nhiễm tuyến trùng (đối chứng).

Số nốt sưng trên rễ, số lượng tuyến trùng/100 g đất và trứng/5 g rễ ở 6 tuần sau xử lý giữa các nghiệm thức có xử lý nấm và nghiệm thức đối chứng khác nhau rất rõ rệt. Số nốt sưng trên rễ, số lượng tuyến trùng/100 g đất và trứng/5 g trong nghiệm thức có bổ sung nấm giảm hơn 75% (Bảng 4, Hình 4).

Vi nấm được đánh giá là tác nhân đóng vai trò rất quan trọng trong kiểm soát sinh học tuyến trùng. Nấm kiểm soát tuyến trùng được chia làm ba loại gồm nấm bẫy tuyến trùng, nấm nội ký sinh, nấm ký sinh con cái và trứng. Nhóm nấm ký sinh một số giai đoạn của tuyến trùng ngay khi có cơ hội tiếp xúc (Trivedi, 2012), khả năng kiểm soát sinh học cao, sống hoại sinh trong đất khi không có ký chủ và dễ dàng nhân sinh khối trong môi trường nuôi cấy nhân tạo (Moosavi &

Zare, 2012). Bẫy dòng nấm được phân lập chủ yếu từ mẫu đất đổ vườn trồng hồ tiêu bị vàng lá thu nhận vào tháng 11 năm 2016, có mật số từ 10^3 đến 10^4 CFU/g, tương tự nghiên cứu của Le & ctv. (2016). Điều này cho thấy mặc dù có sự hiện diện của nấm ký sinh trong đất nhưng cây trồng vẫn bị tuyến trùng tấn công, cần có thêm nhiều thông tin liên quan để có thể lý giải tình trạng này nhằm tìm hướng kiểm soát tuyến trùng phù hợp.

Vỏ trứng và lớp biểu bì của tuyến trùng là nơi xâm nhiễm của các tác nhân kiểm soát sinh học. Do đó, các vi nấm có hệ enzyme gồm chitinase, protease, lipase được coi là lựa chọn hiệu quả trong việc phòng trừ tuyến trùng gây hại. Nấm *P. lilacinum* tiết các enzyme thuộc hệ enzyme serine protease và chitinase, được chứng minh là phá hủy cấu trúc của vỏ trứng và ức chế sự nở ấu trùng *Meloidogyne javanica* (Khan & ctv., 2004). Theo kết quả của Morton & ctv. (2004), enzyme protease và chitinase đóng vai trò chính trong việc phá hủy lớp vỏ trứng, tạo điều kiện cho nấm xâm nhiễm vào trứng. Trong nghiên cứu này hoạt tính chitinase, protease và lipase của 7 dòng nấm đã được xác định ở mức trung bình khi cấy nấm trên môi trường bổ sung cơ chất tương ứng. Cần đánh giá thêm về thành phần và hoạt tính của hệ enzyme để xác định cơ sở và khả năng ký sinh của các dòng nấm thu nhận được.

Nấm *P. lilacinum* phát triển tốt trong khoảng nhiệt độ 15 - 30°C, nhiệt độ từ 25 - 30°C, thích nghi với khoảng pH rộng nên có khả năng cạnh tranh với các vi sinh vật trong đất nông nghiệp (Siddiqui & Mahmood, 1996). Theo Le và cộng tác viên, nấm phát triển tốt nhất ở pH 4 - 5 (Le & ctv., 2016). Trong nghiên cứu này, nấm đạt sinh khối và số bào tử cao nhất ở pH 6. Điều này càng củng cố nhận định sự thích nghi với khoảng rộng pH của loài nấm này tạo thuận lợi cho ứng dụng chúng trong thực tế canh tác. Cho đến nay có khá nhiều nghiên cứu chọn lọc và sử dụng *P. lilacinum* trong kiểm soát tuyến trùng sưng rễ *Meloidogyne* và *Pratylenchus* (Le & ctv., 2016;

Bảng 3. Tăng trưởng của cây cà chua ở các nghiệm thức sau 6 tuần

Nghiệm thức	Chiều cao trung bình			Tỷ lệ tăng chiều cao (%)	Chiều dài rễ trung bình (cm)	Tỷ lệ tăng chiều dài bộ rễ (%)
	2 tuần	4 tuần	6 tuần			
NT1	28,8 ± 2,51	59,6 ^a ± 4,36	81,2 ^a ± 4,77	134	26,2 ^a ± 2,76	192
NT2	29,0 ± 2,71	59,0 ^a ± 3,31	80,0 ^a ± 4,64	132	26,6 ^a ± 2,23	195
NT3	29,0 ± 2,78	59,3 ^a ± 4,85	81,5 ^a ± 3,56	135	27,0 ^a ± 1,91	198
NT4 (ĐC)	28,7 ± 1,91	40,1 ^b ± 3,64	60,2 ^b ± 4,08	-	13,6 ^b ± 3,25	-

Các ký tự khác nhau theo sau số liệu biểu thị sự khác biệt ở mức độ $P \leq 0,01$ bằng trắc nghiệm LSD; ĐC: Đối chứng.

Bảng 4. Khả năng hạn chế tuyến trùng của nấm 11 BB sau 6 tuần xử lý

Nghiệm thức	Số nốt sừng	Tỷ lệ nốt sừng giảm (%)	Tuyến trùng/100 g đất	Tỷ lệ tuyến trùng giảm (%)	Trứng/5 g rễ	Tỷ lệ trứng giảm (%)
NT1	8,80 ^a ± 4,59	83,1	53,6 ^a ± 5,03	79,4	24,0 ^a ± 3,61	77,4
NT2	11,1 ^a ± 4,73	78,7	51,3 ^a ± 5,69	80,3	22,3 ^a ± 3,51	79,0
NT3	9,87 ^a ± 4,56	81,1	54,6 ^a ± 4,73	79,0	21,6 ^a ± 7,02	79,7
NT4 (ĐC)	52,0 ^b ± 11,5	-	260 ^b ± 23,7	-	106 ^b ± 4,04	-

Các ký tự khác nhau theo sau số liệu biểu thị sự khác biệt ở mức độ $P \leq 0,01$ bằng trắc nghiệm LSD; ĐC: Đối chứng.

Nguyen & ctv., 2020a; Nguyen & ctv., 2020b). Kết quả thực nghiệm cho thấy dòng nấm 11BB làm giảm rõ rệt mức độ ký sinh của tuyến trùng trên cà chua (> 75%). Điều này hứa hẹn khả năng sử dụng dòng nấm này trong kiểm soát tuyến trùng sừng rễ. Các nghiên cứu về điều kiện tăng sinh, khả năng kiểm soát tuyến trùng điều kiện đồng ruộng và nghiên cứu tạo chế phẩm sinh học đang được tiếp tục thực hiện.

4. Kết Luận

Từ 144 mẫu đất đã phân lập được 7 dòng nấm, dựa vào hình thái và vùng ITS xác định là loài *Purpureocillium lilacinum*. Khả năng tiết enzyme ngoại bào, ảnh hưởng của môi trường dinh dưỡng và pH đến tăng sinh các dòng nấm cũng đã được đánh giá. Hai dòng nấm 11BB và 11SN có khả năng ký sinh, ức chế sự phát triển của trứng, túi trứng tuyến trùng *Meloidogyne* điều kiện in vitro. Thử nghiệm ở điều kiện nhà lưới cho thấy dòng nấm 11BB có hiệu quả giảm hơn 75% mức độ ký sinh của tuyến trùng trên cây cà chua.

Lời Cam Đoan

Chúng tôi cam đoan bài báo do nhóm tác giả thực hiện và không có bất kỳ mâu thuẫn nào giữa các tác giả.

Lời Cảm Ơn

Một phần nghiên cứu này được tài trợ kinh phí bởi đề tài nghiên cứu khoa học mã số CS - SV16 - CNSH - 06, Trường Đại học Nông Lâm TP.HCM.

Tài Liệu Tham Khảo (References)

- Atkins, S. D., Clark, I. M., Pande, S., Hirsch, P. R., & Kerry, B. R. (2005). The use of real - time PCR and species - specific primers for the identification and monitoring of *Paecilomyces lilacinus*. *FEMS Microbiology Ecology* 51(2), 257-264. <https://doi.org/10.1016/j.femsec.2004.09.002>.
- Gopinath, S. C., Anbu, P., Lakshmipriya, T., & Hilda, A. (2013). Strategies to characterize fungal lipases for applications in medicine and dairy industry. *BioMed research international*, 2013, ID154549. <https://doi.org/10.1155/2013/154549>.
- Izumitsu, K., Hatoh, K., Sumita, T., Kitade, Y., Morita, A., Gafur, A., Ohta, A., Kawai, M., Yamanaka, T., Neda, H., Ota, Y., & Tanaka, C. (2012). Rapid and simple preparation of mushroom DNA directly from colonies and fruiting bodies for PCR. *Mycoscience* 53(5), 396-401. <https://doi.org/10.1007/S10267-012-0182-3>.
- Khan, A., Williams, K. L., & Nevalainen, H. K. (2006). Infection of plant - parasitic nematodes by *Paecilomyces lilacinus* and *Monacrosporium lysipagum*. *Biological Control* 51(5), 659-678. <https://doi.org/10.1007/s10526-005-4242-x>.
- Khan, A., Williams, K. L., & Nevalainen, H. K. (2004). Effects of *Paecilomyces lilacinus*

- protease and chitinase on the eggshell structures and hatching of *Meloidogyne javanica* juveniles. *Biological Control* 31(3), 346-352. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2004.07.011>.
- Le, C. T. M., Le, N. T. T., Vu, D. T., Nguyen, D. T. T., Pham, H. N. D., & Pham, N. H. (2016). Selection of indigenous strains of *Purpureocillium lilacinum* able to parasitize root - knot nematode meloidogyne spp. *Journal of Plant Protection* 2, 24-29.
- Le, P. H. (2009). *Isolation and selection of media for three insect parasitic fungi Metarhizium anisopliae (Metsch.) Sorok, Beauveria bassiana (Bals.) Vuill and P. lilacinum on leaf vegetables in the Mekong Delta* (Research report). An Giang University, An Giang, Vietnam.
- Luangsa - Ard, J., Houbraken, J., van Doorn, T., Hong, S. B., Borman, A. M., Hywel - Jones, N. L., & Samson, R. A. (2011). *Purpureocillium*, a new genus for the medically important *Paecilomyces lilacinus*. *FEMS microbiology letters* 321(2), 141-149. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2011.02322.x>.
- Moosavi, M. R., & Zare, R. (2012). Fungi as biological control agents of plant - parasitic nematodes. In Mérillon, J. M., & Ramawat, K. G. (Eds.). *Plant defence: Biological Control* (2nd ed., 67-107). Dordrecht, Netherlands: Springer. https://doi.org/10.1007/978-94-007-1933-0_4.
- Morton, O., Hirsch, P., & Kerry, B. (2004). Infection of plant - parasitic nematodes by nematophagous fungi—a review of the application of molecular biology to understand infection processes and to improve biological control. *Nematology* 6(2), 161-170. <https://doi.org/10.1163/1568541041218004>.
- Mustafa, U., & Kaur, G. (2010). Studies on extracellular enzyme production in *Beauveria bassiana* isolates. *International Journal of Biotechnology and Biochemistry* 6(5), 701-714.
- Ngo, X. T. (2000). *Study on biological characteristics and the ability to prevent root - knot nematode Meloidogyne incognita (Kofoed et White, 1919/Chitwood) on some crops in Hanoi and surrounding areas* (Unpublished master's thesis). Ha Noi University of Agriculture I, Ha Noi, Vietnam.
- Nguyen, M. T. H., Dao, H. T. T., Nguyen, T. Đ., Nguyen, Q. T., Dao, H. H., Ho, H., Tran, N. K., Nguyen, H. T., Vo, N. T., & Pham, T. V. (2020a). Selection to determining the consortium of microorganisms antagonistic to coffee pathogen fungi and parasitic nematode. *The Journal of Agriculture and Rural Development* 397, 3-10.
- Nguyen, D. T., Nguyen, T. H., Le, L. T. M., & Trinh, P. Q. (2020b). Effects of *Paecilomyces* sp. to *Meloidogyne incognita* and *Pratylenchus penetrans* in laboratory conditions. In *The 19th National Conference of Plant Protection* (190-200). Ha Noi, Vietnam: Agricultural Publishing House.
- Nguyen, P. V. (2018). Construction of an artificial microRNA expression vector for silencing a gene of *Meloidogyne incognita*. *The Journal of Agriculture and Development* 17(2), 48-54.
- Nicol, J. M., Turner, S. J., Coyne, D. L., den Nijs, L. J. M. F., Hockland, S., & Maafi, Z. T. (2011). Current nematode threats to world agriculture. In Jones, L., Gheysen, G., & Fenoll, C. (Eds.). *Genomics and molecular genetics of plant - nematode interactions* (21 - 43). Dordrecht, Netherlands: Springer. https://doi.org/10.1007/978-94-007-0434-3_2.
- Pau, C. G., Leong, C. T. S., Wong, S. K., Eng, L., Jiwana, M., Kundat, F. R., Zakry Fitri, A. A., Osumanu Haruna, A., & Majid, N. M. (2012). Isolation of indigenous strains of *Paecilomyces lilacinus* with antagonistic activity against *Meloidogyne incognita*. *International Journal of Agriculture and Biology* 14(2), 197-203.
- Samson, R. A. (1974). *Paecilomyces and some allied hyphomycetes*. Utrecht, Netherlands: Centraalbureau voor Schimmelcultures.
- Siddiqui, Z. A., & Mahmood, I. (1996). Biological control of plant parasitic nematodes by fungi: a review. *Bioresource Technology* 58(3), 229-239.
- Tran, T. D. (2009). *Beauveriolide I, a cyclopeptide from the insect parasitic fungus (Paecilomyces lilacinus (Thom) Samson) in Nghe An* (Unpublished master's thesis). Vinh University, Nghe An, Vietnam.
- Trivedi, P. C. (2012). Plant parasitic nematodes and their management by bioagents. In *Proceedings of the 99th Indian Science Congress*. Bhubaneswar, India: KIIT University.
- Zhang, F., & Schmitt, D. P. (1994). Host status of 32 plant species to *Meloidogyne konaensis*. *Journal of Nematology* 26(4S), 744-748.

Effect of NaOCl, growth media, and plant growth regulators on *in vitro* propagation of disease-free KM140 cassava cultivar (*Manihot esculenta* Crantz)

Duyen T. T. Nguyen^{1*}, Nien C. Nguyen¹, Thanh T. Duong¹, & My T. Nguyen²

¹Crop Science, Nong Lam University, Ho Chi Minh City, Vietnam

²Department of Mushroom Research and Biotechnology, Hung Loc Agricultural Experimental Research Center, Dong Nai, Vietnam

ARTICLE INFO

Research Paper

Received: September 01, 2021

Revised: January 28, 2022

Accepted: February 11, 2022

Keywords

Cassava

Growth media

Growth regulator

In vitro propagation

*Corresponding author

Nguyen Thi Thanh Duyen

Email: nt-thanhduyen@hcmuaf.edu.vn

ABSTRACT

Cassava mosaic disease (CMD) is one of the most dangerous diseases that has caused heavy losses in yield and starch content on cassava. *In vitro* propagation using disease-free cassava stakes was an optimal method to produce healthy seedlings. In this study, sodium hypochlorite (NaOCl), growth media (MS, $\frac{1}{2}$ MS and Knudson C) and growth regulators (BA: Benzyl adenine, NAA: Naphthalene acetic acid, GA: Gibberellin) were used to determine an appropriate time for sample sterilization and the suitable concentration for shoot multiplication and root induction of KM140 cassava cultivar. The results showed that sample sterilization at 8% NaOCl concentration in 5 min gave the highest survival rate (71.7%) at 14 d of culture. Cassava explants cultured on MS medium supplemented with 1 mg/L BA gained the highest number of shoots (2.3 shoots), shoot height (10.3 mm) and the number of leaves (4.2 leaves/shoot) at 50 d of culture. The MS medium supplemented with 0.07 mg/L NAA and 0.03 mg/L GA was applicable for the rooting stage of KM140 cassava cultivar (19.8 roots/plantlet at 60 d of culture). The results of the study were fundamental to *in vitro* propagation process of disease-free KM140 cassava multiplication.

Cited as: Nguyen, D. T. T., Nguyen, N. C., Duong, T. T., & Nguyen, M. T. (2022). Effect of NaOCl, growth media, and plant growth regulators on *in vitro* propagation of disease-free KM140 cassava cultivar (*Manihot esculenta* Crantz). *The Journal of Agriculture and Development* 21(1), 9-16.

Ảnh hưởng của NaOCl, môi trường và các chất điều hòa sinh trưởng đến nhân giống sắn KM140 sạch bệnh (*Manihot esculenta* Crantz) bằng phương pháp *in vitro*

Nguyễn Thị Thanh Duyên^{1*}, Nguyễn Châu Niên¹, Dương Tấn Thành¹ & Nguyễn Thị Mỹ²

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

²Bộ Môn Nghiên Cứu Năm Và Công Nghệ Sinh Học, Trung Tâm Nghiên Cứu Thực Nghiệm Nông Nghiệp Hưng Lộc, Đồng Nai

THÔNG TIN BÀI BÁO

Bài báo khoa học

Ngày nhận: 01/09/2021

Ngày chỉnh sửa: 28/01/2022

Ngày chấp nhận: 11/02/2022

Từ khóa

Giống sắn KM140

in vitro

Kích thích tăng trưởng

Môi trường nuôi cấy

*Tác giả liên hệ

Nguyễn Thị Thanh Duyên

Email: nt-thanhduyen@hcmuaf.edu.vn

TÓM TẮT

Bệnh khảm lá sắn (CMD) là một trong những bệnh nguy hiểm đã gây thiệt hại nặng nề về năng suất và hàm lượng tinh bột sắn. Nhân giống *in vitro* từ nguồn giống sắn sạch bệnh là phương pháp tối ưu nhằm sản xuất ra cây giống sạch bệnh khảm lá. Trong nghiên cứu này, Natri hypoclorit (NaOCl), các loại môi trường nuôi cấy (MS, $\frac{1}{2}$ MS và Knudson C) và chất điều hòa sinh trưởng (BA: Benzyl adenine, NAA: Naphthalene acetic acid, GA: Gibberellin) đã được sử dụng để xác định được nồng độ và thời gian phù hợp cho quá trình vào mẫu, nhân chồi và tạo rễ giống sắn KM140. Các chỉ tiêu về tỷ lệ mẫu sống, mẫu nhiễm, mẫu chết, số chồi, chiều cao chồi, số rễ và chiều dài rễ của cây sắn *in vitro* đã được đánh giá. Kết quả nghiên cứu cho thấy, khử trùng mẫu ở nồng độ 8% NaOCl và thời gian 5 phút đã cho tỷ lệ mẫu sống cao nhất (71,7%) ở 14 ngày sau cấy và mẫu sắn KM140 được cấy vào môi trường MS có bổ sung 1 mg/L BA cho số chồi (2,3 chồi), chiều cao chồi (10,3 mm) và số lá (4,2 lá/chồi) cao nhất ở thời điểm 50 ngày sau cấy. Môi trường MS bổ sung 0,07 mg/L NAA và 0,03 mg/L GA thích hợp cho việc ra rễ của cây sắn (19,8 rễ/cây tại 60 ngày sau cấy). Kết quả của nghiên cứu là cơ sở để hoàn thiện quy trình nhân giống sắn KM140 sạch bệnh theo phương pháp *in vitro*.

1. Đặt Vấn Đề

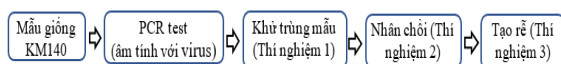
Ở Việt Nam, cây sắn (*Manihot esculenta* Crantz) là cây lương thực quan trọng đứng hàng thứ ba sau lúa và ngô. Cây sắn hiện nay đã chuyển đổi vai trò từ cây lương thực, thực phẩm thành cây công nghiệp hàng hóa có lợi thế cạnh tranh cao. Sản xuất sắn là nguồn thu nhập của các hộ nông dân nghèo do sắn dễ trồng, ít kén đất, ít vốn đầu tư, phù hợp sinh thái và điều kiện kinh tế nông hộ (Hy & ctv., 2020). Hiện nay, năng suất và chất lượng sắn đang giảm mạnh do sự gây hại của nhiều loại dịch hại khác nhau. Trong đó, bệnh khảm lá sắn (Cassava Mosaic Disease - CMD) là một trong những bệnh nguy hiểm trên thế giới và Việt Nam (Uke & ctv., 2018), đã làm giảm năng suất sắn từ 15% - 24% tại Châu Phi (Thresh & ctv., 1997), giảm 50% - 70% tại Zambia (Muimba-Kankolongo & ctv., 1997).

Theo thống kê của Cục BVTV (2020), diện tích trồng sắn của cả nước khoảng 421.059 ha trong đó có 52.180 ha bị nhiễm bệnh khảm lá sắn phân bố 20 tỉnh, thành phố và đang có chiều hướng lan rộng, khó kiểm soát. Một trong những biện pháp để hạn chế sự lây lan và thiệt hại của bệnh khảm lá sắn là cần cung cấp nguồn giống sạch bệnh cho người nông dân. Phương pháp nhân giống *in vitro* được xem là phương pháp tối ưu và được khuyến cáo áp dụng để sản xuất giống sạch bệnh (Hamill, 2014), đặc biệt trên cây sắn (Escobar & ctv., 2013). Phương pháp này được thực hiện trong phòng thí nghiệm, hoàn toàn tách biệt vector truyền bệnh. Tuy nhiên, chưa có quy trình cụ thể cho từng giai đoạn nhân giống *in vitro* cây sắn KM140. Đồng thời, để nhân giống *in vitro* cho từng giống khác nhau, quy trình khử mẫu và môi trường nuôi cấy cho từng giai đoạn nhân chồi, tạo rễ cũng khác nhau (Mình, 2005). Vì vậy,

việc xác định các chất khử trùng, môi trường nền và chất điều hòa sinh trưởng phù hợp cho quá trình vào mẫu, nhân chồi và tạo cây con hoàn chỉnh là những vấn đề cần thiết để tiến tới hoàn thiện quy trình nhân giống *in vitro* trên cây sắn KM140. Vì vậy, nghiên cứu này được tiến hành nhằm xác định nồng độ và thời gian khử trùng mẫu, đồng thời xác định môi trường nuôi cấy và nồng độ chất điều hòa sinh trưởng phù hợp cho việc nhân vô tính giống sắn KM140, giống sắn đang được trồng phổ biến tại khu vực phía Nam.

2. Vật Liệu và Phương Pháp Nghiên Cứu

Quy trình thực hiện



Hình 1. Quy trình thực hiện.

Vật liệu: Giống sắn KM140 được lấy từ vườn giống của Trung tâm Nghiên cứu Thực nghiệm Hưng Lộc, sau đó áp dụng kỹ thuật PCR để kiểm tra sự hiện diện virus gây bệnh khảm lá nhằm đảm bảo giống không mang mầm bệnh. Những mẫu nhiễm SLCMV là những mẫu có thang DNA là 523 bp.

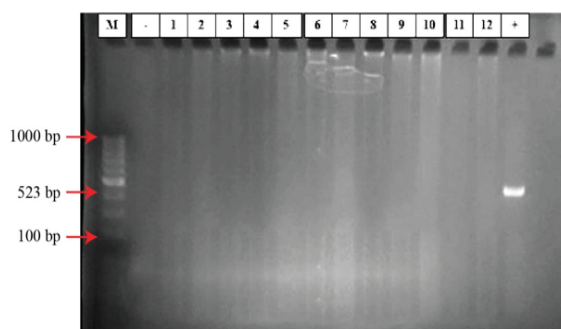
Cặp mồi đặc hiệu cho SLCMV (Uke & ctv., 2018) được sử dụng trong phản ứng PCR là:

SLCMV - A - F2:

5'-TGTGAAGGCCCATGTAAGGT- 3'

SLCMV - A - R3:

5'-CGTATCGTATACAGGRTTAGA- 3'



Hình 2. Kết quả PCR kiểm tra cây sắn giống không mang mầm bệnh.

Ghi chú: Sản phẩm PCR được chạy điện di trên gel agarose 2%. Giếng 1 - 12 là mẫu gộp lá cây sắn

không nhiễm CMD dùng thực hiện thí nghiệm với 1 mẫu gộp là 10 lá được thu từ 10 cây mẫu. Giếng (-) là đối chứng âm (mẫu lá không nhiễm CMD), giếng (+) là đối chứng dương (mẫu nhiễm virus) (phản ứng âm tính với SLCMV - không xuất hiện vạch ở các giếng). M: Marker (thang tiêu chuẩn để xác định kích thước các vạch). Sản phẩm PCR có kích thước là ≈ 523 bp.

Từ các cây sắn KM140 sạch bệnh, cắt các đoạn chồi sắn để khử trùng mẫu, thực hiện thí nghiệm.

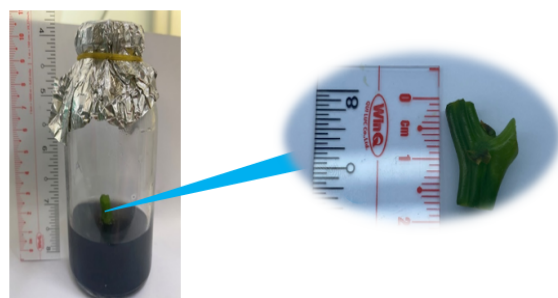
2.1. Ảnh hưởng của nồng độ NaOCl và thời gian khử trùng mẫu thân sắn KM 140 *in vitro*

Thí nghiệm nhằm đánh giá ảnh hưởng của nồng độ NaOCl và thời gian khử trùng mẫu, từ đó xác định được nồng độ NaOCl và thời gian thích hợp để vào mẫu chồi sắn KM140. Thí nghiệm hai yếu tố được bố trí theo kiểu hoàn toàn ngẫu nhiên (CRD), gồm 9 nghiệm thức với 3 lần lặp lại. Số ô thí nghiệm $9 \times 3 = 27$ ô, mỗi ô có 20 chai, mỗi chai 1 mẫu. Tổng số lượng mẫu là 540 mẫu.

Yếu tố A gồm 3 nồng độ NaOCl (A1: 4%, A2: 8%, A3: 12%).

Yếu tố B gồm 3 khoảng thời gian (B1: 5 phút; B2: 10 phút; B3: 15 phút).

Quy trình khử trùng: rửa sạch chồi sắn dưới vòi nước sạch, ngâm trong dung dịch xà phòng có nồng độ 0,5% trong 5 phút, ngâm cồn 70° trong 30 giây và ngâm mẫu trong NaOCl theo nồng độ và thời gian của các nghiệm thức. Sau đó cắt chồi với kích thước 1,5 cm (Hình 1) để cấy vào chai có chứa môi trường nền MS. Theo dõi toàn bộ số mẫu cấy với các chỉ tiêu: tỷ lệ mẫu nhiễm (%), tỷ lệ mẫu chết (%) và tỷ lệ mẫu sống (%) tại thời điểm 21 ngày sau khi vào mẫu.



Hình 3. Mẫu được cấy vào môi trường MS.

2.2. Ảnh hưởng của môi trường và BA (Benzyl adenine) đến khả năng nhân chồi cây sắn *in vitro*

Thí nghiệm được thực hiện nhằm xác định loại môi trường và các nồng độ BA thích hợp cho giai đoạn nhân chồi *in vitro*. Thí nghiệm hai yếu tố được bố trí theo kiểu hoàn toàn ngẫu nhiên (CRD), gồm 12 nghiệm thức với 3 lần lặp lại. Số ô thí nghiệm $12 \times 3 = 36$ ô, mỗi ô có 25 bịch, mỗi bịch 1 mẫu. Tổng số lượng mẫu là 900 mẫu.

Yếu tố A gồm 3 môi trường (A1: MS, A2: $\frac{1}{2}$ MS, A3: Knudson C).

Yếu tố B gồm 4 mức nồng độ BA (B1: 1,0 mg/L; B2: 2,0 mg/L; B3: 3,0 mg/L; B4: 4,0 mg/L).

Các bước tiến hành: Sử dụng mẫu cây của thí nghiệm 1 để làm vật liệu cho thí nghiệm 2. Cắt mẫu cây với kích thước 1,5 cm có mang mắt mầm, cấy vào bịch với các môi trường của từng nghiệm thức tương ứng.

Chỉ tiêu theo dõi: Chọn 10 mẫu/lần lặp lại của từng nghiệm thức để theo dõi các chỉ tiêu: số chồi/mẫu (chồi), chiều cao chồi (cm) và số lá/chồi (lá).

2.3. Ảnh hưởng của nồng độ GA (Gibberellin) và NAA (Naphthalene acetic acid) lên khả năng tạo rễ của cây sắn *in vitro*

Thí nghiệm được thực hiện nhằm xác định được nồng độ GA và NAA thích hợp cho giai đoạn tạo rễ *in vitro*. Thí nghiệm hai yếu tố được bố trí theo kiểu hoàn toàn ngẫu nhiên (CRD), gồm 9 nghiệm thức với 3 lần lặp lại. Số ô thí nghiệm $9 \times 3 = 27$ ô, mỗi ô có 25 bịch, mỗi bịch 1 mẫu. Số lượng mẫu là 675.

Yếu tố A gồm 3 nồng độ GA (0,03 mg/L, 0,05 mg/L, 0,07 mg/L).

Yếu tố B gồm 3 nồng độ NAA (0,01 mg/L; 0,02 mg/L; 0,03 mg/L).

Cách tiến hành: Sử dụng môi trường tốt nhất từ thí nghiệm 2 để làm môi trường nền cho thí nghiệm 3. Sử dụng mẫu cây của thí nghiệm 1 và thí nghiệm 2 để cấy vào bịch với các nghiệm thức tương ứng.

Chỉ tiêu theo dõi: Chọn 10 mẫu/lần lặp lại của từng nghiệm thức để theo dõi chỉ tiêu số rễ (rễ/cây) với chiều dài rễ (cm), theo dõi 10 ngày 1 lần.

3. Kết Quả và Thảo Luận

3.1. Ảnh hưởng của nồng độ NaOCl và thời gian khử trùng mẫu sắn KM140 *in vitro*

Số liệu Bảng 1 cho thấy: Ở thời điểm 14 ngày sau cấy (NSC), khi khử trùng mẫu chồi của cây sắn KM140 bằng NaOCl với nồng độ khác nhau cho kết quả về tỷ lệ mẫu sống khác biệt rất có ý nghĩa trong thống kê. Trong đó khi khử trùng mẫu với nồng độ 8% cho kết quả tỷ lệ mẫu sống cao nhất đạt 57,8%. Và khi khử trùng mẫu trong thời gian càng dài thì tỷ lệ mẫu sống càng giảm, tỷ lệ mẫu sống cao nhất khi được khử trùng trong thời gian là 5 phút đạt 56,7%. Tuy nhiên sự khác biệt về tương tác giữa nồng độ và mức thời gian không có ý nghĩa trong thống kê giữa các nghiệm thức. Khi mẫu được khử trùng với nồng độ NaOCl 8% trong thời gian 15 phút cho tỷ lệ mẫu sống cao nhất (71,7%), tỷ lệ mẫu nhiễm thấp (28,3%) (Hình 2) và không có mẫu chết. Tỷ lệ mẫu nhiễm càng tăng khi thời gian khử trùng mẫu càng ngắn, trong đó khi khử trùng mẫu ở thời gian 5 phút có tỷ lệ mẫu nhiễm cao nhất (40,0%) khác biệt rất có ý nghĩa thống kê khi khử trùng mẫu trong thời gian 15 phút. Đồng thời khi tăng nồng độ NaOCl và tăng thời gian khử trùng mẫu thì tỷ lệ mẫu nhiễm giảm dần nhưng tỷ lệ chết lại tăng lên. Mẫu được khử trùng với thời gian 15 phút có tỷ lệ mẫu chết cao nhất (38,9%) và tỷ lệ mẫu chết đạt 38,3% khi khử trùng mẫu với nồng độ NaOCl 12% và sự khác biệt giữa các nghiệm thức rất có ý nghĩa trong thống kê. Sự tương tác giữa hai yếu tố nồng độ và thời gian khử trùng mẫu cũng có sự khác biệt rất có ý nghĩa thống kê giữa các nghiệm thức ở tỷ lệ mẫu nhiễm và tỷ lệ mẫu chết.

Nhìn chung, khi tăng nồng độ NaOCl và kéo dài thời gian khử mẫu thì tỷ lệ mẫu nhiễm giảm nhưng tỷ lệ mẫu chết tăng (63,3%) ở nghiệm thức được khử trùng mẫu bằng NaOCl 12% trong thời gian 15 phút khác biệt rất có ý nghĩa so với các nghiệm thức còn lại). Điều này phù hợp với kết quả nghiên cứu của Maruthi & ctv. (2019), đã sử dụng NaOCl với nồng độ thấp hơn (5%) có bổ sung 0,1 mL/L Tween 20 khi khử trùng mẫu sắn trong thời gian lâu hơn là 20 - 30 phút. Một nghiên cứu khác Sessou & ctv. (2020) cũng cho thấy khi sử dụng nồng độ NaOCl (3,25%) thì cần có thời gian khử trùng mẫu 15 phút. Vì vậy, việc sử dụng nồng độ NaOCl 8% trong thời gian 5 phút là thích hợp để khử trùng mẫu chồi của cây

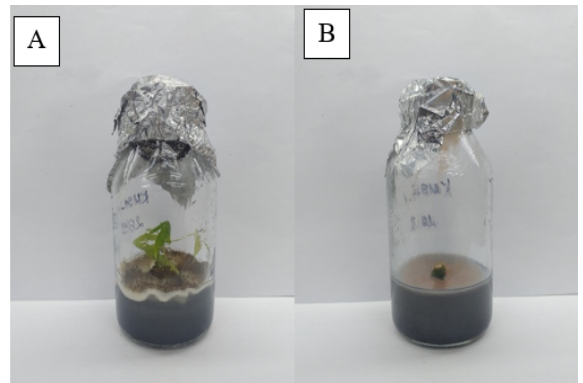
sản KM140.

3.2. Ảnh hưởng của môi trường và BA đến khả năng nhân chồi của cây sản KM140

Mẫu sản KM140 khi được cấy vào các môi trường khác nhau cho số chồi khác biệt rất có ý nghĩa thống kê ở thời điểm 50 NSC. Trong đó, khi cấy mẫu vào môi trường MS cho số chồi cao nhất 2,0 (chồi) khác biệt rất có ý nghĩa so với mẫu được cấy vào môi trường 1/2MS và Kundson C. Tuy nhiên, sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê khi bổ sung các nồng độ BA khác nhau cũng như sự tương tác giữa môi trường và các nồng độ BA. Môi trường MS cũng là môi trường cho kết quả về chiều cao chồi cao nhất (6,8 cm). Khi bổ sung các nồng độ BA khác nhau, có sự khác biệt rất có ý nghĩa của chiều cao chồi ở các nghiệm thức. Ở nồng độ 1 mg/L, chồi sản có chiều cao chồi cao nhất (6,4 cm) tuy không khác biệt thống kê so với khi mẫu được cấy vào môi trường có bổ sung 3 mg/L (5,0 cm) nhưng khác biệt rất có ý nghĩa so với các nghiệm thức còn lại. Sự tương tác giữa môi trường và nồng độ BA ảnh hưởng rất có ý nghĩa đến chiều cao chồi và số lá trên chồi. Trong đó, sự kết hợp giữa môi trường MS có bổ sung 1 mg/L BA cho kết quả về chiều cao chồi cao nhất ở thời điểm 50 NSC (10,3 cm). Và số lá/chồi cũng đạt kết quả cao nhất khi được cấy vào môi trường này (4,2 lá/chồi) (Bảng 2). Kết quả của nghiên cứu này là tương tự với nghiên cứu của Alla & ctv. (2013) cho thấy, môi trường MS có bổ sung 1,0 mg/L BA + 0,05 mg/L NAA là thích hợp với việc nhân chồi trên sản. Và nhiều nghiên cứu khác cũng đã sử dụng môi trường MS để nhân chồi giống sản (Mapayi & ctv., 2013; Abdoulaye & ctv., 2015). Ngoài ra, Fletcher & ctv. (2011) sử dụng phương pháp tạo sẹo từ lá, cuống lá và chồi để nhân chồi các giống sản trong môi trường MS có bổ sung 8 mg/L 2,4 D cho kết quả về tỷ lệ sẹo hình thành cao nhất là 75%.

3.3. Ảnh hưởng của nồng độ GA và NAA lên khả năng tạo rễ của cây sản KM140 *in vitro*

Kết quả ở Bảng 3 cho thấy GA và NAA có tác động đến quá trình tạo rễ của cây sản KM140 *in vitro*. Khi cây sản được cấy vào môi trường MS có bổ sung 0,07 mg/L GA cho số rễ trung bình cao nhất 17,7 rễ/cây, khác biệt rất có ý nghĩa thống kê với số rễ của chồi sản được nuôi cấy ở



Hình 4. Mẫu chồi sản bị nhiễm (A: Mẫu nhiễm nấm; B: Mẫu nhiễm khuẩn).

môi trường có các mức nồng độ GA khác. Các mức nồng độ NAA được bổ sung vào môi trường khác nhau cho kết quả về số rễ khác nhau và sự khác biệt rất có ý nghĩa trong thống kê. Khi bổ sung nồng độ 0,03 mg/L NAA vào môi trường thì cho số rễ trung bình cao nhất (15,5 rễ/cây) tuy sự khác biệt không có ý nghĩa trong thống kê với số rễ/cây ở nồng độ 0,01 mg/L NAA nhưng có ý nghĩa so với số rễ/cây ở mức nồng độ 0,02 mg/L NAA. Và sự tương tác giữa nồng độ GA và nồng độ NAA có tác động rất có ý nghĩa đến số rễ và chiều dài rễ của cây sản KM140 *in vitro*.

Trong đó, khi cấy vào môi trường MS có bổ sung 0,07 mg/L GA và 0,03 mg/L NAA cho kết quả về số rễ nhiều nhất, đạt 19,8 rễ/cây khác biệt rất có ý nghĩa so với các nghiệm thức còn lại. Và khi bổ sung 0,05 mg/L GA và 0,03 mg/L NAA vào môi trường MS cho kết quả tốt nhất về chiều dài rễ (171,8 cm) và khác biệt không có ý nghĩa so với môi trường MS có bổ sung 0,07 mg/L GA và 0,03 mg/L NAA. Vì vậy, môi trường này được xác định là thích hợp cho việc tạo rễ của cây sản KM140 *in vitro*.

Nghiên cứu về ảnh hưởng của NAA và GA đối với việc tạo rễ trên cây sản *in vitro* còn hạn chế. Tuy nhiên ảnh hưởng của NAA và GA trong nhân giống *in vitro* đối với một số cây trồng khác đã được nghiên cứu như trên khoai lang (Noh & ctv., 2010), nghiên cứu chỉ ra rằng sự kết hợp giữa NAA và GA trong môi trường nuôi cấy có tác động tích cực đến quá trình ra rễ của cây mô.

4. Kết Luận

Nghiên cứu quy trình nhân giống *in vitro* cây sản nhằm sản xuất cây giống sạch bệnh, phục vụ

Bảng 1. Ảnh hưởng của nồng độ NaOCl và các khoảng thời gian đến tỷ lệ mẫu sống, mẫu nhiễm và mẫu chết của cây sắn KM140 ở thời điểm 14 ngày sau cấy

Ngày sau cấy	Nồng độ NaOCl (%)	Mức thời gian			TB NaOCl
		5	10	15	
Tỷ lệ mẫu sống (%)	4%	56,7	63,3	46,7	55,6 ^a
	8%	71,7	58,3	43,4	57,8 ^a
	12%	41,7	28,3	25,0	31,7 ^b
	TB TG	56,7 ^a	50,0 ^{ab}	38,3 ^b	
	CV(%) = 9,0	$F_{\text{NaOCl}} = 25,9^{**}$	$F_{\text{TG}} = 11,0^{**}$	$F_{\text{NaOCl} \times \text{TG}} = 1,6^{\text{ns}}$	
Tỷ lệ mẫu nhiễm (%)	4%	43,3 ^a	30,0 ^{ab}	38,3 ^a	37,2
	8%	28,3 ^{ab}	41,7 ^a	18,3 ^b	29,4
	12%	48,3 ^a	30,0 ^{ab}	11,7 ^b	30,0
	TB TG	40,0 ^a	33,9 ^a	22,8 ^b	
	CV(%) = 13,5	$F_{\text{NaOCl}} = 2,8^{\text{ns}}$	$F_{\text{TG}} = 9,8^{**}$	$F_{\text{NaOCl} \times \text{TG}} = 5,5^{**}$	
Tỷ lệ mẫu chết (%)	4%	0,0 ^e	6,7 ^d	15,0 ^c	7,2 ^b
	8%	0,0 ^e	0,0 ^e	38,3 ^b	12,8 ^b
	12%	10,0 ^{cd}	41,7 ^b	63,3 ^a	38,3 ^a
	TB TG	3,3 ^c	16,1 ^b	38,9 ^a	
	CV(%) = 13,5	$F_{\text{NaOCl}} = 90,8^{**}$	$F_{\text{TG}} = 122,8^{**}$	$F_{\text{NaOCl} \times \text{TG}} = 12,3^{**}$	

Trong cùng một nhóm giá trị trung bình, các số có cùng kí tự đi kèm thể hiện sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$), **: khác biệt rất có ý nghĩa về mặt thống kê ($P < 0,01$), ns: không có khác biệt thống kê; TG: thời gian; TB: trung bình. Số liệu được chuyển đổi bằng công thức $\sqrt{x + 0,5}$ để phân tích thống kê.

Bảng 2. Ảnh hưởng của môi trường nền và nồng độ BA (Benzyl adenine) đến số chồi, chiều cao chồi và số lá của cây sắn KM140 ở thời điểm 50 ngày sau cấy

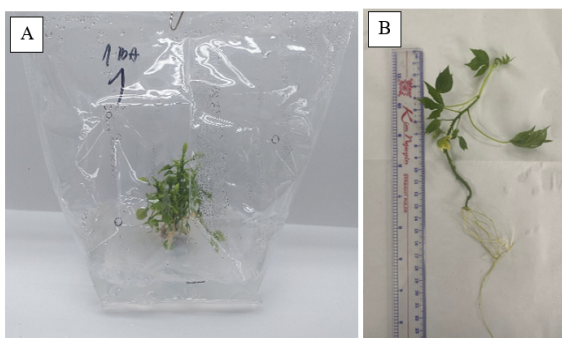
Ngày sau cấy	Môi trường	Nồng độ BA (mg/L)				TB MT
		1	2	3	4	
Số chồi (chồi)	MS	2,3	1,8	2,0	2,1	2,0 ^a
	$\frac{1}{2}$ MS	1,4	1,3	1,1	1,0	1,2 ^b
	Knuckson C	1,0	1,0	1,6	1,0	1,1 ^b
	TB BA	1,5	1,4	1,6	1,3	
	CV(%) = 17,1	$F_{\text{MT}} = 44,9^{**}$	$F_{\text{BA}} = 1,8^{\text{ns}}$	$F_{\text{MT} \times \text{BA}} = 2,4^{\text{ns}}$		
Chiều cao chồi (mm)	MS	10,3 ^a	5,0 ^{bc}	6,7 ^b	5,1 ^{bc}	6,8 ^a
	$\frac{1}{2}$ MS	4,8 ^{bc}	4,5 ^{bc}	3,7 ^c	3,0 ^c	4,0 ^b
	Knuckson C	4,2 ^{bc}	4,0 ^{bc}	4,5 ^{bc}	3,0 ^c	3,9 ^b
	TB BA	6,4 ^a	4,5 ^b	5,0 ^{ab}	3,7 ^b	
	CV(%) = 19,1	$F_{\text{MT}} = 33,9^{**}$	$F_{\text{BA}} = 21,4^{**}$	$F_{\text{MT} \times \text{BA}} = 7,3^{**}$		
Số lá (lá/chồi)	MS	4,2 ^a	2,2 ^{bc}	2,4 ^b	1,9 ^{bc}	2,7 ^a
	$\frac{1}{2}$ MS	2,2 ^{bc}	2,6 ^b	2,1 ^{bc}	1,7 ^{bc}	2,1 ^b
	Knuckson C	1,9 ^{bc}	1,3 ^c	2,0 ^{bc}	0,2 ^d	1,3 ^c
	TB BA	2,7 ^a	2,1 ^b	2,2 ^b	1,3 ^c	
	CV(%) = 19,1	$F_{\text{MT}} = 33,9^{**}$	$F_{\text{BA}} = 21,4^{**}$	$F_{\text{MT} \times \text{BA}} = 7,3^{**}$		

Trong cùng một nhóm giá trị trung bình, các số có cùng kí tự đi kèm thể hiện sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$), **: khác biệt rất có ý nghĩa về mặt thống kê ($P < 0,01$), ns: không có khác biệt thống kê; MT: môi trường; TB: trung bình.

Bảng 3. Ảnh hưởng của nồng độ GA (Gibberellin) và NAA (Naphthalene acetic acid) đến số rễ, chiều dài rễ của cây sắn KM140 ở thời điểm 60 ngày sau cấy

Ngày sau cấy	Nồng độ GA	Nồng độ NAA			TB GA
		0,01	0,02	0,03	
Số rễ (rễ/cây)	0,03	12,6 ^e	15,7 ^c	16,2 ^{bc}	10,8 ^c
	0,05	10,0 ^f	14,0 ^d	17,2 ^b	15,5 ^b
	0,07	9,9 ^f	16,8 ^{bc}	19,8 ^a	17,7 ^a
	TB NAA	14,8 ^a	13,7 ^b	15,5 ^a	
	CV(%) = 3,4	$F_{GA} = 26,9^{**}$	$F_{NAA} = 424,5^{**}$	$F_{GA \times NAA} = 30,6^{**}$	
Chiều dài rễ (mm)	0,03	132,5 ^{de}	160,9 ^{ab}	157,3 ^{ab}	150,2
	0,05	120,6 ^e	151,9 ^{bc}	171,8 ^a	148,1
	0,07	140,7 ^{cd}	133,7 ^{de}	159,3 ^{ab}	144,6
	TB NAA	131,3 ^c	148,8 ^b	162,8 ^a	
	CV(%) = 4,1	$F_{GA} = 1,9^{ns}$	$F_{NAA} = 58,7^{**}$	$F_{GA \times NAA} = 13,0^{**}$	

Trong cùng một nhóm giá trị trung bình, các số có cùng kí tự đi kèm thể hiện sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$), **: khác biệt rất có ý nghĩa về mặt thống kê ($P < 0,01$), ^{ns}: không có khác biệt thống kê; TB: trung bình.



Hình 5. A. Chồi sắn được cấy trong môi trường MS bổ sung 1 mg/L BA ở thời điểm 50 ngày sau cấy; B. Số rễ và chiều dài rễ của cây sắn ở môi trường MS được bổ sung 0,07 mg/L GA và 0,03 mg/L NAA ở thời điểm 60 ngày sau cấy.

sản xuất đang được chú trọng. Kết quả nghiên cứu quy trình nhân giống *in vitro* đối với giống sắn KM140 cho thấy sử dụng Natri hypochlorite (NaOCl) nồng độ 8% trong 5 phút để khử trùng mẫu chồi sắn KM140 đạt tỷ lệ sống 73,3% sau 21 ngày. Môi trường MS bổ sung 1 mg/L BA đạt hệ số nhân chồi 2,3, chiều cao chồi 10,3 mm và số lá đạt 4,2 lá/chồi sau 50 ngày nuôi cấy. Môi trường MS bổ sung 0,07 mg/L NAA và 0,03 mg/L GA là thích hợp cho việc tạo rễ cây sắn KM140, sau 60 ngày nuôi cấy, số rễ /cây đạt 19,8 rễ.

Lời Cam Đoan

Chúng tôi cam đoan bài báo do nhóm tác giả thực hiện và không có bất kỳ mâu thuẫn nào giữa các tác giả.

Tài Liệu Tham Khảo (References)

- Abdoulaye, F. A. Y. E., Sagna, M., Kane, P. D., & Djibril, S. A. N. E. (2015). Effects of different hormones on organogenesis in vitro of some varieties of cassava (*Manihot esculenta* Crantz) grown in Senegal. *African Journal of Plant Science* 9(8), 305-312. <https://doi.org/10.5897/AJPS2014.1243>.
- Alla, N. A. A., Ragab, M. E., El-Miniawy, S. E. M., & Taha, H. S. (2013). In vitro studies on cassava plant micropropagation of cassava (*Manihot esculenta* Crantz). *Journal of Applied Sciences Research* 9(1), 811-820.
- Escobar, R. H., Restrepo, J., Tohme, J., & Roca, W. M. (2013). Use of tissue culture in cassava for rural households in Colombia. In: Ruane, J., Dargie, J. D., Mba, C., Boettcher, P., Makkar, H. P. S., Bartley, D. M., & Sonnino, A. (Eds). *Biotechnologies at work for smallholders: Case studies from developing countries in crops, livestock and fish* (1st ed., 56-62). Rome, Italy: Food and Agriculture Organization of the United Nations.
- Fletcher, E. K., Amoako, T. N., & Twumasi, P. (2011). Effect of 2, 4-D, explants type and cultivar on the callogenesis expression of cassava (*Manihot esculenta* Crantz) in Ghana. *African Journal of Biotechnology* 10(46), 9396-9401. <https://doi.org/10.5897/AJB10.2115>.
- Hamill, S. D. (2014). Processes, costs and traits of plants produced in tissue culture must be considered to develop effective crop production systems. In Lambardi, M., Hamill, S. and Drew, R. (Eds.), *XXIX International Horticultural Congress on Horticulture: Sustaining Lives, Livelihoods and Landscapes (IHC2014): 1113* (85-92). Brisbane, Australia: ISHS. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2016.1113.12>.
- Hy, N. H., Reinhardt, H., Nhan, P. T., & Buu, B. C. (2020). *Cassava science*. Hà Nội, Vietnam: Agricultural Publishing House.

- Mapayi, E. F., Ojo, D. K., Oduwaye, O. A., & Porbeni, J. B. O. (2013). Optimization of in-vitro propagation of cassava (*Manihot esculenta* Crantz) genotypes. *Journal of Agricultural Science* 5(3), 261. <https://doi.org/10.5539/jas.v5n3p261>.
- Maruthi, M. N., Whitfield, E. C., Otti, G., Tumwegamire, S., Kanju, E., Legg, J. P., Mkamilo, G., Kawuki, R., Benesi, I., Zacarias, A., & Munga, T. (2019). A method for generating virus-free cassava plants to combat viral disease epidemics in Africa. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 105, 77-87. <https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2018.09.002>.
- Minh T. V. (2005). *Plant cell technology* (1st ed.). Ha Noi, Vietnam: Vietnam Academy of Science and Technology.
- Muimba-Kankolongo, A., Chalwe, A., Sisupo, P., & Kang, M. S. (1997). Distribution, prevalence and outlook for control of cassava mosaic disease in Zambia. *Roots* 4(1), 2-7.
- Noh, S. A., Lee, H. S., Huh, E. J., Huh, G. H., Paek, K. H., Shin, J. S., & Bae, J. M. (2010). SRD1 is involved in the auxin-mediated initial thickening growth of storage root by enhancing proliferation of metaxylem and cambium cells in sweet potato (*Ipomoea batatas*). *Journal of Experimental Botany* 61(5), 1337-1349. <https://doi.org/10.1093/jxb/erp399>.
- Sessou, A. F., Kahia, J. W., Houngue, J. A., Ateka, E. M., Dadjo, C., & Ahanhanzo, C. (2020). In vitro propagation of three mosaic disease resistant cassava cultivars. *BMC Biotechnology* 20(1), 1-13. <https://doi.org/10.1186/s12896-020-00645-8>.
- Thresh, J. M., Otim-Nape, G. W., Legg, J. P., & Fargette, D. (1997). Africa cassava mosaic disease: What is the magnitude of the problem. In Thro, R. M. and Akoroda, M. P.(Eds), *Proceedings of The Cassava Biotechnology Network Third International Scientific Meeting*. Ibadan, Nigeria: International Society for Tropical Root Crops - Africa Branch (ISTRAC-AB).
- Uke, A., Hoat, T. X., Quan, M. V., Liem, N. V., Ugaki, M., & Natsuaki, K. T. (2018). First report of Sri Lankan cassava mosaic virus infecting cassava in Vietnam. *Plant Disease* 102(12), 2669. <https://doi.org/10.1094/PDIS-05-18-0805-PDN>.

Evaluating the genetic potential of *Hevea* genetic resources originating from the state of Rondonia in Brazil conserved in Vietnam

Truong V. Vu^{1,3}, Dinh D. Huynh¹, Thao T. Nguyen¹, Thanh Tran¹, Minh D. Tran¹, An B. Tran¹, Vincent Le Guen², & Biet V. Huynh^{3*}

¹Rubber Research Institute of Vietnam, Ho Chi Minh City, Vietnam

²French Agricultural Research Centre for International Development, Montpellier, France

³Nong Lam University, Ho Chi Minh City, Vietnam

ARTICLE INFO

Research Paper

Received: August 11, 2021

Revised: January 23, 2022

Accepted: February 22, 2022

Keywords

Conservation

Hevea

Genetic diversity

Genetic potential

Genetic variability

*Corresponding author

Huynh Van Biet

Email: hvbiet@hcmuaf.edu.vn

ABSTRACT

This study aimed to evaluate the genetic potential of *Hevea* genetic resources originating from the state of Rondonia in Brazil which have been conserved in Vietnam for effective and sustainable use. Based on 15 SSR markers, the level of high genetic diversity in all 14 groups of varieties from the state of Rondonia (Brazil) included in the assessment of agronomic characteristics in field trials with the average number of alleles (Na) ranged from 12 to 12.9, and the average expected heterozygosity (He) was 0.77; the genetic variance mainly occurred within accessions with 74% of the total genetic variability. Besides, the wild genetic resources from the state of Rondonia (Brazil) exhibited vigorous growth, but the variation was low (17%), while the latex productivity was low but the variation was high (90%). Rondonia population with the best growth and latex yield of accessions was independent of the number of the groups; the best vigorous growth and latex yield accessions derived from three groups including RO/A/7, RO/C/9, and RO/JP/3; the best vigorous growth accessions belonged to RO/C/8 group.

Cited as: Vu, T. V., Huynh, D. D., Nguyen, T. T., Tran, T., Tran, M. D., Tran, A. B., Le Guen, V., & Huynh, B. V. (2022). Evaluating the genetic potential of *Hevea* genetic resources originating from the state of Rondonia in Brazil conserved in Vietnam *The Journal of Agriculture and Development* 21(1), 17-27.

Đánh giá tiềm năng di truyền của nguồn gen cây cao su có nguồn gốc từ bang Rondonia của Brazil đang bảo tồn ở Việt Nam

Vũ Văn Trường^{1,3}, Huỳnh Đức Định¹, Nguyễn Thị Thảo¹, Trần Thanh¹, Trần Đình Minh¹, Trần Bình An¹, Le Guen Vincent² & Huỳnh Văn Biết^{3*}

¹Viện Nghiên Cứu Cao Su Việt Nam, TP. Hồ Chí Minh

²Trung Tâm Hợp Tác Quốc Tế Nghiên Cứu Phát Triển Nông Nghiệp Pháp (CIRAD), Montpellier, Pháp

³Trường Đại Học Nông Lâm TP.HCM, TP. Hồ Chí Minh

THÔNG TIN BÀI BÁO

Bài báo khoa học

Ngày nhận: 11/08/2021

Ngày chỉnh sửa: 23/01/2022

Ngày chấp nhận: 22/02/2022

Từ khóa

Bảo tồn

Biến lượng di truyền

Cây cao su

Đa dạng di truyền

Tiềm năng di truyền

*Tác giả liên hệ

Huỳnh Văn Biết

Email: hvbiet@hcmuaf.edu.vn

TÓM TẮT

Nghiên cứu nhằm đánh giá tiềm năng di truyền của nguồn gen cây cao su có nguồn gốc từ bang Rondonia của Brazil đang bảo tồn ở Việt Nam để sử dụng hiệu quả và bền vững. Dựa vào 15 chỉ thị SSRs đã xác định mức độ đa dạng di truyền cao ở tất cả các nhóm giống từ bang Rondonia (Brazil) được đưa vào đánh giá đặc tính nông học trên các thí nghiệm đồng ruộng, số allele trung bình (Na) đạt 12 - 12,9 allele và dị hợp tử kỳ vọng (He) đạt 0,77; biến lượng di truyền là do nội tại của các mẫu giống chiếm 74% trong tổng biến lượng. Bên cạnh đó, nguồn gen cây cao su hoang dại từ bang Rondonia (Brazil) có sinh trưởng khỏe nhưng biến thiên thấp (17%), trong khi năng suất mủ thấp nhưng biến thiên rất cao (90%). Số lượng mẫu giống xuất sắc nhất được chọn lọc không phụ thuộc vào số lượng mẫu của các nhóm giống; những mẫu giống vừa có sinh trưởng khỏe và năng suất mủ cao nhất tập trung ở ba nhóm giống RO/A/7, RO/C/9 và RO/JP/3; mẫu giống sinh trưởng khỏe cũng có ở nhóm giống RO/C/8.

1. Đặt Vấn Đề

Cây cao su có nguồn gốc từ lưu vực sông Amazon (Nam Mỹ), chi *Hevea* thuộc họ Euphorbiaceae gồm 11 loài đều là nhị bội ($2n = 36$) và có khả năng giao phần liên loài (Ong, 1979). Trong đó, *H. brasiliensis* là loài quan trọng nhất cho sản xuất và cung cấp hơn 98% sản lượng mủ (Priyadarshan & Goncalves, 2003). Sản lượng cao su trên thế giới đã tăng gấp 2,3 lần trong hai thập kỷ gần đây, từ 5,8 triệu tấn vào năm 1994 lên 13,5 triệu tấn vào năm 2016 (Tran & ctv., 2018). Sản lượng mủ gia tăng nhanh chóng là do tăng diện tích và tăng năng suất, nhưng giống vẫn là yếu tố chính.

Ở các nước trồng cao su, chọn tạo giống chủ yếu tập trung trên nguồn gen đã được chọn lọc, nhưng cũng dựa vào đa dạng di truyền trong bộ

sưu tập quý gen. Cơ sở di truyền ban đầu để chọn tạo giống chỉ với số lượng mẫu rất hạn chế từ 22 cây được Wickham sưu tập tại Brazil năm 1876 (Webster & Baulkwill, 1989). Để mở rộng vốn di truyền, từ 1945 - 1982, có 10 bộ sưu tập từ rừng Amazon được chuyển đến các nước trồng cao su; trong đó, nổi bật nhất là bộ sưu tập quý gen vào năm 1981 do Hiệp hội Nghiên cứu và Phát triển Cao su quốc tế (IRRDB) thu thập từ các bang của Brazil (Onokpise, 2004). Do nguồn gen Amazon hoang dại có năng suất mủ thấp nên khó đưa vào sản xuất trực tiếp mà thông qua chương trình lai tạo với kỳ vọng tạo ra ưu thế lai mới tiến bộ hơn (Ramli & ctv., 2004).

Nhận thấy tầm quan trọng của quỹ gen trong công tác cải tiến giống cao su, Việt Nam đã nhập hơn 3.000 mẫu giống từ nguồn gen IRRDB'81; hầu hết các mẫu giống đã được đánh giá đặc tính

nông học, những mẫu giống nổi trội đã đưa vào trồng cao su gỗ - mủ và tạo ra nhiều thể hệ lai mới tiến bộ hơn (Vu & ctv., 2021); về di truyền từng bước được đánh giá bằng các chỉ thị phân tử (Lai & ctv., 2009; Vu & ctv., 2020). Nghiên cứu nhằm đánh giá tiềm năng di truyền của nguồn gen cây cao su có nguồn gốc từ bang Rondonia (Brazil) đang bảo tồn ở Việt Nam để sử dụng hiệu quả và bền vững.

2. Vật Liệu và Phương Pháp Nghiên Cứu

2.1. Các chỉ thị SSRs

Ứng dụng 15 chỉ thị SSRs để đánh giá đa dạng di truyền cho các mẫu giống cao su trong nghiên cứu, các chỉ thị SSRs này đã sử dụng thành công đối với các nguồn gen cây cao su của Việt Nam trước đó (Vu & ctv., 2020; Vu & ctv., 2021).

2.2. Vật liệu giống

Những mẫu giống cao su có nguồn gốc từ bang Rondonia (Brazil) đang bảo tồn ở Việt Nam được đánh giá tình trạng nông học trên hệ thống khảo nghiệm ở dạng quy mô nhỏ (*Arboretum*, SG). Đánh giá về chỉ tiêu sinh trưởng gồm 821 mẫu giống và năng suất mủ gồm 616 mẫu giống, các mẫu giống có trên 8 thí nghiệm tại Lai Khê (Lai Hưng, Bàu Bàng, Bình Dương). Chi tiết số lượng mẫu giống theo nguồn gốc sưu tập được trình bày ở Bảng 1.

2.3. Phương pháp nghiên cứu

2.3.1. Phân tích thông số di truyền của các nhóm giống cao su dựa vào chỉ thị SSRs

Các thông số di truyền được phân tích bằng phần mềm GENALEX 6.5 (Peakall & Smouse, 2012) gồm số allele trung bình (Na), dị hợp tử quan sát và kỳ vọng (Ho và He), chỉ số cố định (F) và số allele cá thể; phân tích phương sai phân tử (AMOVA) để xác định biến lượng di truyền xảy ra bên trong mẫu giống, giữa các mẫu và giữa các nhóm giống cao su.

2.3.2. Phương pháp thu thập, phân tích số liệu sinh trưởng và năng suất mủ

a. Phương pháp thu thập số liệu

Do số lượng mẫu giống từ bang Rondonia (Brazil) là khá lớn, nên các chỉ tiêu nông học

chỉ đánh giá trên thí nghiệm dạng quy mô nhỏ. Các thí nghiệm được bố trí theo kiểu khối đầy đủ ngẫu nhiên, mỗi ô giống có từ 1 - 3 cây với 2 - 5 lần lặp lại, các mẫu giống được so sánh với đối chứng GT 1 là dòng vô tính của nguồn gen Wickham. Tuy nhiên, thực tế sản xuất có sự khác biệt rất lớn về khả năng nhân giống, tỷ lệ ghép sống và qui hoạch diện tích thí nghiệm hàng năm; do đó, những mẫu giống từ bang Rondonia phải đánh giá trên nhiều thí nghiệm và kéo dài qua nhiều năm (Bảng 2).

Đánh giá về mối quan hệ giữa đa dạng di truyền với đặc tính sinh trưởng và năng suất mủ của các mẫu giống tiềm năng có nguồn gốc từ bang Rondonia (Brazil). Dữ liệu được đúc kết qua nhiều năm trên các thí nghiệm (Bảng 2), mẫu giống trên các thí nghiệm được đánh giá theo quy trình chung và số liệu được lưu trữ tại Viện Nghiên cứu Cao su Việt Nam.

Sinh trưởng (vòng thân, cm): Sinh trưởng đánh giá bằng chu vi thân (vòng thân) cho tất cả các mẫu giống trên thí nghiệm trong suốt quá trình theo dõi, sinh trưởng được đo vào tháng 4 hàng năm ở vị trí cố định cách mặt đất 100 cm bằng thước dây.

Năng suất mủ khô (g/c/c): Mẫu giống trên các thí nghiệm đều được cạo mủ theo chế độ 2/S d3 (1/2 vòng thân, 3 ngày cạo một lần); từ năm cạo thứ 3 trở đi có sử dụng chất kích thích mủ Ethrel (2,5%) được áp dụng 4 lần/năm. Năng suất mủ được thu thập định kỳ 1 lần/tháng trên từng cây; mủ được đánh đông trong chén hứng mủ bằng acid acetic 3 - 4%, sau đó được rửa sạch và hong khô cho đến khi khô hoàn toàn (30 ngày), cân trọng lượng mủ khô từng cây; năng suất mủ được tính trung bình trên từng ô giống và các năm cạo.

b. Phương pháp phân tích số liệu

Sử dụng phương pháp kiểm tra dạng phân bố chuẩn bằng trắc nghiệm χ^2 cho toàn bộ dữ liệu sinh trưởng và năng suất mủ của các mẫu. Các bước phân tích gồm xác định khoảng biến thiên của các mẫu giống và chia thành các tổ; tính giới hạn trên, dưới và trị số giữa tổ, tính tần số quan sát (fi) của các tổ; giá trị trung bình, phương sai của mẫu, xác suất của tổ và trị số λ^2 ; so sánh trị số tính λ^2 và trị số λ trong bảng ứng với độ tự do (df = số tổ - 3) ở mức ý nghĩa = 0,05.

Bảng 1. Số lượng mẫu của mỗi nhóm giống cao su có nguồn gốc từ bang Rondonia (Brazil) được đánh giá về sinh trưởng và năng suất mủ

Nhóm giống	Vùng sưu tập (Bang/Quận)	Số lượng mẫu giống	
		Sinh trưởng	Năng suất mủ
RO	Rondonia	7	7
RO/A/7	Rondonia/Ariquemes	128	101
RO/C/8	Rondonia/Calama	75	48
RO/C/9	Rondonia/Calama	93	71
RO/CM	Rondonia/Costa Marques	25	12
RO/CM/10	Rondonia/Costa Marques	76	54
RO/CM/11	Rondonia/Costa Marques	54	36
RO/CM/12	Rondonia/Costa Marques	31	24
RO/J/5	Rondonia/Jaru	51	40
RO/J/6	Rondonia/Jaru	45	38
RO/JP/3	Rondonia/Ji-Parana	95	84
RO/OP/4	Rondonia/Ouro Preto	22	18
RO/PB/1	Rondonia/Pimenta Bueno	49	42
RO/PB/2	Rondonia/Pimenta Bueno	70	41
Tổng số		821	616

Bảng 2. Số lượng mẫu giống của nguồn gen từ bang Rondonia được đánh giá trên các thí nghiệm tại Lai Khê

Thí nghiệm	Năm trồng	Số năm theo dõi	Diện tích (ha)	Mật độ (cây/ha)	Số cây/ô cơ sở	Số lần lặp	Số mẫu giống	
							Tổng số	Mẫu giống Rondonia
SGLK85	1985	15	15,8	571	1	5	1.536	452
SGLK91	1991	15	1,4	571	1	5	133	51
SGLK94	1994	15	5,0	571	3	2	328	71
SGLK96	1996	15	2,1	571	3	2	225	40
SGLK03	2003	15	3,0	571	3	2	190	53
SGLK04	2004	15	2,0	571	3	2	190	52
SGLK05	2005	15	3,0	571	3	2	265	62
SGLK06	2003	15	2,0	571	3	2	196	40

Lai Khê thuộc xã Lai Hưng, huyện Bàu Bàng, tỉnh Bình Dương.

3. Kết Quả và Thảo Luận

3.1. Đánh giá sự đa dạng và biến lượng di truyền của nguồn gen cây cao su có nguồn gốc từ bang Rondonia (Brazil) dựa vào 15 chỉ thị SSRs

Đa dạng di truyền của các bộ sưu tập quỹ gen cây cao su là điều kiện tiên quyết cho các chương trình cải tiến giống, là cơ sở để mở rộng vốn di truyền và để bảo tồn nguồn gen một cách bền vững. Chỉ thị SSRs đã ứng dụng thành công và rất hiệu quả với mức độ chính xác cao trong việc đánh giá đa dạng di truyền cho các nguồn gen cây cao su ở Việt Nam (Vu & ctv., 2020; Vu & ctv., 2021).

Ứng dụng 15 chỉ thị SSRs để đánh giá đa dạng di truyền cho 14 nhóm giống được sưu tập từ các vùng thuộc bang Rondonia (Brazil) và những mẫu giống đã được đánh giá đặc tính nông học trên 8 thí nghiệm ở dạng quy mô nhỏ; trong đó, 821 mẫu giống về chỉ tiêu sinh trưởng và 616 mẫu giống về năng suất mủ. Đối với bộ mẫu về sinh trưởng, kết quả ở Bảng 3 đã cho thấy tất cả 14 nhóm giống đều có chỉ số cố định (F) là hệ số dương với sự dao động rất lớn từ 0,03 đến 0,24 và trung bình đạt 0,15. Do đó, các nhóm giống đều có dị hợp tử kỳ vọng (He) lớn hơn dị hợp tử quan sát (Ho), điều này đã cho thấy rằng mẫu giống trong các nhóm giống từ các bang Rondonia (Brazil) đang bảo tồn ở Việt Nam vẫn còn nguyên sơ mà chưa khai thác thông qua lai tạo giống. Mức độ đa dạng di truyền cao được xác định từ các thông số di truyền quần thể, các nhóm giống có số lượng allele trung bình (Na) đạt từ 6,7 allele đến 18,5 allele và trung bình đạt 12,9 allele; bên cạnh đó, dị hợp tử kỳ vọng (He) đạt từ 0,71 đến 0,85 với trung bình đạt 0,77. Ngoài ra, hầu hết các nhóm giống đều có sự hiện diện allele cá thể với trung bình đạt 7,2 allele, nhưng số lượng allele phong phú nhất ở nhóm giống RO/A/7 (17 allele) và RO/C/8 (18 allele).

Mức độ đa dạng di truyền của bộ mẫu giống được đánh giá chỉ tiêu năng suất mủ, kết quả thể hiện ở Bảng 4 cũng cho thấy gần như tất cả các thông số di truyền của các nhóm giống cao su từ bang Rondonia đều có sự tương đồng như được phân tích trên bộ mẫu giống về chỉ tiêu sinh trưởng. Tuy nhiên, trong bộ mẫu giống về năng suất mủ có số lượng allele trung bình (Na) thấp hơn, trung bình đạt 12,0 allele và dao động từ 6,7 allele đến 17,1 allele; cũng như số lượng allele cá thể trung bình đạt 6,9 allele và phong phú nhất

thuộc về hai nhóm giống là RO/A/7 và RO/C/8.

So sánh về mức độ đa dạng di truyền của nguồn gen từ bang Rondonia (Brazil) đang bảo tồn ở Việt Nam với kết quả phân tích trên các nguồn gen cao su hoang dại dựa vào chỉ thị SSRs trước đó. Souza & ctv. (2015) đã phân tích 1.117 mẫu giống từ nhiều nguồn gen Amazon sưu tập tại Brazil bằng 13 chỉ thị SSRs, đa dạng di truyền cao ở các nguồn gen với số allele trung bình (Na) đạt 14,5 allele, dị hợp tử kỳ vọng (He = 0,76) và biến lượng di truyền bên trong các mẫu giống chiếm 73%; các nguồn gen Amazon hoang dại đa dạng di truyền hơn nguồn gen đã được chọn tạo và allele cá thể xuất hiện ở nguồn gen Amazon, nhưng không xuất hiện ở nguồn gen Wickham. Le Guen & ctv. (2009) sử dụng 15 chỉ thị SSRs để phân tích 220 mẫu giống từ 14 quần thể Amazon, mức độ đa dạng di truyền cao ở các quần thể với số allele trung bình là 7,5 allele, dị hợp tử kỳ vọng (He = 0,74). Trước đó, nghiên cứu di truyền trên nguồn gen IRRDB'81 ở Việt Nam bằng chỉ thị RAPD đã cho thấy biến lượng di truyền là do nội tại của các mẫu giống chiếm 86% và giữa các nhóm giống là 14% trong tổng biến lượng (Lai & ctv., 2009).

Như vậy, so sánh với những kết quả từ nhiều nguồn gen cây cao su khác nhau trước đó đã có thể khẳng định nguồn gen cây cao su từ bang Rondonia (Brazil) bảo tồn ở Việt Nam được đánh giá trên các thí nghiệm là rất đa dạng di truyền, biến lượng di truyền chủ yếu là do nội tại của các mẫu giống và giữa các nhóm giống là rất khác biệt di truyền (Bảng 5 và Bảng 6).

3.2. Đặc điểm sinh trưởng và năng suất mủ của các mẫu giống cao su có nguồn gốc từ bang Rondonia (Brazil)

Sinh trưởng và năng suất mủ là hai chỉ tiêu quan trọng trong chọn tạo giống cao su. Những mẫu giống từ bang Rondonia (Brazil) đang bảo tồn ở Việt Nam được đưa vào đánh giá các chỉ tiêu nông học trên hệ thống khảo nghiệm giống qui mô nhỏ (*Arboretum*, SG) nhằm chọn lọc mẫu giống ưu tú cho mục tiêu sản xuất cao su gỗ, gỗ - mủ và sử dụng trong lai tạo giống. Do nhiều yếu tố ngoại cảnh tác động đến cây cao su và số lượng mẫu trên mỗi thí nghiệm rất lớn, do đó sinh trưởng và năng suất mủ của các mẫu giống được kiểm tra theo phương pháp phân bố chuẩn bằng trắc nghiệm χ^2 . Từ đó để hiểu rõ hơn về qui luật phân bố của các mẫu giống trong quần thể và để

Bảng 3. Đa dạng di truyền của 14 nhóm giống cao su trong số 821 mẫu giống được đánh giá sinh trưởng dựa vào 15 chỉ thị SSRs

Nhóm giống	Số allele trung bình (Na)	Dị hợp tử quan sát (Ho)	Dị hợp tử quan sát (He)	Chỉ số cố định (F)	Số allele cá thể
RO	6,7	0,64	0,75	0,17	0
RO/A/7	15,7	0,63	0,79	0,20	17
RO/C/8	18,5	0,72	0,85	0,14	18
RO/C/9	14,9	0,59	0,76	0,22	6
RO/CM	12,9	0,61	0,81	0,23	9
RO/CM/10	14,0	0,68	0,77	0,12	4
RO/CM/11	13,9	0,72	0,73	0,03	6
RO/CM/12	10,6	0,66	0,71	0,06	1
RO/J/5	13,9	0,66	0,80	0,17	9
RO/J/6	12,1	0,71	0,79	0,10	6
RO/JP/3	14,9	0,65	0,79	0,19	7
RO/OP/4	10,5	0,60	0,79	0,24	2
RO/PB/1	10,7	0,64	0,74	0,13	2
RO/PB/2	11,5	0,61	0,72	0,14	7
Trung bình	12,9	0,65	0,77	0,15	7,2

Bảng 4. Đa dạng di truyền của 14 nhóm giống cao su trong số 616 mẫu giống được đánh giá năng suất mủ dựa vào 15 chỉ thị SSRs

Nhóm giống	Số allele trung bình (Na)	Dị hợp tử quan sát (Ho)	Dị hợp tử quan sát (He)	Chỉ số cố định (F)	Số allele cá thể
RO	6,7	0,64	0,75	0,17	0
RO/A/7	14,4	0,63	0,77	0,18	14
RO/C/8	17,1	0,72	0,85	0,14	16
RO/C/9	14,3	0,60	0,76	0,22	8
RO/CM	9,4	0,59	0,79	0,24	9
RO/CM/10	13,3	0,69	0,76	0,08	5
RO/CM/11	13,1	0,73	0,75	0,02	6
RO/CM/12	10,0	0,66	0,70	0,06	1
RO/J/5	13,2	0,66	0,80	0,18	8
RO/J/6	11,7	0,71	0,79	0,11	4
RO/JP/3	14,6	0,65	0,80	0,19	7
RO/OP/4	10,1	0,60	0,78	0,25	2
RO/PB/1	10,3	0,64	0,74	0,14	3
RO/PB/2	10,1	0,60	0,71	0,14	7
Trung bình	12,0	0,65	0,77	0,15	6,9

Bảng 5. Thành phần biến lượng di truyền dựa trên phân tích phương sai phân tử (AMOVA) của 821 mẫu từ 14 nhóm giống cao su được đánh giá về sinh trưởng

Nguồn biến dị	Độ tự do (df)	Tổng bình phương (SS)	Trung bình bình phương (MS)	Tỷ lệ biến dị (%)	Giá trị Fst
Giữa các nhóm giống	13	1.015,0	78,1	9	0,09***
Giữa các mẫu giống	807	5.670,4	7,0	17	0,19***
Nội tại của mẫu giống	821	3.948,0	4,8	74	0,26***
Tổng số	1.641	10.633,3		100	

***: Sự khác biệt di truyền với mức ý nghĩa $P \leq 0,001$.**Bảng 6.** Thành phần biến lượng di truyền dựa trên phân tích phương sai phân tử (AMOVA) của 616 mẫu từ 14 nhóm giống cao su được đánh giá về sinh trưởng

Nguồn biến dị	Độ tự do (df)	Tổng bình phương (SS)	Trung bình bình phương (MS)	Tỷ lệ biến dị (%)	Giá trị Fst
Giữa các nhóm giống	13	789,1	60,7	9	0,10***
Giữa các mẫu giống	602	4.228,8	7,0	17	0,19***
Nội tại của mẫu giống	616	2.965,0	4,8	74	0,26***
Tổng số	1.231	7.982,9		100	

***: Sự khác biệt di truyền với mức ý nghĩa $P \leq 0,001$.**Bảng 7.** Kiểm tra quy luật phân phân bố (λ^2) về sinh trưởng ở tuổi 15 của các mẫu giống cao su từ bang Rondonia trên các thí nghiệm

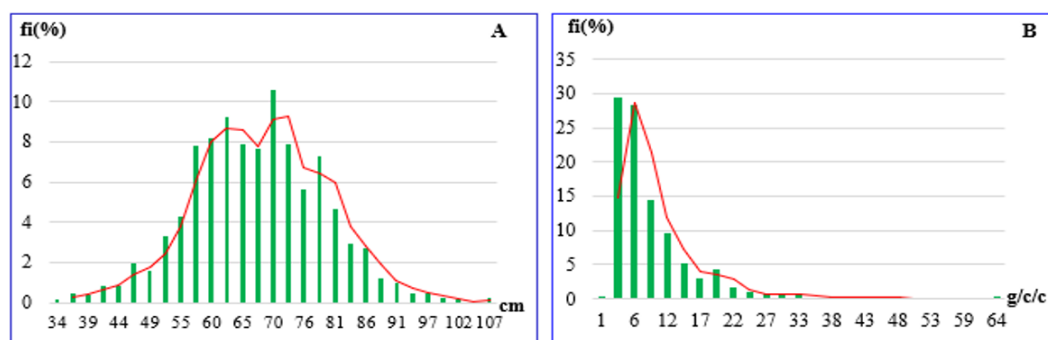
Thí nghiệm	Số mẫu giống	Vòng thân đo cách mặt đất (100 cm)			
		Trung bình (cm)	Độ lệch chuẩn (S)	Hệ số biến thiên (CV%)	Trắc nghiệm (λ^2)
SGLK85	452	66,7	11,6	17,3	7,5 ^{ns}
SGLK91	51	56,1	12,0	21,3	3,3 ^{ns}
SGLK94	71	60,5	8,5	14,0	2,9 ^{ns}
SGLK96	40	62,1	8,7	14,0	1,2 ^{ns}
SGLK03	53	68,8	8,8	12,8	8,4*
SGLK04	52	70,5	11,3	16,0	1,2 ^{ns}
SGLK05	62	71,7	8,8	12,3	2,2 ^{ns}
SGLK06	40	69,0	8,8	12,8	0,6 ^{ns}
Tổng số	821	66,1	11,3	17,2	24,0 ^{ns}

Không khác biệt ý nghĩa $P > 0,05$ (ns); khác biệt ý nghĩa với xác suất $P \leq 0,05^*$.

Bảng 8. Kiểm tra quy luật phân bố (λ^2) về năng suất mủ của các mẫu giống cao su từ bang Rondonia trên các thí nghiệm

Thí nghiệm	Số mẫu giống	Năng suất mủ trung bình 4 năm (g/c/c)			
		Trung bình (cm)	Độ lệch chuẩn (S)	Hệ số biến thiên (CV%)	Trắc nghiệm (λ^2)
SGLK85	276	5,0	3,4	68,6	53,1***
SGLK91	35	7,3	9,0	123,9	8,0**
SGLK94	71	6,0	5,0	82,7	6,4**
SGLK96	33	8,8	5,6	64,2	2,4 ^{ns}
SGLK03	52	7,7	6,7	87,4	6,6**
SGLK04	48	16,1	10,4	64,7	4,5*
SGLK05	61	14,1	7,8	55,5	3,0 ^{ns}
SGLK06	40	12,4	7,4	59,7	6,5**

Không khác biệt ý nghĩa $P > 0,05$ (ns); khác biệt ý nghĩa với xác suất $P \leq 0,05^*$.

**Hình 1.** Quy luật phân bố theo tần suất các mẫu giống có nguồn gốc từ bang Rondonia. (A) phân bố sinh trưởng của 821 mẫu giống; (B) phân bố năng suất mủ của 616 mẫu giống.

dàng để xác định những mẫu giống theo giá trị ở mỗi cỡ mẫu tương ứng cho các quần thể.

Theo kết quả phân tích bằng trắc nghiệm (λ^2), sinh trưởng của các mẫu giống trên các thí nghiệm gần như đều có cùng qui luật phân bố với tần suất mẫu tập trung ở một đỉnh trung vị của đường phân bố và giữa các mẫu không khác biệt ý nghĩa ($P > 0,05$), mức độ biến thiên giữa các mẫu giống trên các thí nghiệm là rất thấp từ 12,3% đến 21,3%; do đó, giá trị bình quân là đại diện cho sinh trưởng của mẫu giống trên thí nghiệm với trung bình đạt từ 56 cm đến 72 cm và độ chênh lệch từ 8,5 cm đến 11,6 cm (Bảng 7). Tương tự, phân tích cho toàn bộ 821 mẫu giống trên 8 thí nghiệm cũng cho thấy đặc trưng về sinh trưởng của tất cả các mẫu giống cao su đều có tần suất mẫu tập trung ở một đỉnh trung vị của đường phân bố, giữa các mẫu giống không có sự khác biệt ý nghĩa ở mức tin cậy $P > 0,05$ và sự biến thiên giữa các mẫu giống là 17,2%, giá trị bình quân đạt 66,1 cm là đại diện cho sinh trưởng của mẫu giống ở tuổi 15 với mức độ chênh lệch 11,3 cm (Bảng 7 và Hình 1A). Kết quả phân

tích cũng đã xác định những mẫu giống có sinh trưởng khỏe nhất ở tuổi 15, tương ứng với 5% chọn lọc gồm 41 mẫu giống đạt từ 77 cm đến 107 cm, tương ứng từ 121% đến 196% so với dòng vô tính đối chứng GT 1.

Tương tự, phân tích về năng suất mủ bằng trắc nghiệm (λ^2), kết quả ở Bảng 8 đã cho thấy hầu hết mẫu giống trên các thí nghiệm đều có qui luật phân bố lệch hoàn toàn về một phía năng suất thấp với sự khác biệt ý nghĩa ở mức tin cậy 95% và sự biến thiên giữa các mẫu giống trên cùng thí nghiệm đạt từ 56% đến 124%. Tuy nhiên, mẫu giống trên nghiệm SGLK96 và SGLK05 không có sự khác biệt ý nghĩa, nhưng vẫn theo qui luật phân bố chung; do đó, giá trị bình quân không đại diện cho năng suất mủ của mẫu giống trên thí nghiệm, năng suất bình quân của các thí nghiệm đạt từ 5,0 đến 16,1 g/c/c với độ lệch từ 3,4 g đến 10,4 g/c/c. Kết quả phân tích 616 mẫu giống trên 8 thí nghiệm cũng cho thấy tất cả các mẫu giống đều qui luật phân bố với tần suất mẫu lệch hoàn toàn về một phía năng suất thấp và sự khác biệt là rất có ý nghĩa ($P \leq 0,001$); năng suất

trung bình đạt 7,9 g/c/c với chênh lệch 7,1 g và biến thiên đạt đến 89,8% (Bảng 8 và Hình 1B). Kết quả đã xác định được 31 mẫu giống có năng suất mủ cao (5% chọn lọc), trung bình năng suất 4 năm đạt 13 - 64 g/c/c, tương ứng đạt 53% - 161% so với đối chứng là GT 1; trong đó, 7 mẫu giống có năng suất mủ rất cao, bằng và vượt 61% so với dòng GT 1 nhưng chỉ chiếm 1% trong tổng số mẫu.

So sánh đặc tính nông học trên nguồn gen cây cao su từ bang Rondonia (Brazil) được đánh giá ở Việt Nam có sự tương đồng với kết quả từ các nước khác, hầu hết các mẫu giống cao su hoang dại đều có năng suất mủ là rất thấp. Năng suất mủ trung bình từ 3 đến 4 năm đạt 25% - 33% so với dòng GT 1 và RRIM 600 (Clement-Demange & ctv., 2002; RRIT, 2002); tại Malaysia năng suất mủ 8 năm của nguồn gen IRRDB'81 thấp hơn so với các dòng Wickham và nguồn gen từ bang Rondonia có năng suất mủ cao hơn (Ramli & ctv., 2004); năng suất mủ đạt 15% - 89% so với RRIM 600 tại Trung Quốc (Hu & ctv., 2005).

Ngoài ra, năng suất mủ của nguồn gen IRRDB'81 có biến thiên rất lớn đạt 81% tại châu Phi (Clement-Demange & ctv., 1997) và Việt Nam cũng ghi nhận biến thiên là do bản thân của các mẫu giống chiếm 83% - 96% (Lai, 2011). Đánh giá về sinh trưởng đã cho thấy nhiều mẫu giống có sinh trưởng rất khỏe và rất có giá trị để trồng lấy gỗ, nhưng biến thiên rất thấp; tại Việt Nam, sinh trưởng ở tuổi 14 - 17 của nguồn gen IRRDB'81 đạt 101% - 126% so với nguồn gen Wickham và sự biến thiên đạt 13% - 16%, nhiều mẫu giống có trữ lượng gỗ đạt 1 - 2 m³/cây (Vu & ctv., 2021); ở tuổi 13 - 16 tại Malaysia và Indonesia, nhiều mẫu giống có trữ lượng gỗ đạt 0,9 - 2,6 m³//cây (Aidi & ctv., 2002; Ramli & ctv., 2004).

Như vậy, nguồn gen cao su từ bang Rondonia (Brazil) có sinh trưởng khỏe, nhưng biến thiên khá thấp đạt 17%; trong khi, năng suất mủ thấp với trung bình 4 năm đạt 7,9 g/c/c, nhưng biến thiên rất cao đạt 90%. Nhiều mẫu giống ưu tú được chọn lọc sẽ bổ sung nguồn vật liệu mới cho công tác chọn tạo giống cao su ở Việt Nam.

3.3. Mối quan hệ di truyền về sinh trưởng và năng suất mủ của các mẫu giống tiềm năng từ bang Rondonia (Brazil)

Đánh giá về khả năng sinh trưởng của nguồn gen từ bang Rondonia (Brazil), kết quả ở Bảng 9 cho thấy những mẫu giống trên các thí nghiệm có

sinh trưởng khỏe nhất chủ yếu tập trung ở bốn nhóm giống là RO/A/7, RO/C/8, RO/CM/10 và RO/JP/3, chiếm tỷ lệ 12% - 24% trong số 5% mẫu được chọn lọc và số lượng mẫu giống tăng lên tương ứng theo tỷ lệ chọn lọc 10% (15% - 21%). Bên cạnh đó, các nhóm giống RO/M/10, RO/J/6 và RO/OP/4 có số mẫu được chọn lọc khá cao (9,8%) theo tỷ lệ chọn lọc 5%, nhưng số lượng mẫu không tăng lên tương ứng theo tỷ lệ chọn lọc 10%. Ngoài ra, nhóm giống RO/CM và RO/CM/11 gần như không hiện diện những mẫu giống có sinh trưởng khỏe nhất; hoặc một số nhóm giống có số lượng mẫu được chọn lọc không tương ứng với số mẫu được đánh giá như nhóm giống RO/J/5, RO/PB/1 và RO/PB/1.

Tương tự, kết quả ở Bảng 10 đã cho thấy những mẫu giống có năng suất mủ cao nhất đều tập trung ở ba nhóm giống RO/A/7, RO/C/9 và RO/JP/3 với tỷ lệ đạt 13% - 26% trong số 5% chọn lọc và số mẫu cũng tăng theo khi tăng tỷ lệ chọn lọc lên 10% (13% - 29%). Trái lại, nhóm giống RO/C/8 và RO/OP/4 có số mẫu khá cao (9,7%) theo tỷ lệ 5% chọn lọc, nhưng giảm mạnh khi tăng tỷ lệ chọn lọc lên 10% và nhóm giống RO/J/5 gần như không thay đổi theo tỷ lệ chọn lọc; đối với nhóm giống RO/J/6, RO/PB/1 và RO/PB/2 không xuất hiện những mẫu giống nổi trội về năng suất mủ mặc dù có số lượng mẫu rất lớn.

Như vậy, những mẫu giống của nguồn gen từ bang Rondonia có sinh trưởng khỏe và năng suất mủ cao nhất không phụ thuộc vào số lượng mẫu của các nhóm giống. Những mẫu giống vừa có sinh trưởng khỏe và năng suất mủ cao nhất thuộc về ba nhóm giống RO/A/7, RO/C/9 và RO/JP/3; những mẫu giống có sinh trưởng khỏe là nhóm giống RO/C/8.

4. Kết Luận

Nguồn gen cây cao su từ bang Rondonia (Brazil) đang bảo tồn ở Việt Nam và được đánh giá trên các thí nghiệm có đa dạng di truyền cao, số allele trung bình đạt 12 - 12,9 allele và dị hợp tử kỳ vọng (He) đạt 0,77; biến lượng di truyền là do nội tại của các mẫu giống chiếm 74% trong tổng biến lượng. Nguồn gen cây cao su hoang dại có sinh trưởng khỏe nhưng biến thiên thấp (17%), năng suất mủ thấp nhưng biến thiên rất cao (90%). Số lượng mẫu giống xuất sắc được chọn lọc không phụ thuộc vào số lượng mẫu của các nhóm giống; những mẫu giống vừa có sinh

Bảng 9. Số lượng mẫu của các nhóm giống cao su có sinh trưởng khỏe nhất ở tuổi 15 trên các thí nghiệm

Nhóm giống	Số mẫu giống	Theo tỷ lệ chọn lọc 5%		Theo tỷ lệ chọn lọc 10%	
		Số mẫu	Tỷ lệ trên số mẫu chọn lọc (%)	Số mẫu	Tỷ lệ trên số mẫu chọn lọc (%)
RO	7	0	0,0	1	1,2
RO/A/7	128	10	24,4	17	20,7
RO/C/8	75	8	19,5	14	17,1
RO/C/9	93	5	12,2	13	15,9
RO/CM	25	0	0,0	0	0,0
RO/CM/10	76	4	9,8	7	8,5
RO/CM/11	54	0	0,0	0	0,0
RO/CM/12	31	0	0,0	2	2,4
RO/J/5	51	1	2,4	2	2,4
RO/J/6	45	4	9,8	8	9,8
RO/JP/3	95	5	12,2	12	14,6
RO/OP/4	22	4	9,8	4	4,9
RO/PB/1	49	0	0,0	1	1,2
RO/PB/2	70	0	0,0	1	1,2
Tổng số	821	41	100	82	100

Bảng 10. Số lượng mẫu của các nhóm giống cao su có năng suất mủ trung bình 4 năm cao nhất trên các thí nghiệm

Nhóm giống	Số mẫu giống	Theo tỷ lệ chọn lọc 5%		Theo tỷ lệ chọn lọc 10%	
		Số mẫu	Tỷ lệ trên số mẫu chọn lọc (%)	Số mẫu	Tỷ lệ trên số mẫu chọn lọc (%)
RO	7	0	0,0	1	1,6
RO/A/7	101	4	12,9	8	12,9
RO/C/8	48	3	9,7	3	4,8
RO/C/9	71	5	16,1	14	22,6
RO/CM	12	0	0,0	0	0,0
RO/CM/10	54	1	3,2	1	1,6
RO/CM/11	36	2	6,5	2	3,2
RO/CM/12	24	2	6,5	2	3,2
RO/J/5	40	3	9,7	6	9,7
RO/J/6	38	0	0,0	1	1,6
RO/JP/3	84	8	25,8	18	29,0
RO/OP/4	18	3	9,7	3	4,8
RO/PB/1	42	0	0,0	2	3,2
RO/PB/2	41	0	0,0	1	1,6
Tổng số	616	31	100	62	100

trưởng khỏe và năng suất mủ cao tập trung ở ba nhóm giống RO/A/7, RO/C/9 và RO/JP/3; mẫu giống sinh trưởng khỏe cũng có ở nhóm giống RO/C/8.

Lời Cam Đoan

Chúng tôi cam đoan bài báo do nhóm tác giả thực hiện và không có mâu thuẫn nào giữa các tác giả.

Tài Liệu Tham Khảo (References)

- Aidi, D., Sekar, W., & Irwan, S. (2002). Report on the evaluation and utilization of the 1981 IRRDB *Hevea* germplasm in Indonesia. In *IRRDB Joint Workshop on Breeding, Agronomy and Socioeconomy, Malaysia and Indonesia*. Kuala Lumpur, Malaysia: IRRDB.
- Clément-Demange, A., Chapuset, T., & Seguin, M. (2002). In *IRRDB 1981 Hevea germplasm by Cirad (France) Year 2002. Presented at the IRRDB Workshop on Breeding, Agroforestry and Socioeconomy, Malaysia and Indonesia*. Kuala Lumpur, Malaysia: IRRDB.
- Clément-Demange, A., Legnate, H., Chapuset, T., Pinard F., & Seguin, M. (1997). In *IRRDB germplasm in Ivory Coast and French Guayna: status in 1997. IRRDB Symposium on Natural Rubber*. Ho Chi Minh City, Vietnam: IRRDB.
- Hu, Y., Zeng, X., Chen, H., Fang J., & Huang, H. (2005). A study report on the main charaters evaluation of new Amazon *Hevea* germplasm. *International Natural Rubber Conference* (50-54). Cochín, India: Rubber Research Institute of India.
- Lai, L. V. (2011). *Research on agronomic-genetic potential and the possibility of using genetic resources IRRDB'81 in improving rubber seedlings Hevea brasiliensis* (Unpublished doctoral dissertation). Nong Lam University, Ho Chi Minh City, Vietnam.
- Lai, L. V., Tran, T., Vu, C. T. Q., & Le, T. M. (2009). Genetic diversity of *Hevea* IRRDB'81 collection assessed by RAPD markers. *Molecular Biotechnology* 42, 292-298. <https://doi.org/10.1007/s12033-009-9159-7>.
- Le Guen, V., Doare, F., Weber, C., & Seguin, M. (2009). Genetic structure of Amazonian populations of *Hevea brasiliensis* is shaped by hydrographical network and isolation by distance. *Tree Genetics and Genomes* 5(4), 673-683. <http://doi.org/10.1007/s11295-009-0218-9>.
- Ong, S. H. (1979). *Cytotaxonomic investigation of the genus Hevea* (Unpublished doctoral dissertation). University of California, Berkeley, California, USA.
- Onokpise, O. U. (2004). Natural rubber, *Hevea brasiliensis* (Willd. ex A. Juss.) Müll. Arg., germplasm collection in the Amazon basin, Brazil: a retrospective. *Economic Botany* 58(4), 544-555.
- Peakall, R., & Smouse, P. E. (2012). Genalex 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research an update. *Bioinformatics* 28(19), 2537-2539. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bts460>.
- Priyadarshan, P. M., & de S Goncalves, P. (2003). *Hevea* gene pool for breeding. *Genetic Resources and Crop Evolution* 50, 101-114. <https://doi.org/10.1023/A:1022972320696>.
- Ramli, O., Masahuling, B., Nasaruddin, M. M. A., & Zarawi, A. G. (2004). IRRDB 1981 expedition: harnessing genetic potential of *Hevea germplasm*. In *Proceeding of IRRDB Conference* (11-25). Kunming, China: IRRDB.
- Souza, L. M., Le Guen, V., Cerqueira-Silva, C. B. M., Silva, C. C., Mantello, C. C., Conson, A. R. O., Vianna, J. P. G., Zucchi, M. I., Scaloppi Junior, E. J., Fialho, J. dF., de Moraes, M. L. T., Goncalves, P. dS., & Souza, A. Pd. (2015). Genetic diversity strategy for the management and use of rubber genetic resources: more than 1,000 wild and cultivated accessions in a 100-genotype core collection. *PLoS One* 10(7): e0134607. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0134607>.
- Tran, H. T. T., To, P. X., Nguyen, Q. T., & Cao, C. T. (2018). *Vietnam Rubber industry report: current status and sustainable development solutions* (Research report). Vietnam Rubber Research Institute, Research Team, Ho Chi Minh City, Vietnam.
- Vu, T. V., Lai, L. V., Le, T. M., Huynh, D. D., Nguyen, T. T., Rivallan, R., Huynh, B. V., & Le Guen, V. (2020). Population genetic structure of a thousand rubber tree accessions from wild Rondonia populations conserved in Vietnam. *Genetic Resources and Crop Evolution* 67, 475-487. <https://doi.org/10.1007/s10722-019-00843-0>.
- Vu, T. V., Tran, T., Nguyen, T. T., Tran, M. D., Huynh, D. D., Tran, A. B., & Huynh, T. T. M. (2021). *Summary of the project at the level of Vietnam Rubber Industry Group in the period of 2016 – 2020 "Conservation of genetic resources of rubber trees in Vietnam"* (Research report). Vietnam Rubber Research Institute, Ho Chi Minh City, Vietnam.
- Webster, C. C., & Baulkwill, W. J. (1989). *Rubber*. Essex, UK: Longman Scientific & Technical.

Evaluating the extraction of oil and sugars from spent coffee grounds

Hanh M. Ho², Ha L. N. Tran², Truc T. T. Tran², Anh T. V. Nguyen¹, & Ly T. P. Trinh^{1,2,3*}

¹Research Institute for Biotechnology and Environment, Nong Lam University, Ho Chi Minh City, Vietnam

²Department of Biotechnology, Nong Lam University, Ho Chi Minh City, Vietnam

³Khai Minh Technology Group, Ho Chi Minh City, Vietnam

ARTICLE INFO

Research Paper

Received: January 09, 2022

Revised: March 30, 2022

Accepted: March 31, 2022

Keywords

Bioactive compounds

Coffee oil

Enzymatic hydrolysis

Mannose

Spent coffee grounds

*Corresponding author

Trinh Thi Phi Ly

Email: phily@hcmuaf.edu.vn

ABSTRACT

About six million tons of spent coffee grounds are discharged into the environment every year. Spent coffee grounds contain many useful components such as polysaccharides, protein, and bioactive compounds. This research aimed to exploit the important products such as coffee oil, sugar and phenolic compounds from spent coffee grounds, contributing to improve the economic efficiency of the coffee industry and reducing the environmental pollution. Coffee oil was extracted using four different methods including maceration, Soxhlet, ultrasonic-assisted and microwave-assisted extraction. The solid residue from the oil extraction process was hydrolyzed by Cellulast and Viscozyme enzyme. Monosaccharides, total phenolic content, and antioxidant activity in the hydrolysate were measured and evaluated. The results showed that ultrasonic-assisted extraction gave the highest yield of coffee oil of 9.64%; the coffee oil had a density of 0.94 kg/L; the acid value of 7.80 mg KOH/g; saponification value of 16.33 mg KOH/g and ester value of 8.57 mg KOH/g. The highest enzymatic hydrolysis yield was obtained by using 2% Viscozyme within 24 h. The spent coffee ground hydrolysate contained 2016.4 mg/L reducing sugars including 464.2 mg/L mannose; 947.1 mg/L glucose and 256.3 mg/L galactose; 401.70 mg/L total phenolic content and showed the antioxidant activity of 564.3 mg/L ascorbic acid equivalent. This study demonstrated a feasible process to obtain 96 kg of coffee oil, 48 kg of sugar and 10 kg of phenolic compounds from 1 ton of dry spent coffee grounds.

Cited as: Ho, H. M., Tran, H. L. N., Tran, T. T. T., Nguyen A. T. V., & Trinh, L. T. P. (2022). Evaluating the extraction of oil and sugars from spent coffee grounds. *The Journal of Agriculture and Development* 21(1), 28-39.

Nghiên cứu chiết dầu và thu nhận đường từ bã cà phê

Hồ Mỹ Hạnh², Trần Lê Nhật Hạ², Trần Thị Thanh Trúc², Nguyễn Thị Vân Anh¹
& Trịnh Thị Phi Ly^{1,2,3*}

¹Viện Nghiên Cứu Công Nghệ Sinh học và Môi Trường, Trường Đại Học Nông Lâm TP.HCM, TP. Hồ Chí Minh

²Khoa Khoa Học Sinh Học, Trường Đại Học Nông Lâm TP.HCM, TP. Hồ Chí Minh

³Công Ty Cổ Phần Tập Đoàn Công Nghệ Khai Minh, TP. Hồ Chí Minh

THÔNG TIN BÀI BÁO

Bài báo khoa học

Ngày nhận: 09/01/2022

Ngày chỉnh sửa: 30/03/2022

Ngày chấp nhận: 31/03/2022

Từ khóa

Bã cà phê

Dầu cà phê

Đường mannose

Hợp chất phenolic

Thủy phân cà phê

*Tác giả liên hệ

Trịnh Thị Phi Ly

Email: phily@hcmuaf.edu.vn

TÓM TẮT

Mỗi năm có khoảng 6 triệu tấn bã cà phê thải ra môi trường. Bã cà phê chứa nhiều thành phần có giá trị như polysaccharide, protein và các hợp chất phenolic nhưng chưa được sử dụng hợp lý. Mục đích của nghiên cứu này là khai thác những sản phẩm có giá trị như dầu và đường có hoạt tính sinh học từ bã cà phê, góp phần nâng cao hiệu quả kinh tế của ngành công nghiệp cà phê đồng thời góp phần giải quyết vấn đề ô nhiễm môi trường. Dầu cà phê được chiết bằng bốn phương pháp khác nhau bao gồm ngâm chiết tĩnh, Soxhlet, sử dụng sóng siêu âm và chiết xuất có hỗ trợ vi sóng. Phần bã sau khi tách dầu sẽ tiếp tục được thủy phân bằng enzyme Cellulast và Viscozyme. Dịch thủy phân được phân tích thành phần đường đơn, hợp chất phenolic tổng số và đánh giá hoạt tính chống oxy hóa. Kết quả cho thấy, phương pháp sử dụng sóng siêu âm cho hàm lượng dầu cao nhất 9,64%; dầu cà phê có tỷ trọng 0,94 kg/L; chỉ số acid 7,80 mg KOH/g; chỉ số xà phòng hóa 16,33 mg KOH/g và chỉ số este 8,57 mg KOH/g. Hiệu suất thủy phân cao nhất khi xử lý bã cà phê với 2% Viscozyme sau 24 giờ. Dịch thủy phân bã cà phê chứa 2016,4 mg/L đường khử bao gồm 464,2 mg/L mannose; 947,1 mg/L glucose và 256,3 mg/L galactose; 401,7 mg/L phenolic tổng số và hoạt tính chống oxy hóa tương đương 564,3 mg/L vitamin C. Kết quả nghiên cứu cho thấy, có thể thu nhận 96 kg dầu cà phê, 48 kg đường và 10 kg hợp chất phenolic từ 1 tấn bã cà phê khô.

1. Đặt Vấn Đề

Cà phê hiện nay đang là mặt hàng giao dịch nhiều thứ hai trên thế giới chỉ sau dầu mỏ và là loại đồ uống phổ biến chỉ sau nước. Theo ước tính của Tổ chức Cà phê Quốc tế (ico.org), trong giai đoạn 2019 - 2020 toàn thế giới tiêu thụ 169,34 triệu bao cà phê (1 bao có trọng lượng tương đương 60 kg). Theo ước tính, 1 tấn cà phê nhân có thể tạo ra 650 kg chất thải và 1 kg cà phê dùng cho sản xuất cà phê hòa tan thì thải ra 2 kg chất thải ướt (Mata & ctv., 2018). Do đó, tổng lượng bã thải ra lên tới 6 triệu tấn trong giai đoạn 2019 - 2020. Riêng tại Việt Nam, thị trường tiêu thụ nội địa đạt 200.000 tấn cà phê/năm và thải ra khoảng 120.000 tấn bã cà phê. Ở Việt Nam, bã cà phê thường được dùng để làm giá thể trồng

cây, phân bón hoặc làm chất đốt. Một lượng lớn bã cà phê không được xử lý gây ô nhiễm môi trường nghiêm trọng.

Theo Cruz & ctv. (2012), bã cà phê chứa từ 7 đến 16% hàm lượng dầu. Dầu cà phê thường dùng trong mỹ phẩm, có tác dụng ngăn ngừa lão hóa da hoặc được chuyển hóa thành diesel sinh học. Dầu cà phê chứa các acid béo, caffeine và các hợp chất phenolic (Chai & ctv., 2021), có khả năng khử mùi, thanh lọc không khí và diệt khuẩn hiệu quả; giúp tinh thần thư giãn, tỉnh táo, rất phù hợp cho không gian phòng làm việc và xe hơi. Bã cà phê được cấu tạo từ các thành phần chính là hemicellulose (39,1%), cellulose (12,4%) và lignin (23,9%) (Mussatto & ctv., 2011). Polysaccharide trong bã cà phê chủ yếu là galactomannan và arabinogalactan, hai thành phần này đã được nghiên

cứ thủy phân để tạo đường cho quá trình lên men sản xuất bioethanol và thu nhận mannose để bổ sung vào thực phẩm, đồ uống và thuốc điều trị bệnh (Rocha & ctv., 2014; Hu & ctv., 2016; Woldesenbet & ctv., 2016). Một số nghiên cứu chiết dầu cà phê để sản xuất dầu diesel sinh học, phần bã còn lại sau khi chiết dầu chiếm 85-93% khối lượng bã ban đầu chủ yếu chứa polysaccharides mà chưa được khai thác sử dụng (Cruz & ctv., 2012). Phần bã này thải ra môi trường và gây ô nhiễm nghiêm trọng nếu không được xử lý. Polysaccharide trong bã cà phê có thể được thủy phân thành đường đơn như mannose, galactose và glucose bằng acid hoặc enzyme. Quá trình thủy phân bằng acid sinh ra các sản phẩm phân hủy không mong muốn và khó ứng dụng vào thực phẩm. Thủy phân bằng enzyme là phương pháp thân thiện với môi trường, an toàn, không có sản phẩm phụ và được ứng dụng rộng rãi trong ngành thực phẩm. Dịch thủy phân bã cà phê chứa chủ yếu đường mannose, glucose và galactose. Mannose là đường có năng lượng thấp hơn glucose và saccharose nên được sử dụng rộng rãi trong thực phẩm và công nghiệp phụ gia thực phẩm. Ngoài ra, mannose được chứng minh có nhiều lợi ích với sức khỏe như với hệ thống miễn dịch, bệnh đái tháo đường, bệnh đường ruột và nhiễm trùng đường tiết niệu. Mannose là nguyên liệu ban đầu để tổng hợp các chất kích thích miễn dịch (immunostimulator), chất chống khối u (anti-tumor agent), vitamin và D-mannitol (Wu & ctv., 2019).

Việc tổng hợp mannose hóa học và chiết xuất từ thực vật không đáp ứng được nhu cầu sử dụng trong công nghiệp hiện nay. Ngoài ra, bã cà phê còn chứa caffeine 0,007 - 0,5%, các hợp chất polyphenol 8,8 - 14,4 mg GA/g (Cruz & ctv., 2012; Rochín-Medina & ctv., 2018; Seo & Park, 2019). Polyphenol có mặt trong cả dầu và dịch thủy phân từ bã cà phê. Hợp chất này được biết đến là nhóm chất có khả năng chống oxy hóa, kháng viêm, kháng vi khuẩn và nấm.

Trong nghiên cứu này, chúng tôi tiến hành chiết dầu bằng các phương pháp khác nhau nhằm tìm kiếm một phương pháp có khả năng triển khai trên qui mô lớn. Ngoài ra, phần bã cà phê còn lại sau chiết dầu được sử dụng để thủy phân thành các loại đường có giá trị. Việc nghiên cứu phát triển các sản phẩm từ bã cà phê không những giúp tăng thêm giá trị kinh tế cho ngành công nghiệp cà phê, cải thiện thu nhập cho người nông dân, mà còn giảm thiểu ô nhiễm môi trường.

2. Vật Liệu và Phương Pháp Nghiên Cứu

2.1. Vật liệu

Bã cà phê pha máy thu từ một số cửa hàng pha chế và chế biến cà phê trên địa bàn Thành phố Hồ Chí Minh từ tháng 10/2020 - 12/2021. Tất cả mẫu bã được sấy khô ở 50°C và bảo quản kín.

Enzyme Cellulast (700 EGU/g) và Viscozyme (100 FBG/g) được cung cấp bởi Novozyme; các loại thuốc thử 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), 3,5- Dinitrosalicylic acid (DNS), Anthrone, Folin-Ciocalteu của Merck; dung môi n-hexane và các hóa chất cần thiết khác.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Xác định các chỉ tiêu hóa lí của bã cà phê

Mẫu bã cà phê sau sấy khô được xác định các chỉ tiêu hóa lí bao gồm độ ẩm, độ tro, hàm lượng protein thô lần lượt theo các tiêu chuẩn TCVN 10788:2015, TCVN 8124:2009/ISO 2171 : 2007, TCVN 10791:2015.

Thành phần carbohydrate trong bã cà phê được xác định bằng phương pháp sắc ký lỏng cao áp (HPLC Agilent 1200 Infinity II) theo qui trình của Sluiter & ctv. (2012).

2.2.2. Các phương pháp ly trích dầu từ bã cà phê

Dầu cà phê được chiết xuất bằng bốn phương pháp:

1. Phương pháp Soxhlet (SOX) thực hiện với tỉ lệ 1:20 (w/v) đun trong 4 giờ ở 60°C.
2. Phương pháp chiết xuất bằng siêu âm (UAE) được tiến hành khảo sát ảnh hưởng của thời gian chiết (15, 30 và 45 phút), nhiệt độ (30°C, 40°C và 50°C) với tỉ lệ nguyên liệu/dung môi là 1:5 (w/v).
3. Phương pháp chiết xuất có hỗ trợ vi sóng (MAE) được bố trí khảo sát ảnh hưởng của nhiệt độ (60°C, 70°C và 80°C) và thời gian chiết xuất (20, 30 và 40 phút). Tỉ lệ nguyên liệu/dung môi là 1:3 (w/v).

Tất cả mẫu dầu được thu bằng cách lọc qua giấy lọc có chứa Na₂SO₄ và loại bỏ dung môi bằng máy cô quay chân không (Heidolph) ở 50°C, 330 mbar. Hàm lượng dầu được tính trên mẫu khô kiệt theo công thức sau:

$$W = \frac{m_1 - m_0}{m \times (1 - w\%)} \times 100 (\%)$$

Trong đó:

m_1 (g): tổng khối lượng bình cầu và dầu sau sấy khô

m_0 (g): khối lượng bình cầu ban đầu

m (g): khối lượng mẫu cà phê sử dụng

w (%): độ ẩm của mẫu

2.2.3. Xác định các chỉ tiêu hóa lí trong dầu bã cà phê

Các chỉ tiêu hóa lí trong dầu cà phê cần xác định gồm tỷ trọng, chỉ số acid (AV), chỉ số xà phòng hóa (SV) và chỉ số este hóa. Tỷ trọng dầu cà phê được xác định theo TCVN 6117:2010/ISO 6883 : 2007, xác định AV theo TCVN 6127:2010 và TCVN 6126:2015/ISO 3457:2013 áp dụng cho SV. Chỉ số este tính bằng hiệu giữa SV và AV.

2.2.4. Thủy phân bã cà phê bằng enzyme

Bã cà phê sau khi chiết dầu được sấy khô và thủy phân bằng enzyme Cellulast (700 EGU/g) và Viscozyme (100 FBG/g). Bảng 1 thể hiện ba nghiệm thức được bố trí với các loại enzyme khác nhau gồm Cellulast (NT1), Viscozyme (NT2), Cellulast kết hợp với Viscozyme (NT3) và một nghiệm thức không sử dụng enzyme dùng làm đối chứng (NT0). Tỷ lệ enzyme/cơ chất là 2%. Thủy phân bã cà phê theo qui trình của Nguyen & ctv. (2019). Sử dụng 1 g mẫu đã chiết dầu kết hợp với 25 mL dung dịch đệm sodium citrate 0,05 M có pH 4,8 - 5,0; sau đó thêm enzyme vào từng nghiệm thức. Quá trình thủy phân thực hiện ở 50°C trong bể lắc ổn nhiệt Julabo với thời gian 24 giờ. Quá trình thủy phân được theo dõi bằng cách định lượng đường khử ở các thời điểm 0; 3; 6; 9; 12 và 24 giờ.

Bảng 1. Bố trí nghiệm thức thủy phân bã cà phê

Tên nghiệm thức	Tỷ lệ enzyme: cơ chất (%v/w)	
	Cellulast	Viscozyme
NT0	0	0
NT1	2	0
NT2	0	2
NT3	1	1

2.2.5. Xác định nồng độ đường khử trong dịch thủy phân

Đường khử giải phóng từ quá trình thủy phân được xác định dựa trên phản ứng màu giữa đường khử với thuốc thử 3,5-Dinitrosalicylic acid (DNS) (Nguyen & ctv., 2019). Phản ứng được tiến hành bằng cách cho 1 mL dịch thủy phân đã pha loãng kết hợp với 1 mL DNS. Hỗn hợp trên được cho phản ứng bằng cách đun trong nước sôi 5 phút và hạ nhiệt nhanh trong nước lạnh để dừng phản ứng. Sau khi mẫu nguội hoàn toàn thì thêm 3 mL nước cất, lắc đều và đo độ hấp thụ ở bước sóng 505 nm. Glucose được sử dụng làm chất chuẩn, dãy các nồng độ gồm 100, 200, 300, 400, 500 mg/L. Xây dựng đồ thị chuẩn biểu diễn mối tương quan giữa nồng độ và độ hấp thụ. Đo độ hấp thụ của mẫu thử để xác định được lượng đường khử tương ứng trong mẫu.

2.2.6. Khảo sát thành phần dịch thủy phân bã cà phê

Các loại đường như mannose, galactose và glucose trong dịch thủy phân được xác định bằng kỹ thuật sắc ký lỏng cao áp (Agilent 1200 Infinity II). Cột Rezex RPM- Monosaccharide Pb+2 (8%) có kích thước 100 x 7.8 mm được ổn định ở 40°C. Đầu dò chiết suất (RI) được gia nhiệt ở 80°C. Pha động là nước với tốc độ dòng 0,2 mL/phút.

Phenolic tổng số trong dịch thủy phân được xác định bằng phương pháp quang phổ hấp thụ phân tử sau khi cho mẫu phản ứng màu với thuốc thử Folin - ciocalteu (Trinh & ctv., 2018). Tiến hành định lượng phenolic tổng số bằng cách cho 100 μ L mẫu thử phản ứng với 100 μ L Folin-Ciocalteu ủ trong 5 phút; sau đó thêm 300 μ L Na_2CO_3 20% và nước để đạt thể tích 5 mL. Để mẫu tại phòng tối 60 phút và đo độ hấp thụ bằng máy quang phổ UV-Vis ở bước sóng 760 nm. Xây dựng đồ thị chuẩn biểu diễn mối liên hệ giữa nồng độ chất chuẩn và độ hấp thụ tương ứng. Chất chuẩn được sử dụng là gallic acid (GA) ở các nồng độ 50 ppm, 100 ppm, 150 ppm, 200 ppm và 250 ppm. Kết quả nồng độ phenolic tổng số được biểu diễn dưới dạng mg gallic acid/L.

Khả năng chống oxy hóa của dịch thủy phân được đánh giá bằng phương pháp bắt gốc tự do DPPH với chất chuẩn là ascorbic acid (AA). Tiến hành phản ứng bằng cách cho 1 mL DPPH ($\text{OD}=1,1 \pm 0,02$) vào 1 mL dịch thủy phân đã pha loãng. Hỗn hợp được ủ trong tối ở nhiệt độ phòng

trong 20 phút, sau đó đo độ hấp thụ ở bước sóng 517 nm bằng máy UV-Vis. Ascorbic acid (AA) được sử dụng làm chất chuẩn ở các nồng độ 100, 200, 300, 500 và 1000 ppm. Kết quả biểu diễn khả năng chống oxy hóa của dịch thủy phân bằng lượng ascorbic acid tương đương (mg AA/L) (Trinh & ctv., 2018).

2.3. Xử lý số liệu

Tất cả các thí nghiệm được lặp lại 3 lần. Số liệu được xử lý bằng phần mềm Minitab 16 và biểu diễn dưới dạng trung bình $\pm$ SD.

3. Kết Quả và Thảo Luận

3.1. Các chỉ tiêu hóa lý của bã cà phê

Các chỉ tiêu hóa lý được xác định trong bã cà phê bao gồm độ ẩm, độ tro, hàm lượng Nitơ tổng, protein thô và thành phần carbohydrate.

Bảng 2. Các chỉ tiêu hóa lý của mẫu bã cà phê

Chỉ tiêu	Hàm lượng (%)
Độ ẩm	11,03 $\pm$ 0,03
Độ tro	1,92 $\pm$ 0,02
Nitơ	2,29 $\pm$ 0,03
Protein	14,34 $\pm$ 0,14
Glucose	9,09 $\pm$ 0,54
Galactose	11,79 $\pm$ 0,78
Mannose	30,39 $\pm$ 1,69

Kết quả thể hiện trong Bảng 2 cho thấy bã cà phê có hơn 50% carbohydrate trong đó đường mannose là thành phần chính chiếm 30,39%, tiếp theo là galactose (11,79%) và glucose (9,09%). Bã cà phê còn chứa lượng lớn protein (14,34%), có thể được xử lý để bổ sung dinh dưỡng cho động vật nuôi. Độ tro đại diện cho tổng hàm lượng của các chất khoáng có trong nguyên liệu chiếm 1,92%. Hàm lượng tro và protein được quan tâm khi sử dụng các chất thải hữu cơ làm phân bón thực vật. Hiện tại bã cà phê được xử lý để làm phân bón hữu cơ ở nhiều nông trại. Các chỉ tiêu hóa lý và thành phần bã cà phê trong nghiên cứu này cũng tương đồng với các báo cáo trước đây (Cruz & ctv., 2014; Osorio-Arias & ctv., 2019; Passos & ctv., 2019). Ngoài ra bã cà phê còn chứa dầu và các hợp chất phenolic mà chúng tôi sẽ khảo sát trong những thí nghiệm tiếp theo.

3.2. Hiệu suất chiết dầu từ bã cà phê bằng các phương pháp khác nhau

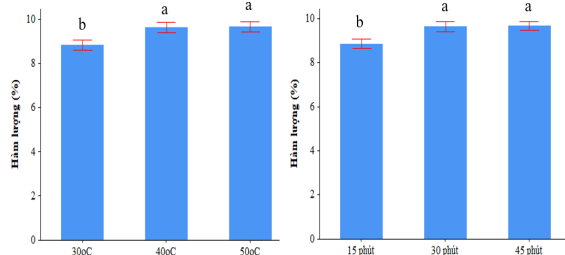
Trong nghiên cứu này chúng tôi sử dụng ba phương pháp khác nhau để chiết dầu gồm phương pháp Soxhlet, phương pháp chiết xuất bằng sóng siêu âm (UAE) và chiết xuất dưới sự hỗ trợ của vi sóng (MAE). Chiết dầu bằng Soxhlet là phương pháp phổ biến, dễ thực hiện, không cần đầu tư nhiều trang thiết bị nhưng thời gian thường kéo dài. Các phương pháp chiết xuất hiện đại thường có hiệu quả cao và rút ngắn thời gian, nhưng tốn nhiều chi phí đầu tư trang thiết bị. Trong nghiên cứu này chúng tôi sử dụng phương pháp Soxhlet làm phương pháp đối chứng nên không khảo sát các yếu tố ảnh hưởng đến hiệu quả chiết dầu mà sử dụng điều kiện tối ưu của nghiên cứu trước đó (Hibbert & ctv., 2019) là 60°C trong 4 giờ. Chúng tôi cũng tiến hành chiết dầu bằng phương pháp Soxhlet đến 8 giờ và hàm lượng dầu không có khác biệt có ý nghĩa thống kê với hàm lượng dầu ở 4 giờ. Vì vậy chúng tôi chọn 4 giờ là thời gian tối ưu để chiết dầu bằng phương pháp Soxhlet. Nghiên cứu chiết xuất dầu và phê tập trung vào các phương pháp hiện đại, có hiệu quả trong thời gian ngắn đồng thời giảm thiểu lượng dung môi sử dụng.

3.2.1. Ảnh hưởng của phương pháp UAE đến hiệu suất chiết dầu

Chiết xuất bằng sóng siêu âm là phương pháp hiện đại, cho hiệu quả cao, và có thể thực hiện trên qui mô lớn. Thời gian và nhiệt độ là hai yếu tố ảnh hưởng đến hiệu quả của quá trình chiết xuất. Ở thí nghiệm khảo sát ảnh hưởng của thời gian đến hàm lượng dầu cho thấy hàm lượng dầu tăng từ 8,84 đến 9,64% khi kéo dài thời gian chiết từ 15 đến 30 phút. Tuy nhiên hàm lượng dầu tăng không đáng kể từ 9,64% đến 9,67% khi kéo dài thời gian chiết đến 45 phút, hàm lượng dầu thu nhận ở 30 và 45 phút không có khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê. Chúng tôi chọn thời gian chiết dầu 30 phút cho các thí nghiệm tiếp theo. Nhiệt độ là yếu tố quan trọng ảnh hưởng đến quá trình chiết xuất. Kết quả cho thấy, nhiệt độ tăng thì hiệu suất chiết dầu cũng tăng lên, lần lượt là 8,82% ở 30°C; 9,64% ở 40°C và 9,67% ở 50°C (Hình 1).

Tuy nhiên, hàm lượng dầu chiết ở 40°C và 50°C không có khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê. Điều kiện tối ưu để chiết dầu trong nghiên cứu này là 40°C trong 30 phút. Hàm lượng dầu và

phê dao động trong khoảng rộng từ 7 – 16% tùy vào nguồn nguyên liệu và phương pháp chiết xuất (Cruz & ctv., 2012). Chúng tôi đã tiến hành chiết dầu cà phê trên 11 mẫu khác nhau đã thu thập ở địa bàn TP.HCM bằng phương pháp UAE, kết quả cho thấy hàm lượng dầu dao động từ 7,5% đến 13,6%. Có thể thấy nguồn nguyên liệu ảnh hưởng nhiều đến hàm lượng dầu (Al-Hammanre & ctv., 2012; Jenkins & ctv., 2014). Rocha & ctv. (2014) đã chiết dầu cà phê Arabica bằng UAE ở 60°C trong 45 phút và thu được 12% dầu.



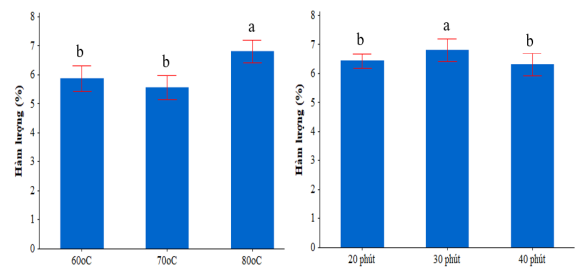
Hình 1. Ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian đến hiệu suất chiết dầu bằng UAE.

Các chữ cái khác nhau biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê ($P < 0,05$).

3.2.2. Ảnh hưởng của phương pháp MAE đến hiệu suất chiết dầu

Chiết xuất dưới sự hỗ trợ của vi sóng là phương pháp chiết hiện đại, có hiệu quả cao trong chiết xuất các hợp chất tự nhiên và thực hiện trong thời gian ngắn. Thí nghiệm chiết dầu cà phê bằng MAE được bố trí khảo sát ảnh hưởng của nhiệt độ (tại 60°C, 70°C và 80°C) và thời gian (trong 20, 30 và 40 phút). Thời gian chiết xuất là 30 phút được sử dụng cố định trong các thí nghiệm khảo sát ảnh hưởng của nhiệt độ. Kết quả cho thấy, hàm lượng dầu đạt giá trị cao nhất là 6,81% chiết xuất ở 80°C và có khác biệt ý nghĩa về mặt thống kê ($P < 0,05$) so với chiết xuất ở 60°C và 70°C (Hình 2). Nhiệt độ chiết xuất ở 80°C được chúng tôi tiếp tục sử dụng để khảo sát ảnh hưởng của thời gian lên hiệu suất chiết dầu. Hàm lượng dầu đạt giá trị cao nhất sau 30 phút với hiệu suất 6,81%, và có khác biệt có ý nghĩa với các thí nghiệm khác ($P < 0,05$). Do đó, điều kiện chiết xuất tối ưu cho phương pháp MAE được lựa chọn là chiết xuất ở 80°C trong 30 phút. Trong phương pháp MAE, nhiệt gia tăng nhanh chóng nhờ tương tác lưỡng cực của các dung môi phân cực, do đó làm tăng hiệu quả của quá trình trích ly trong thời

gian ngắn hơn so với các phương pháp khác. Tuy nhiên, dung môi dùng để chiết dầu trong nghiên cứu này là n-hexan không phân cực nên phương pháp MAE có thể không phù hợp để chiết dầu. Chúng tôi thử nghiệm thay đổi dung môi chiết là ethanol, kết quả cho thấy hàm lượng dầu tăng đáng kể, nhưng ethanol là dung môi phân cực hòa tan rất nhiều các hợp chất khác trong bã cà phê như polyphenol và melanoidin làm cho dầu cà phê có màu nâu đậm và đặc sánh hơn so với dầu chiết bằng n-hexan. Một số nghiên cứu đã báo cáo hàm lượng dầu cà phê chiết bằng MAE khá cao từ 11,5% - 15,1% (Obruca & ctv., 2014; Hibbert & ctv., 2019). Có thể nguồn nguyên liệu khác nhau là yếu tố dẫn đến hàm lượng dầu có sự khác biệt đáng kể trong các nghiên cứu.



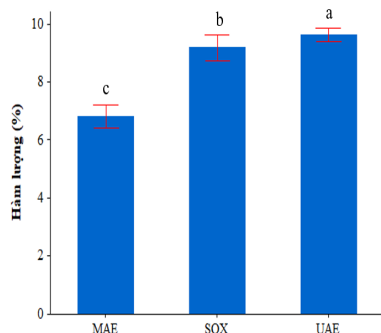
Hình 2. Ảnh hưởng của nhiệt độ và thời gian tới hiệu suất chiết dầu bằng MAE.

Các chữ cái khác nhau biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê ($P < 0,05$).

3.2.3. Hiệu quả chiết dầu của các phương pháp

Kết quả chiết dầu bằng các phương pháp UAE, MAE và SOX được thực hiện phân tích ANOVA bằng phần mềm Minitab 16. Từ Hình 3, có thể thấy phương pháp chiết UAE và SOX có hiệu suất cao vượt trội (cao nhất lần lượt là 9,64% và 9,18%) so với phương pháp MAE (6,81%). Hiệu suất dầu chiết bằng phương pháp UAE cao nhất và có sự khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê so với các phương pháp còn lại. Kết quả này tương tự như nghiên cứu của Goh & ctv. (2020), hàm lượng dầu cà phê đạt giá trị cao nhất khi chiết bằng phương pháp UAE trong 30 phút, kế tiếp là phương pháp SOX trong 3 giờ. SOX là phương pháp chiết dầu được sử dụng phổ biến nhất, có hiệu quả nhưng tốn nhiều thời gian, dung môi và năng lượng hơn UAE. Thời gian chiết dầu bằng phương pháp SOX trong một số nghiên cứu lên đến 8 giờ với tỉ lệ mẫu:dung môi là 1:15 - 1:25 (Efthymiopoulos & ctv., 2017; Hanif & ctv.,

2019). Trong khi đó chiết dầu bằng UAE chỉ thực hiện trong 15 - 45 phút với tỉ lệ mẫu:dung môi thấp 1:3 - 1:5 (Rocha & ctv., 2014). Do đó, chúng tôi chọn phương pháp UAE để chiết dầu cho các thí nghiệm tiếp theo.



Hình 3. Hàm lượng dầu cà phê từ các phương pháp chiết khác nhau.

Các chữ cái khác nhau biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê ($P < 0,05$).

3.3. Các chỉ tiêu hóa lí của dầu cà phê

Dầu cà phê được chiết bằng hai phương pháp có hiệu quả nhất là UAE và SOX sẽ được xác định các chỉ tiêu hóa lí. Tỷ trọng dầu được tính theo đơn vị là kg/L, đơn vị này thể hiện cho khối lượng của dầu trong 1 lít thể tích. Các chỉ tiêu còn lại gồm chỉ số acid (AV), chỉ số xà phòng (SV) và chỉ số este là các chỉ số đại diện cho chất lượng dầu. Chỉ số acid là số mg KOH cần để trung hòa các gốc acid béo tự do trong 1 g dầu. Chỉ số AV càng cao có nghĩa là hàm lượng acid béo tự do trong dầu cao, tuy nhiên các acid béo này dễ bị oxy hóa có thể dẫn đến suy giảm chất lượng nếu dầu không được bảo quản tốt (Istiningrum & ctv., 2017). Dầu có chỉ số AV càng thấp thì càng bền và chất lượng càng cao. Bảng 3 thể hiện các chỉ số của dầu cà phê chiết bởi dung môi n-hexan bằng phương pháp SOX và UAE. Tỷ trọng của dầu bã cà phê chiết bằng UAE là 0,94 kg/L cao hơn so với SOX (0,84 kg/L), điều này có thể được giải thích dựa trên khối lượng phân tử của chất béo chứa trong dầu, khối lượng phân tử lớn sẽ làm tỷ trọng dầu cao. Phương pháp Soxhlet chiết dầu trong thời gian dài (4 giờ), trong khi đó UAE chỉ tiến hành trong 30 phút, thời gian chiết dầu kéo dài làm cho triglycerid bị phân hủy thành acid béo có khối lượng phân tử nhỏ hơn (Bart & ctv., 2010; Hanif & ctv., 2019). Dầu chiết bằng UAE có các chỉ số AV, SV và chỉ số este lần lượt

là 7,80; 16,33 và 8,57 mg KOH/g; và 7,59; 17,20 và 9,70 mg KOH/g đối với dầu chiết bằng SOX.

Các chỉ số của dầu thu nhận từ hai phương pháp này không có khác biệt có ý nghĩa thống kê. Chỉ số acid trong nghiên cứu này tương đương với báo cáo của Al-Hamamre & ctv. (2012), trong đó AV của dầu chiết bằng phương pháp Soxhlet là 7,3 mg KOH/g. Các chỉ số của dầu chiết từ bã cà phê được báo cáo dao động trong khoảng rộng, phụ thuộc vào nguồn nguyên liệu, cách xử lý nguyên liệu và phương pháp chiết xuất. Theo nghiên cứu của Hanif & ctv. (2019), chỉ số AV và SV lần lượt là 44,47 mg KOH/g và 176,40 mg KOH/g cao hơn nhiều so với các chỉ số của dầu cà phê trong nghiên cứu này, có thể là do tác giả đã thu thập nguyên liệu từ nhà máy chế biến cà phê hòa tan, trong đó cà phê được xử lý bằng nước nóng tại nhiệt độ cao 160 – 180°C và áp suất 14 - 16 bar. Trong khi đó, chúng tôi sử dụng bã cà phê thu thập ở các cửa hàng pha chế nên cà phê thường sẽ được xử lý ở nhiệt độ và áp suất thấp hơn. Nhiệt độ xử lý nguyên liệu cao hoặc nhiệt độ quá trình chiết dầu cao thường làm tăng chỉ số acid. Chỉ số AS trong nghiên cứu này thấp so với nhiều công bố trước đây chứng tỏ dầu càng bền và có chất lượng cao. Chỉ số SV ở nghiên cứu này thấp hơn so với kết quả khác có thể là do sự hiện diện của các acid béo mạch dài hay triacylglycerol có khối lượng phân tử lớn (Bart & ctv., 2010; Hanif & ctv., 2019).

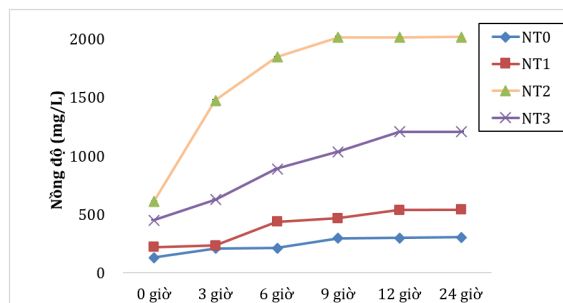
3.4. Ảnh hưởng của enzyme đến quá trình thủy phân

Bã cà phê sau khi chiết dầu chứa chủ yếu là polysaccharide được thủy phân bằng enzyme. Kết quả cho thấy, nồng độ đường khử tăng ở cả 4 nghiệm thức (Hình 4). Ở NT0 không có bổ sung enzyme, sau 24 giờ thủy phân thì nồng độ đường tăng lên không đáng kể (từ 129,9 mg/L lên 304,2 mg/L); NT1 có bổ sung enzyme Cellulast 2% thì hiệu suất thủy phân tăng lên rõ hơn trong 12 giờ đầu, nhưng cao nhất chỉ gấp 1,8 lần so với đối chứng ở cùng thời điểm 24 giờ. Ở NT2, có thể thấy Viscozyme mang lại hiệu suất thủy phân rất cao, nồng độ đường khử tăng nhanh trong 9 giờ đầu và đạt hơn 2000 mg/L, gấp 6,6 lần nghiệm thức đối chứng (giai đoạn sau tăng không đáng kể). NT3 sử dụng kết hợp 2 loại enzyme Cellulast và Viscozyme cũng cho hiệu quả thủy phân khá tốt, đạt cao nhất khoảng 1200 mg/L trong 9 - 24 giờ, gấp gần 4 lần nghiệm thức đối chứng.

Bảng 3. Các chỉ số của dầu từ bã cà phê chiết bằng phương pháp SOX và UAE

Phương pháp	Tỷ trọng (kg/L)	Chỉ số acid (mg KOH/g)	Chỉ số xà phòng (mg KOH/g)	Chỉ số este (mg KOH/g)
SOX	0,84 ± 0,00	7,59 ± 0,11	17,20 ± 0,74	9,70 ± 0,84
UAE	0,94 ± 0,00	7,80 ± 0,12	16,33 ± 0,87	8,57 ± 0,86

Viscozyme là enzyme thương mại có thành phần gồm β -glucanase, pectinase, hemicellulase và xylanase; trong khi Cellulast chỉ chứa cellulase. Bã cà phê chứa các polysaccharide chính như galactomannan, arabinogalactan và cellulose, Viscozyme là một hỗn hợp enzyme thủy phân cả hemicellulose và cellulose, do đó mang lại hiệu suất thủy phân cao hơn Cellulast. Như vậy, trong nghiên cứu này NT2 sử dụng Viscozyme 2% là nghiệm thức cho nồng độ đường khử cao nhất với 2016,4 mg/L trong 24 giờ thủy phân, tương đương với hàm lượng đường là 53,8 mg/g nguyên liệu và hiệu suất thủy phân polysaccharide đạt khoảng 9,76%. Hiệu suất thủy phân trong nghiên cứu này được ghi nhận thấp hơn so với một số nghiên cứu trước đây như 17% trong báo cáo của Jooste & ctv. (2013); 14,79% trong báo cáo của Bhaturiwala & Modi (2020). Đa số các nghiên cứu đều tiến hành tiền xử lý bã cà phê bằng nhiều phương pháp khác nhau nhằm loại bỏ các thành phần không mong muốn và phá vỡ cấu trúc của bã cà phê làm cho enzyme dễ dàng tiếp cận với cơ chất và tăng hiệu suất thủy phân (Jooste & ctv., 2013; Nguyen & ctv., 2019). Tiền xử lý là một quá trình rất quan trọng mà chúng tôi sẽ thực hiện trong nghiên cứu tiếp theo.


Hình 4. Nồng độ đường khử trong quá trình thủy phân.

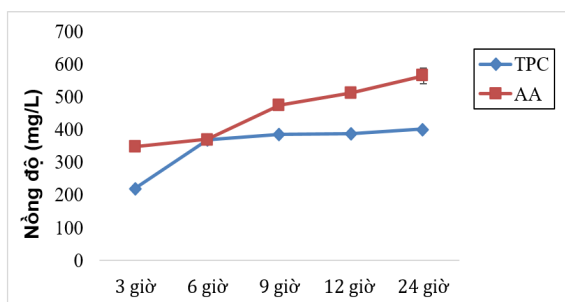
NT0: Đối chứng; NT1: Cellulast (2%); NT2: Viscozyme(2%); NT3: Cellulast (1%)+Viscozyme(1%)

3.5. Thành phần dịch thủy phân

3.5.1. Hàm lượng phenolic tổng số và hoạt tính chống oxy hóa

Ngoài đường khử thì dịch thủy phân còn chứa các hợp chất phenolic và thể hiện khả năng chống oxy hóa. Hình 5 cho thấy hàm lượng phenolic tổng số và hoạt tính chống oxy hóa tăng trong quá trình thủy phân bã cà phê sau chiết dầu. Hàm lượng phenolic tổng số tăng nhanh chóng từ 221,1 mg GA/L đến 369,5 mg GA/L trong giai đoạn từ 3 giờ đến 6 giờ thủy phân, sau đó tăng chậm và đạt giá trị cao nhất sau 24 giờ với nồng độ 401,7 mg GA/L. Khả năng chống oxy hóa của dịch thủy phân tính theo nồng độ acid ascorbic tăng từ 348,6 mg/L tại 3 giờ tới 564,3 mg/L sau 24 giờ thủy phân. Theo báo cáo của Choi & ctv. (2017), bã cà phê chứa nhiều hợp chất phenolic bao gồm acid chlorogenic, acid gallic và acid protocatechuic. Các hợp chất này thường được chiết bằng dung môi và quyết định khả năng chống oxy hóa của dịch chiết. Sử dụng các enzyme có khả năng phá hủy thành tế bào thực vật như cellulase, hemicellulase, pectinase làm giải phóng các hợp chất tự nhiên bên trong tế bào, vì vậy hàm lượng các hợp chất này tăng theo thời gian trong quá trình thủy phân (Puri & ctv., 2012). Phương pháp chiết xuất các hợp chất có hoạt tính sinh học bằng cách sử dụng các loại enzyme cũng là một xu hướng gần đây vì những ưu điểm của phương pháp này như an toàn, không tồn dư hóa chất trong sản phẩm và thân thiện với môi trường. Anuar & ctv. (2020) đã dùng enzyme pectinase chiết các hợp chất chống oxy hóa trong bã cà phê, kết quả thu được hàm lượng phenolic tổng số là 267,2 mg GA/L thấp hơn kết quả của chúng tôi trong nghiên cứu này. Pectinase là enzyme thủy phân pectin, một thành phần chiếm tỉ lệ cao trong vỏ cà phê nhưng ít hiện diện trong bã cà phê. Việc sử dụng Viscozyme chứa các loại enzyme khác nhau như β -glucanase, pectinase, hemicellulase và xylanase trong nghiên cứu của chúng tôi đã mang lại hiệu quả cao hơn chỉ sử dụng pectinase. Sử dụng enzyme còn giải

phóng các hợp chất flavonoid trong bã cà phê như quercetin, kaempferol, rutin và các hợp chất khác như catechin, epigallocatechin, p-coumaric acid, myricetin, vì vậy hoạt tính chống oxy hóa cũng tăng trong quá trình thủy phân (Anuar & ctv., 2020). Như vậy quá trình thủy phân bã cà phê không những giải phóng đường mà còn chiết được các hợp chất phenolic có hoạt tính chống oxy hóa. Thành phần dịch thủy phân sau 24 giờ chứa 2016,4 mg/L đường khử; 401,7 mg GA/L phenolic tổng số và hoạt tính chống oxy hóa tương đương 564,3 mg ascorbic acid/L.



Hình 5. Nồng độ phenolic tổng số và hoạt tính chống oxy hóa trong dịch thủy phân.

TPC: Phenolic tổng số, AA: Hoạt tính chống oxy hóa biểu diễn bằng nồng độ ascorbic acid.

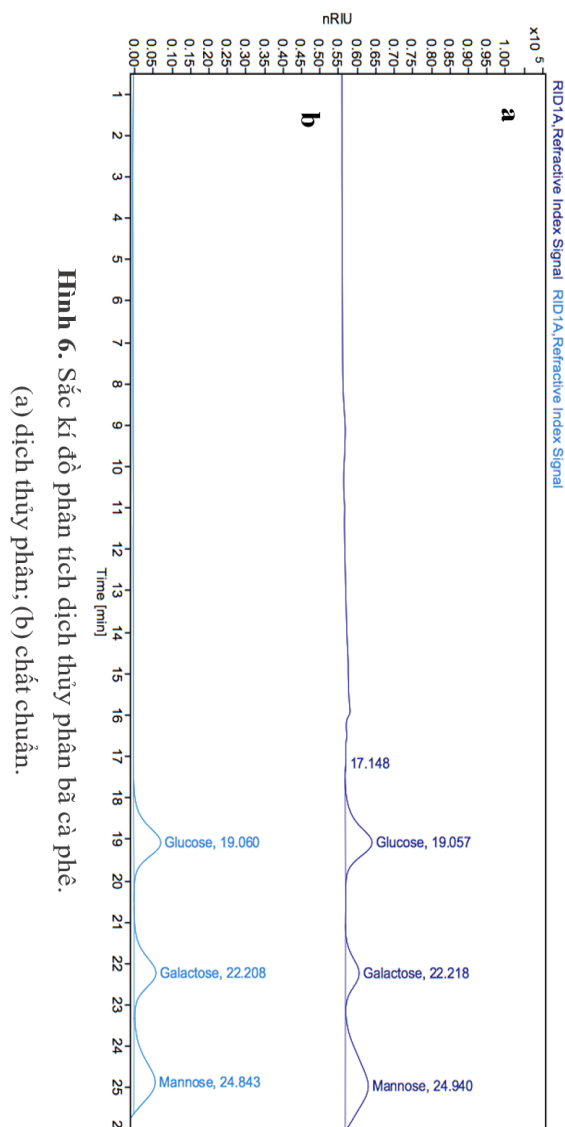
3.5.2. Thành phần đường đơn trong dịch thủy phân

Kết quả phân tích đường trong dịch thủy phân bã cà phê của NT2 ở mẫu 24 giờ tìm thấy 3 loại đường đơn là mannose, glucose và galactose (Hình 6). Trong đó glucose chiếm tỉ lệ lớn nhất với 47,1% trên tổng lượng đường khử (947,1 mg/L); đường mannose chiếm 23,2% (464,2 mg/L) và 12,7% đường galactose (256,3 mg/L) (Bảng 4).

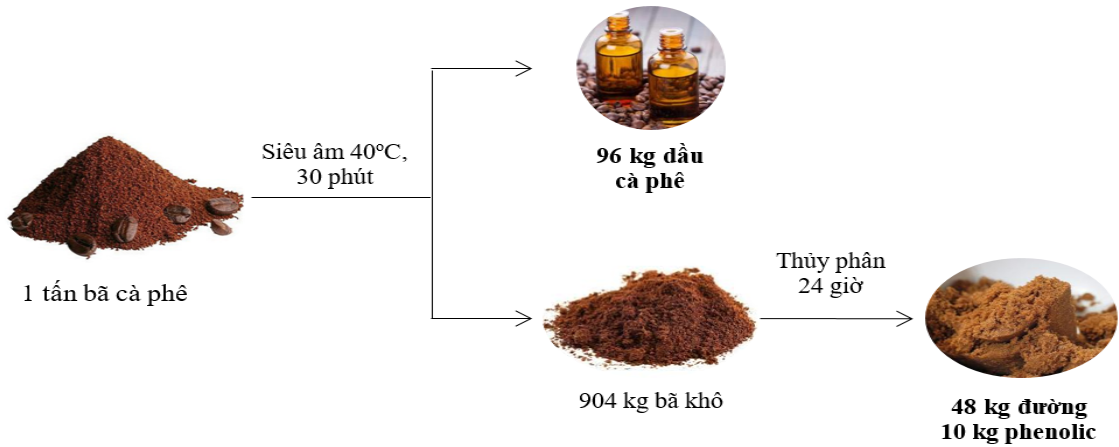
Bảng 4. Nồng độ các loại đường đơn trong dịch thủy phân 24 giờ ở nghiệm thức 2

Thành phần	Nồng độ (mg/L)	Tỉ lệ (%)
Mannose	464,2 ± 4,0	23,2%
Glucose	947,1 ± 5,1	47,1%
Galactose	256,3 ± 3,8	12,7%

Kết quả này có sự khác biệt so với các nghiên cứu của Chiyanzu & ctv. (2014) với 24,17% glucose, 24,67% mannose và 2,17% galactose; 46,8%



Hình 6. Sắc kí đồ phân tích dịch thủy phân bã cà phê.
(a) dịch thủy phân; (b) chất chuẩn.



Hình 7. Quy trình thu nhận dầu và đường từ bã cà phê.

mannose, 30,4% galactose và 19,0% glucose được báo cáo bởi Mussatto & ctv. (2011). Nguyên nhân là do bã cà phê trong nghiên cứu này không trải qua bước tiền xử lý nên lượng đường glucose thu nhận được bao gồm cả glucose tự do hòa tan (free sugar). Vì vậy glucose là loại đường chính được tìm thấy trong nghiên cứu này. Bã cà phê chứa polysaccharide chính là galactomannan nên đường đơn thu nhận sau thủy phân bao gồm galactose và mannose. Trong đó, mannose thường được biết đến như một loại đường chức năng có các đặc tính sinh lý và hoạt tính sinh học tuyệt vời. Mannose được ứng dụng trong thực phẩm và đồ uống, được chứng minh làm giảm tốc độ phát triển của tế bào khối u (Gonzalez & ctv. 2018), điều trị bệnh nhiễm trùng đường tiết niệu (Kyriakides & ctv., 2020) và thiếu men mannose phosphate isomerase (de Lonlay & Seta, 2009). Thông thường tiền xử lý bã cà phê sẽ loại bỏ đường tự do hòa tan phần lớn là glucose nên đường mannose chiếm tỉ lệ cao nhất trong dịch thủy phân (Nguyễn & ctv., 2019). Tuy nhiên nghiên cứu này đã thu nhận được 47,1% đường glucose nên chúng tôi đề xuất sử dụng dịch thủy phân bã cà phê để ứng dụng trong nuôi cấy vi sinh vật. Ngoài ra có thể giảm tỉ lệ nguyên liệu: dung dịch đậm trong quy trình thủy phân để tăng nồng độ đường phù hợp với các ứng dụng tiếp theo. Việc sử dụng các loại enzyme khác nhau cũng ảnh hưởng đến khả năng thủy phân các liên kết khác nhau trong các polysaccharide dẫn đến thành phần và hàm lượng các loại đường khác nhau.

Từ những kết quả trên chúng tôi ước tính hiệu quả thu nhận một số sản phẩm có giá trị từ bã cà phê như Hình 7.

4. Kết luận và Kiến nghị

4.1. Kết luận

Phương pháp chiết bằng siêu âm ở 40°C trong 30 phút cho hiệu quả trích ly dầu cao nhất đạt 9,64%. Dầu cà phê chiết bằng phương pháp siêu âm có tỷ trọng, chỉ số acid, chỉ số este và chỉ số xà phòng hóa lần lượt là 0,94 kg/L, 7,80 mg KOH/g, 8,57 mg KOH/g và 16,33 mg KOH/g.

Enzyme Viscozyme đem lại hiệu quả thủy phân cao nhất giải phóng tối đa 2016,4 mg/L đường khử, tương đương 53,8 mg/g bã cà phê khô. Dịch thủy phân sau 24 giờ chứa 401,7 mg GA/L phenolic tổng số; 947,1 mg/L glucose; 464,2 mg/L mannose; 256,3 mg/L galactose và khả năng chống oxy hóa tương đương 564,3 mg ascorbic acid /L.

Áp dụng phương pháp chiết dầu và thủy phân như nghiên cứu này có thể thu nhận được 96 kg dầu, 48 kg đường và gần 10 kg hợp chất polyphenols từ một tấn bã cà phê khô.

4.2. Kiến nghị

Hiệu quả thủy phân polysaccharide còn thấp, bã cà phê cần được xử lý để nâng cao hiệu quả quá trình thủy phân. Ngoài ra, cần tiến hành các thử nghiệm thủy phân bằng nhiều loại enzyme khác nhau để nâng cao hiệu suất thủy phân.

Dịch thủy phân bã cà phê đã được sử dụng để lên men sản xuất cồn sinh học. Do vậy chúng tôi đề xuất thử nghiệm sử dụng dịch thủy phân bã cà phê như môi trường để nuôi cấy tăng sinh một số loài vi sinh vật có lợi khác.

Lời Cam Đoan

Chúng tôi cam đoan bài báo do nhóm tác giả thực hiện và không có bất kỳ mâu thuẫn nào giữa các tác giả.

Lời Cảm Ơn

Nghiên cứu này là một phần của đề tài nghiên cứu khoa học và công nghệ cấp cơ sở mã số CS-SV20-CNSH-01 được cấp kinh phí bởi Trường Đại Học Nông Lâm TP.HCM.

Tài Liệu Tham Khảo (References)

- Al-Hamamre, Z., Foerster, S., Hartmann, F., Kroger, M., & Kaltschmitt, M. (2012). Oil extracted from spent coffee grounds as a renewable source for fatty acid methyl ester manufacturing. *Fuel* 96, 70-76. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2012.01.023>
- Anuar, K., Zin, M., Juhari, N. H., Hasmadi, M., Smedley, K. L., & Zainol, M. K. (2020). Influence of pectinase-assisted extraction time on the antioxidant capacity of Spent Coffee Ground (SCG). *Food Research* 4(6), 2054-2061. [https://doi.org/10.26656/fr.2017.4\(6\).270](https://doi.org/10.26656/fr.2017.4(6).270)
- Bart, J. C. J., Palmeri, N., & Cavallaro, S. (2010). Emerging new energy crops for biodiesel production. In Bart, J. C. J., Palmeri, N., & Cavallaro, S. (Eds.). *Biodiesel Science and Technology* (226-284). Sawston, Cambridge, UK: Woodhead Publishing. <https://doi.org/10.1533/9781845697761.226>
- Bhatariwala, A. R., & Modi, H. A. (2020). Extraction of oligosaccharides and phenolic compounds by roasting pretreatment and enzymatic hydrolysis from spent coffee ground. *Journal of Applied Biology and Biotechnology* 8(4), 75-81. <https://doi.org/10.7324/JABB.2020.80412>
- Chai, W. Y., Krishnan, U. G., Sabaratnam, V., & Tan, J. B. L. (2021). Assessment of coffee waste in formulation of substrate for oyster mushrooms *Pleurotus pulmonarius* and *Pleurotus florida*. *Future Foods* 4, 100075. <https://doi.org/10.1016/j.fufo.2021.100075>
- Chiyanzu, I., Brienzo, M., García-Aparicio, M., Agudelo, R., & Gorgens, J. (2014). Spent coffee ground mass solubilisation by steam explosion and enzymatic hydrolysis. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology* 90(3)449-458. <https://doi.org/10.1002/jctb.4313>
- Choi, B., & Koh, E. (2017). Spent coffee as a rich source of antioxidative compounds. *Food Science and Biotechnology* 26, 921-927. <https://doi.org/10.1007/s10068-017-0144-9>
- Cruz, R., Cardoso, M. M., Fernandes, L., Oliveira, M., Mendes, E., Baptista, P., Morais, S., & Casal, S. (2012). Espresso coffee residues: A valuable source of unextracted compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 60(32), 7777-7784. <https://doi.org/10.1021/jf3018854>
- de Lonlay, P., & Seta, N. (2009). The clinical spectrum of phosphomannose isomerase deficiency, with an evaluation of mannose treatment for CDG-Ib. *Biochimica Biophysica Acta* 1792(9), 841-843. <https://doi.org/10.1016/j.bbdis.2008.11.012>
- Eftymiopoulos, I., Hellier, P., Ladommatos, N., Kay, A., & Mills-Lamprey, B. (2019). Effect of solvent extraction parameters on the recovery of oil from spent coffee grounds for biofuel production. *Waste Biomass Valorization* 10(2), 253-264. <https://doi.org/10.1007/s12649-017-0061-4>
- Goh, B. H. H., Ong, H. C., Chong, C. T., Chen, W.-H., Leong, K. Y., Tan, S. X., & Lee, X. J. (2020). Ultrasonic assisted oil extraction and biodiesel synthesis of spent coffee ground. *Fuel* 261, 116121. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2019.116121>
- Gonzalez, P. S., O'Prey, J., Cardaci, S., Barthet, V. J. A., Sakamaki, J., Beaumatin, F., Roseweir, A., Gay, D. M., Mackay, G., Malviya, G., Kania, E., Ritchie, S., Baudot, A. D., Zunino, B., Mrowinska, A., Nixon, C., Ennis, D., Holey, A., Millan, D., McNeish, I. A., Sansom, O. J., Edwards, J., & Ryan, K. M. (2018). Mannose impairs tumour growth and enhances chemotherapy. *Nature* 563(7733), 719-723. <https://doi.org/10.1038/s41586-018-0729-3>
- Hanif, M., Harahap, F. A. U., Heru, H., Darni, Y., & Ginting, S. Br. (2019). Extraction and characterization of coffee oil from instant-coffee waste. *Jurnal Bahan Alam Terbarukan* 8(1), 59-64. <https://doi.org/10.15294/jbat.v8i1.18619>
- Hibbert, S., Welham, K., & Zein, S. H. (2019). An innovative method of extraction of coffee oil using an advanced microwave system: in comparison with conventional Soxhlet extraction method. *SN Applied Sciences* 1, 1467. <https://doi.org/10.1007/s42452-019-1457-5>
- Hu, X., Shi, Y., Zhang, P., Miao, M., Zhang, T., & Jiang, B. (2016). d-Mannose: properties, production, and applications: an overview. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 15. doi: 10.1111/1541-4337.12211
- Istiningrum, R. B., Saepuloh, A., Jannah, W., & Aji, D. W. (2017). Measurement uncertainty of ester number, acid number and patchouli alcohol of patchouli oil produced in Yogyakarta. *AIP Conference Proceedings* 1823(1), 020080. <https://doi.org/10.1063/1.4978153>
- Jenkins, R. W., Stageman, N. E., Fortune, C. M., & Chuck, C. J. (2014). Effect of the type of bean, processing, and geographical location on the biodiesel produced from waste coffee grounds. *Energy Fuels* 28(2), 1166-1174. <https://doi.org/10.1021/ef4022976>
- Jooste, T., Garcia-Aparicio, M. P., Brienzo, M., van Zyl, W. H., & Gorgens, J. F. (2013). Enzymatic hydrolysis of spent coffee ground. *Applied Biochemistry and Biotechnology* 169(8), 2248-2262. <https://doi.org/10.1007/s12010-013-0134-1>
- Kyriakides, R., Jones, P., & Somani, B. K. (2020). Role of D-mannose in the prevention of recurrent urinary tract infections: evidence from a systematic review of the literature. *European Urology Focus* 7(5), 1166-1169. <https://doi.org/10.1016/j.euf.2020.09.004>

- Mata, T. M., Martins, A. A., & Caetano, N. S. (2018). Bio-refinery approach for spent coffee grounds valorization. *Bioresource Technology* 247, 1077-1084. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.09.106>
- Mussatto, S. I., Machado, E. M. S., Martins, S., & Teixeira, J. A. (2011). Production, composition, and application of coffee and its industrial residues. *Food and Bioprocess Technology* 4(5), 661. <https://doi.org/10.1007/s11947-011-0565-z>
- Nguyen, Q. A., Cho, E. J., Lee, D. S., & Bae, H. J. (2019). Development of an advanced integrative process to create valuable biosugars including manno-oligosaccharides and mannose from spent coffee grounds. *Bioresource Technology* 272, 209-216. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.10.018>
- Obruca, S., Benesova, P., Petrik, S., Oborna, J., Prikryl, R., & Marova, I. (2014). Production of polyhydroxyalkanoates using hydrolysate of spent coffee grounds. *Process Biochemistry* 49(9), 1409-1414. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2014.05.013>
- Osorio-Arias, J., Delgado-Arias, S., Cano, L., Zapata, S., Quintero, M., Nuñez, H., Ramírez, C., Simpson, R., & Vega-Castro, O. (2020). Sustainable management and valorization of spent coffee grounds through the optimization of thin layer hot air-drying process. *Waste and Biomass Valorization* 11, 5015-5026. <https://doi.org/10.1007/s12649-019-00793-9>
- Passos, C. P., Rudnitskaya, A., Neves, J. M. M. G. C., Lopes, G. R., Evtuguin, D. V., & Coimbra, M. A. (2019). Structural features of spent coffee grounds water-soluble polysaccharides: towards tailor-made microwave assisted extractions. *Carbohydrate Polymers* 214, 53-61. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.02.094>
- Puri, M., Sharma, D., & Barrow, C. J. (2012). Enzyme-assisted extraction of bioactives from plants. *Trends in Biotechnology* 30(1), 37-44. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2011.06.014>
- Rocha, M. V. P., de Matos, L. J. B. L., de Lima, L. P., da Silva Figueiredo, P. M., Lucena, I. L., Fernandes, F. A. N., & Gonçalves, L. R. B. (2014). Ultrasound-assisted production of biodiesel and ethanol from spent coffee grounds. *Bioresource Technology* 167, 343-348. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.06.032>
- Rochín Medina, J., Ramirez, K., Rangel-Peraza, J., & Bustos-Terrones, Y. A. (2018). Increase of content and bioactivity of total phenolic compounds from spent coffee grounds through solid state fermentation by *Bacillus clausii*. *Journal of Food Science and Technology* 55. doi: 10.1007/s13197-017-2998-5
- Seo, H. S., & Park, B. H. (2019). Phenolic compound extraction from spent coffee grounds for antioxidant recovery. *Korean Journal of Chemical Engineering* 36(2), 186-190. <https://doi.org/10.1007/s11814-018-0208-4>
- Sluiter, A., Hames, B., Ruiz, R., Scarlata, C., Sluiter, J., & Templeton, D. (2005). *Determination of ash in biomass. Laboratory analytical procedure*. Colorado, USA: National Renewable Energy Laboratory.
- Trinh, T. P. L., Choi, Y. S., & Bae, H. J. (2018). Production of phenolic compounds and biosugars from flower resources via several extraction processes. *Industrial Crops and Products* 125, 261-268. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.09.008>
- Woldesenbet, A. G., Woldeyes, B., & Chandravanshi, B. S. (2016). Bio-ethanol production from wet coffee processing waste in Ethiopia. *SpringerPlus* 5(1), 1903-1903. doi: 10.1186/s40064-016-3600-8
- Wu, H., Zhang, W., & Mu, W. (2019). Recent studies on the biological production of D-mannose. *Applied Microbiology and Biotechnology* 103, 8753-8761. <https://doi.org/10.1007/s00253-019-10151-3>

Measurement of fermentation parameters and preservation conditions of *Phyllanthus acidus* (L.) SKEELS wine

Tam N. T. Huynh*, Trang N. P. Nguyen, Thi T. M. Tran, Nguyen T. T. Nguyen, & Nhi T. Lam

Biotechnology Research & Development Institute, Can Tho University, Can Tho City, Vietnam

ARTICLE INFO

Research Paper

Received: August 09, 2021

Revised: November 08, 2021

Accepted: November 26, 2021

Keywords

Acid ascorbic

Acid citric

Enzyme pectinase

Phyllanthus acidus (L.)

SKEELS wine

Saccharomyces cerevisiae

*Corresponding author

Huynh Ngoc Thanh Tam

Email: hnttam@ctu.edu.vn

ABSTRACT

The aim of this study was to determine conditions affecting wine fermentation process of *Phyllanthus acidus* (L.) SKEELS using *Saccharomyces cerevisiae* strain. Design Expert 7.0 was used to determine optimal factors including pH, Brix and yeast cell density. The results indicated that the highest alcohol content reached 8.88% v/v with pH 4.77, 24.79 Brix and 8.08×10^6 cells/mL. Results also showed that ascorbic acid (0.3%) proved to be better than citric acid. This concentration of ascorbic acid not only maintained a durable and beautiful yellow but also increased the flavor characteristics of wine. The process can achieve high efficiency by using a pectinase enzyme concentration of 0.1 - 0.2%.

Cited as: Huynh, T. N. T., Nguyen, T. N. P., Tran, T. T. M., Nguyen, T. T. N., & Lam, N. T. (2022). Measurement of fermentation parameters and preservation conditions of *Phyllanthus acidus* (L.) SKEELS wine. *The Journal of Agriculture and Development* 21(1), 40-47.

Nghiên cứu các thông số lên men và điều kiện bảo quản rượu vang chùm ruột (*Phyllanthus acidus* (L.) SKEELS)

Huỳnh Ngọc Thanh Tâm*, Nguyễn Ngọc Phương Trang, Trần Thị Mai Thi, Nguyễn Thanh Thảo Nguyên & Lâm Thảo Nhi

Viện Nghiên Cứu & Phát Triển Công Nghệ Sinh Học, Trường Đại Học Cần Thơ, TP. Cần Thơ

THÔNG TIN BÀI BÁO

Bài báo khoa học

Ngày nhận: 09/08/2021

Ngày chỉnh sửa: 08/11/2021

Ngày chấp nhận: 26/11/2021

Từ khóa

Acid ascorbic

Acid citric

Enzyme pectinase

Saccharomyces cerevisiae

Rượu vang chùm ruột

*Tác giả liên hệ

Huỳnh Ngọc Thanh Tâm

Email: hnttam@ctu.edu.vn

TÓM TẮT

Nghiên cứu xác định các điều kiện ảnh hưởng đến quá trình lên men rượu vang chùm ruột (*Phyllanthus acidus* (L.) SKEELS) sử dụng dòng nấm men *Saccharomyces cerevisiae*. Sử dụng phần mềm Design Expert 7.0 để xác định các thông số tối ưu bao gồm pH, nồng độ chất khô hòa tan và mật số nấm men ban đầu. Kết quả cho thấy với pH 4,77; 24,79 Brix và mật số nấm men ban đầu là $8,08 \times 10^6$ tế bào/mL sẽ cho độ cồn cao nhất đạt 8,88% v/v. Kết quả nghiên cứu cho thấy trong hai chất là acid citric và acid ascorbic sử dụng với mục đích bảo vệ màu sắc rượu vang chùm ruột thì acid ascorbic (0,3%) tỏ ra ưu thế hơn cả. Nồng độ này acid ascorbic không chỉ duy trì được màu vàng bền và đẹp trong thời gian dài mà còn tăng mùi vị đặc trưng cho rượu vang. Quá trình làm trong có thể đạt được hiệu quả cao với nồng độ enzyme pectinase sử dụng 0,1 - 0,2%.

1. Đặt Vấn Đề

Chùm ruột (*Phyllanthus acidus* (L.) SKEELS) thuộc họ Phyllanthaceae (Diệp hạ châu) là loại cây nhiệt đới và cận nhiệt đới có nguồn gốc từ Madagascar (đảo quốc ở Ấn Độ Dương) (Morton & ctv., 1987). Hầu hết các bộ phận của cây bao gồm lá, trái, thân cây đều có những hợp chất quý và góp phần trong việc điều trị bệnh cũng như cải thiện sức khỏe con người. Trái chùm ruột có vị chua, tính mát có chứa nhiều thành phần dinh dưỡng như chất xơ, kali, sắt, vitamin C (Mirunalini & Krishnaveni, 2010).

Ở Việt Nam, cây chùm ruột trồng phổ biến ở miền Nam, cho trái vào tháng Giêng và có thể cho những đợt trái khác (ít rõ hơn) trong năm. Tuy nhiên giá trị kinh tế của trái chùm ruột không cao và các sản phẩm từ trái chùm ruột còn khá ít nên dẫn đến việc lãng phí nguồn nguyên liệu giàu dinh dưỡng này. Và với thị hiếu tiêu dùng

ngày càng cao, sản xuất rượu vang cũng là hoạt động thỏa mãn nhu cầu sử dụng của xã hội. Mùi và vị của rượu vang chùm ruột khá đặc trưng tuy nhiên rượu thường có trạng thái mờ đục sau lên men, màu sắc tự nhiên của rượu vẫn còn bị biến đổi và chất lượng rượu chưa đạt hiệu quả tốt nhất. Vì vậy, nghiên cứu này để tìm ra những điều kiện ảnh hưởng đến quá trình lên men rượu vang chùm ruột và nâng cao chất lượng rượu vang thông qua việc chọn lựa các biện pháp và tác nhân làm trong, ổn định màu sắc sản phẩm trong thời gian dài.

2. Vật Liệu và Phương Pháp Nghiên Cứu

2.1. Vật liệu

Mẫu trái chùm ruột được thu hái tại các địa điểm ở Cần Thơ. Sau đó, được đóng gói, bảo quản trong từng bao PE (polyetylen) riêng biệt đem trữ lạnh trong các thùng, hộp chứa mẫu, tránh

ánh sáng mặt trời trực tiếp, vận chuyển ngay đến phòng thí nghiệm để giảm thiểu tối đa sự thay đổi tính chất, trạng thái ban đầu.

Nguồn giống nấm men: sử dụng dòng nấm men *Saccharomyces cerevisiae* 2.1 được lưu giữ ở 4°C tại Viện Nghiên cứu và Phát triển Công nghệ Sinh học, Trường Đại học Cần Thơ.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Sự ảnh hưởng của nồng độ chất khô hòa tan, pH và mật độ nấm men đến quá trình lên men rượu vang chùm ruột

Nghiên cứu nhằm mục tiêu xác định sự ảnh hưởng của các nhân tố nồng độ chất khô hòa tan, pH và mật độ nấm men (MĐNM) của dịch quả ban đầu đến quá trình lên men rượu vang chùm ruột. Từ đó chọn ra giá trị tối ưu của từng thông số để quá trình lên men đạt hiệu quả và chất lượng cao. Thí nghiệm được bố trí gồm 3 nhân tố theo thể thức Box-Behnken của phần mềm Design Expert 7.0. Nhân tố của thí nghiệm gồm có: nồng độ chất khô hòa tan (min 20, max 30), pH (min 4,5, max 5,5) và mật độ nấm men (tế bào/mL) (min 10^3 , max 10^7). Bố trí thí nghiệm với các thông số được mô tả ở Bảng 1.

Bảng 1. Bố trí thí nghiệm theo thể thức Box-Behnken của phần mềm Design Expert 7.0

Số thí nghiệm	Brix (%)	pH	Mật độ nấm men (Tb/mL)
1	20	4,5	10^3
2	20	5,5	10^3
3	20	4,5	10^7
4	20	5,5	10^7
5	20	5	5×10^6
6	25	4,5	5×10^6
7	25	5,5	5×10^6
8	25	5	10^3
9	25	5	10^7
10	25	5	5×10^6
11	30	4,5	10^3
12	30	5,5	10^3
13	30	4,5	10^7
14	30	5,5	10^7
15	30	5	5×10^6

Chuẩn bị dịch nấm men: nấm men sẽ được cấy chuyển sang đĩa Petri có chứa môi trường YPDA. Sau 48 giờ chuyển sang nuôi tăng sinh trong môi trường YPD và đặt trên máy lắc ở nhiệt độ phòng. Sau 24 giờ kiểm tra mật độ tế

bào nấm men bằng phương pháp đếm trực tiếp bằng buồng đếm hồng cầu để có mật độ nấm men là 10^3 tế bào/mL, 5×10^6 tế bào/mL, 10^7 tế bào/mL. Trái chùm ruột được ép để lấy nước và thanh trùng bằng NaHSO_3 (140 mg/L) trong 2 giờ để tiêu diệt vi sinh vật được vi sinh vật tạp nhiễm. Trước khi lên men cần tiến hành thanh trùng bằng NaHSO_3 nhằm mục đích tiêu diệt vi sinh vật có hại, nấm mốc, nấm men dại, chống oxy hoá nước quả. Bổ sung NaHSO_3 , khuấy đều và để yên trong 2 giờ để NaHSO_3 bay hơi đi hết. Tiếp theo là điều chỉnh các thông số về độ Brix (20, 25, 30) bằng cách bổ sung đường saccharose, pH (4,5; 5,0; 5,5) của mỗi dịch phối chế. Sau đó, cho 1 mL dịch nấm men ở các mật số khác nhau vào 99 mL mỗi dịch phối chế đã chuẩn bị sẵn trong bình tam giác, lắc đều bình tam giác để tế bào nấm men phân bố đều trong dịch trái chùm ruột và ủ ở nhiệt độ phòng. Sau thời gian 14 ngày, tiến hành chưng cất để thu cồn, độ cồn thu hồi được xác định bằng cồn kế. Các chỉ tiêu theo dõi và đánh giá bao gồm pH, nồng độ chất khô hòa tan, và nồng độ ethanol.

2.2.2. Khảo sát ảnh hưởng curqua acid citric và acid ascorbic đến khả năng bảo vệ màu sắc của rượu vang chùm ruột sau lên men

Nghiên cứu nhằm mục tiêu xác định sự ảnh hưởng của acid citric và acid ascorbic ở các nồng độ và thời gian xử lý khác nhau đến sự thay đổi màu sắc của rượu vang chùm ruột. Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên:

- Acid citric: gồm có 4 mức độ (0; 0,1; 0,2; 0,3%) với 3 lần lặp lại
- Acid ascorbic: gồm có 4 mức độ (0; 0,1; 0,2; 0,3%) với 3 lần lặp lại

Chỉ tiêu theo dõi: Màu sắc sản phẩm (đo độ hấp thụ A ở bước sóng 450 nm) và đánh giá cảm quan sản phẩm.

2.2.3. Khảo sát ảnh hưởng của enzyme pectinase đến khả năng làm trong rượu vang chùm ruột

Nghiên cứu nhằm mục tiêu xác định sự ảnh hưởng của nồng độ của enzyme pectinase thích hợp nhất cho quá trình làm trong rượu vang chùm ruột. Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên 1 yếu tố gồm 6 mức độ là 0; 0,1; 0,2; 0,3; 0,4; 0,5% với 3 lần lặp lại. Sau khi lọc thu được rượu thành phẩm sẽ cho vào mỗi bình chứa 100 mL rượu. Sau đó, tiến hành bổ sung enzyme pectinase. Chỉ tiêu theo dõi: Độ trong sản phẩm (đo

độ truyền quang T ở bước sóng 450 nm) tại các thời điểm 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 ngày và đánh giá cảm quan sản phẩm.

2.3. Các phương pháp phân tích

Các chỉ tiêu phân tích: xác định pH bằng pH kế (Schott, Đức), xác định nồng độ chất khô hòa tan bằng khúc xạ kế.

Xác định hàm lượng ethanol sinh ra qua hệ thống chưng cất và hiệu chỉnh về 20°C (Nguyen & Nguyen, 2007).

2.4. Xử lý số liệu

Số liệu được thu thập, xử lý và vẽ biểu đồ bằng phần mềm Microsoft excel 2013. Số liệu thu thập được xử lý thống kê bằng phần mềm IBM SPSS Statistics 20.

3. Kết Quả và Thảo Luận

3.1. Sự ảnh hưởng của nồng độ chất khô hòa tan, pH và mật độ nấm men đến quá trình lên men rượu vang chùm ruột

Kết quả khảo sát các nhân tố nồng độ chất khô hòa tan, pH và mật độ nấm men ban đầu đến quá trình lên men rượu vang chùm ruột được thể hiện ở Bảng 2.

Kết quả cho thấy nghiệm thức 9 và 10 cho hàm lượng ethanol cao nhất với độ cồn trung bình ở 20°C lần lượt là 8,08% v/v, 8,75% v/v khác biệt không có ý nghĩa về mặt thống kê với nghiệm thức 6 có độ cồn trung bình ở 20°C là 7,86% v/v nhưng khác biệt có ý nghĩa thống kê với độ tin cậy 95% so với các nghiệm thức còn lại. Để xác định điều kiện lên men tối ưu từ các thông số pH, nồng độ chất khô hòa tan và mật độ nấm men, độ cồn sau lên men được phân tích bằng chương trình Design Expert 7.0 với độ tin cậy 95%, thu được phương trình hồi quy như sau:

$$\begin{aligned} \text{Ethanol} = & -206,29 + 5,90 \cdot \text{Brix} + 59,40 \cdot \text{pH} \\ & - 1,09259E - 006 \cdot \text{MSNM} - 0,10 \cdot \text{Brix} \cdot \text{pH} + \\ & 1,33180E - 008 \cdot \text{Brix} \cdot \text{MSNM} + 2,78861E - \\ & 007 \cdot \text{pH} \cdot \text{MSNM} - 0,11 \cdot \text{Brix}^2 - 6,08 \cdot \text{pH}^2 + \\ & 0,00 \cdot \text{MSNM}^2 \quad (1) \end{aligned}$$

Tuy nhiên, việc lựa chọn điều kiện lên men phù hợp với dòng nấm men *Saccharomyces cerevisiae* sao cho độ cồn thu hồi đạt giá trị cao nhất cần căn

cứ vào 30 nghiệm thức tối ưu mà phần mềm Design Expert 7.0 đưa ra kết hợp với phương trình (1). Lựa chọn ra 3 nghiệm thức cho nồng độ cồn cao nhất trong 30 nghiệm thức, tiến hành lên men thực tế để so sánh với độ cồn lý thuyết mà phần mềm đưa ra (Bảng 3).

Bảng 3 cho thấy độ cồn thực tế thu được tương đương với độ cồn theo thuật toán đưa ra từ phần mềm Design Expert 7.0. Điều này chứng tỏ sự tính toán mô hình và thực nghiệm tương đối thống nhất với độ tin cậy là 95%. Độ cồn thực tế của nghiệm thức 1 đạt cao nhất là 8,88% v/v khác biệt không có ý nghĩa với nghiệm thức 2 có độ cồn là 8,63% v/v nhưng khác biệt có ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức 3. Tuy nhiên, nghiệm thức 1 với pH = 4,77, nồng độ chất khô hòa tan = 24,79 và mật độ nấm men = $8,08 \times 10^6$ được lựa chọn là nghiệm thức tối ưu vì cho độ cồn thực tế cao nhất và đạt giá trị pH sau lên men thấp có thể giúp kéo dài thời gian bảo quản sản phẩm.

Theo Jackisch (1985), khả năng cho hàm lượng rượu khác nhau từ quá trình lên men có thể thay đổi theo nguồn nguyên liệu lên men, dòng nấm men và môi trường lên men. Với điều kiện tối ưu cho lên men rượu vang chùm ruột với pH = 4,77 và nồng độ chất khô hòa tan = 24,79 đều cao hơn khi so sánh với các nghiên cứu của Huỳnh & ctv. (2020) trên dịch trái trám (pH 4,22; nồng độ chất khô hòa tan = 24,6) hay trên rượu vang chùm ruột sử dụng bánh men khô *Saccharomyces cerevisiae* của Phạm & ctv. (2017) (pH 3,4; nồng độ chất khô hòa tan = 20).

3.2. Ảnh hưởng của acid citric và acid ascorbic đến khả năng bảo vệ màu sắc rượu vang chùm ruột

3.2.1. Acid citric

Acid citric được sử dụng ở các nồng độ khác nhau có ảnh hưởng đến sự thay đổi màu sắc của sản phẩm được thể hiện ở Hình 1. Kết quả cho thấy khi sử dụng acid citric trong quá trình bảo quản sản phẩm, độ hấp thụ có xu hướng cao hơn so với mẫu đối chứng và có sự khác biệt màu sắc. Ở thời điểm từ 3 đến 21 ngày, màu vàng ban đầu của rượu chùm ruột gần như mất hoàn toàn và có xu hướng chuyển sang màu nâu đỏ. Sau 28 ngày thì màu nâu đỏ giảm dần đi nhưng không trở lại hoàn toàn màu sắc ban đầu của rượu.

Theo Bonnie & Choo (1999), hiện tượng tự oxy hóa của carotenoid tuân theo con đường sinh ra

Bảng 2. Giá trị pH, độ Brix và độ cồn trung bình sau lên men

Nghiem thức	Nồng độ chất khô hòa tan - pH - MDNM	Nồng độ chất khô hòa tan sau	pH sau	Nồng độ Ethanol (% v/v)
1	20 - 4,5 - 10^3	7,83 ^{ab}	4,40	3,96 ^{de}
2	20 - 5,5 - 10^3	16,17 ^g	5,36	0,53 ^f
3	20 - 4,5 - 10^7	9,17 ^{bcd}	4,45	3,97 ^{de}
4	20 - 5,5 - 10^7	8,83 ^{abc}	5,12	3,32 ^e
5	20 - 5,0 - 5×10^6	7,67 ^a	4,59	4,96 ^{bcd}
6	25 - 4,5 - 5×10^6	10,67 ^e	4,38	7,86 ^a
7	25 - 5,5 - 5×10^6	14,83 ^g	5,33	5,40 ^{bc}
8	25 - 5,0 - 10^3	13,33 ^f	4,72	6,07 ^b
9	25 - 5,0 - 10^7	9,83 ^{cde}	4,65	8,09 ^a
10	25 - 5,0 - 5×10^6	10,33 ^{de}	4,54	8,86 ^a
11	30 - 4,5 - 10^3	18,67 ^h	4,24	4,65 ^{cd}
12	30 - 5,5 - 10^3	27,33 ⁱ	5,38	0,23 ^f
13	30 - 4,5 - 10^7	19,17 ^h	4,31	5,98 ^b
14	30 - 5,5 - 10^7	19,17 ^h	5,29	4,32 ^{cde}
15	30 - 5,0 - 5×10^6	18,17 ^h	4,50	5,97 ^b

Số liệu là trung bình của 3 lần lặp lại. Trong cùng một cột các số có mang số mũ giống nhau thì khác biệt không ý nghĩa thống kê ở mức 5% ($P < 0,05$)

MDNM: mật độ nấm men.

Bảng 3. So sánh độ cồn thực tế và độ cồn lý thuyết từ phần mềm Design Expert 7.0

Nghiem thức	pH - Nồng độ chất khô hòa tan - MDNM	pH	Nồng độ chất khô hòa tan	Độ cồn thực tế (% v/v)	Độ cồn lý thuyết (% v/v)
1	4,77 - 24,79 - $8,08 \times 10^6$	3,97	10,33 ^a	8,88 ^a	8,88
2	4,90 - 26,53 - $5,68 \times 10^6$	4,06	11,17 ^a	8,63 ^a	8,75
3	4,91 - 26,03 - $4,57 \times 10^6$	4,09	13,33 ^b	8,40 ^b	8,60

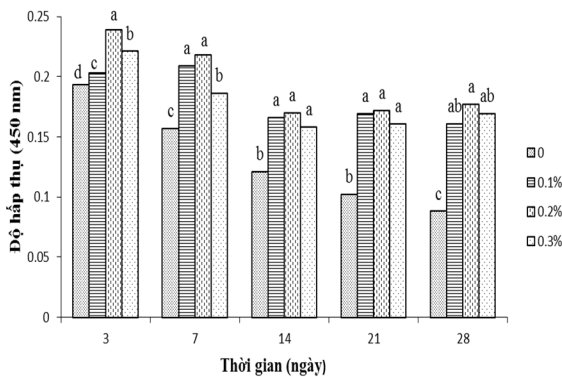
Số liệu là trung bình của 3 lần lặp lại. Trong cùng một cột các số có mang số mũ giống nhau thì khác biệt không ý nghĩa thống kê ở mức 5% ($P < 0,05$)

MDNM: mật độ nấm men.

Bảng 4. Bảng đánh giá cảm quan rượu vang chùm ruột

Chỉ tiêu	Kết quả đánh giá cảm quan rượu vang chùm ruột		Yêu cầu rượu vang (TCVN 3217-79)
	Điểm trung bình	Nhận xét chung	
Độ trong và màu sắc	4,8	Chất lỏng trong, không vẩn đục. Màu đặc trưng cho sản phẩm	Chất lỏng trong suốt, không vẩn đục và vật thể lạ. Màu hoàn toàn đặc trưng cho sản phẩm
Mùi	4,5	Hòa hợp thơm dịu đặc trưng cho sản phẩm	Hòa hợp, thơm dịu, hoàn toàn đặc trưng cho sản phẩm
Vị	4,2	Hòa hợp, hậu ngọt vừa phải, không có vị lạ, hoàn toàn đặc trưng	Hòa hợp, êm dịu, hậu tốt, hoàn toàn đặc trưng cho sản phẩm
Yêu thích đối với mẫu thử	4,5	Thích vừa phải	Rất thích

gốc tự do. Carotenoid dễ bị oxy hóa do các nối đôi trong phân tử nhạy cảm với tia cực tím. Sự oxy hóa làm mất màu carotenoid là quan trọng trong thực phẩm. Các lý thuyết về gốc tự do cho thấy quá trình sinh ra các sản phẩm của sự oxy hóa β -carotene cũng tương tự như quá trình sinh ra các sản phẩm của sự oxy hóa chất béo (Émanuel' & ctv., 1967). Sau khi xảy ra phản ứng tự oxy hóa carotenoid bị suy thoái và tạo ra một số chuỗi ngắn hơn. Chính các chuỗi này ảnh hưởng đến mùi vị và làm sậm màu sản phẩm. Bên cạnh đó, phản ứng oxy hóa nâu trong rượu vang còn do phản ứng ngưng tụ của các hợp chất phenol, o-diphenol. Khi có mặt của oxy thì các phenol bị oxy hóa thành o-quinone. Các o-quinone không bền có thể trải qua nhiều phản ứng và dẫn đến hình thành sắc tố màu nâu (Robards & ctv., 1999). Ngoài ra, o-diphenol dễ bị oxy hóa bởi phi-enzyme dưới tác dụng của ánh sáng hình thành màu nâu (Lopez-Toledano & ctv., 2002).

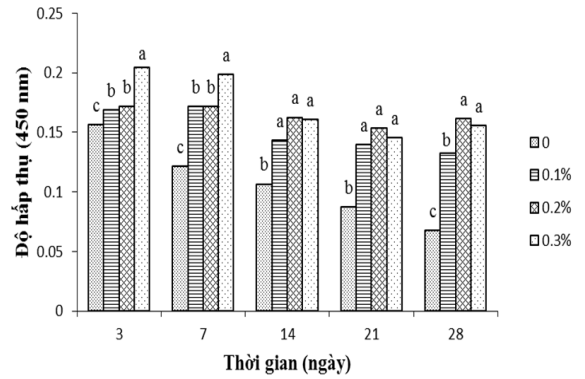


Hình 1. Ảnh hưởng của acid citric đến sự thay đổi độ hấp thụ theo thời gian.

3.2.2. Acid ascorbic

Ảnh hưởng của acid ascorbic ở các nồng độ sử dụng khác nhau đến sự thay đổi màu sắc của sản phẩm được thể hiện ở Hình 2.

Kết quả cho thấy khi sử dụng acid ascorbic trong quá trình bảo quản sản phẩm, độ hấp thụ có xu hướng cao hơn so với mẫu đối chứng. Màu vàng tự nhiên của rượu chùm ruột không bị biến đổi theo thời gian bảo quản. Sau 28 ngày, màu của sản phẩm rượu dần chuyển sang màu vàng sáng, có thể quan sát thấy rõ từ những mẫu theo dõi. Nồng độ ascorbic sử dụng 0,3% là tốt nhất, tạo cho sản phẩm có vị chua thanh và màu sắc chuyển sang màu vàng sáng và độ trong nhất định.



Hình 2. Ảnh hưởng của acid ascorbic đến sự thay đổi độ hấp thụ theo thời gian.

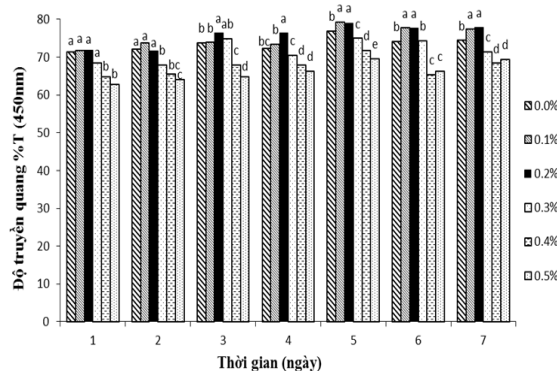
Hoạt động của acid ascorbic là hỗ trợ chống oxy hóa. Chất hỗ trợ chống oxy hóa tạo môi trường acid ổn định, loại bỏ hoạt tính của các ion kim loại phức hồi chất chống oxy hóa. Sản phẩm rượu chùm ruột có màu vàng sáng đẹp chính là do các carotenoid nhận H^+ từ acid và làm giảm số liên kết đôi trong phân tử. Acid nhường H^+ cho carotenoid nhằm mục đích không tạo ra phản ứng khởi động quá trình tự oxy hóa carotenoid. Với nồng độ 0,3% sử dụng trong bảo quản màu rượu vang chùm ruột cao hơn so với nghiên cứu của Nguyen & ctv. (2011) với nồng độ 0,0025% bảo vệ màu rượu vang khóm, cho thấy nồng độ thay đổi tùy thuộc vào nguồn nguyên liệu lên men.

Khi so sánh khả năng bảo vệ màu sắc của hai tác chất ở các mức nồng độ như nhau, kết quả cho thấy rằng acid ascorbic chiếm ưu thế hơn so với acid citric. Màu vàng tự nhiên của rượu vang chùm ruột có bổ sung acid ascorbic được giữ nguyên và chuyển sang màu vàng sáng hơn sau 28 ngày. Mặc dù acid citric làm giảm màu nâu đỏ ở rượu vang so với mẫu đối chứng nhưng vẫn không giữ được màu sắc ban đầu và mùi vị đặc trưng của rượu.

3.3. Ảnh hưởng của enzyme pectinase đến khả năng làm trong sản phẩm rượu vang chùm ruột

Trong rượu vang pectin chiếm lượng đáng kể thường gây độ nhớt cao và gây đục, nguyên nhân thứ hai gây đục rượu vang nữa là lượng protein có trong rượu. Do đó enzyme pectinase sẽ thủy phân pectin và protein làm chuyển hóa các chất này, ngăn chặn được hiện tượng đục trong rượu vang. Sự khác biệt về độ trong của rượu khi được thủy phân ở các nồng độ enzyme (0 - 0,5%) theo

thời gian được cho ở (Hình 3).



Hình 3. Ảnh hưởng của enzyme pectinase đến khả năng làm trong sản phẩm rượu vang chùm ruột.

Kết quả cho thấy, khi sử dụng enzyme pectinase để làm trong rượu thì tổng thời gian làm rượu trong hoàn toàn chỉ mất một tuần, trong khi sử dụng các tác nhân khác để làm trong như gelatin, agar, chitisan, lòng trắng trứng,... thì thời gian làm trong có thể kéo dài đến vài tháng (ít nhất là 6 tháng) để hoàn thiện sản phẩm.

Các nồng độ enzyme pectinase được sử dụng đều cho thấy hiệu quả làm trong của enzyme này cao hơn so với mẫu đối chứng. Tuy nhiên, sau 4 ngày xử lý thì các nồng độ có sự tăng giảm nhiều, độ trong của rượu vang không được thể hiện rõ. Đến ngày thứ 5 thì độ trong quan sát được rõ, độ truyền quang của sản phẩm khi đo cũng cho giá trị tăng và có sự khác biệt ý nghĩa so với mẫu đối chứng. Đối với các nồng độ enzyme sử dụng ở nồng độ 0,1% và 0,2% có sự khác biệt không nhiều, cho độ truyền quang cao lần lượt 79,25% và 79,06% ở ngày 5, trong khi nồng độ enzyme sử dụng ở 0,4 - 0,5% cho độ truyền quang thấp hơn.

Điều này có thể do phản ứng của enzyme trong điều kiện cố định nhiệt độ và pH, hiệu suất làm trong chỉ đạt hiệu quả khi nồng độ giữa enzyme và nồng độ cơ chất đạt tỉ lệ thích hợp. Khi đạt được tỉ lệ này, nồng độ enzyme tăng thì khả năng làm trong cũng không tăng lên. Sau 5 đến 7 ngày thì khả năng làm trong của enzyme đã thể hiện rất rõ. Độ truyền quang (T) ít phụ thuộc vào nồng độ enzyme sử dụng nhưng phụ thuộc vào thời gian thủy phân ở nhiệt độ thích hợp (40 – 45°C) (Le & ctv., 2004). Vì vậy, với thời gian thủy phân là 5 - 7 ngày thì độ truyền quang của rượu chùm ruột dần ổn định. Nồng độ enzyme 0,1 -

0,2% đã có hiệu quả trong quá trình làm trong rượu vang chùm ruột. Kết quả trên gần như phù hợp với nghiên cứu của Nguyen (2010) với nồng độ enzyme là 0,2 - 0,3% đối với rượu vang sẫm và nồng độ 0,2% cho rượu vang xương rồng rai (Dinh, 2014).



Hình 4. Sản phẩm rượu vang chùm ruột.

3.4. Đánh giá cảm quan rượu vang chùm ruột

Tiến hành đánh giá cảm quan rượu vang chùm ruột theo tiêu chuẩn TCVN 3217-79 với 10 cảm quan viên. Kết quả đánh giá cảm quan được trình bày ở Bảng 4.

4. Kết Luận

Với các điều kiện lên men tối ưu là pH 4,77, nồng độ chất khô hòa tan 24,79 và mật độ nấm men $8,08 \times 10^6$ tế bào/mL, dịch lên men trái chùm ruột sẽ đạt độ cồn cao nhất 8,88% v/v sau 14 ngày lên men. Trong hai chất được sử dụng cho quá trình duy trì màu vàng bền đẹp của sản phẩm rượu vang chùm ruột acid ascorbic ở nồng độ 0,3% tỏ ra ưu thế hơn trong 28 ngày theo dõi. Sản phẩm rượu vang thu được có màu vàng nâu sáng, có độ trong và vị chất thanh đặc trưng. Enzyme pectinase có thể được xem là tác nhân sinh học có hiệu quả trong quá trình làm trong rượu vang chùm ruột với hàm lượng sử dụng rất thấp (0,1 - 0,2%). Với hàm lượng enzyme thấp nhưng giúp cho rượu vang chùm ruột có độ trong tốt, ít bị lắng trong thời gian tồn trữ, giữ được mùi vị đặc trưng của sản phẩm.

Lời Cam Đoan

Chúng tôi cam đoan bài báo do nhóm tác giả thực hiện và không có bất kỳ mâu thuẫn nào giữa

các tác giả.

Tài Liệu Tham Khảo (References)

- Bonnie, T. Y. P., & Choo, Y. M. (1999). Oxidation and thermal degradation of carotenoids. *Journal of Oil Palm Research* 11(1), 62-78.
- Dinh, D. H. (2014). Research production the wine from the fermentation the fruits of cactus thorn in Binh Thuan province. *Journal of Science, Technology and Food* 4, 68-77.
- Emanuel, N. M., Denisov, E. T., & Mazius, Z. K. (1967). *Liquid-phase oxidation of hydrocarbons*. New York, USA: Plenum Press. <https://doi.org/10.1002/anie.196900971>.
- Huynh, T. N. T., Dao, T. T., Nguyen, T. T. M., Van, H. T. H., Duong, T. T. M., & Nguyen, D. D. (2020). Determination of fermentation conditions and antioxidant activity of *Syzygium cumini* L. fermented juice. *Can Tho University Journal of Science* 56, 72-79. <https://doi.org/10.22144/ctu.jsi.2020.114>.
- Le, T. N., Le, C. V., Dang, T. T., Nguyen, T. T., Bui, L. D., & Le, D. D. (2004). *Industrial biochemistry*. Ha Noi, Vietnam: Ha Noi Scientific and Technical Publishing.
- Lopez-Toledano, A., Mayen, M., Merida, J., & Medina, M. (2002). Yeast-induced inhibition of (+)-catechin and (-)-epicatechin degradation in model solutions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50(6), 1631-1635. <https://doi.org/10.1021/jf0109930>.
- Mirunalini, S., & Krishnaveni, M. (2010). Therapeutic potential of *Phyllanthus emblica* (amla): the ayurvedic wonder. *Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology* 21(1), 93-105. <https://doi.org/10.1515/JBCPP.2010.21.1.93>.
- Morton, J., Morton, J. F., & Miami, F. L. (1987). Otaheite gooseberry. In Morton, J. F., & Dowling, C. F. (Eds.). *Julia fruits of warm climates* (1st ed., 217-219). North Carolina, USA: Creative Resources Systems.
- Nguyen, T. D., & Nguyen, H. T. (2007). *Ethyl alcohol production and testing technology*. Ha Noi, Vietnam: Ha Noi Scientific and Technical Publishing.
- Nguyen, T. M. (2010). Stability and improvement of wine "sim" quality through chemical and biological method. *Can Tho University Journal of Science* 14, 195-204.
- Nguyen, T. M., Nguyen, C. P., Nguyen, T. T. M., & Nguyen, P. H. (2011). Clarification and stabilization of pineapple wine. *Can Tho University Journal of Science* 18b, 73-82.
- Pham, H. T. C., Nguyen, H. P. K., Nguyen, T. B., & Nguyen, N. T. T. (2017). *The effect of several conditions on the wine fermentation from star gooseberry (Phyllanthus acidus)* (Unpublished master's thesis). Ho Chi Minh City University of Food Industry, Ho Chi Minh City, Vietnam.
- Robards, K., Prenzler, P. D., Tucker, G., Swatsitang, P., & Glover, W. (1999). Phenolic compounds and their role in oxidative processes in fruits. *Food Chemistry* 66(4), 401-436. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(99\)00093-X](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(99)00093-X).

Evaluation of combining ability and heterosis of six bitter gourd (*Momordica charantia* L.) self-pollinated lines at S₅ generation

Nien C. Nguyen*, Duyen T. T. Nguyen, & Gam H. Pham

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

ARTICLE INFO

Research Paper

Received: September 25, 2021

Revised: December 12, 2021

Accepted: December 15, 2021

Keywords

Bitter gourd (*Momordica charantia* L.)

Combining ability

Crosses

Heterosis

Self-pollinated lines

*Corresponding author

Nguyen Chau Nien

Email:

nien.nguyen@hcmuaf.edu.vn

ABSTRACT

Research and production of hybrid seed for bitter gourd are still limited in Vietnam. It is difficult for creating inbred lines and determining combining ability and heterosis crosses because hybrid seed production is highly time-consuming. The objective of this study was to determine bitter gourd inbred lines with high combining ability and heterosis. The single factor experiment was laid out in a randomized complete block design (RCBD). There were 22 treatments including six bitter gourd inbred lines at S₅ generation, 15 single crosses and Vito Galatico - S2 variety (control) with three replications each. The results indicated that seven crosses named D9 × D8, A2 × D8, A3 × D8, A2 × D9, A4 × A2, A1 × A2 and A1 × A4 were similar to or higher than the control in the analysed parameters such as fruit size, fruit weight and harvested yield. The D9 and D8 lines were identified in hybrid superiority used for male or female parent with high heterosis. The A1 and A2 lines were found appropriate in male and female parents, respectively. The A1 × A2 cross showed good value of specific combining ability for total fruits per plant and harvested yield. Moreover, the values of heterosis for fruit length, total fruits and harvested yield were higher than 10 percent.

Cited as: Nguyen, N. C., Nguyen, D. T. T., & Pham, G. H. (2022). Evaluation of combining ability and heterosis of six bitter gourd (*Momordica charantia* L.) self-pollinated lines at S₅ generation. *The Journal of Agriculture and Development* 21(1), 48-57.

Đánh giá khả năng kết hợp và ưu thế lai của sáu dòng khổ qua (*Momordica charantia* L.) tự phối đời S₅

Nguyễn Châu Niên*, Nguyễn Thị Thanh Duyên & Phạm Hồng Gấm

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

THÔNG TIN BÀI BÁO

Bài báo khoa học

Ngày nhận: 25/09/2021
Ngày chỉnh sửa: 12/12/2021
Ngày chấp nhận: 15/12/2021

Từ khóa

Dòng tự phối
Khả năng kết hợp
Khổ qua (*Momordica charantia* L.)
Ưu thế lai
Tổ hợp lai

*Tác giả liên hệ

Nguyễn Châu Niên
Email:
nien.nguyen@hcmuaf.edu.vn

TÓM TẮT

Công tác nghiên cứu và sản xuất hạt giống khổ qua lai chưa được chú trọng tại Việt Nam. Nguyên nhân là do sản xuất hạt giống lai cần nhiều thời gian và thường gặp khó khăn trong việc tạo dòng tự phối, xác định khả năng kết hợp và ưu thế lai giữa các dòng. Nghiên cứu được thực hiện từ tháng 08 đến tháng 10 năm 2020 tại Thủ Đức, TP.HCM với mục tiêu xác định các dòng khổ qua tự phối có khả năng kết hợp và ưu thế lai cao. Thí nghiệm đơn yếu tố, được bố trí theo kiểu khối đầy đủ ngẫu nhiên gồm 22 nghiệm thức trong đó gồm sáu dòng khổ qua tự phối đời S₅, 15 tổ hợp lai đơn và giống Vino Galatico - S2 (đối chứng), với 3 lần lặp lại. Kết quả cho thấy bảy tổ hợp lai gồm D9 × D8, A2 × D8, A3 × D8, A2 × D9, A4 × A2, A1 × A2 và A1 × A4 có các chỉ tiêu kích thước quả, trọng lượng quả và năng suất thực thu tương đương hoặc cao hơn giống đối chứng. Dòng D8 và D9 có ưu thế lai cao, có thể sử dụng làm bố hoặc, trong khi dòng A1 phù hợp làm bố và dòng A2 làm mẹ. Tổ hợp lai A1 × A2 cho khả năng kết hợp riêng cao ở chỉ tiêu tổng số quả/cây và năng suất thực thu, đồng thời ưu thế lai ở chỉ tiêu chiều dài quả, tổng số quả và năng suất thực thu cao hơn 10%.

1. Đặt Vấn Đề

Khổ qua (*Momordica charantia* L.) thuộc họ bầu bí Cucurbitaceae, là loại rau có giá trị dinh dưỡng cao trong nhóm cây rau ăn quả. Quả khổ qua chứa nhiều vitamin và khoáng chất, đặc biệt có hàm lượng acid ascorbic và hàm lượng sắt cao (Behera & ctv., 2009). Theo y học cổ truyền, hầu hết các bộ phận của cây khổ qua đều có tác dụng làm thuốc chữa bệnh (Pham, 1999; Vo, 2012).

Hơn 60% hạt giống khổ qua đang sử dụng trong gieo trồng hiện nay là giống thụ phấn tự do và dưới 40% giống lai F₁ được nhập nội hoặc lai tạo trong nước (Nguyen, 2016). Giống địa phương có khả năng thích nghi cao, chống chịu sâu bệnh tốt nhưng thường cho năng suất thấp. Ngược lại, giống lai F₁ được nhập nội từ các công ty giống nước ngoài hoặc lai tạo trong nước là các giống có năng suất cao, nhưng giá thành cao làm tăng

chi phí cho người sản xuất (Tran, 2018). Vì vậy, công tác nghiên cứu chọn tạo giống khổ qua lai F₁ đáp ứng nhu cầu sản xuất là rất cần thiết.

Tại Việt Nam, giống khổ qua địa phương khá phong phú và đa dạng, đây là nguồn vật liệu khởi đầu có giá trị cho các chương trình chọn tạo giống khổ qua, đặc biệt là các giống ưu thế lai F₁. Nhờ đó, công tác thu thập và tạo dòng thuần từ nguồn gen ban đầu sẽ thuận lợi. Tuy nhiên, để tìm ra tổ hợp lai tốt nhất từ các dòng thuần là công việc phức tạp, xác suất thành công thấp và độ biến động cao tùy thuộc vào sự tương tác giữa các dòng làm vật liệu lai tạo (Lamkey & Edwards, 1998). Có thể nâng cao hiệu quả của quá trình tìm kiếm tổ hợp lai tốt bằng cách sử dụng những dòng bố mẹ có khả năng kết hợp và ưu thế lai cao từ vật liệu ban đầu, đây là giai đoạn quan trọng và rất cần thiết cho quá trình tạo giống ưu thế lai (Ngo & Nguyen, 1996). Vì vậy nghiên cứu

này tiến hành đánh giá khả năng kết hợp và ưu thế lai của sáu dòng khổ qua tự phối đời S_5 nhằm xác định các dòng làm bố, mẹ phù hợp trong sản xuất giống khổ qua ưu thế lai phục vụ sản xuất.

2. Vật Liệu và Phương Pháp Nghiên Cứu

2.1. Vật liệu

Sử dụng sáu dòng khổ qua tự phối đời S_5 (được phát triển từ các giống địa phương thu thập tại các tỉnh phía Nam) và giống Vино Galatico - S2 (làm đối chứng (ĐC) trong thí nghiệm đánh giá ưu thế lai của các tổ hợp lai từ sáu dòng khổ qua tự phối) với các đặc điểm nông học cơ bản được trình bày ở Bảng 1.

Áp dụng phương pháp luân giao một nửa giữa 6 dòng khổ qua theo công thức $p(p-1)/2$ (trong đó p là số dòng tự phối) để tạo 15 tổ hợp lai (THL) đơn gồm: D9 × D8, A2 × D8, A4 × D8, A1 × D8, A3 × D8, A2 × D9, A4 × D9, A1 × D9, A3 × D9, A4 × A2, A1 × A2, A3 × A2, A1 × A4, A3 × A4 và A3 × A1 (trong đó dòng đứng trước là dòng mẹ).

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Nghiên cứu được thực hiện trong vụ Thu từ tháng 08 đến tháng 10 năm 2020 tại Trại thực nghiệm Khoa Nông học, Trường Đại học Nông Lâm TP.HCM.

Thí nghiệm một yếu tố gồm 22 nghiệm thức (6 dòng bố mẹ, 15 THL và giống Vино Galatico - S2 (ĐC)) được bố trí theo kiểu khối đầy đủ ngẫu nhiên với 3 lần lặp lại. Mỗi ô cơ sở trồng 3 hàng (10 cây/hàng, diện tích ô 22 m²) với khoảng cách cây cách cây 0,5 m, hàng cách hàng 1,5 m. Chọn ngẫu nhiên 5 cây ở hàng giữa của mỗi ô cơ sở để theo dõi và thu thập các chỉ tiêu sinh trưởng phát triển, các yếu tố cấu thành năng suất, năng suất và hình thái quả dựa trên QCVN 01-153 (MARD, 2014) và UPOV (2007). Đối với 6 dòng tự thụ, theo dõi chỉ tiêu các yếu tố cấu thành năng suất và năng suất để tính khả năng kết hợp (KNKH) và ưu thế lai. Công thức phân bón (tính trên 1000 m²): 1,5 m³ phân chuồng, 50 kg vôi, 17,5 kg N; 18,2 kg P₂O₅ và 16,4 kg K₂O. Phun thuốc phòng trừ sâu và bệnh hại định kỳ và bao trái ngay sau khi hoa cái đã thụ phấn để phòng ruồi đục quả.

Số liệu thu thập được phân tích phương sai (ANOVA) và trắc nghiệm phân hạng LSD trên phần mềm R phiên bản 3.5.2. Sử dụng ứng dụng

Bảng 1. Đặc điểm nông học của sáu dòng khổ qua tự phối đời S_5 và giống Vино Galatico - S2

Tên dòng/giống	Đặc điểm nông học
A1	Sinh trưởng khoẻ, ra hoa cái đầu tiên khoảng 32 ngày sau gieo. Trái cứng, gai trái nhỏ, màu trắng, năng suất 0,9 kg/cây
A2	Sinh trưởng khoẻ, ra hoa cái đầu tiên khoảng 34 ngày sau gieo. Độ cứng trái trung bình, trái màu xanh đậm, năng suất 0,8 kg/cây
A3	Sinh trưởng khoẻ, ít nhiễm bệnh, ra hoa cái đầu tiên khoảng 35 ngày sau gieo. Trái thẳng, cứng, màu xanh nhạt, năng suất 1,0 kg/cây
A4	Sinh trưởng khoẻ, ít nhiễm bệnh, ra hoa cái đầu tiên khoảng 35 ngày sau gieo. Trái thẳng, độ cứng trái trung bình, màu trắng, năng suất 1,0 kg/cây
D8	Sinh trưởng khoẻ, ra hoa cái đầu tiên khoảng 38 ngày sau gieo. Trái hơi cong, gai trái xù, cứng, màu xanh đậm, năng suất 1,3 kg/cây
D9	Sinh trưởng khoẻ, ít nhiễm bệnh, ra hoa cái đầu tiên khoảng 39 ngày sau gieo. Độ cứng trái trung bình, màu xanh nhạt, năng suất 0,9 kg/cây
Vино Galatico - S2	Do công ty Vино chọn tạo và phân phối. Giống sinh trưởng khỏe, ít nhiễm bệnh, ra hoa cái đầu tiên khoảng 35 ngày sau gieo. Độ cứng trái trung bình, màu xanh nhạt, năng suất 1,5 kg/cây

“plantbreeding” để phân tích KNKH của các THL diallel theo phương pháp 4 (Griffing, 1956):

$$x_{ij} = u + g_i + g_j + s_{ij} + \frac{1}{bc} \sum_{k=1}^b \sum_{l=1}^c e_{ijkl} \quad \begin{cases} i, j = 1, \dots, p, \\ k = 1, \dots, b, \\ l = 1, \dots, c, \end{cases}$$

Trong đó: u : giá trị trung bình tính trạng của quần thể; g_i : KNKH chung của dòng i ; g_j : KNKH chung của dòng j ; s_{ij} : KNKH riêng giữa dòng i và j ; e_{ijkl} = sai số quan sát ở cá thể thứ ij ở các lần lặp lại và ô cơ sở; p, b và c lần lượt là dòng bố mẹ, số lần lặp lại và số ô cơ sở.

Theo Phan (2016), giá trị ưu thế lai chuẩn (HS) được tính theo công thức:

$$HS(\%) = \frac{F_1 - S}{S} \times 100$$

Trong đó: F_1 : giá trị tính trạng của con lai F_1 ; S : giá trị tính trạng của giống DC.

3. Kết Quả và Thảo Luận

3.1. Đánh giá KNKH của sáu dòng khổ qua tự phối đời S_5

3.1.1. Các yếu tố cấu thành năng suất và năng suất của sáu dòng khổ qua tự phối đời S_5

Số liệu Bảng 2 cho thấy: Dòng A4 (16,9 cm) có CDQ dài nhất và khác biệt có ý nghĩa với dòng A1 (8,6 cm), A2 (13,2 cm), D8 (14,7 cm) và D9 (10,3 cm). Hai dòng A1 (4,5 cm) và D9 (4,7 cm) có ĐKQ nhỏ và khác biệt có ý nghĩa so với dòng D8 (6,2 cm). TLTB quả của các dòng khổ qua dao động từ 155,1 g - 78,0 g, trong đó dòng A3 (155,1 g) đạt cao nhất và khác biệt rất có nghĩa so với các dòng còn lại, ngoại trừ dòng D8 (128,7g). TSQ cao nhất ở dòng A2 (8,2 quả/cây) và khác biệt có ý nghĩa so với các dòng còn lại, trong đó dòng thất nhất là D9 (4,8 quả/cây). NSLT đạt cao nhất ở dòng A3 (14,2 tấn/ha) và khác biệt có ý nghĩa so với các dòng còn lại. Tương tự, NSTT của dòng A3 cao nhất (12,3 tấn/ha) và khác biệt có ý nghĩa so với các dòng còn lại. Dòng D9 và A1 có NSTT thấp lần lượt là 6,1 tấn/ha và 6,8 tấn/ha, các dòng A4, D8, A2 có năng suất lần lượt là 7,9 tấn/ha và 8,0 tấn/ha, 8,7 tấn/ha, khác biệt không có ý nghĩa thống kê.

3.1.2. Khả năng kết hợp chung của sáu dòng khổ qua tự phối đời S_5

Kết quả phân tích KNKH chung của sáu dòng khổ qua tự phối dựa trên giá trị biểu hiện các tính trạng CDQ, ĐKQ, TSQ và NSTT của 15 THL trình bày ở Bảng 3 cho thấy: dòng tự phối dòng D8 có KNKH chung dương và có ý nghĩa thống kê ở cả 4 tính trạng CDQ, ĐKQ, TSQ và NSTT, ngược lại là dòng D9 với KNKH chung âm ở cả 4 tính trạng. Dòng A1 có KNKH dương có ý nghĩa ở NSTT, ngược lại, dòng A4 có KNKH chung âm có ý nghĩa, KNKH chung ở các tính trạng còn lại không có ý nghĩa. Dòng A2 có KNKH chung dương có ý nghĩa thống kê ở tính trạng CDQ, các tính trạng còn lại đều âm. Tương tự, dòng A3 có KNKH chung dương ở tính trạng TSQ, các tính trạng còn lại đều âm.

Đối với các tính trạng CDQ và ĐKQ, nhà chọn giống cần quan tâm đến cả hai giá trị dương và âm về KNKH của các dòng tự phối nhằm ước lượng kích thước quả của các THL. Trong khi ở tính trạng TSQ và NSTT cần quan tâm đến giá trị dương nhằm tăng năng suất. Ở NSTT, số dòng có KNKH chung dương là 2/6 dòng so với 3/6 dòng ở nghiên cứu của Tran (2017) và 8/13 dòng ở nghiên cứu của Mishra & ctv. (2020). Điều này cho thấy KNKH của các dòng tự phối ở cây khổ qua tùy thuộc vào nguồn vật liệu khởi đầu và số lượng dòng thử và độ thuần của dòng tự phối.

3.1.3. Khả năng kết hợp riêng của sáu dòng khổ qua tự phối đời S_5

Kết quả đánh giá KNKH riêng của sáu dòng khổ qua tự phối đời S_5 được tổng hợp ở Bảng 4 cho thấy: KNKH riêng ở tính trạng CDQ (dao động từ -0,94 - 1,67) và ĐKQ (-0,20 - 0,15) giữa các dòng tự phối không có ý nghĩa. Ngược lại, KNKH riêng ở tính trạng TSQ (dao động từ -2,15 - 2,66) và NSTT (dao động từ -3,73 - 4,03) giữa các dòng tự phối có ý nghĩa thống kê. Ở tính trạng TSQ, 5 THL có KNKH riêng có ý nghĩa thống kê và có giá trị dương gồm D9 $\times$ D8 (1,31), A3 $\times$ D8 (2,30), A2 $\times$ D9 (0,76), A1 $\times$ A2 (2,66) và A3 $\times$ A4 (0,84). Tương tự, ở NSTT, có 5 THL có KNKH riêng có ý nghĩa theo hướng dương gồm D9 $\times$ D8 (1,86), A3 $\times$ D8 (4,03), A4 $\times$ A2 (1,08), A1 $\times$ A2 (2,40) và A1 $\times$ A4 (2,00).

Các dòng khổ qua tự phối có KNKH chung cao không có nghĩa là sự kết hợp giữa chúng sẽ cho ưu thế lai cao, vì vậy cần xét đến KNKH riêng ở từng

Bảng 2. Các yếu tố cấu thành năng suất và năng suất của sáu dòng khổ qua bố mẹ

Tên dòng	CDQ (cm)	ĐKQ (cm)	TLTB quả (g/quả)	TSQ (quả/cây)	NSLT (tấn/ha)	NSTT (tấn/ha)
A1	8,6 ^d	4,5 ^c	78,0 ^c	6,9 ^b	7,1 ^c	6,8 ^{cd}
A2	13,2 ^c	5,2 ^{bc}	92,4 ^{bc}	8,2 ^a	9,8 ^b	8,7 ^b
A3	15,5 ^{ab}	5,6 ^{ab}	155,1 ^a	6,8 ^b	14,2 ^a	12,3 ^a
A4	16,9 ^a	5,9 ^{ab}	105,9 ^{bc}	6,3 ^{bc}	8,4 ^{bc}	7,9 ^{bc}
D8	14,7 ^{bc}	6,2 ^a	128,7 ^{ab}	5,5 ^{cd}	9,8 ^{bc}	8,0 ^{bc}
D9	10,3 ^d	4,7 ^c	106,5 ^{bc}	4,8 ^d	7,1 ^c	6,1 ^d
CV (%)	6,26	5,45	14,29	7,18	8,97	7,54
F _{tính}	45,54 ^{**}	15,67 ^{**}	8,89 ^{**}	19,21 ^{**}	29,34 ^{**}	35,62 ^{**}

Trong cùng 1 cột, giá trị trung bình có cùng kí tự khác biệt không có ý nghĩa; **: có ý nghĩa ở mức $\alpha = 0,01$; CDQ: Chiều dài quả; ĐKQ: Đường kính quả; TLTB: Trọng lượng trung bình; TSQ: Tổng số quả; NSLT: Năng suất lý thuyết; NSTT: Năng suất thực thu.

Bảng 3. Khả năng kết hợp chung 6 dòng khổ qua tự phối về yếu tố cấu thành năng suất và năng suất thực thu

	Dòng					
Tính trạng	D8	D9	A1	A2	A3	A4
Chiều dài quả	2,11**	-1,53**	-0,03	1,66**	-2,55**	0,34
Đường kính quả	0,31**	-0,13*	-0,03	-0,01	-0,16**	0,01
Tổng số quả	2,33**	-0,47*	0,13	-1,65**	0,70**	-1,03
Năng suất thực thu	2,93**	-0,86**	0,82*	-1,60**	-0,74**	-0,55**

*: có ý nghĩa ở mức $\alpha = 0,05$; **: có ý nghĩa ở mức $\alpha = 0,01$.

Bảng 4. Khả năng kết hợp riêng của sáu dòng khổ qua tự phối về yếu tố cấu thành năng suất và năng suất thực thu

Đặc điểm hàng được thí nghiệm		Tính trạng	Chiều dài quả	Đường kính quả	Tổng số quả/cây	Năng suất thực thu
Tổ hợp lai						
D9 × D8			-0,94	-0,20	1,31**	1,86**
A2 × D8			0,54	0,15	-0,83**	-0,11
A4 × D8			-0,09	0,11	-0,91**	-2,18**
A1 × D8			-0,09	-0,00	-1,86**	-3,61**
A3 × D8			0,59	-0,06	2,30**	4,03**
A2 × D9			-0,46	-0,09	0,76**	0,35
A4 × D9			1,67	0,12	0,21	-1,00**
A1 × D9			-0,47	0,09	-1,20**	-0,80*
A3 × D9			0,21	0,08	-1,08**	-0,41
A4 × A2			-0,95	-0,19	-0,45	1,08**
A1 × A2			0,85	0,11	2,66**	2,40**
A3 × A2			0,02	0,01	-2,15**	-3,73**
A1 × A4			-0,05	-0,11	0,31	2,00**
A3 × A4			-0,57	0,06	0,84**	0,10
A3 × A1			-0,24	-0,09	0,09	0,01

*: có ý nghĩa ở mức $\alpha = 0,05$; **: có ý nghĩa ở mức $\alpha = 0,01$.

Bảng 5. Các giai đoạn sinh trưởng và phát dục của 15 tổ hợp lai lai khổ qua và giống đối chứng

Tổ hợp lai	Ngày ra hoa đầu tiên (NSG)	Ngày ra hoa cái đầu tiên (NSG)	Ngày bắt đầu thu hoạch (NSG)	Ngày kết thúc thu hoạch (NSG)
D9 × D8	36,3 ^{ab}	40,7	51,7 ^{a-d}	94,7 ^a
A2 × D8	36,7 ^{ab}	37,0	51,7 ^{a-d}	93,7 ^{abc}
A4 × D8	38,0 ^a	41,7	53,0 ^{ab}	93,3 ^{a-d}
A1 × D8	33,7 ^{bcd}	35,3	50,3 ^{a-e}	90,0 ^{ef}
A3 × D8	30,7 ^{de}	38,7	48,3 ^{de}	89,7 ^f
A2 × D9	32,0 ^{cde}	36,3	51,7 ^{a-d}	92,0 ^{a-f}
A4 × D9	36,3 ^{ab}	42,7	53,3 ^a	93,0 ^{a-d}
A1 × D9	29,7 ^e	39,3	49,7 ^{b-e}	92,7 ^{a-e}
A3 × D9	29,3 ^e	37,0	49,3 ^{cde}	91,3 ^{b-f}
A4 × A2	35,0 ^{abc}	36,0	51,7 ^{a-d}	90,7 ^{def}
A1 × A2	34,0 ^{bcd}	38,3	51,7 ^{a-d}	94,0 ^{ab}
A3 × A2	36,3 ^{ab}	39,7	53,7 ^a	90,7 ^{def}
A1 × A4	32,3 ^{cde}	37,7	53,0 ^{ab}	92,0 ^{a-f}
A3 × A4	36,0 ^{ab}	40,0	52,0 ^{abc}	93,7 ^{abc}
A3 × A1	33,7 ^{bdc}	40,0	50,7 ^{a-e}	94,3 ^a
Vino Galatico - S2 (ĐC)	30,7 ^{de}	35,3	47,7 ^e	91,0 ^{c-f}
CV (%)	4,43	8,02	4,13	1,88
F _{tính}	10,12 ^{**}	1,57 ^{ns}	2,08 [*]	2,56 [*]

Trong cùng 1 cột, giá trị trung bình có cùng kí tự khác biệt không có ý nghĩa; ns: khác biệt không có ý nghĩa; *: khác biệt ở mức $\alpha = 0,05$; **: khác biệt ở mức $\alpha = 0,01$; ĐC: Đối chứng; NSG: ngày sau gieo.

Bảng 6. Các yếu tố cấu thành năng suất và năng suất của 15 tổ hợp lai lai khổ qua

Tổ hợp lai	CDQ (cm)	ĐKQ (cm)	TLTB quả (g/quả)	TSQ/cây (quả)	NSLT (tấn/ha)	NSTT (tấn/ha)
D9 × D8	15,4 ^{c-f}	5,2 ^{bcd}	124,1 ^{ab}	11,1 ^a	18,3 ^a	12,6 ^b
A2 × D8	18,4 ^{ab}	5,6 ^a	114,0 ^{a-d}	9,5 ^b	14,5 ^b	12,3 ^b
A4 × D8	19,5 ^a	5,6 ^a	127,2 ^a	7,7 ^{def}	13,0 ^{bc}	7,8 ^{c-f}
A1 × D8	15,3 ^{c-f}	5,3 ^{abc}	102,3 ^{b-f}	9,1 ^{bc}	12,5 ^{bcd}	7,2 ^{def}
A3 × D8	18,9 ^{ab}	5,5 ^{ab}	118,5 ^{a-d}	11,5 ^a	18,2 ^a	15,1 ^a
A2 × D9	13,8 ^{d-g}	5,0 ^{cd}	96,1 ^{def}	8,3 ^{cde}	10,7 ^{cde}	9,0 ^c
A4 × D9	17,6 ^{abc}	5,2 ^{bcd}	108,5 ^{a-e}	6,0 ^{ghi}	8,6 ^{efg}	5,2 ^g
A1 × D9	11,3 ^g	5,0 ^{cd}	79,5 ^f	6,9 ^{fg}	7,3 ^g	6,2 ^{fg}
A3 × D9	14,8 ^{c-f}	5,1 ^{bcd}	107,5 ^{a-e}	5,3 ^{hi}	7,7 ^{fg}	6,8 ^{def}
A4 × A2	16,5 ^{bcd}	5,0 ^{cd}	110,7 ^{a-e}	5,9 ^{ghi}	8,7 ^{efg}	8,4 ^{cd}
A1 × A2	14,1 ^{d-g}	5,1 ^{bcd}	96,1 ^{def}	11,4 ^a	14,7 ^b	11,1 ^b
A3 × A2	16,1 ^{b-e}	5,2 ^{bcd}	110,8 ^{a-e}	4,9 ⁱ	7,4 ^g	5,2 ^g
A1 × A4	14,9 ^{c-f}	4,9 ^d	110,5 ^{a-e}	7,3 ^{ef}	10,8 ^{cde}	8,3 ^{cd}
A3 × A4	17,2 ^{abc}	5,2 ^{a-d}	120,4 ^{abc}	6,1 ^{gh}	9,7 ^{efg}	6,6 ^{efg}
A3 × A1	13,4 ^{efg}	5,0 ^{cd}	99,3 ^{c-f}	7,7 ^{def}	10,2 ^{def}	7,4 ^{def}
Vino Galatico - S2 (ĐC)	12,8 ^{fg}	5,2 ^{bcd}	88,1 ^{ef}	8,5 ^{bcd}	10,0 ^{d-g}	7,9 ^{cde}
CV (%)	8,14	4,61	9,95	6,70	10,69	8,16
F _{tính}	9,91 ^{**}	2,59 [*]	4,46 ^{**}	47,85 ^{**}	25,10 ^{**}	48,41 ^{**}

Trong cùng 1 cột, giá trị trung bình có cùng kí tự khác biệt không có ý nghĩa; *: khác biệt ở mức $\alpha = 0,05$; **: khác biệt ở mức $\alpha = 0,01$; ĐC: Đối chứng; CDQ: chiều dài quả; ĐKQ: đường kính quả; TLTB: trọng lượng trung bình; TSQ: tổng số quả; NSLT: năng suất lý thuyết; NSTT: năng suất thực thu.

cặp THL. Nhìn chung, KNPH riêng ở mỗi cặp lai phụ thuộc vào vai trò làm bố hoặc mẹ, đồng thời KNKH riêng có xu hướng tăng khi KNPH chung của các dòng ít khác biệt trên từng tính trạng. Điều này phù hợp với “học thuyết dị hợp tử” trong cơ sở di truyền về ưu thế lai ở thực vật (Hoang & Truong, 2008) và cơ chế này đã thể hiện ở kết quả đánh giá KNKH riêng của các dòng khổ qua tự phối trong nghiên cứu này và tương tự ở nghiên cứu của Tran (2017) và Mishra & ctv. (2020).

3.2. Ưu thế lai của 15 tổ hợp lai từ sáu dòng khổ qua tự phối đời S_5

3.2.1. Đặc điểm sinh trưởng, phát triển và năng suất của 15 THL

- Thời gian sinh trưởng, phát triển của 15 THL

Đối với khổ qua trồng thương phẩm, cây trở hoa, cho quả sớm, thời gian thu quả kéo dài là những tiêu chí cần được quan tâm. Kết quả theo dõi các giai đoạn phát dục của 15 THL khổ qua được trình bày ở Bảng 5 cho thấy: Thời gian từ khi gieo đến ngày ra hoa đợt đầu tiên dao động từ 29,3 ngày đến 38,0 NSG. Thời gian từ khi gieo đến ngày ra hoa cái đầu tiên của các THL dao động từ 35,3 đến 42,7 NSG.

Ngày ra hoa đợt và hoa cái đầu tiên ở thí nghiệm này đều muộn hơn so với kết quả đánh giá ưu thế lai của 15 dòng khổ qua đời S_7 đã được thực hiện tại Cẩm Mỹ, Đồng Nai được thực hiện bởi Tran (2017). Sự khác biệt có thể do độ thuần của các dòng khổ qua tự phối được sử dụng trong các phép lai đơn và điều kiện canh tác. Ngày bắt đầu thu hoạch quả đầu tiên sớm nhất ở giống ĐC (47,7 NSG) và muộn nhất ở THL $A_3 \times A_2$ (53,7 NSG). Các THL $A_1 \times D_8$ (50,3 NSG), $A_3 \times D_8$ (48,3 NSG), $A_1 \times D_9$ (49,7 NSG), $A_3 \times D_9$ (49,3 NSG) và $A_3 \times A_1$ (50,7 NSG) có ngày bắt đầu thu hoạch quả khác biệt không có ý nghĩa so với giống ĐC. Ngày kết thúc thu hoạch sớm nhất ở THL $A_3 \times D_8$ (89,7 NSG) và muộn nhất ở THL $D_9 \times D_8$ (94,7 NSG). Trong đó các THL $D_9 \times D_8$, $A_3 \times A_1$ (94,3 NSG) và $A_1 \times A_2$ (94,0 NSG) có thời gian thu hoạch quả kéo dài và khác biệt có ý nghĩa so với giống ĐC (91,0 NSG).

- Các yếu tố cấu thành năng suất và năng suất của 15 THL

Số liệu Bảng 6 cho thấy, CDQ của 15 THL khổ qua và giống ĐC dao động từ 11,3 - 19,5 cm. Các THL có CDQ dài hơn so với giống ĐC gồm $A_2 \times$

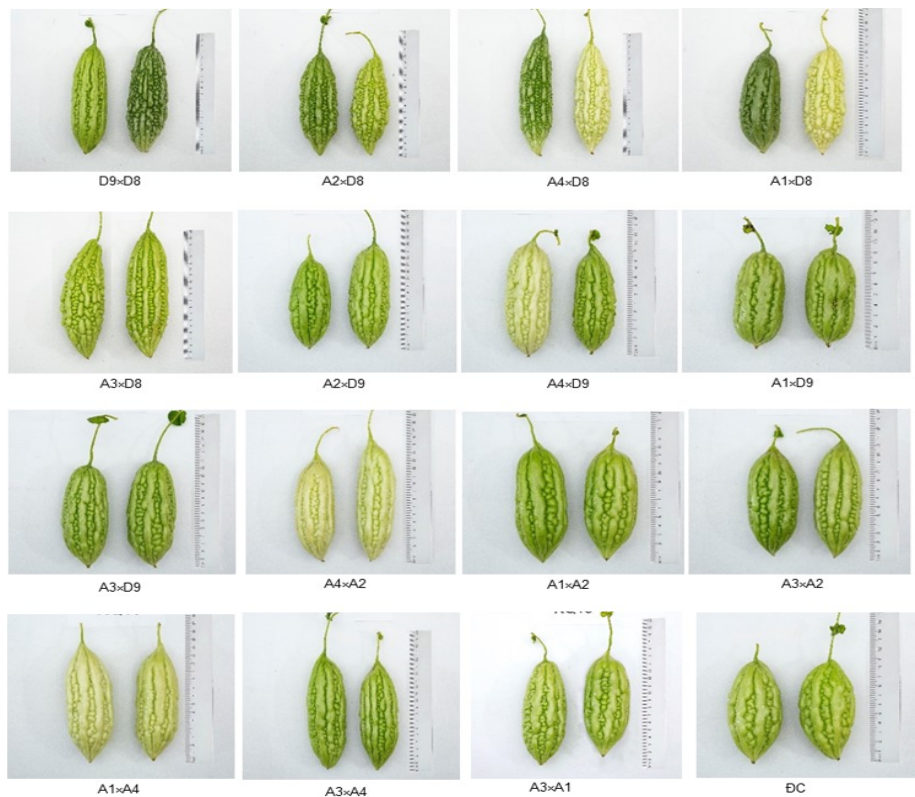
D_8 , $A_4 \times D_8$, $A_3 \times D_8$, $A_4 \times D_9$, $A_4 \times A_2$, $A_3 \times A_2$, $A_3 \times A_4$ và khác biệt ở mức có ý nghĩa. DKQ quả của 15 THL khổ qua và giống ĐC dao động từ 4,9 - 5,6 cm. THL $A_2 \times D_8$ và $A_4 \times D_8$ có DKQ cao nhất, khác biệt có ý nghĩa thống kê so với giống ĐC. Thị hiếu người tiêu dùng khu vực Đông Nam Bộ ưa chuộng quả ngắn có độ dài khoảng từ 14 - 16 cm, đường kính 4,5 - 5,5 cm (Tran, 2017), như vậy các THL $D_9 \times D_8$, $A_1 \times D_8$, $A_3 \times D_9$, $A_4 \times A_2$, $A_1 \times A_2$, $A_3 \times A_2$ và $A_1 \times A_4$ có kích thước quả tương đối phù hợp với thị trường vùng Đông Nam Bộ. Trọng lượng trung bình quả của các THL và giống ĐC dao động từ 79,5 - 127,2 g. Ngoại trừ THL $A_1 \times D_9$, các THL đều cho trọng lượng trung bình quả cao hơn so với giống ĐC và sự khác biệt có ý nghĩa thống kê.

Năng suất lý thuyết của các THL khổ quả và giống ĐC dao động từ 7,3 - 18,3 tấn/ha. Trong đó, các tổ hợp lai có NSLT cao hơn giống ĐC (10,0 tấn/ha) và khác biệt có ý nghĩa trong thống kê là $D_9 \times D_8$ (18,3 tấn/ha), $A_2 \times D_8$ (14,5 tấn/ha), $A_4 \times D_8$ (13,0 tấn/ha), $A_3 \times D_8$ (18,2 tấn/ha) và $A_1 \times A_2$ (14,7 tấn/ha). Ngoại trừ THL $A_2 \times D_8$, các THL kể trên có NSLT cao hơn dòng bố/mẹ tốt nhất là A_3 (14,2 tấn/ha).

Năng suất thực thu của 15 THL khổ qua và giống ĐC dao động từ 5,2 - 15,1 tấn/ha. Ba THL $A_4 \times D_9$, $A_1 \times D_9$ và $A_3 \times A_2$ cho NSTT thấp hơn so với NSTT của giống ĐC, khác biệt có ý nghĩa trong thống kê. Bốn THL $D_9 \times D_8$, $A_2 \times D_8$, $A_3 \times D_8$ và $A_1 \times A_2$ cho NSTT cao hơn so với NSTT của giống ĐC và khác biệt có ý nghĩa trong thống kê. Các THL còn lại có sự khác biệt không có ý nghĩa trong thống kê về NSTT so với giống ĐC. Trong số bốn THL có NSTT cao hơn giống ĐC, hai THL $D_9 \times D_8$ và $A_3 \times D_8$ có NSTT cao hơn dòng bố/mẹ tốt nhất A_3 (12,3 tấn/ha).

Năng suất lý thuyết của các THL khổ quả và giống ĐC dao động từ 7,3 - 18,3 tấn/ha. Trong đó, các tổ hợp lai có NSLT cao hơn giống ĐC (10,0 tấn/ha) và khác biệt có ý nghĩa trong thống kê là $D_9 \times D_8$ (18,3 tấn/ha), $A_2 \times D_8$ (14,5 tấn/ha), $A_4 \times D_8$ (13,0 tấn/ha), $A_3 \times D_8$ (18,2 tấn/ha) và $A_1 \times A_2$ (14,7 tấn/ha). Ngoại trừ THL $A_2 \times D_8$, các THL kể trên có NSLT cao hơn dòng bố/mẹ tốt nhất là A_3 (14,2 tấn/ha).

Năng suất thực thu của 15 THL khổ qua và giống ĐC dao động từ 5,2 - 15,1 tấn/ha. Ba THL $A_4 \times D_9$, $A_1 \times D_9$ và $A_3 \times A_2$ cho NSTT thấp hơn so với NSTT của giống ĐC, khác biệt có ý



Hình 1. Hình thái quả của 15 tổ hợp lai và giống đối chứng.

Bảng 7. Hình thái quả của 15 tổ hợp lai khổ qua và giống đối chứng

Tên tổ hợp lai	Màu vỏ quả	Sống quả	Gai quả	Hình dạng quả
D9 × D8	Xanh đậm, xanh nhạt	Dài	Trung bình	Thon dài
A2 × D8	Xanh đậm, xanh nhạt	Trung bình	Nhỏ	Thon dài
A4 × D8	Xanh đậm, trắng	Ngắn	Nhỏ	Thon dài
A1 × D8	Xanh đậm, trắng	Dài	Nhỏ	Oval
A3 × D8	Xanh nhạt	Trung bình	Nhỏ	Thon dài
A2 × D9	Xanh nhạt	Dài	Nhỏ	Trụ
A4 × D9	Xanh nhạt, trắng	Dài	Trung bình	Trụ
A1 × D9	Xanh nhạt	Dài	Nhỏ	Trụ
A3 × D9	Xanh nhạt	Trung bình	Trung bình	Trụ
A4 × A2	Trắng	Dài	Trung bình	Thon dài
A1 × A2	Xanh nhạt	Dài	To	Oval
A3 × A2	Xanh nhạt	Dài	Trung bình	Oval
A1 × A4	Trắng	Trung bình	Nhỏ	Thuôn
A3 × A4	Xanh nhạt	Trung bình	Nhỏ	Thon dài
A3 × A1	Xanh nhạt	Dài	Trung bình	Thuôn
Vino Galatico -S2 (ĐC)	Xanh nhạt	Dài	To	Oval

ĐC: Đối chứng.

Bảng 8. Ưu thế lai chuẩn (%) của 15 tổ hợp lai về các yếu tố cấu thành năng suất và năng suất thực thu

Tổ hợp lai	Tính trạng	Chiều dài quả	Đường kính quả	Tổng số quả	Năng suất thực thu
D9 × D8		20,3	0,0	30,6	59,5
A2 × D8		43,8	7,7	11,8	55,7
A4 × D8		52,3	7,7	-9,4	-1,3
A1 × D8		19,5	1,9	7,1	-8,9
A3 × D8		47,7	5,8	34,1	91,1
A2 × D9		7,8	-3,8	-2,4	13,9
A4 × D9		37,5	0,0	-29,4	-34,2
A1 × D9		-11,7	-3,8	-18,8	-21,5
A3 × D9		15,6	-1,9	-37,6	-13,9
A4 × A2		28,9	-3,8	-30,6	13,9
A1 × A2		10,2	-1,9	34,1	40,5
A3 × A2		25,8	0,0	-42,4	-34,2
A1 × A4		16,4	-5,8	-14,1	5,1
A3 × A4		34,4	0,0	-28,2	-16,5
A3 × A1		4,7	-3,8	-9,4	-6,3

nghĩa trong thống kê. Bốn THL D9 × D8, A2 × D8, A3 × D8 và A1 × A2 cho NSTT cao hơn so với NSTT của giống ĐC và khác biệt có ý nghĩa trong thống kê. Các THL còn lại có sự khác biệt không có ý nghĩa trong thống kê về NSTT so với giống ĐC. Trong số bốn THL có NSTT cao hơn giống ĐC, hai THL D9 × D8 và A3 × D8 có NSTT cao hơn dòng bố/mẹ tốt nhất A3 (12,3 tấn/ha).

- Đặc điểm hình thái quả của 15 THL

Kết quả theo dõi tính trạng màu vỏ quả cho thấy có 5 THL D9 × D8, A2 × D8, A4 × D8, A1 × D8, A4 × D9 chưa đồng nhất về màu sắc (Bảng 7, Hình 1). Nguyên nhân có thể do hai dòng D8 và D9 làm bố trong các THL này chưa hoàn toàn thuần về mặt di truyền. Hoặc theo kết quả nghiên cứu của Huang & Hsieh (2017) về tính trạng màu sắc quả khổ qua cho thấy đây là tính trạng số lượng do nhiều gen quy định. Vì vậy, sự tương tác giữa các gen quy định tính trạng màu sắc quả không tuân theo định luật di truyền tính trội của Mendel nên màu sắc quả ở con lai khác nhau.

Các THL A1 × A2, A3 × A2, A3 × A4, A3 × A1 và giống ĐC có vỏ quả màu xanh nhạt, gai nở đều phù hợp với thị hiếu của khu vực Đông Nam Bộ. Đồng thời, quả của tất cả các THL trên đều có đầu gai quả tròn, chỉ tiêu này giúp quả ít bị dập trong quá trình thu hoạch và vận chuyển quả sau thu hoạch. THL A4 × A2 và A1 × A4 có vỏ quả màu trắng ít được ưa chuộng tại

thị trường miền Nam (Ta, 2009). Vì vậy, trong quá trình chọn lọc dòng bố mẹ, cần dựa theo sự tương tác về màu sắc quả để dự đoán kết quả thu được ở con lai.

3.2.2. Ưu thế lai chuẩn của 15 THL khổ qua

Ở tính trạng CDQ, ngoại trừ THL A1 × D9, các THL đều có ưu thế lai dương và dao động từ 4,7 - 47,7% (Bảng 8). Trong khi ở chỉ tiêu ĐKQ, có 4 THL có ưu thế lai dương gồm THL A2 × D8 (7,7%), A4 × D8 (7,7%), A1 × D8 (1,9%) và A3 × D8 (5,8%). Có 5 THL có ưu thế lai dương ở tính trạng tổng số quả gồm THL D9 × D8 (30,6%), A2 × D8 (11,8%), A1 × D8 (7,1%), A3 × D8 (34,1%) và A1 × A2 (34,1%). Ở NSTT, có 7 THL có ưu thế lai dương gồm THL D9 × D8 (59,5%), A2 × D8 (55,7%), A3 × D8 (91,1%), A2 × D9 (13,9%), A4 × A2 (13,9%), A1 × A2 (40,5%) và A1 × A4 (5,1%).

Nhìn chung, các THL D9 × D8, A2 × D8, A3 × D8 đều có ưu thế lai dương ở cả 4 tính trạng và THL A2 × D9 có ưu thế lai dương ở tính trạng CDQ và NSTT. Kết quả này cho thấy vai trò làm bố của dòng D8 và vai trò làm bố và mẹ của dòng D9 trong các THL cho ưu thế lai cao. Tuy nhiên, dựa trên tính trạng màu sắc quả ở các THL sự hiện diện của dòng D8 và D9 cho thấy hai dòng này còn đang phân ly, vì vậy, các giá trị ưu thế lai liên quan đến hai dòng này ít ổn định.

4. Kết Luận

Nghiên cứu khả năng kết hợp và ưu thế lai của các dòng khổ qua tự phối nhằm chọn ra các dòng làm bố, mẹ trong chọn tạo giống ưu thế lai. Kết quả nghiên cứu đã xác định được bảy THL có NSTT cao hơn giống DC, đồng thời có ưu thế lai chuẩn dương gồm: D9 × D8, A2 × D8, A3 × D8, A2 × D9, A4 × A2, A1 × A2 và A1 × A4. Kết quả đánh giá KNKH và ưu thế lai chuẩn đã xác định được dòng D9, D8 làm bố hoặc mẹ, dòng A1 làm bố và dòng A2 làm mẹ cho ưu thế lai ở các tính trạng chiều dài quả, đường kính quả, tổng số quả/cây và NSTT. Tuy nhiên, tính trạng màu sắc quả của hai dòng D8 và D9 chưa ổn định. Từ kết quả thí nghiệm đã xác định được hai dòng triển vọng ở đời tự phối S₅ là A1 và A2. Tổ hợp giữa dòng A1 (làm mẹ) và A2 (làm bố) có ý nghĩa thống kê về KNKH riêng ở chỉ tiêu tổng số quả/cây và năng suất thực thu. Ưu thế lai chuẩn về tính trạng chiều dài quả, tổng số quả và năng suất thực thu của tổ hợp lai này đều theo hướng thuận. Sự kết hợp giữa A1 × A2 có cho năng suất thực thu cao, đồng thời các tính trạng chiều dài quả, đường kính quả và màu vỏ quả phù hợp với thị hiếu người tiêu dùng khu vực Đông Nam Bộ.

Lời Cam Đoan

Chúng tôi cam đoan bài báo do nhóm tác giả thực hiện và không có bất kỳ mâu thuẫn nào giữa các tác giả.

Tài Liệu Tham Khảo (References)

- Behera, T. K., Dey, S. S., Munshi, A. D., Gaikwad, A. B., Pal, A., & Singh, I. (2009). Sex inheritance and development of gynocercous hybrids in bitter melon (*Momordica charantia* L.). *Scientia Horticulturae* 120(1), 130-133. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2008.09.006>.
- Griffing, B. (1956). Concept of general and specific combining ability in relation to diallel crossing systems. *Australian Journal of Biological Sciences* 9(4), 463-493. <https://doi.org/10.1071/BI9560463>.
- Hoang, T. P., & Truong, T. B. P. (2008). *Genetic basis of plant breeding*. Hue, Vietnam: Hue University Publisher.
- Huang, H. Y., & Hsieh, C. H. (2017). Genetic research on fruit color traits of the bitter melon (*Momordica charantia* L.). *The Horticulture Journal* 86(2), 238-243. <https://doi.org/10.2503/HORTJ.MI-159>.
- Lamkey, K. R., & Edwards, J. W. (1998). Heterosis: theory and estimation. *Proceedings of the 34th Illinois Corn Breeders' School* (62-72). Urbana, USA: University of Illinois.
- MARD (Ministry of Agriculture and Rural Development). (2014). Decision No. QCVN 01-153: 2014 dated on February 20, 2014. National technical regulation on testing for distinctness, uniformity and stability of bitter melon. Retrieved July 2021, from <https://vanbanphapluat.co/qcvn-01-153-2014-bnnptnt-khao-nghiem-tinh-khac-biet-dong-nhat-on-dinh-muop-dang>.
- Mishra, D., Singh, A. K., Singh, P., Kumar, B., Pattnaik, P., & Pal, A. K. (2020). Combining ability studies for yield and plant characters in bitter melon (*Momordica charantia* L.). *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences* 9(4), 88-96. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2020.904.012>.
- Ngo, H. T., & Nguyen, D. H. (1996). *Hybridization methods and combining ability analysis in hybrid experiments*. Ha Noi, Vietnam: Agricultural Publishing House.
- Nguyen, N. C. (2016). *Survey, collection and characterization of indigenous and non-indigenous cucurbits in Vietnam* (Unpublished doctoral dissertation). Humboldt University of Berlin (HU), Berlin, Germany.
- Pham, H. H. (1999). *An illustrated flora of Vietnam – vol. 1* (1st ed.). Ho Chi Minh City, Vietnam: Tre Publishing House.
- Phan, T. K. (2016). *Principles of plant breeding*. Ho Chi Minh City, Vietnam: Agricultural Publishing House.
- Ta, T. T. (2009). *Comparing the growth, development and yield of some bitter melon varieties (Momordica charantia L.) cultivated in Pleiku, Gia Lai province* (Unpublished master's thesis). Nong Lam University, Ho Chi Minh City, Vietnam.
- Tran T. M. H. (2017). *Evaluating for combining ability of bitter melon lines (Momordica charantia L.) and identifying promising hybrid combination in Cam My, Dong Nai* (Unpublished master's thesis). Nong Lam University, Ho Chi Minh City, Vietnam.
- Tran, K. C. (2018). *Research on selection and breeding F₁ hybrid of chili, cucumber and bitter melon for southern provinces* (Research report). Southern Horticulture Research Institute, Tien Giang, Vietnam.
- UPOV (International union for the protection of new varieties of plants). (2007). Decision No. TG/235/1 dated on March 28, 2007. International union for the protection of new varieties of plants: Guidelines for the conduct of tests for distinctness, uniformity and stability: *Momordica charantia* L. Retrieved July 2021 from <https://www.upov.int/edocs/tgdocs/en/tg235.pdf>.
- Vo, V. C. (2012). *Dictionary of Vietnamese medicinal plants*. Ha Noi, Vietnam: Medical Publishing House.

Evaluation of compost quality through germination index, plant yield and nitrogen use efficiency on Japanese Watercress (*Nasturtium officinale*)

Toan D. Tran¹, Luan A. Ha¹, Ngan T. Long¹, Nhat X. Doan¹, & Binh T. Nguyen^{2*}

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

²Department of Soil Science–Fertilizer, Faculty of Agronomy, Nong Lam University, Ho Chi Minh City, Vietnam

ARTICLE INFO

Research Paper

Received: September 28, 2021

Revised: December 12, 2021

Accepted: December 31, 2021

Keywords

Compost quality

Germination index

Nitrogen use efficiency

Phytotoxicity

*Corresponding author

Nguyen Thanh Binh

Email:

binh.ngthanh@hcmuaf.edu.vn

ABSTRACT

This study aimed to evaluate phytotoxicity and quality of two composts, based on plant yield and nitrogen use efficiency of Japanese watercress (*Nasturtium officinale*). The germination index (*GI*) of seeds of mung bean (*Vigna radiata* L.) was used to assess the phytotoxicity of compost extracts (1:10, w/v) at 0, 10, 20 and 30 days after composting. A separate field experiment growing Japanese watercress was arranged in a randomized complete block design (RCBD) with five treatments and three replications. The treatments were: NT₁ (soil only), NT₂ (100% NPK chemical fertilizer), NT₃ (100% compost A), NT₄ (100% compost B) and NT₅ (100% commercial micro-organic fertilizer). Treatments from NT₂ – NT₅ received the same amount of total applied nitrogen.

The results showed that composts in the preliminary study reduced the phytotoxicity of the raw materials by improving the *GI* from 49% to 58% - 90%. Total dissolved solids in compost A and the heavy metals concentration in compost B were both lower than permissible limits but could be responsible for limiting root growth. Two composts A and B in the experiment gave a comparative vegetable yield (1663.2 - 1762.2 kg/1000 m²) to chemical fertilizer, but significantly lower ($P < 0.01$) than commercial micro-organic fertilizer (2476.3 kg/1000 m²). After 25 days of fertilizer application, the plants used half of the total N from chemical fertilizer or commercial micro-organic fertilizer, which was twice as many as those from two composts.

Cited as: Tran, T. D., Ha, L. A., Long, N. T., Doan, N. X., & Nguyen, B. T. (2022). Evaluation of compost quality through germination index, plant yield and nitrogen use efficiency on Japanese Watercress (*Nasturtium officinale*). *The Journal of Agriculture and Development* 21(1), 58-64.

Đánh giá chất lượng phân ủ compost qua kiểm tra chỉ số nảy mầm, năng suất và hiệu quả sử dụng đạm trên cây cải xoong Nhật (*Nasturtium officinale*)

Trần Duy Toàn¹, Hà Anh Luân¹, Long Thị Ngân¹, Đoàn Xuân Nhật¹ & Nguyễn Thanh Bình^{2*}

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

²Bộ Môn Khoa Học Đất - Phân Bón, Khoa Nông Học, Trường Đại Học Nông Lâm TP.HCM, TP. Hồ Chí Minh

THÔNG TIN BÀI BÁO

Bài báo khoa học

Ngày nhận: 28/09/2021

Ngày chỉnh sửa: 12/12/2021

Ngày chấp nhận: 31/12/2021

Từ khóa

Chất lượng compost

Chỉ số nảy mầm

Độc tính

Hiệu quả sử dụng đạm

*Tác giả liên hệ

Nguyễn Thanh Bình

Email:

binh.ngthanh@hcmuaf.edu.vn

TÓM TẮT

Mục tiêu nghiên cứu nhằm (i) kiểm tra độc tính của hai loại phân ủ compost, (ii) đánh giá chất lượng phân ủ dựa trên năng suất và hiệu quả sử dụng đạm trên cây cải xoong Nhật (*Nasturtium officinale*). Chỉ số nảy mầm (*GI*) của hạt giống đậu xanh (*Vigna radiata* L.) được sử dụng để đánh giá độc tính của các mẫu dịch trích compost (tỷ lệ 1:10, w/v) tại các thời điểm 0, 10, 20 và 30 ngày sau ủ (NSU). Thí nghiệm trồng cải xoong Nhật được bố trí theo kiểu khối đầy đủ ngẫu nhiên (RCBD) đơn yếu tố, năm nghiệm thức và ba lần lặp lại. Các nghiệm thức gồm: NT₁ (Không bón), NT₂ (100% phân bón hóa học NPK), NT₃ (100% compost A), NT₄ (100% compost B), và NT₅ (100% phân bón hữu cơ vi sinh). Các nghiệm thức từ NT₂ - NT₅ đều nhận được cùng một lượng bón đạm tổng số như nhau.

Kết quả cho thấy ủ compost từ mô hình hiếu khí trong nghiên cứu trước đó giúp giảm độc tính của nguồn nguyên liệu thông qua cải thiện chỉ số *GI* từ 49% đến 58% - 90%. Tổng chất rắn hòa tan trong mẫu compost A và hàm lượng kim loại nặng trong mẫu compost B đều dưới ngưỡng cho phép nhưng có thể hạn chế sự phát triển của rễ. Hai loại phân ủ compost A và compost B trong thí nghiệm cho năng suất rau thu hoạch 1663,2 - 1762,2 kg/1000 m² tương đương với phân bón hóa học nhưng thấp hơn ($P < 0,01$) so với phân hữu cơ vi sinh thương mại (2476,3 kg/1000 m²). Sau 25 ngày bón, cây trồng đã sử dụng hết $\frac{1}{2}$ lượng N từ phân hóa học hoặc phân hữu cơ vi sinh, gấp đôi so với lượng N từ hai loại phân ủ compost.

1. Đặt Vấn Đề

Phân bón hữu cơ (PBHC) được khoa học chứng minh là chứa một lượng vừa phải các chất dinh dưỡng thiết yếu cho cây trồng, giúp giảm lượng phân bón hóa học, cải thiện độ phì nhiêu đất, nâng cao năng suất cây trồng và góp phần bảo vệ môi trường (Lewu & ctv., 2020). Thị trường PBHC ở Việt Nam đa dạng với nhiều chủng loại có nguồn gốc khác nhau, từ chất thải chăn nuôi, phụ phẩm cây trồng, các loại thực vật, chất thải sinh học, đến bùn thải... Trong các loại PBHC có nguồn gốc từ động vật, phân gà không chỉ chứa hàm lượng chất hữu cơ cao mà còn giàu đạm (N), lân và kali. Trong nhóm các nguyên tố đa lượng,

N là thành phần quan trọng ảnh hưởng trực tiếp đến năng suất và chất lượng cây trồng, đặc biệt là ở nhóm rau ăn lá. Phân bón hóa học và phân hữu cơ đều có thể cung cấp nguồn N cho cây, tuy nhiên lượng N hấp thu và hiệu quả sử dụng phân bón còn tùy thuộc vào điều kiện canh tác, giá trị hữu dụng và khả dụng khoáng hóa N trong đất.

Chất lượng của PBHC trên thị trường được đánh giá chủ yếu qua giá trị dinh dưỡng trên bao bì, các vấn đề liên quan đến độc tính của sản phẩm sau ủ và hiệu quả sử dụng phân bón trên cây trồng ít được quan tâm hơn.

Kết quả nghiên cứu ban đầu về mô hình ủ compost hiếu khí cho thấy thời gian ủ có thể rút ngắn

hơn so với mô hình đảo trộn thủ công nhưng vẫn đáp ứng tốt các chỉ tiêu chất lượng và kiểm soát yếu tố hạn chế dưới ngưỡng cho phép theo qui định đối với PBHC truyền thống. Báo cáo này cũng đề xuất rằng, sau bước kiểm tra tự sinh nhiệt RT - TSN, compost cần được tiếp tục đánh giá mức độ an toàn và hiệu quả sử dụng trên cây trồng.

Vì vậy, nghiên cứu được thực hiện nhằm mục tiêu (i) kiểm tra độc tính của hai loại phân ủ compost dựa trên chỉ số nảy mầm *GI*, (ii) đánh giá chất lượng phân ủ dựa trên năng suất và hiệu quả sử dụng N từ phân bón của cây cải xoong Nhật (*Nasturtium officinale*).

2. Vật Liệu và Phương Pháp Nghiên Cứu

2.1. Đặc điểm khu vực thí nghiệm

Nghiên cứu được tiến hành tại Trại Thực nghiệm Khoa Nông học, Trường Đại học Nông Lâm TP. Hồ Chí Minh từ tháng 12/2020 đến tháng 6/2021, trong đó thời gian thí nghiệm kiểm trắng (*trồng rau không sử dụng phân bón*) từ tháng 12/2020 đến tháng 03/2021; thí nghiệm trồng rau chính thức từ ngày 18/3/2021 đến 19/4/2021 (thu đợt 1) và từ ngày 20/4/2021 đến ngày 16/5/2021 (thu đợt 2). Nhiệt độ trung bình, tổng lượng mưa và tổng số giờ nắng qua các tháng thí nghiệm dao động trong các khoảng chênh lệch lần lượt là 29,2°C - 29,7°C; 260,9 - 341,4 mm và 187,2 - 235,4 giờ nắng (*SRHC - Dài khí tượng Thủy văn khu vực Nam bộ, 2021; số liệu không thể hiện qua bảng*).

Lớp đất mặt 0 - 20 cm ở khu vực thí nghiệm có thành phần cơ giới thịt pha cát, đất chua ít, nghèo chất hữu cơ và đạm tổng số, nhưng giàu lân và kali hữu hiệu (Bảng 1).

2.2. Nguồn gốc phân ủ

Nguyên liệu phân gà lẫn trấu và thân lá cây cao lương theo tỷ lệ phối trộn thể tích 2:1 được ủ compost hiếu khí trong thời gian 30 ngày (18/10/2020 - 19/11/2020). Kết quả phân tích thành phần của hai loại phân ủ (compost A và compost B) đáp ứng hầu hết các chỉ tiêu chất lượng và các yếu tố hạn chế theo qui định. Phân hóa học NPK và phân hữu cơ vi sinh (HCVS) là các sản phẩm thương mại được sử dụng để đối chứng. Thông tin về thành phần dinh dưỡng đa lượng, tổng chất rắn hòa tan (TDS) và hàm lượng kim loại nặng của các loại phân bón sử dụng trong thí nghiệm

được trình bày trong Bảng 2.

2.3. Kiểm tra độc tính *phytotoxicity*

Một thí nghiệm kiểm tra độc tính compost dựa trên chỉ số nảy mầm của hạt giống được thực hiện theo phương pháp mô tả bởi Zucchini & ctv. (1981). Các mẫu compost A và B tại các thời điểm ủ khác nhau [0, 10, 20 và 30 ngày sau ủ (NSU)] từ hai mô hình ủ compost hiếu khí được bảo quản ở nhiệt độ lạnh -5°C đến thời điểm bắt đầu thí nghiệm. 10 mL dịch trích compost (tỷ lệ 1:10, w/v) được cho vào đĩa Petri ($\phi = 10$ mm) lót sẵn hai lớp giấy lọc loại Whatman #2. Sau đó 10 hạt đậu xanh (*Vigna radiata* L.) được phân bố đều ở mặt bên trên của giấy lọc và theo dõi tỷ lệ nảy mầm, chiều dài rễ trong thời gian 48 giờ. Nước cất và dịch trích từ HCVS thương mại được sử dụng để đối chứng. Mỗi thí nghiệm được bố trí lặp lại ba lần. Các đĩa petri được đặt trong tối ở điều kiện nhiệt độ phòng. Chỉ số *GI* được tính theo công thức [1]:

$$GI(\%) = \frac{\text{Tỷ lệ nảy mầm}(\%) \times \text{Chiều dài rễ của mẫu Compost, HCVS (mm)}}{\text{Tỷ lệ nảy mầm}(\%) \times \text{Chiều dài rễ của mẫu đối chứng nước cất (mm)}} [1]$$

2.4. Bố trí thí nghiệm đồng ruộng

Thí nghiệm đơn yếu tố được bố trí theo kiểu khối đầy đủ ngẫu nhiên (RCBD) năm thí nghiệm thức và ba lần lặp lại. Các thí nghiệm thức gồm: NT₁ (không bón), NT₂ (100% phân bón hóa học), NT₃ (100% compost A), NT₄ (100% compost B), và NT₅ (100% HCVS). Kích thước ô cơ sở là 1,2 m × 12 m, diện tích toàn bộ khu thí nghiệm 288 m². Cải xoong Nhật (*Nasturtium officinale*) (Hình 1) được trồng theo kiểu rặng sáu ở mật độ 58 hom/m², kiểm trắng qua hai đợt cắt gốc ở độ cao 5 cm so với mặt đất cho đến khi đạt mật độ phủ kín luống rau và năng suất khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($P > 0,05$) giữa các ô cơ sở (*số liệu không thể hiện qua bảng*). Toàn bộ lượng compost và HCVS được bón lót trước khi vào thí nghiệm chính, lượng phân bón hóa học NPK được chia đều thành bốn đợt bón thúc vào các thời điểm 0, 7, 14 và 18 ngày sau khi nới lỏng (NSB). Tất cả các thí nghiệm thức (ngoại trừ NT₁) đều nhận được một lượng N_{ts} bằng nhau. Lượng phân bón thực tế cho từng ô cơ sở và hàm lượng dinh dưỡng nguyên chất quy chuyển trên đơn vị 1000 m² được tổng hợp trong Bảng 3.

Bảng 1. Đặc điểm lý-hóa tính của đất ở khu vực thí nghiệm

Chỉ tiêu	Đơn vị	Kết quả phân tích	Phương pháp phân tích
Thành phần cấp hạt			
Cát thô	(%)	30,86	TCVN 8567:2010
Cát mịn	(%)	33,27	TCVN 8567:2010
Thịt	(%)	24,57	TCVN 8567:2010
Sét	(%)	11,30	TCVN 8567:2010
pH _{H₂O} (1:2,5)		5,8	TCVN 6492:2011
Chất hữu cơ	(%)	0,82	TCVN 8941:2011
N _{ts}	(%)	0,07	TCVN 6498:1999
P ₂ O ₅ _{hh}	(mg/100 g)	19,2	TCVN 5256:2009
K ₂ O _{hh}	(mg/100 g)	9,28	TCVN 8662:2011

Bảng 2. Thành phần dinh dưỡng đa lượng, tổng chất rắn hòa tan và hàm lượng kim loại nặng của các loại phân bón sử dụng trong thí nghiệm

Loại phân	Thành phần dinh dưỡng (%)			TDS ¹ (g/L)	Hàm lượng kim loại nặng ² (mg/kg)			
	N _{ts}	P ₂ O ₅ _{ts}	K ₂ O _{ts}		As	Cd	Pb	Hg
Compost A	2,43	4,67	4,04	9,95	< 1,09	1,07	KPH	0,12
Compost B	2,16	4,49	4,44	3,46	< 1,09	0,83	KPH	0,31
NPK 16-16-8	16 [¶]	16 [¶]	8 [¶]					
HCVS 2-2-1	2 [¶]	2 [¶]	1 [¶]					

TDS: Tổng chất rắn hòa tan; HCVS = phân hữu cơ vi sinh thương mại; KPH = không phát hiện.

[¶]Giá trị N tổng số, P₂O₅ và K₂O hữu hiệu theo thông tin của nhà sản xuất.

^{1,2}Nguyen & ctv., 2021.

Bảng 3. Thông tin về các nghiệm thức phân bón trong thí nghiệm

Nghiệm thức	Liều lượng bón (kg/14 m ²)		Dinh dưỡng nguyên chất (kg/1000 m ²)		
	PHC ¹	PHH	N _{ts}	P ₂ O ₅ _{ts}	K ₂ O _{ts}
NT ₁ (không bón)	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
NT ₂ (100% NPK 16 - 16 - 8)	–	0,72	8,0	8,0 [¶]	4,0 [¶]
NT ₃ (100% Compost A)	6,2	–	8,0	15,4	13,3
NT ₄ (100% Compost B)	6,9	–	8,0	16,6	16,4
NT ₅ (100% HCVS 2 - 2 - 1)	7,5	–	8,0	8,0 [¶]	4,0 [¶]

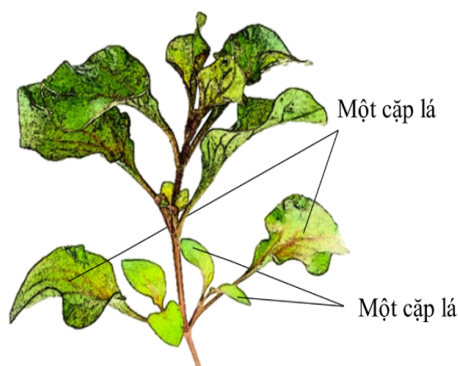
PHC = phân hữu cơ; PHH = phân hóa học; HCVS = phân hữu cơ vi sinh thương mại.

[¶]Giá trị P₂O₅ và K₂O hữu hiệu theo thông tin của nhà sản xuất.

¹Lượng phân hữu cơ tương ứng với ẩm độ 30%.

2.5. Các chỉ tiêu theo dõi và phân tích

Mỗi ô cơ sở đặt năm khung cố định bằng kẽm kích thước 15 cm × 15 cm theo đường ziczac dọc theo chiều dài của ô cơ sở. Mỗi khung đánh dấu ba cây để theo dõi các chỉ tiêu sinh trưởng gồm chiều cao cây (cm) và số cặp lá/thân chính tại các thời điểm 0, 5, 10, 15, 20 và 25 NSB. Vị trí xuất hiện cặp lá trên thân chính được mô tả ở Hình 1.



Hình 1. Cải xoong Nhật (*Nasturtium officinale*).

Thời điểm thu hoạch qua hai đợt chính vụ lần lượt là 25 NSB (đợt 1) và 59 NSB (đợt 2). Mẫu rau gộp ở đợt 1 theo từng nghiệm thức được phân tích hàm lượng đạm tổng số (TCN 850:2006). Mẫu phân tích rau đợt 2 bị hủy bỏ do ảnh hưởng của dịch bệnh COVID-19 tại TP. Hồ Chí Minh từ tháng 6/2021.

Hiệu quả sử dụng N (*NUE*) từ phân bón được tính toán bằng phương pháp chênh lệch theo đề xuất của Westerman & Kurtz (1974).

$$NUE (\%) = \frac{\text{Lượng N hấp thu (có bón)} - \text{Lượng N hấp thu (không bón)}}{\text{Lượng N bón}} \times 100$$

Số liệu được phân tích phương sai, giá trị trung bình giữa các nghiệm thức được phân hạng theo LSD ở xác suất $P < 0,05$ sử dụng phần mềm EXCEL® tích hợp sẵn macro add-in DSAASTAT phiên bản 1.512 (Onofri & Pannacci, 2014).

3. Kết Quả và Thảo Luận

3.1. Độc tính của compost sau ủ

Kiểm tra độc tính của compost dựa trên tỷ lệ nảy mầm là một trong những bước cần thiết để đánh giá mức độ gây độc với hệ rễ cây trồng trước khi sử dụng. Bảng 4 thống kê tỷ lệ nảy mầm, chiều dài rễ và chỉ số *GI* của các mẫu thử nghiệm.

Kết quả cho thấy tỷ lệ nảy mầm của các mẫu thí nghiệm đều cao và chỉ số *GI* phụ thuộc chủ yếu vào chiều dài rễ. Chỉ số *GI* của mẫu chưa ủ là thấp nhất đạt 49%, bằng $\frac{1}{2}$ so với mẫu đối chứng nước. Các mẫu compost sau khi ủ có chỉ số *GI* dao động trong khoảng 58% - 90%, mẫu đối chứng với phân hữu cơ vi sinh thương mại là 84%. Mẫu compost A có chỉ số *GI* tăng ở 20 NSU nhưng giảm ở 30 NSU, cao hơn và khác biệt rất có ý nghĩa thống kê so với compost B (Bảng 4).

Kết quả này phù hợp với giá trị TDS ở mẫu compost A tăng đột biến ở cuối tiến trình ủ. Bên cạnh, Bảng 2 cho thấy hàm lượng Hg ở mẫu compost B cao hơn 2,6 lần so với mẫu compost A. Như vậy, ủ compost giúp giảm độc tính của nguồn nguyên liệu ban đầu thông qua việc cải thiện chỉ số nảy mầm *GI*. Tuy nhiên TDS và hàm lượng kim loại nặng tích lũy trong sản phẩm compost sau ủ có thể là hai nguyên nhân dẫn đến chỉ số *GI* giảm. Kết quả này đặt ra yêu cầu về liều lượng bón compost cần xem xét mức độ an toàn đối với hệ thống đất-cây trồng.

Epstein (1997) cho rằng độc tính của compost gây ra bởi nhiều trường hợp như thiếu oxy do cạnh tranh giữa hệ rễ với vi sinh vật, sự tích lũy các hợp chất gây độc bởi acid hữu cơ, nồng độ NH_3 cao, hoặc do sự hiện diện của kim loại nặng và muối khoáng ở cuối tiến trình ủ.

3.2. Chiều cao và số cặp lá

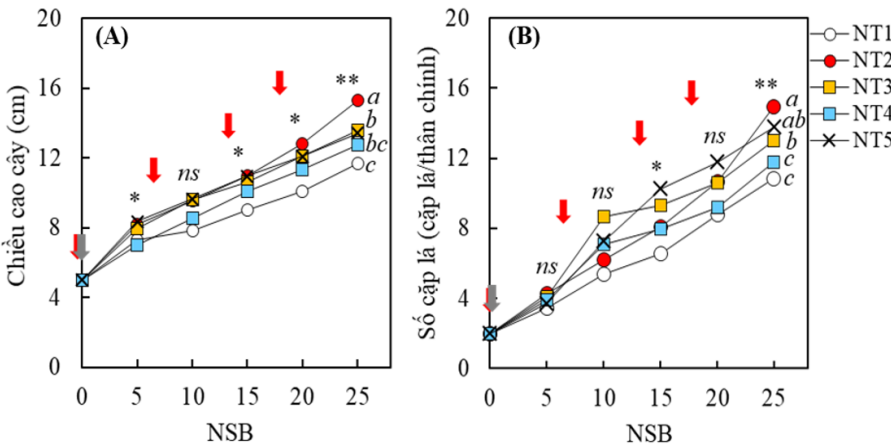
Chiều cao cây và số lá là các đặc tính sinh học thể hiện sự sinh trưởng thông thường của cây. Hình 1 biểu thị chiều cao cây và số cặp lá/thân chính chịu ảnh hưởng bởi các nghiệm thức phân bón khác nhau tại các thời điểm theo dõi.

Kết quả Hình 2 cho thấy chiều cao cây và số lá bắt đầu tăng sau khi nhận được lượng phân bón đầu tiên ở các nghiệm thức (ngoại trừ NT_1), tuy nhiên sự khác biệt so với nghiệm thức đối chứng không bón chỉ quan sát rõ từ 15 NSB.

Bảng 4. Tỷ lệ nảy mầm, chiều dài rễ và chỉ số GI tại thời điểm 48 giờ

	NSU (ngày)	Mẫu thử nghiệm	Tỷ lệ nảy mầm (%)	Chiều dài rễ (mm)	Chỉ số GI (%)
Nhóm chứng	–	Nước	93 ± 6	19,3 ± 0,7 ^a	100 ± 0 ^a
	–	HCVS	100 ± 0	16,2 ± 0,9 ^b	84 ± 2 ^b
Nhóm compost	0	Chưa ủ	93 ± 6	9,5 ± 0,8 ^c	49 ± 11 ^c
	10	Compost A	90 ± 10	15,4 ± 2,5 ^b	77 ± 18 ^b
		Compost B	100 ± 0	14,9 ± 1,3 ^b	83 ± 8 ^b
	20	Compost A	100 ± 0	16,1 ± 0,4 ^b	90 ± 8 ^{ab}
		Compost B	93 ± 6	11,2 ± 0,3 ^c	58 ± 5 ^c
	30	Compost A	97 ± 6	14,7 ± 2,9 ^b	79 ± 14 ^b
		Compost B	90 ± 10	11,8 ± 1,2 ^c	58 ± 4 ^c
CV (%)			6,51	10,61	10,39
F _{tính}			1,33ns	11,81**	13,42**

Các giá trị trung bình trong cùng một cột theo sau bởi cùng một ký tự không khác biệt thống kê theo trắc nghiệm phân hạng LSD ở xác suất $P < 0,05$; ns và ** lần lượt chỉ sự khác biệt không có ý nghĩa và khác biệt ở mức 0,01; HCVS = phân hữu cơ vi sinh thương mại; NSU = ngày sau ủ, GI = chỉ số nảy mầm.



Hình 2. Ảnh hưởng của phân bón đến chiều cao cây (A) và số cặp lá/thân chính (B)

Các giá trị trung bình tại cùng một thời điểm theo sau bởi cùng một ký tự không khác biệt thống kê theo trắc nghiệm phân hạng LSD ở xác suất $P < 0,05$; ns, * và ** lần lượt chỉ sự khác biệt không có ý nghĩa, khác biệt ở mức 0,05 và 0,01; NT₁ (không bón), NT₂ (100% NPK 16 - 16 - 8), NT₃ (100% Compost A), NT₄ (100% Compost B), NT₅ (100% HCVS 2 - 2 - 1); NSB = ngày sau bón lót; ↓ = thời điểm bón thúc ½ lượng phân hóa học NPK ở NT₂; ↓ = thời điểm bón lót toàn bộ compost và HCVS (NT₃-NT₅).

Bảng 5. Ảnh hưởng của phân bón đến năng suất và tỷ lệ hấp thu đạm của cải xoong Nhật

Thí nghiệm	Năng suất rau tươi (kg/1000 m ²)			Lượng N _{hấp thu} (kg/1000 m ²)		NUE (%)
	Đợt 1	Đợt 2	Tổng 2 đợt	Đợt 1	Đợt 1	
NT ₁ (không bón)	635,1 ^c	266,2 ^b	901,3 ^c	1,97 ^c	—	—
NT ₂ (100% NPK 16-16-8)	1443,6 ^{ab}	603,0 ^a	2046,6 ^{ab}	6,66 ^a	58,6 ^a	58,6 ^a
NT ₃ (100% Compost A)	1065,7 ^{bc}	696,5 ^a	1762,2 ^b	3,92 ^b	24,4 ^b	24,4 ^b
NT ₄ (100% Compost B)	1032,4 ^{bc}	630,8 ^a	1663,2 ^b	3,78 ^b	22,6 ^b	22,6 ^b
NT ₅ (100% HCVS)	1721,0 ^a	755,3 ^a	2476,3 ^a	6,32 ^a	54,4 ^a	54,4 ^a
CV (%)	19,7	27,8	16,7	20,2	29,7	29,7
F _{tính}	9,6**	4,0*	11,6**	13,6**	7,8*	7,8*

Các giá trị trung bình trong cùng một cột theo sau bởi cùng một ký tự không khác biệt thống kê theo trắc nghiệm phân hạng LSD ở xác suất $P < 0,05$; * và ** lần lượt chỉ sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê, khác biệt ở mức 0,05 và 0,01; NUE = hiệu quả sử dụng N, HCVS = phân hữu cơ vi sinh thương mại.

Nghiệm thức đối chứng với 100% phân bón hóa học (NT₂) có chiều cao cây và số lá vượt trội sau khi nhận đầy đủ lượng phân bón NPK ở 18 NSB. Kết quả cuối cùng ở 25 NSB cho thấy chiều cao cây ở các nghiệm thức nhận được 100% compost (NT₃, NT₄) thấp hơn so với nghiệm thức bón 100% phân bón hóa học nhưng không khác biệt ý nghĩa thống kê ($P > 0,05$) so với đối chứng bón 100% phân hữu cơ vi sinh thương mại (Hình 2A). Tại thời điểm thu hoạch, thứ tự sắp xếp theo chiều giảm dần số cặp lá/thân chính ở các nghiệm thức lần lượt là NT₂ $\geq$ NT₅ $\geq$ NT₃ $>$ NT₄ $\geq$ NT₁ (Hình 2B).

3.3. Năng suất và hiệu quả hấp thu đạm

Bón thử nghiệm cho cây trồng là khâu sau cùng trong việc đánh giá chất lượng của phân bón. Kết quả Bảng 5 cho thấy năng suất tổng hai đợt thu hoạch ở nghiệm thức bón 100% compost là 1762,2 kg/1000 m² (NT₃) và 1663,2 kg/1000 m² (NT₄) tương đương với nghiệm thức NT₂ bón 100% phân hóa học NPK (2046,6 kg/1000 m²), nhưng thấp hơn rất có ý nghĩa thống kê ($P < 0,01$) so với nghiệm thức bón phân hữu cơ vi sinh thương mại NT₅ (2476,3 kg/1000 m²).

Tuy nhiên với cùng một lượng bón đạm như nhau, sau 25 ngày bón cây trồng chỉ sử dụng khoảng 22,6–24,4% lượng đạm từ compost trong khi đối với HCVS và phân hóa học NPK con số này lần lượt là 54,4% và 58,6% (Bảng 5). Điều này cho thấy khả năng dinh dưỡng còn lại trong đất sau 25 ngày bón compost là cao hơn so với khi bón phân hóa học NPK và HCVS. Kết quả này phù hợp với báo cáo trong một nghiên cứu trước đó khi chỉ ra rằng tốc độ khoáng hóa đạm ở dạng nitrat chậm hơn ở các nghiệm thức bón compost so với trường hợp có sử dụng phân bón hóa học (Vu, 2020).

4. Kết Luận

Ủ compost từ mô hình hiếu khí giúp giảm độc tính của nguồn nguyên liệu ban đầu thông qua việc cải thiện chỉ số nảy mầm GI. Tổng chất rắn hòa tan và hàm lượng kim loại nặng trong sản phẩm compost sau ủ đều dưới ngưỡng cho phép nhưng có thể hạn chế sự phát triển của rễ.

Chất lượng của hai loại compost sử dụng trong thí nghiệm đáp ứng tốt các tiêu chí về chất lượng và các yếu tố hạn chế qui định đối với phân bón hữu cơ truyền thống. Sản phẩm sau ủ có thành

phần dinh dưỡng đạm, lân và kali cao cho kết quả năng suất rau cải xoong tương đương với bón 100% phân bón hóa học. Sau 25 ngày bón, cây trồng đã sử dụng hết $\frac{1}{2}$ lượng N từ phân hóa học hoặc phân HCVS thương mại, gấp đôi so với lượng N từ hai loại phân ủ compost.

Do điều kiện hạn chế của thí nghiệm, nghiên cứu cần được tiếp tục thử nghiệm lặp lại nhiều vụ và mở rộng trên một số nhóm cây trồng khác nhằm đánh giá toàn diện hơn về chất lượng cũng như hiệu quả sử dụng của phân ủ compost.

Lời Cam Đoan

Chúng tôi cam đoan bài báo do nhóm tác giả thực hiện và không có bất kỳ mâu thuẫn nào giữa các tác giả.

Tài Liệu Tham Khảo (References)

- Epstein, E. (1997). *The science of composting*. Boca Raton, Florida: CRC Press. <https://doi.org/10.1201/9780203736005>.
- Lewu, F. B., Volova, T., Thomas, S., & Rakhimol, K. R. (Eds.). (2020). *Controlled release fertilizers for sustainable agriculture*. Cambridge, USA: Academic Press. <https://doi.org/10.1016/C2018-0-04238-3>.
- Onofri, A., & Pannacci, E. (2014). Spread-sheet tools for biometry classes in crop science programmes. *Communication in Biometry and Crop Science* 9(2), 43-53, from http://agrobiol.sggw.pl/cbcs/articles/CBCS_9_2_1.pdf.
- SRHC (Southern Regional Hydrometeorological Center). (2021). Announcement on agricultural meteorology in the southern region for the months of March, April, and May, 2021. Retrieved June 05, 2021, from <http://www.kttv-nb.org.vn/index.php/thong-tin-kttv/khi-tuong>.
- Vu, T. T. N. (2020). *Effect of two composts on yield of Pak Choi (Brassica rapa var. Chinensis) and nitrogen mineralization rate in the soil* (Unpublished bachelor's thesis). Nong Lam University, Ho Chi Minh City, Vietnam.
- Westerman, R.L., & Kurtz, L.T. (1974). Isotopic and nonisotopic estimation of fertilizer nitrogen uptake by sudangrass in field experiment. *Soil Science Society of America Journal* 38(1), 107-109. <https://doi.org/10.2136/sssaj1974.03615995003800010033x>.
- Zucconi, F., Pera, A., Forte, M., & de Bertoldi, M. (1981). Evaluating toxicity of immature compost. *BioCycle* 22(2), 54-57.

Relationship between species diversity and biomass of evergreen broadleaf forests in the Central-Central Highlands

Anh T. Pham¹, Hung T. Vu¹, Hien T. T. Cao¹, Dung T. Hoang², Duc V. Viet¹, & Hai H. Nguyen^{1*}

¹Faculty of Silviculture, Vietnam National University of Forestry, Ha Noi, Vietnam

²Faculty of Economics and Business Administration, Vietnam National University of Forestry, Ha Noi, Vietnam

ARTICLE INFO

Research Paper

Received: November 08, 2021

Revised: February 07, 2022

Accepted: February 17, 2022

Keywords

Above-ground biomass
Central highlands
Phylogenetic diversity
Species diversity
Tropical evergreen forest

*Corresponding author

Nguyen Hong Hai
Email: hainh@vnuf.edu.vn

ABSTRACT

Species diversity and forest biomass represent the stability of the forest ecosystem in general and the evergreen broadleaf forest ecosystem, in particular. This study was carried out in three different geographical regions of the Central-Central Highlands region, namely Quang Binh, Thua Thien Hue and Gia Lai. The study used survey data of all small-diameter trees from 03 large size plots to study the relationship between species diversity, phylogenetic diversity, and above-ground biomass. The indices of species diversity, phylogenetic diversity and terrestrial biomass were calculated and compared statistically. The results showed that: (i) There was a significant difference in species diversity between the study plots; (ii) Phylogenetic clustering and overdispersion were found in the study plots; (iii) There was no significant correlation between species diversity and above-ground biomass in all three study plots. In brief, these results indicate that habitat factors have affected the diversity and phylogenetic diversity of the studied forest plant communities. In addition, future studies are needed in the direction of combining habitat factors such as climate, topography, and soil with forest succession stages to find out the correlations between biotic factors and infertile.

Cited as: Pham, A. T., Vu, H. T., Cao, H. T. T., Hoang, D. T., Viet, D. V., & Nguyen, H. H. (2022). Relationship between species diversity and biomass of evergreen broadleaf forests in the Central-Central Highlands. *The Journal of Agriculture and Development* 21(1), 65-73.

Quan hệ giữa đa dạng loài và sinh khối của rừng lá rộng thường xanh ở miền Trung-Tây Nguyên

Phạm Thế Anh¹, Vũ Tiến Hưng¹, Cao Thị Thu Hiền¹, Hoàng Thị Dung², Vi Việt Đức¹ & Nguyễn Hồng Hải^{1*}

¹Khoa Lâm Học, Trường Đại Học Lâm Nghiệp, Hà Nội

²Khoa Kinh Tế và Quản Trị Kinh Doanh, Trường Đại Học Lâm Nghiệp, Hà Nội

THÔNG TIN BÀI BÁO

Bài báo khoa học

Ngày nhận: 08/11/2021

Ngày chỉnh sửa: 07/02/2022

Ngày chấp nhận: 17/02/2022

Từ khóa

Miền Trung-Tây Nguyên
Rừng lá rộng thường xanh
Sinh khối trên mặt đất
Tính đa dạng và đa dạng phát sinh loài

*Tác giả liên hệ

Nguyễn Hồng Hải
Email: hainh@vnuf.edu.vn

TÓM TẮT

Tính đa dạng loài và sinh khối rừng biểu thị cho sự ổn định của hệ sinh thái rừng nói chung và hệ sinh thái rừng lá rộng thường xanh nói riêng. Nghiên cứu này được thực hiện trên ba vùng địa lý khác nhau của khu vực miền Trung-Tây Nguyên là Quảng Bình, Thừa Thiên Huế và Gia Lai. Nghiên cứu sử dụng dữ liệu điều tra toàn bộ cây thân gỗ có đường kính ngang ngực từ 2,5 cm trở lên trong 03 ô nghiên cứu có kích thước 2 ha (100 x 200 m) để nghiên cứu mối quan hệ giữa đa dạng loài, đa dạng phát sinh loài và sinh khối trên mặt đất. Các chỉ số đa dạng loài, đa dạng phát sinh loài và sinh khối trên mặt đất được xử lý và so sánh thống kê. Kết quả cho thấy: (i) Có sự khác nhau rõ rệt về đa dạng loài giữa các ô nghiên cứu; (ii) Đa dạng phát sinh loài bao gồm cả dạng cụm và dạng đều ở các ô nghiên cứu; (iii) Tương quan giữa tính đa dạng loài và sinh khối trên mặt đất ở mức yếu tới mức vừa. Kết quả này cho thấy: (i) Các yếu tố môi trường sống đã ảnh hưởng đến tính đa dạng và đa dạng phát sinh loài của quần xã thực vật rừng được nghiên cứu; (ii) Cần có các nghiên cứu bổ sung theo hướng kết hợp các yếu tố môi trường sống như khí hậu, địa hình, thổ nhưỡng với các giai đoạn diễn thế của rừng để tìm ra các mối tương quan giữa các yếu tố hữu sinh và vô sinh.

1. Đặt Vấn Đề

Các hoạt động của con người trực tiếp hoặc gián tiếp đã làm thay đổi hệ sinh thái rừng và chức năng của hệ sinh thái (Hooper & ctv., 2005), bao gồm sự nóng lên toàn cầu, mất và suy giảm đa dạng sinh học, tăng dân số, khai thác quá mức các nguồn tài nguyên thiên nhiên, ô nhiễm và phá rừng, trong đó có những vấn đề liên quan trực tiếp đến sự tồn tại của loài người. Trong một hệ sinh thái rừng, chức năng quan trọng nhất chính là sản lượng rừng và được xác định thông qua lượng sinh khối tăng trưởng hàng năm.

Có nhiều thí nghiệm về đa dạng sinh học cho thấy sinh khối cao hơn khi hệ sinh thái có tính đa dạng loài cao hơn (Loreau & Hector, 2001). Bên cạnh đó, cũng có nhiều nghiên cứu thực nghiệm cho thấy không có quan hệ hoặc quan hệ nghịch giữa tính đa dạng và sinh khối rừng. Bohn & Huth

(2017) nghiên cứu mối quan hệ giữa đa dạng loài và sinh khối của gần 300,000 lâm phần rừng các loại trên thế giới và kết luận rằng (i) sinh khối rừng trung bình không tăng cùng với đa dạng loài, (ii) biến động chủ yếu do cấu trúc của rừng.

Đa dạng phát sinh loài được coi là một công cụ dự báo cho tính ổn định của quần xã về năng suất sinh khối theo không gian và thời gian vì nó chứa đựng các thông tin bổ sung về loài (Gravel & ctv., 2012; Cadotte, 2015). Lasky & ctv. (2014) và Satdichanh & ctv. (2019) đã tìm thấy mối quan hệ chặt chẽ giữa đa dạng phát sinh loài và sinh khối trên mặt đất (AGB) ở những giai đoạn diễn thế sớm. Phát sinh loài dạng cụm cho thấy sự cùng tồn tại của các loài có quan hệ họ hàng gần gũi và cùng thích ứng với điều kiện môi trường. Trong khi, phát sinh loài dạng đều được cho là xuất hiện ở giai đoạn diễn thế muộn bởi vì sự chi phối của cạnh tranh loại trừ (Maire & ctv., 2012;

Purschke & ctv., 2013; Satdichanh & ctv., 2019).

Trong nghiên cứu này chúng tôi phân tích vai trò của đa dạng loài và sinh khối rừng tự nhiên lá rộng thường xanh ở khu vực miền Trung và Tây Nguyên. Chúng tôi sử dụng dữ liệu điều tra cây rừng từ cỡ đường kính nhỏ ($D_{1,3} \geq 2,5$ cm) trên các ô tiêu chuẩn có diện tích 2 ha (100 x 200 m) để có thể quan sát được các quan hệ giữa đa dạng loài và sinh khối trên mặt đất trong quần xã. Cách tiếp cận này cho phép nghiên cứu ảnh hưởng của phân bố loài trong phạm vi một lâm phần một cách tương đối đầy đủ.

2. Vật Liệu và Phương Pháp Nghiên Cứu

2.1. Vật liệu, địa điểm nghiên cứu

Khu vực nghiên cứu thuộc Lâm trường Trường Sơn, tỉnh Quảng Bình (ô nghiên cứu - ONC 1). Khu vực này có khí hậu nhiệt đới gió mùa với nhiệt độ trung bình năm là $23,5^{\circ}\text{C}$. Lượng mưa trung bình năm là 3.000 mm, trong đó mùa mưa từ tháng 10 đến tháng 12, chiếm khoảng 60 – 70% lượng mưa cả năm, mùa khô kéo dài từ tháng ba đến tháng tám hàng năm. Độ cao địa hình khu vực nghiên cứu từ 134 đến 160 m và độ dốc trung bình khoảng 25° .

Ô nghiên cứu (ONC 2) được thiết lập trên kiểu rừng lá rộng thường xanh, thuộc huyện A Lưới, tỉnh Thừa Thiên Huế. Ở đây, nhiệt độ trung bình năm xấp xỉ 25°C . Trung bình một năm có 200 ngày mưa, với lượng mưa khoảng 3.500 mm. Mùa mưa kéo dài từ tháng 9 đến tháng 12 và chiếm 70 – 80% tổng lượng mưa hàng năm, mùa khô kéo dài từ tháng 1 đến tháng 8. Đất chủ yếu là ferralit vàng nhạt đến nâu vàng. Độ cao của khu vực nghiên cứu biến đổi từ 625 m đến 660 m so với mực nước biển và độ dốc trung bình là 25° .

Ô nghiên cứu (ONC 3) được thiết lập trên khu vực là rừng lá rộng thường xanh ẩm nhiệt đới với diện tích xấp xỉ 1.400 ha thuộc huyện Kbang, tỉnh Gia Lai. Từ năm 1980 đến nay, toàn bộ diện tích này được trạm thực nghiệm Kon Hà Nừng bảo vệ nghiêm ngặt phục vụ mục đích bảo tồn và nghiên cứu khoa học. Khu vực này có nhiệt độ trung bình năm là $23,6^{\circ}\text{C}$. Lượng mưa trung bình năm khoảng 2.042 mm. Mùa mưa kéo dài từ tháng 5 đến tháng 12 và chiếm 90% tổng lượng mưa hàng năm, mùa khô kéo dài từ tháng 1 đến tháng 4. Đất chủ yếu là đất nâu tím điển hình, đất đỏ vàng, đất đỏ vàng có tầng sét loang lổ và đất đỏ vàng trên đá sét và đá biến chất. Độ cao

so với mực nước biển xấp xỉ 700 m và độ dốc $< 5^{\circ}$.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Thu thập số liệu

Nghiên cứu đã thiết lập 03 ô nghiên cứu (ONC) tạm thời có diện tích 2 ha (100 m x 200 m). Ở Quảng Bình, ONC 1 có tọa độ $17^{\circ}20,15'$ Bắc và $106^{\circ}26,24'$ Đông; ở Thừa Thiên Huế, ONC 2 có tọa độ $16^{\circ}08,35'$ Bắc và $107^{\circ}16,68'$ Đông; và ở Gia Lai, ONC 3 có tọa độ $14^{\circ}11,49'$ Bắc và $108^{\circ}39,39'$ Đông.

Mỗi ONC được chia thành một hệ thống gồm 200 ô thứ cấp (10 m x 10 m). Trên cơ sở các ô thứ cấp, xác định được tên loài, đường kính ngang ngực ($D_{1,3}$), tọa độ tương đối bằng thước đo khoảng cách (Leica Disto D5) và la bàn cho tất cả các cây thân gỗ có đường kính ngang ngực tại vị trí $1,3 \text{ m} \geq 2,5 \text{ cm}$.

2.2.2. Phân tích số liệu

Sinh khối và đa dạng loài

Sinh khối trên mặt đất (AGB) được ước lượng thông qua công thức của Bao (2009) cho rừng lá rộng thường xanh: $\text{AGB} = 0.2626 \times \text{DBH}^{2,3955}$ trong đó: DBH là đường kính ngang ngực (cm).

Chúng tôi sử dụng các chỉ số mô tả đa dạng loài gồm: Số loài, Shannon (H), Simpson (D), độ đồng đều Pielou (J') và độ phong phú loài Margalef (d) (Magurran, 1988). Độ nhiều: số loài được phát hiện trong mỗi phân ô. Chỉ số ưu thế Simpson là sự kết hợp của độ phong phú loài và mức độ đồng đều. Chỉ số Shannon nhạy hơn chỉ số Simpson đối với các loài hiếm gặp (Heip & ctv., 1998). *Chỉ số ưu thế loài Simpson (1-D)*: được sử dụng để đánh giá sự đa dạng về số lượng loài của một quần xã. Chỉ số D được tính theo công thức:

$$1 - D = 1 - \sum_{i=1}^S P_i^2 = 1 - \sum_{i=1}^S \left(\frac{n_i}{N} \right)^2$$

Trong đó: S- Số loài cây bắt gặp; N- Tổng số cá thể của các loài cây; P_i - là độ nhiều tương đối của loài thứ i; $P_i = \frac{n_i}{N}$ với n_i là số cá thể của loài thứ i ($i = 1 \div S$).

Chỉ số đa dạng loài Shannon – Weiner (H'): được sử dụng để đo đặc tính đa dạng về số loài

cây gỗ cho từng trạng thái rừng. Chỉ số H' được tính theo công thức:

$$H' = - \sum [(n_i/N) * \log(n_i/N)]$$

Trong đó: N- Tổng số cây trong ô tiêu chuẩn;
ni: Số cây của loài thứ i.

$$\text{Chỉ số đồng đều Pielou } (J'): J' = \frac{H'}{\ln S}$$

Trong đó: H' là chỉ số đa dạng Shannon-Weiner,
S: số loài.

Chỉ số độ phong phú loài Margalef (d):

$$d = (S-1)/\log N$$

Các chỉ số đa dạng loài được tính cho từng phân ô trong mỗi ô tiêu chuẩn thông qua phần mềm PAST 3.25 (PALEontological Statistics, <https://folk.uio.no/ohammer/past/>).

Để so sánh mức độ đa dạng giữa các ONC, nghiên cứu tiến hành so sánh các chỉ số đa dạng (độ phong phú, độ nhiều, Shannon – Wiener, Simpson và độ đồng đều) bằng tiêu chuẩn phi tham số Kruskal - Wallis thông qua phần mềm SPSS 12.

Cấu trúc và đa dạng phát sinh loài

Tên loài cây được chuẩn hóa thông qua ứng dụng trực tuyến Taxonomic name resolution service v4.0 (Boyle & ctv., 2013) tại địa chỉ <http://tnrs.iplantcollaborative.org>. Sau đó danh sách loài cây được đối chiếu với cây phân loại APG IV - Angiosperm Phylogeny Group (R20160415.new, Gastauer & Meira Neto (2017) tại địa chỉ <http://phylodiversity.net/phyloomatic/>. Để đánh giá cấu trúc đa dạng phát sinh loài, chúng tôi sử dụng các chỉ số: Khoảng cách phát sinh loài trung bình - Mean Phylogenetic Distance (MPD); Chỉ số quan hệ thuần - Net Related Index (NRI); Chỉ số phân loại thuần - Net nearest taxon index (NTI); Khoảng cách phát sinh loài - Phylogenetic Distance (PD); Dp- Rao's đa dạng phát sinh loài - Diversity phylogeny (Dp); Khoảng cách phân loại trung bình-Mean nearest taxon distance (MNTD) được tính toán thông qua phần mềm Phylocom 4.2 (Webb & ctv., 2008)

PD cho biết tổng độ dài của các nhánh trong cây phát sinh loài của quần xã (Faith, 1992), Dp là chỉ số Rao bậc hai được tính thông qua khoảng cách phát sinh của các cặp loài cây (Champely & Chessel, 2002).

NRI và NTI được tính bởi công thức:

$$NRI = -\left(\frac{MPD_{obs}-MPD_{rd}}{sdMPD_{rd}}\right)$$

$$NTI = -\left(\frac{MNTD_{obs}-MNTD_{rd}}{sdMNTD_{rd}}\right)$$

Trong đó:

MPD_{obs} : giá trị thực nghiệm; MPD_{rd} : giá trị kỳ vọng và $sdMPD_{rd}$: độ lệch chuẩn của khoảng cách phát sinh loài trung bình; $MNTD_{obs}$: giá trị thực nghiệm; $MNTD_{rd}$: giá trị kỳ vọng và $sdMNTD_{rd}$: độ lệch chuẩn của khoảng cách phân loại trung bình.

Giá trị NRI và NTI > 0 cho biết phát sinh loài dạng cụm, giá trị NRI và NTI < 0 cho biết phát sinh loài dạng đều.

Quan hệ giữa sinh khối trên mặt đất (AGB) với đa dạng loài

Sinh khối trên mặt đất (AGB) là biến phụ thuộc (Y). Các biến độc lập (X_i) bao gồm độ nhiều, độ phong phú, chỉ số Shannon - Wiener, chỉ số Simpson và độ đồng đều.

Trong nghiên cứu này giả thiết quan hệ giữa biến Y với các biến độc lập là theo dạng tuyến tính nhiều lớp, phương trình như sau:

$$Y = a_0 + a_1.X_1 + a_2.X_2 + a_3.X_3 + \dots + a_k.X_k$$

Trong đó:

Y là biến phụ thuộc

X_i là các biến độc lập

Hệ số a_i nào có mức ý nghĩa p-value < 0,05 thì hệ số đó tồn tại (nghĩa là biến số độc lập tương ứng có ảnh hưởng rõ đến biến phụ thuộc) và ngược lại.

Trong trường hợp biến độc lập không ảnh hưởng đến biến phụ thuộc thì sẽ bị loại ra khỏi phương trình tính quan hệ giữa nhân tố điều tra với các nhân tố sinh thái.

Trong nghiên cứu này sẽ sử dụng phương pháp loại trừ từng bước (backward selection), nghĩa là tất cả các biến độc lập sẽ được đưa vào mô hình, sau đó, các biến độc lập không có ảnh hưởng đáng kể tới biến phụ thuộc sẽ lần lượt loại khỏi mô hình, mô hình cuối cùng sẽ là mô hình được chọn và các biến độc lập trong mô hình có ảnh hưởng tới biến phụ thuộc.

Bảng 1. Các đặc trưng cấu trúc và đa dạng loài của 3 lâm phần (Trung bình $\pm$ độ lệch chuẩn)

Đặc trưng	Quảng Bình (ONC 1)	Thừa Thiên Huế (ONC 2)	Gia Lai (ONC 3)
Đặc điểm lâm phần			
Số loài (loài)	63	82	98
Mật độ (cây/ha)	1.968	1.577	1.727
Chiều cao (m)	7,09	8,38	11,55
Đường kính (cm)	8,74	13,44	12,15
Tiết diện ngang (m ² /ha)	23,62 $\pm$ 0,17	34,08 $\pm$ 0,33	40,79 $\pm$ 0,36
AGB (tấn/ha)	93,05 $\pm$ 0,93	209,03 $\pm$ 0,82	179,76 $\pm$ 0,89
Chỉ số đa dạng loài			
Độ nhiều	11,39 $\pm$ 0,17	8,65 $\pm$ 0,23	12,46 $\pm$ 0,22
Độ phong phú	19,68 $\pm$ 0,37	15,77 $\pm$ 0,56	17,27 $\pm$ 0,33
Shannon - Wiener	2,22 $\pm$ 0,03	1,91 $\pm$ 0,03	2,39 $\pm$ 0,02
Simpson	0,87 $\pm$ 0,03	0,81 $\pm$ 0,005	0,89 $\pm$ 0,003
Độ đồng đều	0,86 $\pm$ 0,01	0,85 $\pm$ 0,01	0,91 $\pm$ 0,003

ONC: Ô nghiên cứu.

Bảng 2. Trị số xếp giữa của 3 ONC theo 5 chỉ số đa dạng

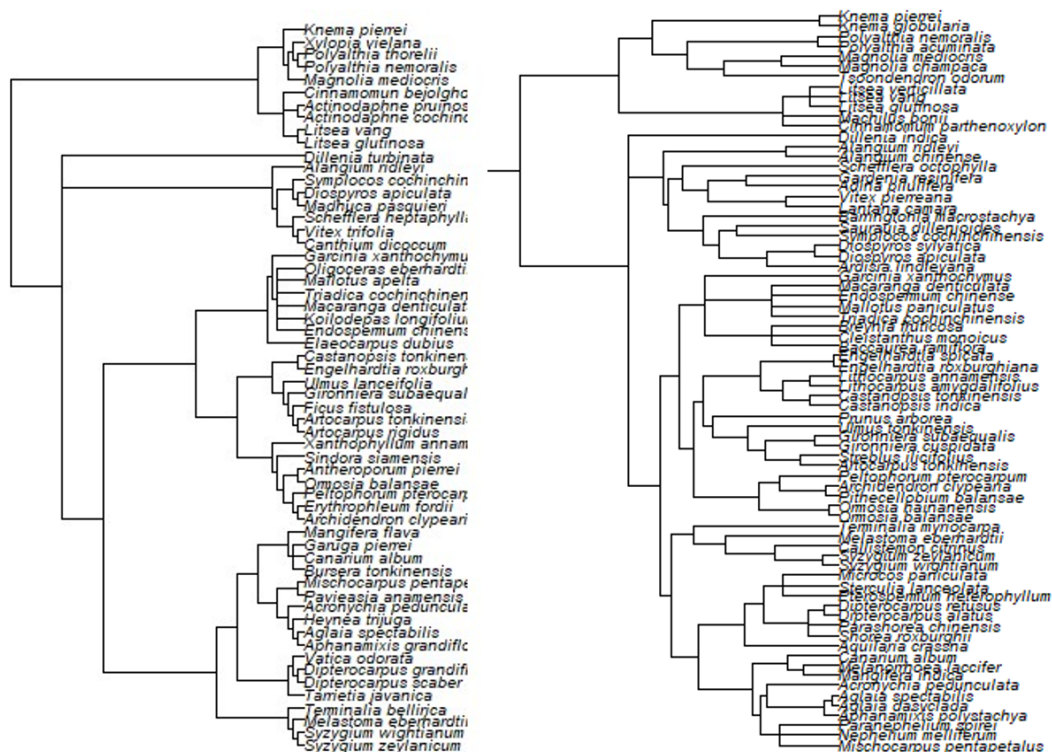
Chỉ số đa dạng	χ^2	Sig.	Trị số xếp hạng		
			ONC 1	ONC 2	ONC 3
Số loài	137,97	0,000	332,27	382,14	187,09
Độ phong phú	44,42	0,000	361,99	291,97	247,54
Shannon – Wiener	181,57	0,000	321,33	405,48	174,70
Simpson	199,03	0,000	313,36	415,84	172,30
Độ đồng đều	68,72	0,000	255,37	383,36	262,78

ONC: Ô nghiên cứu.

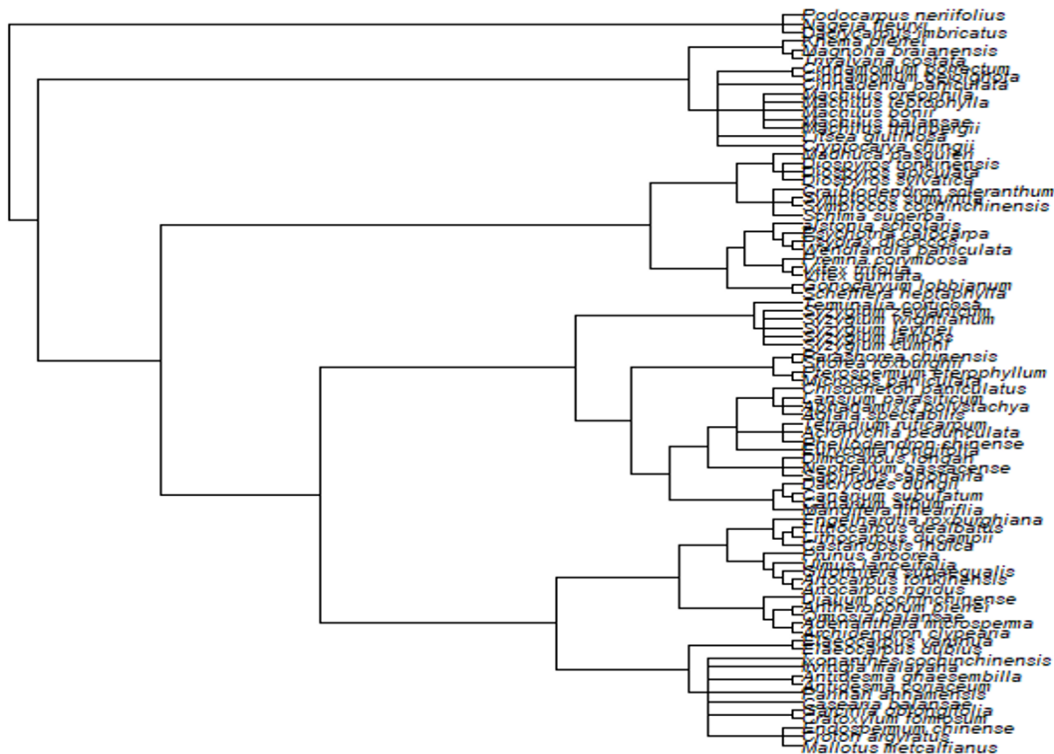
Bảng 3. Các đặc trưng cấu trúc và đa dạng phát sinh loài của 3 lâm phần

Đặc trưng	ONC 1	ONC 2	ONC 3
Độ nhiều	58	73	82
Khoảng cách phát sinh loài trung bình	25,32	25,54	26,82
Chỉ số quan hệ thuần	-0,99	2,24	0,06
Chỉ số phân loại thuần	-0,99	-0,39	0,88
Khoảng cách phân loại trung bình	6,44	5,01	5,43
Khoảng cách phát sinh loài	307,00	335,00	390,00
Rao's đa dạng phát sinh loài	11,53	11,93	12,68

ONC: Ô nghiên cứu.



Hình 2. Cây phát sinh loài của lâm phần ở Quảng Bình (Ô nghiên cứu 1) và Thừa Thiên Huế (Ô nghiên cứu 2).



Hình 3. Cây phát sinh loài của lâm phần ở Gia Lai (Ô nghiên cứu 3) (tiếp theo).

3. Kết Quả và Thảo Luận

3.1. Cấu trúc và đa dạng loài của quần xã

Kết quả Bảng 1 cho thấy: Mật độ lâm phần dao động từ 1.577 cây/ha đến 1.968 cây/ha. Đường kính trung bình dao động từ 8,74 cm đến 13,44 cm, chiều cao trung bình nằm trong khoảng từ 7,09 m đến 11,55 m, tổng tiết diện ngang lâm phần từ $23,62 \pm 0,17 \text{ m}^2/\text{ha}$ đến $40,79 \pm 0,36 \text{ m}^2/\text{ha}$. Giá trị AGB nằm trong khoảng từ $93,05 \pm 0,93 \text{ tấn/ha}$ đến $209,03 \pm 0,82 \text{ tấn/ha}$.

Đa dạng loài cây có sự khác biệt nhiều giữa các lâm phần. Giá trị số loài, độ phong phú, chỉ số đa dạng Shannon - Wiener, chỉ số đa dạng Simpson và độ đồng đều thấp nhất là ở Thừa Thiên Huế với giá trị của các chỉ số này lần lượt là $8,65 \pm 0,23$; $15,77 \pm 0,56$; $1,91 \pm 0,03$; $0,81 \pm 0,005$; $0,85 \pm 0,01$; trong khi các giá trị này cao nhất là ở Gia Lai ($12,46 \pm 0,22$; $17,27 \pm 0,33$; $2,39 \pm 0,02$; $0,89 \pm 0,003$; $0,91 \pm 0,003$) (Bảng 1).

Kết quả Bảng 2 cho thấy, giá trị χ^2 tính được của 5 chỉ số đa dạng dao động trong khoảng từ 44,42 đến 199,03, các giá trị Sig. tương ứng bằng 0,000, nhỏ hơn so với 0,05, điều này có nghĩa là các giá trị về chỉ số đa dạng giữa các ONC là khác nhau.

Dựa vào trị số xếp hạng giữa các ONC (Bảng 2) cho thấy, ONC 2 có trị số xếp hạng của các chỉ số đa dạng là độ nhiều, Shannon - Wiener, Simpson và độ đồng đều là cao hơn so với ONC 1 và ONC 3. Ngoài ra, kết quả Bảng 1 cũng cho thấy các giá trị về độ nhiều, Shannon - Wiener, Simpson và độ đồng đều của ONC 2 cũng cao hơn so với 2 ONC còn lại, như vậy có thể kết luận rằng ONC 2 đa dạng hơn so với ONC 1 và ONC 3. Tương tự, giá trị xếp hạng của các chỉ số đa dạng và các giá trị của các chỉ số đa dạng ở ONC 1 cao hơn so với ONC 3, như vậy mức độ đa dạng loài cây của ONC 1 cao hơn so với ONC 3. Trị số xếp hạng 5 chỉ số đa dạng và giá trị của các chỉ số đa dạng ở ONC 3 là nhỏ nhất, chứng tỏ mức độ đa dạng loài cây của ONC 3 nhỏ hơn so với ONC 1 và ONC 2.

3.2. Cấu trúc và đa dạng phát sinh loài

Sau khi chuẩn hóa tên loài cây, ONC 1 gồm có 58 loài cây thuộc 58 chi và 32 họ khác nhau, các họ chiếm đa số bao gồm Euphorbiaceae, Fabaceae và Lauraceae. ONC 2 gồm 73 loài cây thuộc 59 chi và 37 họ khác nhau, mỗi họ chỉ gồm 1-2 loài

cây; quần xã thực vật rừng này có các loài cây ưa sáng chiếm ưu thế như trâm vồ đỏ (*Syzygium zeylanicum*), trâm trắng (*Syzygium wightianum*) và bời lời vàng (*Litsea vang*). ONC 3 bao gồm 82 loài, thuộc 67 chi và 42 họ khác nhau, phổ biến nhất là họ Lauraceae, Myrtaceae, Fabaceae và Meliaceae.

Kết quả trong Bảng 3 cho thấy, chỉ số đa dạng phát sinh loài Dp cũng minh chứng cho xu hướng giảm của độ nhiều của loài, Dp = 12,68 (ONC 3) và Dp = 11,53 (ONC 1). Giá trị MPD và PD cũng cho thấy xu hướng giảm của khoảng cách phát sinh từ ONC 3 (MPD = 26,82 và PD = 390) xuống ONC 1 (MPD = 25,32 và PD = 307).

ONC 1 có giá trị NRI < 0 và NTI < 0 cho biết phát sinh loài dạng đều (Bảng 3). Ngược lại, ONC 3 có giá trị NRI > 0 và NTI > 0 cho biết phát sinh loài dạng cụm. Ở ONC 2, giá trị NRI > 0 cho biết các loài trong quần xã có quan hệ phát sinh loài dạng cụm và giá trị NTI < 0 cho biết phát sinh loài dạng đều ở các phân nhánh của cây phát sinh loài. Khoảng cách phát sinh loài được minh họa thông qua giá trị MNTD, ONC 1 phát sinh loài dạng đều và có MNTD = 6,44, trong khi ONC 3 phát sinh loài dạng cụm và có MNTD = 5,43.

MPD- Khoảng cách phát sinh loài trung bình; NRI- Chỉ số quan hệ thuần; NTI - Chỉ số phân loại thuần; PD- Khoảng cách phát sinh loài; Dp- Rao's đa dạng phát sinh loài; MNTD- Khoảng cách phân loại trung bình.

Cây phát sinh chủng loại của 03 ONC được trình bày trong Hình 2 (ONC 1 và ONC 2) và Hình 3 (ONC 3)

3.3. Quan hệ giữa sinh khối trên mặt đất (AGB) với đa dạng loài

Kết quả phân tích tương quan giữa sinh khối trên mặt đất và các chỉ số biểu diễn tính đa dạng loài cho thấy mối tương quan yếu đến vừa. Cụ thể, tại ONC 1 (Quảng Bình), AGB có mối tương quan với độ phong phú (d), số loài (S) và chỉ số Simpson (1-D), tuy nhiên mối quan hệ này ở mức yếu (R = 0,234). Tại ONC 2 (Thừa Thiên Huế), AGB chỉ có mối tương quan với số loài (S) và mối quan hệ này cũng ở mức yếu (R = 0,198). Tại ONC 3 (Gia Lai), AGB có mối tương quan với số loài (S), chỉ số Shannon-Wiener (H'), độ đồng đều (J'), mối quan hệ này ở mức vừa (R = 0,332).

Phương trình tương quan giữa sinh khối trên

mặt đất và các chỉ số biểu diễn tính đa dạng loài của các ONC cụ thể như sau:

ONC 1: $AGB = -5405,27 - 227,60 * S + 90,12 * d + 8931,38 * (1-D)$

ONC 2: $AGB = -2980,94 + 821,60 * S$

ONC 3: $AGB = -1534971,81 + 341383,59 * S - 2233280,71 * H' + 3441230,14 * J'$

Từ các phương trình tương quan cho thấy: AGB có mối tương quan thuận với số loài (S) ở cả 3 ONC. Biến độc lập là độ phong phú (d) và chỉ số Simpson (1-D) chỉ xuất hiện trong mối tương quan với AGB ở ONC 1 và đều có mối tương quan thuận với AGB. Tương tự, biến độc lập là chỉ số Shannon-Wiener (H') và độ đồng đều (J') xuất hiện trong mối tương quan với AGB ở ONC 3 và chỉ số Shannon-Wiener có mối tương quan nghịch với AGB, độ đồng đều có mối tương quan thuận với AGB.

Các yếu tố môi trường sống như ánh sáng, nhiệt độ, lượng mưa, loại đất và địa hình có vai trò quan trọng trong quá trình thích nghi và tồn tại của mỗi loài (Maire & ctv., 2012; Satdichanh & ctv., 2019). Nghiên cứu này được thực hiện trên 03 vùng địa lý khác nhau với các điều kiện môi trường khác nhau và đã chỉ ra sự khác nhau rõ rệt về tính đa dạng loài ở 03 ONC. Kết quả của nghiên cứu này là tìm ra minh chứng của phát sinh loài dạng đều và dạng cụm của các quần xã thực vật rừng.

Phát sinh loài dạng cụm cho thấy các yếu tố môi trường đã làm thay đổi tập hợp loài cây dẫn đến các loài cùng tồn tại có quan hệ phát sinh gần gũi với nhau hơn do cùng chia sẻ các điều kiện sống tương tự nhau (Burns & Strauss, 2011). Phát sinh loài dạng đều cho thấy quá trình tương tác có chọn lọc đã dẫn đến khoảng cách phát sinh loài đều hơn giữa các loài (Webb & ctv., 2002). Nghiên cứu này không phát hiện được mối tương quan chặt giữa sinh khối rừng và tính đa dạng loài của quần xã thực vật thân gỗ. Satdichanh & ctv. (2019) đã tìm ra mối tương quan chặt giữa đa dạng phát sinh loài với dinh dưỡng đất và độ cao địa hình khi nghiên cứu ở rừng thứ sinh trên núi khu vực Đông Nam Á. Vì thế, các nghiên cứu tiếp theo nên tìm hiểu mối quan hệ giữa sinh khối rừng với tính đa dạng loài giữa các giai đoạn diễn thế kết hợp phân tích ảnh hưởng của các yếu tố môi trường (Nguyen & ctv., 2020).

4. Kết Luận

Nghiên cứu này được thực hiện trên ba vùng địa lý khác nhau ở miền Trung và Tây nguyên. Dựa vào dữ liệu điều tra trên các ô tiêu chuẩn có kích thước lớn, chúng tôi kết luận là (1) Giữa các ô nghiên cứu, đa dạng loài cây có sự khác biệt thống kê rõ ràng; (2) Đa dạng phát sinh loài bao gồm cả dạng cụm ở ONC 3- Gia Lai và dạng đều ở ONC 1- Quảng Bình, trong khi ONC 2-Thừa Thiên Huế cho kết quả chưa rõ ràng; (3) Tương quan giữa tính đa dạng loài và sinh khối trên mặt đất ở mức yếu tới mức vừa. Như vậy, các yếu tố vị trí địa lý đã ảnh hưởng đến tính đa dạng và đa dạng phát sinh loài của quần xã thực vật rừng được nghiên cứu. Do đó, cần có các nghiên cứu bổ sung theo hướng kết hợp các yếu tố môi trường sống như khí hậu, địa hình, thổ nhưỡng với các giai đoạn diễn thế của rừng để tìm ra các mối tương quan giữa các yếu tố hữu sinh và vô sinh.

Lời Cam Đoan

Các tác giả không có bất kỳ mâu thuẫn nào.

Lời Cảm Ơn

Nghiên cứu này được tài trợ bởi Quỹ Phát triển khoa học và công nghệ Quốc gia (NAFOSTED) trong đề tài mã số 106.06-2019.307.

Tài Liệu Tham Khảo (References)

- Bao, H. (2009). Methodology for research on CO₂ sequestration in natural forests to join the program of reducing emissions from deforestation and degradation. *Science Technology Journal of Agriculture and Rural Development* 130, 85-91.
- Bohn, F. J., & Huth, A. (2017). The importance of forest structure to biodiversity-productivity relationships. *Royal Society Open Science* 4(1), 160521. <https://doi.org/10.1098/rsos.160521>.
- Boyle, B., Hopkins, N., Lu, Z., Raygoza Garay, J. A., Mozzherin, D., Rees, T., Matasci, N., Narro, M. L., Piel, W. H., McKay, S. J., Lowry, S., Freeland, C., Peet, R. K., & Enquist, B. J. (2013). The taxonomic name resolution service: an online tool for automated standardization of plant names. *BMC bioinformatics* 14(1), 1-15. <https://doi.org/10.1186/1471-2105-14-16>.
- Burns, J. H., & Strauss, S. Y. (2011). More closely related species are more ecologically similar in an experimental test. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 108(13), 5302-5307. <https://doi.org/10.1073/pnas.1013003108>.
- Cadotte, M. W. (2015). Phylogenetic diversity-ecosystem function relationships are insensitive to phylogenetic

- edge lengths. *Functional Ecology* 29(5), 718-723. <https://doi.org/10.1111/1365-2435.12429>.
- Champely, S., & Chessel, D. (2002). Measuring biological diversity using Euclidean metrics. *Environmental and Ecological Statistics* 9(2), 167-177. <https://doi.org/10.1023/A:1015170104476>.
- Faith, D. P. (1992). Conservation evaluation and phylogenetic diversity. *Biological Conservation* 61(1), 1-10. [https://doi.org/10.1016/0006-3207\(92\)91201-3](https://doi.org/10.1016/0006-3207(92)91201-3).
- Gastauer, M., & Meira Neto, J. A. A. (2017). Updated angiosperm family tree for analyzing phylogenetic diversity and community structure. *Acta Botanica Brasiliica* 31(2), 191-198. <https://doi.org/10.1590/0102-33062016abb0306>.
- Gravel, D., Bell, T., Barbera, C., Combe, M., Pommier, T., & Mouquet, N. (2012). Phylogenetic constraints on ecosystem functioning. *Nature Communications* 3(1), 1-6. <https://doi.org/10.1038/ncomms2123>.
- Heip, C. H., Herman, P. M. J., & Soetaert, K. (1998). Indices of diversity and evenness. *Oecologia* 115(4), 61-88.
- Hooper, D. U., Chapin Iii, F. S., Ewel, J. J., Hector, A., Inchausti, P., Lavorel, S., Lawton, J. H., Lodge, D. M., Loreau, M., Naeem, S., Schmid, B., Setälä, H., Symstad, A. J., Vandermeer, J., & Wardle, D. A. (2005). Effects of biodiversity on ecosystem functioning: a consensus of current knowledge. *Ecological Monographs* 75(1), 3-35. <https://doi.org/10.1890/04-0922>.
- Lasky, J. R., Uriarte, M., Boukili, V. K., Erickson, D. L., John Kress, W., & Chazdon, R. L. (2014). The relationship between tree biodiversity and biomass dynamics changes with tropical forest succession. *Ecology Letters* 17(9), 1158-1167. <https://doi.org/10.1111/ele.12322>.
- Loreau, M., & Hector, A. (2001). Partitioning selection and complementarity in biodiversity experiments. *Nature* 412(6842), 72-76. <https://doi.org/10.1038/35083573>.
- Magurran, A. E. (1988). *Ecological diversity and its measurement*. New Jersey, USA: Princeton University Press.
- Maire, V., Gross, N., Borger, L., Proulx, R., Wirth, C., Pontes, L. da S., Soussana J. F., & Louault, F. (2012). Habitat filtering and niche differentiation jointly explain species relative abundance within grassland communities along fertility and disturbance gradients. *New Phytologist* 196(2), 497-509. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2012.04287.x>.
- Nguyen, H. H., Nguyen, T. T., Tran, B. Q., Petritan, A. M., Trinh, M. H., Cao, H. T. T., Pham, A. T., Vu, H. T., & Petrian, I. C. (2020). Changes in community composition of tropical evergreen forests during succession in Ta Dung National Park, Central Highlands of Vietnam. *Forests* 11(12), 1358. <https://doi.org/10.3390/f11121358>.
- Purschke, O., Schmid, B. C., Sykes, M. T., Poschlod, P., Michalski, S. G., Durka, W., Kuhn, I., Winter, M., & Prentice, H. C. (2013). Contrasting changes in taxonomic, phylogenetic and functional diversity during a long-term succession: insights into assembly processes. *Journal of Ecology* 101(4), 857-866. <https://doi.org/10.1111/1365-2745.12098>.
- Satdichanh, M., Ma, H., Yan, K., Dossa, G. G. O., Winowiecki, L., Vagen, T., Gassner, A., Xu, J., & Harrison, R. D. (2019). Phylogenetic diversity correlated with above-ground biomass production during forest succession: Evidence from tropical forests in Southeast Asia. *Journal of Ecology* 107(3), 1419-1432. <https://doi.org/10.1111/1365-2745.13112>.
- Webb, C. O., Ackerly, D. D., & Kembel, S. W. (2008). Phylocom: software for the analysis of phylogenetic community structure and trait evolution. *Bioinformatics* 24(18), 2098-2100. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btn358>.
- Webb, C. O., Ackerly, D. D., McPeck M. A., & Donoghue M. J. (2002). Phylogenies and community ecology. *Annual Review of Ecology and Systematics* 33(1), 475-505.