

**BAN BIÊN TẬP TẠP CHÍ NÔNG NGHIỆP VÀ PHÁT TRIỂN**

STT	Họ tên	Đơn vị	Nhiệm vụ
<b>I Thành viên trong nước</b>			
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
<b>II Thành viên nước ngoài</b>			
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

**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	Phạm Thị Kim Ngân	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)

- Nông học, Lâm nghiệp (Agronomy and Forestry Sciences)**
- 1 Evaluation of the specific combining ability (SCA) for yield and brix of seven *Cucumis melo*. L inbred lines of the sixth generation  
*Tuan Q. Huynh, Hiet D. Hoang, Trinh T. T. To, Lam V. Tran, Man T. T. Le, & Dan T. Vo*
- Đánh giá khả năng phối hợp riêng về năng suất và độ brix của bảy dòng dưa lưới (*Cucumis melo* L.) thế hệ thứ sáu (I<sub>6</sub>)  
*Huỳnh Quang Tuấn, Hoàng Dắc Hiệt, Tô Thị Thùy Trinh<sup>1</sup>, Trần Văn Lâm, Lê Thị Thu Mận & Võ Thái Dân*
- 10 The distribution and presence of vesicular-arbuscular mycorrhiza fungi in rhizosphere soil of Da Xanh pummelo in Ba Ria Vung Tau province  
*Huong N. D. Thai, Linh T. M. Nguyen, & Duong T. T. Pham*
- Sự phân bố và hiện diện của nấm rễ nội cộng sinh (Vesicular Arbuscular Mycorrhiza) trong vùng đất trồng bưởi Da Xanh tại Bà Rịa Vũng Tàu  
*Thái Nguyễn Diễm Hương, Nguyễn Thị Mỹ Linh & Phạm Thị Thuỳ Dương*
- 17 Estimation of the specific combining ability (SCA) of eight bitter gourd (*Momordica charantia* L.) inbred lines in the sixth generation  
*Trinh T. T. To, Hiet D. Hoang, Man T. T. Le, Lam V. Tran, Phuong T. B. Nguyen, Tuan Q. Huynh, Bich T. Thai, & Dan T. Vo*
- Đánh giá khả năng kết hợp riêng của 8 dòng khổ qua (*Momordica charantia* L.) thế hệ I<sub>6</sub>  
*Tô Thị Thùy Trinh, Hoàng Dắc Hiệt, Lê Thị Thu Mận, Trần Văn Lâm, Nguyễn Thị Bích Phượng, Huỳnh Quang Tuấn, Thái Thị Bích & Võ Thái Dân*
- Chăn nuôi, Thú y, Thủy sản (Animal Sciences, Veterinary Medicine and Aquaculture)**
- 27 Effects of two hydroponic components on water quality, snakehead fish growth and leaf mustard production in aquaponic system  
*Tu P. C. Nguyen, Ha N. Nguyen, Thuy T. T. Thai, Phong T. Tran, & Tri N. Nguyen*
- Ảnh hưởng của hai hệ thống thủy canh lên chất lượng nước và phát triển của cá lóc và cải xanh trong mô hình aquaponic  
*Nguyễn Phúc Cẩm Tú, Nguyễn Ngọc Hà, Thái Thị Thanh Thủy, Trần Triệu Phong & Nguyễn Như Trí*
- 36 Current status of acute hepatopancreatic necrosis disease (AHPND) and result of isolating AHPND-causing strains of farmed shrimp in Mekong Delta Region of Vietnam  
*Dung H. T. Mai, Binh T. Huynh, Hoa T. M. Nguyen, Hoan P. K. Nguyen, Toan T. Nguyen, Lien T. H. Tran, Ly H. Tien, Xuyen D. Nguyen, Thuoc L. Tran, & Hieu V. Tran*

Thực trạng bệnh hoại tử gan tụy cấp tính (AHPND) trên tôm nuôi và kết quả phân lập chủng vi khuẩn gây bệnh ở một số tỉnh Tây Nam Bộ

*Mai Hoàng Thùy Dung, Huỳnh Tuấn Bình, Nguyễn Thị Minh Hòa, Nguyễn Phước Khải Hoàn, Nguyễn Thanh Toàn, Trần Thị Hương Liên, Tiền Hải Lý, Nguyễn Đình Xuyên, Trần Linh Thuộc & Trần Văn Hiếu*

### **Công nghệ thực phẩm (Food Science and Technology)**

- 44 Hygienic conditions of the processing environment and microbial loads of Tra fish (*Pangasius hypophthalmus*): Trimming step

*Tu C. Nguyen, Hang T. M. Nhan, Tam N. T. Huynh, & Ngoc T. A. Tong*

Điều kiện vệ sinh của môi trường chế biến và mật số vi sinh vật trên cá Tra (*Pangasius hypophthalmus*): Công đoạn chỉnh hình

*Nguyễn Cẩm Tú, Nhan Thị Mỹ Hằng, Huỳnh Ngọc Thanh Tâm & Tống Thị Ánh Ngọc*

- 51 Optimization of extraction conditions of flavonoids from *Houttuynia cordata* Thumb leaves  
*Phung M. Phan, Phuc T. D. Nguyen, Phuc H. Nguyen, Vo T. T. Vo, & Anh T. Vu*

Tối ưu hoá điều kiện trích ly flavonoids từ lá diếp cá

*Phan Minh Phụng, Nguyễn Thị Diễm Phúc, Nguyễn Hữu Phúc, Võ Thị Tường Vi & Vũ Thùy Anh*

- 62 Evaluation of bacteriocin-producing lactic acid bacteria strains isolated from “nem chua Thu Duc”

*Chi N. Vo, Phuong T. Nguyen, Tuyet T. A. Nguyen, Khoa A. Dinh, Tuyen B. Phan, Hang D. Hoang, Thuy T. Le, & Tuyen C. Kha*

Khảo sát khả năng sinh bacteriocin của vi khuẩn lactic phân lập trên nem chua Thủ Đức  
*Võ Ngọc Chi, Nguyễn Thị Phượng, Nguyễn Thị Ánh Tuyết, Đinh Anh Khoa, Phan Bích Tuyền, Hoàng Diễm Hằng, Lê Thị Thủy & Kha Chân Tuyền*

**Evaluation of the specific combining ability (SCA) for yield and brix of seven *Cucumis melo*. L inbred lines of the sixth generation**

**Tuan Q. Huynh<sup>1\*</sup>, Hiet D. Hoang<sup>1</sup>, Trinh T. T. To<sup>1</sup>, Lam V. Tran<sup>1</sup>,  
Man T. T. Le<sup>1</sup>, & Dan T. Vo<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Research and Development Center for Hi-tech Agriculture, Ho Chi Minh City, Vietnam

<sup>2</sup>Faculty of Agronomy, Nong Lam University, Ho Chi Minh City, Vietnam

**ARTICLE INFO**

**Research Paper**

Received: December 08, 2020

Revised: April 09, 2021

Accepted: April 23, 2021

**Keywords**

Brix

*Cucumis melo* L.

Specific combining ability (SCA)

Yield

**\*Corresponding author**

Huynh Quang Tuan

Email: hqt.org@gmail.com

**ABSTRACT**

The objective of the experiment was to screen *Cucumis melo* L. inbred lines for high potential general combining ability and potential hybrids combinations for F1 hybridization. The experiment was conducted as a randomized complete block design (RCBD) with 29 treatments [21 hybrid combinations, control (TL3 hybrid) and seven *Cucumis melo* L. inbred lines I<sub>6</sub>], each with three replicates. Estimating the specific combining ability (SCA) of *Cucumis melo* L. inbred lines for breeding of F1 hybrid cultivars was carried out at the Research and Development Center for Hi-tech Agriculture in Ho Chi Minh City. Based on the specific combining ability of yield trait and total soluble solids (Brix) content of 21 hybrid lines from seven inbred lines following diallel method (Griffing 4 model), four potential hybrid lines (H41.6 x H58.6, H53.6 x H77.6, H32.6 x H41.6 và H53.6 x H58.6) yielded 10% higher than the control variety and gave fruits of oval shape, even fruit-net and low diseases infection.

**Cited as:** Huynh, T. Q., Hoang, H. D., To, T. T. T., Tran, L. V., Le, M. T. T., & Vo, D. T. (2021). Evaluation of the specific combining ability (SCA) for yield and brix of seven *Cucumis melo*. L inbred lines of the sixth generation. *The Journal of Agriculture and Development* 20(2), 1-9.

## Đánh giá khả năng phối hợp riêng về năng suất và độ brix của bảy dòng dưa lưới (*Cucumis melo* L.) thế hệ thứ sáu (I<sub>6</sub>)

Huỳnh Quang Tuấn<sup>1\*</sup>, Hoàng Đắc Hiệt<sup>1</sup>, Tô Thị Thùy Trinh<sup>1</sup>, Trần Văn Lâm<sup>1</sup>,  
Lê Thị Thu Mận<sup>1</sup> & Võ Thái Dân<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Trung Tâm Nghiên Cứu và Phát Triển Nông Nghiệp Công Nghệ Cao, TP. Hồ Chí Minh

<sup>2</sup>Khoa Nông Học, Trường Đại Học Nông Lâm TP.HCM, TP. Hồ Chí Minh

### THÔNG TIN BÀI BÁO

#### Bài báo khoa học

Ngày nhận: 08/12/2020

Ngày chỉnh sửa: 09/04/2021

Ngày chấp nhận: 23/04/2021

#### Từ khóa

Dưa lưới

Độ brix

Khả năng phối hợp riêng (SCA)

Năng suất

#### \*Tác giả liên hệ

Huỳnh Quang Tuấn

Email: hqt.org@gmail.com

### TÓM TẮT

Mục tiêu là chọn các dòng dưa lưới có khả năng kết hợp riêng cao và các tổ hợp lai dưa lưới ưu tú phục vụ lai tạo giống F1. Thí nghiệm đơn yếu tố, được bố trí theo kiểu khối hoàn toàn ngẫu nhiên gồm 29 nghiệm thức (21 tổ hợp lai, 1 giống đối chứng (giống lai TL3) và 7 dòng dưa lưới I<sub>6</sub>) và 3 lần lặp lại. Đánh giá khả năng phối hợp riêng dựa trên tính trạng năng suất và độ brix của 7 dòng dưa lưới tự phối I<sub>6</sub> (H5.6, H32.6, H34.6, H41.6, H53.6, H58.6, H77.6) bằng phương pháp lai luân giao (mô hình Griffing 4) được thực hiện tại Trung tâm Nghiên cứu và Phát triển Nông nghiệp Công nghệ cao, chọn được 04 tổ hợp lai (THL) triển vọng có khả năng phối hợp riêng và ưu thế lai cao vượt giống đối chứng, phục vụ công tác sản xuất gồm THL H41.6 x H58.6, H53.6 x H77.6, H32.6 x H41.6 và H53.6 x H58.6. Ngoài khả năng có ưu thế lai và cho năng suất cao hơn giống đối chứng 10%, bốn THL này còn thể hiện các đặc điểm hình thái như quả tròn, lưới đều và ít nhiễm sâu bệnh.

## 1. Đặt Vấn Đề

Sản xuất dưa lưới thương phẩm phổ biến ở Việt Nam khoảng từ năm 2008 - 2010. Mặc dù quy mô sản xuất vẫn còn rất nhỏ lẻ, song trồng dưa lưới theo mô hình nông nghiệp công nghệ cao rất hiệu quả và có thể nhân rộng (Ngoc, 2020). Hiện nay, phần lớn các giống dưa lưới đưa vào sản xuất đều có nguồn gốc từ nước ngoài như Hà Lan, Israel, Nhật Bản, Đài Loan, Thái Lan. Giá thành hạt giống cao và chi phí sản xuất lớn làm cho sản phẩm sản xuất được có giá thành khá đắt, chưa phổ biến rộng cho người tiêu dùng. Để có thể mở rộng đối tượng khách hàng tiêu thụ dưa lưới, việc xem xét hạ giá thành sản phẩm là hết sức cần thiết. Bên cạnh nghiên cứu các biện pháp kỹ thuật sản xuất thích hợp để đạt năng suất cao, chất lượng tốt, vấn đề chọn tạo giống tiến tới chủ động được nguồn hạt giống và không phụ thuộc vào nguồn giống nhập nội; phù hợp với điều kiện

khí hậu Việt Nam được xem là bước đột phá.

Nhận thấy tiềm năng của thị trường hạt giống trong nước từ năm 2016 - 2019, Trung tâm Nghiên cứu và Phát triển Nông nghiệp Công nghệ cao đã thu thập và chọn tạo kết quả đến năm 2019 đã chọn được 7 dòng dưa lưới thế hệ I<sub>6</sub> (Huỳnh & ctv., 2019). Đánh giá khả năng phối hợp riêng để chọn ra các tổ hợp lai (THL) ưu tú là bước quan trọng tiếp theo trong quá trình sản xuất hạt giống lai F1. Mục tiêu của nghiên cứu là chọn được THL có năng suất và độ brix tương đương hoặc vượt trội so với giống dưa lưới F1 đang được sản xuất trên thị trường.

## 2. Vật Liệu và Phương Pháp Nghiên Cứu

### 2.1. Vật liệu

Tổ hợp lai: + 21 THL (H5.6 x H77.6, H32.6 x H34.6, H32.6 x H53.6, H34.6 x H53.6, H34.6

x H58.6, H41.6 x H53.6, H41.6 x H58.6, H41.6 x H77.6, H53.6 x H58.6 và H53.6 x H77.6, H5.6 x H32.6, H5.6 x H34.6, H5.6 x H41.6, H5.6 x H53.6, H5.6 x H58.6, H32.6 x H41.6, H32.6 x H58.6, H32.6 x H77.6, H34.6 x H41.6, H34.6 x H77.6 và H58.6 x H77.6) được tạo bằng phương pháp lai luân giao (mô hình Griffing 4) bởi 7 dòng dưa lưới thể hệ I<sub>6</sub>, được Trung tâm Nghiên cứu và Phát triển Nông nghiệp Công nghệ cao chọn lọc trong giai đoạn 2016 – 2019 (Bảng 1).

Giống đối chứng TL3: giống lai F1, của công ty Chánh Phong.

Giá thể:

Mụn dừa được xử lý sạch chất chát bằng cách ngâm xả nước trong 7 - 10 ngày.

Phân tròn quế: Chất hữu cơ (%): C: 7,64; mùn: 13,17; chất tổng số (%): N: 1,93; P: 0,71; K: 0,70 (AHRD, 2015).

Tro trấu.

Tỷ lệ phối trộn giá thể: 70% mụn dừa: 20% phân tròn quế: 10% tro trấu.

Các loại hóa chất pha dung dịch tưới: KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (0,25g/L), Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>.4H<sub>2</sub>O (1,115 g/L), K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (0,2 g/L), MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O (0,55 g/L), H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> (0,5 mg/L), ZnSO<sub>4</sub> (Zn: 0,3 mg/L), CuSO<sub>4</sub>.5H<sub>2</sub>O (0,5 mg/L), Na<sub>2</sub>MoH<sub>2</sub>O (0,05 mg/L) và Chelate sắt (3 mg/L).

Thí nghiệm được thực hiện trong điều kiện nhà màng kiểu máy thông gió cố định, dưa lưới được trồng trên giá thể, nước và phân bón được tưới qua hệ thống tưới nhỏ giọt.

## 2.2. Phương pháp nghiên cứu

Thí nghiệm đơn yếu tố được bố trí theo kiểu khối hoàn toàn ngẫu nhiên (RCBD), 29 nghiệm thức (21 THL, 1 giống đối chứng (TL3) và 7 dòng bố mẹ I<sub>6</sub>) và ba lần lặp lại. Mỗi ô thí nghiệm trồng thành 2 hàng với 50 cây, có diện tích ô là 15 m<sup>2</sup>, tổng số cây cho một nghiệm thức là 150 cây/nghiệm thức; khoảng cách trồng hàng x hàng = 0,6 m; cây x cây = 0,5 m.

Hạt dưa lưới được gieo vào ngày 4 tháng 09, trồng vào ngày 14 tháng 09 và thu hoạch từ ngày 11 đến ngày 15 tháng 11 năm 2019. Quy cách cây con: Chiều cao cây: 12 - 15 cm; số lá thật: 2 - 3 lá.

Các chỉ tiêu theo dõi: Tỷ lệ đậu quả (%); Hình dạng quả; Màu sắc vỏ quả; Màu sắc thịt quả; Đặc điểm vân lưới; Khối lượng quả (kg/quả); Năng suất thực thu (tấn/1000

m<sup>2</sup>); Độ brix thịt quả (%); Tỷ lệ bệnh hại (%): bệnh thối thân (*Didymella bryoniae*), giả sương mai (*Pseudoperonospora cubensis*), phấn trắng (*Erysiphe cichoracearum*), héo xanh (*Pseudomonas solanacearum*), xì mù (*Mycosphaerella melonis*) (MARD, 2003).

Đánh giá khả năng phối hợp riêng trên 2 chỉ tiêu: Năng suất thực thu (tấn/1000 m<sup>2</sup>); Độ brix thịt quả (%).

Nội dung nghiên cứu được tiến hành trong điều kiện nhà màng, cây dưa lưới được chăm sóc theo quy trình trồng dưa lưới trong nhà màng tại Trung tâm Nghiên cứu và Phát triển Nông nghiệp Công nghệ cao (MARD, 2014).

Phương pháp đánh giá khả năng phối hợp riêng theo phương pháp mô hình Griffing 4 (Griffing, 1956).

Mô hình toán học chung:

$$X_{ik} = \mu + g_i + g_j + s_{ij} + r_{ij} + \frac{1}{b} \sum_{k=1}^b e_{ijk}$$

Trong đó:

X<sub>ik</sub>: Độ lớn tính trạng con lai (ix<sub>j</sub>) ở lần nhắc thứ k

μ : Tính trạng trung bình trong thí nghiệm

g<sub>i</sub> và g<sub>j</sub>: Khả năng kết hợp chung của dòng i và dòng j

s<sub>ij</sub>: Tác động của khả năng kết hợp riêng giữa hai dòng I và dòng j

r<sub>ij</sub>: Tác động tương hỗ giữa 2 dòng đó

e<sub>ijk</sub>: Sai số ngẫu nhiên

Xác định mức độ ưu thế lai: Ưu thế lai trung bình (HM%), Ưu thế lai thực (HB%), Ưu thế lai chuẩn (HS%) (Phan, 2006).

Ưu thế lai trung bình là ưu thế lai mà các tính trạng hình thái và năng suất cao hơn trung bình, giữa hai bố mẹ hoặc vượt trội cả hai bố mẹ:

$$HM, \% = \frac{F1 - MP}{MP} \times 100$$

Ưu thế lai thực (HB) là ưu thế lai khi so với bố mẹ tốt nhất:

$$HB, \% = \frac{F1 - BP}{BP} \times 100$$

Ưu thế lai chuẩn (HS) là ưu thế lai biểu thị sự hơn kém của con lai F1 so với giống đối chứng trong sản xuất đại trà:

$$HS, \% = \frac{F1 - S}{S} \times 100$$

Trong đó:

**Bảng 1.** Đặc điểm hình thái quả, năng suất và độ brux của 7 dòng dưa lưới thế hệ I6 và giống đối chứng TL3

Tên dòng	Hình dạng quả	Màu vỏ quả	Đặc điểm vân lưới	Màu thịt quả	Khối lượng quả (kg/quả)	Năng suất (tấn/1000 m <sup>2</sup> )	Độ brux (%)
H5.6	Tròn	Xanh	Dày, đều	Xanh	1,03	1,70	13,33
H32.6	Trứng	Xanh	Dày, đều	Cam	1,40	1,93	15,33
H34.6	Trứng	Xanh	Dày, đều	Cam	1,10	1,83	12,33
H41.6	Tròn	Xanh	Dày	Xanh	0,90	1,30	14,66
H53.6	Trứng	Xanh	Thưa, đều	Cam	1,47	2,37	14,33
H58.6	Trứng	Xanh	Thưa, đều	Cam	1,07	1,77	14,33
H77.6	Tròn	Vàng	Dày	Xanh	1,07	1,90	12,33
TL3	Tròn	Xanh	Dày, đều	Xanh	1,57	3,06	13,00

F1: giá trị con lai F1

MP: giá trị trung bình của bố mẹ

BP: là giá trị bố mẹ tốt nhất

S: giá trị giống đối chứng

Xử lý số liệu: Số liệu thí nghiệm được phân tích ANOVA, phân hạng trên phần mềm SAS 9.1; khả năng phối hợp riêng được tính toán trên phần mềm Microsoft Excel.

### 3. Kết Quả và Thảo Luận

#### 3.1. Đặc điểm hình thái, năng suất và chất lượng 21 THL từ bay dòng dưa lưới thế hệ I<sub>6</sub>

Tỷ lệ đậu quả là một chỉ tiêu quan trọng trong sản xuất dưa lưới, theo kết quả của nghiên cứu cho thấy 21 THL từ 7 dòng dưa lưới đều cho tỷ lệ đậu quả cao, trung bình đạt 99,8%, riêng tổ hợp lai H41.6 x H58.6 và H53.6 x H77.6 có tỷ lệ đậu quả thấp hơn là 97% và 98%. Tỷ lệ đậu quả của giống đối chứng (TL3) là 100%. Tỷ lệ đậu quả ở mức cao, điều này phù hợp với nhu cầu chọn tạo giống dưa lưới F1.

Các THL có hình dạng quả và màu sắc vỏ quả đặc trưng, qua khảo sát đặc điểm bên ngoài của 21 THL từ bảy dòng dưa lưới thế hệ I<sub>6</sub>, kết quả cho thấy có hai dạng kiểu hình về hình dạng quả là hình trứng và hình tròn. Các THL có dạng quả hình trứng gồm H5.6 x H77.6, H32.6 x H34.6, H32.6 x H53.6, H34.6 x H53.6, H34.6 x H58.6, H41.6 x H53.6, H41.6 x H58.6, H41.6 x H77.6, H53.6 x H58.6 và H53.6 x H77.6). Các THL có dạng quả hình tròn là H5.6 x H32.6, H5.6 x H34.6, H5.6 x H41.6, H5.6 x H53.6, H5.6 x H58.6, H32.6 x H41.6, H32.6 x H58.6, H32.6 x H77.6, H34.6 x H41.6, H34.6 x H77.6 và H58.6 x H77.6. Trong 21 THL dưa lưới có sáu THL có vỏ quả màu vàng

(H5.6 x H77.6, H32.6 x H77.6, H34.6 x H77.6, H41.6 x H77.6, H53.6 x H77.6 và H58.6 x H77.6), còn các THL còn lại có vỏ quả màu xanh. Về chỉ tiêu thịt quả của 21 THL dưa lưới gồm 09 THL có thịt quả màu xanh (H5.6 x H41.6, H5.6 x H77.6, H32.6 x H41.6, H32.6 x H77.6, H34.6 x H41.6, H34.6 x H77.6, H41.6 x H77.6, H53.6 x H77.6 và H58.6 x H77.6) và 12 THL còn lại có thị quả màu cam. Về chỉ tiêu vân lưới phân bố theo kiểu dày có 10 THL gồm H5.6 x H32.6, H5.6 x H34.6, H5.6 x H41.6, H5.6 x H53.6, H32.6 x H34.6, H32.6 x H53.6, H34.6 x H41.6, H34.6 x H53.6, H41.6 x H53.6, H41.6 x H58.6 ) và 11 THL còn lại có vân lưới thưa (Hình 1).

Khối lượng quả là yếu tố quan trọng quyết định năng suất và ảnh hưởng đến giá thành của sản phẩm. Khối lượng quả của các THL dao động trong khoảng 1,23 đến 1,90 kg (Bảng 2). Tổ hợp lai H41.6 x H58.6 (1,90 kg/quả), H53.6 x H77.6 (1,83 kg/quả) là các THL cho khối lượng quả trung bình cao hơn so với đối chứng TL3 (1,57 kg/quả).

Năng suất thực thu của các THL dao động từ 2,39 đến 3,82 tấn/1000 m<sup>2</sup>, trong đó THL H41.6 x H58.6 (3,82 tấn/1000 m<sup>2</sup>), H53.6 x H77.6 (3,58 tấn/1000 m<sup>2</sup>) có năng suất cao hơn đối chứng TL3 (3,06 tấn/1000 m<sup>2</sup>).

Độ ngọt của dưa lưới là một chỉ tiêu rất quan trọng đối với thị hiếu người dùng. Độ brux của các THL khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê và dao động trong khoảng từ 9,50 đến 14,87%. So với giống đối chứng TL3 (13,00%), 4 THL (H32.6 x H53.6, H34.6 x H58.6, H34.6 x H77.6 và H41.6 x H58.6) có độ brux tương đương và 6 THL (H5.6 x H34.6, H32.6 x H41.6, H34.6 x H53.6, H41.6 x H77.6, H53.6 x H58.6 và H53.6 x H77.6) có độ brux cao hơn hẳn so với đối chứng.

Theo đánh giá phân loại dưa lưới (Trung tâm



**Hình 1.** Đặc điểm quả của một số tổ hợp lai từ bảy dòng dưa lưới thế hệ I<sub>6</sub>.

Nghiên cứu và Phát triển Nông nghiệp Công nghệ cao), dưa lưới loại 1: lưới đều, đẹp, quả 1,2 - 2,5 kg, độ brix 12 - 18; loại 2: lưới đều, đẹp, quả dưới 1,2 kg hoặc trên 2,5 kg, độ brix 12 - 18 thì các

THL đều đáp ứng về khối lượng là dưa lưới loại 1, về độ brix phần lớn các THL đáp ứng (độ brix trên 12%), trong đó kể đến H5.6 x H34.6, H32.6 x H41.6, H34.6 x H53.6, H41.6 x H77.6, H53.6 x



**Bảng 2.** Đặc điểm năng suất và độ brux của 21 tổ hợp lai từ bảy dòng dưa lưới thế hệ I<sub>6</sub>

Cặp lai (♂ × ♀)/dòng	Tỷ lệ đậu quả (%)	Khối lượng quả (kg/quả)	Năng suất thực thu (tấn/1000 m <sup>2</sup> )	Độ brux (%)
H5.6 x H32.6	100	1,60 <sup>cb</sup>	3,19 <sup>cb</sup>	10,73 <sup>gh</sup>
H5.6 x H34.6	100	1,53 <sup>b-e</sup>	3,02 <sup>b-e</sup>	14,50 <sup>ab</sup>
H5.6 x H41.6	100	1,47 <sup>d-g</sup>	2,88 <sup>def</sup>	11,83 <sup>e</sup>
H5.6 x H53.6	100	1,40 <sup>fgh</sup>	2,74 <sup>efg</sup>	12,00 <sup>e</sup>
H5.6 x H58.6	100	1,43 <sup>efg</sup>	2,81 <sup>d-g</sup>	9,50 <sup>j</sup>
H5.6 x H77.6	100	1,37 <sup>gh</sup>	2,67 <sup>fgh</sup>	10,33 <sup>hi</sup>
H32.6 x H34.6	100	1,40 <sup>fgh</sup>	2,74 <sup>e<sup>fg</sup></sup>	11,00 <sup>fg</sup>
H32.6 x H41.6	100	1,57 <sup>bcd</sup>	3,09 <sup>bcd</sup>	14,87 <sup>a</sup>
H32.6 x H53.6	100	1,50 <sup>c-f</sup>	2,95 <sup>c-f</sup>	13,10 <sup>d</sup>
H32.6 x H58.6	100	1,57 <sup>bcd</sup>	3,09 <sup>cbd</sup>	11,00 <sup>fg</sup>
H32.6 x H77.6	100	1,23 <sup>i</sup>	2,39 <sup>h</sup>	10,00 <sup>ij</sup>
H34.6 x H41.6	100	1,30 <sup>hi</sup>	2,53 <sup>gh</sup>	9,50 <sup>j</sup>
H34.6 x H53.6	100	1,40 <sup>fgh</sup>	2,74 <sup>e<sup>fg</sup></sup>	14,00 <sup>bc</sup>
H34.6 x H58.6	100	1,47 <sup>d-g</sup>	2,91 <sup>c-f</sup>	13,17 <sup>d</sup>
H34.6 x H77.6	100	1,50 <sup>c-f</sup>	2,98 <sup>b-e</sup>	13,50 <sup>cd</sup>
H41.6 x H53.6	100	1,53 <sup>b-e</sup>	3,05 <sup>bcd</sup>	10,50 <sup>ghi</sup>
H41.6 x H58.6	97	1,90 <sup>a</sup>	3,82 <sup>a</sup>	13,50 <sup>cd</sup>
H41.6 x H77.6	100	1,63 <sup>b</sup>	3,26 <sup>b</sup>	14,00 <sup>bc</sup>
H53.6 x H58.6	100	1,63 <sup>b</sup>	3,26 <sup>b</sup>	14,50 <sup>ab</sup>
H53.6 x H77.6	98	1,83 <sup>a</sup>	3,58 <sup>a</sup>	13,83 <sup>bc</sup>
H58.6 x H77.6	100	1,50 <sup>c-f</sup>	2,88 <sup>cf</sup>	11,50 <sup>ef</sup>
TL3 (ĐC)	100	1,57 <sup>cbd</sup>	3,06 <sup>bcd</sup>	13,00 <sup>d</sup>
H5.6	96	1,03	1,70	13,33
H32.6	90	1,40	1,93	15,33
H34.6	100	1,10	1,83	12,33
H41.6	100	0,90	1,30	14,66
H53.6	97	1,47	2,37	14,33
H58.6	95	1,07	1,77	14,33
H77.6	100	1,07	1,90	12,33
CV (%)		3,46	4,39	2,67
LSD <sub>0,01</sub>		0,12	0,29	0,54

<sup>a-e</sup>Trong cùng một cột, các giá trị trung bình có cùng ký tự đi kèm không khác biệt ở mức  $P < 0,01$ .

Chỉ phân hạng trên 21 THL và đối chứng.

21 THL: H5.6 x H77.6, H32.6 x H34.6, H32.6 x H53.6, H34.6 x H53.6, H34.6 x H58.6, H41.6 x H53.6, H41.6 x H58.6, H41.6 x H77.6, H53.6 x H58.6 và H53.6 x H77.6, H5.6 x H32.6, H5.6 x H34.6, H5.6 x H41.6, H5.6 x H53.6, H5.6 x H58.6, H32.6 x H41.6, H32.6 x H58.6, H32.6 x H77.6, H34.6 x H41.6, H34.6 x H77.6 và H58.6 x H77.6.

Bảy dòng dưa lưới thế hệ I<sub>6</sub>: H5.6, H32.6, H34.6, H41.6, H53.6, H58.6, H77.6.

H58.6 và H53.6 x H77.6.

Để chọn lọc các THL, ngoài chỉ tiêu về năng suất và độ brux cao thì tỷ lệ nhiễm sâu bệnh của các THL phải ở mức thấp. Tỷ lệ nhiễm sâu bệnh càng thấp thì sẽ ít ảnh hưởng đến năng suất, đây là một chỉ tiêu mà người tiêu dùng rất quan tâm khi lựa chọn giống dưa lưới để sản xuất.

Đối với các THL ở thế hệ I<sub>6</sub>, các đối tượng nhiễm bệnh chủ yếu: bệnh thối thân (*Didymella bryoniae*), giả sương mai (*Pseudoperonospora cubensis*), phấn trắng (*Erysiphe cichoracearum*), héo xanh (*Pseudomonas solanacearum*), xì mũ

(*Mycosphaerella melonis*). Mức độ nhiễm bệnh của các THL tương đối thấp ở mức 5 đến 10%. Trong số 21 THL và 1 giống đối chứng (TL3) thì có 12 THL (H5.6 x H34.6; H5.6 x H58.6; H5.6 x H77.6; H32.6 x H41.6; H32.6 x H53.6; H34.6 x H41.6; H34.6 x H58.6; H41.6 x H58.6; H41.6 x H77.6; H53.6 x H77.6 và H58.6 x H77.6) không bị nhiễm bệnh, 10 THL còn lại có tỷ lệ nhiễm bệnh từ 5 - 10%, trong đó 2 THL H5.6 x H32.6 và H34.6 x H77.6 có tỷ lệ nhiễm bệnh thối thân; 3 THL H32.6 x H34.6; H32.6 x H58.6 và H41.6 x H53.6 có tỷ lệ nhiễm bệnh xì mũ và H5.6 x H41.6 có tỷ lệ

nhiễm bệnh sương mai tương đối cao (10%), các THL còn lại bị nhiễm bệnh thối thân (THL H5.6 x H53.6; H32.6 x H77.6 và H53.6 x H58.6), sương mai (THL H34.6 x H53.6), bệnh phấn trắng (THL H5.6 x H53.6 và H32.6 x H58.6) và héo xanh (THL H5.6 x H32.6 và H53.6 x H58.6) ở mức nhiễm bệnh 5%.

### 3.2. Đánh giá khả năng kết hợp riêng của 21 THL từ bảy dòng đưa lưới thế hệ I<sub>6</sub>

Khả năng phối hợp chung của dòng (hoặc giống) (GCA) thể hiện hiệu ứng cộng tính, khả năng phối hợp riêng (SCA) thể hiện hiệu ứng phi cộng tính của các gen trong việc kiểm soát di truyền của một tính trạng (Ferreira & ctv., 2004). Năng suất là một trong những yếu tố quyết định trong việc chọn tạo giống nói chung trong đó có dưa lưới. Đối với tính trạng năng suất, Abadia & ctv. (1985) chỉ ra rằng, năng suất kiểm soát bởi hiệu ứng cộng tính và phi cộng tính, nhưng chủ yếu hiệu ứng phi cộng tính.

Về năng suất thực thu, kết quả Bảng 3 cho thấy, có 10/21 THL có giá trị khả năng phối hợp riêng theo hướng dương (SCA > 0), trong đó có 5/10 tổ hợp có giá trị SCA cao, đó là H5.6 x H32.6; H5.6 x H34.6.; H41.6 x H58.6; H53.6 x H77.6; H34.6 x H77.6. Trong đó, dòng sử dụng mẹ là dòng H5.6 có khả năng kết hợp riêng cao với dòng H32.6 và 34.6; dòng H77.6 sử dụng làm dòng bố có khả năng kết hợp riêng cao với dòng H53.6 và H34.6. Các dòng có khả năng kết hợp riêng cao cho lợi thế về năng suất đối với THL được tạo thành. Kết quả này cũng tương đồng với nghiên cứu của Anne và ctv. (2011), dòng có khả năng kết hợp riêng cao có ý nghĩa lớn đối với chọn giống dưa lưới.

Đối với hàm lượng chất rắn hòa tan (độ brix) (Bảng 4), có một số tranh cãi về việc kiểm soát di truyền. Một số tác giả nhận thấy rằng, có sự kiểm soát của hiệu ứng cộng tính và phi cộng tính (Cuarteiro & ctv., 1985; Singh & Randhawa, 1990); những người khác thì cho rằng, phi cộng tính không ảnh hưởng đáng kể (Zalapa & ctv., 2006; Paris & ctv., 2008). Monforte & ctv. (2004) đã mô tả chi tiết các kết quả trái ngược nhau ở dưa lưới đối với chỉ tiêu này, tác giả khẳng định, hiệu ứng phi cộng tính có ảnh hưởng trong phép lai.

Kết quả đánh giá khả năng phối hợp riêng về độ brix của 7 dòng dưa lưới I<sub>6</sub> cho thấy, có 11/21 THL có giá trị khả năng phối hợp riêng theo

hướng dương (SCA > 0), trong đó có 5/11 tổ hợp có giá trị SCA cao, đó là H5.6 x H34.6; H32.6 x H41.6; H41.6 x H58.6; H41.6 x H77.6 và H53.6 x H58.6. Trong đó, dòng sử dụng mẹ là dòng H41.6 có khả năng kết hợp riêng cao về độ brix với dòng H58.6 và H77.6; dòng H58.6 sử dụng làm dòng bố có khả năng kết hợp riêng cao với dòng H53.6 và H41.6. Các dòng có khả năng kết hợp riêng cao cho lợi thế về độ brix đối với THL được tạo thành. Kết quả nghiên cứu cho thấy tính trạng năng suất và độ brix chịu ảnh hưởng của hiệu ứng phi cộng tính, điều này phù hợp với kết quả nghiên cứu của Monforte & ctv. (2004) và Doan & ctv. (2016).

### 3.3. Đánh giá ưu thế lai của 21 THL dưa lưới

Kết quả ở Bảng 5 đánh giá ưu thế lai trung bình (HM%) được so sánh với giá trị trung bình năng suất thực thu và độ brix của bố và mẹ, các THL có ưu thế lai về năng suất thực thu dao động trong khoảng từ 24,7% đến 144,0% và độ brix từ (-) 19,3% đến (+) 34,7%.

Ưu thế lai thực (HB%) được so sánh với giá trị năng suất thực thu và độ brix của bố và mẹ tốt nhất, các THL có ưu thế lai thực về năng suất thực thu dao động trong khoảng từ 1,3% đến 6,1% và độ brix từ (-) 6,2% đến (+) 10,1%.

Ưu thế lai chuẩn (HS%) được đánh giá dựa trên việc so sánh năng suất và độ brix của các THL với năng suất và độ brix của giống đối chứng. Các THL có ưu thế lai chuẩn về năng suất dao động trong khoảng từ (-) 21,9% đến (+) 24,9% và độ brix từ (-) 26,9 đến (+) 14,4%.

Như vậy, qua đánh giá ưu thế lai về năng suất cho thấy, có 2 THL thể hiện ưu thế lai về năng suất cao (cao hơn 10% so với đối chứng): H41.6 x H58.6 (24,9%) và H53.6 x H77.6 (17,1%); Có 3 THL thể hiện ưu thế lai về độ brix cao (cao hơn 10% so với đối chứng): H5.6 x H34.6 (11,5%), H32.6 x H41.6 (14,4%), H53.6 x H58.6 (11,5%).

Tổ hợp lai H32.6 x H41.6 tuy có ưu thế lai về năng suất thấp (1,0%), năng suất thực thu (3,09 tấn/1000 m<sup>2</sup>) khác biệt không có ý nghĩa thống kê so với đối chứng (3,06 tấn/1000 m<sup>2</sup>), nhưng có ưu thế lai cao về độ brix cao hơn đối chứng (14,4%). THL H53.6 x H58.6 cũng có kết quả tương tự.

Tổ hợp lai H41.6 x H58.6 tuy có ưu thế lai về độ brix thấp (3,8%), độ brix (13,50%) khác biệt không có ý nghĩa thống kê so với đối chứng (13,00%), nhưng có ưu thế lai cao về năng suất

**Bảng 3.** Đánh khả năng phối hợp riêng (SCA) về năng suất thực thu (tấn/1000 m<sup>2</sup>) của 7 dòng dưa lưới I<sub>6</sub>

♂ \ ♀	H5.6	H32.6	H34.6	H41.6	H53.6	H58.6	H77.6	GCA <sup>1</sup>
	SCA							
H5.6		0,41	0,35	-0,14	-0,21	-0,24	-0,17	-0,12
H32.6			0,04	0,05	-0,03	0,02	-0,48	-0,09
H34.6				-0,41	-0,14	-0,05	0,22	-0,19
H41.6					-0,17	0,51	0,15	0,15
H53.6						0,01	0,54	0,09
H58.6							-0,25	0,18
H77.6								-0,02

<sup>1</sup>GCA: năng phối hợp chung.**Bảng 4.** Đánh khả năng phối hợp riêng (SCA) về độ brix của 7 dòng dưa lưới I<sub>6</sub>

♂ \ ♀	H5.6	H32.6	H34.6	H41.6	H53.6	H58.6	H77.6	GCA <sup>1</sup>
	SCA							
H5.6		-0,06	2,71	0,34	-0,24	-1,79	-0,96	0,90
H32.6			-1,15	3,01	0,50	-0,65	-1,65	-0,54
H34.6				-3,35	0,40	0,52	0,86	0,46
H41.6					-2,80	1,15	1,65	0,16
H53.6						1,40	0,74	0,91
H58.6							-0,64	-0,04
H77.6								-0,04

<sup>1</sup>GCA: năng phối hợp chung.**Bảng 5.** Đánh giá ưu thế lai về năng suất và độ brix của 21 tổ hợp lai từ 7 dòng dưa lưới thế hệ I<sub>6</sub>

Cặp lai (♂ × ♀)/dòng	Năng suất			Độ brix		
	HM (%)	HB (%)	HS (%)	HM (%)	HB (%)	HS (%)
H5.6 x H32.6	75,8	3,7	4,4	-12,5	-4,2	-17,4
H5.6 x H34.6	70,9	3,4	-1,3	34,7	10,1	11,5
H5.6 x H41.6	87,8	3,7	-5,9	-0,8	-0,3	-9,0
H5.6 x H53.6	48,1	2,4	-10,5	2,0	0,6	-7,7
H5.6 x H58.6	62,1	2,9	-8,2	-19,3	-6,2	-26,9
H5.6 x H77.6	48,3	2,4	-12,7	-4,0	-1,2	-20,5
H32.6 x H34.6	45,5	2,3	-10,5	-5,7	-1,8	-15,4
H32.6 x H41.6	87,3	3,9	1,0	15,8	5,5	14,4
H32.6 x H53.6	50,0	2,7	-3,6	3,4	1,2	0,8
H32.6 x H58.6	67,0	3,4	1,0	-13,2	-4,5	-15,4
H32.6 x H77.6	24,7	1,3	-21,9	-14,3	-4,5	-23,1
H34.6 x H41.6	58,1	2,5	-17,3	-18,3	-5,8	-26,9
H34.6 x H53.6	43,0	2,2	-10,5	22,1	6,9	7,7
H34.6 x H58.6	61,9	3,0	-4,8	14,8	4,6	1,3
H34.6 x H77.6	59,8	3,0	-2,5	29,0	8,2	3,8
H41.6 x H53.6	81,4	3,7	-0,2	-14,2	-4,7	-19,2
H41.6 x H58.6	144,0	6,1	24,9	10,4	3,4	3,8
H41.6 x H77.6	99,8	4,4	6,6	24,6	7,5	7,7
H53.6 x H58.6	73,3	3,8	6,6	17,3	5,8	11,5
H53.6 x H77.6	83,8	4,4	17,1	21,7	6,7	6,4
H58.6 x H77.6	57,3	2,9	-5,8	1,8	0,5	-11,5

Ưu thế lai trung bình (HM%), Ưu thế lai thực (HB%), Ưu thế lai chuẩn (HS%).

cao hơn đối chứng (14,4%). THL H53.6 x H77.6 cũng có kết quả tương tự.

#### 4. Kết Luận

Đánh giá khả năng phối hợp riêng dựa trên tính trạng năng suất và độ brix của 7 dòng dưa lưới tự phối I6 (H5.6, H32.6, H34.6, H41.6, H53.6, H58.6, H77.6) bằng phương pháp lai luân giao (mô hình Griffing 4) cho thấy rằng, các dòng H41.6 và H58.6, H53.6 và H77.6 có khả năng phối hợp riêng cao về tính trạng năng suất; các dòng H5.6 và H34.6, H32.6 và H41.6, H53.6 và H58.6 có khả năng phối hợp riêng cao về tính trạng brix.

Chọn được 04 THL triển vọng có khả năng phối hợp riêng cao và có ưu thế lai cao vượt giống đối chứng từ 10% trở lên phục vụ công tác sản xuất gồm tổ hợp lai H41.6 x H58.6, H53.6 x H77.6, H32.6 x H41.6 và H53.6 x H58.6.

#### 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)

- Abadia, J., Cuarteiro, M. L. G. J., & Nuez, F. (1985). Herencia de caracteres cuantitativos en melón. *Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria* 28, 83-91.
- AHRD (High-tech Agricultural Research and Development Center). (2015). *Growing plants in substrates in a net house*. Ho Chi Minh City, Vietnam: AHRD.
- Anne, K., Glauber, H., Manoel, A., Elaine, W., & José, H. (2011). Diallel analysis of yield and quality traits of melon fruits. *Crop Breeding and Applied Biotechnology* 11(4), 313-319.
- Cuarteiro, M. L. G. J., Abadia, J., & Nuez, F. (1985). Herencia de caracteres cualitativos en melón. *Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria* 28, 72-82.
- Doan, C. H., Nguyen, H. P., Ha, L. T., Duong, X. H., & Phan, Q. D. (2016). Combining ability of six S5 inbred lines of melon (*Cucumis melon* L.). *Vietnam Journal of Agricultural Sciences* 11(72), 50-54.
- Ferreira, F. M., Ribeiro Júnior, J. I., Pacheco, C. A. P., Silva, C. H. O., & Martins Filho, S. (2004). Genetic components of combining ability in a complete diallel. *Crop Breeding and Applied Biotechnology* 4(3), 338-343.
- 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.
- Huynh, T. Q., Hoang, H. D., & To, T. T. T. (2019). *A study of selecting materials and cultivars of Muskmelon (Cucumis melo L.) suitable for the southern region of Vietnam (4<sup>th</sup> year)*. Research and Development Center for Hi-tech Agriculture, Ho Chi Minh City, Vietnam.
- MARD (Ministry of Agriculture and Rural Development). (2014). *Decision No. 512 /QD-TTCLT dated on November 19, 2014. The Process of Muskmelon (Cucumis melo L.) cultivation*. Ha Noi, Vietnam: MARD Office.
- MARD (Ministry of Agriculture and Rural Development). (2003). *Decision No. 10TCN 224:2003 dated on 2003. Surveillance method of plant pests*. Ha Noi, Vietnam: MARD Office.
- Monforte, A. J., Oliver, M., Gonzalo, M. J., Alvarez, J. M., DolcetSanjuan, R., & Arús, P. (2004). Identification of quantitative trait loci involved in fruit quality traits in melon (*Cucumis melo* L.). *Theoretical and Applied Genetics* 108(4), 750-758.
- Ngoc, Q. (2020). *Replicating the model of planting the Muskmelon*. Retrieved August 10, 2020, from <https://congthuong.vn/dua-luoi-cong-nghe-cao-mo-hinh-can-nhan-rong-140939.html>.
- Paris, M. K., Zalapa, J. E., McCreight, J. D., & Staub, J. E. (2008). Genetic dissection of fruit quality components in melon (*Cucumis melo* L.) using a RIL population derived from exotic x elite US Western Shipping germplasm. *Molecular Breeding* 22(3), 405-419.
- Phan, K. T. (2006). *Plant breeding curriculum*. Ho Chi Minh City, Vietnam: Agricultural Publishing House.
- Singh, M. J., & Randhawa, K. S. (1990). Evaluation of heterosis and ability for traits in muskmelon. *Indian Journal Horticulture* 47(2), 228-232.
- Zalapa, J. E., Staub, J. E., & McCreight, J. D. (2006). Generation means analysis of plant architectural traits and fruit yield in melon. *Plant Breeding* 125(5), 482-487.

## The distribution and presence of vesicular-arbuscular mycorrhiza fungi in rhizosphere soil of Da Xanh pummelo in Ba Ria Vung Tau province

Huong N. D. Thai\*, Linh T. M. Nguyen, & Duong T. T. Pham  
Faculty of Agronomy, Nong Lam University, Ho Chi Minh City, Vietnam

### ARTICLE INFO

#### Research Paper

Received: February 23, 2021

Revised: April 02, 2021

Accepted: April 16, 2021

#### Keywords

*Acaulospora*

*Glomus*

Mycorrhiza distribution

Pummelo

Soil depth

#### \*Corresponding author

Thai Nguyen Diem Huong

Email: diemhuong\_tn@hcmuaf.edu.vn

### ABSTRACT

The study was carried out to determine the distribution and presence of vesicular-arbuscular mycorrhiza (VAM) fungi in rhizosphere soil and roots of Da Xanh pummelo in Phu My town, Ba Ria Vung Tau province. The rhizosphere soil and root samples were collected from 6 - 7 years old pummelo of two main soil types, on two soil layers at depths of 0 - 20 cm and 20 - 40 cm, at 2/3 and the edge of canopy. The results showed that the presence of VAM spore density was higher in red basaltic soil (ferralsols) than black soil (luvisols), and common exist on the topsoil layer (0 - 20 cm) as well as the edge of canopy. *Glomus* and *Acaulospora* were two most abundant genera in survey areas, and the proportion of mycorrhizal spores ranged from  $53.18 \pm 2.59\%$  to  $58.54 \pm 0.46$  and from  $23.68 \pm 2.96\%$  to  $29.33 \pm 0.64\%$ , respectively. Increasing the soil depth negatively affected on spore density of VAM fungi. The VAM fungi composition also changed with soil depth. The percentage of root colonization by VAM fungi ranged from  $56.20 \pm 3.11\%$  to  $62.00 \pm 3.37\%$ , and the highest percentage of root colonization by VAM fungi was detected in red basaltic soil.

**Cited as:** Thai, H. N. D, Nguyen, L. T. M, & Pham, D. T. T. (2021). The distribution and presence of vesicular-arbuscular mycorrhiza fungi in rhizosphere soil of Da Xanh pummelo in Ba Ria Vung Tau province. *The Journal of Agriculture and Development* 20(2), 10-16.

## Sự phân bố và hiện diện của nấm rễ nội cộng sinh (Vesicular Arbuscular Mycorrhiza) trong vùng đất trồng bưởi Da Xanh tại Bà Rịa Vũng Tàu

Thái Nguyễn Diễm Hương\*, Nguyễn Thị Mỹ Linh & Phạm Thị Thuỳ Dương

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

### THÔNG TIN BÀI BÁO

#### Bài báo khoa học

Ngày nhận: 23/02/2021

Ngày chỉnh sửa: 02/04/2021

Ngày chấp nhận: 16/04/2021

#### Từ khóa

*Acaulospora*

Bưởi

Độ sâu tầng đất

*Glomus*

Sự phân bố nấm nội cộng sinh

#### \*Tác giả liên hệ

Thái Nguyễn Diễm Hương

Email: diemhuong\_tn@hcmuaf.edu.vn

### TÓM TẮT

Nghiên cứu được thực hiện nhằm xác định sự phân bố và hiện diện của nấm nội cộng sinh VAM (Vesicular Arbuscular Mycorrhiza) trong vùng đất quanh rễ và rễ bưởi Da Xanh tại Phú Mỹ, Bà Rịa Vũng Tàu. Các mẫu đất và rễ được thu thập trên các vườn bưởi 6 - 7 năm tuổi, trồng trên 2 nền đất phổ biến tại địa phương, ở 2 tầng đất 0 - 20 cm và 20 - 40 cm, tại 2/3 tán và mép tán. Kết quả cho thấy nấm VAM hiện diện trên nền đất đỏ bazan với mật số bào tử cao hơn trong đất đen, tập trung chủ yếu ở tầng đất mặt (0 - 20 cm) và ở mép tán. Chi *Glomus* và *Acaulospora* là 2 chi chiếm ưu thế với tỉ lệ dao động lần lượt trong khoảng từ  $53,18 \pm 2,59\%$  đến  $58,54 \pm 0,46\%$  và  $23,68 \pm 2,96\%$  đến  $29,33 \pm 0,64\%$ . Càng tăng độ sâu tầng đất, mật số bào tử nấm VAM càng giảm, thành phần các chi nấm cộng sinh cũng thay đổi. Tỉ lệ rễ có sự cộng sinh dao động từ  $56,20 \pm 3,11\%$  đến  $62,00 \pm 3,37\%$ , cao nhất trên đất đỏ.

### 1. Đặt Vấn Đề

Nấm cộng sinh Vesicular Arbuscular Mycorrhiza (VAM) là một dạng cộng sinh giữa thực vật bậc cao và nấm. Gần 90% các loài cây trồng trên trái đất có sự tồn tại của nấm cộng sinh (Gadkar & ctv., 2001). Sự có mặt của nấm cộng sinh trong vùng rễ cây trồng giúp cây trồng tăng tỉ lệ sống cây con, tăng khả năng sinh trưởng và số hoa. Wu & ctv. (2011) đã báo cáo rằng việc chủng nấm cộng sinh vào cây họ cam quýt đã làm tăng số lượng rễ, chiều dài rễ và thể tích rễ, nhờ đó tăng khả năng hút nước và dinh dưỡng cho cây trồng. Với những lợi ích của nấm rễ cộng sinh như vậy, việc nghiên cứu ứng dụng nấm rễ nội cộng sinh trong nông nghiệp có vai trò quan trọng trong việc duy trì một hệ sinh thái ổn định và một nền nông nghiệp bền vững (Wang & ctv., 2012), đặc biệt trong điều kiện bất lợi và tình

hình khí hậu diễn biến phức tạp như hiện nay.

Bà Rịa Vũng Tàu có nhiều chủng loại cây ăn trái, trong đó có bưởi Da Xanh. Theo thống kê của BRVT CPPPS (2018), thị xã Phú Mỹ có diện tích trồng bưởi Da Xanh lớn nhất trong toàn tỉnh (chiếm gần 50% diện tích trồng bưởi Da Xanh của tỉnh), tập trung chủ yếu tại xã Sông Xoài và phường Hắc Dịch.

Để nâng cao chất lượng và xây dựng một vùng bưởi Da Xanh an toàn và bền vững, việc nghiên cứu sử dụng các chế phẩm sinh học là việc làm cần thiết, trong đó, nghiên cứu và ứng dụng nấm cộng sinh trong canh tác cây trồng là một trong những hướng cần được quan tâm. Vì vậy, nghiên cứu đã được thực hiện để xác định sự phân bố và hiện diện của những chủng nấm cộng sinh có trong vùng rễ và những nền đất trồng bưởi Da Xanh chủ yếu tại Phú Mỹ, Bà Rịa Vũng Tàu, làm nền tảng cho những nghiên cứu tiếp theo.

**Bảng 1.** Thông tin mẫu đất và rễ thu thập tại Phú Mỹ, Bà Rịa Vũng Tàu

STT	Kí hiệu mẫu	Loại đất	Tuổi cây (tuổi)	Địa điểm thu thập
1	SX1	Đỏ bazan	6	Sông Xoài
2	SX2	Đỏ bazan	6	Sông Xoài
3	SX3	Đen	6	Sông Xoài
4	SX4	Đen	7	Sông Xoài
5	SX5	Đen	6	Sông Xoài
6	HD1	Đỏ bazan	6	Hắc Dịch
7	HD2	Đỏ bazan	6	Hắc Dịch
8	HD3	Đỏ bazan	7	Hắc Dịch
9	HD4	Đen	6	Hắc Dịch
10	HD5	Đen	6	Hắc Dịch

## 2. Vật Liệu và Phương Pháp Nghiên Cứu

### 2.1. Vật liệu

Mẫu đất và mẫu rễ thu thập tại vườn bưởi Da Xanh trên hai nền đất trồng bưởi phổ biến tại địa phương. Cây đang trong giai đoạn nuôi trái (giai đoạn 100 - 130 ngày sau đậu trái), khoẻ mạnh, 6 - 7 năm tuổi, thuộc xã Sông Xoài và phường Hắc Dịch, thị xã Phú Mỹ, tỉnh Bà Rịa Vũng Tàu. Thông tin chi tiết được trình bày trong Bảng 1.

Một số hoá chất và dụng cụ sử dụng trong nghiên cứu:

- Hoá chất: Đường Sucrose, acid lactic, glycerol, polyvinyl alcohol, hydrogen peroxide, amoniac, acid clohydric, chloral hydrate, iodine, trypan blue, acid acetic, kali hydroxit, potassium dichromate, acid sulfuric đậm đặc, acid phosphoric đậm đặc, muối morh và một số hoá chất khác.

- Thiết bị và dụng cụ: kính hiển vi Olympus (Model CX21FS1), lame, đĩa petri, giấy lọc, rây 50 - 1000  $\mu\text{m}$ , cốc thủy tinh 10 mL và 1000 mL, pipet, máy ly tâm và một số thiết bị khác.

### 2.2. Phương pháp nghiên cứu

Chọn ngẫu nhiên 10 hộ canh tác bưởi Da Xanh trên các nền đất trồng bưởi phổ biến tại Phú Mỹ, Bà Rịa Vũng Tàu, diện tích trồng lớn hơn 1.000  $\text{m}^2$ , cây ở giai đoạn cho trái ổn định (6 - 7 năm tuổi), không bón phân cách thời điểm thu mẫu 7 ngày. Tiến hành thu thập mẫu ở 2 tầng đất: 0 - 20 cm, 20 - 40 cm; ở vị trí 2/3 tán và mép tán.

Phương pháp lấy mẫu: dựa theo TCVN5297 - 1995. Trên mỗi vườn thu mẫu, chọn ngẫu nhiên 5 điểm trong vườn theo đường chéo góc, mỗi điểm chọn 1 cây, mỗi cây lấy ở 4 vị trí ở 4 hướng khác nhau, mỗi vị trí lấy mẫu tại 2 tầng đất. Khi thu

mẫu, loại bỏ lớp đất mặt 0 - 2 cm để loại trừ xác bã thực vật, dùng xẻng đã khử trùng bằng cồn đào lấy đất ở độ sâu 0 - 20 cm và 20 - 40 cm, ở vị trí 2/3 tán và mép tán. Mẫu được đựng vào bao, dán nhãn kí hiệu vùng đất, địa điểm, vị trí, tầng đất lấy mẫu và mang về phòng thí nghiệm ngay sau khi thu.

Phương pháp xử lý mẫu: Mẫu rễ được tách khỏi đất, rửa sạch, loại bỏ các rễ già, hư hỏng, sau đó, cắt rễ thành từng đoạn dài 1 cm và tiến hành nhuộm rễ. Đối với mẫu đất, loại bỏ xác bã thực vật, tiến hành phân lập và đếm số lượng bào tử nấm cộng sinh có trong mẫu thu thập.

Chỉ tiêu theo dõi:

- Nấm cộng sinh:

Mật số bào tử nấm cộng sinh (bào tử/100 g đất): đếm số lượng bào tử có trong 100 g đất trên kính hiển vi. Việc phân lập bào tử nấm cộng sinh theo TCVN 12560 - 1:2018 bằng kỹ thuật sàng ướt ly tâm nổi.

% chi trong mẫu (%): đếm số lượng từng chi và tính tỉ lệ % mỗi chi có trong mẫu. Việc định danh được thực hiện theo các tiêu chí của INVAM.

Tỉ lệ đoạn rễ có nấm cộng sinh (%): cắt rễ thành từng đoạn có chiều dài 1 cm, chọn ngẫu nhiên 20 đoạn rễ/mẫu, quan sát dưới kính hiển vi sau khi nhuộm bằng trypan blue. Ghi nhận tỉ lệ xâm nhiễm và tính tỉ lệ đoạn rễ có cộng sinh.

Tỉ lệ đoạn rễ có nấm cộng sinh (%) = (số đoạn rễ có nấm cộng sinh/tổng số đoạn rễ quan sát) x 100.

- Đất:

Thành phần cơ giới: Theo TCVN 8567:2010.

pH<sub>H<sub>2</sub>O</sub>: Đo bằng máy đo pH.

Hàm lượng chất hữu cơ (%): Theo phương pháp Tyurin.

**Bảng 2.** Một số tính chất lý hoá của đất trồng bưởi Da Xanh tại Phú Mỹ, Bà Rịa Vũng Tàu

Loại đất	Vị trí lấy mẫu	Thành phần cơ giới đất			pH <sub>nước</sub> (1:5)	Hàm lượng chất hữu cơ (%)
		Sét (%)	Thịt (%)	Cát (%)		
Đen	2/3 tán	59,33	10,00	30,67	4,52	3,29
	Mép tán	63,33	9,33	27,33	4,70	3,69
Đỏ bazan	2/3 tán	63,33	8,67	28,00	4,65	3,48
	Mép tán	67,33	8,67	24,00	4,84	3,94

**Bảng 3.** Sự phân bố của bào tử nấm cộng sinh trên các nền đất và độ sâu khác nhau

Chỉ tiêu	Loại đất	Tầng đất		t-test
		0 – 20 cm	20 – 40 cm	
Mật số bào tử (bào tử/100g đất khô kiệt)	Đen	149,05 ± 4,49	53,91 ± 1,77	**
	Đỏ bazan	168,66 ± 10,17	57,97 ± 1,70	**
	t-test	**	**	
% bào tử <i>Glomus</i> (%)	Đen	57,96 ± 0,39	53,18 ± 2,59	**
	Đỏ bazan	58,54 ± 0,46	53,92 ± 2,48	**
	t-test	ns	ns	
% bào tử <i>Acaulospora</i> (%)	Đen	29,33 ± 0,64	24,98 ± 3,06	**
	Đỏ bazan	29,28 ± 0,56	23,68 ± 2,96	**
	t-test	ns	ns	
% bào tử chi chưa định danh được (%)	Đen	12,71 ± 0,54	21,84 ± 3,29	**
	Đỏ bazan	12,18 ± 0,53	22,41 ± 2,97	**
	t-test	ns	ns	

± khoảng tin cậy ở mức 95%; \*\*: Sự khác biệt rất có ý nghĩa thống kê; ns: Sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê.

Phương pháp xử lý số liệu: Các số liệu thu thập được tổng hợp, xử lý và so sánh t-test bằng phần mềm Excel.

### 3. Kết Quả và Thảo Luận

#### 3.1. Đặc tính lý hoá của đất trồng bưởi Da Xanh

Những đặc điểm của đất có ảnh hưởng một cách rõ ràng đến cả cây trồng và nấm cộng sinh nên việc nghiên cứu về VAM cần xem xét đến yếu tố thổ nhưỡng cũng như cây trồng và nấm (Kapoor & ctv., 2002). Tại Phú Mỹ, Bà Rịa Vũng Tàu, các nông hộ trồng bưởi chủ yếu trên hai nền đất: đất đen và đất đỏ bazan. Kết quả Bảng 2 cho thấy, mẫu đất tại các điểm khảo sát có sa cấu sét (với tỉ lệ sét cao hơn 50%) (USDA, 1960), trong đó đất bazan có tỉ lệ sét cao hơn 60%. Đồng thời, các mẫu đất có pH<sub>H<sub>2</sub>O</sub> (1:5) ở mức chua rất nhiều (Slavich & Petterson, 1993), dao động trong khoảng 4,52 - 4,84. Ở mức pH này, lân và một số nguyên tố khác dễ bị cố định, gây ảnh hưởng một phần đến sự phân bố và hiện diện của các chi và loài nấm cộng sinh. Hàm lượng chất hữu cơ ở mức trung bình (Rayment & Lyons,

2011), dao động từ 3,29 - 3,94%. Kết quả cho thấy, pH và hàm lượng chất hữu cơ ở phần mép tán có xu hướng cao hơn ở 2/3 tán. Điều này có thể giải thích là do tập quán canh tác của nông dân địa phương, đặc biệt là cách bón phân nên ảnh hưởng đến tính chất hoá học của đất. Đa số nông dân trồng bưởi tại Phú Mỹ, Bà Rịa Vũng Tàu bón phân hoá học ở vị trí khoảng 2/3 tán. Việc bón một số loại phân hoá học, đặc biệt là super lân, kali sunphat sẽ khiến đất chua hơn.

#### 3.2. Sự phân bố của bào tử nấm cộng sinh trên các nền đất khác nhau

Trên 2 nền đất trồng bưởi Da Xanh phổ biến tại Phú Mỹ, Bà Rịa Vũng Tàu, kết quả khảo sát cho thấy có sự hiện diện của VAM với nhiều chi khác nhau, trong đó có 2 chi định danh được là *Glomus* và *Acaulospora*. Ở các tầng đất khác nhau, mật số bào tử nấm cộng sinh, tỉ lệ % của các chi hiện diện trong đất cũng khác nhau và khác biệt rất có ý nghĩa về mặt thống kê (Bảng 3). Trên cùng một tầng đất, ở hai loại đất khác nhau, có sự khác biệt rất có ý nghĩa về mật số bào tử nhưng tỉ lệ % của các chi hiện diện trong đất khác biệt không có ý nghĩa về mặt thống kê khi so sánh t-test. Đất có



hàm lượng sét, pH và chất hữu cơ cao hơn thì mật số bào tử VAM cũng có xu hướng tăng. Kết quả này phù hợp với kết luận của Day & ctv. (1987) và Johnson & ctv. (1991). Đặc biệt trên nền đất giàu hữu cơ, sự phân nhánh và phát triển của sợi nấm sẽ được kích thích khi có sự cạnh tranh với các vi sinh vật khác (Joner & Jakobsen, 1995). Do đó, mật số bào tử VAM trong đất đỏ bazan cao hơn mật số bào tử VAM trong đất đen, khác biệt rất có ý nghĩa về mặt thống kê. Mặt khác, Bảng 3 cũng cho thấy nấm VAM hiện diện chủ yếu trên tầng đất mặt (0 - 20 cm) với mật số khá cao và giảm mạnh ở tầng 20 - 40 cm. Điều này cho thấy, độ sâu của đất càng tăng, mật số bào tử nấm VAM càng giảm. Kết quả này phù hợp với nghiên cứu của Cuenca & Lovera (2010), Shukla & ctv. (2013), Nguyen & ctv. (2017). Bởi khi độ sâu đất càng tăng, lượng chất hữu cơ, hàm lượng oxy sẽ càng giảm, và các rễ tơ - nơi nấm rễ có thể cộng sinh tập trung chủ yếu ở lớp đất mặt.

Trong các chi nấm VAM hiện diện trong đất trồng bưởi Da Xanh tại Phú Mỹ, Bà Rịa Vũng Tàu, chi *Glomus* chiếm ưu thế nhất (trên 50%). Đây cũng là chi nấm hiện diện chủ yếu trong đất trồng cây có múi theo kết luận của Davies & Albrigo (1994) và Fidelibus & ctv. (2000). Một vài loài trong chi *Glomus* phổ biến trong đất trung tính hoặc kiềm nhưng một số ít lại hiện diện trong đất chua trong khi các loài thuộc chi *Acaulospora* lại thường tìm thấy trên đất chua (Rupam & ctv., 2002). Chính vì vậy, kết quả khảo sát trên vùng đất trồng bưởi Da Xanh tại Phú Mỹ cho thấy, bên cạnh chi *Glomus*, chi *Acaulospora* cũng khá phổ biến. Chi *Acaulospora* và chi *Glomus* cũng là hai trong những chi phổ biến nhất trên đất trồng cam ở Nghệ An (Nguyen & ctv., 2012) hay đất trồng cam quýt ở miền Nam Trung Quốc (Wang & ctv., 2012).

Bảng 3 cũng cho thấy sự phân bố và hiện diện của các chi nấm thay đổi theo độ sâu tầng đất, khác biệt rất có ý nghĩa về mặt thống kê khi so sánh t-test. Kết quả này cũng phù hợp với nghiên cứu của Shukla & ctv. (2013). Theo Oehl & ctv. (2005), có thể có một vài loài VAM khá phổ biến, có mặt ở các độ sâu khác nhau của đất nhưng cũng có một vài loài chỉ hiện diện ở độ sâu đặc biệt và rất khác biệt so với những loài VAM có trong tầng đất mặt. Có lẽ chính vì vậy mà những chi khác (chưa định danh được) hiện diện trong tầng đất trồng bưởi Da Xanh tại Phú Mỹ ở độ sâu 20 - 40 cm với tỉ lệ cao hơn so với tầng 0 - 20 cm.

### 3.3. Sự phân bố của bào tử nấm cộng sinh ở các vị trí lấy mẫu khác nhau

Bảng 4 cho thấy trên đất trồng bưởi Da Xanh tại Phú Mỹ, Bà Rịa Vũng Tàu, ở các tầng đất và vị trí lấy mẫu khác nhau, mật số bào tử nấm VAM nói chung và các chi *Glomus*, *Acaulospora* nói riêng khác biệt rất có ý nghĩa về mặt thống kê. Cụ thể, mật số bào tử ở tầng đất mặt (0 - 20 cm) cao hơn lượng bào tử thu thập ở tầng 20 - 40 cm bởi việc sản sinh bào tử tập trung chủ yếu ở lớp đất mặt (Oehl & ctv., 2005; Cuenca & Lovera, 2010) và có thể cộng sinh với phần lớn rễ hút hiện diện ở tầng canh tác. Nấm VAM phụ thuộc hoàn toàn vào nguồn cacbon của cây ký chủ, vì vậy, sự phân bố của bào tử VAM có liên quan đến sự phân bố rễ trong đất. Kết quả cũng cho thấy bào tử chi *Glomus* và *Acaulospora* hiện diện với mật số khá cao, đặc biệt là trên tầng đất mặt. Có lẽ do đây là hai chi cần ít thời gian để hình thành bào tử hơn loài của các chi khác (Wang & Jiang, 2015). Hơn nữa, kết quả cũng chỉ ra rằng, bào tử VAM tập trung nhiều ở phần mép tán (nhiều hơn so với 2/3 tán) ở tất cả các tầng đất. Điều này có thể lý giải là do ở mép tán, pH và hàm lượng chất hữu cơ cao hơn (Bảng 2) nên nấm cộng sinh hiện diện chủ yếu tại vị trí này (Joner & Jakobsen, 1995; He & ctv., 2002). Bên cạnh đó, theo quan sát thực địa, một lượng lớn rễ hút phân bố chủ yếu theo hình chiếu tán cây, tạo điều kiện cho nấm cộng sinh xâm nhập và phát triển. Riêng đối với chi *Acaulospora*, mật số bào tử trong tầng đất mặt (0 - 20 cm) ở mép tán và 2/3 tán là như nhau, khác biệt không có ý nghĩa về mặt thống kê. Tương tự, ở tầng sâu hơn (20 - 40 cm), mật số bào tử chưa định danh được cũng không phụ thuộc vào vị trí lấy mẫu.

### 3.4. Sự phân bố của nấm cộng sinh trong rễ

Lợi ích mà nấm VAM mang lại chỉ khi có sự cộng sinh với rễ (Solaiman & Hirata, 1996). Kết quả cho thấy nấm VAM cộng sinh trong rễ bưởi Da Xanh trồng tại Phú Mỹ, Bà Rịa Vũng Tàu với tỉ lệ khác nhau. Có khoảng 53 - 65% đoạn rễ khảo sát có sự cộng sinh. Theo thang phân loại của Zangaro & ctv. (2002), kết quả này ở mức trung bình đến cao. Theo khảo sát t-test, tỉ lệ đoạn rễ có nấm cộng sinh ở vị trí 2/3 tán và mép tán khác biệt không có ý nghĩa về mặt thống kê trên cả hai nền đất (Bảng 5). Tuy nhiên, có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về tỉ lệ đoạn rễ bưởi Da Xanh có nấm cộng sinh trên 2 nền đất tại vị

**Bảng 4.** Sự phân bố của bào tử nấm cộng sinh ở độ sâu và vị trí lấy mẫu khác nhau

Chỉ tiêu	Tầng đất	Vị trí lấy mẫu		Trung bình	t-test
		2/3 tán	Mép tán		
Mật số bào tử VAM (bt/100 g đất khô kiệt)	0 - 20 cm	150,43 ± 7,81	167,29 ± 8,17	158,86 ± 7,84	**
	20 - 40 cm	52,25 ± 1,34	59,62 ± 1,64	55,94 ± 1,30	**
	t-test	**	**		
Mật số bào tử <i>Glomus</i> (bt/100 g đất khô kiệt)	0 - 20 cm	87,45 ± 4,74	97,62 ± 4,62	92,54 ± 4,57	**
	20 - 40 cm	28,02 ± 1,59	31,87 ± 1,60	29,94 ± 1,25	**
	t-test	**	**		
Mật số bào tử <i>Acaulospora</i> (bt/100 g đất khô kiệt)	0 - 20 cm	44,84 ± 2,74	48,51 ± 2,91	46,67 ± 2,74	ns
	20 - 40 cm	11,99 ± 1,51	15,39 ± 1,95	13,69 ± 1,20	**
	t-test	**	**		
Mật số bào tử chi chưa định danh được (bt/100 g đất khô kiệt)	0 - 20 cm	18,14 ± 0,89	21,15 ± 1,18	19,65 ± 0,92	**
	20 - 40 cm	12,24 ± 1,71	12,37 ± 1,81	12,31 ± 1,33	ns
	t-test	**	**		

± khoảng tin cậy ở mức 95%; \*\*: Khác biệt rất có ý nghĩa thống kê; \*: Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê; ns: Sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê.

trí 2/3 tán. Điều này cho thấy vị trí 2/3 hay mép tán, nấm VAM đều có thể cộng sinh trong rễ với tỉ lệ như nhau. Tỉ lệ này chỉ bị ảnh hưởng khi canh tác bừa trên các nền đất khác nhau. Trên nền đất đỏ bazan, tỉ lệ đoạn rễ bừa có nấm cộng sinh cao hơn đoạn rễ bừa thu thập trên nền đất đen. Nguyên nhân có thể do bào tử VAM ở nền đất này hiện diện với mật số cao hơn.

**Bảng 5.** Tỉ lệ (%) đoạn rễ bừa Da Xanh có nấm cộng sinh

Loại đất	Vị trí lấy mẫu		t-test
	2/3 tán	Mép tán	
Đen	56,20 ± 3,11	58,40 ± 3,80	ns
Đỏ bazan	62,00 ± 3,37	62,20 ± 3,10	ns
t-test	*	ns	

: ± Khoảng tin cậy ở mức 95%; \*: Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê; ns: Sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê.

**4. Kết Luận**

Trên vùng đất trồng bừa Da Xanh tại Phú Mỹ, Bà Rịa Vũng Tàu có sự hiện diện của VAM với 2 chi chính là *Glomus* và *Acaulospora*. Mật số bào tử VAM và tỉ lệ rễ có sự cộng sinh trên nền đất đỏ cao hơn trên đất đen, tập trung chủ yếu trên tầng đất mặt và ở vị trí mép tán. Độ sâu tầng canh tác càng cao, mật số bào tử càng giảm và thành phần các chi VAM cũng thay đổi.

**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)**

BRVT CPPPS (Ba Ria Vung Tau Crop Production and Plant Protection Subdepartment). (2018). *Fruit crops production status in Ba Ria Vung Tau* (research report). Ba Ria Vung Tau Agriculture and Rural Development Department, Ba Ria Vung Tau, Vietnam.

Cuenca, G., & Lovera, M. (2010). Seasonal variation and distribution at different soil depths of Arbuscular Mycorrhizal fungi spores in a tropical sclerophyllous shrubland. *Botany* 88(1), 54-64.

Davies, F. S., & Albrigo, L. G. (1994). *Citrus (Crop production science in horticulture)* (1<sup>st</sup> ed.). Oxford, UK: Oxford University Press.

Day, L. D., Sylvia, D. M., & Collins, M. E. (1987). Interactions among vesicular arbuscular mycorrhizae, soil, and landscape position. *Soil Science Society of America Journal* 51(3), 635-639.

Fidelibus, M. W., Martin, C. A., Wright, G. C., & Stutz, J. C. (2000). Effect of arbuscular mycorrhizal (AM) fungal communities on growth of 'Volkamer' lemon in continually moist or periodically dry soil. *Scientia Horticulturae* 84(1-2), 127-140.

Gadkar, V., David-Schwartz, R., Kunik, T., & Kapulnik, Y. (2001). Arbuscular mycorrhizal fungal colonization. Factors involved in host recognition. *Plant Physiology* 127(4), 1493-1499.

He, X. L., Mouratov, S., & Steinberger, Y. (2002). Spatial distribution and colonization of arbuscular mycorrhizal fungi under the canopies of desert halophytes. *Arid Land Research and Management* 16(2), 149-160.

Johnson, N. C., Zak, D. R., Tilman, D., & Pflieger, F. L. (1991). Dynamics of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi during old field succession. *Oecologia* 86, 349-358.

- Joner, E. J., & Jakobsen, I. (1995). Growth and extracellular phosphatase activity of arbuscular mycorrhizal hyphae as influenced by soil organic matter. *Soil Biology and Biochemistry* 27(9), 1153-1159.
- Kapoor, R., Giri, B., & Mukerji, K. G. (2002). Soil factors in relation to distribution and occurrence of vesicular Arbuscular Mycorrhiza. In Mukerji, K. G., Manoharachary, C., & Chamola, B. P. (Eds.). *Techniques in mycorrhizal studies* (51-85). Dordrecht, Germany: Springer.
- Nguyen, L. T. K., Le, T. T., Nguyen, H. V., & Nguyen, H. H. (2012). A study on Arbuscular Mycorrhiza diversity in soil and orange roots sampled from Quy Hop, Nghe An. *Journal of Biology* 34(4), 441-445.
- Nguyen, T. T., Tran T. T. T., & Nguyen, H. V. (2017). Distribution of Arbuscular Mycorrhiza fungi (AMF) spores in citrus orchards in Cao Phong district, Hoa Binh province. *Journal of Science: Advanced Materials and Devices* 33(1S), 235-242.
- Rayment, G. E., & Lyons, D. J. (2011). *Soil chemical methods - Australasia*. Collingwood, Australia: Csiro-publishing.
- Shukla, A., Vyas, D., & Anuradh, J. (2013). Soil depth: an overriding factor for distribution of arbuscular mycorrhizal fungi. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition* 13(1), 23-33.
- Slavich, P. G., & Petterson, G. H. (1993). Estimating the critical conductivity of saturated paste extracts from 1:5 soil: water suspensions and texture. *Australian Journal of Soil Research* 31(1), 73-81.
- Solaiman, M. Z., & Hirata, H. (1996). Effectiveness of arbuscular mycorrhizal colonization at nursery stage on growth and nutrition in wetland rice (*Oryza sativa* L) after transplanting under different soil fertility and water regimes. *Soil Science and Plant Nutrition* 42(3), 561-571.
- Oehl, F., Sieverding, E., Ineichen, K., Ris, E. A., Boller, T., & Wiemken, A. (2005). Community structure of arbuscular mycorrhizal fungi at different soil depths in extensively managed agroecosystems. *New Phytologist* 165(1), 273-283.
- Wang, M., & Jiang, P. (2015). Colonization and diversity of AM fungi by morphological analysis on medicinal plants in Southeast China. *The Scientific World Journal* (ID 753842). <https://doi.org/10.1155/2015/753842>.
- Wang, P., Zhang, J. J., Shu, B., & Xia, R. X. (2012). Arbuscular mycorrhizal fungi associated with citrus orchards under different types of soil management, southern China. *Plant Soil Environment* 58, 302-308.
- Wu, Q. S., Zou, Y. N., He, X. H., & Luo, P. (2011). Arbuscular mycorrhizal fungi can alter some root characters and physiological status in trifoliate orange (*Poncirus trifoliata* L. Raf.) seedlings. *Plant Growth Regulation* 65, 273-278.
- Zangaro, W., Nisizaki, S. M. A., Domingos, J. C. B., & Nakano, E. M. (2002). Arbuscular mycorrhizal in native woody species of Tibagi River Basin, Paraná. *Cerne* 8(1), 077-087.

Estimation of the specific combining ability (SCA) of eight bitter gourd (*Momordica charantia* L.) inbred lines in the sixth generation

Trinh T. T. To<sup>1\*</sup>, Hiet D. Hoang<sup>1</sup>, Man T. T. Le<sup>1</sup>, Lam V. Tran<sup>1</sup>, Phuong T. B. Nguyen<sup>1</sup>, Tuan Q. Huynh<sup>1</sup>, Bich T. Thai, & Dan T. Vo<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Research and Development Center for Hi-tech Agriculture, Ho Chi Minh City, Vietnam

<sup>2</sup>Faculty of Agronomy, Nong Lam University, Ho Chi Minh City, Vietnam

ARTICLE INFO

Research Paper

Received: February 01, 2021

Revised: April 02, 2021

Accepted: April 20, 2021

Keywords

Bitter gourd

Characteristics

*Momordica charantia* L.

Specific combining ability (SCA)

Yield

\*Corresponding author

To Thi Thuy Trinh

Email: trinhhtocnc@gmail.com

ABSTRACT

Estimating the Specific Combining Ability (SCA) of bitter gourd (*Momordica charantia* L.) inbred lines for breeding F1 hybrid cultivars was performed at the Research and Development Center for Hi-tech Agriculture in Ho Chi Minh City from September to December 2019. The objective of the study was to select the outstanding hybrid combinations from diallen method to produce F1 hybrid cultivars. The results from estimating the SCAs based on the productivity characteristic of 28 hybrid combinations produced from eight bitter gourd I6 inbred lines (Q16, Q65, Q80, Q86, Q75, Q06, Q81 và Q87) following diallen method showed that four promised hybrid combinations (Q65/Q80, Q86/Q75, Q06/Q81 and Q81/Q87) performed over 10% higher SCA values and heterosis than the control, and they were less susceptible to infectious diseases. Fruit characteristics and yield of four hybrid combinations included fruit length of 16.0 to 17.6 cm; fruit width of 6.2 to 6.8 cm; 132.2 to 151.7 g/fruit and average yield of 4.1 to 4.3 tons/1000 m<sup>2</sup>.

**Cited as:** To, T. T. T., Hoang, H. D., Le, M. T. T., Tran, L. V., Nguyen, P. T. B., Huynh, T. Q., Thai, B. T., & Vo, D. T. (2021). Estimation of the specific combining ability (SCA) of eight bitter gourd (*Momordica charantia* L.) inbred lines in the sixth generation. *The Journal of Agriculture and Development* 20(2), 17-26.

## Đánh giá khả năng kết hợp riêng của 8 dòng khổ qua (*Momordica charantia* L.) thế hệ I<sub>6</sub>

Tô Thị Thùy Trinh<sup>1\*</sup>, Hoàng Đắc Hiệt<sup>1</sup>, Lê Thị Thu Mận<sup>1</sup>, Trần Văn Lâm<sup>1</sup>,  
Nguyễn Thị Bích Phượng<sup>1</sup>, Huỳnh Quang Tuấn<sup>1</sup>, Thái Thị Bích<sup>1</sup> & Võ Thái Dân<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Trung Tâm Nghiên Cứu và Phát Triển Nông Nghiệp Công Nghệ Cao, TP. Hồ Chí Minh

<sup>2</sup>Khoa Nông Học, Trường Đại Học Nông Lâm TP.HCM, TP. Hồ Chí Minh

### THÔNG TIN BÀI BÁO

#### Bài báo khoa học

Ngày nhận: 01/02/2021

Ngày chỉnh sửa: 02/04/2021

Ngày chấp nhận: 20/04/2021

#### Từ khóa

Cây khổ qua

Hình thái

Khả năng kết hợp riêng (SCA)

*Momordica charantia* L.

Năng suất

#### \*Tác giả liên hệ

Tô Thị Thùy Trinh

Email: trinhhtocnc@gmail.com

### TÓM TẮT

Đánh giá khả năng kết hợp riêng của 8 dòng khổ qua (*Momordica charantia* L.) thế hệ I<sub>6</sub> được thực hiện tại Trung tâm Nghiên cứu và Phát triển Nông nghiệp Công nghệ cao trong thời gian từ tháng 09/2019 đến tháng 12/2019. Mục tiêu là chọn tổ hợp lai ưu tú bằng phương pháp lai diallen phục vụ lai tạo giống F1. Kết quả đánh giá khả năng phối hợp riêng dựa trên tính trạng năng suất của 28 tổ hợp lai bằng phương pháp lai diallen của 8 dòng khổ qua thế hệ I<sub>6</sub> (Q16, Q65, Q80, Q86, Q75, Q06, Q81 và Q87), chọn được 04 tổ hợp lai triển vọng có ưu thế lai cao vượt giống đối chứng từ 10% trở lên phục vụ công tác sản xuất gồm Q65/Q80, Q86/Q75, Q06/Q81 và Q81/Q87) và ít bị nhiễm bệnh hại. Đặc điểm quả và năng suất của bốn tổ hợp lai được chọn: chiều dài quả từ 16,0 - 17,6 cm; đường kính quả từ 6,2 - 6,8 cm; khối lượng quả trung bình dao động từ 132,2 - 151,7 g/quả và năng suất trung bình đạt 4,1 đến 4,3 tấn/1000 m<sup>2</sup>.

### 1. Đặt Vấn Đề

Cây khổ qua (*Momordica charantia* L.), thuộc họ bầu bí (*Cucurbitaceae*), là cây trồng phổ biến tại Việt Nam và một số quốc gia khác như Ấn Độ, Philippines, Trung Quốc, các nước ở châu Phi, Tây Á và Mỹ La Tinh, góp phần mang lại thu nhập cho nông dân. Sản phẩm từ cây khổ qua được sử dụng làm thực phẩm trong các bữa ăn hàng ngày và được chế biến thành các loại thực phẩm chức năng như trà thảo dược có lợi cho sức khỏe.

Tại Việt Nam, các giống khổ qua đang được nông dân sản xuất chủ yếu là giống lai F1 được nhập nội. Giống F1 cho năng suất cao, có thể trồng quanh năm nhưng giá thành hạt giống cao và không chủ động được nguồn hạt. Nghiên cứu lai tạo hạt giống F1 trong nước góp phần chủ động nguồn hạt giống trong nước và hạ giá thành

của hạt giống. Tùy theo thị hiếu của người tiêu dùng mà mục đích lai tạo giống phù hợp với từng thị trường. Đối với vùng Đông nam bộ chọn giống lai F1 có chiều dài quả trung bình, dạng quả thuôn, màu xanh nhạt, thịt dày có vị đắng ít và sức sinh trưởng mạnh, kháng bệnh phấn trắng, trồng quanh năm (Phan, 2017).

Nhận thấy tiềm năng của hạt giống lai F1 trong việc sản xuất các loại rau quả nói chung và giống cây khổ qua nói riêng, từ năm 2016, Trung tâm Nghiên cứu và phát triển Nông nghiệp Công nghệ cao đã thực hiện thu thập những mẫu giống khổ qua trồng tại khu vực Đông Nam bộ và tiến hành chọn lọc được 8 dòng khổ qua thế hệ I<sub>6</sub> phù hợp với mục tiêu của sản xuất hạt giống lai F1 (To & etv., 2019). Mục tiêu là tạo ra các tổ hợp lai ưu tú, có khả năng sinh trưởng và năng suất cao để sản xuất ra hạt giống lai F1. Do đó, nghiên cứu “Đánh giá khả năng kết hợp riêng của 8 dòng khổ

qua (*Momordica charantia* L.) thể hệ I<sub>6</sub>” đã được thực hiện.

**2. Vật Liệu và Phương Pháp Nghiên Cứu**

**2.1. Vật liệu**

Tám dòng khổ qua thuần được ký hiệu (Bảng 1): Q16, Q65, Q80, Q86, Q75, Q06, Q81 và Q87. 28 tổ hợp lai được tạo thành bằng phương pháp lai diallen theo chiều thuận (phương pháp IV) tạo thành số tổ hợp lai theo công thức:  $p(p - 1)/2 = 8(8 - 1)/2 = 28$  tổ hợp lai (Griffing, 1956). Giống đối chứng là giống lai F1 Vино 606 của công ty Việt Nông.

Thành phần giá thể trồng cây khổ qua gồm mụn dừa và phân trùn quế. Mụn dừa được xử lý sạch chất chát bằng cách ngâm xả nước trong 7 - 10 ngày, các chỉ số của mụn dừa đạt để đưa vào trồng cây như sau: độ pH: 5,5; Lignin: 62 - 75%; Tanin: 8,0 - 8,8%; EC: 0,07 dS/m. Phân trùn quế gồm chất hữu cơ (%): C: 7,64; mùn: 13,17; chất tổng số (%): N: 1,93; P: 0,71; K: 0,70 (AHRD, 2015).

Các loại hóa chất pha dung dịch thủy canh theo quy trình trồng khổ qua của Trung tâm Nghiên cứu và Phát triển Nông nghiệp Công nghệ cao: Monopotassium phosphate [KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>] (23% P và 28% K; Jordan), Calcium nitrate [Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>·4H<sub>2</sub>O] (16% N và 20% Ca ; Jordan), Potassium sulfate [K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>] (43,3% K; Jordan), Magnesium sulfate [MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O] (11% Mg; Jordan), Solubor [H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>] (20,5% B; Ấn Độ), Zinc sulfate [ZnSO<sub>4</sub>] (36% Zn; Ấn Độ), Copper sulfate [CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O] (25% Cu; Ấn Độ), Sodium molybdate [Na<sub>2</sub>MoH<sub>2</sub>O] (39,6% Mo; Đức) và Chelated sắt (11% Fe; Ấn Độ). Hóa chất sử dụng trong thí nghiệm có độ tinh khiết 89%.

**2.2. Điều kiện thí nghiệm**

Thời gian thí nghiệm: 05/09 đến 15/12/2019.

Thí nghiệm được thực hiện trong điều kiện nhà màng kiểu máy thông gió cố định, hệ thống tưới nhỏ giọt theo thiết kế của Trung tâm Nghiên cứu và Phát triển Nông nghiệp Công nghệ cao năm 2015. Bên trong nhà màng được thiết kế một lớp lưới cắt nắng 50%. Trung bình nhiệt độ trong nhà màng trong thời gian thí nghiệm ghi nhận được là 30,1 - 34,8°C. Độ ẩm không khí trong nhà màng trong thời gian thí nghiệm là 64,3 - 75,2%, thích

**Bảng 1.** Đặc điểm sinh trưởng và phát triển của 8 dòng khổ qua thể hệ I<sub>6</sub>

Dòng khổ qua	Thời gian thu quả (NST)	Thời gian sinh trưởng (NST)	Chiều dài quả (cm) (TB ± SE)	Đường kính quả (cm) (TB ± SE)	Màu sắc quả	Khối lượng quả (g) (TB ± SE)	Tổng số quả/cây (TB ± SE)	Năng suất thực thu (tấn/1000 m <sup>2</sup> ) (TB ± SE)
Q16	36	110	20,7 ± 0,4	6,4 ± 0,3	X	208,8 ± 0,8	24,1 ± 0,8	4,3 ± 0,6
Q65	38	95	23,8 ± 0,6	6,5 ± 0,4	X	207,5 ± 0,8	19,0 ± 0,8	3,7 ± 0,3
Q80	35	95	16,9 ± 0,4	7,2 ± 0,4	X	135,5 ± 1,0	27,2 ± 0,8	3,5 ± 0,6
Q86	38	105	17,5 ± 0,4	6,5 ± 0,3	XN	157,1 ± 0,9	25,5 ± 0,4	3,8 ± 0,3
Q75	35	95	18,2 ± 0,5	6,8 ± 0,5	XN	153,1 ± 1,3	23,9 ± 0,7	3,5 ± 0,5
Q06	35	120	18,6 ± 0,6	6,5 ± 0,6	X	139,4 ± 1,2	28,4 ± 0,6	3,6 ± 0,4
Q81	39	120	16,8 ± 0,5	6,5 ± 0,5	XN	150,5 ± 0,8	27,3 ± 0,5	3,9 ± 0,3
Q87	38	110	15,3 ± 0,6	5,8 ± 0,3	TR	143,8 ± 0,8	30,0 ± 0,6	3,9 ± 0,4
Vино 606	38	110	15,1 ± 0,5	5,6 ± 0,6	XN	140,7 ± 0,5	29,0 ± 0,5	3,9 ± 0,6

TB = Trung bình, SE = Sai số chuẩn, X = xanh, XN = xanh nhạt, TR = trắng.

hợp cho khổ qua.

### 2.3. Phương pháp nghiên cứu

Thí nghiệm đơn yếu tố được bố trí kiểu hoàn toàn ngẫu nhiên (CRD), 37 nghiệm thức (gồm 28 tổ hợp lai, 1 giống đối chứng Vино 606 và 8 dòng bố mẹ) và 3 lần lặp lại. Mỗi ô thí nghiệm trồng 50 cây thành 1 hàng. Khoảng cách trồng 1,4 x 0,5 m. Tiến hành gieo ươm cây con trong khay xốp và trồng khi cây con có 2 lá thật, đạt 8 ngày sau gieo. Giá thể để trồng và ươm cây gồm 70% mụn dừa + 20% phân trùn quế và 10% tro trấu. Cây được trồng trong bầu với thể tích 5 dm<sup>3</sup> giá thể.

Các chỉ tiêu theo dõi: thời gian thu quả (ngày), thời gian sinh trưởng (ngày), số cành cấp 1, chiều dài quả (cm), đường kính quả (cm), màu sắc quả, hình dạng quả, gai quả, độ đắng của quả: (đánh giá theo phương pháp cảm quan theo thang điểm từ 1 - 5) ((1) rất đắng; (2 - 4) đắng trung bình; (5) không đắng), tổng số quả/cây (quả), khối lượng trung bình quả (g), năng suất loại 1 (kg/1000 m<sup>2</sup>) và năng suất thực thu (kg/1000 m<sup>2</sup>), theo dõi tỷ lệ nhiễm bệnh sương mai (*Pseudoperonospora* sp.) (%), bệnh phấn trắng (*Erysiphe* sp.) (%) và vi rút (%) (theo tiêu chuẩn ngành 10 TCN 224:2003).

Nội dung được tiến hành trong điều kiện nhà màng, chăm sóc theo quy trình kỹ thuật trồng khổ qua trên giá thể trong nhà màng. Giai đoạn cây từ trồng đến ra hoa 100 ppm N, 50 ppm P, 80 ppm K, ppm 50 Mg, 90 ppm Ca. Giai đoạn cây từ ra hoa đến hết vụ 160 ppm N, 60 ppm P, 250 ppm K, ppm 50 Mg, 130 ppm Ca. Nồng độ phân vi lượng bổ sung 0,3 - 0,5 ppm B, 0,3 ppm Mn, 2 - 3 ppm Fe, 0,05 ppm Mo, 0,1 - 0,5 ppm Cu, 0,3 ppm Zn (AHRD, 2016).

### 2.4. Phương pháp đánh giá khả năng phối hợp

Xác định mức độ ưu thế lai gồm ưu thế lai trung bình, ưu thế lai thực, ưu thế lai chuẩn. Đánh giá khả năng phối hợp riêng yếu tố năng suất thực (Phan, 2006).

### 2.5. Phương pháp xử lý số liệu

Số liệu thí nghiệm được phân tích ANOVA, phân hạng trên phần mềm SAS 9.1. Khả năng phối hợp riêng được tính toán trên phần mềm Microsoft Excel và xây dựng cây phát sinh loài bằng phần mềm NTSYSp 2.1.

## 3. Kết Quả và Thảo Luận

### 3.1. Đặc điểm sinh trưởng của 28 tổ hợp lai được lai từ 08 dòng khổ qua thế hệ I<sub>6</sub>

Kết quả của lai tạo 8 dòng tự phối giống khổ qua bằng phương pháp lai diallen thu được 28 tổ hợp lai. Ghi nhận được tất cả các tổ hợp lai đều có khả năng hình thành hạt, tỷ lệ đậu quả và cho ra hạt giống trên 75%. Tỷ lệ hạt nảy mầm đạt từ 71% đến 92%, thời gian cho thu trung bình của các tổ hợp lai là 35 ngày, thời gian quả sớm nhất là 33,4 ngày và muộn nhất là 40,3 ngày. Các tổ hợp lai có khả năng phân cành mạnh, số cành cấp 1 dao động từ 19,8 đến 30,4 cành/cây. Thời gian sinh trưởng của các tổ hợp lai từ 94,1 đến 120,6 ngày sau trồng.

### 3.2. Đặc điểm quả của 28 tổ hợp lai được lai từ 08 dòng khổ qua thế hệ I<sub>6</sub>

Theo kết quả Bảng 2, các tổ hợp lai có chiều dài quả trung bình từ 15,5 - 20,9 cm. Đường kính quả của các con lai thử dao động từ 5,5 - 7,3 cm. Về đặc điểm kiểu hình quả qua theo dõi các tổ hợp lai, quả có dạng thuôn, màu sắc quả từ xanh nhạt đến xanh (Hình 1). Đặc điểm gai quả của các giống khổ qua được mô tả theo phương pháp cảm quan, quả các tổ hợp lai có dạng gai nở, sóng gai liền và ít u vấu. Giống đối chứng Vино 606 có chiều dài quả trung bình 15,1 cm và đường kính quả 5,6 cm, quả dạng thuôn, màu xanh nhạt, gai nở, sóng gai liền và ít u vấu. Tính trạng chiều dài quả và màu sắc quả có dạng trung gian của bố và mẹ, màu xanh nhạt là dạng trung gian giữa màu trắng và màu xanh của giống bố mẹ.

Kết quả này cũng tương đồng với kết quả của Tran (2017), màu sắc quả của các tổ hợp lai có quả màu xanh nhạt (màu trung gian) là con lai các dòng có quả màu xanh với dòng thử có quả màu trắng. Đánh giá cảm quan cho thấy các tổ hợp lai có độ đắng trung bình. Theo khảo sát thị hiếu người tiêu dùng của công ty Việt Nông năm 2017, người tiêu dùng miền Đông nam bộ ưa chuộng quả có chiều dài từ 14 - 16 cm, gai nở, ít u vấu, thịt dày và có độ đắng trung bình.

### 3.3. Các yếu tố cấu thành năng suất và năng suất của 28 tổ hợp lai được lai từ 08 dòng khổ qua thế hệ I<sub>6</sub>

Theo kết quả Bảng 3, khối lượng trung bình quả khổ qua nặng nhất ở tổ hợp lai Q16/Q86

**Bảng 2.** . Đặc điểm hình thái quả của 28 tổ hợp lai khổ qua được lai từ 08 dòng khổ qua thế hệ I<sub>6</sub>

Cặp lai	Chiều dài quả (cm)	Đường kính quả (cm)	Màu sắc quả
Q16XQ65	20,9 <sup>a</sup>	6,7 <sup>c-f</sup>	Xanh
Q16XQ80	17,1 <sup>e-g</sup>	6,1 <sup>ijkl</sup>	Xanh nhạt
Q16XQ86	18,6 <sup>b</sup>	6,8 <sup>b-e</sup>	Xanh
Q16XQ75	19,1 <sup>b</sup>	6,9 <sup>bcd</sup>	Xanh
Q16XQ06	15,1 <sup>kmn</sup>	5,8 <sup>lmn</sup>	Xanh nhạt
Q16XQ81	16,3 <sup>ghi</sup>	6,4 <sup>f-i</sup>	Xanh
Q16XQ87	17,2 <sup>e-g</sup>	7,1 <sup>ab</sup>	Xanh nhạt
Q65XQ80	17,2 <sup>e-g</sup>	6,8 <sup>b-e</sup>	Xanh nhạt
Q65XQ86	16,6 <sup>e-h</sup>	7,0 <sup>abc</sup>	Xanh
Q65XQ75	20,1 <sup>a</sup>	6,8 <sup>b-e</sup>	Xanh
Q65XQ06	14,5 <sup>lm</sup>	6,3 <sup>hij</sup>	Xanh nhạt
Q65XQ81	18,6 <sup>b</sup>	6,5 <sup>e-g</sup>	Xanh
Q65XQ87	17,3 <sup>c-f</sup>	6,7 <sup>d-f</sup>	Xanh nhạt
Q80XQ86	14,3 <sup>m</sup>	6,2 <sup>ij</sup>	Xanh nhạt
Q80XQ75	17,0 <sup>e-h</sup>	5,5 <sup>n</sup>	Xanh nhạt
Q80XQ06	17,6 <sup>cd</sup>	6,1 <sup>jk</sup>	Xanh nhạt
Q80XQ81	16,1 <sup>h-k</sup>	5,5 <sup>n</sup>	Xanh nhạt
Q80XQ87	15,5 <sup>ijkl</sup>	6,2 <sup>ij</sup>	Xanh nhạt
Q86XQ75	17,6 <sup>cde</sup>	6,3 <sup>hij</sup>	Xanh
Q86XQ06	18,2 <sup>bc</sup>	5,8 <sup>lmn</sup>	Xanh
Q86XQ81	16,3 <sup>f-j</sup>	6,5 <sup>f-i</sup>	Xanh
Q86XQ87	15,4 <sup>ijkl</sup>	6,9 <sup>bcd</sup>	Xanh nhạt
Q75XQ06	16,1 <sup>h-k</sup>	7,3 <sup>a</sup>	Xanh
Q75XQ81	17,2 <sup>c-g</sup>	6,7 <sup>d-g</sup>	Xanh
Q75XQ87	15,5 <sup>ijkl</sup>	6,9 <sup>bcd</sup>	Xanh nhạt
Q06XQ81	16,8 <sup>e-i</sup>	6,4 <sup>ghi</sup>	Xanh nhạt
Q06XQ87	15,8 <sup>ijk</sup>	5,9 <sup>klm</sup>	Xanh nhạt
Q81XQ87	16,0 <sup>ijk</sup>	6,5 <sup>f-i</sup>	Xanh nhạt
Vino 606 - DC	15,1 <sup>lmn</sup>	5,6 <sup>mn</sup>	Xanh nhạt
CV (%)	2,4	2,1	
F(t)	45,4 <sup>**</sup>	42,9 <sup>**</sup>	

<sup>a-n</sup>Trong cùng một cột, các trị số có cùng ký tự đi kèm khác biệt không có ý nghĩa về mặt thống kê, <sup>\*\*</sup>Khác biệt rất có ý nghĩa (mức  $\alpha = 0,01$ ).

là 220,1 g/quả và Q80/Q87 là 212,6 g/quả khác biệt so với các tổ hợp lai khác và với đối chứng. Các tổ hợp lai còn lại có khối lượng quả nhỏ hơn 200 g/quả và nhỏ nhất ở tổ hợp lai Q06/Q81 với khối lượng quả 132,2 g/quả. Số quả/cây trung bình quả của các tổ hợp lai trung bình từ 19,0 - 35,3 quả/cây. Có 6 tổ hợp lai có số quả/cây lớn hơn 30 quả gồm Q65/Q80, Q86/Q75, Q86/Q06, Q06/Q81, Q06/Q87 và Q81/Q87.

Năng suất loại 1 được theo dõi dựa trên phân loại khổ qua loại 1, theo đánh giá phân loại khổ qua (AHRD, 2016). Khổ qua loại 1: là quả có chiều dài đạt từ 10 cm trở lên, có hình dạng đẹp, gai quả đều, màu quả đồng nhất, trái thẳng không cong. Loại 2: là quả có chiều dài nhỏ hơn 10 cm,

quả bị đèo. Theo kết quả Bảng 3, về năng suất loại 1 của các tổ hợp lai dao động từ 2.180 kg - 4.157 kg/1000 m<sup>2</sup>, sự khác biệt rất có ý nghĩa thống kê. Năng suất thực thu của các tổ hợp lai dao động từ 2.339 - 4.369 kg/1000 m<sup>2</sup>, sự khác biệt rất có ý nghĩa thống kê. Các tổ hợp lai có năng suất cao nhất gồm Q65/Q80, Q86/Q75, Q86/Q06), Q06/Q81, Q06/Q87 và Q81/Q87 khác biệt có ý nghĩa so với nghiệm thức đối chứng và các nghiệm thức khác. Kết quả này cũng tương đồng với kết quả của Tran (2017), các tổ hợp lai giống khổ qua lai tạo phục vụ nhu cầu giống cho vùng Đông nam bộ, các giống có năng suất lớn hơn 30 tấn/ha.





THL 8  
Cặp lai Q65XQ80



THL 19  
Cặp lai Q86XQ75



THL 20  
Cặp lai Q86XQ06



THL 26  
Cặp lai Q06XQ81



THL 27  
Cặp lai Q06XQ87



THL 28  
Q81XQ87

**Hình 1.** Đặc điểm quả và hình thái quả của một số tổ hợp lai khổ qua thể hệ I<sub>6</sub>.

**Bảng 3.** Các chỉ tiêu về yếu tố cấu thành năng suất và năng suất của 28 tổ hợp lai được lai từ 08 dòng khố qua thế hệ I<sub>6</sub>

Cặp lai	Khối lượng trung bình quả (g)	Số quả/cây	Năng suất loại 1 (kg/1000 m <sup>2</sup> )	Năng suất thực thu (kg/1000 m <sup>2</sup> )
Q16/Q65	165,7 <sup>d-g</sup>	25,8 <sup>e-g</sup>	3.538 <sup>bc</sup>	3.775 <sup>d-f</sup>
Q16/Q80	182,6 <sup>bc</sup>	23,3 <sup>g-k</sup>	3.393 <sup>cde</sup>	3.752 <sup>c-f</sup>
Q16/Q86	220,1 <sup>a</sup>	21,1 <sup>jkl</sup>	3.546 <sup>bc</sup>	4.172 <sup>a-e</sup>
Q16/Q75	191,1 <sup>bc</sup>	20,7 <sup>klm</sup>	3.273 <sup>cde</sup>	3.559 <sup>fg</sup>
Q16/Q06	134,9 <sup>no</sup>	29,3 <sup>cde</sup>	3.152 <sup>cde</sup>	3.556 <sup>fg</sup>
Q16/Q81	159,5 <sup>f-i</sup>	26,4 <sup>d-g</sup>	3.499 <sup>bcd</sup>	3.786 <sup>b-f</sup>
Q16/Q87	148,1 <sup>i-m</sup>	23,3 <sup>g-k</sup>	2.825 <sup>ef</sup>	3.105 <sup>gh</sup>
Q65/Q80	145,8 <sup>j-n</sup>	32,4 <sup>abc</sup>	4.015 <sup>ab</sup>	4.241 <sup>ab</sup>
Q65/Q86	168,7 <sup>def</sup>	24 <sup>g-k</sup>	3.224 <sup>cde</sup>	3.637 <sup>fg</sup>
Q65/Q75	164,6 <sup>e-g</sup>	24,7 <sup>f-j</sup>	3.354 <sup>cde</sup>	3.602 <sup>fg</sup>
Q65/Q06	123,4 <sup>f-i</sup>	25,7 <sup>e-g</sup>	2.612 <sup>fg</sup>	2.856 <sup>h</sup>
Q65/Q81	146,1 <sup>j-n</sup>	17,7 <sup>m</sup>	2.180 <sup>fg</sup>	2.339 <sup>i</sup>
Q65/Q87	142,1 <sup>k-o</sup>	26,9 <sup>d-g</sup>	3.186 <sup>g</sup>	3.447 <sup>fg</sup>
Q80/Q86	155,6 <sup>ghi</sup>	26,4 <sup>d-g</sup>	3.364 <sup>cde</sup>	3.691 <sup>ef</sup>
Q80/Q75	149 <sup>i-m</sup>	27,8 <sup>def</sup>	3.361 <sup>cde</sup>	3.728 <sup>def</sup>
Q80/Q06	155,2 <sup>ghi</sup>	23,7 <sup>g-k</sup>	3.194 <sup>cde</sup>	3.315 <sup>fgh</sup>
Q80/Q81	176,4 <sup>cd</sup>	22,2 <sup>h-l</sup>	3.098 <sup>c-f</sup>	3.452 <sup>fg</sup>
Q80/Q87	212,6 <sup>a</sup>	19,0 <sup>lm</sup>	3.417 <sup>cd</sup>	3.636 <sup>fg</sup>
Q86/Q75	151,7 <sup>i-l</sup>	32,1 <sup>abc</sup>	4.113 <sup>a</sup>	4.369 <sup>a</sup>
Q86/Q06	138,4 <sup>mno</sup>	35,1 <sup>abc</sup>	4.104 <sup>a</sup>	4.367 <sup>a</sup>
Q86/Q81	163,8 <sup>e-g</sup>	24,7 <sup>f-j</sup>	3.262 <sup>cde</sup>	3.625 <sup>fg</sup>
Q86/Q87	152,0 <sup>i-l</sup>	24,1 <sup>g-k</sup>	2.998 <sup>def</sup>	3.238 <sup>fgh</sup>
Q75/Q06	149,6 <sup>i-m</sup>	25,1 <sup>f-i</sup>	3.077 <sup>c-f</sup>	3.376 <sup>fg</sup>
Q75/Q81	172,3 <sup>cde</sup>	23,5 <sup>g-k</sup>	3.281 <sup>cde</sup>	3.572 <sup>fg</sup>
Q75/Q87	167,4 <sup>def</sup>	21,9 <sup>i-l</sup>	3.047 <sup>c-f</sup>	3.286 <sup>fgh</sup>
Q06/Q81	132,2 <sup>op</sup>	35,3 <sup>a</sup>	3.939 <sup>a</sup>	4.194 <sup>a-d</sup>
Q06/Q87	153,7 <sup>h-k</sup>	31,4 <sup>bc</sup>	4.157 <sup>a</sup>	4.346 <sup>a</sup>
Q81/Q87	144,5 <sup>j-n</sup>	33,3 <sup>ab</sup>	3.934 <sup>ba</sup>	4.256 <sup>abc</sup>
Vino 606 – DC	140,7 <sup>l-o</sup>	29,7 <sup>cd</sup>	3.511 <sup>bc</sup>	3.758 <sup>b-f</sup>
CV(%)	3,0	5,6	3,538	5,7
F(t)	62,3 <sup>**</sup>	29,8 <sup>**</sup>	14,0 <sup>**</sup>	15,1 <sup>**</sup>

<sup>a-p</sup>Trong cùng một cột, các trị số có cùng ký tự đi kèm khác biệt không có ý nghĩa về mặt thống kê, <sup>\*\*</sup>Khác biệt rất có ý nghĩa (mức  $\alpha = 0,01$ ).

**3.4. Ghi nhận tình hình nhiễm bệnh của 28 tổ hợp lai được lai từ 08 dòng khố qua thế hệ I<sub>6</sub>**

Ghi nhận tình hình nhiễm sâu bệnh hại trên 28 tổ hợp lai giống khố qua cho thấy các tổ hợp lai có sự nhiễm bệnh từ 2,8 đến 38,5% (Bảng 4). Trong đó 17 tổ hợp lai có mức độ nhiễm bệnh nhỏ hơn 10%, có 4 tổ hợp lai có mức độ nhiễm bệnh nhỏ hơn 20% và 7 tổ hợp lai có mức độ nhiễm bệnh phần trắng với tỷ lệ bệnh lớn hơn 20%, các tổ hợp lai. Tổ hợp lai có tỷ lệ nhiễm bệnh nhiều nhất là Q75XQ81 38,5% và tổ hợp lai Q65XQ80 có tỷ lệ bệnh phần trắng thấp nhất là 2,1%.

Đối với bệnh sương mai, có 6 tổ hợp lai (Q16/Q86, Q16/Q75, Q06/Q87, Q65/Q87, Q86/Q87 và Q75/Q06) có tỷ lệ nhiễm bệnh lớn hơn 20%, các tổ hợp lai còn lại chỉ bị nhiễm ít và rất ít. Đối với bệnh vi rút có 3 tổ hợp lai (Q16/Q75, Q65/Q75 và Q86/Q06) bị nhiễm ở ít tỷ lệ bệnh nhỏ hơn 15%, các tổ hợp lai còn lại nhiễm bệnh vi rút rất ít và không ghi nhận thấy bị nhiễm virut. Giống đối chứng Vino 606 có tỷ lệ bệnh sương mai (12,8%) và phần trắng (7,9%) và không bị nhiễm vi rút.

**Bảng 4.** Tỷ lệ bệnh hại của 28 tổ hợp lai được lai từ 08 dòng khổ qua thể hệ I<sub>6</sub>

Cặp lai	Tỷ lệ bệnh phấn trắng ( <i>Erysiphe</i> sp.) (%)	Tỷ lệ bệnh sương mai ( <i>Pseudoperonospora</i> sp.) (%)	Tỷ lệ bệnh vi rút (%)
Q16XQ65	8,2	12,9	0
Q16XQ80	28,5	9,8	0
Q16XQ86	5,7	35,6	0
Q16XQ75	6,5	25,1	10,7
Q16XQ06	12,5	7,0	0
Q16XQ81	3,6	9,4	0
Q16XQ87	25,8	10,1	0
Q65XQ80	2,1	3,2	0
Q65XQ86	4,5	9,2	0
Q65XQ75	7,5	12,8	5
Q65XQ06	30,1	7,2	11,5
Q65XQ81	6,1	10,8	0
Q65XQ87	4,5	38,3	0
Q80XQ86	27,5	6,3	0
Q80XQ75	4,5	9,6	0
Q80XQ06	15,8	10,2	0,2
Q80XQ81	3,5	8,8	0
Q80XQ87	5,7	8,0	0
Q86XQ75	3,1	1,1	0
Q86XQ06	5,3	10,5	5,5
Q86XQ81	21,8	9,1	0
Q86XQ87	29,1	25,5	1,5
Q75XQ06	12,5	31,6	0
Q75XQ81	38,5	9,7	0,7
Q75XQ87	2,8	8	0
Q06XQ81	3,9	4,7	0
Q06XQ87	15,3	28,4	0
Q81XQ87	3,5	4,1	0
Vino 606 - DC	12,8	7,9	0

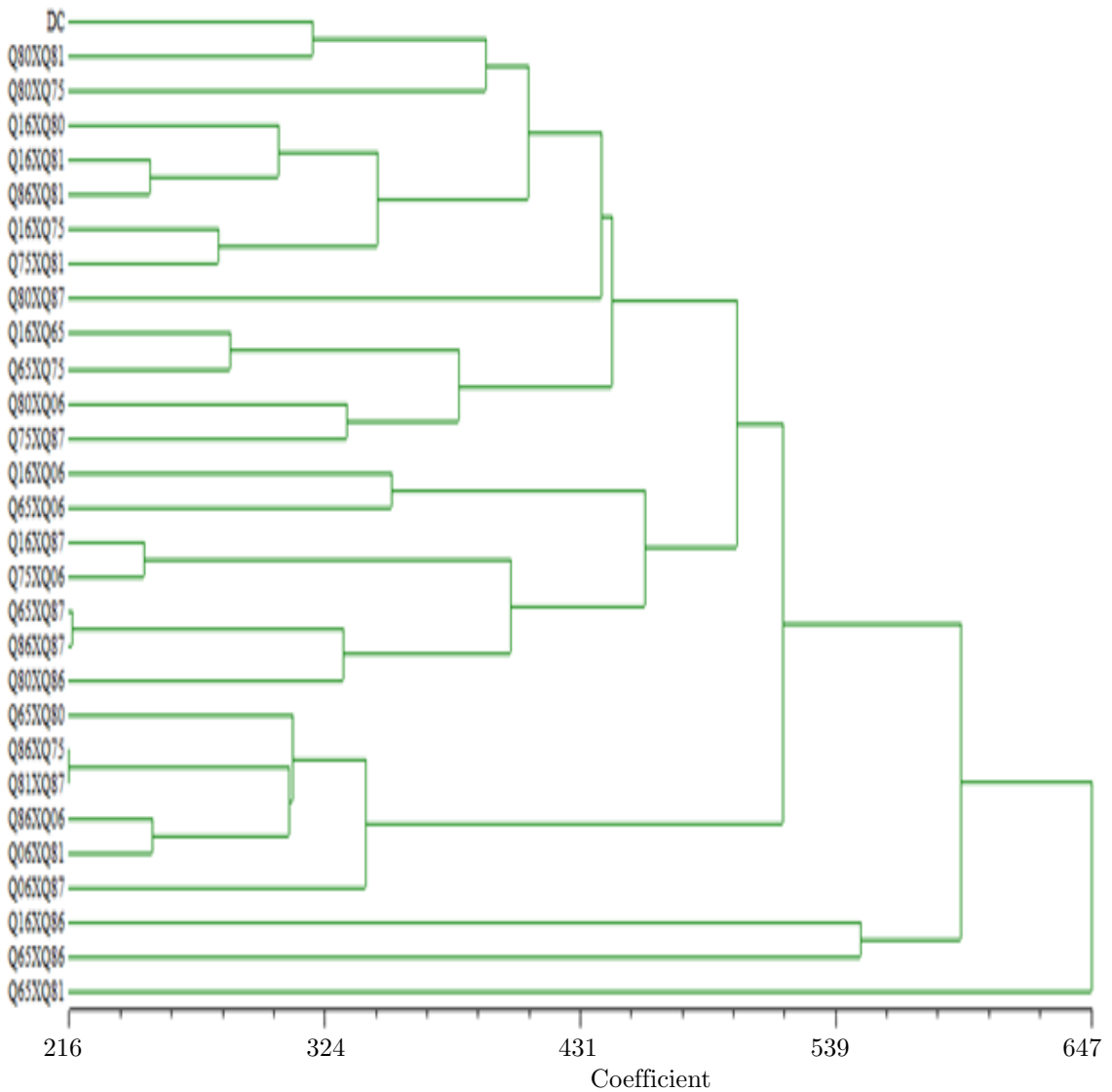
### 3.5. Khả năng kết hợp riêng của 8 dòng khổ qua thể hệ I<sub>6</sub>

Khả năng phối hợp riêng là giá trị F1 sau khi đã trừ đi khả năng phối hợp chung của bố và khả năng phối hợp chung của mẹ .

Theo kết quả Bảng 5 về khả năng phối hợp riêng, tính trạng năng suất thực thu cho thấy có 4 tổ hợp lai có giá trị khả năng phối hợp riêng theo hướng dương cao nhất gồm các tổ hợp lai Q65/Q80 (2,3), Q06/Q81 (2,0), Q86/Q75 (2,1) và Q81/Q87 (2,2). Giá trị khả năng phối hợp riêng giữa các tổ hợp lai trong thí nghiệm có sự khác biệt nhau. Theo Verma & Singh (2014), khả năng phối hợp riêng các dòng khổ qua được đánh giá vào mùa nắng và mùa mưa cho thấy bố mẹ có khả năng phối hợp riêng cao có hiệu ứng tích cực làm tăng năng suất đối với tổ hợp lai hình thành.

Kết quả đánh giá ưu thế lai trung bình (HM%) được so sánh với giá trị trung bình năng suất thực thu của bố và mẹ, các tổ hợp lai có ưu thế lai về năng suất thực thu biến động từ - 43,0% - 10,9%. Trong đó, có 07/28 tổ hợp lai có ưu thế lai trung bình về năng suất theo hướng dương và các tổ hợp lai có ưu thế lai trung bình cao nhất là Q16/Q86 (0,9%) Q65/Q80 (9,8%), Q86/Q75 (10,9%), Q86/Q06 (5,1%), Q06/Q81 (0,3%) Q06/Q87 (5,7%) và Q81/Q87 (5,2%) (Bảng 5).

Ưu thế lai thực (HB%) được so sánh với giá trị năng suất thực thu của bố và mẹ tốt nhất, các tổ hợp lai có ưu thế lai thực về năng suất thực thu biến động từ - 43,4% - 5,0%. Trong đó, có 07/28 tổ hợp lai có ưu thế lai thực về năng suất theo hướng dương và các tổ hợp lai có ưu thế lai thực cao nhất là Q16/Q86 (0,2%)



**Hình 2.** Sơ đồ phân nhóm của cây phát sinh loài của 28 tổ hợp lai được lai từ 08 dòng khố qua thế hệ I<sub>6</sub>.

Q65/Q80 (1,9%), Q86/Q75 (5,0%), Q86/Q06 (4,9%), Q06/Q81 (0,8%) Q06/Q87 (4,4%) và Q81/Q87 (4,3%) (Bảng 5).

Ưu thế lai chuẩn (HS%) được đánh giá dựa trên việc so sánh năng suất của các tổ hợp lai với năng suất của giống đối chứng. Các tổ hợp lai có ưu thế lai chuẩn biến động từ - 37,8% - 16,2%. Trong đó, có 7/28 tổ hợp lai có có ưu thế lai vượt năng suất đối chứng từ 10% trở lên gồm Q16/Q86 (11,0%), Q65/Q80 (12,8%), Q86/Q75 (16,2%), Q86/Q06 (16,2%), Q06/Q81 (11,6%), Q06/Q87 (15,6%) và Q81/Q87 (15,5%) (Bảng 5).

Mối quan hệ di truyền và đa dạng duy truyền của các tổ hợp lai: Các mẫu tổ hợp lai có sự tương

đương nhau sẽ xếp chung vào nhóm, dựa vào cây phát sinh loài có thể đánh giá sự tương đồng và đa dạng di truyền giữa các mẫu nghiên cứu. Theo kết quả từ Hình 2 của tổ hợp lai giống khố qua (được tính toán trên phần mềm NTSYSpc version 2.1), hệ số di truyền có sự tương đồng cao nhất là 0,79% và thấp nhất là 0,21%. Cây phát sinh loài chia thành 4 nhóm. Nhóm 1 có tổ hợp lai Q65/Q81, nhóm 2 gồm các tổ hợp lai Q16/Q86 và Q65/Q86. Nhóm 3 gồm các tổ hợp lai Q65/Q80, Q86/Q75, Q81/Q87, Q86/Q06, Q06/Q81 và 06/87 trong đó tổ hợp lai Q86/Q75, Q81/Q87 có hệ số tương đồng cao nhất 0,79%. Các tổ hợp lai còn lại nằm trong nhóm 4.

**Bảng 5.** Giá trị ưu thế lai của 28 tổ hợp lai

Cặp lai	KNPHR	HM (%)	HB (%)	HS (%)
Q16/Q65	1,7	- 5,5	- 7,6	2,3
Q16/Q80	1,1	- 2,5	- 8,1	1,8
Q16/Q86	0,9	0,9	0,2	11,0
Q16/Q75	- 0,2	- 9,5	- 14,5	- 5,3
Q16/Q06	- 0,5	- 14,3	- 14,6	- 5,4
Q16/Q81	- 0,8	- 9,1	- 9,1	0,7
Q16/Q87	- 2,1	- 24,1	- 25,4	- 17,4
Q65/Q80	2,3	9,8	1,9	12,8
Q65/Q86	1,2	- 10,7	- 12,6	- 3,2
Q65/Q75	0,7	- 5,5	- 12,0	- 2,6
Q65/Q06	- 0,4	- 6,0	- 7,6	2,3
Q65/Q81	- 1,5	- 43,0	- 43,8	- 37,8
Q65/Q87	- 1,0	- 14,5	- 17,2	- 8,3
Q80/Q86	1,6	- 6,0	- 11,3	- 1,8
Q80/Q75	1,1	- 5,4	- 10,4	- 0,8
Q80/Q06	0,4	- 16,2	- 20,4	- 11,8
Q80/Q81	0,0	- 17,5	- 17,1	- 8,2
Q80/Q87	0,5	- 11,9	- 12,6	- 3,2
Q86/Q75	2,0	10,9	5,0	16,2
Q86/Q06	1,7	5,1	4,9	16,2
Q86/Q81	0,5	- 13,1	- 12,9	- 3,5
Q86/Q87	- 0,5	- 19,3	- 20,5	- 12,0
Q75/Q06	1,5	- 14,6	- 18,9	- 10,2
Q75/Q81	1,3	- 12,9	- 12,5	- 3,1
Q75/Q87	0,3	- 20,4	- 21,1	- 12,6
Q06/Q81	2,1	0,3	0,8	11,6
Q06/Q87	1,6	5,7	4,4	15,6
Q81/Q87	2,2	5,2	4,3	15,5

#### 4. Kết Luận

Kết quả đánh giá khả năng phối hợp riêng dựa trên tính trạng năng suất của 28 tổ hợp lai bằng phương pháp lai diallen của 8 dòng khổ qua thể hệ I<sub>6</sub> (Q16, Q65, Q80, Q86, Q75, Q06, Q81), chọn được 04 tổ hợp lai triển vọng có khả năng phối hợp riêng cao có giá trị lớn hơn 2,0 và có ưu thế lai cao vượt giống đối chứng từ

10% trở lên phục vụ công tác sản xuất gồm tổ hợp lai Q65/Q80: 12,8%, Q86/Q75: 16,2%, Q06/Q81: 11,6% và Q81/Q87: 15,5%.

#### 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)

- AHRD (High-tech Agricultural Research and Development Center). (2016). *The Process of bitter gourd (Momordica charantia L.) cultivation*. Ho Chi Minh City, Vietnam: AHRD.
- AHRD (High-tech Agricultural Research and Development Center). (2015). *Growing plants in substrates in a net house*. Ho Chi Minh City, Vietnam: AHRD.
- Griffing, B. (1956). Concept of general and specific combining cubility in relation to diallen crossing systems. *Australian Journal of Biological Sciences* 9(4), 463-493.
- Phan, K. T. (2006). *Plant breeding curriculum*. Ho Chi Minh City, Vietnam: Agricultural Publishing House.
- Phan, P. D. T. (2017). *Research on cultivar selection of hybrid bitter gourds F1 suitable to the Southeast region of Vietnam*. Ho Chi Minh City, Vietnam: Research Institute for Biotechnology and Environment.
- To, T. T. T., Hoang, H. D., Le, M. T. T., Tran, L. V., Nguyen, P. T. B., Huynh, T. Q., & Thai, B. T. (2019). *Evaluation of bitter gourds (Momordica charantia L.) inbred lines for breeding (4<sup>th</sup> year)*. Ho Chi Minh City, Vietnam: Research and Development Center for Hi-tech Agriculture.
- Tran, H. T. M. (2017). *Evaluation combining ability of bitter gourds (Momordica charantia L.) and identification of hybrid combinations bitter gourds prospects in Cam My, Dong Nai* (Unpublished master's thesis). Nong Lam University, Ho Chi Minh City, Vietnam.
- Verma, R. S., & Singh, S. S. (2014). Combining ability and gene action in indigenous bitter gourd (*Momordica charantia L.*). *HortFlora Research Spectrum* 3(2), 122-126.

## Effects of two hydroponic components on water quality, snakehead fish growth and leaf mustard production in aquaponic system

Tu P. C. Nguyen<sup>1\*</sup>, Ha N. Nguyen<sup>2,3</sup>, Thuy T. T. Thai<sup>3</sup>, Phong T. Tran<sup>3</sup>, & Tri N. Nguyen<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Faculty of Fisheries, Nong Lam University, Ho Chi Minh City, Vietnam

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

<sup>3</sup>Faculty of Biological Sciences, Nong Lam University, Ho Chi Minh City, Vietnam

### ARTICLE INFO

#### Research Paper

Received: February 02, 2021

Revised: April 05, 2021

Accepted: April 15, 2021

#### Keywords

Aquaponics  
Floating raft system  
Leaf mustard  
Media filled system  
Snakehead fish

#### \*Corresponding author

Nguyen Phuc Cam Tu  
Email: npctu@hcmuaf.edu.vn

### ABSTRACT

Aquaponic model is a farming system that integrates a recirculating aquaculture system with hydroponics. There are three hydroponic methods commonly employed in the aquaponics systems: the media bed (MB), the nutrient film technique (NFT) and the deep-water culture - floating rafts (DWC). This study was conducted to evaluate effects of two hydroponic systems (DWC and MB) on water quality parameters, growth rate of fish and development of vegetable in the aquaponic model of snakehead fish (*Channa striata*) and leaf mustard (*Brassica juncea*). Snakehead fish were stocked with a density of 40 fish/75 liters of water and were cultured for 167 days. The results showed that daily temperature, pH and dissolved oxygen parameters in the two systems were almost the same and relatively stable while the electrical conductivity in the MB was much higher than that in the DWC. Similarly, the levels of the parameters weekly monitored (ammonia, nitrite, nitrate, total phosphorus, and alkalinity) in the MB were higher than those in the DWC. At the end of the experiment, final weight, weight gain, specific growth rate and survival rate of fish in the MB treatment were higher than those in the DWC treatment, but the feed conversion rate of fish in the MB was lower than that in the DWC. On the contrary, vegetable yields in the DWC were significantly higher than those in the MB. In general, the DWC aquaponics work better than the MB system.

**Cited as:** Nguyen, T. P. C, Nguyen, H. N, Thai, T. T. T., Tran, P. T, & Nguyen, T. N. (2021). Effects of two hydroponic components on water quality, snakehead fish growth and leaf mustard production in aquaponic system. *The Journal of Agriculture and Development* 20(2), 27-35.

## Ảnh hưởng của hai hệ thống thủy canh lên chất lượng nước và phát triển của cá lóc và cải xanh trong mô hình aquaponic

Nguyễn Phúc Cẩm Tú<sup>1\*</sup>, Nguyễn Ngọc Hà<sup>2,3</sup>, Thái Thị Thanh Thủy<sup>3</sup>,  
Trần Triệu Phong<sup>3</sup> & Nguyễn Như Trí<sup>1</sup>

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

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

<sup>3</sup>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: 02/02/2021

Ngày chỉnh sửa: 05/04/2021

Ngày chấp nhận: 15/04/2021

#### Từ khóa

Aquaponic

Cá lóc đen

Cải bẹ xanh

Hệ thống bè nổi

Hệ thống giá thể sỏi

#### \*Tác giả liên hệ

Nguyễn Phúc Cẩm Tú

Email: npctu@hcmuaf.edu.vn

### TÓM TẮT

Mô hình aquaponic là sự kết hợp giữa nuôi thủy sản tuần hoàn và trồng rau thủy canh. Mô hình aquaponic có ba phương pháp thủy canh được dùng phổ biến: sử dụng lớp giá thể (GTS), màng dinh dưỡng (NFT) và canh tác nước sâu - bè nổi (bè nổi - BN). Nghiên cứu này được thực hiện nhằm đánh giá ảnh hưởng của hai hệ thống thủy canh BN và GTS lên các thông số chất lượng nước, tăng trưởng của cá và phát triển của cây trong mô hình aquaponic nuôi cá lóc đen (*Channa striata*) kết hợp với trồng cải xanh (*Brassica juncea*). Cá lóc được thả nuôi với mật độ 40 con/75 lít nước và tiến hành nuôi trong 167 ngày. Kết quả cho thấy các chỉ tiêu theo dõi hằng ngày như nhiệt độ, pH và oxy hòa tan ở hai hệ thống như nhau và tương đối ổn định; trong khi chỉ tiêu EC ở nghiệm thức GTS cao hơn so với hệ thống BN. Tương tự, hàm lượng của các thông số theo dõi hàng tuần (amôn, nitrit, nitrat, photpho tổng và độ kiềm) ở nghiệm thức GTS cao hơn so với nghiệm thức BN. Trọng lượng trung bình của cá lóc cuối thí nghiệm, tăng trưởng tuyệt đối và tương đối và tỷ lệ sống ở hệ thống GTS cao hơn, nhưng FCR thấp hơn so với hệ thống BN. Trái lại, năng suất rau thu hoạch ở hệ thống BN cao hơn rất đáng kể so với hệ thống GTS. Nhìn chung, mô hình aquaponic BN có hiệu quả cao hơn mô hình aquaponic GTS.

### 1. Đặt Vấn Đề

Aquaponic là sự kết hợp của nuôi thủy sản (aquaculture) và thủy canh (hydroponics, trồng cây không cần đất). Trong hệ thống aquaponic, nước thải giàu dinh dưỡng từ bể cá được sử dụng để trồng cây thủy canh, điều này là tốt cho cá vì rễ cây và hệ vi sinh vật sẽ giúp loại bỏ chất độc trong nước như  $\text{NH}_3$ ,  $\text{NO}_2^-$ , ... Cây và vi sinh vật có vai trò như một bộ lọc sinh học, làm giảm amôn, nitrit, nitrat, photpho; kết quả là nước sau khi lọc sẽ được tái tuần hoàn trở lại bể cá (McMurtry & ctv., 1997; Somerville & ctv., 2014).

Một mô hình aquaponic thường gồm có bể nuôi cá, tách cặn, lọc sinh học, hệ thống thủy canh và bơm. Ở hệ thống canh tác nước sâu - bè nổi, cây được trồng trên bè xốp nổi. Rễ cây được thả

tự do trong nước, nơi xảy ra quá trình hấp thu chất dinh dưỡng. Hệ thống bè nổi có mực nước bên phía dưới bể sâu từ 25 đến 50 cm, nên lượng nước sử dụng trong hệ thống này nhiều hơn gấp bốn lần so với các hệ thống khác (Rakocy & ctv., 2006; Rakocy, 2012). Trong hệ thống tưới ngập xả cạn - giá thể sỏi, rễ của cây trồng và giá thể trợ có tác dụng loại bỏ các chất thải rắn từ bể cá, với hệ thống này không cần lắp đặt thêm bể lắng và lọc sinh học. Bùn và chất thải rắn từ bể cá bị giữ lại trong các giá thể trồng cây và được quần thể vi sinh vật phân giải. (Rakocy & ctv., 2006).

Cá lóc là loại thực phẩm có giá trị dinh dưỡng cao, thơm ngon. Nghề nuôi cá lóc đã đem lại hiệu quả kinh tế cao cho các hộ nông dân ở các tỉnh đồng bằng sông Cửu Long. Tuy nhiên, sự ô nhiễm

môi trường ao nuôi/vùng nuôi, sự bùng phát dịch bệnh do vi khuẩn, lạm dụng kháng sinh,... đã hạn chế sự phát triển nghề nuôi cá lóc thâm canh (Cao & ctv., 2014). Trong đó, vấn đề xử lý nước thải/tuần hoàn tái sử dụng nước cho các mô hình nuôi cá lóc là vấn đề nan giải cho người nuôi. Cá lóc cần nhu cầu protein rất cao cho tăng trưởng và trao đổi chất (Tran & ctv., 2005). Nhưng phần lớn thức ăn không được sử dụng hoặc được bài tiết dưới dạng các hợp chất nitơ độc (amôn, nitrit) gây phú dưỡng hệ sinh thái nước. Trong quá trình nuôi, để đảm bảo môi trường nước tốt cho cá tăng trưởng, người nuôi phải thay nước thường xuyên (Lam & ctv., 2011).

Do đó, nghiên cứu này được thực hiện nhằm đánh giá ảnh hưởng của hai hệ thủy canh (bè nổi và giá thể sỏi) lên các thông số chất lượng nước, tăng trưởng của cá và phát triển của rau trong mô hình aquaponic nuôi cá lóc kết hợp trồng cải xanh qui mô hộ gia đình.

**2. Vật Liệu và Phương Pháp Nghiên Cứu**

**2.1. Vật liệu**

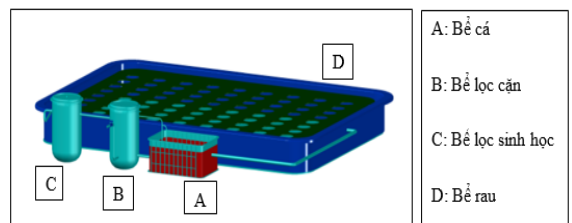
Nghiên cứu này được tiến hành ở khu thí nghiệm của Viện Nghiên cứu Công nghệ Sinh học và Môi trường (RIBE), Trường Đại học Nông Lâm TP.HCM. Cá lóc giống được mua ở Trại cá giống Mười Thanh, TP. Biên Hòa, tỉnh Đồng Nai. Cá được nuôi trong bể composite 1 m<sup>3</sup> để thích nghi với điều kiện thí nghiệm trong một tuần và được cho ăn thức ăn viên thương mại hai lần/ngày (7 giờ và 17 giờ), với lượng ăn thỏa mãn nhu cầu. Khi cá đạt trọng lượng khoảng 9,5 - 10,5 g/con thì tiến hành bố trí thí nghiệm. Cá có trọng lượng trung bình 10,1 ± 0,4 g/con được thả vào bể với mật độ 40 con/75 L nước nuôi dựa trên kết quả nghiên cứu của Cao & ctv. (2014) và Phan & Cao (2014).

**2.2. Hệ thống thí nghiệm và vận hành**

Thí nghiệm được bố trí với hai nghiệm thức là hai hệ thống thủy canh: hệ thống canh tác nước sâu – bè nổi (BN) và hệ thống tưới ngập xả cạn - giá thể sỏi (GTS), mỗi nghiệm thức lặp lại 3 lần. Toàn bộ hệ thống thí nghiệm được đặt trong nhà lưới.

Hệ thống BN được thiết kế dựa theo tỷ lệ lượng thức ăn/điện tích trồng cây là 60 g/m<sup>2</sup> (Rakocy & ctv., 2006). Sinh khối cá dự kiến đạt 12 kg/bể với tỷ lệ cho ăn 3% trọng lượng thân, lượng ăn tối

đa là 360 g/ngày. Hệ thống BN gồm có bể cá, bể lọc cạn, bể lọc sinh học và bể trồng rau. Bể cá là thùng nhựa hình chữ nhật có thể tích 100 L (kích thước dài x rộng x chiều cao bể là 610 mm x 420 mm x 390 mm), được đặt chìm dưới đất khoảng 20 cm. Thể tích nước trong bể được duy trì ở mức 75 L. Bể lọc cạn và bể lọc sinh học là thùng nhựa hình trụ (đường kính 30 cm, cao 54 cm) có thể tích khoảng 35 L, được nối thông với nhau bằng ống nhựa Φ42. Bể lọc cạn được thiết kế kiểu tự lắng. Bể lọc sinh học được thiết kế theo kiểu giá thể lơ lửng sử dụng 15 L hạt nhựa Kaldnes. Bể trồng rau làm bằng composite hình chữ nhật với kích thước dài x rộng x cao tương ứng là 3 m x 2 m x 0,3 m, thể tích 1800 L (chứa 1300 L nước) được đặt nằm trên mặt đất. Bè nổi là các tấm xốp XPS, mỗi tấm xốp có kích thước 0,6 x 1,2 m (dày 5 cm) được khoét 24 lỗ/tấm (tổng cộng 6 tấm) và ở đầu mỗi bể, có thêm 3 tấm xốp kích thước 0,6 m x 0,4 m được khoét 9 lỗ/tấm. Lỗ khoét tròn có đường kính 5 cm, khoảng cách giữa hai lỗ (tâm cách tâm) trên một hàng ngang là 20 cm và trên mỗi hàng dọc là 15 cm. Tổng cộng có 171 cây/hệ thống bè nổi (mật độ 30 cây/m<sup>2</sup>) (Hình 1). Trong bể cá, bể lọc sinh học và bể rau sử dụng hệ thống sục khí liên tục để tạo sự khuấy trộn nước, tăng lượng oxy cho cá và vi khuẩn. Nước từ bể cá được bơm vào bể lọc cạn, tự chảy qua bể lọc sinh học đến bể trồng rau và tuần hoàn trở lại bể cá. Lưu lượng nước chảy trong toàn bộ hệ thống là 360 L/giờ.

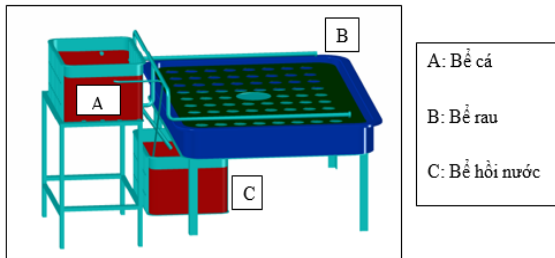


**Hình 1.** Hệ thống canh tác nước sâu - bè nổi.

Hệ thống GTS được thiết kế theo hướng dẫn của Timmons & Ebeling (2010): chọn tỷ lệ 1 thể tích cá nuôi/2 thể tích giá thể sỏi. Hệ thống GTS gồm có bể cá, bể rau và bể hồi nước. Bể cá và bể hồi là bể nhựa hình chữ nhật với thể tích 100 L (kích thước dài x rộng x chiều cao bể là 610 mm x 420 mm x 390 mm). Bể cá được đặt trên kệ cách mặt đất 60 cm được sục khí liên tục, trong khi đó bể hồi được đặt trên mặt đất. Bể rau được làm bằng composite có kích thước dài x rộng x cao tương ứng là 1,2 m x 1 m x 0,2 m (thể tích



240 L) được đặt trên kệ cao cách mặt đất khoảng 40 cm (Hình 2). Trong bể rau cho các hạt sét nung cao lên khoảng 15 cm (khoảng 180 L hạt sét nung) và có lắp một bell-siphon để tự động rút nước ở đáy và chảy về bể hồi. Máy bơm sẽ bơm nước ngược từ bể hồi lên bể cá và chảy sang bể rau. Ở hệ thống này, một chu kỳ bơm và xả cạn là 16 phút. Mỗi hệ thống GTS có tổng cộng 50 rọ trồng cây (mật độ khoảng 42 cây/m<sup>2</sup>).



Hình 2. Hệ thống tưới ngập xả cạn – giá thể sỏi.

Thời gian thí nghiệm kéo dài 167 ngày (từ ngày 7/8/2020 đến 21/1/2021). Thức ăn thí nghiệm là thức ăn dành cho cá lóc của Công ty TNHH Khoa Kỹ Sinh vật Thăng Long (cỡ viên 2 - 6 mm, độ đậm 42 - 44%). Cá lóc được cho ăn hai lần trong ngày (7 giờ và 17 giờ), với lượng ăn thỏa mãn nhu cầu, mỗi lần cho ăn kéo dài khoảng 1 giờ. Sau khi cá ngừng ăn, tiến hành thu và ghi nhận lượng thức ăn thừa để tính lượng ăn. Thức ăn cho ăn được bổ sung thêm vitamin C (với liều 0,5%) bằng cách hòa tan vitamin C vào nước và phun lên viên thức ăn.

Hạt giống rau được ngâm và đem ủ trong khăn ẩm từ 10 - 12 giờ. Sau đó, hạt giống được gieo vào xốp ươm (94 lỗ/tấm). Sau khi hạt nảy mầm được 10 - 12 ngày, cây có 1 - 2 lá thật, bắt đầu chuyển cây vào hệ thống, sau 30 ngày tiến hành thu hoạch rau. Trong thời gian thí nghiệm, có tổng cộng ba đợt trồng và thu hoạch rau.

### 2.3. Lấy và phân tích mẫu nước

Nhiệt độ, pH, ôxy hòa tan (DO) và độ dẫn điện (EC) được đo hàng ngày vào hai thời điểm (7 giờ và 14 giờ) lần lượt bằng máy đo Digital thermometer WT - 1, Denver pH meter UP- 10, Milwaukee MW 600 Dissolved Oxygen và Conductivity Meter B - 173. Tổng nitơ amôn (TAN), nitrit, nitrat, photpho tổng số (TP) và độ kiềm được đo một tuần một lần (ngày thứ hai hàng tuần) tại hai vị trí/hệ thống: bể cá và đầu ra của

bể rau. Tất cả các chỉ tiêu được phân tích theo các phương pháp chuẩn của Baird & ctv. (2017). Tổng nitơ amôn (TAN), nitrit, nitrat, photpho tổng số (TP) và độ kiềm được xác định tương ứng bằng phương pháp phenate (4500-NH<sub>3</sub> F), phương pháp trắc quang (4500-NO<sub>2</sub><sup>-</sup> B), phương pháp khử cadimi (4500-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> E), phương pháp axit ascorbic (4500-P E) và phương pháp chuẩn độ (2320 B).

### 2.4. Đánh giá tăng trưởng của cá và sinh trưởng của rau

Các công thức tính toán như sau:

Tăng trưởng tuyệt đối:

$$WG \text{ (g/con)} = W_t - W_o$$

Tăng trưởng tương đối:

$$SGR \text{ (%/ngày)} = \frac{\ln W_t - \ln W_o}{t} \times 100\%$$

Trong đó:

W<sub>o</sub>: Khối lượng cá trước, g/con;

W<sub>t</sub>: Khối lượng cá sau, g/con;

t: Thời gian giữa hai lần thu mẫu, ngày.

Hệ số chuyển đổi thức ăn (FCR):

$$FCR = \frac{F}{M_t - M_o + M_c}$$

Trong đó:

F: lượng thức ăn đã cung cấp cho cá ăn giữa hai lần thu mẫu, g;

M<sub>o</sub>: Tổng khối lượng cá trước, g;

M<sub>t</sub>: Tổng khối lượng cá sau, g;

M<sub>c</sub>: Tổng khối lượng cá chết, g.

Tỉ lệ sống:

$$\text{Tỷ lệ sống (\%)} = \frac{\text{số lượng cá ở thời điểm t}}{\text{số lượng cá ở thời điểm o}} \times 100\%$$

Đánh giá sự sinh trưởng của rau:

Năng suất cá thể (g/cây): Khối lượng trung bình của các cây theo dõi khi thu hoạch (20 cây/bể trồng rau).

Năng suất lý thuyết (g/hệ): Khối lượng trung bình của cây theo dõi x số cây/hệ.

Năng suất thực thu (g/hệ): Cân khối lượng thực tế của tất cả các cây trong ô thí nghiệm khi thu hoạch.

### 2.5. Phân tích thống kê

Các phân tích thống kê thực hiện theo hướng dẫn của Gomez và Gomez (1984) và Bhujel

**Bảng 1.** Giá trị của các chỉ tiêu đo hàng ngày trong các bể nuôi cá lóc ở hai nghiệm thức

Chỉ tiêu	Giá thể sỏi		Bè nổi		Giá trị xác suất
	Sáng	Chiều	Sáng	Chiều	
Nhiệt độ (°C)	26,9 ± 1,2	29,4 ± 1,1	27,8 ± 1,2	29,3 ± 1,0	> 0,05
pH	7,49 ± 0,32	7,46 ± 0,37	6,80 ± 0,37	6,81 ± 0,33	< 0,001
Ôxy hòa tan (mg/L)	6,57 ± 0,39	6,54 ± 0,36	6,70 ± 0,43	6,69 ± 0,46	< 0,001
Độ dẫn điện (mS/cm)	1,37 ± 0,27	1,37 ± 0,28	0,532 ± 0,165	0,534 ± 0,171	< 0,001

Giá trị thể hiện trong bảng là trung bình ± độ lệch chuẩn. Giá trị xác suất là kết quả phân tích của kiểm định T hai mẫu độc lập dùng để so sánh các giá trị trung bình giữa hai nghiệm thức.

(2008). Sự khác biệt về giá trị trung bình của các chỉ tiêu đo hàng ngày (nhiệt độ, pH, DO và EC) giữa hai nghiệm thức được phân tích bằng kiểm định T hai mẫu độc lập. Với các chỉ tiêu chất lượng nước đo theo tuần, để đánh giá sự biến động giữa hai nghiệm thức theo thời gian thu mẫu, phân tích thống kê bằng phương sai một yếu tố với đo lường lặp lại (repeated measures ANOVA) với các nghiệm thức (bể thủy canh) là yếu tố thí nghiệm và đợt thu mẫu là yếu tố đo lường lặp lại. Kiểm định Bonferroni được dùng để so sánh sự khác biệt giữa các đợt thu mẫu. Trong cùng một nghiệm thức, để so sánh sự khác biệt của các chỉ tiêu chất lượng nước giữa bể cá và bể rau sử dụng kiểm định T hai mẫu liên hệ. So sánh sự khác biệt giữa hai nghiệm thức về giá trị trung bình của các chỉ tiêu tăng trưởng (khối lượng ban đầu/cuối, WG, SGR), tỷ lệ sống và FCR của cá và chiều dài rẽ và các chỉ tiêu năng suất (cá thể, lý thuyết và thực thu) của rau sử dụng kiểm định T hai mẫu độc lập.

Số liệu được biểu diễn dưới dạng giá trị trung bình ± độ lệch chuẩn. Mức xác suất  $P < 0,05$  được chấp nhận như tiêu chuẩn đánh giá sự khác biệt có ý nghĩa thống kê. Tất cả các phân tích thống kê được thực hiện bằng phần mềm IBM SPSS Statistics for Windows, Version 19.0 (Armonk, NY: IBM Corp).

### 3. Kết Quả và Thảo Luận

#### 3.1. Chất lượng nước

##### 3.1.1. Các chỉ tiêu đo hàng ngày

Nhìn chung, có sự chênh lệch về nhiệt độ giữa buổi sáng và buổi chiều: ở mỗi hệ thống nhiệt độ vào buổi chiều thường cao hơn buổi sáng (Bảng 1). Nhiệt độ ở hệ thống BN ổn định hơn so với hệ thống GTS. Điều này có thể là do sự khác nhau trong thiết kế hệ thống: (i) ở hệ thống BN bể cá được đặt âm dưới đất, và (ii) thể tích nước ở hệ

thống BN nhiều gấp 10 lần hệ thống GTS. Nhiệt độ không chỉ ảnh hưởng đến loài cá nuôi, mà còn ảnh hưởng đến sự phát triển của thực vật và hiệu quả của hệ thống lọc sinh học. Theo Ngo (2003), nhiệt độ thích hợp nuôi cá lóc là 20 - 30°C. Trong khi cải xanh có thể thích nghi với khoảng nhiệt độ rộng từ 10 - 27°C và hệ lọc sinh học hoạt động tốt nhất ở nhiệt độ trong khoảng 25 - 30°C (Somerville & ctv., 2014; Sallenave, 2016).

Giá trị pH của hệ thống GTS luôn cao hơn so với hệ thống BN (Bảng 1). Nguyên nhân có thể là do hệ thống GTS dùng các hạt đất sét nung có khả năng đệm giúp giữ giá trị pH luôn cao hơn. Giá trị pH là một trong những thông số chất lượng nước quan trọng trong hệ thống aquaponic, có ảnh hưởng rất lớn đến tất cả các thành phần, đặc biệt là thực vật và vi khuẩn. Giá trị pH có ảnh hưởng đến chất dinh dưỡng sẵn có cho cây: ở khoảng pH 6,0 - 6,5 tất cả các chất dinh dưỡng đa - vi lượng đều ở dạng sẵn có cho cây, ngoài khoảng pH này cây rất khó hấp thu chất dinh dưỡng, đặc biệt là Fe, Ca và Mg. Trái lại, vi khuẩn nitrát hóa hoạt động tối ưu ở pH > 7,5 và khi pH < 6,0 vi khuẩn ngưng hoạt động. Do đó, để duy trì hoạt động tối ưu của cả ba thành phần cá - rau - vi khuẩn, giá trị pH nên nằm trong khoảng 6,8 - 7,0 (Somerville & ctv., 2014; Sallenave, 2016). Trong hai hệ thống, giá trị pH của hệ thống BN thích hợp cho mô hình aquaponic hơn.

Hàm lượng DO ở cả hai hệ thống BN và GTS luôn được duy trì tương đối ổn định ở mức (> 5 mg/L) đảm bảo cho cá và hệ vi khuẩn nitrát hóa hoạt động bình thường (Bảng 1). Trong hệ thống aquaponic, hàm lượng DO tối ưu nằm trong khoảng 4 - 8 mg/L (Somerville & ctv., 2014; Sallenave, 2016).

Theo Bảng 1, EC buổi sáng và buổi chiều trong cùng hệ thống ở cả hai nghiệm thức gần như tương đồng với nhau. Độ dẫn điện trong hệ thống aquaponic nằm trong khoảng 0,3 - 1,1 mS/cm là phù hợp cho cá và rau (Wortman, 2015). Do đó,

EC trong nghiên cứu này tương tự với các nghiên cứu khác.

### 3.1.2. Các chỉ tiêu đo theo tuần

Hàm lượng TAN ở đầu ra của bể rau ở hai hệ thống đều thấp hơn so với bể cá và có khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê ( $P < 0,05$ ). Điều này có lẽ là nhờ hoạt động của các vi khuẩn nitrát giúp chuyển hóa amôn (Bảng 2). Ngoài ra, hàm lượng TAN trong nước ở hai nghiệm thức có sự khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê ở cả bể cá và đầu ra của bể rau: hàm lượng TAN ở hệ thống GTS cao hơn BN ( $P < 0,05$ ). Hàm lượng TAN trung bình ở bể cá và ở đầu ra bể rau của GTS cao hơn tương ứng là 5,5 và 8,6 lần so với bể cá và đầu ra bể rau của BN (Bảng 2). Ở giai đoạn đầu của thí nghiệm, hàm lượng TAN ở bể cá của nghiệm thức GTS tương đối thấp và có xu hướng tăng dần và đạt giá trị cao ở tháng cuối của thí nghiệm. Nguyên nhân là do lượng thức ăn và sinh khối của cá tăng, dẫn đến việc tăng bài tiết TAN và hệ vi sinh trong hệ thủy canh GTS không có khả năng chuyển hóa hết lượng TAN này thành nitrit và nitrát. Ngược lại, hàm lượng TAN ở nghiệm thức BN luôn duy trì ở mức  $< 1$  mg/L, đặc biệt là ở bể trồng rau. Trong hệ thống aquaponic, hàm lượng TAN nên duy trì  $< 1$  mg/L (Somerville và ctv., 2014; Sallenave, 2016). Các nghiên cứu nuôi cá lóc trong hệ thống tuần hoàn và bể bọt cho thấy cá lóc có thể sống trong môi trường có hàm lượng TAN khoảng 5 mg/L (Lam & ctv., 2011; Cao & ctv., 2014; Phan & Cao, 2014).

Hàm lượng nitrit trung bình ở bể cá của mỗi hệ thống cao hơn có ý nghĩa thống kê so với mẫu ở đầu ra bể rau ( $P < 0,05$ ), do có sự chuyển hóa nitrit thành nitrát để cây có thể hấp thụ và phát triển. Ngoài ra, sự khác biệt về hàm lượng nitrit trung bình giữa hai nghiệm thức có ý nghĩa về mặt thống kê ( $P < 0,05$ ). Hàm lượng nitrit trung bình ở bể cá và bể rau của GTS cao hơn so với BN (Bảng 2). Hàm lượng nitrit ở hệ thống BN biến động tương đối ổn định hơn so với GTS. Hàm lượng nitrit trong hai hệ thống luôn nằm trong giới hạn phù hợp cho hoạt động hệ thống aquaponic ( $< 1$  mg/L) (Somerville & ctv., 2014; Sallenave, 2016).

Hàm lượng nitrát trung bình ở bể cá và đầu ra của bể rau trong cùng hệ thống không có khác biệt, gần như là bằng nhau. Hàm lượng nitrát trung bình ở hệ thống GTS cao hơn BN (Bảng 2).

**Bảng 2.** Hàm lượng của các thông số chất lượng nước đo theo tuần trong bể cá và bể rau ở hai nghiệm thức

Chỉ tiêu (mg/L)	Giá thể sỏi				Mức ý nghĩa (giá trị xác suất p)			
	Bể cá	Đầu ra bể rau	Bể cá	Bể nổi	Đầu ra bể rau	NT	Đợt	NT × Đợt
TAN	5,44 ± 9,93 <sup>fax</sup>	4,21 ± 7,42 <sup>v</sup>	0,988 ± 0,898 <sup>bx</sup>	0,492 ± 0,750 <sup>v</sup>	0,218 ± 0,173 <sup>v</sup>	***	***	***
Nitrit	0,616 ± 0,534 <sup>ax</sup>	0,523 ± 0,373 <sup>x</sup>	0,431 ± 0,321 <sup>bx</sup>	0,218 ± 0,173 <sup>v</sup>	0,218 ± 0,173 <sup>v</sup>	**	***	***
Nitrát	44,8 ± 39,3 <sup>ax</sup>	44,9 ± 39,5 <sup>x</sup>	33,7 ± 16,3 <sup>bx</sup>	32,7 ± 16,6 <sup>x</sup>	32,7 ± 16,6 <sup>x</sup>	**	***	***
P tổng	8,41 ± 8,19 <sup>fax</sup>	8,45 ± 8,25 <sup>x</sup>	10,2 ± 5,5 <sup>bx</sup>	9,84 ± 5,23 <sup>v</sup>	9,84 ± 5,23 <sup>v</sup>	**	***	***
Độ kiềm <sup>†</sup>	168 ± 112 <sup>ax</sup>	164 ± 109 <sup>v</sup>	25,4 ± 15,3 <sup>bx</sup>	22,8 ± 12,6 <sup>v</sup>	22,8 ± 12,6 <sup>v</sup>	***	***	***

<sup>†</sup>Trung bình ± độ lệch chuẩn; <sup>†</sup>Đơn vị mg CaCO<sub>3</sub>/L.

So sánh các chỉ tiêu trong bể cá giữa hai nghiệm thức, các giá trị trung bình trong cùng một hàng có cùng ký tự (<sup>ab</sup>) chỉ sự khác biệt không có ý nghĩa ( $P > 0,05$ ) (phương sai một yếu tố với độ lặp lại).

So sánh các chỉ tiêu trong cùng nghiệm thức, các giá trị trung bình trong cùng một hàng có cùng ký tự (<sup>xy</sup>) chỉ sự khác biệt không có ý nghĩa ( $P > 0,05$ ) (kiểm định t hai mẫu liên hệ). \*, \*\* và \*\*\* chỉ mức ý nghĩa ở  $P < 0,05$ ,  $< 0,01$  và  $< 0,001$ ; ns: khác biệt không ý nghĩa ( $P > 0,05$ ).

Hàm lượng nitrát ở hệ thống GTS cao hơn so với hệ thống BN ở giai đoạn đầu thí nghiệm, sau đó có xu hướng giảm dần và thấp hơn hệ thống BN ở giai đoạn cuối thí nghiệm. Theo Somerville & ctv. (2014) và Sallenave (2016), hàm lượng nitrát trong hệ thống aquaponic nằm trong khoảng 5 - 150 mg/L, chứng tỏ hệ thống hoạt động tốt (Somerville & ctv., 2014).

Phốtpho (P) là một trong những chất dinh dưỡng cần thiết cho sự phát triển của cây rau. Hàm lượng P tổng trung bình ở bể cá và đầu ra của bể rau ở mỗi hệ thống có sự khác biệt (Bảng 2). Hàm lượng P tổng trung bình ở hệ thống GTS khác biệt không có ý nghĩa thống kê giữa bể cá và đầu ra của bể rau. Nhưng ở hệ thống BN, hàm lượng P trung bình ở bể cá cao hơn có ý nghĩa thống kê so với đầu ra bể rau ( $P < 0,05$ ). Khi so sánh giữa hai nghiệm thức, hàm lượng P tổng ở hệ thống BN cao hơn so với hệ thống GTS ( $P < 0,05$ ); có lẽ là do lượng thức ăn thừa và phân cá được lưu giữ trong các GTS sỏi. Kết quả của nghiên cứu này cũng tương tự các nghiên cứu khác: hàm lượng P trong hệ thống aquaponic dao động trong khoảng 1 - 17 mg/L (Goddek & ctv., 2015).

Độ kiềm trung bình ở hệ thống GTS cao hơn có ý nghĩa so với hệ thống BN ( $P < 0,05$ ). Khi bắt đầu thí nghiệm, độ kiềm ở hai hệ thống là như nhau và có xu hướng tăng dần theo thời gian nuôi, tăng nhanh ở giai đoạn cuối do việc bổ sung vôi  $\text{CaCO}_3$ . Độ kiềm ở hệ thống BN luôn ở mức thấp hơn ngưỡng phù hợp trong mô hình aquaponic ( $\geq 100$  mg  $\text{CaCO}_3/\text{L}$ ), trong khi đó độ kiềm ở hệ thống GTS luôn cao hơn ngưỡng này. Nguyên nhân có thể là do trong hệ thống BN quá trình nitrát hóa diễn ra mạnh mẽ,  $\text{H}^+$  phóng thích ra từ quá trình này làm tiêu hao độ kiềm. Ngược lại, ở hệ thống GTS, quá trình nitrát diễn ra chậm hơn và đặc biệt phản ứng phản nitrát xảy ra trong GTS sỏi làm tăng độ kiềm (Somerville & ctv., 2014; Sallenave, 2016).

### 3.2. Tăng trưởng, tỷ lệ sống và hệ số chuyển đổi thức ăn của cá

Trọng lượng trung bình cá ban đầu ở hai nghiệm thức không có sự khác biệt ( $P > 0,05$ ). Trọng lượng trung bình của cá lúc cuối thí nghiệm và WG ở nghiệm thức GTS cao hơn có ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức BN ( $P < 0,05$ ), nhưng sự khác biệt về SGR giữa hai nghiệm thức không có ý nghĩa thống kê ( $P > 0,05$ ) (Bảng 3). Kết quả của nghiên cứu này cho thấy tăng trưởng

của cá lúc trong hệ thống aquaponic thấp hơn kết quả của các tác giả khác. Theo Cao & ctv. (2014) và Phan & Cao (2014), cá lúc có thể tăng trưởng từ cá giống 6,6 - 6,8 g/con đến trọng lượng khoảng 345 - 380 g/con trong 110 - 120 ngày. Nguyên nhân có lẽ do nước trong hệ thống quá trong, khi cho cá ăn, cá nhát ăn; đặc biệt ở hệ thống BN, do bể cá được đặt dưới đất, nên khi đi lại cho ăn, cá không ăn nhiều. Trong các nghiên cứu tiếp theo, cần che tối bể cá, nhất là khi cho cá ăn.

Sự khác biệt về tỷ lệ sống của cá lúc giữa nghiệm thức GTS và nghiệm thức BN không có ý nghĩa thống kê ( $P > 0,05$ ) (Bảng 3). So với kết quả của các tác giả khác, tỷ lệ sống trung bình của cá lúc trong nghiên cứu này thấp hơn của các tác giả khác (Cao & ctv., 2014; Phan & Cao, 2014). Nghiệm thức GTS có FCR thấp hơn so với nghiệm thức BN ( $P < 0,05$ ) (Bảng 3). So với kết quả của các tác giả khác, FCR thu được trong nghiên cứu này rất cao so với của các tác giả khác (Cao & ctv., 2014; Phan & Cao, 2014): dao động từ 1,05 - 1,13.

### 3.3. Sinh trưởng của rau

Năng suất cá thể ở nghiệm thức BN cao hơn so với nghiệm thức GTS (Bảng 4). Do đó, năng suất rau cải ở nghiệm thức BN cao hơn nghiệm thức GTS ( $P < 0,05$ ). Ở đợt trồng rau 1, năng suất rau thực thu ở nghiệm thức BN ( $4.205 \pm 2.224$  g/hệ) cao gấp hơn 5,5 lần ở nghiệm thức GTS ( $758 \pm 250$  g/hệ). Ở đợt trồng rau 2, năng suất rau ở mỗi nghiệm thức tương đối thấp, GTS là  $129 \pm 13$  g/hệ, ở BN là  $769 \pm 324$  g/hệ. Ở đợt trồng rau 3, năng suất rau thu được ở nghiệm thức GTS là  $605 \pm 71$  g/hệ, ở nghiệm thức BN là  $7.117 \pm 1.325$  g/hệ. Năng suất rau thu hoạch thấp ở hệ thống GTS cũng có thể là do hệ thủy canh GTS có tổng cộng 50 cây/hệ (mật độ khoảng 42 cây/m<sup>2</sup>) thấp hơn so với hệ thống BN có tổng cộng 171 lỗ (mật độ 30 cây/m<sup>2</sup>).

Trong 3 đợt trồng rau, đợt rau 3 cho năng suất cao nhất cả hai nghiệm thức. Ở đợt trồng rau 2, cây phát triển không tốt do thời tiết ẩm, mưa liên tục nhiều ngày dẫn đến cây rau bị nhiễm nấm, xuất hiện sâu ăn lá, sâu đục thân. Ngoài ra, rệp xanh tấn công làm cho cây chậm phát triển, teo lá làm năng suất cây rau ở đợt 2 khi thu hoạch thấp. Thêm vào đó, ở nghiệm thức GTS, khi sinh khối cá tăng dẫn đến các vật chất hữu cơ tăng, các chất cạnh tương đối nhiều làm quá trình phát

**Bảng 3.** Ảnh hưởng của hai hệ thống thủy canh lên tăng trưởng, tỷ lệ sống và sử dụng thức ăn của cá lóc ở hai nghiệm thức

Chỉ tiêu	Giá thể sỏi	Bể nổi
Trọng lượng trung bình cá ban đầu (g/con)	10,2 ± 0,6 <sup>†a</sup>	10,1 ± 0,2 <sup>a</sup>
Trọng lượng trung bình cá cuối thí nghiệm (g/con)	208 ± 13 <sup>a</sup>	171 ± 7 <sup>b</sup>
Tăng trưởng tuyệt đối (g/con)	198 ± 13 <sup>a</sup>	161 ± 7 <sup>b</sup>
Tăng trưởng tương đối (%/ngày)	1,81 ± 0,07 <sup>a</sup>	1,69 ± 0,03 <sup>a</sup>
Tỷ lệ sống (%)	90,8 ± 1,4 <sup>a</sup>	87,5 ± 6,6 <sup>a</sup>
Hệ số chuyển đổi thức ăn	1,54 ± 0,12 <sup>a</sup>	1,90 ± 0,06 <sup>b</sup>

<sup>†</sup>Trung bình ± độ lệch chuẩn. Các giá trị trung bình trong cùng một hàng có cùng ký tự chỉ sự khác biệt không có ý nghĩa ( $P > 0,05$ ) (kiểm định T hai mẫu độc lập).

**Bảng 4.** Ảnh hưởng của hai hệ thống thủy canh lên chiều dài rễ và năng suất rau ở các đợt thu hoạch

Đợt thu hoạch	Nghiệm thức <sup>1</sup>	Năng suất cá thể (g/cây)	Năng suất lý thuyết (kg/m <sup>2</sup> )	Năng suất thực thu (kg/m <sup>2</sup> )
1	GTS	13,3 ± 4,6 <sup>a</sup>	666 ± 232 <sup>a</sup>	758 ± 250 <sup>a</sup>
	BN	27,4 ± 17,0 <sup>b</sup>	4.678 ± 2.900 <sup>b</sup>	4.205 ± 2.224 <sup>b</sup>
2	GTS	3,3 ± 0,3 <sup>a</sup>	165 ± 16 <sup>a</sup>	129 ± 13 <sup>a</sup>
	BN	6,9 ± 2,5 <sup>b</sup>	1.181 ± 434 <sup>b</sup>	769 ± 324 <sup>b</sup>
3	GTS	13,2 ± 1,6 <sup>a</sup>	660 ± 81 <sup>a</sup>	605 ± 71 <sup>a</sup>
	BN	44,5 ± 6,6 <sup>b</sup>	7.610 ± 1.137 <sup>b</sup>	7.117 ± 1.325 <sup>b</sup>

Ở cùng đợt thu hoạch, các giá trị trung bình trong cùng một cột có cùng ký tự chỉ sự khác biệt không có ý nghĩa ( $P > 0,05$ ) (kiểm định t hai mẫu độc lập).

<sup>1</sup>BN: Hệ thống canh tác nước sâu – bè nổi (BN); GST: hệ thống tưới ngập xả cạn - giá thể sỏi.

triển của rễ cây giảm, cây không hấp thụ được các chất dinh dưỡng do đó không phát triển, xuất hiện hiện tượng vàng lá và chết dần.

#### 4. Kết Luận

Các chỉ tiêu chất lượng nước đo hàng ngày: nhiệt độ, pH, độ dẫn điện, oxy hòa tan, TDS ở hệ thống thủy canh BN ổn định hơn so với hệ thống thủy canh GTS. Về các chỉ tiêu chất lượng nước đo hàng tuần: TAN, nitrit, nitrat, nitơ tổng, photpho tổng và photpho hòa tan ở hệ thống thủy canh BN đều thấp hơn so với hệ thống thủy canh GTS. So với các nghiên cứu khác, tăng trưởng của cá lóc nuôi trong hệ thống aquaponic ở nghiên cứu này còn thấp, nhưng FCR lại cao hơn. Mô hình aquaponic BN có năng suất rau đạt hiệu quả cao hơn so với mô hình GTS ở ba đợt trồng rau. Do đó, mô hình aquaponic BN hiệu quả cao hơn mô hình aquaponic GTS.

#### Lời Cam Đoan

Các tác giả tuyên bố không có bất kỳ mâu thuẫn nào liên quan đến việc xuất bản bài báo này.

#### Lời Cảm Ơn

Tập thể tác giả xin chân thành cảm ơn Trường Đại Học Nông Lâm TP.HCM đã tài trợ kinh phí thực hiện (Mã số: CS-CB19-TS-01).

#### Tài Liệu Tham Khảo (References)

- Baird, R. B., Eaton, A. D., & Rice, E. W. (2017). *Standard methods for the examination of water and wastewater* (23<sup>rd</sup> ed.). Washington DC, USA: Water Environment Federation, American Public Health Association, American Water Works Association.
- Bhujel, R. C. (2008). *Statistics for aquaculture*. New Jersey, USA: Wiley-Blackwell.
- Cao, V. T., Pham, T. L., & Truong, Q. P. (2014). Effects of stocking density on water quality, growth and survival of snakehead fish (*Channa striata*) cultured in recirculating system. *Can Tho University Journal of Science* 2, 79-85.
- Goddek, S., Delaide, B., Mankasingh, U., Ragnarsdottir, K. V., Jijakli, H., & Thorarinsdottir, R. (2015). Challenges of sustainable and commercial aquaponics. *Sustainability* 7(4), 4199-4224.
- Gomez, K. A., & Gomez, A. A. (1984). *Statistical procedures for agricultural research* (2<sup>nd</sup> ed.). New York, USA: John Wiley & Sons.
- Lam, M. L., Nguyen, T. H., & Duong, N. L. (2011). Trials of snakehead (*Channa* sp.) culture in lined tanks in

- Hau Giang province. *Proceedings of the 4<sup>th</sup> Conference on Aquaculture and Fisheries*. Can Tho City, Vietnam: Can Tho University.
- McMurtry, M. R., Sanders, D. C., Cure, J. D., Hodson, R. G., Haning, B. C., & Amand, E. C. S. (1997). Efficiency of water use of an integrated fish/vegetable co-culture system. *Journal of the World Aquaculture Society* 28(4), 420-428.
- Ngo, T. L. (2003). *Culture technique of eel, frog, softshell turtles and snakehead fish* (9<sup>th</sup> ed.). Ho Chi Minh City, Vietnam: Agricultural Publishing House.
- Phan, T. T. V., & Cao, V. T. (2014). An effect of feeding frequency on the growth of snakehead (*Channa striata*) reared in recirculation systems. *An Giang University Journal of Science* 4(3), 79-84.
- Rakocy, J. E. (2012). Aquaponics - integrating fish and plant culture. In Tidwell, J. H. (Ed.). *Aquaculture production systems*. New York, USA: John Wiley & Sons.
- Rakocy, J. E., Masser, M. P., & Losordo, T. M. (2006). *Recirculating aquaculture tank production systems: Aquaponics integrating fish and plant culture*. Retrieved November 1, 2006, from <http://aquaculture.ca.uky.edu/publication/recirculating-aquaculture-tank-production-systems-aquaponics-integrating-fish-and-plant>.
- Sallenave, R. (2016). *Important water quality parameters in aquaponics systems*. New Mexico, USA: College of Agricultural, Consumer and Environmental Sciences, New Mexico State University.
- Somerville, C., Cohen, M., Pantanella, E., Stankus, A., & Lovatelli, A. (2014). Small-scale aquaponic food production: integrated fish and plant farming. *FAO Fisheries and Aquaculture Technical Paper* 589, 262. Retrieved December 25, 2014, from <http://www.fao.org/3/i4021e/i4021e.pdf>.
- Timmons, M. B., & Ebeling, J. M. (2010). *Recirculating aquaculture* (2<sup>nd</sup> ed.). New York, USA: Cayuga Aqua Ventures.
- Tran, T. T. H., Nguyen, T. N. L., Duong, T. Y., & Nguyen, A. T. (2005). Protein requirements of giant snakehead (*Channa micropeltes*, Cuvier, 1831) fingerlings. *Can Tho University Journal of Science* 3, 58-65.
- Wortman, S. E. (2015). Crop physiological response to nutrient solution electrical conductivity and pH in an ebb-and-flow hydroponic system. *Scientia Horticulturae* 194, 34-42.

## Current status of acute hepatopancreatic necrosis disease (AHPND) and result of isolating AHPND-causing strains of farmed shrimp in Mekong Delta Region of Vietnam

Dung H. T. Mai<sup>1,2</sup>, Binh T. Huynh<sup>1,2</sup>, Hoa T. M. Nguyen<sup>1,2</sup>, Hoan P. K. Nguyen<sup>1,2</sup>,  
Toan T. Nguyen<sup>3</sup>, Lien T. H. Tran<sup>4</sup>, Ly H. Tien<sup>5</sup>, Xuyen D. Nguyen<sup>6</sup>,  
Thuoc L. Tran<sup>1,2</sup>, & Hieu V. Tran<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup>Faculty of Biology and Biotechnology, University of Science, Ho Chi Minh City, Vietnam

<sup>2</sup>Vietnam National University, Ho Chi Minh City, Vietnam

<sup>3</sup>Long An Sub-Department of Livestock Production, Veterinary and Aquaculture, Long An, Vietnam

<sup>4</sup>Ben Tre Sub-Department of Livestock Production, Veterinary, Ben Tre, Vietnam

<sup>5</sup>Faculty of Agriculture, Bac Lieu University, Bac Lieu, Vietnam

<sup>6</sup>Kien Giang Sub-Department of Livestock production, Veterinary, Kien Giang, Vietnam

### ARTICLE INFO

#### Research Paper

Received: March 26, 2021

Revised: April 13, 2021

Accepted: April 22, 2021

#### Keywords

AHPND

ToxA

ToxB

*V. parahaemolyticus*

Whiteleg shrimp

#### \*Corresponding author

Tran Van Hieu

Email: tvhieu@hcmus.edu.vn

### ABSTRACT

Early mortality syndrome/acute hepatopancreatic necrosis (EMS/AHPND) was first detected in China in 2009. The disease spread rapidly to neighboring countries and emerged in almost major shrimp-producing regions in the world, including Vietnam. The disease has caused serious damage to the global shrimp industry and so far, there is no effective cure. In order to understand the current status of AHPND, and then to introduce effective prevention and detection measures, we collected data and shrimp samples in some provinces in the Mekong Delta to analyze and isolate the pathogenic strains. The results of our study conducted from 2014 - 2018 in four provinces (Ben Tre, Long An, Bac Lieu, Kien Giang) showed that AHPND damaged from 2.0 to 57.2% of the total shrimp farming area. In addition, we isolated 10 AHPND-positive strains via culturing and PCR. The results of representative sequencing of three strains LA1, LA5, and LA8 showed that they were 100% similarity with the previously published strain XN89. These isolated strains are used as a collection for further studies on the origin and mechanism of the disease by whole genome sequencing.

**Cited as:** Mai D. H. T., Huynh, B. T., Nguyen, H. T. M., Nguyen, H. P. K., Nguyen, T. T., Tran, L. T. H., Tien, L. H., Nguyen, X. D., Tran, T. L., & Tran, H. V. (2021). Current status of acute hepatopancreatic necrosis disease (AHPND) and result of isolating AHPND-causing strains of farmed shrimp in Mekong Delta Region of Vietnam. *The Journal of Agriculture and Development* 20(2), 36-43.

## Thực trạng bệnh hoại tử gan tụy cấp tính (AHPND) trên tôm nuôi và kết quả phân lập chủng vi khuẩn gây bệnh ở một số tỉnh Tây Nam Bộ

Mai Hoàng Thùy Dung<sup>1,2</sup>, Huỳnh Tuấn Bình<sup>1,2</sup>, Nguyễn Thị Minh Hòa<sup>1,2</sup>, Nguyễn Phước Khải Hoàn<sup>1,2</sup>, Nguyễn Thanh Toàn<sup>3</sup>, Trần Thị Hương Liên<sup>4</sup>, Tiền Hải Lý<sup>5</sup>, Nguyễn Đình Xuyên<sup>6</sup>, Trần Linh Thuộc<sup>1,2</sup> & Trần Văn Hiếu<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup>Khoa Sinh Học - Công Nghệ Sinh Học, Trường Đại Học Khoa Học Tự Nhiên TP.HCM, TP. Hồ Chí Minh

<sup>2</sup>Đại Học Quốc Gia Thành Phố Hồ Chí Minh

<sup>3</sup>Chi Cục Chăn Nuôi, Thú Y Và Thủy Sản Long An, Long An

<sup>4</sup>Chi Cục Chăn Nuôi Và Thú Y Tỉnh Bến Tre, Bến Tre

<sup>5</sup>Khoa Nông Nghiệp, Trường Đại Học Bạc Liêu, Bạc Liêu

<sup>6</sup>Chi Cục Chăn Nuôi Và Thú Y Tỉnh Kiên Giang, Kiên Giang

### THÔNG TIN BÀI BÁO

#### Bài báo khoa học

Ngày nhận: 26/03/2021

Ngày chỉnh sửa: 13/04/2021

Ngày chấp nhận: 22/04/2021

#### Từ khóa

AHPND

Tôm thẻ chân trắng

ToxA

ToxB

*V. parahaemolyticus*

#### \*Tác giả liên hệ

Trần Văn Hiếu

Email: tvhieu@hcmus.edu.vn

### TÓM TẮT

Hội chứng chết sớm/hoại tử gan tụy cấp (EMS/AHPND) là bệnh trên tôm được phát hiện đầu tiên ở Trung Quốc năm 2009. Sau đó, bệnh lây lan nhanh chóng ra các nước lân cận và hiện đã có mặt tại hầu hết các vùng sản xuất tôm chính trên thế giới, trong đó có Việt Nam. Bệnh gây ra thiệt hại nghiêm trọng cho ngành tôm toàn cầu và cho đến nay vẫn chưa có phương pháp chữa bệnh hiệu quả. Để nắm rõ thực trạng bệnh AHPND từ đó đưa ra các biện pháp phát hiện và phòng ngừa hiệu quả thì chúng tôi đã thu thập dữ liệu thực tế ở một số tỉnh thuộc Đồng bằng sông Cửu Long để phân tích cũng như thu thập mẫu tôm để phân lập chủng vi khuẩn *Vibrio parahaemolyticus* gây bệnh. Nghiên cứu từ năm 2014 - 2018 ở bốn tỉnh Bến Tre, Long An, Bạc Liêu, Kiên Giang cho thấy diện tích thiệt hại của AHPND dao động trong khoảng 2,0 - 57,2% tổng diện tích nuôi tôm. Ngoài ra, chúng tôi cũng phân lập được 10 chủng dương tính với AHPND thông qua nuôi cấy và PCR. Kết quả giải trình tự đại diện ba chủng LA1, LA5, và LA8 cho thấy có độ tương đồng 100% với chủng gây bệnh XN89 đã được công bố trước đây. Các chủng phân lập này sẽ được sử dụng để tạo bộ sưu tập chủng gây bệnh nhằm nghiên cứu sâu hơn cơ chế và nguồn gốc bệnh thông qua giải trình tự toàn bộ gen.

### 1. Đặt Vấn Đề

Ngành công nghiệp nuôi tôm có giá trị không nhỏ trong thị trường nuôi trồng thủy sản của thế giới và cả ở Việt Nam. Ước tính trong năm 2019, sản lượng tôm của Việt Nam đạt khoảng 700 nghìn tấn chiếm khoảng 15% thế giới về tổng sản lượng tôm và đứng hai thế giới kể từ 2016 cho đến nay theo thống kê của The Global Aquaculture Alliance (Anderson & ctv., 2019). Diện tích tôm nuôi nước lợ cả năm 2018 đạt 712,7 nghìn ha chiếm 64,4% diện tích nuôi trồng thủy sản của Việt Nam. Khu vực nuôi tôm chủ yếu là Đồng bằng sông Cửu Long (ĐBSCL), chiếm đến 80,61% sản lượng và chiếm 91% diện tích nuôi tôm của

cả nước.

Với quy mô nuôi tôm công nghiệp mật độ cao và dinh dưỡng nhiều, tôm rất dễ bị bệnh nếu quản lý mầm bệnh không tốt. Đặc biệt, trong số đó bệnh hoại tử gan tụy cấp (AHPND) với tốc độ lây lan nhanh và gây ra thiệt hại kinh tế trầm trọng. Bệnh AHPND lần đầu được ghi nhận ở Trung Quốc vào năm 2009 sau đó lan ra châu Á và các nước ở khu vực khác: Việt Nam (2010), Malaysia (2011), Thái Lan (2012), Mexico (2013) và Philippines (2015) (Flegel & ctv., 2012; Soto-Rodriguez & ctv., 2015). Hoại tử gan tụy cấp đã gây thiệt hại nặng cho ngành nuôi tôm châu Á lên đến 1 tỷ USD vào năm 2013 theo ước tính của



Liên minh nuôi trồng thủy sản toàn cầu. Bệnh AHPND có thể xuất hiện và gây chết cho tôm trong vòng 45 ngày sau khi thả, tỉ lệ chết có thể lên đến 100% sau khi nhiễm bệnh (GAA, 2013).

Ở Việt Nam, bệnh xảy ra hầu hết các tháng trong năm, nhưng tập trung nhiều từ tháng 3 đến tháng 8 dương lịch hằng năm. Triệu chứng của tôm bệnh thường bỏ ăn, tập mé, có gan tụy nhạt màu. Quan sát mô học, các tế bào gan tụy có đầy đủ các đặc tính hoại tử như các tế bào bị bong tróc, tập trung rất nhiều tế bào máu ở xung quanh và khoảng gian giữa ống gan tụy bị tổn thương và xảy ra nhiễm khuẩn thứ cấp nặng ở gian đoạn cuối. Vi khuẩn *Vibrio parahaemolyticus* (*V.p*) là nguyên nhân gây bệnh hoại tử gan tụy cấp ở tôm. Yang & ctv. (2014) phát hiện plasmid mới trên loài này, đặt tên là pVA1 kích thước khoảng 69 kb gồm hai gen độc tố của bệnh gen *pirA<sup>VP</sup>* (336 bp) và *pirB<sup>VP</sup>* (1317 bp) nằm trong vùng có kích thước 3,5 kb được bao bởi các vùng lặp đảo của trình tự mã hóa chuyển vị. Plasmid pVA1 đã được chứng minh là nguồn duy nhất sinh ra độc tố ToxAB gây chết các tế bào gan tụy đặc điểm của bệnh AHPND (Lee & ctv., 2015).

Sau hiểu biết về gen độc tố và plasmid pVA1, hàng loạt các công bố sau đó báo cáo rằng còn có các loài khác *V. p* thuộc họ *Vibrio* khác gây ra bệnh AHPND như một loài giống với *V. harveyi*, *V. campbellii*, *V. owensii* và *V. punensis* (Kondo & ctv., 2015; Liu & ctv., 2015; Restrepo & ctv., 2018), cũng như cung cấp bằng chứng về chuyển gen ngang giữa chủng *V. campbellii* gây bệnh AHPND sang chủng *V. owensii* không gây bệnh AHPND và trở thành chủng gây chết tôm (Dong & ctv., 2019).

Hiện nay, có nhiều phản ứng thiết kế để phát hiện bệnh AHPND như PCR, PCR định lượng dùng mẫu dò TaqMan (Han & ctv., 2015) và kỹ thuật khuếch đại đẳng nhiệt qua trung gian cấu trúc kẹp tóc (LAMP) (Kongrueng & ctv., 2015) được thiết kế để phát hiện bệnh AHPND. Trong đó, phương pháp AP3 khuếch đại gen *toxA* (Sirikharin & ctv., 2014) và phương pháp multiplex-PCR phát hiện cùng lúc *toxA*, *toxB* bằng cặp mồi VpPirA-284 và VpPirB-392 được sử dụng phổ biến nhất trong chuẩn đoán bệnh EMS/AHPND (Devadas & ctv., 2019).

Với tốc độ lây lan và thiệt hại kinh tế gây ra bởi AHPND, tuy nhiên dữ liệu về tình hình dịch bệnh này trên vùng DBSCL chỉ mới cập nhật đến năm 2017 và chỉ ở mức có hay không có dịch ở các tỉnh. Đánh giá thực trạng bệnh trên tôm các

tỉnh với mục tiêu cung cấp thông tin và cái nhìn chính xác về mức độ nguy hiểm của AHPND để có các biện pháp đề phòng, xét nghiệm và chữa trị phù hợp là những gì bài báo sẽ thực hiện. Chúng tôi thực hiện thống kê mô tả trên bộ dữ liệu về tình hình bệnh AHPND trên tôm của bốn tỉnh Long An, Bến Tre, Bạc Liêu, và Kiên Giang cho thấy mức độ nhiễm và lượng thiệt hại bởi bệnh trên quy mô nuôi tôm từng tỉnh. Cùng với đó, đánh giá mức độ nhiễm bệnh trong 150 mẫu tôm đã thu thập được từ Long An, Bến Tre, Bạc Liêu, Kiên Giang bằng phương pháp phân lập chủng vi sinh và xác nhận đồng thời sự hiện diện của vector pVA1 và gen mã hóa *toxA* gây bệnh AHPND bằng kỹ thuật PCR.

## 2. Vật Liệu và Phương Pháp Nghiên Cứu

### 2.1. Thu thập mẫu tôm thẻ chân trắng và thông tin chung về tình hình sản lượng tôm và thiệt hại do AHPND trên các tỉnh

Thông tin tình hình sản lượng tôm và thiệt hại do AHPND trên các tỉnh và hộ nuôi được thu thập và tổng hợp bởi các chuyên viên của Chi cục Chăn nuôi và Thú y của bốn tỉnh Long An, Bến Tre, Bạc Liêu, và Kiên Giang dưới dạng báo cáo hiện trạng nuôi trồng thủy sản, trong đó có phiếu điều tra soạn sẵn gồm ba phần: i) Ngày thả nuôi và thông tin phát hiện dấu hiệu bệnh, ii) Đặc điểm ao nuôi, iii) Xét nghiệm AHPND trên tôm giống và việc dùng kháng sinh khi nuôi và iv) Ước tính doanh thu và thiệt hại. Các phiếu điều tra này sẽ được dùng khảo sát hộ nuôi tôm khi thu mẫu tôm thẻ chân trắng (*Litopenaeus vannamei*).

### 2.2. Phương pháp thống kê mô tả

Phương pháp thống kê mô tả với các giá trị tổng, kết hợp với phần trăm để mô tả thông tin chung của hộ nuôi, thực trạng của mô hình nuôi tôm. Vai trò của tôm nuôi cũng như tác động của dịch bệnh trên tôm nuôi đối với kinh tế hộ cũng được trình bày theo cách này.

### 2.3. Phương pháp phân lập, nuôi cấy và định danh chủng vi khuẩn gây AHPND bằng PCR

Các mẫu từ cá thể tôm thẻ chân trắng (*Litopenaeus vannamei*) ở Long An, Bến Tre, Bạc Liêu và Kiên Giang được thu thập từ 150 ao thuộc các hộ nuôi thâm canh tôm xuất hiệu các dấu hiệu

**Bảng 1.** Các cặp mồi sử dụng trong PCR nghiên cứu

Tên phương pháp	Trình tự mồi 5'-3'	Gen mục tiêu	Kích thước (bp)	Tác giả
AP2	AP2F: TCACCCGAATGCTCGCTTGTGG AP2R: CGTCGCTACTGTCTAGCTGAAG	Plasmid pVA1	700	Flegel & ctv., 2014
AP3	AP3-F: ATGAGTAAACAATATAAAACATGAAAC AP3-R: GTGGTAATAGATTGTACAGAA	toxA	333	Sirikharin & ctv., 2014
GMIF3-4	GMIF-3F: GTTTTCTTATTGATGCAATACG GMIF-4R: CGGTCTTAATGTCATGTTTCG	toxA và toxB	1806	Trong nghiên cứu này

lâm sàng của bệnh AHPND được nghiên cứu và tăng sinh qua đêm trong môi trường Tryptic Soy Broth (TSB) có bổ sung 1,5% NaCl. Dịch tăng sinh sau đó được pha loãng liên tiếp bậc 10 tới  $10^{-3}$  rồi trải 50  $\mu$ L dịch pha loãng lên môi trường Hicrome™ *Vibrio* agar và để tăng sinh ở 37°C qua đêm. Chọn 5-10 khuẩn lạc dự tuyển có màu xanh ngọc lam đem thực hiện multiplex PCR với cặp mồi AP2 và mồi AP3 để xác định tương ứng chủng có vector (pVA1) và gen (toxA) gây bệnh. Khuẩn lạc cho kết quả dương tính sẽ được hoạt hóa trong TSB có bổ sung 1,5% NaCl qua đêm để tiến hành bảo quản với glycerol nhằm chuẩn bị cho giải trình tự mã hóa độc tố toxA, toxB gây AHPND trên tôm.

**2.4. Giải trình tự hai gen mã hóa độc tố toxA và toxB**

Khuẩn lạc cho kết quả dương tính cặp mồi AP3 từ ống thử chứa glycerol 20% sẽ được hoạt hóa bằng cách thêm vào ống nghiệm chứa 5 mL TSB có bổ sung 1,5% NaCl lắc ở 37°C qua đêm và thực hiện PCR thu gen giải trình tự. Để thu được trình tự mã hóa đồng thời độc tố toxA và toxB, chúng tôi thiết kế cặp mồi GMIF3-4 (Bảng 1) nằm bên ngoài vùng gen mã hóa tương ứng cho toxA và toxB về phía thượng nguồn và hạ nguồn. Sản phẩm PCR từ cặp mồi này (1806 bp) được gửi giải trình tự tại công ty KTest, Việt Nam bằng kỹ thuật Sanger. Kết quả trình tự được xử lý bằng phần mềm BioEdit phiên bản 7.2 và sắp giống cột bằng Clustal Omega (EMBL-EBI, UK). Các trình tự sau khi sắp giống cột được chú giải và công bố trên Ngân hàng gen.

**3. Kết Quả và Thảo Luận**

**3.1. Thông tin chung về tình hình sản lượng tôm và thiệt hại do AHPND trên các tỉnh và hộ nuôi**

Từ năm 2014 đến năm 2018, bốn tỉnh thuộc DBSCL gồm Long An, Bến Tre, Bạc Liêu và Kiên Giang có tổng diện tích nuôi tôm trung bình trong bốn năm lần lượt là: 6.600, 35.000, 135.319, 123.859 ha và về mặt tổng sản lượng tôm là: 11.500, 55.900, 126.358, 73.390 tấn (Bảng 2). Tỷ lệ diện tích tôm nuôi luôn chiếm một tỷ lệ cao trên tổng diện tích nuôi trồng thủy sản của bốn tỉnh (thấp nhất là Kiên Giang với 50,38% và cao nhất là Bạc Liêu với 96,94%) (Bảng 3). Cùng với tỷ lệ này, bốn tỉnh này tình đang xu hướng chuyển

**Bảng 2.** Kết quả nuôi tôm ở bốn tỉnh Bến Tre, Long An, Bạc Liêu, Kiên Giang trung bình của năm 2014 - 2018\*

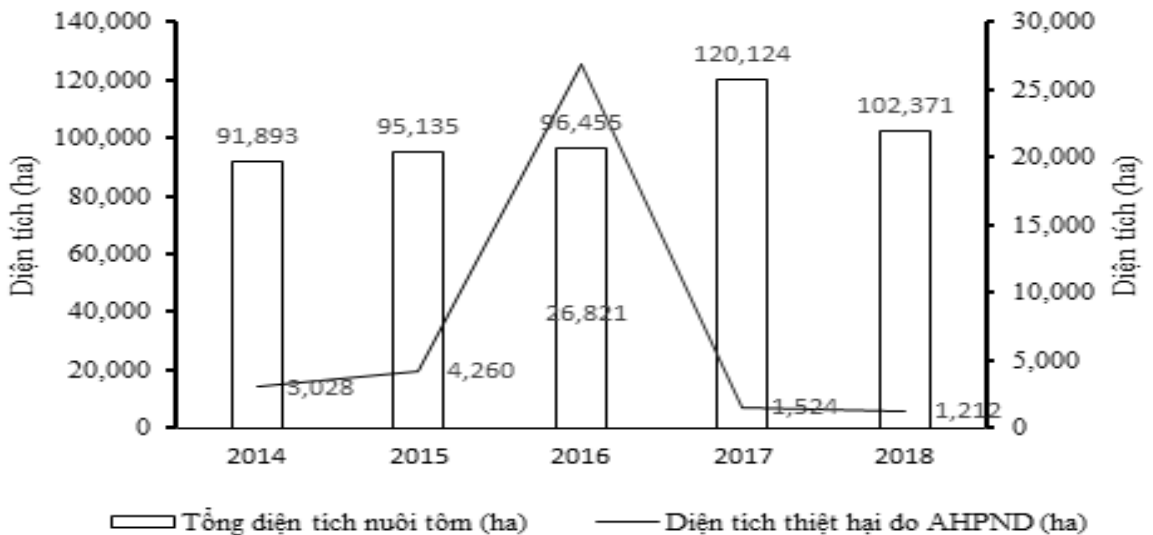
Tỉnh	Bến Tre	Long An	Bạc Liêu	Kiên Giang
Diện tích nuôi trồng thủy sản (ha)	46,7	10,0	134,7	215,9
Sản lượng nuôi trồng thủy sản (tấn)	256,6	42,1	203,5	199,1
Diện tích nuôi tôm (ha)	35,2	6,4	130,8	108,3
Sản lượng tôm (tấn)	52,5	1,8	54,5	59,8
Diện tích thiệt hại do AHPND (ha)	354,0	21,0	16,2	26,4

\*Nguồn: Nguyen (2019); Nguyen (2019); Tien (2019); Tran (2019).

**Bảng 3.** Kết quả nuôi tôm có ảnh hưởng của AHPND trung bình ở bốn tỉnh Long An, Bến Tre, Bạc Liêu, và Kiên Giang qua các năm\*

Thời gian	2014	2015	2016	2017	2018
Diện tích nuôi trồng thủy sản (ha)	89,1	97,6	103,2	142,0	110,4
Sản lượng nuôi trồng thủy sản (tấn)	159,4	166,6	171,4	236,2	191,5
Diện tích nuôi tôm (ha)	64,5	67,5	69,8	96,4	75,2
Sản lượng tôm (tấn)	54,9	54,0	56,9	64,0	66,8
Diện tích thiệt hại do AHPND (ha)	4,2	6,1	39,9	2,0	1,5
Tỉ lệ diện tích thiệt hại (%)	6,5	9,0	57,2	2,1	2,0

\*Nguồn: Nguyen (2019); Nguyen (2019); Tien (2019); Tran (2019).

**Hình 1.** Biểu đồ ảnh hưởng của AHPND qua các năm của bốn tỉnh.

dịch từ nuôi tôm sú (*Penaeus monodon*) dần sang nuôi tôm thẻ chân trắng (*Litopenaeus vannamei*) giống như xu hướng thế giới. Xu hướng này được thúc đẩy vào khoảng năm 2000, tôm thẻ chân trắng với ưu thế ngưỡng chịu mặn rộng và các thông số môi trường tốt được giới thiệu là loài thay thế tôm sú sau đợt tàn phá nặng nề bởi dịch bệnh virus trước đó. Nhưng thực sự tôm thẻ chân trắng có ít bệnh hơn tôm sú hay không thì vẫn chưa được làm rõ, bởi mầm bệnh nguy hiểm của loại tôm này luôn tồn tại tiềm ẩn trong môi

trường như các loài thuộc chi *Vibrio* (Sanathkumar & ctv., 2014).

### 3.2. Tình hình dịch bệnh AHPND trên tôm nuôi 4 tỉnh Long An, Bến Tre, Bạc Liêu, và Kiên Giang từ năm 2014 đến năm 2018

Bốn tỉnh Long An, Bến Tre, Bạc Liêu, và Kiên Giang có diện tích thiệt hại của AHPND dao động trong khoảng 2,0 - 57,2% tổng diện tích nuôi tôm trong giai đoạn 2014 - 2018. Tỉ lệ thiệt hại

**Bảng 4.** Kết quả điều tra hộ nuôi trung bình ở các tỉnh khảo sát

Nội dung điều tra	Kết quả			
	Long An	Bến Tre	Bạc Liêu	Kiên Giang
Số ngày nuôi đến khi phát hiện dấu hiệu bệnh (ngày)	49	42	32	47
Xét nghiệm AHPND trên tôm giống	100%			
Tổng thất ao nuôi (đồng)	24.564.710,0	40.833.333,0	26.620.690,0	36.037.037,0

tập trung vào hai tỉnh Bạc Liêu và Kiên Giang, cũng là hai tỉnh có diện tích nuôi tôm lớn.

Từ Hình 1 cho thấy mức độ thiệt hại do bệnh AHPND từ năm 2014 - 2018 lập đỉnh vào năm 2016 và có xu hướng giảm dần sau đó. Qua đó cho thấy rằng việc phòng ngừa và ngăn chặn dịch bệnh AHPND đã và đang rất được người dân và các cấp chính quyền địa phương quan tâm. Người nông dân đã tiếp cận được với các phương pháp phòng ngừa dịch bệnh và có đầu tư ao nuôi, các phương pháp phát hiện bệnh cũng được triển khai. Vì thế, diện tích thiệt hại do AHPND có xu hướng giảm trong năm 2017 - 2018.

**3.3. Thông tin chung về tình hình nuôi tôm và thiệt hại do AHPND trên các hộ nuôi**

Hầu hết các hộ nuôi tôm được khảo sát ở Long An, Bến Tre, Bạc Liêu, Kiên Giang có mức độ đầu tư ao nuôi chưa thể cách ly hoàn toàn mầm bệnh là đa số mới chỉ có lưới xung quanh, có dụng cụ riêng cho từng ao, có lót bạt bờ và một số ít lót hoàn toàn hoặc đầu tư kỹ càng hơn. Tất cả hộ nuôi không thực hiện xét nghiệm lại do tốn chi phí và thời gian, dù đã xét AHPND trên tôm giống trước khi thả nuôi. Số ngày nuôi đến khi phát hiện bệnh của các tỉnh từ 32 - 49 ngày là phát hiện dấu hiệu bệnh trong vòng 45 ngày sau khi thả nuôi và tổn thất trên một ao nuôi trong khoảng 24 đến 36 triệu (GAA, 2013). Trong đó, Bạc Liêu có số ngày nuôi đến khi phát hiện dấu hiệu bệnh ngắn nhất là 32 ngày, ngược lại, Long An có số ngày dài nhất là 49 ngày nhưng do có quy mô nuôi tôm trung bình nhỏ nhất nên có thể là lý do cho việc có tổn thất ao nuôi ít nhất (Bảng 4).

**3.4. Phân lập chủng AHPND trên tôm nuôi (*Litopenaeus vannamei*) của bốn tỉnh Tây Nam Bộ**

Tổng số 10 chủng *V. parahaemolyticus* dương tính với AHPND trong 150 mẫu tôm (*Litopenaeus vannamei*) đã được phân lập. Tỷ lệ mẫu

tôm dương tính với AHPND trong các mẫu thu thập được là 6,7% (Bảng 5). Đại diện ba chủng

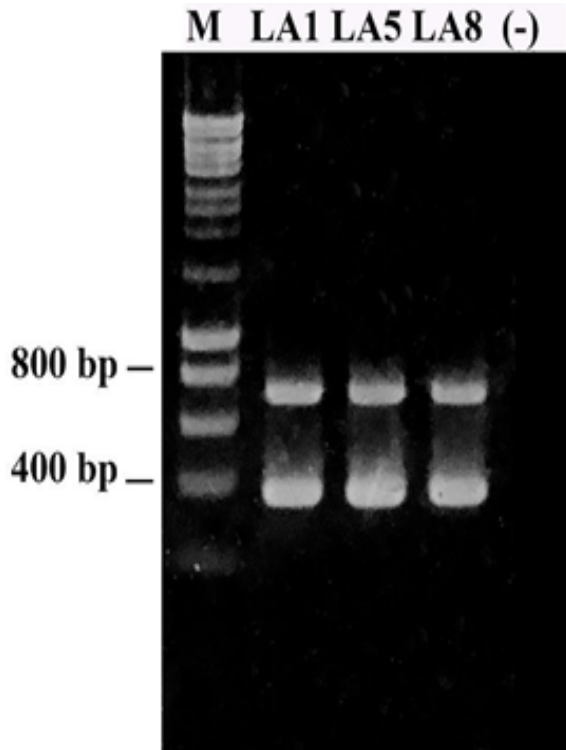
**Bảng 5.** Tần suất xuất hiện của *V. parahaemolyticus* gây bệnh hoại tử gan tụy cấp (AHPND) của bốn tỉnh trong năm 2018 - 2020

Tỉnh	Mẫu có khuẩn lạc dương tính AHPND	Mẫu nghi ngờ bệnh
Long An	6	50
Bến Tre	4	40
Bạc Liêu	0	30
Kiên Giang	0	30
Tổng mẫu	10	150
Tần suất xuất hiện	6,7%	

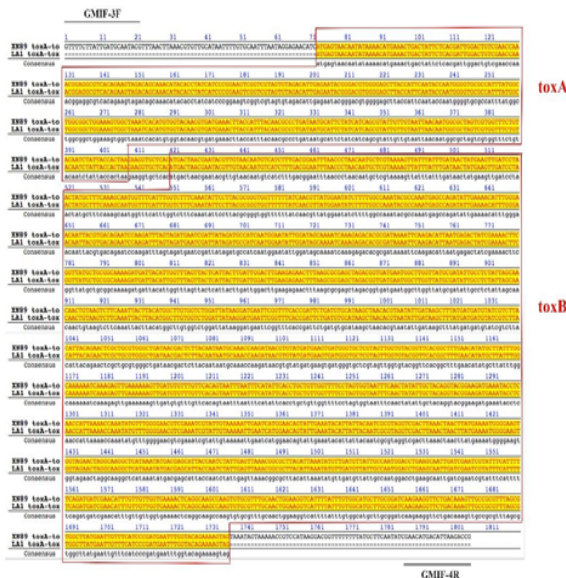
**Bảng 6.** Thông tin gen mã hóa độc tố toxA và toxB từ một số chủng *V. parahaemolyticus* gây bệnh hoại tử gan tụy cấp (AHPND) đại diện phân lập được

Tên chủng	Gen	Mã số đăng ký trên ngân hàng gen
LA1	ToxA	MW355905
	ToxB	MW355906
LA5	ToxA	MW355907
	ToxB	MW355908
LA8	ToxA	MW355909
	ToxB	MW355910

dương tính đặc trưng về gen của AHPND (dương tính với plasmid và gen toxA) được gửi giải trình tự cả gen toxA và toxB (Hình 2). Các kết quả về trình tự này được công bố trên ngân hàng gen với các thông tin và mã số tương ứng (Bảng 6). Kết quả giải trình tự đại diện cho ba chủng LA1, LA5, LA8 được thể hiện trong Hình 3 cho thấy các chủng này có độ tương đồng cao với chủng XN89 là chủng gây bệnh AHPND đã được công bố trên Ngân hàng gen. Để tìm hiểu rõ hơn về nguồn gốc bệnh và cơ chế lây lan của bệnh AHPND thông qua chuyển gen, giải trình tự toàn bộ plasmid chứa gen toxA/toxB từ những chủng



**Hình 2.** Kết quả PCR kiểm tra đại diện ba chủng dương tính với bệnh hoại tử gan tụy cấp (AHPND) đã phân lập với các cặp mồi AP3 và AP2. Các ký hiệu M, Thang 1 kb; giếng 1 đến 3, kết quả đại diện cho các chủng dương tính AHPND; (-), chứng âm.



**Hình 3.** Kết quả giải trình tự đại diện của chủng LA1.

dương tính đã phân lập là một điều cần thiết.

**4. Kết Luận**

Các tỉnh thuộc DBSCL là những khu vực nuôi tôm chủ yếu của cả nước tuy nhiên vẫn còn bị thiệt hại do AHPND qua mỗi năm. Diện tích nuôi tôm luôn chiếm ở mức cao trong diện tích nuôi trồng thủy sản ở bốn tỉnh.

Dịch bệnh APHND luôn xuất hiện qua các năm với đỉnh điểm gây thiệt hại nặng vào năm 2016. Sau đó diện tích bị bệnh suy giảm về mức gần như lúc đầu và diện tích nuôi tôm có tăng dù cho đợt ảnh hưởng nặng 2016.

Nhờ vào ý thức của các hộ dân khi bệnh càng ngày càng phổ biến hơn thì mức độ thiệt hại có giảm nhẹ từ năm 2017 - 2018. Dù có thực hiện xét nghiệm con giống nhưng các thành phần khác của ao nuôi và các giai đoạn sau chưa được quan tâm xét nghiệm bệnh AHPND, cũng như là mức độ đầu tư ao nuôi chưa đủ cách ly với mầm bệnh hiệu quả.

Chúng tôi cũng đã phân lập được 10 chủng dương tính với độc tố toxA thông qua nuôi cấy và PCR cũng như lần đầu tiên công bố trình tự các gen mã hóa cho hai độc tố toxA và toxB từ các một số chủng đại diện trên Ngân hàng gen. Dự kiến, chúng tôi sẽ phân lập thêm chủng dương tính mới tiến hành giải trình tự toàn bộ plasmid chứa gen toxA/toxB để tìm hiểu rõ hơn về nguồn gốc bệnh và cơ chế lây lan của bệnh AHPND thông qua chuyển gen.

**Lời Cảm Ơn**

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

**Lời Cảm Ơn**

Đề tài nghiên cứu được tài trợ từ Chương trình khoa học và công nghệ cấp quốc gia phục vụ phát triển bền vững vùng Tây Nam Bộ, mã số KHCN-TNB.ĐT/14-19/C31.

**Tài Liệu Tham Khảo (References)**

Anderson, J. L., Valderrama, D., & Jory, D. E. (2019). *GOAL 2019: Global shrimp production review*. Retrieved November 4, 2019, from <https://www.aquaculturealliance.org/advocate/goal-2019-global-shrimp-production-review>.

- Devadas, S., Banerjee, S., Yusoff, F. M., Bhasu, S., & Shariff, M. (2019). Experimental methodologies and diagnostic procedures for acute hepatopancreatic necrosis disease (AHPND). *Aquaculture* 499, 389-400.
- Dong, X., Chen, J., Song, J., Wang, H., Wang, W., Ren, Y., & Huang, J. (2019). Evidence of the horizontal transfer of pVA1-type plasmid from AHPND-causing *V. campbellii* to non-AHPND *V. owensii*. *Aquaculture* 503, 396-402.
- Flegel, T. W. (2012). Historic emergence, impact and current status of shrimp pathogens in Asia. *Journal of Invertebrate Pathology* 110(2), 166-173.
- GAA (Global Aquaculture Alliance). (2013). Cause of EMS shrimp disease identified. *GAA's GOAL 2013 conference*. Paris, France: Global Aquaculture Alliance. Retrieved February 25, 2015, from <https://www.aquaculturealliance.org/blog/cause-of-ems-shrimp-disease-identified>.
- Han, J. E., Tang, K. F., Pantoja, C. R., White, B. L., & Lightner, D. V. (2015). qPCR assay for detecting and quantifying a virulence plasmid in acute hepatopancreatic necrosis disease (AHPND) due to pathogenic *Vibrio parahaemolyticus*. *Aquaculture* 442, 12-15.
- Kondo, H., Van, P. T., Dang, L. T., & Hirono, I. (2015). Draft genome sequence of non-*Vibrio parahaemolyticus* acute hepatopancreatic necrosis disease strain KC13. 17.5, isolated from diseased shrimp in Vietnam. *Genome Announcements* 3(5): e00978-15.
- Kongrueng, J., Tansila, N., Mitraparp-arthorn, P., Nishibuchi, M., Vora, G. J., & Vuddhakul, V. (2015). LAMP assay to detect *Vibrio parahaemolyticus* causing acute hepatopancreatic necrosis disease in shrimp. *Aquaculture International* 23(5), 1179-1188.
- Lee, C. T., Chen, I. T., Yang, Y. T., Ko, T. P., Huang, Y. T., Huang, J. Y., & Lo, C. F. (2015). The opportunistic marine pathogen *Vibrio parahaemolyticus* becomes virulent by acquiring a plasmid that expresses a deadly toxin. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 112(34), 10798-10803.
- Liu, L., Xiao, J., Xia, X., Pan, Y., Yan, S., & Wang, Y. (2015). Draft genome sequence of *Vibrio owensii* strain SH-14, which causes shrimp acute hepatopancreatic necrosis disease. *Genome Announcements* 3(6), e01395-15.
- Nguyen, D. X. (2019). *Acute hepatopancreatic necrosis disease on shrimp cultured in Kien Giang province* (research report). Kien Giang Sub-Department of Livestock Production, Veterinary and Aquaculture, Kien Giang, Vietnam.
- Nguyen, T. T. (2019). *Acute hepatopancreatic necrosis disease on shrimp cultured in Long An province* (research report). Long An Sub-Department of Livestock production, Veterinary and Aquaculture, Long An, Vietnam.
- Restrepo, L., Bayot, B., Arciniegas, S., Bazaña, L., Betancourt, I., Panchana, F., & Muñoz, A. R. (2018). PirVP genes causing AHPND identified in a new *Vibrio* species (*Vibrio punensis*) within the commensal Orientalis clade. *Scientific Reports* 8(1), 1-14.
- Sanathkumar, H., Ravi, C., Padinhaturayil, S. B., Mol, M., Prasad, J. K., & Nayak, B. B. (2014). Microbiological investigation of persistent mortalities in *Litopenaeus vannamei* grown in low saline waters in India. *Journal of Aquatic Animal Health* 26(3), 154-159.
- Sirikharin, R., Taengchaiyaphum, S., Sritunyalucksana, K., Thitamadee, S., Flegel, T. W., Mavichak, R., & Proespraiwong, P. (2014). *A new and improved PCR method for detection of AHPND bacteria*. Retrieved June 18, 2014, from <https://enaca.org/?id=96>.
- Soto-Rodriguez, S. A., Gomez-Gil, B., Lozano-Olvera, R., Betancourt-Lozano, M., & Morales-Covarrubias, M. S. (2015). Field and experimental evidence of *Vibrio parahaemolyticus* as the causative agent of acute hepatopancreatic necrosis disease of cultured shrimp (*Litopenaeus vannamei*) in Northwestern Mexico. *Applied and Environmental Microbiology* 81(5), 1689-1699.
- Tien, H. L. (2019). *Acute hepatopancreatic necrosis disease on shrimp cultured in Bac Lieu province* (research report). Bac Lieu University, Bac Lieu, Vietnam.
- Tran, T. H. L. (2019). *Acute hepatopancreatic necrosis disease on shrimp cultured in Ben Tre province* (research report). Ben Tre Sub-Department of Livestock Production, Veterinary and Aquaculture, Ben Tre, Vietnam.
- Yang, Y. T., Chen, I. T., Lee, C. T., Chen, C. Y., Lin, S. S., Hor, L. I., & Lo, C. F. (2014). Draft genome sequences of four strains of *Vibrio parahaemolyticus*, three of which cause early mortality syndrome/acute hepatopancreatic necrosis disease in shrimp in China and Thailand. *Genome Announcements* 2(5), e00816-14.

## Hygienic conditions of the processing environment and microbial loads of Tra fish (*Pangasius hypophthalmus*): Trimming step

Tu C. Nguyen<sup>1</sup>, Hang T. M. Nhan<sup>1</sup>, Tam N. T. Huynh<sup>2</sup>, & Ngoc T. A. Tong<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Food Technology, Faculty of Agriculture, Can Tho University, Vietnam

<sup>2</sup>Biotechnology Research and Development Institute, Can Tho University, Vietnam

### ARTICLE INFO

#### Research Paper

Received: November 01, 2020

Revised: March 19, 2021

Accepted: March 29, 2021

#### Keywords

Hygiene  
Microorganisms  
*Pangasius*  
Quality  
Trimming

#### \*Corresponding author

Tong Thi Anh Ngoc  
Email: ttangoc@ctu.edu.vn

### ABSTRACT

During the processing of frozen *Pangasius hypophthalmus* fillets, the microbiological counts depend on the source of raw materials and processing conditions, those impact significantly on the quality of the final product. In particular, trimming is considered a high-risk step of cross-contamination during processing. This study aimed to compare and evaluate the microbial quality at trimming step in four frozen *Pangasius* processing factories located in the Mekong Delta region. Trimmed *Pangasius* fillet and contact surfaces samples (i.e., gloves and processing tools) were examined including total mesophilic counts, *Coliforms*, *E. coli* and coagulase-positive *Staphylococci* (*Staphylococci* coa+). The results showed that total mesophilic counts on trimming *Pangasius* processed in A, B, C and D plant were  $7.1 \pm 0.4$ ;  $7.5 \pm 0.7$ ;  $6.7 \pm 1.1$  and  $6.0 \pm 0.4$  log CFU/g, respectively. *Coliforms*, *E. coli* and *Staphylococci* coa+ on trimmed *Pangasius* ranged 4.0 - 5.1; 2.1 - 3.7 and 1.8 - 4.2 log CFU/g, respectively. Thus, proper preservation of fillets during processing is suggested. Good manufacturing practices should implement effectively to minimize the risk of cross-contamination for the trimmed fillets.

**Cited as:** Nguyen, T. C., Nhan, H. T. M., Huynh, T. N. T., & Tong, N. T. A. (2021). Hygienic conditions of the processing environment and microbial loads of Tra fish (*Pangasius hypophthalmus*): Trimming step. *The Journal of Agriculture and Development* 20(2), 44-50.

## Điều kiện vệ sinh của môi trường chế biến và mật số vi sinh vật trên cá Tra (*Pangasius hypophthalmus*): Công đoạn chỉnh hình

Nguyễn Cẩm Tú<sup>1</sup>, Nhan Thị Mỹ Hằng<sup>1</sup>, Huỳnh Ngọc Thanh Tâm<sup>2</sup> & Tống Thị Ánh Ngọc<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Bộ Môn Công Nghệ Thực Phẩm, Khoa Nông nghiệp, Trường Đại Học Cần Thơ, Cần Thơ

<sup>2</sup>Viện Nghiên Cứu và Phát Triển Công Nghệ Sinh Học, Trường Đại Học Cần Thơ, Cần Thơ

### THÔNG TIN BÀI BÁO

#### Bài báo khoa học

Ngày nhận: 01/11/2020

Ngày chỉnh sửa: 19/03/2021

Ngày chấp nhận: 29/03/2021

#### Từ khóa

Cá Tra

Chất lượng

Chỉnh hình

Vệ sinh

Vi sinh vật

#### \*Tác giả liên hệ

Tống Thị Ánh Ngọc

Email: ttangoc@ctu.edu.vn

### TÓM TẮT

Trong quá trình chế biến cá Tra phi lê đông lạnh, mật số vi sinh vật phụ thuộc vào nguồn nguyên liệu và điều kiện chế biến và do đó có ảnh hưởng đáng kể đến chất lượng của thành phẩm. Chỉnh hình được xem là công đoạn có nguy cơ cao lây nhiễm trong quy trình chế biến. Nghiên cứu này được thực hiện nhằm đánh giá và so sánh mật số vi sinh vật tại công đoạn chỉnh hình ở bốn nhà máy chế biến cá Tra phi lê đông lạnh thuộc khu vực Đồng bằng sông Cửu Long. Mẫu cá chỉnh hình và môi trường chế biến (các bề mặt tiếp xúc như găng tay công nhân và dụng cụ chế biến) được đánh giá các chỉ tiêu vi sinh vật bao gồm: vi sinh vật tổng số hiếu khí, *Coliforms*, *E. coli* và *Staphylococci* dương tính coagulase (*Staphylococci* coa+). Kết quả cho thấy mật số vi sinh vật tổng số hiếu khí trên cá chỉnh hình ở bốn nhà máy A, B, C và D lần lượt là  $7,1 \pm 0,4$ ;  $7,5 \pm 0,7$ ;  $6,7 \pm 1,1$  và  $6,0 \pm 0,4$  log CFU/g. Mật số *Coliforms*, *E. coli* và *Staphylococci* coa+ trên cá chỉnh hình tại các nhà máy tương ứng dao động từ 4,0 - 5,1; 2,1 - 3,7 và 1,8 - 4,2 log CFU/g. Nghiên cứu thấy rằng cần có phương pháp bảo quản phù hợp cá bán thành phẩm trong suốt quá trình chế biến. Thực hành vệ sinh và sản xuất tốt cần được thực hiện hiệu quả để giảm thiểu nguy cơ nhiễm chéo cho cá bán thành phẩm.

### 1. Đặt Vấn Đề

Cá Tra là loài có giá trị thương phẩm cao và được nuôi nhiều ở các tỉnh thuộc khu vực Đồng bằng sông Cửu Long như Đồng Tháp, An Giang, Cần Thơ, Vĩnh Long với tổng diện tích lên đến 6,6 nghìn ha (VASEP, 2019). Ngành hàng cá Tra là một trong những sản phẩm xuất khẩu chủ lực của ngành thủy sản và thị trường cá Tra được tiếp tục xuất khẩu sang 134 quốc gia và vùng lãnh thổ (VASEP, 2021). Tuy nhiên, nguy cơ sản phẩm không đảm bảo an toàn vệ sinh do việc thực hiện các hệ thống quản lý chất lượng không theo qui chuẩn, chưa hiệu quả và còn nhiều bất cập trong triển khai và áp dụng thực tế tại nhiều doanh nghiệp (Tong & ctv., 2014).

Trong quy trình chế biến, chỉnh hình là một trong những công đoạn chế biến quan trọng ở giữa quy trình nhằm làm sạch, loại bỏ phần thịt đỏ, da, mỡ, và xương còn sót; ngoài ra đây là

công đoạn tạo hình giúp các miếng cá phi lê đồng nhất về hình dạng và cảm quan. Ngoài ra, đây là công đoạn có nguy cơ cao gây mất an toàn vệ sinh thực phẩm do các bề mặt tiếp xúc (găng tay công nhân, dụng cụ chế biến...) có thể là nguồn lây nhiễm vi sinh vật cho cá nếu không được kiểm soát tốt, thời gian chế biến dài và được tiến hành thủ công; nhiệt độ cũng có thể là nguyên nhân dẫn đến sự mất an toàn của sản phẩm (Tong & ctv., 2014). Do đó, công đoạn chỉnh hình còn được xem là điểm kiểm soát (CP-control point) trong kế hoạch HACCP (phân tích mối nguy và kiểm soát tại các điểm tới hạn) cần được giám sát và kiểm soát trong quá trình chế biến.

Vì các lí do trên, nghiên cứu này thực hiện nhằm so sánh và đánh giá chất lượng vệ sinh tại công đoạn chỉnh hình ở bốn nhà máy chế biến cá Tra thuộc khu vực đồng bằng sông Cửu Long. Nội dung nghiên cứu được thực hiện thông qua đánh giá mật số vi sinh vật của cá Tra và môi



trường chế biến tại công đoạn chính hình; từ đó nghiên cứu cung cấp thêm thông tin, cũng như khuyến cáo và đề xuất phù hợp để góp phần giảm thiểu nguy cơ nhiễm chéo cho bán thành phẩm.

## 2. Vật Liệu và Phương Pháp Nghiên Cứu

### 2.1. Vật liệu nghiên cứu

Mẫu cá Tra, bề mặt tiếp xúc - bao gồm mẫu găng tay công nhân và mẫu dụng cụ chế biến (dao, thớt, rổ, mặt bàn chế biến) được lấy tại công đoạn chính hình ở bốn nhà máy chế biến: A (100 tấn nguyên liệu/ngày, toạ lạc tại Vĩnh Long; các tiêu chuẩn an toàn thực phẩm áp dụng: HACCP và HALAL; thị trường xuất khẩu: Trung Quốc, Malaysia và Indonesia), B (100 tấn nguyên liệu/ngày, toạ lạc tại Đồng Tháp; các tiêu chuẩn an toàn thực phẩm áp dụng: ISO, HACCP, BRC, IFS và GLOBAL GAP; thị trường xuất khẩu: Châu Âu, Mỹ, Úc và các nước Châu Á), C (250 tấn nguyên liệu/ngày, toạ lạc tại An Giang; các tiêu chuẩn an toàn thực phẩm áp dụng: BRC, IFS, HACCP, HALAL và ASC; thị trường xuất khẩu: Nam Mỹ, Mexico, Châu Âu, Trung Đông, Trung Quốc-Hồng Kông và các nước Châu Á) và D (35 tấn nguyên liệu/ngày, toạ lạc tại Cần Thơ; các tiêu chuẩn an toàn thực phẩm áp dụng: HACCP, BRC và IFS; thị trường xuất khẩu: Anh, Hy Lạp, Ai Cập, Trung Đông, Thái Lan).

### 2.2. Phương pháp lấy mẫu

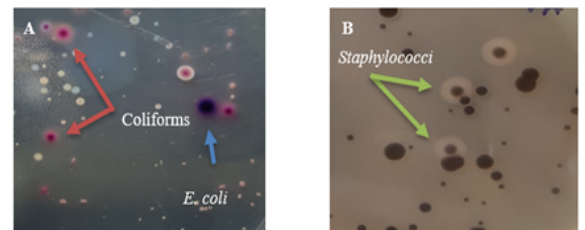
Mẫu cá chính hình (1 - 2 miếng phi lê) được lấy bằng nhíp đã khử trùng và cho vào túi vô trùng (Stomacher bags, BagLight<sup>®</sup>, Pháp); mẫu bề mặt tiếp xúc được lấy bằng cách sử dụng tấm bông đã được làm ẩm bằng dung dịch Maximum Recovery Diluent (MRD, Merck, Darmstadt, Đức); quét đều tấm bông theo chiều ngang, dọc và chéo trên bề mặt cần lấy mẫu với diện tích là 50 cm<sup>2</sup>; sau đó đặt lại tấm bông vào ống chứa dung dịch MRD để sử dụng cho phân tích các chỉ tiêu vi sinh vật (ISO 18593:2004).

Các mẫu sau khi lấy được ghi nhãn, cho vào túi vô trùng và bảo quản trong thùng đá, sau đó vận chuyển về phòng thí nghiệm vi sinh của nhà máy lấy mẫu hoặc của Bộ môn Công nghệ thực phẩm, Trường Đại học Cần Thơ; số lượng mẫu và chỉ tiêu phân tích được trình bày trong Bảng 1.

### 2.3. Phương pháp phân tích vi sinh vật

25 g mẫu cá chính hình được lấy từ các phần khác nhau của miếng phi lê, cho vào túi dập mẫu vô trùng; sau đó thêm vào 225 mL dung dịch MRD để thu được nồng độ pha loãng 10<sup>-1</sup>. Tiến hành dập mẫu (5 - 7 phút), sau đó tiến hành pha loãng mẫu bằng cách hút 1 mL mẫu cần pha loãng cho vào ống nghiệm chứa 9 mL dung dịch MRD để thu được nồng độ pha loãng 10<sup>-2</sup>. Đồng nhất mẫu trong 10 giây bằng máy vortex (RS-VA10, PHOENIX, Đức) và lặp lại thao tác đến khi thu được các bộ ba nồng độ đồ đĩa thích hợp (pha loãng mẫu đạt đến nồng độ 10<sup>-6</sup>) (ISO 6887-2:2003). Đối với mẫu bề mặt tiếp xúc thì cần đồng nhất mẫu trong 10 giây bằng máy vortex trước khi tiến hành pha loãng.

Vi sinh vật tổng số hiếu khí (TMC - Total Mesophilic Counts) được xác định theo phương pháp đồ đĩa bằng môi trường Plate Count Agar (PCA, Merck, Darmstadt, Đức) và ủ ở 37°C trong 48 - 72 giờ; *Coliforms* và *E. coli* được xác định bằng môi trường Coliform Agar Enhanced Selectivity (Coliform Agar ES, Merck, Darmstadt, Đức) và ủ ở 37°C trong 24 giờ. Các khuẩn lạc *Coliforms* mọc trên môi trường có màu từ hồng đến đỏ, các khuẩn lạc *E. coli* (thuộc nhóm *Coliforms*) có màu từ xanh dương đến tím (Hình 1-A). *Staphylococci* dương tính coagulase (*Staphylococci* coa+) được xác định bằng phương pháp trang đĩa trên thạch Baird Parker Agar (BPA, Merck, Darmstadt, Đức) bổ sung 25/500 mL Egg Yolk Tellurite Emulsion (EYTE, Merck, Đức). Sau 48 - 72 giờ ủ ở 37°C, các khuẩn lạc *Staphylococci* coa+ có màu xám đen và tạo thành vùng kết tủa màu trắng đục xung quanh (Hình 1-B). Các khuẩn lạc *Staphylococci* được xác nhận dương tính coagulase bằng phản ứng tạo đông sử dụng thuốc thử Bactident<sup>®</sup> Coagulase (Merck, Darmstadt, Germany) (TCVN 4830-1:2005). Mỗi nồng độ đồ đĩa được lặp lại hai lần cho tất cả các chỉ tiêu phân tích.



**Hình 1.** Hình thái khuẩn lạc *Coliforms*, *E. coli* (A) và *Staphylococci* coa+ (B).

**Bảng 1.** Số lượng mẫu và chỉ tiêu vi sinh vật

Loại mẫu \ Chỉ tiêu	Vi sinh vật tổng số	<i>Coliforms</i>	<i>E. coli</i>	<i>Staphylococci coa+<sup>1</sup></i>
Cá	36 <sup>2</sup>	36	36	36
Găng tay công nhân	36	36	36	36
Dụng cụ chế biến	36	36	36	- <sup>3</sup>

<sup>1</sup>*Staphylococci* dương tính coagulase; <sup>2</sup>Ba thời điểm lấy mẫu × ba ngày × bốn nhà máy; <sup>3</sup>Không phân tích.

**2.4. Xử lý số liệu**

Mật số vi sinh vật được tính toán và biểu diễn dưới dạng đơn vị logarit của số khuẩn lạc hình thành: log CFU/g (cá) và log CFU/100 cm<sup>2</sup> (bề mặt tiếp xúc). Kết quả được trình bày dưới dạng trung bình ± độ lệch chuẩn và xử lý thống kê bằng kiểm định ANOVA ( $\alpha = 0,05$ ) thông qua phần mềm Statgraphics Centurion 18 (Statgraphics Technologies, Inc., The Plains, Virginia).

**3. Kết Quả và Thảo Luận**

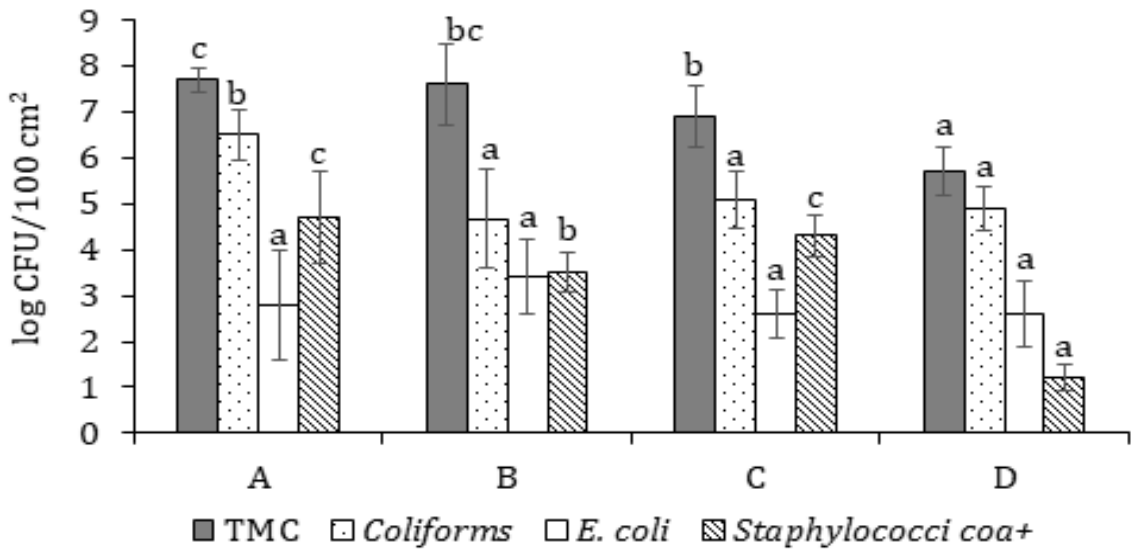
**3.1. Vi sinh vật tổng số, *Coliforms*, *E. coli* và *Staphylococci coa+* trên găng tay công nhân**

Kết quả mật số vi sinh vật tổng số hiếu khí, *Coliforms*, *E. coli*, *Staphylococci coa+* trên găng tay công nhân chính hình ở bốn nhà máy chế biến được thể hiện ở Hình 2. Kết quả cho thấy, mật số vi sinh vật tổng số hiếu khí trên găng tay công nhân chính hình dao động từ 5,7 - 7,7 log CFU/100 cm<sup>2</sup>. Trong đó, mật số vi sinh vật tổng số hiếu khí trên găng tay công nhân chính hình ở ba nhà máy A, B và C cao hơn ý nghĩa so với nhà máy D ( $P < 0,05$ ). Mật số *Coliforms* trên găng tay công nhân ở nhà máy A cao nhất (6,5 ± 0,6 log CFU/100 cm<sup>2</sup>) và khác biệt ý nghĩa ( $P < 0,05$ ) so với ở các nhà máy còn lại (dao động từ 4,7 - 5,1 log CFU/100 cm<sup>2</sup>). Trong khi đó, mật số *E. coli* trên găng tay công nhân chính hình dao động từ 2,6 - 3,4 log CFU/100 cm<sup>2</sup> và không khác biệt ý nghĩa giữa các nhà máy ( $P > 0,05$ ). *Staphylococci coa+* trên găng tay công nhân chính hình tại nhà máy A, B và C (3,5 - 4,7 log CFU/100 cm<sup>2</sup>) và khác biệt ý nghĩa so với nhà máy D (1,2 ± 0,2 log CFU/100 cm<sup>2</sup>). Không có sự tương quan có ý nghĩa được tìm thấy giữa năng suất nguyên liệu và mật số vi sinh vật trên găng tay công nhân chính hình giữa các nhà máy. Việc định lượng các vi khuẩn *Coliforms*, *E. coli* hoặc *Staphylococci* có thể được dùng như các chỉ thị để đánh giá hiệu quả của các quá trình vệ sinh

và chương trình HACCP tại các nhà máy chế biến thực phẩm nói chung (Lang & ctv., 1999), do đó lượng vi sinh vật tồn tại trong suốt qui trình chế biến phản ánh hiệu quả của hệ thống quản lý chất lượng, phụ thuộc vào các yếu tố như quy trình vệ sinh, phương pháp phòng ngừa đối với sản phẩm, cũng như kiểm soát sự lây nhiễm nước và nguyên liệu đầu vào.

Nghiên cứu của Noseda & ctv. (2013) tại một nhà máy chế biến cá Tra (năng suất nguyên liệu 200 tấn/ngày) đã báo cáo rằng mật số *E. coli* trên găng tay công nhân chính hình nhỏ hơn 0,7 log CFU/100 cm<sup>2</sup> ở tất cả các mẫu. Tuy nhiên, mật số *E. coli* trên găng tay công nhân chính hình trong nghiên cứu này cao hơn. Bên cạnh đó, *Staphylococci coa+* trên găng tay công nhân chính hình tại các nhà máy A, B và C dao động từ 3,5 - 4,7 log CFU/100 cm<sup>2</sup> (Hình 2). *Staphylococcus aureus* thuộc họ *Staphylococci* được biết là loài vi khuẩn gây ngộ độc thực phẩm và có thể phát triển nhanh ở khoảng nhiệt độ dao động trên cá chính hình (22 - 28°C tại các nhà máy chế biến thực hiện trong nghiên cứu này). Ngoài ra, chúng còn được biết đến với khả năng hình thành màng sinh học (Di Ciccio & ctv., 2015) trên các bề mặt chế biến thực phẩm do quá trình làm sạch và khử trùng không hiệu quả, và được sử dụng như một chỉ thị về mức độ vệ sinh cá nhân và thực hành sản xuất tốt (Da Silva Meira & ctv., 2012; Tong & ctv., 2020). Việc thực hiện các nghiên cứu tiếp theo chuyên sâu hơn về sự tồn tại và phát triển của loài vi khuẩn này trong qui trình chế biến là cần thiết. Vì vậy, các nhà máy cần chú trọng trang bị đầy đủ bảo hộ lao động (găng tay, khẩu trang, lưới trùm tóc,...) cho công nhân đồng thời giám sát việc tuân thủ thực hiện các qui phạm vệ sinh.

Vi sinh vật nói chung tồn tại với lượng cao trên găng tay công nhân (Hình 2) có thể là nguồn lây nhiễm vi sinh vật cho cá bán thành phẩm (đặc biệt là vi sinh vật gây bệnh) và do đó ảnh hưởng đến an toàn của cá thành phẩm (Svanevik & ctv., 2015; Novoslavskij & ctv., 2016). Vì vậy, các nhà



**Hình 2.** Vi sinh vật tổng số, *Coliforms*, *E. coli* và *Staphylococci coa+* trên găng tay công nhân.

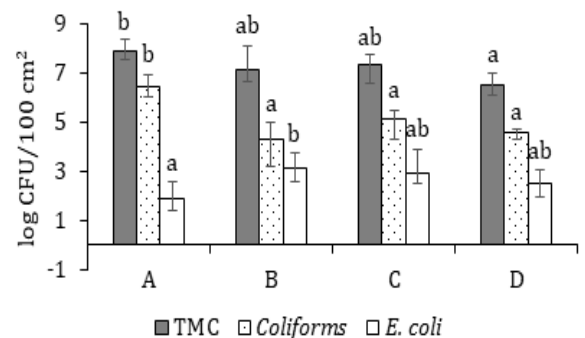
Các chữ cái (a, b, c) của cùng một chỉ tiêu vi sinh vật khác nhau thì các giá trị trung bình có sự khác biệt ý nghĩa thống kê ở mức 5%.

máy cần tăng cường tần suất vệ sinh găng tay công nhân, dụng cụ chế biến, nhà xưởng cũng như kiểm soát tốt nhiệt độ và thời gian cá tồn lưu tại công đoạn chính hình. Ngoài ra, các quá trình làm sạch, khử trùng và thủ tục vệ sinh cá nhân, găng tay, bảo hộ lao động cần được kiểm soát chặt chẽ hoặc cải tiến bởi chúng có ảnh hưởng đến hệ vi sinh vật tồn tại trên găng tay công nhân.

### 3.2. Vi sinh vật tổng số, *Coliforms* và *E. coli* trên dụng cụ chỉnh hình

Những dụng cụ dùng trong quá trình chế biến là các bề mặt tiếp xúc trực tiếp với cá chẳng hạn như dao, thớt, rổ chứa, mặt bàn chế biến cũng có thể tiềm ẩn nguy cơ gây nhiễm chéo vi sinh vật cho cá nếu điều kiện vệ sinh và khử trùng không đảm bảo (Shikongo-Nambabi & ctv., 2011; Novoslavskij & ctv., 2016). Hình 3 thể hiện kết quả mật số vi sinh vật tổng số hiếu khí, *Coliforms* và *E. coli* trên dụng cụ chỉnh hình ở các nhà máy chế biến cá Tra. Cụ thể, mật số vi sinh vật tổng số hiếu khí trên dụng cụ chỉnh hình tương đối cao, dao động từ 6,5 - 7,9 log CFU/100 cm<sup>2</sup>. Mật số *Coliforms* trên dụng cụ chỉnh hình tại nhà máy A ( $6,4 \pm 1,1$  log CFU/100 cm<sup>2</sup>) cao hơn ý nghĩa so với ở các nhà máy còn lại ( $P < 0,05$ ; dao động từ 4,3 - 5,2 log CFU/100 cm<sup>2</sup>). Ngược lại, mật số *E. coli* trên dụng cụ chỉnh hình tại nhà máy A là  $1,9 \pm 0,7$  log CFU/100 cm<sup>2</sup> và thấp hơn so

với các nhà máy còn lại (dao động từ 2,5 - 3,1 log CFU/100 cm<sup>2</sup>) (Hình 3). Không có sự tương quan có ý nghĩa giữa năng suất nguyên liệu và mật số vi sinh vật trên dụng cụ chỉnh hình giữa các nhà máy. Như vậy, vi sinh vật tồn tại với lượng cao trên dụng cụ chỉnh hình đặc biệt là các nhóm vi sinh vật *Coliforms* và *E. coli* sẽ làm tăng nguy cơ nhiễm chéo cho cá bán thành phẩm. Do đó, các nhà máy cần tăng cường tần suất vệ sinh nhà xưởng, các dụng cụ chế biến cũng như kiểm soát chặt chẽ hiệu quả của các quá trình và thủ tục vệ sinh, làm sạch và khử trùng trong và ngoài quá trình sản xuất (giữa các ca sản xuất).



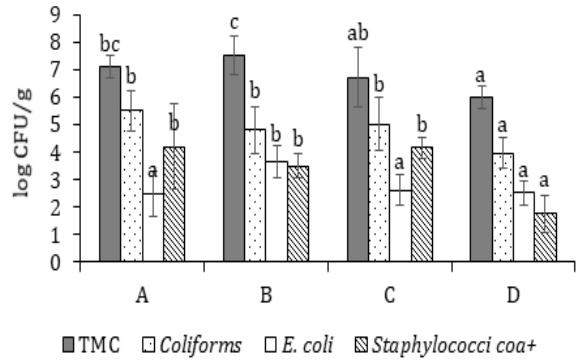
**Hình 3.** Mật số TMC, *Coliforms* và *E. coli* trên dụng cụ chỉnh hình.

Các chữ cái (a, b, c) của cùng một chỉ tiêu vi sinh vật khác nhau thì các giá trị trung bình có sự khác biệt ý nghĩa thống kê ở mức 5%.

**3.3. Vi sinh vật tổng số, Coliforms, E. coli và Staphylococci coa+ trên cá chính hình**

Mật số vi sinh vật tổng số hiếu khí, *Coliforms*, *E. coli* và *Staphylococci coa+* trên cá chính hình được thể hiện ở Hình 4. Nhìn chung, mật số vi sinh vật tổng số hiếu khí trên cá chính hình  $\geq 6$  log CFU/g. Cụ thể, mật số trung bình của vi sinh vật tổng số hiếu khí trên cá chính hình cao hơn 7 log CFU/g tại hai nhà máy A và B, và cao hơn ý nghĩa so với các mẫu cá chính hình được lấy tại hai nhà máy C và D ( $P < 0,05$ ; mật số vi sinh vật tổng số hiếu khí trên cá chính hình tại nhà máy C và D lần lượt là  $6,7 \pm 1,1$  và  $6,0 \pm 0,4$  log CFU/g). Mật số *Coliforms* trên cá chính hình tại các nhà máy dao động từ 4,0 - 5,5 log CFU/g, trong đó mật số *Coliforms* trên cá chính hình thấp nhất tại nhà máy A và có khác biệt ý nghĩa so với các nhà máy còn lại ( $P < 0,05$ ). Mật số *E. coli* trên cá chính hình tại các nhà máy A, B, C và D lần lượt là  $2,5 \pm 0,8$ ;  $3,7 \pm 0,6$ ;  $2,6 \pm 0,6$  và  $2,5 \pm 0,4$  log CFU/g. Trong đó, mật số *E. coli* trên cá chính hình tại nhà máy B cao ý nghĩa so với các nhà máy còn lại ( $P < 0,05$ ). Đối với *Staphylococci coa+*, mật số trên cá chính hình tại các nhà máy dao động từ 1,8 - 4,2 log CFU/g, thấp hơn ý nghĩa tại nhà máy A so với các nhà máy còn lại ( $P < 0,05$ ) (Hình 4). Không có sự tương quan có ý nghĩa giữa năng suất nguyên liệu và mật số vi sinh vật trên cá Tra chính hình giữa các nhà máy cũng như sự tương quan có ý nghĩa giữa điều kiện vệ sinh của môi trường chế biến (găng tay, dụng cụ chính hình) và mật số vi sinh vật trên cá Tra chính hình. Nghiên cứu của Nosedá & ctv. (2013) cho thấy mật số vi sinh vật tổng số hiếu khí trên cá chính hình (năng suất nguyên liệu 200 tấn/ngày) dao động từ 3,0 - 4,1 log CFU/g và *E. coli* trên cá chính hình  $< 0,7$  log CFU/g.

Mật số vi sinh vật trên cá chính hình cao có thể do lây nhiễm chéo từ găng tay công nhân, các bề mặt tiếp xúc. Ngoài ra, có thể do lây nhiễm chéo từ các công đoạn trước đó của quy trình chế biến (tiếp nhận nguyên liệu, phi lê, rửa). Ở công đoạn phi lê nếu thao tác của công nhân làm vỡ nội tạng cá thì nguy cơ gây mất an toàn cao công đoạn này và các công đoạn sau của quy trình chế biến. Từ các kết quả thu được, có thể thấy rằng mật số vi sinh vật trên cá chính hình phụ thuộc vào quy trình chế biến và điều kiện vệ sinh (làm sạch và khử trùng). Lượng vi sinh vật trên cá (bán) thành phẩm cũng bị ảnh hưởng bởi các hoạt động kiểm soát chất lượng như thực hành vệ sinh cá nhân,



**Hình 4.** Mật số TMC, *Coliforms*, *E. coli* và *Staphylococci coa+* trên cá chính hình. Các chữ cái (a, b, c) của cùng một chỉ tiêu vi sinh vật khác nhau thì các giá trị trung bình có sự khác biệt ý nghĩa thống kê ở mức 5%.

chương trình vệ sinh, các biện pháp phòng ngừa cho sản phẩm, kiểm soát nguyên liệu và phương pháp bảo quản cá bán thành phẩm (Shikongo-Nambabi & ctv., 2010; Kulawik & ctv., 2016). Từ các kết quả thu được, thực hành sản xuất tốt được đề nghị giám sát và có phương pháp bảo quản cá bán thành phẩm nhằm đảm bảo chất lượng và an toàn của cá bán thành phẩm.

**4. Kết Luận và Đề Nghị**

Tóm lại, mật số vi sinh vật tổng số hiếu khí trên cá chính hình ở bốn nhà máy A, B, C và D lần lượt là  $7,1 \pm 0,4$ ;  $7,5 \pm 0,7$ ;  $6,7 \pm 1,1$  và  $6,0 \pm 0,4$  log CFU/g. Mật số *Coliforms*, *E. coli* và *Staphylococci coa+* trên cá tại các nhà máy tương ứng dao động từ 4,0 - 5,1; 2,1 - 3,7 và 1,8 - 4,2 log CFU/g. Đây là công đoạn cần giám sát và kiểm soát tốt nhằm hạn chế quá trình lây nhiễm cho cá bán thành phẩm. Các nhà máy chế biến cần cải thiện quy trình và thủ tục kiểm soát vệ sinh nhà xưởng, dụng cụ, thiết bị; thực hành tốt vệ sinh cá nhân và có phương pháp bảo quản cá bán thành phẩm để giảm thiểu khả năng gây mất an toàn cá bán thành phẩm.

**Lời Cam Đoan**

Nghiên cứu này không tồn tại bất kỳ mẫu thuẫn nào giữa các tác giả.

**Lời Cảm Ơn**

Nghiên cứu này thuộc khuôn khổ của đề tài A-16 tài trợ bởi dự án Nâng cấp Trường Đại học

Cần Thơ VN14-P6 bằng nguồn vốn vay ODA từ chính phủ Nhật Bản. Nhóm nghiên cứu xin chân thành cảm ơn các nhà máy cho phép lấy mẫu và công bố các kết quả này.

## Tài Liệu Tham Khảo (References)

- Da Silva Meira, Q. G., de Medeiros Barbosa, I., Athayde, A. J. A. A., de Siqueira-Júnior, J. P., & de Souza, E. L. (2012). Influence of temperature and surface kind on biofilm formation by *Staphylococcus aureus* from food-contact surfaces and sensitivity to sanitizers. *Food Control* 25(2), 469-475.
- Di Ciccio, P., Vergara, A., Festino, A., Paludi, D., Zannardi, E., Ghidini, S., & Ianieri, A. (2015). Biofilm formation by *Staphylococcus aureus* on food contact surfaces: Relationship with temperature and cell surface hydrophobicity. *Food Control* 50, 930-936.
- ISO (International Organization for Standardization). (2004). *Microbiology of food and animal feeding stuffs – horizontal methods for sampling techniques from surfaces using contact plates and swabs (ISO 18593:2004)*. Retrieved April 9, 2020, from <https://www.iso.org/standard/39849.html>.
- ISO (International Organization for Standardization). (2003). *Microbiology of food and animal feeding stuffs - preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination - part 2: Specific rules for the preparation of meat and meat products (ISO 6887-2:2003)*. Retrieved April 9, 2020, from <https://www.iso.org/standard/29866.html>.
- Kulawik, P., Migdał, W., Gambuś, F., Cieślak, E., Özoğul, F., Tkaczewska, J., Szczurowska, K., & Wałkowska, I. (2016). Microbiological and chemical safety concerns regarding frozen fillets obtained from *Pangasius sutchi* and *Nile tilapia* exported to European countries. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 96(4), 1373-1379.
- Lang, M. M., Ingham, S. C., & Ingham, B. H. (1999). Verifying apple cider plant sanitation and hazard analysis critical control point programs: choice of indicator bacteria and testing methods. *Journal of Food Protection* 62(8), 887-893.
- Nosedá, B., Thi, A. N. T., Rosseel, L., Devlieghere, F., & Jacxsens, L. (2013). Dynamics of microbiological quality and safety of Vietnamese *Pangasianodon hypophthalmus* during processing. *Aquaculture International* 21(3), 709-727.
- Novoslavskij, A., Terentjeva, M., Eizenberga, I., Valciņa, O., Bartkevičs, V., & Bērziņš, A. (2016). Major food-borne pathogens in fish and fish products: A review. *Annals of Microbiology* 66(1), 1-15.
- Shikongo-Nambabi, M. N. N. N., Chimwamurombe, P. M., & Venter, S. N. (2010). Factors impacting on the microbiological quality and safety of processed hake. *African Journal of Biotechnology* 9(49), 8405-8411.
- Shikongo-Nambabi, M. N. N. N., Shoolongela, A., & Schneider, M. B. (2011). Control of bacterial contamination during marine fish processing. *Journal of Biology and Life Science* 3(1), 1-17.
- Svanevik, C. S., Roiha, I. S., Levsen, A., & Lunestad, B. T. (2015). Microbiological assessment along the fish production chain of the Norwegian pelagic fisheries sector—results from a spot sampling programme. *Food Microbiology* 51, 144-153.
- TCVN (Vietnamese National Standards). (2005). *TCVN 4830-1:2005: Vietnamese standard on microorganism in food and animal feeds - Method for determination of Staphylococcus aureus*. Retrieved February 26, 2021, from <https://vanbanphapluat.co/tcvn-4830-1-2005-dinh-luong-Staphylococci-co-phan-ung-duong-tinh-coagulase>.
- Tong, T. A. N., Duyen, B. T. H., Loan, L. N. T. T., Nghia, L. D., Duy, L. N. D., Binh, L. N., & Devlieghere, F. (2014). Comparison of Tra fish production process at seafood processing factories: microbial quality of total aerobic counts. *Can Tho University Journal of Science* 32 (2014), 69-75.
- Tong, T. A. N., Phan, T. T. Q., & Huynh, T. P. L. (2020). *Textbook: Safety and pollution in food production*. Can Tho City, Vietnam: Can Tho University Publishing House.
- VASEP (Vietnam Association of Seafood Exporters and Producers). (2021). *Value chain of Pangasius*. Retrieved February 28, 2021, from <http://vasep.com.vn/san-pham-xuat-khau/ca-tra/nguyen-lieu/hinh-thanh-chuoi-gia-tri-nganh-hang-ca-tra-21000.html>.
- VASEP (Vietnam Association of Seafood Exporters and Producers). (2019). *Overview of Vietnam fisheries industry*. Retrieved April 1, 2020, from <http://vasep.com.vn/1192/OneContent/tong-quan-nganh.htm>.

## Optimization of extraction conditions of flavonoids from *Houttuynia cordata* Thumb leaves

Phung M. Phan, Phuc T. D. Nguyen, Phuc H. Nguyen, Vo T. T. Vo, & Anh T. Vu\*

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

### ARTICLE INFO

#### Research Paper

Received: February 26, 2021

Revised: April 01, 2021

Accepted: April 08, 2021

#### Keywords

Cellulase

Flavonoids

*Houttuynia cordata* Thumb

Response surface methodology

#### \*Corresponding author

Vu Thuy Anh

Email: vuthuyanh@hcmuaf.edu.vn

### ABSTRACT

This study was conducted to investigate the application of cellulase enzyme in the extraction of flavonoids from *Houttuynia cordata* Thumb leaves and optimize the extraction conditions. Independent variables, including enzyme concentration (25 - 100 µg/mL), temperature (30 - 50°C), time (30 - 120 min) and ratio of raw materials to enzyme (1:15 - 1:30 g/mL), were investigated. Extraction conditions of flavonoids were designed according to Central Composite Design - Uniform Precision (CCD), a response surface methodology using a software JMP Pro version 13. The results indicated that the optimal extraction conditions were found to be enzyme concentration (78.0 µg/mL), temperature (41°C), time (90 min), and the ratio of material to the enzyme (1:26 g/mL). Under such conditions, the highest content of flavonoids ( $24.04 \pm 0.05$  mg/g, dry matter) was obtained and validated. It can be concluded that the flavonoids can be optimally extracted under the optimal extraction conditions with assistance of cellulase.

**Cited as:** Phan, P. M., Nguyen, P. T. D., Nguyen, P. H., Vo, V. T. T., & Vu, A. T. (2021). Optimization of extraction conditions of flavonoids from *Houttuynia cordata* Thumb leaves. *The Journal of Agriculture and Development* 20(2), 51-61.

## Tối ưu hoá điều kiện trích ly flavonoids từ lá diếp cá

Phan Minh Phụng, Nguyễn Thị Diễm Phúc, Nguyễn Hữu Phúc,  
Võ Thị Tường Vi & Vũ Thùy Anh\*

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

### THÔNG TIN BÀI BÁO

#### Bài báo khoa học

Ngày nhận: 26/02/2021  
Ngày chỉnh sửa: 01/04/2021  
Ngày chấp nhận: 08/04/2021

#### Từ khóa

Diếp cá  
Enzyme cellulase  
Flavonoid  
Phương pháp bề mặt đáp ứng

#### \*Tác giả liên hệ

Vũ Thùy Anh  
Email: vuthuyanh@hcmuaf.edu.vn

### TÓM TẮT

Mục tiêu của nghiên cứu này nhằm sử dụng enzyme cellulase trong quá trình trích ly flavonoids từ lá diếp cá (*Houttuynia cordata* Thumb) và tối ưu hóa các yếu tố ảnh hưởng đến hiệu suất trích ly. Các thông số được khảo sát bao gồm: nồng độ enzyme (25 - 100 µg/mL), nhiệt độ (30 - 50°C), thời gian (30 - 120 phút) và tỉ lệ giữa nguyên liệu: enzyme (1:15 - 1:30 g/mL). Điều kiện trích ly flavonoids được tối ưu điều với thiết kế kiểu CCD (Central Composite Design) bằng phương pháp bề mặt đáp ứng, sử dụng phần mềm JMP Pro 13. Kết quả nghiên cứu đã xác định được điều kiện tối ưu trích ly flavonoids từ lá diếp cá, bao gồm nồng độ enzyme (78,0 µg/mL), nhiệt độ (41°C), thời gian (90 phút) và tỉ lệ nguyên liệu: enzyme (1:26 g/mL). Với điều kiện trích ly tối ưu này, hàm lượng flavonoid đạt được là  $24,04 \pm 0,05$  mg/g, vật chất khô.

## 1. Đặt Vấn Đề

Diếp cá (*Houttuynia cordata* Thumb) là một loại cây thảo mộc, có mùi tanh của cá được trồng rất phổ biến ở Việt Nam và một số nước Châu Á. Hiện nay, diếp cá được trồng làm rau gia vị hoặc dùng làm vị thuốc quý cho nhiều bài thuốc dân gian chữa bệnh. Chiết xuất từ diếp cá đã được chứng minh có tác dụng chống lại các bệnh bao gồm ung thư, tiểu đường, các bệnh ngoài da và hội chứng hô hấp cấp tính nặng (Miyata & ctv., 2010; Du & ctv., 2012; Kumar & ctv., 2014). Ngoài ra, các chiết xuất từ diếp cá cũng có khả năng kháng khuẩn và kháng vi rút như sốt xuất huyết (Sekita & ctv., 2016; Li & ctv., 2017; Verma & ctv., 2017). Theo các kết quả nghiên cứu sơ bộ được công bố gần đây, trong 100 g rau diếp cá có chứa nước (91,5%), protid (2,9%), glucid (2,7%), lipid (0,5%), cellulose (1,8%), calci (0,3 mg), kali (0,1 mg), tiền vitamin A (1,26 mg), và vitamin C (68 mg). Hơn nữa, diếp cá là loại rau rất thường

được sử dụng trong khẩu phần ăn hằng ngày và rất rẻ tiền. Đã có nhiều nghiên cứu về trích ly các hợp chất sinh học từ các loại thực vật như flavonoids (Meng & ctv., 2006), polyphenols (Li & ctv., 2014), alkaloids (Wang & ctv., 2008), và essential oil (Djihane & ctv., 2017). Vì thế, trích ly các hợp chất sinh học từ cây diếp cá là rất cần thiết và hữu ích cho việc sử dụng vào nhiều sản phẩm thực phẩm chức năng và dược phẩm.

Tuy nhiên, để thu nhận và ứng dụng các chất có hoạt tính sinh học, đặc biệt là flavonoids từ diếp cá, một vấn đề đặt ra đó là làm sao để tăng cao hiệu suất trích ly và thiết lập được điều kiện trích ly tối ưu. Trong số những phương pháp thì trích ly với sự phối hợp của enzyme đã đem lại nhiều hiệu quả cũng như thân thiện với môi trường (Vergara-Barberán, 2015). Phương pháp bề mặt đáp ứng (RSM, Response Surface Methodology) với sự hỗ trợ của các phần mềm xử lý số liệu đã trở thành một công cụ hữu ích giúp thực hiện nghiên cứu các quá trình tối ưu hóa đa nhân tố, nhằm tiết

kiệm thời gian và chi phí (Myers & Montgomery, 2002).

Vì thế, nghiên cứu này được thực hiện nhằm tối ưu hoá điều kiện trích ly flavonoids từ lá diếp cá với sự hỗ trợ của enzyme bằng phương pháp bề mặt đáp ứng.

**2. Vật Liệu và Phương Pháp Nghiên Cứu**

**2.1. Vật liệu**

**2.1.1. Lá diếp cá**

Nguyên liệu lá diếp cá, được mua ở chợ Đầu mối Thủ Đức, Thành phố Thủ Đức, TP.HCM. Nguyên liệu sau khi thu mua được vận chuyển nhanh về phòng thí nghiệm (không quá 1 giờ) để tiến hành các xử lý tiếp theo. Lá diếp cá được rửa sạch, làm khô ở nhiệt độ phòng. Sau đó, các mẫu được sấy khô ở nhiệt độ 40°C đến khi độ ẩm đạt được 5 - 6%, nghiền mịn và bảo quản trong bao kín được hút chân không.

**2.1.2. Hóa chất**

Các hoá chất sử dụng trong phân tích bao gồm ethanol 96% (Trung Quốc), chất chuẩn Quercetin (Ấn Độ); enzyme cellulase (Ấn Độ); CH<sub>3</sub>COOK (Trung Quốc); và AlCl<sub>3</sub> (Trung Quốc).

**2.2. Bố trí thí nghiệm**

**2.2.1. Ảnh hưởng của enzyme đến hàm lượng flavonoids**

Đối với mẫu ngâm và xử lý enzyme: Cân 3 g bột diếp cá cho vào Beaker 250 mL, sau đó cho dung dịch enzyme cellulase vào bột diếp cá với nồng độ 100 µg/mL theo tỉ lệ 1/20 (w/v) trong 60 phút ở nhiệt độ 40°C. Sau đó, tiến hành lọc qua giấy lọc Whatman và tiến hành xác định hàm lượng flavonoids tổng (TFC) của mẫu trích ly trong pha nước. Tiếp đến, phần bã được trích ly tiếp bằng dung môi ethanol 70% với tỉ lệ 1/30 (w/v) trong 3 giờ ở nhiệt độ 60°C. Tiến hành lọc và xác định TFC của mẫu trích ly trong pha cồn. Hàm lượng TFC tổng là tổng hàm lượng của dịch trích ly trong nước và trong ethanol.

Đối với mẫu không xử lý enzyme: cân 3 g bột diếp cá cho vào Beaker 250 mL, sau đó cho dung môi ethanol 70% vào để trích ly trong thời gian 3 giờ ở nhiệt độ 60°C. Tiến hành lọc và xác định TFC.

**2.2.2. Thí nghiệm tối ưu hóa điều kiện trích ly**

Phương pháp bề mặt đáp ứng được lựa chọn để tối ưu hóa điều kiện trích ly flavonoids từ lá diếp cá dưới sự hỗ trợ của enzyme cellulase. Ba thông số quan trọng của quá trình trích ly được nghiên cứu bao gồm: Nồng độ (X<sub>1</sub>), nhiệt độ (X<sub>2</sub>) và tỉ lệ dung môi/nguyên liệu (X<sub>3</sub>). Thí nghiệm được bố trí theo kiểu CCD-Uniform Precision và ma trận thí nghiệm được xây dựng bằng phần mềm JMP 13 Pro. Trong các nghiên cứu thăm dò, chúng tôi đã xác định được giá trị biên của các nhân tố trích ly như trình bày trong Bảng 1. Trong số 20 thí nghiệm được tiến hành có 6 thí nghiệm ở tâm. Mô hình toán học mô tả ảnh hưởng của các biến độc lập với biến phụ thuộc có dạng hàm đa thức bậc hai có dạng tổng quát như sau:

$$Y_i = a_0 + a_1X_1 + a_2X_2 + a_3X_3 + a_{11}X_1^2 + a_{22}X_2^2 + a_{33}X_3^2 + a_{12}X_1X_2 + a_{13}X_1X_3 + a_{23}X_2X_3$$

Trong đó: Y<sub>i</sub> đại diện cho biến phụ thuộc, là hàm lượng flavonoids tổng, a<sub>0</sub> là hằng số, a<sub>i</sub>, a<sub>ii</sub>, a<sub>ij</sub> lần lượt là các hệ số bậc 1, bậc 2 và sự tương tác. X<sub>i</sub>, X<sub>j</sub> là mức độ của các biến độc lập.

**Bảng 1.** Ma trận bố trí thí nghiệm mã hóa các biến độc lập

Yếu tố	Mã hoá		
	-1	0	+1
Nồng độ (X <sub>1</sub> , µg/mL)	50	75	100
Nhiệt độ (X <sub>2</sub> , °C)	30	40	50
Tỉ lệ dung môi/nguyên liệu (X <sub>3</sub> , v/w)	20	25	30

**2.3. Phương pháp phân tích**

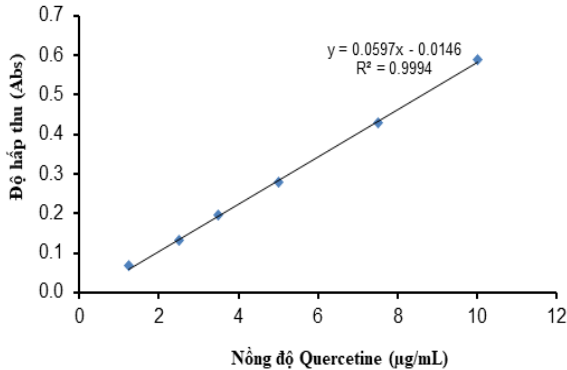
**2.3.1. Xây dựng đường chuẩn Quercetin**

Pha dung dịch quercetin 100 µg/mL trong cồn 80%. Từ dung dịch chuẩn quercetin 100 µg/mL tiếp tục pha ra các dung dịch có nồng độ lần lượt là 75, 50, 35, 25, 12,5 µg/mL. Ứng với mỗi nồng độ dung dịch pha loãng hút 0,5 mL cho vào ống nghiệm sau đó thêm vào 1,5 mL ethanol 95%, 0,1 mL AlCl<sub>3</sub> 10%, 0,1 mL CH<sub>3</sub>COOK 1 M và 2,8 mL nước cất. Lắc đều để yên ở nhiệt độ phòng 30 phút. Đo màu ở bước sóng 415 nm, mẫu trắng thực hiện tương tự nhưng thay AlCl<sub>3</sub> bằng nước cất.

Từ kết quả ở Hình 1 cho thấy trong khoảng



nồng độ khảo sát, độ hấp thu tăng tuyến tính theo giá trị của hàm lượng flavonoids ở bước sóng cực đại 415 nm. Từ đó phương trình đường chuẩn flavonoids được xây dựng là  $y = 0,0597x - 0,0146$ , với hệ số tương quan  $R^2 = 0,9994$ .



**Hình 1.** Đường chuẩn flavonoids tính theo tương đương quercetin.

### 2.3.2. Xác định hàm lượng flavonoid tổng (TFC)

Theo Chang & ctv. (2001) flavonoids tổng được xác định theo phương pháp quang phổ theo nguyên tắc: Flavonoids tạo phức màu vàng với dung dịch  $AlCl_3$ . Cường độ màu tỉ lệ thuận với hàm lượng flavonoids được xác định ở bước sóng 415 nm. Quercetin được dùng làm chất chuẩn tham chiếu. Lấy 0,5 mL dịch chiết rau diếp đã được pha loãng thích hợp cho vào ống nghiệm sau đó thêm vào 1,5 mL ethanol 95%, 0,1 mL  $AlCl_3$  10%, 0,1 mL  $CH_3COOK$  1M và 2,8 mL nước cất. Lắc đều để yên ở nhiệt độ phòng 30 phút. Đo màu ở bước sóng 415 nm. TFC trong mẫu được tính như sau:

$$TFC = \frac{a \times V \times n}{m} \times 10^{-3} \text{ (mg/g, vck)}$$

Trong đó:

a: hàm lượng flavonoid xác định từ đường chuẩn ( $\mu\text{g/mL}$ )

V: tổng thể tích dịch chiết (mL)

n: hệ số pha loãng

m: khối lượng mẫu (g)

### 2.4. Xử lý số liệu

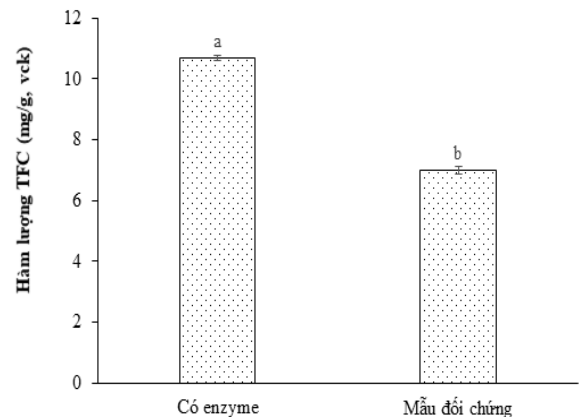
Các thí nghiệm được lặp lại 3 lần. Kết quả trình bày là giá trị trung bình  $\pm$  độ lệch chuẩn. Dữ liệu được kiểm tra bằng phần mềm Statgraphics Centurion XVI (Statgraphics Technologies, Inc.,

Virginia, USA). Phân tích phương sai (ANOVA) và chênh lệch ít có ý nghĩa nhất (LSD) được thực hiện so sánh giá trị trung bình ở mức 0,05. Số liệu tối ưu được thiết kế và phân tích bằng phần mềm JMP Pro version 13.

## 3. Kết Quả và Thảo Luận

### 3.1. Ảnh hưởng của enzyme đến hàm lượng flavonoids

Kết quả thí nghiệm ảnh hưởng của enzyme cellulase đến hàm lượng TFC được thể hiện ở Hình 2. Kết quả xử lý thống kê cho thấy mẫu bột diếp cá khi trích ly flavonoid có sử dụng enzyme cellulase tăng đáng kể so với mẫu không có sự hỗ trợ của enzyme ( $P < 0,05$ ). Cụ thể, hàm lượng TFC đạt được khoảng 10,68 (mg/g, vck) đối với mẫu có sự hỗ trợ của enzyme cellulase, trong khi hàm lượng này của mẫu không có sự hỗ trợ của enzyme (mẫu đối chứng) chỉ đạt khoảng 65% (6,98 mg/g, vck). Hay nói cách khác, hàm lượng flavonoid trong mẫu có xử lý enzyme cao gấp 1,53 lần so mẫu trích ly không sử dụng enzyme. Như vậy, sử dụng enzyme đã hỗ trợ tích cực đến đến hiệu suất trích ly flavonoids từ lá diếp cá, và được sử dụng cho các nghiên cứu tiếp theo.



**Hình 2.** Ảnh hưởng của enzyme hàm lượng flavonoids thu được trong dịch trích ly. TFC: Hàm lượng flavonoid tổng.

### 3.2. Ảnh hưởng của thời gian xử lý enzyme

Dựa vào kết quả xử lý thống kê và Hình 3 cho thấy ảnh hưởng của thời gian xử lý enzyme đến hàm lượng TFC tổng có ý nghĩa về mặt thống kê ( $P < 0,05$ ). Khi tăng thời gian xử lý enzyme

từ 30 phút đến 90 phút thì hàm lượng TFC tổng tăng từ 20,39 (mg/g, vck) đến 22,32 (mg/g, vck). Cụ thể, hàm lượng TFC tổng cao nhất là 22,32 (mg/g, vck) khi thời gian thủy phân 90 phút và thấp nhất là 20,39 (mg/g, vck) trong 30 phút. Tuy nhiên, khi tăng thời gian lên đến 120 phút thì hiệu suất thu hồi TFC tổng có khuynh hướng giảm. Vì sau khi xử lý enzyme đòi hỏi phải cần một khoảng thời gian nhất định để enzyme tiến hành phân cắt cellulose ở thành tế bào thực vật, tạo điều kiện cho dung môi dễ dàng khuếch tán và hòa tan các chất, sau đó khuếch tán ra bên ngoài góp phần làm tăng hiệu suất trích ly, sau đó thì hàm lượng TFC tổng không tăng nữa. Đồng thời, thời gian kéo dài sẽ hòa tan các chất không mong muốn làm ảnh hưởng đến quá trình trích ly (Hahn & ctv., 2012; Hoang & Le, 2020). Do vậy, thời gian thủy phân thích hợp là 90 phút và được cố định cho các thí nghiệm tiếp theo.

### 3.3. Ảnh hưởng của nồng độ xử lý

Hình 4 trình bày sự thay đổi của hàm lượng TFC tổng khi thay đổi nồng độ enzyme xử lý, từ nồng độ 25 đến 100  $\mu\text{g/mL}$ . Kết quả cho thấy nồng độ enzyme ảnh hưởng đến hàm lượng flavonoids tổng và có ý nghĩa về mặt thống kê ( $P < 0,05$ ). Khi tăng nồng độ enzyme cellulase từ 25 đến 75  $\mu\text{g/mL}$  thì hàm lượng TFC tổng tăng từ 19,38 đến 21,25 (mg/g, vck), nhưng khi tăng nồng độ enzyme đến 100  $\mu\text{g/mL}$  thì hàm lượng TFC tăng không đáng kể. Hay nói cách khác, khi tăng nồng độ enzyme thì hàm lượng TFC tăng, tuy nhiên khi tăng nồng độ enzyme đến một mức nhất định thì hàm lượng TFC không tăng nữa và có khuynh hướng tiệm cận ngang. Nguyên nhân là do cơ chất trong mẫu nên hiệu suất phân cắt giảm, dẫn đến hiệu suất trích ly tăng không đáng kể (Puri & ctv., 2012). Vì thế, khoảng nồng độ enzyme thích hợp cho trích ly flavonoids tổng từ lá điệp cá là từ 50 đến 100  $\mu\text{g/mL}$  và được tiến hành tối ưu cho thí nghiệm tiếp theo.

### 3.4. Ảnh hưởng của nhiệt độ xử lý

Dựa vào kết quả Hình 5 cho thấy ảnh hưởng của nhiệt độ đến hàm lượng TFC toàn phần thu được là có ý nghĩa ( $P < 0,05$ ). Khi tăng nhiệt độ từ 30°C đến 40°C, hàm lượng TFC tăng từ 20,71 đến 21,54 (mg/g, vck), khi tăng nhiệt độ tới 50°C thì hàm lượng TFC tăng không đáng kể ( $P > 0,05$ ). Nguyên nhân là vì enzyme là một phân tử sinh học có bản chất là protein, do đó nhiệt độ có

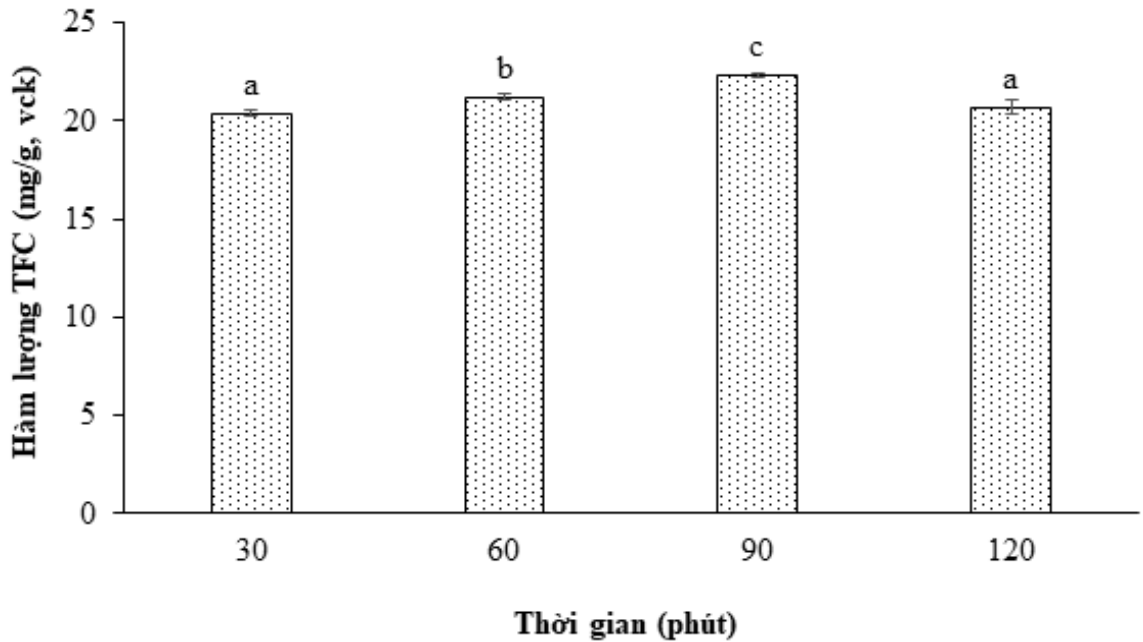
ảnh hưởng rất lớn đến hoạt động xúc tác chuyển hóa cơ chất của enzyme; nếu nhiệt độ không đủ cao, trung tâm hoạt động của enzyme sẽ không thể hoạt động được tốt nhất và khả năng phân cắt mạch cellulose không đạt hiệu quả cao. Ngoài ra, nếu nhiệt độ cao sẽ phá hủy cấu trúc bậc 4 của enzyme gây bất hoạt và làm mất hoạt tính xúc tác của enzyme. Do enzyme có một khoảng nhiệt độ hoạt động tối ưu nhất định, thông thường ở nhiệt độ quá thấp (dưới 30°C), hoạt lực của enzyme là thấp. Vì vậy, trong các thí nghiệm tối ưu tiếp theo khoảng nhiệt độ thích hợp cho hoạt động của enzyme được lựa chọn là 30 đến 50°C để đánh giá sự tương tác với các yếu tố khác.

### 3.5. Ảnh hưởng của tỉ lệ nguyên liệu và dung môi

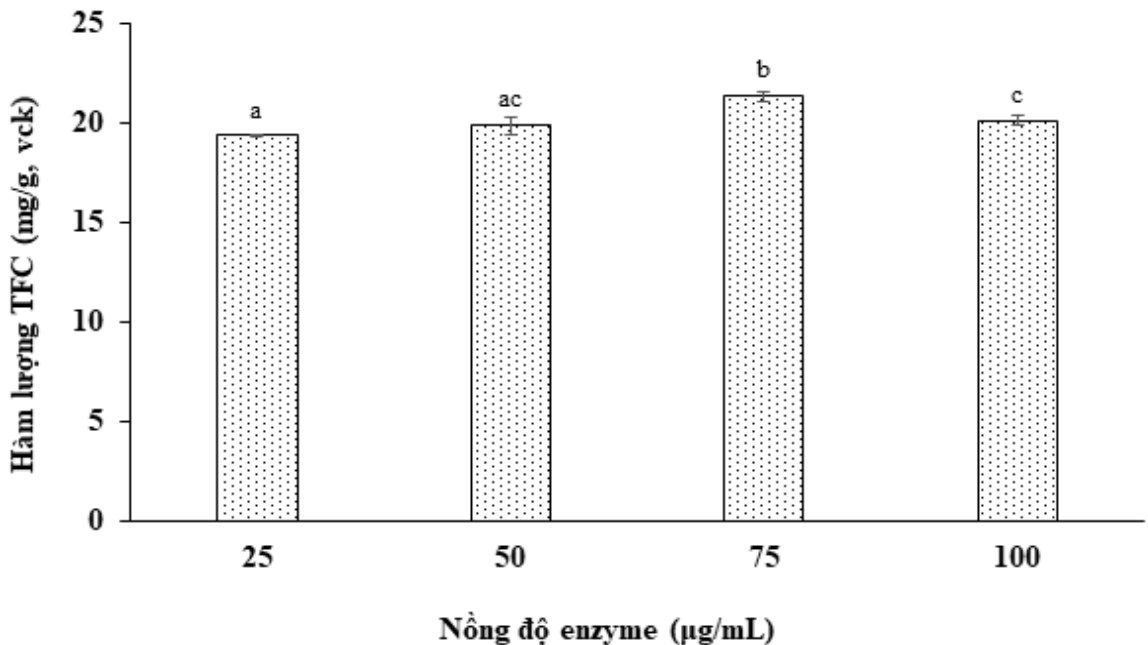
Kết quả Hình 6 cho thấy tỉ lệ nguyên liệu và dung môi có ảnh hưởng có ý nghĩa thống kê đến hàm lượng TFC tổng trong dịch trích ly ( $P < 0,05$ ). Khi tăng tỉ lệ tăng từ 1:15 đến 1:30 (w/v) thì hàm lượng TFC tăng từ 20,67 đến 23,71 (mg/g, vck). Tỉ lệ nguyên liệu và dung môi tăng thì hàm lượng TFC tổng tăng, nhưng từ tỉ lệ 1:25 trở đi thì hàm lượng TFC tăng không đáng kể ( $P > 0,05$ ) và có khuynh hướng tiệm cận ngang. Bởi vì, khi tỉ lệ thể tích dung dịch enzyme cellulase tăng thì diện tích bề mặt tiếp xúc giữa enzyme và cơ chất càng lớn, khi tỉ lệ quá thấp thì enzyme không đủ tiếp xúc và tương tác với cơ chất làm giảm khả năng phân cắt mạch cellulase giảm (Truong & ctv., 2015). Khi tỉ lệ thể tích quá cao, thì cơ chất và enzyme bị pha loãng, làm giảm khả năng thủy phân của enzyme, dẫn đến TFC thu được thấp. Từ kết quả này, tỉ lệ enzyme thích hợp cho thí nghiệm tối ưu hoá tiếp theo là 1:20 đến 1:30 (w/v).

### 3.6. Tối ưu hóa các điều kiện trích ly

Từ các thí nghiệm đơn ở phía trên, các điều kiện trích ly với sự hỗ trợ enzyme cellulase, bao gồm nồng độ, nhiệt độ và tỉ lệ nguyên liệu: dung môi, được chọn cho nghiên cứu tối ưu điều kiện trích ly sao cho hàm lượng TFC thu được là cao nhất. Các khoảng thích hợp của các yếu tố này được trình bày ở Bảng 1. Thí nghiệm tối ưu được thiết kế theo kiểu CCD bằng phương pháp RSM và kết quả hàm lượng TFC trong dịch trích ly khi thực hiện các thí nghiệm tối ưu được trình bày qua Bảng 2. Kết quả phân tích phương sai (ANOVA) đã xác định được mô hình đa thức bậc



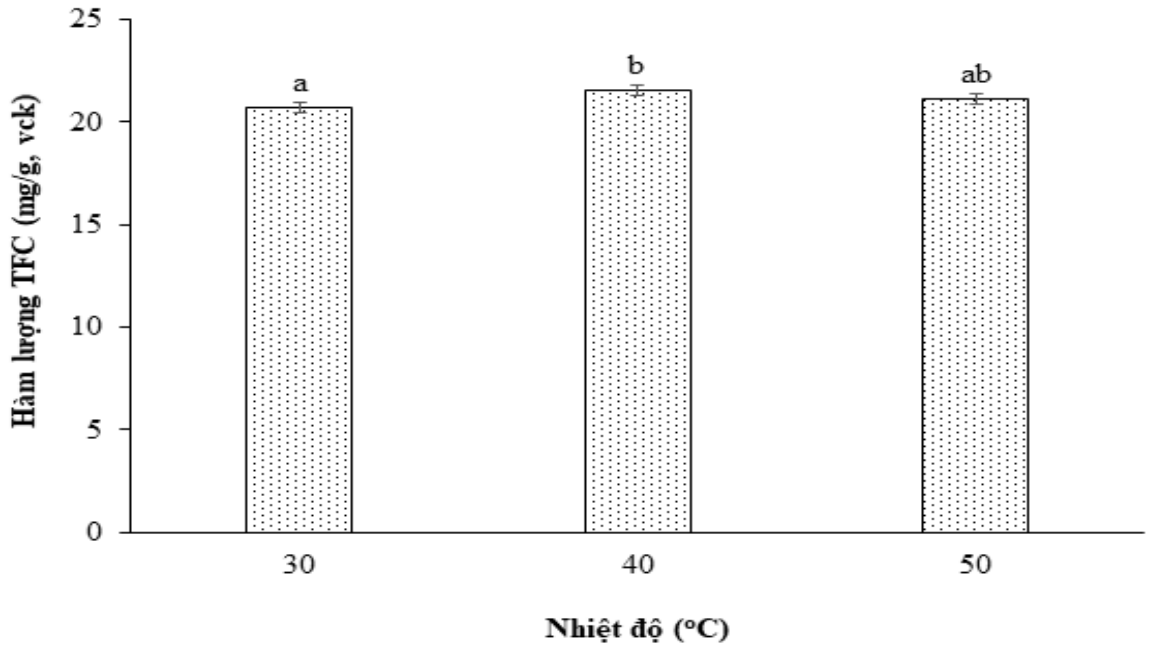
**Hình 3.** Ảnh hưởng của thời gian đến hàm lượng flavonoid tổng (TFC) toàn phần. Các giá trị trung bình có ký tự khác nhau thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức độ tin cậy 95%.



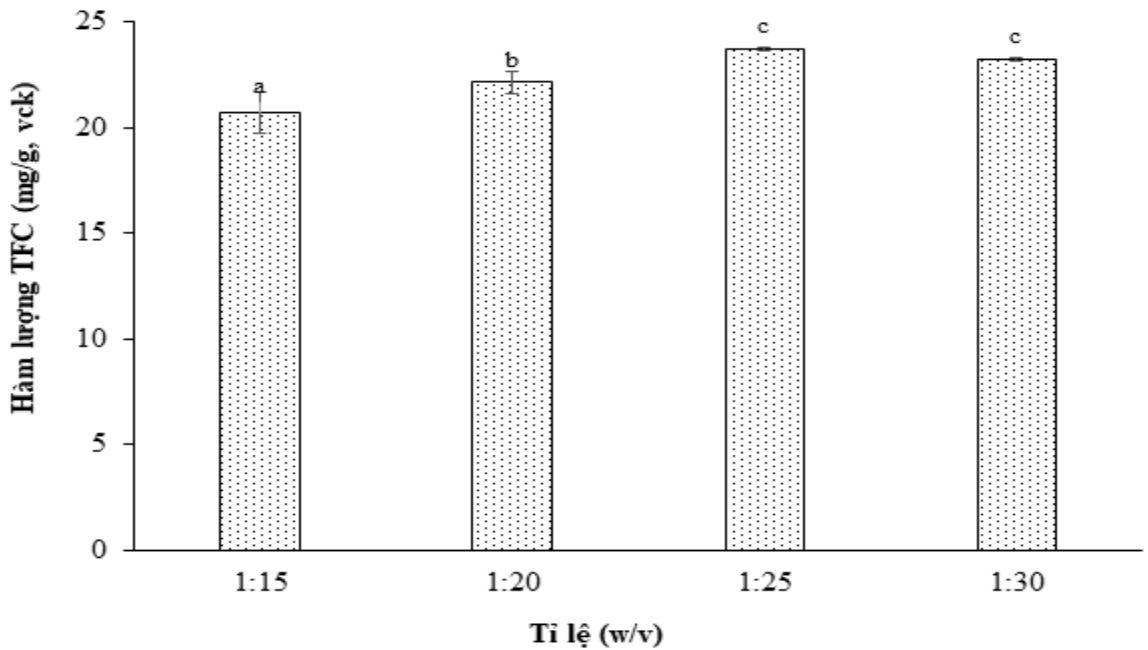
**Hình 4.** Ảnh hưởng của nồng độ enzyme Cellulase đến hàm lượng flavonoid tổng (TFC) toàn phần. Các giá trị trung bình có ký tự khác nhau thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức độ tin cậy 95%.

2 có thể sử dụng để mô tả các số liệu thực nghiệm với hệ số  $R^2$  cao (0,96). Các giá trị dự đoán tương đối phù hợp với các giá trị thực nghiệm thu được từ thiết kế RSM (Bảng 2). Ngoài ra, kết quả xử

lý ANOVA cho thấy mô hình hồi quy bậc 2 có ý nghĩa thống kê ( $P < 0,001$ ). Do đó, có thể kết luận mô hình thu được có thể sử dụng để mô tả ảnh hưởng của các điều kiện trích ly (nồng độ,



**Hình 5.** Ảnh hưởng của nhiệt độ đến hàm lượng flavonoid tổng (TFC) toàn phần. Các giá trị trung bình có ký tự khác nhau thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức độ tin cậy 95%.



**Hình 6.** Ảnh hưởng của tỉ lệ nguyên liệu/dung môi đến hàm lượng flavonoid tổng (TFC) toàn phần. Các giá trị trung bình có ký tự khác nhau thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức độ tin cậy 95%.

nhiệt độ và tỉ lệ nguyên liệu so với dung môi) đến hàm lượng flavonoids tổng trong dịch trích ly.

Ý nghĩa của các hệ số của mô hình đa thức bậc hai được xác định bằng cách sử dụng tỉ lệ t (t

ratio) và giá trị P (mức ý nghĩa) và được liệt kê trong Bảng 3. Giá trị tỉ lệ t lớn hơn và giá trị P nhỏ hơn cho thấy ảnh hưởng đáng kể hơn đến các biến tương ứng (Amin & Anggoro, 2004). Theo

**Bảng 2.** Hàm lượng flavonoid tổng (TFC) theo thực nghiệm và dự đoán từ mô hình thiết kế

Thí nghiệm <sup>a</sup>	Nồng độ (X <sub>1</sub> , µg/mL)	Nhiệt độ (X <sub>2</sub> , °C)	Tỉ lệ (X <sub>3</sub> , w/v)	Hàm lượng TFC (mg/g, vck)	
				Thực nghiệm	Dự đoán
1	75	40	30	22,89	23,06
2	75	40	20	22,19	22,58
3	50	50	30	21,18	20,85
4	75	40	25	23,67	23,54
5	75	40	25	23,74	23,54
6	75	50	25	21,98	22,73
7	50	40	25	22,01	22,19
8	50	50	20	21,03	21,03
9	100	50	20	20,60	20,17
10	75	40	25	23,86	23,54
11	100	30	30	21,65	21,51
12	75	30	25	22,47	22,27
13	75	40	25	23,72	23,54
14	100	40	25	22,27	22,65
15	75	40	25	23,70	23,54
16	100	50	30	21,48	21,48
17	50	30	20	20,22	20,08
18	75	40	25	23,68	23,54
19	50	30	30	19,45	19,74
20	100	30	20	20,16	20,35

<sup>a</sup>Các thí nghiệm được thực hiện ngẫu nhiên.

kết quả Bảng 3, có thể thấy rằng yếu tố có ảnh hưởng lớn nhất đến hàm lượng TFC là hệ số bậc 2 của X<sub>1</sub> (nồng độ) và X<sub>2</sub> (nhiệt độ), kế đến là hệ số bậc 2 của X<sub>3</sub> (tỉ lệ nguyên liệu so với dung môi) và hệ số tương tác của X<sub>1</sub> và X<sub>3</sub>. Khi xét hệ số bậc 1 của phương trình hồi quy thì các yếu tố khảo sát không ảnh hưởng đáng kể đến hàm lượng TFC. Không có sự tương tác có ý nghĩa thống kê giữa yếu tố nồng độ và nhiệt độ, và nhiệt độ và tỉ lệ ( $P > 0,05$ ).

Để xác định mức tối ưu của các yếu tố độc lập đến TFC tổng, các đồ thị bề mặt 3D và đường đồng mức 2D đã được thể hiện ở Hình 7 (a, b, c). Đồ thị bề mặt đáp ứng cho thấy mối quan hệ giữa các yếu tố độc lập và flavonoids, trong khi đường đồng mức giúp hình dung hình dạng của bề mặt đáp ứng. Do đó, dựa vào các đồ thị giúp ích trong việc đánh giá sự phù hợp của mô hình (Baş & Boyacı, 2007).

Hình 7a cho thấy ảnh hưởng của nồng độ và nhiệt độ đến hàm lượng TFC trong dịch trích ly. Nhìn chung, ở nhiệt độ cố định (40°C), khi tăng nồng độ enzyme xử lý thì hàm lượng flavonoids tăng và đạt cực đại ở nồng độ khoảng 78 µg/mL. Sau đó giảm dần khi tăng nồng độ enzyme xử lý. Ở nồng độ enzyme xử lý không đổi (70 µg/mL),

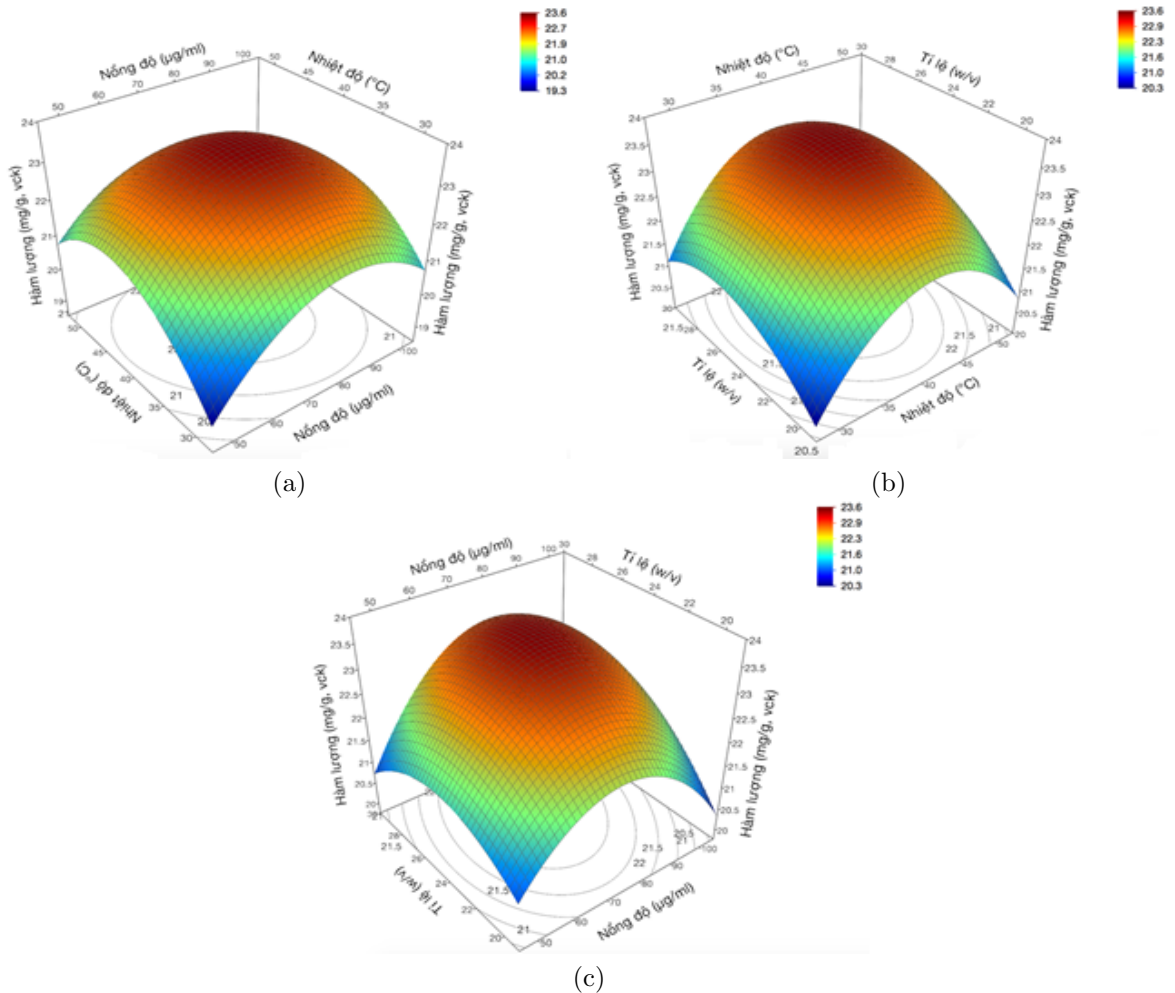
**Bảng 3.** Hệ số hồi quy và tỉ lệ t (t ratio) của phương trình tối ưu dự đoán hàm lượng flavonoid tổng (TFC)

Hệ số hồi quy <sup>a</sup>	t ratio	
a <sub>0</sub>	23,543	< 0,0001***
Bậc 1		
a <sub>1</sub>	0,228	0,1051
a <sub>2</sub>	0,231	0,1007
a <sub>3</sub>	0,245	0,0846
Bậc 2		
a <sub>11</sub>	- 1,126	0,0010**
a <sub>22</sub>	- 1,042	0,0016**
a <sub>33</sub>	- 0,723	0,0141*
Tương tác		
a <sub>12</sub>	- 0,284	0,075
a <sub>13</sub>	0,37	0,0257*
a <sub>23</sub>	0,04	0,7931
R <sup>2</sup>	0,96	

\*P < 0,05, \*\*P < 0,01, \*\*\*P < 0,001.

<sup>a</sup>a<sub>0</sub> là hằng số, a<sub>i</sub>, a<sub>ii</sub>, a<sub>ij</sub> lần lượt là các hệ số hồi quy bậc 1, 2 và tương tương trong phương trình bậc 2.

hàm lượng flavonoids tổng tăng khi nhiệt độ xử lý tăng và đạt cực đại ở nhiệt độ 41°C, sau đó giảm dần khi tiếp tục tăng nhiệt độ xử lý. Khuyh hướng này cũng tương tự như thí nghiệm sơ bộ



**Hình 7.** Bề mặt đáp ứng 3D và đường đồng mức 2D biểu diễn ảnh hưởng của các yếu tố (nồng độ,  $X_1$ ; nhiệt độ,  $X_2$  và tỉ lệ,  $X_3$ ) đến hàm lượng flavonoid tổng (TFC).

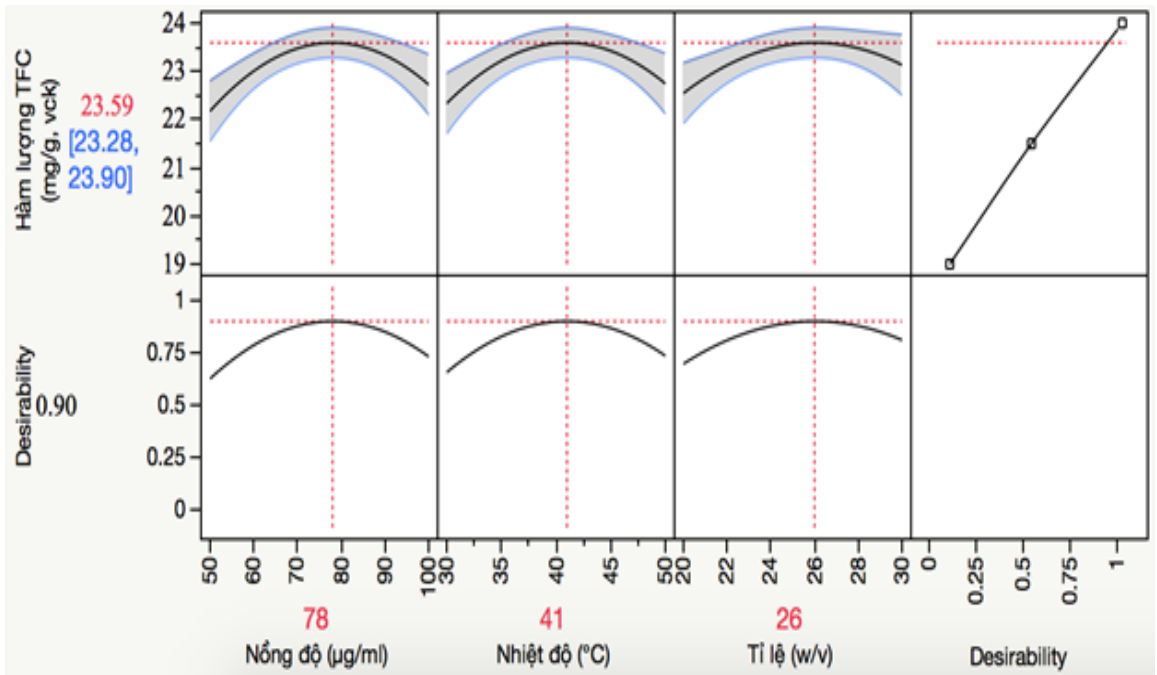
trước đó (Mục 3.3 và 3.4). Kết quả Bảng 3, cho thấy không có sự tương tác có ý nghĩa thống kê giữa nồng độ và nhiệt độ xử lý ( $P > 0,05$ ).

Kết quả Hình 7b cho thấy, hàm lượng TFC tăng lên khi nhiệt độ xử lý tăng lên và đạt cực đại ở 41°C khi tỉ lệ giữa nguyên liệu và dung môi cố định ở mức 1:25 (w/v). Ở nhiệt độ xử lý cố định nào đó, hàm lượng TFC đạt cực đại khi nhiệt độ xử lý là 41°C. Ngoài ra, kết quả xử lý thống kê cho thấy không có sự tương tác giữa nhiệt độ xử lý và tỉ lệ giữa nguyên liệu và dung môi ( $P > 0,05$ ).

Kết quả xử lý thống kê (Bảng 3) và Hình 7c cho thấy có sự tương tác giữa nồng độ enzyme xử lý và tỉ lệ giữa nguyên liệu và dung môi ( $P < 0,05$ ). Khuyh hướng ảnh hưởng của nồng độ và tỉ lệ cũng tương tự như Hình 7a và 7c.

Mục tiêu của nghiên cứu này nhằm xác định các điều kiện trích ly tối ưu, do đó phương pháp tối ưu hoá đã được thực hiện bằng phần mềm JMP. Kết quả mô hình tối ưu là hàm lượng flavonoids tổng thu được cao nhất trong dịch trích ly. Kết quả Hình 8 cho thấy giá trị lý thuyết tối ưu của hàm lượng flavonoids tổng (23,59 mg/g, vck) đạt được trong điều kiện trích ly tối ưu là nồng độ 78 µg/mL, nhiệt độ 41°C và tỉ lệ nguyên liệu so với dung môi là 1:26 (w/v).

Hơn nữa, việc so sánh giữa các giá trị đáp ứng được dự đoán và đo lường là một cách để thiết lập mức độ chính xác của mô hình mô tả quá trình trích ly được nghiên cứu. Do đó, một thí nghiệm (với ba lần lặp lại) đã được thực hiện ở các điều kiện tối ưu. Kết quả thống kê cho thấy không có khác biệt đáng kể giữa giá trị dự đoán



**Hình 8.** Mô hình dự đoán hàm lượng flavonoid tổng (TFC) là một hàm của nồng độ, nhiệt độ và tỉ lệ giữa nguyên liệu và dung môi.

và đo lường của hàm lượng TFC tổng. Hàm lượng flavonoids tổng của thí nghiệm thăm tra đạt  $24,04 \pm 0,05$  (mg/g, vck). Điều này có thể thấy hàm lượng TFC đo được phù hợp với các giá trị được dự đoán bằng mô hình hồi quy bậc 2. Như vậy, có thể sử dụng phương trình bậc hai để dự đoán hàm lượng flavonoids tổng trong các điều kiện trích ly tối ưu. Hay nói cách khác, phương pháp tối ưu hóa bề mặt đáp ứng đối với các điều kiện trích ly flavonoids từ lá diếp cá có giá trị thực tiễn.

#### 4. Kết Luận

Quá trình trích ly flavonoids từ lá diếp cá có hiệu quả khi sử dụng enzyme cellulase trong thời gian 90 phút. Nghiên cứu đã xây dựng được mô hình toán học mô tả ảnh hưởng của các yếu tố trích ly (nồng độ enzyme, nhiệt độ và tỉ lệ nguyên liệu/dung môi) đến hàm lượng flavonoids từ lá diếp cá. Các giá trị tối ưu để chiết từ lá diếp cá như sau: nồng độ enzyme 78 µg/mL, nhiệt độ 41°C và tỉ lệ nguyên liệu : enzyme là 1:26 g/mL. Tại điều kiện trích ly tối ưu, hàm lượng flavonoids thu được là 24,04 mg/g vật chất khô. Từ kết quả này có thể khẳng định tiềm năng sử dụng lá diếp cá như một nguồn chiết xuất flavonoids tự nhiên với hiệu suất cao để nâng cao khả năng

ứng dụng trong lĩnh vực thực phẩm chức năng và dược phẩm.

#### Lời Cam Đoan

Nhóm tác giả tuyên bố không có bất kỳ mâu thuẫn nào giữa các tác giả.

#### Tài Liệu Tham Khảo (References)

- Amin, N. A. S., & Anggoro, D. D. (2004). Optimization of direct conversion of methane to liquid fuels over cu loaded w/zsm-5 catalyst. *Fuel* 83(4-5), 487-494.
- Baş, D., & Boyacı, I. H. (2007). Modeling and optimization i: usability of response surface methodology. *Journal of Food Engineering* 78(3), 836-845.
- Chang, J. S., Chiang, L. C., Chen, C. C., Liu, L. T., Wang, K. C., & Lin, C. C. (2001). Antileukemic Activity of *Bidens pilosa* L. var. *Minor* (Blume) Sherff and *Houttuynia cordata* Thunb. *The American Journal of Chinese Medicine* 29(02), 303-312.
- Djihane, B., Wafa, N., Elkhamssa, S., Pedro, D. H. J., Maria, A. E., & Mohamed Mihoub, Z., (2017). Chemical constituents of *Helichrysum italicum* (Roth) G. Don essential oil and their antimicrobial activity against gram-positive and gram-negative bacteria, filamentous fungi and *Candida albicans*. *Saudi Pharmaceutical Journal* 25(5), 780-787.

- Du, S., Li, H., Cui, Y., Yang, L., Wu, J., Huang, H., Chen, Y., Huang, W., Zhang, R., Yang, J., Chen, D., Li, Y., Zhang, S., Zhou, J., Wei, Z., & Chow, N. T. (2012). Houttuynia cordata inhibits lipopolysaccharide-induced rapid pulmonary fibrosis by up-regulating IFN- $\gamma$  and inhibiting the TGF- $\beta$ 1/Smad pathway. *International Immunopharmacology* 13(3), 331-340.
- Hahn, T., Lang, S., Ulber, R., & Muffler, K. (2012). Novel procedures for the extraction of fucoidan from brown algae. *Process Biochemistry* 47(12), 1691-1698.
- Hoang, N. T. N., & Le, T. T. T. (2020). Study on the influence of cellulase enzyme and microwave on the extraction of Flucoidan from the seaweed *Ceratophyllum Submersum*. *Journal of Science and Technology-The University of Danang* 18(3), 5-9.
- Kumar, M., Prasad, S. K., Krishnamurthy, S., & Hemalatha, S. (2014). Antihyperglycemic activity of *Houttuynia cordata* Thunb. in streptozotocin-induced diabetic rats. *Advances in Pharmacological and Pharmaceutical Sciences* 2014, 809438.
- Li, A. N., Li, S., Zhang, Y. J., Xu, X. R., Chen, Y. M., & Li, H. B. (2014). Resources and biological activities of natural polyphenols. *Nutrients* 6(12), 6020-6047.
- Li, T., Liu, L., Wu, H., Chen, S., Zhu, Q., Gao, H., Yu, X., Wang, Y., Su, W., Yao, X., & Peng, T. (2017). Anti-herpes simplex virus type 1 activity of Houttuynoid A, a flavonoid from *Houttuynia cordata* Thunb. *Antiviral Research* 144, 273-280.
- Meng, L., Lozano, Y., Bombarda, I., Gaydou, E., & Li, B. (2006). Anthocyanin and flavonoid production from *Perilla frutescens*: Pilot plant scale processing including cross-flow microfiltration and reverse osmosis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54(12), 4297-4303.
- Miyata, M., Koyama, T., & Yazawa, K. (2010). Water extract of *Houttuynia cordata* Thunb. Leaves exerts anti-obesity effects by inhibiting fatty acid and glycerol absorption. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology* 56(2), 150-156.
- Myers, R. H., & Montgomery, D. C. (2002). Response surface methodology: Product and process optimization using designed experiments (2<sup>nd</sup> ed.). New York, USA: John Wiley & Sons.
- Puri, M., Sharma, D., & Barrow, C. J., (2012). Enzyme-assisted extraction of bioactives from plants. *Trends in Biotechnology* 30(1), 37-44.
- Sekita, Y., Murakami, K., Yumoto, H., Mizuguchi, H., Amoh, T., Ogino, S., Matsuo, T., Miyake, Y., Fukui, H., & Kashiwada, Y. (2016). Anti-bacterial and anti-inflammatory effects of ethanol extract from *Houttuynia cordata* poultice. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry* 80(6), 1205-1213.
- Truong, D. H., Le Q. P. T., Tran C. T. H., Pham, N. T. K., & Dong D. T. A. (2015). Optimization of extraction and extraction of crude saponins from *Codonopsis Javanica* (Blume) Hook. f. by alpha-amylase enzyme. *Science and Technology Information Special* 4(99), 1-3.
- Vergara-Barberán, M., Lerma-García, M. J., Herrero-Martínez, J. M., & Simó-Alfonso, E. F. (2015). Use of an enzyme-assisted method to improve protein extraction from olive leaves. *Food Chemistry* 169, 28-33.
- Verma, R. S., Joshi, N., Padalia, R. C., Singh, V. R., Goswami, P., Kumar, A., Iqbal, H., Verma, R. K., Chanda, D., Chauhan, A., & Saikia, D. (2017). Chemical composition and allelopathic, antibacterial, antifungal, and antiacetylcholinesterase activity of fish-mint (*Houttuynia cordata* Thunb.) from India. *Chemistry & Biodiversity* 14(10), e1700189.
- Wang, J. Y., Liu, Z. P., Liu, L., & Liu, C. (2008). Effects of NaCl on the growth and alkaloid content of *Catharanthus roseus* seedlings. *The Journal of Applied Ecology* 19(10), 2143-2148.



## Evaluation of bacteriocin-producing lactic acid bacteria strains isolated from “nem chua Thu Duc”

Chi N. Vo, Phuong T. Nguyen\*, Tuyet T. A. Nguyen, Khoa A. Dinh, Tuyen B. Phan, Hang D. Hoang, Thuy T. Le, & Tuyen C. Kha

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

### ARTICLE INFO

#### Research Paper

Received: January 27, 2021

Revised: April 10, 2021

Accepted: April 16, 2021

#### Keywords

Bacteriocin  
lactic acid bacteria (LAB)  
Nem chua Thu Duc  
*Pediococcus pentosaceus*  
*Weissella paramesenteroides*

#### \*Corresponding author

Nguyen Thi Phuong  
Email: nguyenthiphuong@hcmuaf.edu.vn

### ABSTRACT

This study aimed to select some lactic acid bacteria (LAB) strains to produce bacteriocin isolated from two different local brand names of nem chua Thu Duc, a Vietnamese traditional fermented meat product. Eight different LAB strains were isolated from products. However, only *Pediococcus pentosaceus* isolated from 72-h fermented “Ba Chin” products and *Weissella paramesenteroides* isolated from 120-h fermented “Diem” products were selectively screened for their bacteriocin production. The antimicrobial activity was detected by the agar diffusion method against *Escherichia coli* ATCC 25922, *Salmonella enterica* serovar Typhimurium ATCC 13076, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, and *Bacillus cereus* ATCC 25924 used as target strains. Bacteriocin of *Pediococcus pentosaceus* strain showed a high antibacterial ability with a sterile ring diameter that produces an average of 12.20 - 16.07 mm. Bacteriocin of *Weissella paramesenteroides* strain only showed inhibitory activity on the growth of indicator microorganisms with an average inhibitory ring diameter of 9.75 - 15.27 mm. In conclusion, it seems like both bacteriocin-producing *P. pentosaceus* and *W. paramesenteroides* give potential applications as a starter culture, bio-preservation and bio-safety control in fermented meat as well as other kinds of fermented foods.

**Cited as:** Vo, C. N., Nguyen, P. T., Nguyen, T. T. A., Dinh, K. A., Phan, T. B., Hoang, H. D., Le, T. T., & Kha, T. C. (2021). Evaluation of bacteriocin-producing lactic acid bacteria strains isolated from “nem chua Thu Duc”. *The Journal of Agriculture and Development* 20(2), 62-68.

## Khảo sát khả năng sinh bacteriocin của vi khuẩn lactic phân lập trên nem chua Thủ Đức

Võ Ngọc Chi, Nguyễn Thị Phương\*, Nguyễn Thị Ánh Tuyết, Đinh Anh Khoa, Phan Bích Tuyền, Hoàng Diễm Hằng, Lê Thị Thủy & Kha Chấn Tuyền

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

### THÔNG TIN BÀI BÁO

#### Bài báo khoa học

Ngày nhận: 27/01/2021

Ngày chỉnh sửa: 10/04/2021

Ngày chấp nhận: 16/04/2021

#### Từ khóa

Bacteriocin

Nem chua Thủ Đức

*Pediococcus pentosaceus*

Vi khuẩn lactic

*Weissella paramesenteroides*

#### \*Tác giả liên hệ

Nguyễn Thị Phương

Email: nguyenthiphuong@hcmuaf.edu.vn

### TÓM TẮT

Mục đích của nghiên cứu là tuyển chọn được các chủng vi khuẩn lactic có khả năng sinh bacteriocin được phân lập trên nem chua tại Thủ Đức. Kết quả cho thấy có 2 trong số 8 chủng vi khuẩn lactic được phân lập, có khả năng sinh bacteriocin là *Pediococcus pentosaceus* trên nem chua Bà Chín lên men ngày thứ 3 và *Weissella paramesenteroides* trên nem chua Diễm lên men ngày thứ 5. Hoạt tính kháng khuẩn của chủng *Pediococcus pentosaceus* và chủng *Weissella paramesenteroides* được phát hiện bằng phương pháp khuếch tán thạch đều cho thấy hoạt tính đối kháng với cả 4 chủng vi sinh vật chỉ thị là *Escherichia coli* ATCC 25922, *Salmonella enterica* serova Typhimurium ATCC 13076, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 và *Bacillus cereus* ATCC 25924. Bacteriocin của chủng *Pediococcus pentosaceus* có khả năng kháng khuẩn tốt với đường kính vòng vô khuẩn tạo ra trung bình từ 12,20 - 16,07 mm. Đối với bacteriocin của chủng *Weissella paramesenteroides* chỉ cho thấy hoạt tính ức chế sự phát triển của các chủng vi sinh vật chỉ thị với đường kính vòng ức chế trung bình từ 9,75 - 15,27 mm. Tóm lại có thể ứng dụng 2 chủng vi khuẩn lactic này trong việc tạo ra các chế phẩm bacteriocin sinh học thay thế các chất bảo quản hóa học kéo dài thời gian sử dụng sản phẩm thực phẩm.

## 1. Đặt Vấn Đề

Nem chua là một sản phẩm thịt lên men truyền thống rất được ưa chuộng tại Việt Nam, đây là một ứng dụng điển hình của lên men acid lactic trong thực phẩm. Vi khuẩn lactic là tác nhân quan trọng để lên men thịt, chúng có thể ức chế sự phát triển của vi sinh vật khác bao gồm vi khuẩn gây độc và hư hỏng thực phẩm vì chúng sản sinh ra nhiều loại chất kháng khuẩn chẳng hạn như các acid hữu cơ, hydro peroxide, diacetyl và bacteriocin (Pilasombut & ctv., 2015). Bacteriocin của vi khuẩn lactic được nghiên cứu nhiều nhất do tính ưu việt của chúng trong bảo quản thực phẩm cũng như tính an toàn với người sử dụng (Woraprayote & ctv., 2016). Bacteriocins thường không làm gây ra những thay đổi trong sản phẩm thực phẩm và có thể được sử dụng

như một phụ gia bổ sung trong chế biến thực phẩm, giảm cường độ của các phương pháp xử lý truyền thống, chẳng hạn như gia nhiệt. Hiện nay, xu hướng về tiêu dùng các loại sản phẩm thực phẩm với hương vị tươi ngon và không sử dụng hóa chất bảo quản ngày càng tăng cao. Vì vậy, các chất bảo quản có nguồn gốc tự nhiên và có hoạt tính kháng khuẩn sinh học như LAB bacteriocin được tìm kiếm để ứng dụng vào ngành công nghiệp thực phẩm thay thế các chất bảo quản hóa học bảo vệ sức khỏe người tiêu dùng thực phẩm.

## 2. Vật Liệu và Phương Pháp Nghiên Cứu

### 2.1. Vật liệu

Nem Bà Chín được thu thập từ cơ sở nem Bà Chín ở địa chỉ: số 58 đường Trần Hưng Đạo,

Phường Hiệp Phú, Quận 9, Thành phố Hồ Chí Minh và Nem Diêm được thu thập từ cơ sở nem Diêm ở địa chỉ: số 41 đường Lê Văn Ninh, Phường Linh Tây, Quận Thủ Đức, Thành phố Hồ Chí Minh.

Chủng vi sinh vật chỉ thị bao gồm: *Escherichia coli* ATCC 25922, *Salmonella enterica* serova Typhimurium ATCC 13076, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Bacillus cereus* ATCC 25924. Bốn chủng vi sinh vật chỉ thị được cung cấp bởi Viện Công nghệ Thực phẩm, Trường Đại học Công Nghệ TP.HCM.

Môi trường: MRS broth, MRS agar, TSB, TSA (Himedia, Ấn Độ).

Hóa chất: NaCl 0,85%, glycerol, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 3%, cồn 95%, CaCO<sub>3</sub>, NaOH, Crystal Violet, Safranin, Lugol.

Thuốc thử: Đĩa giấy thử phản ứng oxydase.

## 2.2. Phương pháp nghiên cứu

Phân lập vi khuẩn: 225 mL dung dịch NaCl 0,85% vô trùng được cho vào bao PE vô trùng có chứa 25 g nem chua. Sau đó, đặt túi mẫu vào trong máy đập mẫu và đồng nhất trong vòng 1 phút để tạo thành dung dịch huyền phù mẹ có nồng độ 10<sup>-1</sup>. Dịch huyền phù được xác định pH, sau đó tiếp tục được pha loãng đến nồng độ 10<sup>-8</sup> (Mathara & ctv., 2004). Tiến hành cấy đĩa ở các nồng độ 10<sup>-5</sup>, 10<sup>-6</sup>, 10<sup>-7</sup> và 10<sup>-8</sup>. Dùng micropipette hút 100 µL dung dịch pha loãng cho lên bề mặt đĩa thạch MRS. Dùng que cấy trang đã tiệt trùng dần đều dịch cho đến khi bề mặt thạch khô. Đĩa thạch được đem đi ủ kỵ khí trong 48 giờ ở 37°C.

Tuyển chọn các chủng vi khuẩn lactic bằng cách tiến hành xác định hình thái khuẩn lạc, nhuộm Gram, xác định đặc điểm tế bào, đồng thời khảo sát khả năng di động và kiểm tra các phản ứng sinh hóa như catalase, oxydase, khả năng sinh acid lactic của các chủng vi khuẩn đã phân lập được.

Gia tăng sinh khối và thu dịch ly tâm sinh khối: Dùng que cấy tiệt trùng lấy 1 vòng que cấy vi khuẩn trong ống gốc eppendorf cho vào ống ly tâm vô trùng có chứa 10 mL MRS. Các ống ly tâm này được ủ ở 37°C trong 16 - 18 giờ (Hoa & ctv., 2012). Các ống ly tâm sẽ được đem ly tâm ở 8000 vòng trong 15 phút ở 4°C thu dịch nổi. Nhằm tránh ảnh hưởng đến kết quả thí nghiệm bởi sự ức chế gây ra bởi các acid hữu cơ có mặt

trong môi trường, sau khi ly tâm xong dịch nổi được điều chỉnh pH bằng NaOH 1 N để đạt pH 6,8 - 7,0 (Nguyen & ctv., 2017). Sau đó lấy phần dịch nổi bơm qua màng lọc Minisart (d = 0,2 µM) để tách cặn khuẩn còn sót lại. Phần dịch lỏng thu được sẽ được sử dụng cho các thí nghiệm tiếp theo.

Khảo sát khả năng sinh bacteriocin bằng phương pháp khuếch tán đĩa giấy theo Kirby Bauer. Tiến hành tăng sinh 4 chủng vi sinh vật chỉ thị bao gồm *Escherichia coli*, *Salmonella* Typhimurium, *Bacillus cereus* và *Staphylococcus aureus* trong ống nghiệm chứa 10 mL môi trường TSB nuôi ở 30°C trong 8 - 10 giờ. Sau đó 100 µL mỗi dung dịch được trải trên đĩa thạch TSA. Đặt đĩa giấy đã được vô trùng có kích thước d = 7 mm (4 - 6 đĩa giấy) trên đĩa môi trường thạch, dùng micropipette hút 20 µL dịch ly tâm của LAB ở trên cho vào từng đĩa giấy. Các đĩa được giữ trong tủ lạnh ở 4°C trong 4 giờ và sau đó ủ ở 30°C trong 24 giờ.

Định danh các dòng vi khuẩn lactic có khả năng sinh bacteriocin với phương pháp thực hiện như sau: Tách chiết DNA và thực hiện PCR với mỗi đặc hiệu vùng 16s. Sau đó giải trình tự trực tiếp rồi so sánh trình tự với ngân hàng dữ liệu NCBI bằng công cụ BLAST SEARCH từ đó xác định mẫu vi khuẩn thuộc loài nào.

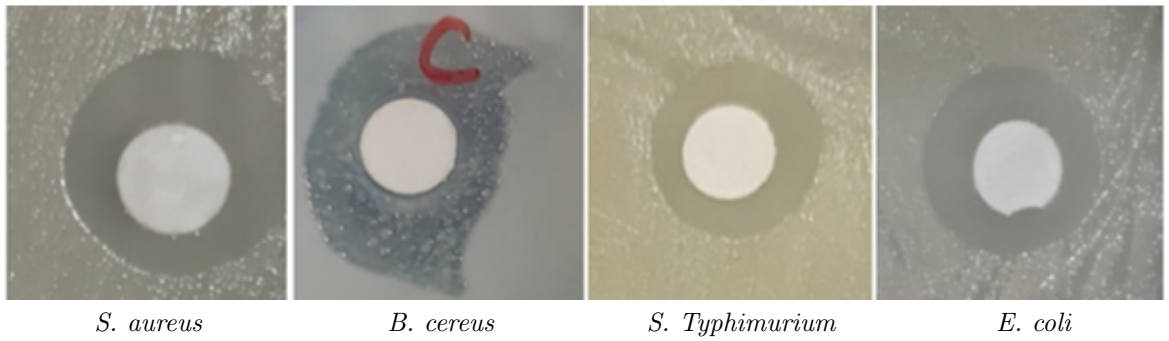
## 2.3. Phương pháp xử lý số liệu thống kê

Số liệu được xử lý bằng phần mềm Microsoft Excel 2013 và Statgraphics với độ tin cậy là 95%.

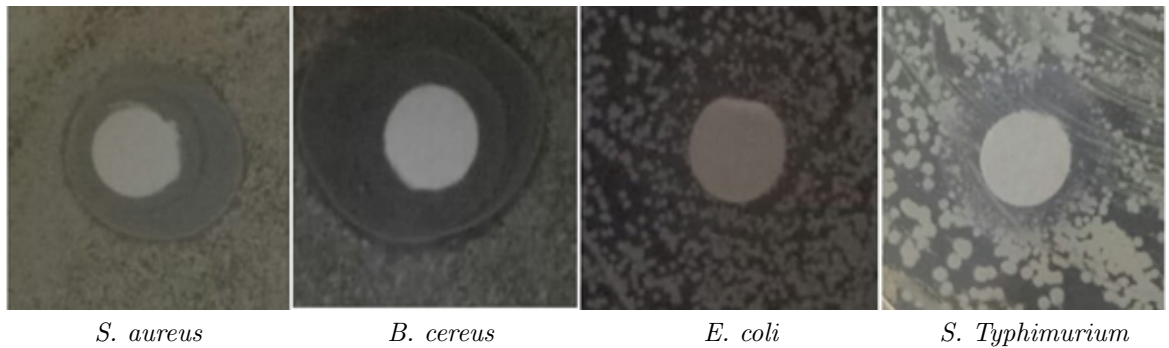
## 3. Kết Quả và Thảo Luận

### 3.1. Hoạt tính kháng khuẩn của bacteriocin từ các dòng vi khuẩn lactic phân lập được

Nguyen & ctv., (2013) đã phân lập được các chủng LAB từ nem chua bao gồm: *Lactobacillus pentosus*, *Lb. plantarum*, *Lb. brevis*, *Lb. paracasei*, *Lb. fermentum*, *Lb. acidipiscis*, *Lb. farcininis*, *Lb. rossiae*, *Lb. fuchuensis*, *Lb. namurensis*, *Lc. lactis*, *Leuconostoc citreum*, *Leuconostoc fallax*, *Pediococcus acidipiscis*, *Pediococcus pentosaceus*, *Pediococcus stilesii*, *Weissella cibaria* và *Weissella paramesenteroides*. LAB là tác nhân quan trọng để lên men thịt, chúng có thể ức chế sự phát triển của vi sinh vật khác bao gồm vi khuẩn gây độc và hư hỏng thực phẩm vì chúng sản sinh ra nhiều loại chất kháng khuẩn chẳng



**Hình 1.** Hoạt tính kháng khuẩn của chủng vi khuẩn lactic LAB1.



**Hình 2.** Hoạt tính ức chế của chủng vi khuẩn lactic LAB2 trên môi trường TSA.

**Bảng 1.** Đường kính vòng kháng khuẩn của LAB1 trên môi trường TSA

Vi khuẩn	Đường kính vòng kháng khuẩn của chủng vi khuẩn lactic LAB1 (d <sub>kk</sub> ) mm			
	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Bacillus cereus</i>	<i>Salmonella Typhimurium</i>	<i>Escherichia coli</i>
Đường kính	13,53 <sup>a</sup> ± 0,21	16,07 <sup>b</sup> ± 0,21	12,80 <sup>ac</sup> ± 0,20	12,20 <sup>c</sup> ± 0,70

<sup>a,b,c</sup>Các ký tự khác nhau thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê với độ tin cậy 95%.

**Bảng 2.** Đường kính vòng ức chế LAB2 trên môi trường TSA

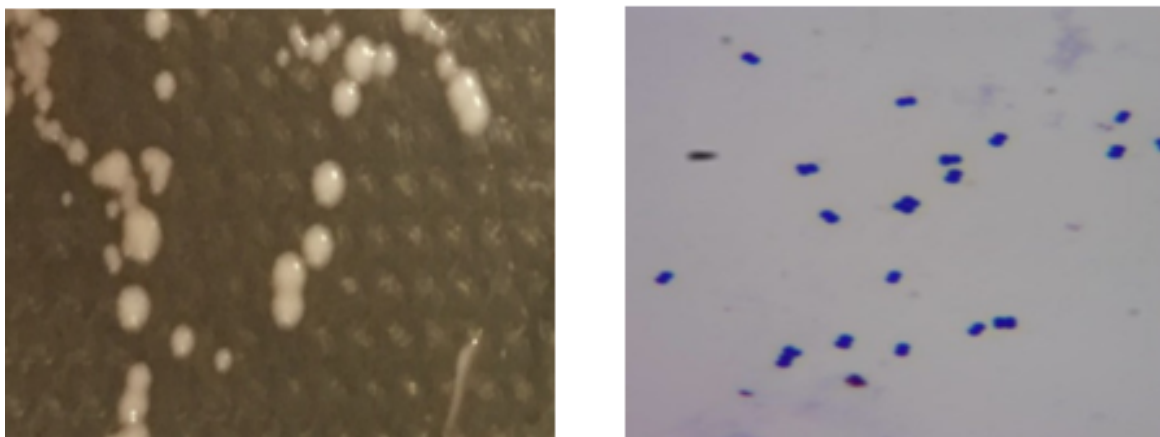
Vi khuẩn	Đường kính vòng kháng khuẩn của chủng vi khuẩn LAB2 (d <sub>kk</sub> ) mm			
	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Bacillus cereus</i>	<i>Salmonella Typhimurium</i>	<i>Escherichia coli</i>
Đường kính	11,90 <sup>a</sup> ± 0,36	15,27 <sup>b</sup> ± 0,35	9,75 <sup>c</sup> ± 0,36	11,78 <sup>a</sup> ± 0,27

<sup>a,b,c</sup>Các ký tự khác nhau thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê với độ tin cậy 95%.

hạn như các acid hữu cơ, hydro peroxide, diacetyl và bacteriocin (Pilasombut & ctv., 2015).

Kết quả nghiên cứu trên 8 chủng vi khuẩn lactic phân lập được từ 2 loại nem chua Thủ Đức đối với 4 chủng vi sinh vật chỉ thị cho thấy có 2 chủng vi khuẩn lactic có khả năng sinh bacteriocin là chủng LAB1 (được phân lập từ nem Bà Chín) và LAB2 (được phân lập từ nem Diễm) (Hình 1 và 2). Chủng vi khuẩn LAB1 được phân lập từ nem Bà Chín kháng cả 4 chủng vi sinh vật gây bệnh

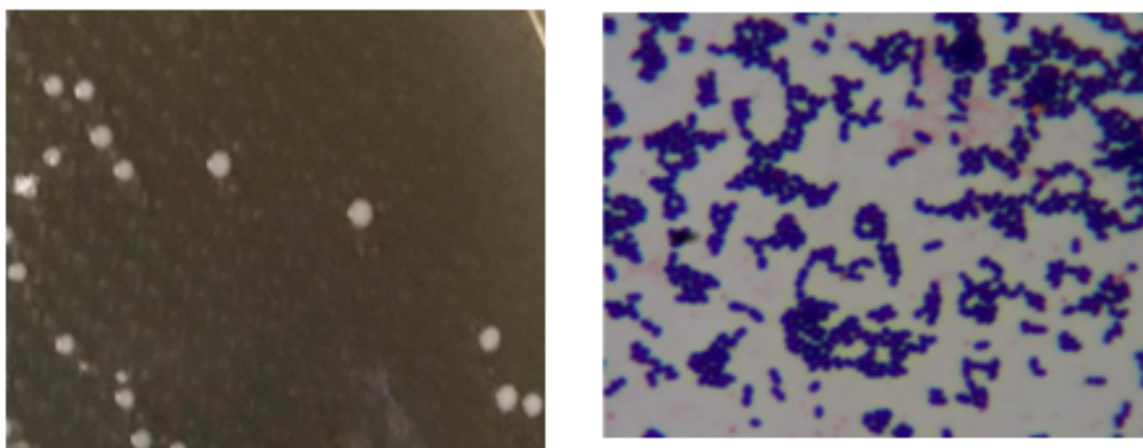
chỉ thị và có đường kính vòng kháng khuẩn trung bình từ 12,20 - 16,07 mm (Bảng 1). Trong khi đó, chủng vi khuẩn LAB2 được phân lập từ nem Diễm có hoạt tính ức chế đối với 4 chủng vi sinh vật chỉ thị với đường kính vòng ức chế trung bình từ 9,75 - 15,27 mm (Bảng 2). Trong nghiên cứu này cả 2 chủng vi khuẩn LAB1 và LAB2 đều cho thấy hoạt tính đối kháng với cả vi khuẩn Gram âm và vi khuẩn Gram dương. Nhìn chung đường kính vòng tròn kháng khuẩn hay ức chế của bacteriocin được sản sinh bởi vi khuẩn lactic đối với



Hình 3. Dạng khuẩn lạc và đặc điểm tế bào của mẫu LAB1.

TRÌNH TỰ CHI TIẾT MÃU THỦ
>II9240-F
CCTGGCTCAGGATGAACGCTGGCGGCGTGCCTAATACATGCAAGTCGAACGAACTT
CCGTTAATTGATTATGACGTACTTGTACTGATTGAGATTTAACACGAAGTGAGTGG
CGAACGGGTGAGTAACACGCTGGGTAACCTGCCCAGAAGTAGGGGATAACACCTGG
AAACAGATGCTAATACCGTATAACAGAGAAAACCGCATGGTTTTCTTTAAAAGATG
GCTCTGCTATCACTTCTGGATGGACCCGCGGCGTATTAGCTAGTTGGTGAGGTA
GGCTCACCAAGGCAGTGATACGTAGCCGACCTGAGAGGGTAATCGGCCACATTGG
GA CTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCACAA
TGGACGCAAGTCTGATGGAGCAACGCCGCGTGAGTGAAGAAGGGTTTCGGCTCGT
AAAGCTCTGTTGTTAAAGAAGAACGTGGGTAAGAGTAACTGTTTACCCAGTGACGGT
ATTTAACAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGC

Hình 4. Trình tự gen chi tiết của mẫu LAB1.



Hình 5. Dạng khuẩn lạc và đặc điểm tế bào của mẫu LAB2.

vi khuẩn Gram dương là lớn hơn so với vi khuẩn Gram âm. Vì vi khuẩn Gram dương chỉ có một lớp lipid, chúng thường nhạy cảm hơn so với vi

vi khuẩn Gram âm. Sự khác biệt này là vì vi khuẩn Gram âm có màng ngoài và không gian chu chất trong khi ở vi khuẩn Gram dương thì không tìm



Hình 6. Trình tự gen chi tiết của mẫu LAB2.

thấy (Ceylan & Fung, 2007).

**3.2. Kết quả định danh các dòng vi khuẩn lactic sinh bacteriocin**

Kết quả giải trình tự gen cho thấy mẫu LAB1 thuộc loài *Pediococcus pentosaceus* với mức tương đồng 100% (Hình 4). Với đặc điểm khuẩn lạc là khuẩn lạc tròn, bóng, vụn cao, màu trắng sữa, rìa nguyên, đường kính khoảng 2 - 3 mm (Hình 3). Và đặc điểm tế bào như sau: Tế bào có dạng hình cầu đôi, cầu tứ, tế bào vi khuẩn Gram dương. Theo Bajpai & ctv. (2016), dịch ly tâm sinh khối của *Pediococcus pentosaceus* thể hiện tác dụng kháng khuẩn đáng kể ( $P < 0,05$ ) với đường kính của vùng ức chế (16,5 - 20,4 mm) chống lại các vi khuẩn gây bệnh trong thực phẩm.

Kết quả giải trình tự gen cho thấy mẫu LAB2 thuộc loài *Weissella paramesenteroides* với mức tương đồng 100% (Hình 6). Với đặc điểm khuẩn lạc là khuẩn lạc tròn, màu trắng sữa, rìa nguyên, vụn nhẹ, đường kính từ 1 - 2 mm (Hình 5). Và đặc điểm tế bào như sau: Tế bào có dạng cầu trực, kết chuỗi, tế bào vi khuẩn Gram dương. Papagianni & Papamichael (2011) đã chỉ ra rằng *Weissella paramesenteroides* tạo ra một bacteriocin có tên là weissellin A, có khả năng chịu nhiệt lên đến 121°C trong 1 giờ, và duy trì hoạt động của nó trong phạm vi pH từ 2 - 10 hoạt động chống lại đa số các vi khuẩn Gram dương. Các đặc tính của

weissellin A làm cho nó trở thành một tác nhân đầy hứa hẹn trong việc bảo quản thực phẩm.

**4. Kết Luận**

Trong nghiên cứu này, 8 chủng vi khuẩn lactic trên hai loại nem chua tại Thủ Đức là nem Bà Chín và nem Diễm đã được phân lập. Từ kết quả khảo sát khả năng kháng khuẩn của 8 chủng vi khuẩn lactic này trên 4 chủng vi sinh vật chỉ thị bao gồm *Escherichia coli*, *Salmonella Typhimurium*, *Bacillus cereus* và *Staphylococcus aureus* cho thấy có 2 chủng LAB có khả năng sinh bacteriocin đó là *Pediococcus pentosaceus* và *Weissella paramesenteroides*. Với khả năng sinh bacteriocin, 2 chủng này có thể đem lại nhiều tiềm năng mang tính ứng dụng trong việc tạo ra chất bảo quản thực phẩm tự nhiên.

**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.

**Lời Cảm Ơn**

Xin chân thành cảm ơn Trường Đại học Nông Lâm TP.HCM đã tài trợ cho chúng tôi thực hiện đề tài này (Mã số đề tài: CS-SV19-CNTP-04).

**Tài Liệu Tham Khảo (References)**

- Bajpai, V. K., Han, J. H., Rather, I. A., Majumder, R., Nam, G. J., ChanSeo, P., Lim, J., Paek, W. K., & Park, Y. H. (2016). Characterization of lactic acid bacterium *Pediococcus pentosaceus* 4I1 from freshwater fish *Zacco koreanus* and its antibacterial mode of action. *PeerJ PrePrints* 4, e2121v1.
- Ceylan, D. C., & Fung, Y. C., 2007. Antimicrobial activity of spices 1. *Journal of Rapid Methods and Automation in Microbiology* 12(1), 1-55.
- Hoa, T. T. M., & Nguyen, A. L. (2012). Classify of bacteria lactococcus PD14 synthesized bacteriocin. *Vietnam Journal of Science and Technology* 50(5), 635.
- Mathara, J. M., Schillinger, U., Kutima, P. M., Mbugua, S. K., & Holzapfel, W. H. (2004). Isolation, identification and characterisation of the dominant microorganisms of kule naoto: the Maasai traditional fermented milk in Kenya. *International Journal of Food Microbiology* 94(3), 269-278.
- Nguyen, D. T. L., Hoang, V. T., Nguyen, T. T. T., & Nguyen, A. H. (2016). Isolation and selection of lactic acid bacteria from Vietnamese fermented pork meat product with antimicrobial activity and characterization of bacteriocin. *Vietnam Journal of Agricultural Science* 14(7), 1089-1099.
- Nguyen, D. T. L., Van Hoorde, K., Cnockaert, M., De Brandt, E., Aerts, M., & Vandamme, P. (2013). A description of the lactic acid bacteria microbiota associated with the production of traditional fermented vegetables in Vietnam. *International Journal of Food Microbiology* 163(1), 19-27.
- Papagianni, M., & Papamichael, E. M. (2011). Purification, amino acid sequence and characterization of the class IIa bacteriocin weissellin A, produced by *Weissella paramesenteroides* DX. *Bioresource Technology* 102(12), 6730-6734.
- Pilasombut, K., Rumjuankiat, K., Ngamyeesoon, N., & Le, D. N. D. (2015). In vitro characterization of bacteriocin produced by lactic acid bacteria isolated from Nem Chua, a traditional Vietnamese Fermented Pork. *Korean Journal for Food Science of Animal Resources* 35(4), 473-478.
- Woraprayote, W., Malila, Y., Sorapukdee, S., Swetwathana, A., Benjakul, S., & Visessanguan, W. (2016). Bacteriocins from lactic acid bacteria and their applications in meat and meat products. *Meat Science* 120, 118-132.