

MỤC LỤC

Chất thải chăn nuôi và than hữu cơ trong công nghiệp: một góc nhìn từ phương pháp xử lý ..	3
1. Đặt vấn đề	4
2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu	4
3. Kết quả và thảo luận	5
4. Kết luận và đề nghị	9
Kết quả khảo nghiệm giống lúa nếp cẩm DH8 tại các tỉnh phía Bắc.....	11
1. Đặt vấn đề.....	12
2. Vật liệu và phương pháp	12
3. Kết quả nghiên cứu và thảo luận	13
4. Kết luận.....	19
Nghiên cứu đặc điểm thực vật học của cây thuốc Hoàng Cầm (<i>Scutellaria baicalensis</i> Georgi) trồng tại Bắc Hà - Lào Cai	21
1. Đặt vấn đề	22
2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu	22
3. Kết quả nghiên cứu và thảo luận.....	23
4. Kết luận.....	29
Phát triển kỹ thuật PCR chẩn đoán virus khảm lá sắn Sri Lanka (<i>Begomovirus stanleyi</i>)	31
1. Đặt vấn đề	32
2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu	32
3. Kết quả và thảo luận	34
4. Kết luận.....	41
Đánh giá ảnh hưởng của thuốc trừ sâu nhện đến quần thể nhện bắt mồi (<i>Neoseiulus Longispinosus</i>) thu trên rau ăn quả tại vùng đồng bằng sông Hồng.....	43
1. Đặt vấn đề	44
2. Phương pháp nghiên cứu	44
3. Kết quả và thảo luận	45
4. Kết luận.....	50
Lựa chọn giống và thời vụ trồng cải bắp an toàn trái vụ cho xã vùng cao tỉnh Hòa Bình	52
1. Đặt vấn đề.....	53
2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu	53
3. Kết quả và thảo luận	55
4. Kết luận.....	62

Ảnh hưởng của selenium đến sinh trưởng và sinh lý cà phê với trong điều kiện hạn.....	64
1. Đặt vấn đề	65
2. Phương pháp nghiên cứu	65
3. Kết quả và thảo luận	66
4. Kết luận.....	71
Nghiên cứu nhân nhanh <i>In Vitro</i> cây Nát moong (<i>INULA CAPP</i>A (BUCH-HAM.EX D.DON) DC) là cây nguyên liệu cho rượu men lá Bằng Phúc, Bắc Kạn.....	74
1. Đặt vấn đề	75
2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu	75
3. Kết quả và thảo luận	76
4. Kết luận.....	85
Ảnh hưởng của ẩm độ đến sự gia tăng quần thể của nhện bắt mồi <i>Amblyseius Largoensis</i> (Muma) (ACARI: PHYTOSEIIDAE).....	86
1. Mở đầu	87
2. Phương pháp nghiên cứu.....	87
3. Kết quả và thảo luận	89
4. Kết luận	94
Nghiên cứu nhân nhanh <i>In Vitro</i> cây Sâm Cau.....	96
1. Đặt vấn đề	97
2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu	97
3. Kết quả và thảo luận	98
4. Kết luận.....	99
Kết quả chọn tạo dòng CMS mới phục vụ phát triển lúa lai ba dòng ở Việt Nam.....	100
1. Đặt vấn đề	101
2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu	102
3. Kết quả và thảo luận	104
4. Kết luận.....	110
Nghiên cứu giảm phát thải khí mê-tan (CH₄) trên lúa thông qua quản lý nước	112
1. Đặt vấn đề	113
2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu	113
3. Kết quả và thảo luận	114
4. Kết luận.....	119
Đánh giá hiệu lực của một số thuốc trừ sâu đối với sâu keo da láng <i>Spodoptera Exigua</i> (Hübner) hại hành tại Hà Nội năm 2024	121
Impact of soil textures on n fate and maize growth under different mfw rates.....	122

CHẤT THẢI CHĂN NUÔI VÀ THAN HỮU CƠ TRONG CÔNG NGHIỆP: MỘT GÓC NHÌN TỪ PHƯƠNG PHÁP XỬ LÝ

Tác giả: Nguyễn Văn Thao^{1*}; Phạm Văn Cường²; Nguyễn Thu Hà¹

^{1*}: Nghiên cứu sinh khoa Nông học – Học viện Nông nghiệp Việt Nam

¹: Khoa Tài nguyên và Môi trường – Học viện Nông nghiệp Việt Nam

²: Khoa Nông học – Học viện Nông nghiệp Việt Nam

SUMMARY

An experiment on industrial biochar was combined with industrial livestock waste (Cow-Chicken-Pig) and treated under two different conditions (aerobic - anaerobic). In the first month, aerobic composting helped to rapidly increase the density of cellulose-decomposing microorganisms and created a high compost pile temperature ($>50^{\circ}\text{C}$), lasting continuously (6-10 days). It contributed to lowering humidity and rapidly decomposing organic matter. At 3 monitoring times, aerobic composting reduced the content of organic matter, total nitrogen, effective phosphorus and potassium. After 3 months of composting, the product obtained from Chicken manure contained high levels of $\text{N}(\%)$; $\text{P}_2\text{O}_{5\text{hh}}(\%)$; $\text{K}_2\text{O}_{\text{hh}}(\%)$ but low organic matter, which was in contrast to Cow manure. Pig manure contained the lowest levels of effective Phosphorus and Potassium. In general, organic fertilizers were within the prescribed thresholds for heavy metal and harmful microorganisms. Anaerobic incubation conditions gave positive results in terms of slow degradation of nutritional indicators, but the density of harmful microorganisms (*E.coli*, *Salmonella*) was higher than the regulations in QCVN 01-189-2019.

Keywords: *Industrial Biochar; Industrial Livestock Waste*

TÓM TẮT

Một thí nghiệm phối trộn than sinh học trong công nghiệp với các loại chất thải chăn nuôi công nghiệp (Bò-Gà-Lợn), xử lý trong 2 điều kiện (hảo khí – yếm khí). Trong tháng đầu tiên, điều kiện ủ hảo khí giúp tăng nhanh mật độ vi sinh vật phân giải Xenlulo, tạo ra nhiệt độ đồng ủ cao ($>50^{\circ}\text{C}$), kéo dài liên tục (6-10 ngày). Từ đó góp phần hạ thấp ẩm độ và đẩy mạnh quá trình phân hủy chất hữu cơ. Tại 3 thời điểm theo dõi, điều kiện ủ hảo khí làm giảm hàm lượng chất hữu cơ, đạm tổng số, lân hữu hiệu, kali hữu hiệu. Sau ủ 3 tháng, sản phẩm tạo ra từ phân Gà có hàm lượng $\text{N}(\%)$; $\text{P}_2\text{O}_{5\text{hh}}(\%)$; $\text{K}_2\text{O}_{\text{hh}}(\%)$ cao nhưng chất hữu cơ thấp và điều này ngược lại với phân Bò. Phân Lợn kém nhất ở dinh dưỡng Lân và Kali hữu hiệu. Nhìn chung, phân hữu cơ tạo thành đảm bảo trong ngưỡng quy định về các chỉ tiêu kim loại nặng và vi sinh vật gây hại. Trong điều kiện ủ yếm khí, cho thấy kết quả tốt về tốc độ suy giảm chậm của các chất dinh dưỡng, nhưng mật độ vi sinh vật gây hại (*E.coli*, *Salmonella*) cao hơn quy định trong QCVN 01-189-2019.

Từ khóa: *Than sinh học; Chất thải chăn nuôi.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Trong bức tranh kinh tế suy giảm do đại dịch Covid-19, nổi lên điểm sáng của ngành Nông-Lâm-Thủy sản với tốc độ tăng trưởng cao hơn tốc độ tăng trưởng bình quân của nền kinh tế cả nước. Tuy nhiên, đi kèm với sự phát triển nhanh chóng của ngành chăn nuôi là những thách thức không nhỏ trong công tác quản lý – xử lý chất thải, bảo vệ môi trường. Theo ước tính của Cục Chăn nuôi (Bộ NN&PTNT), mỗi năm có trung bình 61 triệu tấn phân và trên 304 triệu m³ nước thải chăn nuôi được thải ra từ các loại vật nuôi chính. (Bộ TNMT, 2023) Một phần trong số đó (khoảng trên 20%) được xử lý, tái sử dụng (làm khí sinh học, ủ phân phục vụ cây trồng, nuôi giun, cho cá ăn,...). Tuy nhiên, phần lớn hơn được thải ra môi trường (khoảng gần 80 %) gây lãng phí và ô nhiễm nghiêm trọng, ảnh hưởng đến an toàn thực phẩm, phát sinh dịch bệnh, sức khỏe cộng đồng, an sinh xã hội (Nguyễn Ngọc Sơn, 2023). Xác định phương pháp ủ phù hợp với loại chất thải chăn nuôi, rút ngắn thời gian xử lý, tạo ra nguồn phân hữu cơ chất lượng tốt phục vụ sản xuất nông nghiệp là nhu cầu cần thiết.

Than sinh học giúp rút ngắn quá trình xử lý chất thải chăn nuôi (Vandecasteele *et al.*, 2016); nâng cao chất lượng hỗn hợp sau ủ vì than sinh học làm tăng độ xốp của hỗn hợp khi ủ, cung cấp môi trường lý tưởng cho vi sinh vật hoạt động (Awasthi *et al.*, 2020). Ngoài ra, đây là nguyên liệu có khả năng hấp phụ các chất dinh dưỡng, tăng khả năng trao đổi cation (CEC) (Mahapatra *et al.*, 2022); có khả năng giữ ẩm và làm tăng nhiệt độ của quá trình ủ phân (Bello *et al.*, 2020). Ngoài ra, mỗi loại nguyên liệu hữu cơ khác nhau khi xử lý thành than sinh học ở các nhiệt độ khác nhau sẽ có những đặc tính hóa – lý khác nhau (Onwosi *et al.*, 2017). Diện tích bề mặt của than sinh học được chiết xuất từ các nguyên liệu khác nhau duy trì theo thứ tự: trấu > rơm > gỗ > phân > bùn (Liu *et al.*, 2017). Trong ngành công nghiệp lò hơi, than sinh học hình thành từ các vật liệu hữu cơ (trấu, mùn cưa, gỗ tạp...) qua quá trình đốt yếm khí. Phối hợp loại than sinh học này trong quá trình xử lý chất thải chăn nuôi là giải pháp cần thiết để bảo vệ sinh môi trường và tạo ra nguồn thu tương đối cho đơn vị vận hành lò hơi.

Đáp ứng những nhu cầu trên của thực tế, chúng tôi tiến hành đánh giá ảnh hưởng của điều kiện xử lý (hảo khí – yếm khí) hỗn hợp chất thải chăn nuôi công nghiệp và than sinh học tới một số chỉ tiêu về lý – hóa – sinh học của phân hữu cơ tạo thành sau quá trình xử lý. Kết quả của nghiên cứu là cơ sở khoa học cho việc xử lý vấn đề ô nhiễm môi trường mà ngành chăn nuôi đang gặp phải và tạo nguồn phân hữu cơ chất lượng cao phục vụ sản xuất nông nghiệp.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

- Chất thải rắn trong chăn nuôi công nghiệp bò – lợn – gà.
- Than sinh học hình thành từ các vật liệu hữu cơ (trấu, mùn cưa, gỗ tạp...) qua quá trình đốt yếm khí (200 – 300⁰C), tạo hơi nóng dùng trong nhà máy dệt nhuộm.
- Thời gian thực hiện: Từ 03 – 07/2024.

2.2. Bố trí thí nghiệm

03 loại chất thải chăn nuôi (bò – lợn – gà) tươi phối trộn với than sinh học theo tỷ lệ 10% (về thể tích) (Jindo *et al.*, 2016), xử lý trong điều kiện 02 điều kiện ủ (hảo khí – yếm khí). Tổng số 06 công thức bố trí theo kiểu CRD với 3 lần nhắc lại, mỗi lần nhắc lại là 1 thùng có thể tích 150 lít với.

Hỗn hợp chất thải và than sinh học (100kg/thùng) cho vào từng thùng và bổ sung chế phẩm EMINA (0,2 lít).

Với các công thức ủ hảo khí (CT1, CT2, CT3), định kỳ 5 ngày 1 lần đảo trộn, làm liên tục trong 1 tháng đầu tiên. Từ tháng thứ 2 - 3, định kỳ 15 ngày đảo trộn 1 lần. Dùng cuốc nhỏ, đảo đều phân trong thùng từ dưới lên trên, từ trên xuống dưới.

Với các công thức ủ yếm khí (CT4, CT5, CT6), sau khi cho chất thải chăn nuôi và chế phẩm vi sinh, đậy nắp kín, không đảo trộn trong suốt quá trình xử lý.

3. Các chỉ tiêu và phương pháp theo dõi

- **Nhiệt độ:** Đo bằng nhiệt kế thủy tinh, buộc dây vào đầu nhiệt kế, cho vào trong ống nhựa để đo nhiệt độ của đồng ủ. Trong tháng đầu tiên, định kỳ 2 ngày đo nhiệt độ 1 lần. Tháng thứ 2 - 3, định kỳ 15 ngày đo nhiệt độ 1 lần. Theo dõi nhiệt độ môi trường không khí cùng thời điểm tiến hành đo nhiệt độ trong đồng ủ.

- **Một số chỉ tiêu chất lượng** như: **Độ ẩm** - TCVN 9297:2012; **OM(%)** - TCVN 9294:2012; **N(%)** - TCVN 10682:2015; **P₂O₅hh (%)** - TCVN 8559:2010; **K₂O_{hh} (%)** - TCVN 8560:2018; **VSV phân giải Xenlulo** - TCVN 6168:2002; xác định ở thời điểm Bắt đầu - 1 tháng - 2 tháng - 3 tháng sau xử ủ.

- **Một số yếu tố hạn chế** (đánh giá ở thời điểm 3 tháng sau ủ) như: **As** - TCVN 11403:2016; **Cd** - TCVN 9291:2018; **Pb** - TCVN 9290:2018; **Hg** - TCVN 10676:2015; **E.coli** - Ref. TCVN 6846:2007; **Salmonella** - Ref. TCVN 10780-1:2017.

- **Than sinh học, phân Bò – Gà – Lợn** đánh giá một số chỉ tiêu như: pH_{KCl}; OM (%); N(%); P₂O₅hh(%); K₂O_{hh}(%);

- Xử lý số liệu theo hướng dẫn trong các TCVN; Giáo trình phân tích phân bón cây trồng (Nguyễn Thu Hà và cộng sự, 2019); Excel; Crop Start

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Thành phần nguyên liệu

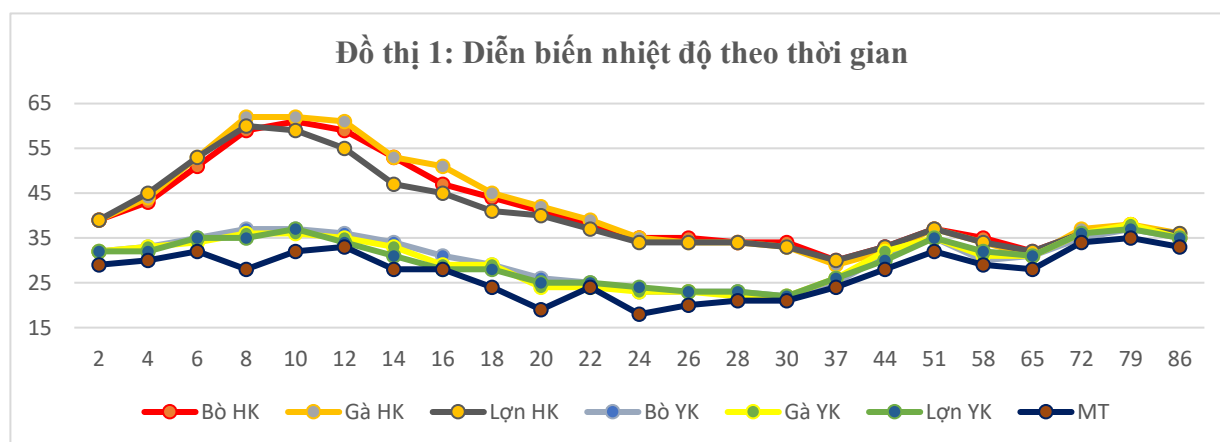
Sau khi phân tích một số chỉ tiêu chất lượng của nguyên liệu đầu vào chúng tôi thu được kết quả ở bảng sau:

Bảng 1. Thành phần của các nguyên liệu đầu vào

Nguyên liệu	pH _{KCl}	OC (%)	N(%)	P ₂ O ₅ hh(%)	K ₂ O _{hh} (%)
Than SH	7,9	65,2±0,22	0,37±0,02	0,29±0,01	0,78±0,02
Phân Bò	6,5	22,9±0,15	2,02±0,03	1,36±0,04	1,92±0,03
Phân Gà	8,0	19,1±0,19	2,63±0,04	1,61±0,03	2,22±0,02
Phân Lợn	6,9	21,1±0,25	2,20±0,03	1,21±0,02	1,91±0,03

Các nguyên liệu có độ pH từ trung tính tới kiềm nhẹ. Than sinh học có ưu thế về hàm lượng carbon nhưng hàm lượng đạm tổng số, lân hữu hiệu, kali hữu hiệu trong chất thải chăn nuôi cao hơn. Do vậy, việc phối trộn, than sinh học giúp làm tăng độ xốp của hỗn hợp khi ủ; tăng khả năng hấp phụ các chất dinh dưỡng (Mahapatra *et al.*, 2022).

3. 2. Diễn biến nhiệt độ, ẩm độ trong quá trình xử lý



Nhiệt độ ủ trong điều kiện hảo khí tăng liên tục và đạt trên 50°C từ ngày thứ 6 đến ngày thứ 12 (Lợn); 14 (Bò); 16 (Gà) sau ủ. Nhiệt độ của thùng ủ tăng cao nhanh chóng và duy trì liên tục trong nhiều ngày là yếu tố rất quan trọng giúp cho đống ủ nhanh hoại mục và có khả năng tiêu diệt VSV gây hại (*E.coli*, *Salmonella*). (Feachem *et al.*, 1983). Ở giai đoạn tiếp theo nhiệt độ tại các công thức giảm mạnh và giảm dần về gần với nhiệt độ ngoài trời (44-51 ngày sau ủ).

Ngược lại, ủ trong điều kiện yếm khí nhiệt độ tăng chậm, đạt cao nhất khoảng 35-38°C ở ngày thứ 8 – 10 sau ủ. Sau đó nhiệt độ giảm dần và đến thời điểm 28-30 ngày sau ủ, nhiệt độ thùng ủ gần tương đồng với nhiệt độ môi trường. Như vậy, điều kiện ủ hảo khí giúp cho hỗn hợp chất thải chăn nuôi và than sinh học tạo ra nhiệt độ cao hơn, tăng khả năng phân huỷ các chất hữu cơ vừa giúp tiêu diệt vi sinh vật gây bệnh có trong các nguyên liệu ủ.

Bảng 2. Ẩm độ và mật độ VSV phân giải Xenlulo

CTTN	Ẩm độ				Vsv phân giải Xenlulo (10 ⁶ CFU/g)			
	BĐ	1 T	2 T	3 T	BĐ	1 T	2 T	3 T
CT 1	49,1%	41,9%	37,9%	34,2%	17,3	82,2	42,4	14,7
CT 2	54,8%	42,2%	38,4%	35,9%	21,7	97,7	43,1	11,4
CT 3	51,4%	44,3%	40,2%	37,1%	18,3	63,7	31,7	13,6
CT 4	49,1%	48,1%	47,1%	46,7%	17,3	25,7	20,2	7,9
CT 5	54,8%	53,9%	52,0%	51,6%	21,7	30,3	23,8	12,2
CT 6	51,4%	50,7%	49,8%	48,1%	18,3	26,7	20,7	11,4

Ghi chú: BĐ: Bắt đầu; 1 T – 2 T - 3 T: 1 – 2 – 3 tháng sau ủ

Khi bắt đầu, độ ẩm của phân Bò thấp hơn phân Lợn phân Gà. Sau 1 tháng xử lý, độ ẩm của các công thức ủ hảo khí giảm mạnh hơn các công thức ủ yếm khí. Trong đó, phân Gà giảm mạnh hơn so với phân Bò và Lợn. Kết quả này là tương đồng với mật độ cao của VSV phân giải Xenlulo trong phân Gà đạt giá trị cao nhất sau ủ 1 tháng và giảm dần ở các tháng tiếp theo. Nguyên nhân có thể là do than sinh học giúp làm tăng độ xốp của hỗn hợp khi ủ, cung cấp môi trường lý tưởng cho vi sinh vật

hoạt động (Awasthi *et al.*, 2020; Bello *et al.*, 2020). Điều tương tự không phát hiện ở các công thức xử lý trong điều kiện yếm khí.

3.3. Diễn biến một số chỉ tiêu chất lượng theo thời gian.

Đánh giá một số chỉ tiêu chất lượng đồng ủ theo thời gian chúng tôi thu được kết quả ở bảng 3. Kết quả xử lý thống kê cho thấy, ở cả 3 thời điểm theo dõi, điều kiện ủ hảo khí làm giảm hàm lượng chất hữu cơ, đạm tổng số, lân hữu hiệu, kali hữu hiệu so với điều kiện ủ yếm khí. Nghiên cứu của Li R. *et al.*, 2014 có kết luận tương tự khi ủ phân lợn với than sinh học. Tác động bởi điều kiện ủ hảo khí tới giá trị trung bình của một số chỉ tiêu dinh dưỡng trong phân hữu cơ thu được sau 3 tháng ủ hảo khí lần lượt là OM: 38,37%; N%: 1,42%; P_2O_5 hh(%): 1,18%; K_2O hh(%): 1,56%.

Yếu tố chất thải khác nhau có gây ra sai khác có ý nghĩa thống kê ở từng chỉ tiêu chất lượng. Giá trị trung bình do tương tác từ chất thải của phân Gà cao nhất ở hàm lượng N(%); P_2O_5 hh(%); K_2O hh(%); nhưng đây cũng là chất thải có hàm lượng chất hữu cơ thấp nhất. Phân Bò có hàm lượng hữu cơ cao nhất nhưng hàm lượng Đạm tổng số thấp hơn cả. Phân Lợn kém nhất ở giá trị dinh dưỡng Lân và Kali hữu hiệu.

Bảng 3. Ảnh hưởng của Điều kiện ủ - Loại chất thải tới một số chỉ tiêu chất lượng

Điều kiện ủ	OM (%)			N (%)			P ₂ O ₅ hh (%)			K ₂ O hh (%)		
	1 T	2 T	3 T	1 T	2 T	3 T	1 T	2 T	3 T	1 T	2 T	3 T
Hào khí	42,39 ^b	39,56 ^b	38,37 ^b	1,72 ^b	1,59 ^b	1,42 ^b	1,27 ^b	1,22 ^b	1,18 ^b	1,73 ^b	1,64 ^b	1,56 ^b
Yếm khí	45,76 ^a	44,62 ^a	43,16 ^a	2,25 ^a	2,17 ^a	2,04 ^a	1,37 ^a	1,33 ^a	1,31 ^a	1,98 ^a	1,88 ^a	1,81 ^a
LSD_{0,05}	0,51	0,31	0,21	0,05	0,03	0,02	0,03	0,02	0,03	0,04	0,03	0,02
Chất thải	OM (%)			N (%)			P ₂ O ₅ hh (%)			K ₂ O hh (%)		
	1 T	2 T	3 T	1 T	2 T	3 T	1 T	2 T	3 T	1 T	2 T	3 T
Bò	48,91 ^a	47,63 ^a	46,11 ^a	1,78 ^c	1,67 ^c	1,55 ^c	1,27 ^b	1,25 ^b	1,21 ^b	1,78 ^b	1,72 ^b	1,62 ^b
Gà	39,27 ^c	36,85 ^c	36,21 ^c	2,29 ^a	2,17 ^a	1,99 ^a	1,56 ^a	1,50 ^a	1,46 ^a	2,06 ^a	1,97 ^a	1,90 ^a
Lợn	44,05 ^b	41,78 ^b	39,99 ^b	1,88 ^b	1,81 ^b	1,66 ^b	1,15 ^c	1,10 ^c	1,06 ^c	1,63 ^c	1,61 ^c	1,54 ^c
LSD_{0,05}	0,63	0,38	0,25	0,06	0,04	0,03	0,04	0,03	0,04	0,04	0,04	0,03

Ghi chú: BĐ: Bắt đầu; 1 T - 2 T - 3 T: 1 - 2 - 3 tháng sau ủ.

Tương tác giữa 2 yếu tố thí nghiệm sau khi xử lý số liệu chúng tôi thu được kết quả ở bảng 4. Tại thời điểm 1 tháng sau ủ, Đạm có sự suy giảm mạnh nhất sau đó đến Kali, Lân và OM. Tại 2 thời điểm còn lại sự suy giảm của các chỉ tiêu này chậm dần. Có thể là do VSV hoạt động kém dần đi, nhiệt độ tăng chậm, các chất dinh dưỡng ít bị mất hơn. Khi áp dụng trong sản xuất phân bón nên lưu ý về sự suy giảm này. Từ đó, có sự lựa chọn điều kiện xử lý - bảo quản trong kho phù hợp hơn.

Bảng 4. Tương tác giữa Loại chất thải và Điều kiện ủ tới một số chỉ tiêu chất lượng

CTTN	OM (%)				N (%)				P ₂ O ₅ hh (%)				K ₂ O hh (%)			
	BĐ	1 T	2 T	3 T	BĐ	1 T	2 T	3 T	BĐ	1 T	2 T	3 T	BĐ	1 T	2 T	3 T
CT1	51,70	47,67	45,44	43,32	2,03	1,58	1,44	1,30	1,38	1,22	1,19	1,16	1,98	1,63	1,56	1,47
CT2	43,30	37,59	34,38	33,93	2,65	1,97	1,76	1,54	1,65	1,51	1,47	1,42	2,23	1,96	1,89	1,81
CT3	47,50	41,93	38,87	37,87	2,21	1,62	1,58	1,43	1,24	1,09	1,02	0,97	1,93	1,59	1,48	1,39
CT4	51,70	50,15	49,83	48,89	2,03	1,98	1,90	1,79	1,38	1,32	1,30	1,27	1,98	1,92	1,87	1,76
CT5	43,30	40,96	39,33	38,48	2,65	2,62	2,58	2,44	1,65	1,60	1,52	1,50	2,23	2,16	2,05	1,98
CT6	47,50	46,18	44,69	42,10	2,21	2,15	2,04	1,89	1,24	1,20	1,18	1,15	1,93	1,86	1,73	1,69
SD	±0,32	±0,28	±0,17	±0,11	±0,04	±0,03	±0,02	±0,01	±0,03	±0,02	±0,01	±0,02	±0,04	±0,02	±0,02	±0,01
LSD_{0,05}	-	0,89	0,53	0,36	-	0,09	0,05	0,04	-	0,05	0,04	0,06	-	0,07	0,05	0,04

Ghi chú: BĐ: Bắt đầu; 1 T - 2 T - 3 T: 1 - 2 - 3 tháng sau ủ.

Sản phẩm sau ủ 3 tháng, chúng tôi tiến hành đánh giá một số yếu tố hạn chế theo quy định của phân hữu cơ và thu được kết quả ở bảng sau:

Bảng 5. Một số yếu tố hạn chế sau ủ 3 tháng

CTTN	As	Cd	Pb	Hg	E.coli	Salmonella
	(mg/kg)				(10 ⁶ CFU/g)	
CT1	3,05	2,22	23,55	0,67	KPH	KPH
CT2	2,89	1,99	24,18	0,72	KPH	KPH
CT3	1,12	1,11	12,08	0,45	KPH	KPH
CT4	1,09	1,05	12,88	0,41	12,3	1,1
CT5	4,25	2,39	34,80	0,15	2,7	0,2
CT6	4,15	2,21	32,45	0,18	7,3	0,7
QCVN 01-189-2019	< 10,0	< 5,0	< 200,0	< 2,0	≤ 1,1 x 10 ³	KPH

Kết quả phân tích về các chỉ tiêu về kim loại nặng của các công thức không vượt ngưỡng cho phép. Điều kiện ủ hảo khí có nhiệt độ cao, kéo dài nên khi kiểm tra đã không phát hiện VSV gây hại (E.coli, Salmonella). Ngược lại, 3 loại chất thải chăn nuôi ủ trong điều kiện yếm khí, sản phẩm tạo ra không đạt tiêu chuẩn về VSV theo QCVN.

4. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

1. Kết luận

Than sinh học trong công nghiệp lò hơi có thể dùng kết hợp với các loại chất thải chăn nuôi công nghiệp (Bò-Gà-Lợn) (10% v/v), xử lý trong điều kiện hảo khí, nhờ có mật độ VSV phân giải Xenlulo cao sẽ tạo ra nhiệt độ đồng ủ cao (>50°C), kéo dài liên tục (6-10 ngày). Từ đó góp phần hạ thấp ẩm độ, phân hủy chất hữu cơ nhanh. Tuy nhiên, trong điều kiện ủ yếm khí, tốc độ suy giảm các chất dinh dưỡng (Đạm tổng số, Lân-Kali hữu hiệu) chậm. Các chất dinh dưỡng còn lại sau khi ủ cao hơn.

Tại 3 thời điểm theo dõi, điều kiện ủ hảo khí làm giảm hàm lượng chất hữu cơ, đạm tổng số, lân hữu hiệu, kali hữu hiệu so với điều kiện ủ yếm khí. Phân Gà có hàm lượng N(%); P₂O₅hh(%); K₂O_{hh}(%) cao nhưng hàm lượng chất hữu cơ thấp nhất. Phân Bò có hàm lượng hữu cơ cao. Phân Lợn kém nhất ở giá trị dinh dưỡng Lân và Kali hữu hiệu.

Sau khi ủ 3 tháng, sản phẩm hữu cơ tạo thành trong điều kiện ủ hảo khí đảm bảo trong ngưỡng quy định về các chỉ tiêu kim loại nặng và VSV gây hại. Trong khi đó, nếu xử lý yếm khí, nhiệt độ thấp, mật độ VSV *E.coli*, *Salmonella* cao hơn quy định trong QCVN 01-189-2019.

2. Đề nghị

Nên có thêm nghiên cứu về các tỷ lệ phối trộn sử dụng than sinh học từ phụ phẩm công nghiệp lò hơi với chất thải chăn nuôi công nghiệp (Bò-Gà-Lợn) để xác định tỷ lệ phù hợp cho từng loại chất thải.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Awasthi M.K. , Y. Duan, S. K. Awasthi, T. Liu, Z. Zhang, S.H. Kim, A. Pandey, 2020b. *Effect of biochar on emission, maturity and bacterial dynamics during sheep manure composting*. Renewable Energy. Volume 152, June 2020, Pages 421-429. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2020.01.065>
2. BelloA., Y. Han, H. Zhu, L. Deng, W. Yang, Q. Meng, Y. Sun, U.U. Egbeagu, S. Sheng, X. Wu, X. Jiang, X. Xu, 2020. *Microbial community composition, co-occurrence network pattern and nitrogen transformation genera response to biochar addition in cattle manure-maize straw composting*.

- Science of The Total Environment. Volume 721, 15 June 2020, 137759. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.137759>
3. Bộ Tài nguyên và Môi trường, 2023. *Ngành chăn nuôi hướng tới kinh tế tuần hoàn, giảm phát thải*. Nguồn: <https://monre.gov.vn/Pages/nganh-chan-nuoi-huong-toi-kinh-te-tuan-hoan,-giam-phat-thai.aspx>
 4. Feachem. R.G., D.J. Bradley., H. Garelick., and D.D. Mara (1983). *Sanitation and Disease: Health Aspects of Excreta and Wastewater Management*. Chichester: John Wiley & Sons
 5. Mahapatra S., Md. H. Ali, K. Samal, 2022. *Assessment of compost maturity-stability indices and recent development of composting bin*. Energy Nexus. Volume 6, 16 June 2022, 100062. <https://doi.org/10.1016/j.nexus.2022.100062>
 6. Onwosi C.O., V.C. Igbokwe, J.N. Odimba, I.E. Eke, M.O. Nwankwoala, I.N. Iroh, L.I. Ezeogu, 2017. *Composting technology in waste stabilization: On the methods, challenges and future prospects*. Journal of Environmental Management. Volume 190, 1 April 2017, Pages 140-157. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2016.12.051>
 7. Liu N., J. Zhou, L. Han, S.Ma, X. Sun, G. Huang, 2017. *Role and multi-scale characterization of bamboo biochar during poultry manure aerobic composting*. Bioresource Technology. Volume 241, October 2017, Pages 190-199. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.03.144>
 8. Jindo K., T. Sonoki, K. Matsumoto, L. Canellas, A. Roig, M. A. Sanchez-Monedero. *Influence of biochar addition on the humic substances of composting manures*. Waste Management 49 (2016) 545–552. <https://www.researchgate.net/publication/299402980>
 9. Li R., Q. Wang, Z. Zhang, G. Zhang, Z. Li, L. Wang and Jianzhong Zheng, 2014. *Nutrient transformation during aerobic composting of pig manure with biochar prepared at different temperatures*. Environmental Technology, Volume 36, 2015 - Issue 7. <https://doi.org/10.1080/09593330.2014.963692>
 10. Nguyễn Ngọc Sơn, 2023. Ô nhiễm môi trường trong chăn nuôi: Thực trạng và giải pháp khắc phục theo hướng kinh tế tuần hoàn. Nguồn: <https://nhachannuoi.vn/o-nhiem-moi-truong-trong-chan-nuoi-thuc-trang-va-giai-phap-khac-phuc-theo-huong-kinh-te-tuan-hoan/>
 11. Vandecasteele B., T. Sinicco, T. D'Hose, T. V. Nest, C. Mondini, 2016. *Biochar amendment before or after composting affects compost quality and N losses, but not P plant uptake*. Journal of Environmental Management. Volume 168, 1 March 2016, Pages 200-209. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2015.11.045>

KẾT QUẢ KHẢO NGHIỆM GIỐNG LÚA NẾP CẨM ĐH8 TẠI CÁC TỈNH PHÍA BẮC

Nguyễn Thị Hương¹, Trần Thị Huyền², Nguyễn Thị Kim Dung²,
Đỗ Văn Đức², Trần Hoàng Lan², Trần Mạnh Cường³, Trần Văn Quang⁴

SUMMARY

The glutinous rice variety ĐH8 was developed by Crops Research and Development Institute, Vietnam National University of Agriculture. The ĐH8 variety was tested for authors, value of cultivation value and use (VCU), distinctness, uniformity and stability (DUS) according to the standards of Ministry of Science and Technology in the Northern provinces. The testing results showed that the ĐH8 variety has a short growing duration, 130 - 135 days in the spring crop season, 105 - 115 days in the summer crop season, with a yield of 5.5 - 6.0 tons ha⁻¹ in the spring crop season and 5.0 - 5.5 tons ha⁻¹ in the summer crop season. The ĐH8 variety has a moderate susceptibility (level 5) to blast and brown planthopper; susceptibility (level 7.0) to bacterial leaf blight. In the onfarm testing, ĐH8 has a yield of 5.6 - 6.1 tons ha⁻¹ in the spring crop season, higher than the check variety about 17.1 - 26.5%; 5.2 - 5.5 tons ha⁻¹ in the summer crop season, higher than the check variety about 12.8 - 26.6%. The testing results, glutinous rice variety ĐH8 will be released in the spring and summer crop season in the Northern provinces.

Keywords: *Black glutinous rice, ĐH8, VCU testing, DUS testing*

TÓM TẮT

Giống lúa nếp cẩm ĐH8 do Viện Nghiên cứu và Phát triển cây trồng, Học viện Nông nghiệp Việt Nam chọn tạo. Giống ĐH8 được khảo nghiệm tác giả, giá trị canh tác và giá trị sử dụng (VCU), tính khác biệt, đồng nhất và ổn định (DUS) theo tiêu chuẩn của Bộ Khoa học và Công nghệ tại các tỉnh phía Bắc. Kết quả khảo nghiệm cho thấy giống ĐH8 có thời gian sinh trưởng ngắn, 130 - 135 ngày trong vụ Xuân, 105 - 115 ngày trong vụ Mùa, năng suất đạt từ 5,5 - 6,0 tạ/ha trong vụ Xuân và từ 5,0 - 5,5 tấn/ha trong vụ Mùa hoặc Hè Thu. Giống lúa ĐH8 có phản ứng nhiễm vừa (cấp bệnh 5) đối với bệnh đạo ôn và rầy nâu; phản ứng nhiễm (cấp bệnh 7,0) với bệnh bạc lá. Khảo nghiệm sản xuất, giống lúa nếp cẩm ĐH8 có năng suất đạt 5,6 - 6,1 tạ/ha trong vụ Xuân, cao hơn giống đối chứng từ 17,1 - 26,5%; đạt 5,2 - 5,5 tạ/ha trong vụ Mùa (Hè Thu), cao hơn giống đối chứng 12,8 - 26,6%. Từ kết quả khảo nghiệm, giống lúa nếp cẩm ĐH8 cần được mở rộng sản xuất trong vụ Xuân, Mùa và Hè Thu tại các tỉnh phía Bắc.

Từ khóa: *Lúa nếp cẩm, ĐH8, khảo nghiệm VCU, khảo nghiệm DUS*

¹ Viện Cây lương thực & CTP, Viện Khoa học Nông nghiệp Việt Nam

² Viện Nghiên cứu và Phát triển cây trồng, Học viện Nông nghiệp Việt Nam

³ Vụ Khoa học Công nghệ và Môi trường, Bộ Nông nghiệp và PTNT

⁴ Khoa Nông học, Học viện Nông nghiệp Việt Nam

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Hiện nay, chất lượng cuộc sống của con người ngày một cải thiện; đi cùng với nó là nhu cầu về các thực phẩm chức năng giúp làm chậm quá trình lão hóa, giảm cholesteron, kéo dài tuổi thọ của con người ngày một nhiều. Các giống lúa cẩm có các màu sắc khác nhau ở vỏ trấu và vỏ cám như màu đỏ, tím hoặc đen thường có hàm lượng các chất hữu cơ đặc thù như chất kháng oxy hóa anthocyanin, vitamin, các vi lượng có lợi cho sức khỏe của con người và có thể ngăn ngừa một số bệnh nguy hiểm nên đã thu hút nhiều nhà nghiên cứu trong những năm gần đây (Farhan & cs., 2020). Hơn nữa, yếu tố quan trọng nhất và tạo nên thương hiệu cho nếp cẩm bởi nó có chứa khoảng 70% tinh bột, với hàm lượng chất khoáng có đồng chứa 24 ppm, kẽm 23,6 ppm và sắt 16,2 ppm. Ngoài ra trong gạo cẩm chứa nhiều axit amin mà đặc biệt trong vỏ nếp cẩm có chứa lượng lớn anthocyanin có khả năng chống oxy hoá, và các nhân tố có lợi cho sức khỏe, chống viêm nhiễm, hạn chế sự phát triển của tế bào ung thư. Ngoài ra ăn gạo nếp cẩm kết hợp với một số thức ăn như rau xanh, hoa quả, thịt nạc sẽ có thể tăng sự hấp thu sắt cho cơ thể (Maeda & cs., 2014). Theo *Madhurima* (2024), gạo cẩm có giá trị dinh dưỡng vượt trội hơn bất kỳ loại gạo khác. Loại gạo này không chứa gluten, cholesterol, ít đường, muối và chất béo. Nó là một nguồn giàu chất xơ, chất chống oxy hóa, phức hợp vitamin B và E, sắt, thiamine, magiê, niacin và photpho. Gạo cẩm có số lượng protein lớn hơn các loại gạo khác, chứa 18 axit amin thiết yếu có lợi cho con người. Hơn nữa, gạo cẩm là nguồn giàu chất sắt tự nhiên, thích hợp cho người ăn kiêng.

Ở Việt Nam, diện tích trồng lúa cẩm còn hạn chế, chiếm khoảng 5% diện tích lúa, số giống được công nhận và phát triển sản xuất còn quá ít. Các giống lúa cẩm hiện đang gieo cấy có nhiều nhược điểm như mầm cẩm quang chu kỳ, năng suất thấp, nhiễm nặng sâu bệnh. Công tác chọn tạo giống lúa cẩm mới chỉ tập trung vào việc thu thập, đánh giá và tuyển chọn giống. Các nghiên cứu chọn tạo giống thông qua lai hữu tính, đột biến còn hạn chế (Nguyễn Hòa Hân & cs., 2023; Phạm Văn Dân & cs., 2023). Chính vì vậy, việc chọn tạo, khảo nghiệm và mở rộng sản xuất các giống lúa cẩm cải tiến là hết sức cần thiết.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1. Vật liệu

Giống lúa nếp cẩm ĐH8 được Viện nghiên cứu và Phát triển cây trồng, Học viện Nông nghiệp Việt Nam chọn lọc từ quần thể phân ly sau xử lý đột biến phóng xạ tia gamma Co60 mẫu giống Nếp cẩm pe thu thập từ Thanh Hoá. Giống ĐH8 có khả năng sinh trưởng tốt, kiểu cây bán lùn, đẻ nhánh khá, thân cứng màu tím, lá xanh, bản lá hẹp, lá đồng lòng mo, bông dài, nhiễm nhẹ đạo ôn, bạc lá. Giống có thời gian sinh trưởng ngắn (130 - 135 ngày trong vụ Xuân, 105 - 110 ngày trong vụ Mùa, 100 - 105 ngày trong vụ Hè Thu). Năng suất đạt 50 - 55 tạ/ha trong vụ Xuân; 45 - 50 tạ/ha trong vụ Mùa hoặc Hè Thu. Giống ĐH8 có hạt gạo thuộc dạng thon dài, tỷ lệ gạo xay cao (74 - 76%), hạt gạo có vỏ cám màu đen, cơm mềm, thơm nhẹ và có vị đậm. ĐH8 hàm lượng amylose thấp, hàm lượng anthocyanin cao 619 mg/100 gam gạo. Giống ĐH8 chịu rét khá, chống đổ tốt, kháng bệnh đạo ôn tốt, nhiễm nhẹ khô vằn, bạc lá, rầy nâu. Giống nếp cẩm ĐH6 do Viện Nghiên cứu và Phát triển Cây trồng chọn tạo và công nhận sản xuất thử năm 2014 (Đoàn Thanh Quỳnh & cs., 2014) được sử dụng làm giống đối chứng trong khảo nghiệm tác giả. Giống Nếp 97 (nếp tẻ, gạo trắng đục) được sử dụng làm đối chứng trong khảo nghiệm VCU (do Hệ thống khảo nghiệm chưa có giống đối chứng nếp cẩm).

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Khảo nghiệm tác giả được thực hiện trong vụ Mùa 2019 và vụ Xuân 2020 tại khu thí nghiệm đồng ruộng, Viện Nghiên cứu và Phát triển cây trồng, Học viên Nông nghiệp Việt Nam. Khảo nghiệm diện hẹp được thực hiện trong vụ Xuân 2020, Mùa 2020 và Xuân 2021 tại các tỉnh phía Bắc. Khảo nghiệm diện rộng được thực hiện trong vụ Xuân 2021 và Xuân 2022 tại các tỉnh phía Bắc. Khảo nghiệm DUS tại Trạm Khảo nghiệm giống cây trồng Văn Lâm, Hưng Yên trong vụ Xuân 2021 và Xuân 2022. Khảo nghiệm có kiểm soát thực hiện tại Viện Bảo vệ thực vật trong vụ Mùa 2022. Khảo nghiệm sản xuất thực hiện tại 3 tỉnh: Điện Biên, Ninh Bình và Nghệ An.

Trong khảo nghiệm tác giả, các dòng lúa cẩm mới được bố trí gieo cấy tuân tự không nhắc lại (Gomez & Gomez, 1984), mỗi dòng cấy với diện tích 10m², mật độ 35 khóm/m², 1 dảnh/khóm, bón phân với lượng 80kg N: 80kg P₂O₅: 80kg K₂O/ha. Khảo nghiệm sản xuất, VCU theo TCVN13381-1:2021 và khảo nghiệm DUS theo TCVN13382-1:2021 của Bộ Khoa học và Công nghệ do Trung tâm Khảo kiểm nghiệm giống, sản phẩm cây trồng Quốc gia thực hiện. Đánh giá các đặc điểm nông sinh học, mức độ nhiễm sâu bệnh trên đồng ruộng theo phương pháp của IRRI (2002). Đánh giá chất lượng gạo, cơm theo các tiêu chuẩn sau: Phân tích tỷ lệ gạo lật, tỷ lệ gạo nguyên, kích thước hạt gạo theo TCVN1643:2008; xác định hàm lượng amylose theo TCVN5716-2:2008; đánh giá chất lượng cơm theo TCVN8373:2010. Đánh giá mùi thơm trên nội nhũ theo phương pháp của Kibria & cs. (2008). Số liệu phân tích phương sai ANOVA theo chương trình IRRISTAT 5.0 và phần mềm Excel.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Khảo nghiệm tác giả

Kết quả khảo nghiệm tác giả được trình bày ở bảng 1 cho thấy giống ĐH8 có thời gian sinh trưởng ngắn (135 ngày trong vụ Xuân, 111 ngày trong vụ Mùa), giống đối chứng ĐH6 có thời gian sinh trưởng dài hơn (140 ngày trong vụ Xuân và 117 ngày trong vụ Mùa). Giống ĐH8 có chiều cao thuộc loại trung bình (103,9 - 114,2 cm), cao hơn giống đối chứng ĐH6 khoảng 8 - 10 cm. Giống ĐH8 có kiểu đẻ nhánh gọn, lá thẳng, cứng cây, trổ thoát, khả năng đẻ nhánh trung bình (5,5 - 5,8 bông/khóm), số hạt/bông tương đương với giống đối chứng, khối lượng 1000 hạt lớn hơn giống đối chứng. Giống ĐH8 có năng suất thực thu (5,1 - 5,5 tấn/ha) cao hơn đối chứng không nhiều (0,3 ta/ha), tỷ lệ gạo xay và chiều dài hạt gạo tương đương với đối chứng. Giống ĐH8 có hàm lượng amylose, độ dẻo cơm tương đương với đối chứng nhưng hàm lượng anthocyanin, mùi thơm nội nhũ, cơm cao hơn đối chứng ĐH6. Giống ĐH8 nhiễm sâu bệnh nhẹ hơn đối chứng, đặc biệt là bệnh đạo ôn trong vụ Xuân.

Bảng 1. Một số đặc điểm của giống lúa nếp cẩm ĐH8 trong vụ Mùa 2019 và vụ Xuân 2020 tại Gia Lâm, Hà Nội

Giống	ĐH6 (Đ/C)		ĐH8	
	Mùa 2019	Xuân 2020	Mùa 2019	Xuân 2020
Thời gian sinh trưởng (ngày)	117	140	111	135
Chiều <u>cao cây cuối</u> cùng (cm)	96,5	92,8	114,2	103,9
Kiểu <u>đẻ nhánh</u>	Xoè	Xoè	Gọn	Gọn
Hình <u>dạng lá</u>	Dài, nghiêng	Dài, nghiêng	Thẳng	Thẳng
Độ <u>cứng cây</u> (điểm)	3	3	1	1
Độ <u>thoát củ bông</u> (điểm)	1	1	1	1
Số <u>bông/khóm</u>	5,6	5,8	5,5	5,8
Số <u>hạt /bông</u>	149,0	184,7	146,1	185,3

Khối lượng 1000 hạt (gam)	23,6	24,2	26,8	26,9
Năng suất lý thuyết (tấn/ha)	5,7	6,6	6,3	6,6
Năng suất thực thu (tấn/ha)	4,8	5,2	5,1	5,5
Tỷ lệ gạo xay (%)	80	79,0	79,0	78,5
Chiều dài hạt gạo (mm)	6,0	6,05	6,06	6,05
Mùi thơm nội nhũ (điểm)	1	1	3	3
Mùi thơm cơm (điểm)	2,0	2,0	4,0	4,0
Độ ngon (điểm)	4,0	3,5	4,0	4,0
Độ dẻo (điểm)	3,0	4,5	4,0	4,0
Màu sắc vỏ cám	Tím	Tím	Tím	Tím
Hàm lượng amylose (%)	3,79	4,12	3,88	3,97
Hàm lượng anthocyanin (mg/100 gam CK)	271	257	619	605
Rầy nâu (điểm)	3	0	3	0
Bạc lá (điểm)	3	1	3	1
Đạo ôn (điểm)	5	1	3	1

3.2. Kết quả khảo nghiệm diện hẹp

Bảng 2. Một số đặc điểm nông sinh học và khả năng chống chịu của giống lúa thuần mới ĐH8

Tên giống	Sức sống mạ (điểm)	Độ cứng cây (điểm)	Thời gian sinh trưởng (ngày)	Số bông/ khóm	Số hạt/ bông	Tỷ lệ hạt lép (%)	Khối lượng 1000 hạt (gam)
Xuân 2020							
ĐH8	5	1	131	4,3	127	15,6	28,2
Nếp N97 (ĐC)	5	1	132	4,9	147	10,1	24,3
Mùa 2020							
ĐH8	1	1	112	4,7	150	20,2	27,0
Nếp N97 (ĐC)	1	1	108	4,9	150	14,5	24,3
Xuân 2021							
ĐH8	5	1	126	3,9	143	11,5	30,6
Nếp N97 (ĐC)	5	1	122	4,8	156	7,2	25,2

Nguồn: Trung tâm khảo nghiệm giống, sản phẩm cây trồng Quốc gia

Trong thời gian khảo nghiệm diện hẹp, diện rộng, mạng lưới khảo nghiệm Quốc gia chưa có giống đối chứng là lúa nếp cẩm nên cơ quan khảo nghiệm sử dụng nếp N97 (giống nếp thường, hạt gạo màu trắng, năng suất cao) làm giống đối chứng. Kết quả đánh giá một số đặc điểm nông sinh học và khả năng chống chịu của giống lúa nếp cẩm được trình bày tại bảng 2 cho thấy giống ĐH8 có sức sống mạ trung bình trong vụ Xuân và tốt trong vụ Mùa. Giống ĐH8 có độ cứng cây tương đương với đối chứng (điểm 1). Giống ĐH8 có thời gian sinh trưởng ngắn (126 - 131 ngày trong vụ Xuân và 112 ngày trong vụ Mùa), dài hơn giống đối chứng khoảng 4 - 6 ngày. Mức độ đẻ nhánh và số bông hữu hiệu thấp hơn đối chứng Nếp 97. Trong cả vụ Xuân và Mùa, giống ĐH8 có tỷ lệ lép 11,5 - 20,2%, cao hơn đối chứng. Khối lượng 1000 hạt của giống ĐH8 thấp hơn so với đối chứng Nếp 97 từ 4 - 5 gam.

Bảng 3. Năng suất thực thu của giống ĐH8 qua các vụ khảo nghiệmDVT: *tạ/ha*

Tên giống	Điểm khảo nghiệm						
	Hung Yên	Thái Bình	Yên Bái	Hòa Bình	Thanh Hóa	Nghệ An	Bình Quỳ
Xuân 2020							
ĐH8	37,06	49,52	26,40*	40,53	42,87	49,97	43,99
Nếp N97 (ĐC)	59,00	51,54	56,00	54,67	52,20	62,53	55,99
CV (%)	5,9	7,7	8,4	7,2	6,7	7,1	
LSD _(0,05)	5,28	7,08	6,78	6,29	6,26	7,33	
Mùa 2020							
ĐH8	41,33	43,77	-	38,97	49,10	54,10	45,45
Nếp N97 (ĐC)	56,52	45,08	-	49,75	59,50	57,27	53,62
CV (%)	5,1	7,3	-	5,5	7,1	5,7	
LSD _(0,05)	4,48	5,88	-	4,40	7,21	5,65	
Xuân 2021							
ĐH8	52,47	59,64	52,86	51,53	50,33	61,60	54,74
Nếp N97 (ĐC)	72,43	65,93	65,36	55,66	63,07	62,13	64,10
LSD _(0,05)	5,91	6,47	6,59	7,93	6,14	5,01	

Nguồn: *Trung tâm khảo kiểm nghiệm giống, sản phẩm cây trồng Quốc gia*

(-) Không có giống khảo nghiệm

(*) Số liệu chỉ để tham khảo không sử dụng tính trung bình

Do điều kiện khí hậu không thuận lợi trong cả vụ Xuân và Mùa nên năng suất của giống ĐH8 không ổn định ở các điểm khảo nghiệm. Trong vụ Xuân 2020, năng suất của giống ĐH8 biến động từ 37,06 đến 49,97 tạ/ha. Trong vụ Mùa 2020, giống ĐH8 có năng suất biến động từ 38,97 đến 54,1 tạ/ha. Trong vụ Xuân 2021, giống ĐH8 có năng suất biến động từ 50,33 đến 61,6 tạ/ha. Trong cả 3 vụ, tại vùng Bắc Trung bộ, giống ĐH8 đều đạt năng suất cao hơn vùng miền núi phía Bắc và đồng bằng sông Hồng. Tại Thái Bình (vụ Xuân 2020) và Nghệ An, Thanh Hóa, Thái Bình (vụ Mùa 2020) và Hòa Bình, Nghệ An (vụ Xuân 2021), giống ĐH8 có năng suất tương đương với giống đối chứng (sai khác không có ý nghĩa thống kê).

Bảng 4. Mức độ nhiễm sâu bệnh của giống ĐH8 ở các vụ khảo nghiệm

Tên giống	Bệnh (điểm)					Sâu (điểm)		
	<u>Đạo ôn lá</u>	<u>Đạo ôn cổ bông</u>	<u>Bạc lá</u>	<u>Khô vằn</u>	<u>Đốm nâu</u>	<u>Đục thân</u>	<u>Cuốn lá</u>	<u>Rầy nâu</u>
Xuân 2020								
ĐH8	0-1	0-1	0-3	0-3	0-3	0-1	0-1	0-1
Nếp N97 (ĐC)	0-1	0-1	0-3	0-3	0-1	0-1	0-1	0-1
Mùa 2020								
ĐH8	0-3	0-3	0-1	0-3	0-1	0-3	1-3	0-1
Nếp N97 (ĐC)	0-1	0-1	0-3	0-3	0-1	0-1	1-3	0-1
Xuân 2021								
ĐH8	0-1	0-1	0-3	0-3	0-1	0-3	0-1	0-1
Nếp N97 (ĐC)	0-1	0-1	0-3	0-3	0	0-1	0-1	0-1

Nguồn: Trung tâm khảo nghiệm giống, sản phẩm cây trồng Quốc gia

Kết quả đánh giá mức độ nhiễm sâu bệnh được trình bày tại bảng 4 cho thấy giống ĐH8 nhiễm nhẹ sâu bệnh hại chính như bạc lá, đạo ôn và rầy nâu (điểm 0-3). Mức độ nhiễm sâu bệnh của giống ĐH8 tương đương với đối chứng nếp N97.

Bảng 5. Đánh giá chỉ tiêu chất lượng gạo của giống lúa thuần ĐH8

Tên giống	<u>Tỷ lệ gạo lật (%)</u>	<u>Tỷ lệ gạo xát (%)</u>	<u>Tỷ lệ gạo nguyên (%)</u>	<u>Chiều dài hạt gạo (mm)</u>	<u>Tỷ lệ D/R</u>	<u>Độ bền gel</u>	<u>Nhiệt độ hóa hồ</u>	<u>Hàm lượng amylose (%CK)</u>
Vụ Xuân 2020								
ĐH8	74,83	53,24	14,38	5,91	2,24	Mềm	TB	3,14
Nếp N97 (ĐC)	80,94	63,95	38,07	4,99	1,92	Mềm	TB	2,95
Vụ Mùa 2020								
ĐH8	78,31	58,86	38,60	6,10	2,41	Mềm	TB	3,17
Nếp N97 (ĐC)	81,76	67,04	65,65	5,18	2,09	Mềm	TB	3,67
Vụ Xuân 2021								
ĐH8	77,32	57,20	6,76	6,10	2,34	Mềm	TB	3,89
Nếp N97 (ĐC)	81,24	67,07	61,93	5,18	2,00	Mềm	TB	3,30

Nguồn: Trung tâm khảo nghiệm giống, sản phẩm cây trồng Quốc gia

Ghi chú: TB: Trung bình

Đối với giống lúa cẩm, gạo được sử dụng là gạo lật vì chất chống oxy hoá anthocyanin nằm ở vỏ cám. Giống lúa cẩm ĐH8 có tỷ lệ gạo lật biến động từ 74,83 đến 78,31%, chiều dài hạt từ 5,91 đến 6,10 mm, độ bền thể gel mềm, nhiệt độ hoá hồ trung bình, hàm lượng amylose thấp (3,14-3,89% trong vụ Xuân và 3,17% trong vụ Mùa).

3.3. Khảo nghiệm diện rộng

Bảng 6. Thời gian sinh trưởng và năng suất giống ĐH8 tại các điểm khảo nghiệm trong vụ Xuân 2021 và vụ Xuân 2022

Vụ khảo nghiệm	Địa điểm	Thời gian sinh trưởng (ngày)		Năng suất thực thu (tạ/ha)	
		ĐH8	Nếp 97 (đ/c)	ĐH8	Nếp 97 (đ/c)
Vụ Xuân 2021	Hoà Bình	131	122	52,1	57,3
	Hưng Yên	130	125	49,3	68,1
	Nghệ An	127	127	61,3	65,6
	Trung bình			54,2	63,7
Vụ Xuân 2022	Vùng Trung Du miền núi phía Bắc				
	Hoà Bình	140	135	52,8	57,1
	Lào Cai	133	131	50,2	50,3
	Yên Bái	143	138	65,3	56,5
	Trung Bình	139	135	56,1	54,6
	Vùng Đồng bằng sông Hồng				
	Vĩnh Phúc	144	151	51,4	63,1
	Hưng Yên	147	143	59,09	60,7
	Thái Bình	134	131	54,67	58,4
	Trung Bình	142	142	55,05	60,7
	Vùng Bắc Trung Bộ				
	Thanh Hoá	135	135	66,8	71,3
	Nghệ An	126	126	51,5	60,5
	Trung Bình	131	131	59,15	65,9

Nguồn: Trung tâm khảo kiểm nghiệm giống, sản phẩm cây trồng Quốc gia

Trong vụ Xuân 2021, giống ĐH8 sinh trưởng phát triển tốt, khả năng đẻ nhánh khá, thời gian sinh trưởng của giống từ 127 - 131 ngày, năng suất trung bình 54,2 tạ/ha. Năng suất giống ĐH8 tại vùng Trung du miền núi phía Bắc đạt 54,2 tạ/ha, tại vùng đồng bằng sông Hồng đạt 49,3 tạ/ha và tại vùng Bắc Trung Bộ đạt 61,3 tạ/ha. Trong vụ Xuân 2022: Tại vùng Trung Du miền núi phía Bắc, giống ĐH8 có thời gian sinh trưởng trung bình là 139 ngày. Tuy nhiên do thời tiết bất thường, thời gian sinh trưởng bị kéo dài 7-10 ngày, năng suất trung bình đạt trung bình đạt 56,1 tạ/ha. Tại vùng Đồng bằng sông Hồng, giống ĐH9 có thời gian sinh trưởng trung bình là 142 ngày, năng suất trung bình đạt 55,05 tạ/ha. Tại vùng Bắc Trung Bộ, giống ĐH8 có thời gian sinh trưởng trung bình là 131 ngày, năng suất trung bình đạt 59,15 tạ/ha.

3.4. Khảo nghiệm có kiểm soát

Kết quả đánh giá phản ứng đối với sâu, bệnh cho thấy giống lúa ĐH8 có phản ứng nhiễm vừa (cấp bệnh 5) đối với nguồn bệnh đạo ôn thu thập tại Yên Bái, Nam Định và Thanh Hoá. Đối với bệnh bạc lá lúa, giống có phản ứng nhiễm (cấp bệnh 7,0) với nguồn bệnh thu thập tại Nam Định, Lào Cai và Thanh Hoá. Đối với rầy, giống ĐH8 có mức phản ứng nhiễm vừa (cấp hại 5,0) với nguồn rầy nâu hại lúa ở Yên Bái, Nam Định và Nghệ An.

Bảng 7. Kết quả đánh giá khả năng chống chịu sâu, bệnh của giống ĐH8 thông qua lây nhiễm nhân tạo

TT	Vùng sinh thái	Nguồn bệnh thu thập	Cấp bệnh	Phản ứng
----	----------------	---------------------	----------	----------

1	Bệnh đạo ôn			
	Miền <u>núi phía Bắc</u>	Thanh Lương, Nghi Lộ, Yên Bái	5	Nhiễm vừa
	Đồng bằng sông Hồng	Hải Quang, Hải Hậu, Nam Định	5	Nhiễm vừa
	Bắc Trung Bộ	Vĩnh Tân, Vĩnh Lộc, Thanh Hóa	5	Nhiễm vừa
2	Bệnh bạc lá			
	Miền <u>núi phía Bắc</u>	Tân Thượng, Văn Bảng, Lào Cai	7	Nhiễm
	Đồng bằng sông Hồng	Hải Quang, Hải Hậu, Nam Định	7	Nhiễm
	Bắc Trung Bộ	Vĩnh Tân, Vĩnh Lộc, Thanh Hóa	7	Nhiễm
3	Rầy nâu			
	Miền <u>núi phía Bắc</u>	Thanh Lương, Nghi Lộ, Yên Bái	5	Nhiễm vừa
	Đồng bằng sông Hồng	Hải Quang, Hải Hậu, Nam Định	5	Nhiễm vừa
	Bắc Trung Bộ	Minh Châu, Diên Châu, Nghệ An	5	Nhiễm vừa

Nguồn: Viện Bảo vệ thực vật

3.5. Kết quả khảo nghiệm DUS

Theo đánh giá của Trung tâm khảo kiểm nghiệm giống, sản phẩm cây trồng Quốc gia, giống ĐH8 khác biệt với các giống được biết đến rộng rãi (ĐH6) về khối lượng, kích thước hạt. Giống ĐH8 đảm bảo tính đồng nhất thông qua số cây khác dạng trên tổng số cây quan sát là: 2/1000 (năm 2020) và 2/1000 (năm 2021), không vượt quá số cây khác dạng tối đa cho phép (3/1000 cây). Giống ĐH8 có tính ổn định vì qua 2 vụ khảo nghiệm có tính đồng nhất cao.

Bảng 8. Sự khác biệt giữa giống ĐH8 với giống tương tự ĐH6 trong vụ Xuân 2020 và Xuân 2021

Tính trạng	Năm	Giống đăng ký	Giống tương tự	Khoảng cách tối thiểu
Khối lượng 1000 hạt	2020	7	5	2
	2021			
Chiều <u>rộng hạt thóc</u>	2020	6	4	2
	2021			
Chiều rộng hạt gạo lật	2020	7 (3,05-2,86mm)	6 (2,59-2,48mm)	1 (0,2mm)
	2021			

Nguồn: Trung tâm khảo kiểm nghiệm giống, sản phẩm cây trồng Quốc gia

3.6. Khảo nghiệm sản xuất

Tại Điện Biên, trong điều kiện vụ Xuân, giống lúa nếp cẩm ĐH8 có thời gian sinh trưởng 130 ngày, ngắn hơn giống Nếp cẩm lửa 15 ngày. Trong vụ Mùa, giống ĐH8 có thời gian sinh trưởng ngắn 114 ngày, ngắn hơn so với giống Nếp cẩm lửa là 4 ngày. Giống lúa nếp cẩm ĐH8 nhiễm nhẹ rầy nâu, bạc lá, đạo ôn; năng suất thực thu đạt 56,3 tạ/ha trong vụ Xuân, cao hơn đối chứng Nếp cẩm lửa 26,5%.

Bảng 9. Thời gian sinh trưởng, năng suất và mức độ nhiễm sâu bệnh của giống lúa cẩm ĐH8 tại một số tỉnh phía Bắc

Chi tiêu	Điện Biên			
	Xuân 2023	Mùa 2023	Xuân 2023	Mùa 2023
	Giống ĐH8		Nếp <u>cẩm lửa</u>	
Thời gian sinh trưởng (ngày)	130	114	145	118

Năng suất thực thu (tạ/ha)	56,3	51,8	44,5	40,6
Đạo ôn lá (điểm)	1	1	1	0
Bạc lá (điểm)	0	0	0	0
Rầy nâu (điểm)	3	3	3	3
	Ninh Bình			
	Giống ĐH8		Giống nếp cẩm Ninh Bình	
Thời gian sinh trưởng (ngày)	132	112	137	128
Năng suất thực thu (tạ/ha)	57,6	54,5	49,2	48,3
Đạo ôn lá (điểm)	1	1	0	3
Bạc lá (điểm)	0	0	0	1
Rầy nâu (điểm)	0	0	0	1
	Nghệ An			
	Giống ĐH8		Giống N97	
Thời gian sinh trưởng (ngày)	132	108	130	109
Năng suất thực thu (tạ/ha)	61,3	54,7	59,8	55,6
Đạo ôn lá (điểm)	1	1	3	1
Bạc lá (điểm)	1	3	3	3
Rầy nâu (điểm)	1	1	1	1

Tại Ninh Bình, trong vụ Xuân, giống lúa nếp cẩm ĐH8 có thời gian sinh trưởng 132 ngày, thuộc nhóm ngắn ngày, ngắn hơn giống nếp cẩm Ninh Bình là 5 ngày. Trong vụ Mùa, giống ĐH8 có thời gian sinh trưởng ngắn 112 ngày, ngắn hơn hẳn so với giống nếp cẩm Ninh Bình là 16 ngày. Giống lúa nếp cẩm ĐH8 nhhiễm nhẹ rầy nâu, bạc lá, đạo ôn. Giống ĐH8 có năng suất đạt 57,6 tạ/ha trong vụ Xuân, cao hơn đối chứng nếp cẩm Ninh Bình là 17,1%; và 54,5 tạ/ha trong vụ Mùa, cao hơn giống đối chứng Nếp cẩm Ninh Bình là 12,8%.

Tại Nghệ An, trong điều kiện vụ Hè Thu, giống ĐH8 có thời gian sinh trưởng ngắn (108 ngày) tương đương với giống đối chứng Nếp 97 (109 ngày), năng suất thực thu đạt 54,7 tạ/ha, đối chứng Nếp 97 là 55,6 tạ/ha. Trong điều kiện vụ Xuân, giống ĐH8 có thời gian sinh trưởng ngắn (132 ngày) tương đương với giống đối chứng Nếp 97 (130 ngày), năng suất thực thu đạt 61,3 tạ/ha, đối chứng Nếp 97 là 59,8 tạ/ha. Giống ĐH8 nhhiễm nhẹ các loại sâu bệnh chính hại lúa (rầy nâu, bạc lá, đạo ôn) hơn so với giống đối chứng Nếp 97 trong cả vụ Xuân và Mùa (Hè Thu).

4. KẾT LUẬN

Trong khảo nghiệm tác giả, VCU, DUS, giống lúa nếp cẩm ĐH8 có thời gian sinh trưởng ngắn: 130 - 135 ngày trong vụ Xuân, 110 - 115 ngày trong vụ Mùa và 105 - 108 ngày trong vụ Hè Thu. Năng suất khá cao, từ 55 - 60 tạ/ha trong vụ Xuân và từ 50 - 55 tạ/ha trong vụ Mùa hoặc Hè Thu. Khảo nghiệm có kiểm soát, giống lúa ĐH8 có phản ứng nhhiễm vừa (cấp bệnh 5) đối với bệnh đạo ôn và rầy nâu; phản ứng nhhiễm (cấp bệnh 7,0) với bệnh bạc lá.

Tại một số tỉnh phía Bắc, giống lúa nếp cẩm ĐH8 có thời gian sinh trưởng ngắn (125 - 130 ngày trong vụ Xuân, 100-105 ngày trong vụ Mùa hoặc Hè Thu), nhhiễm nhẹ sâu bệnh. Giống ĐH8 có năng suất đạt 56,3 - 61,3 tạ/ha trong vụ Xuân, cao hơn giống đối chứng từ 17,1 - 26,5%; đạt 51,8 - 54,7 tạ/ha trong vụ Mùa (Hè Thu), cao hơn giống đối chứng 12,8 - 26,6%.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Bộ Khoa học và Công nghệ (2008). Tiêu chuẩn Quốc gia TCNV5716-2: 2008. Gạo - xác định hàm lượng amylose.

- Bộ Khoa học và Công nghệ (2010). Tiêu chuẩn Quốc gia TCNV8372: 2010. Gạo trắng - xác định tỉ lệ trắng trong, trắng bạc và độ trắng bạc.
- Bộ Khoa học và Công nghệ (2010). Tiêu chuẩn Quốc gia TCNV8373: 2010. Gạo trắng - đánh giá chất lượng cảm quan cơm bằng phương pháp cho điểm.
- Bộ Khoa học và Công nghệ (2021). Tiêu chuẩn TCVN13381-1:2021. Giống cây lương thực có hạt – Khảo nghiệm tính khác biệt, tính đồng nhất và tính ổn định (DUS). Phần 1: Lúa.
- Bộ Khoa học và Công nghệ (2021). Tiêu chuẩn Việt Nam TCVN13381-1:2021. Giống cây lương thực có hạt – Khảo nghiệm giá trị canh tác và giá trị sử dụng (VCU). Phần 1: Lúa.
- Đoàn Thanh Quỳnh, Đàm Văn Hưng, Nguyễn Thị Hào, Vũ Thị Bích Hạnh, Trần Văn Quang, Vũ Văn Liết (2014). Kết quả tuyển chọn và khảo nghiệm giống lúa nếp cẩm mới ĐH6. Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn, chuyên đề giống cây trồng vật nuôi, tập 2 - tháng 12/2014.
- Nguyễn Hòa Hân, Hồ Huy Cường, Hồ Sĩ Công, Phạm Văn Nhân, Tạ Thị Huy Phú, Nguyễn Xuân Thủy Quỳnh, Phan Thị Phương Nhi (2023). Nghiên cứu sinh trưởng, phát triển, năng suất và phẩm chất của một số dòng lúa gạo màu mới chọn tạo tại tỉnh Bình Định. Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn, số 14 năm 2023, trang 3-11.
- Phạm Văn Dân, Vũ Văn Dũng, Nguyễn Việt Hà, Nguyễn Xuân Dũng, Hà Thảo Nguyên, Đỗ Thị Thu Trang, Vũ Văn Khánh, Nguyễn Quỳnh Như, Vũ Thị Thùy Vân (2023). Nghiên cứu tuyển chọn giống lúa thảo dược tại tỉnh Tuyên Quang. Tạp chí Khoa học và Công nghệ Nông nghiệp Việt Nam - Số 07(149), trang 3-10.
- Farhan Mohiuddin Bhat, Sarana Rose Sommano, Charanjit Singh Riar, Phisit Seesuriyachan, Thanongsak Chaiyaso and Chanakan Prom-u-Thai (2020). Status of Bioactive Compounds from Bran of Pigmented Traditional Rice Varieties and Their Scope in Production of Medicinal Food with Nutraceutical Importance. *Agronomy* 2020, 10, 1817; doi:10.3390/agronomy10111817.
- Gomez, Kwanchai A. and Arturo A. Gomez (1984). *Statistical procedures for agricultural research*, 2nd Edition. John Wiley & Sons, Inc..
- IRRI (2002). *Standard evaluation system for rice*, International rice research institute, P.O. Box 933.1099, Manila, philippines.
- Kabria K., Islam M.M. and Begum S.N. (2008), Screening of aromatic rice lines by phenotypic and molecular markers. *Bangladesh J. Bot.*, 37(2): 141-147.
- Madhurima* (2024). Black rice: an under utilized super food. *Just agriculture*, January. <https://justagriculture.in/files/magazine/2024/january/003%20Black%20Rice.pdf>.
- Maeda, H.; Yamaguchi, T.; Omoteno, M.; Takarada, T.; Fujita, K.; Murata, K.; Ebitani, T. (2014). Genetic dissection of black grain rice by the development of a near isogenic line. *Breed Sci.*, 64, 134–141.

NGHIÊN CỨU ĐẶC ĐIỂM THỰC VẬT HỌC CỦA CÂY THUỐC HOÀNG CÀM (*Scutellaria baicalensis* Georgi) TRỒNG TẠI BẮC HÀ - LÀO CAI

Trần Thị Liên¹, Đoàn Thị Huyền Trang^{1,2}, Tô Minh Tứ¹, Phùng Thị Thu Hà^{2*}

¹ Viện Dược liệu;

² Học viện Nông nghiệp Việt Nam

*Email: phungthithuha@gmail.com

ABSTRACT

Scutellaria baicalensis Georgi is a medicinal plant used for more than 2000 years in East Asian countries and is recorded in the Chinese pharmacopoeia. Our research aims to describe the morphological and anatomical characteristics of *S. baicalensis* grown in Bac Ha – Lao Cai, contributing to plant database for identification. It also provides data to influence planting technique to increase the yield of medicinal herbs. The result showed that: *S. baicalensis* had less branching tuberous roots, square young stem. Leaves were simple, opposite, lanceolate blade, pinnate venation. Flowers were solitary, bisexual; purple corolla divided into 2 lips; stamens 4, triangular anthers; superior. Fruits were achene, persistent calyx. The seeds were black, egg-shaped. The anatomy of root had a circular cross-section, demal tissue consist of many cork layers, abundant of secondary xylem and sclerids cell. The anatomy of stem had a square cross-section, convex corners, the vascular bundle is concentrated in 4 convex corners, the top of bundle were protected by sclerenchyma and collenchyma tissues, large pith. Leaf anatomy was covered with trichome, large mesophyll tissue and less area of xylem tissue.

Keywords: *Anatomy, Morphology, Scutellaria baicalensis Georgi*

TÓM TẮT

Cây Hoàng cầm (*Scutellaria baicalensis* Georgi) là cây thuốc được sử dụng hơn 2000 năm ở các nước Đông Á và được ghi vào dược điển Trung Quốc. Nghiên cứu của chúng tôi nhằm mô tả đầy đủ đặc điểm hình thái và vi phẫu của cây Hoàng cầm trồng tại Bắc Hà – Lào cai góp phần hoàn thiện cơ sở nhận diện, tra cứu loài và cung cấp dẫn liệu để tác động các biện pháp kỹ thuật nhằm tăng năng suất dược liệu. Kết quả cho thấy: Hoàng cầm có rễ củ phân nhánh ít, thân non có 4 cạnh. Lá đơn, mọc đối, phiến hình mác, hệ gân lông chim. Hoa đơn độc, lưỡng tính; tràng màu tím chia 2 môi ; nhị 4, bao phấn hình tam giác, bầu trên. Quả bế, có đài đồng trường. Hạt hình trứng, màu đen. Vi phẫu rễ có tiết diện tròn, phía ngoài có nhiều lớp bản bao phủ, gỗ thứ cấp và tế bào đá nhiều. Vi phẫu thân có tiết diện hình vuông, các góc lồi, bó dẫn tập trung ở 4 góc lồi, đỉnh bó dẫn có cương mô và mô dày bảo vệ, nhu mô ruột nhiều. Vi phẫu lá có phủ lông bì, mô mềm chuyên hóa chiếm diện tích lớn, kích thước bó gỗ nhỏ.

Từ khóa: *Hình thái, Hoàng cầm, vi phẫu.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Hoàng cầm có tên khoa học là *Scutellaria baicalensis* Georgi, thuộc chi *Scutellaria* của họ Bạc hà (Lamiaceae). Chi *Scutellaria* L. Gồm 300 loài phân bố rải rác ở vùng ôn đới, cận nhiệt đới và nhiệt đới thuộc châu Á, châu Âu, châu Phi và một số đảo Thái Bình Dương. Ở Việt Nam, chi này có 15 loài, trong đó hầu hết là cây mọc tự nhiên, chỉ có 1 loài Hoàng cầm được nhập từ Liên Xô vào năm 1975 và được trồng lưu giữ tại Vườn thuốc của Viện dược liệu tại Sapa (Đỗ Huy Bích & cs., 2006). Hoàng cầm là cây ưa sáng, ưa khí hậu ẩm mát của vùng núi cao. Cây trồng ở SaPa sinh trưởng và phát triển tốt trong điều kiện nhiệt độ trung bình năm từ 13-15°C (Đỗ Huy Bích & cs., 2006).

Bộ phận sử dụng làm thuốc của Hoàng cầm là rễ, chữa sốt cao kéo dài, cảm mạo, ung nhọt, băng huyết, vàng da... (Đỗ Huy Bích & cs., 2006; Zhao & cs., 2016). Loài *Scutellaria baicalensis* Georgi cũng được ghi nhận sử dụng làm thuốc ở một số nước Đông Á đặc biệt là Trung Quốc trong hơn 2000 năm qua và được ghi trong dược điển Trung Quốc, dược điển Châu Âu và dược điển Anh (Zhao & cs., 2016; Wojtunik-Kulesza & cs., 2021; Chmiel & Stompor-Gorący, 2023). Có hơn 40 hợp chất thứ cấp đã được phân lập và định danh từ rễ Hoàng cầm *Scutellaria baicalensis* bao gồm nhóm flavonoids, terpenoids, tinh dầu và polysaccharides (Zhao & cs., 2019). Một số chất được quan tâm nhiều như baicalein, wogonin and oroxylin A có tác dụng kháng khuẩn, kháng vi rút, kháng viêm, loại bỏ các gốc tự do, ức chế enzym (Wojtunik-Kulesza & cs., 2021).

Các nghiên cứu trên cây Hoàng cầm chủ yếu tập trung vào các hoạt chất thứ cấp trong cây, số ít nghiên cứu về khả năng thích nghi và biện pháp kỹ thuật nhằm tăng năng suất dược liệu. Các mô tả về đặc điểm hình thái của cây còn sơ sài và chưa có nghiên cứu về đặc điểm vi phẫu của cây. Vì vậy, chúng tôi đã tiến hành nghiên cứu giải phẫu của thân, lá, thân rễ, rễ củ nhằm xây dựng cơ sở dữ liệu về đặc điểm thực vật học của cây Hoàng cầm làm cơ sở nhận biết, thu hái dược liệu, góp phần phát triển bền vững nguồn gen dược liệu Hoàng cầm.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Đối tượng nghiên cứu: cây thuốc Hoàng cầm (*Scutellaria baicalensis* Georgi) 2 năm tuổi, trồng tại Bắc Hà – Sapa, được cung cấp bởi dược Trung tâm Nghiên cứu trồng và chế biến cây thuốc Hà Nội.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp mô tả hình thái

Hình thái các cơ quan sinh dưỡng (rễ, thân, lá) và cơ quan sinh sản (hoa, quả, hạt) của cây Hoàng cầm 2 năm tuổi được mô tả theo phương pháp hình thái so sánh của Nguyễn Nghĩa Thìn (2007). Các cơ quan sinh dưỡng và sinh sản được quan sát, đo đếm và mô tả đặc điểm tỷ mỉ, chụp ảnh minh họa.

2.2.2. Phương pháp cắt giải phẫu

Được thực hiện theo phương pháp cải tiến của Trần Công Khánh (1981) và Nguyễn Nghĩa Thìn (2007).

Mẫu rễ, thân, lá tươi của cây Hoàng cầm 2 năm tuổi được cố định trong cồn 70^o cho đến khi loại hết diệp lục trong mô. Sau đó rửa bằng nước cất, rồi cắt thành các lát cắt mỏng từ 2 đến 3 lớp tế bào bằng dao lam. Đối với mẫu rễ và thân, các lát cắt được cắt vuông góc qua rễ, thân; còn đối với mẫu lá, các lát cắt được cắt vuông góc với gân chính tại vị trí chính giữa phiến lá của các lá bánh tẻ. Sau khi cắt xong, các lát cắt có độ mỏng thích hợp được tẩy trong nước javel cho đến khi loại hết các tạp chất trong mô, sau đó được nhuộm trong dung dịch carmin-phèn 3% trong 24 h. Sau đó, mẫu

được rửa 3 lần bằng nước cất rồi nhuộm tiếp bằng xanh methylen 0,01% trong 10 phút, rửa mẫu 3 lần bằng nước cất rồi bảo quản trong glycerin. Làm tiêu bản giọt ép, quan sát các lát cắt, chụp ảnh và mô tả cấu tạo của các cơ quan.

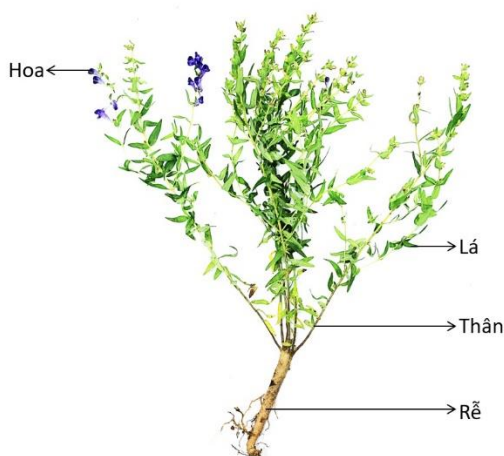
Tiêu bản được quan sát dưới kính hiển vi Nikon YS100 với thị kính 10x, vật kính 4x, 10x, 40x và kính soi nổi STECK JSZ5B với thị kính 10x, vật kính 1-4,5x. Chụp ảnh bằng máy ảnh Sony DSC-HX7V.

2.3. Thời gian và địa điểm nghiên cứu

Nghiên cứu được thực hiện năm 2023 tại Bộ môn Thực vật – Khoa Nông học - Học viện Nông nghiệp Việt Nam.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Đặc điểm hình thái của cây thuốc Hoàng cầm



Hình 1. Hình thái toàn cây của cây thuốc Hoàng cầm (*Scutellaria baicalensis* Georgi)

3.1.1. Đặc điểm hình thái rễ

Hoàng cầm có bộ rễ cọc, mang đặc trưng của cây hai lá mầm. Rễ chính phát triển, phình to tạo thành củ, thon dài, phân nhánh ít (Hình 1, 2). Chiều dài củ Hoàng cầm từ 20- 30 cm, đường kính củ 1,2-1,5 cm. Vỏ ngoài củ màu nâu xám, sần sùi, có các rễ bên nhỏ, thịt củ màu vàng sậm (Hình 2).

Theo ghi nhận của Đỗ Huy Bích & cs. (2006) thì cây Hoàng cầm có rễ thon dài, màu vàng. Chưa có ghi nhận về đặc điểm của thịt củ, ghi nhận của chúng tôi góp phần mô tả đầy đủ hơn về hình thái bộ rễ, đặc biệt là phần củ - bộ phận dược liệu của cây thuốc Hoàng cầm.



Hình 2. Đặc điểm hình thái rễ củ của cây thuốc Hoàng cầm
A. Hình thái rễ củ và lát cắt ngang qua củ; B. Lát cắt ngang qua củ

3.1.2. Đặc điểm hình thái thân

Cây Hoàng cầm là cây thân thảo (Hình 1), cây sống nhiều năm tuy nhiên thân cây chỉ tồn tại trong 1 năm và lụi đi sau giai đoạn sinh sản, mầm mới sẽ mọc lên vào năm sau từ phần thân còn sót lại phía trên củ, tạo thành thân mới.

Thân đứng, phân nhánh nhiều (Hình 3A), chiều cao của thân từ 30-60 cm, có thể tới 80 cm. Thân phủ lông trắng (Hình 3D); thân non màu xanh nhạt, có 4 cạnh, phủ nhiều lông biểu bì (Hình 3B, D); thân già chuyển dần sang màu nâu xám, tiết diện ngày càng tròn về phía gốc của thân và lông biểu bì cũng ít dần (Hình 3C).

Đặc điểm thân non có 4 cạnh theo ghi nhận trên cây Hoàng cầm của chúng tôi mang đặc trưng của họ Bạc hà (Lamiaceae) theo mô tả của Phùng Thị Thu Hà & cs. (2021). Mô tả của chúng tôi cũng góp phần làm chi tiết hơn đặc điểm hình thái thân của cây Hoàng cầm so với mô tả của Đỗ Huy Bích & cs. (2006).



Hình 3. Đặc điểm hình thái thân của cây thuốc Hoàng cầm

A. Thân phân nhánh; B. Hình thái thân non; C. Hình thái thân già; D. Thân non phủ lông biểu bì

3.1.3. Đặc điểm hình thái lá



Hình 4. Đặc điểm hình thái lá của cây thuốc Hoàng cầm

A. Cách sắp xếp lá trên thân; B. Hình thái mặt trên (trái) và mặt dưới (phải) của lá; C. Lá phủ lông biểu bì

Cây Hoàng cầm có lá đơn, mọc đối chéo chữ thập (Hình 4A, B); cuống lá ngắn và dẹt, kích thước cuống lá 1,5 x 2,0 mm (Hình 4B). Phiến lá hình mũi mác, hình thuôn hay mũi mác thuôn, mặt trên xanh đậm hơn mặt dưới; kích thước phiến lá 2,5-4,5 x 0,5-1,2 cm; góc lá tròn hay tù, chóp lá

nhọn hay tù, mép lá nguyên, hơi uốn xuống (Hình 4B), lá có lông ở cả hai mặt, mép nhiều lông (Hình 4C), có tuyến dễ nhận; hệ gân lông chim, gân chính nổi rõ, lõm ở mặt trên, lồi ở mặt dưới; gân bên 3-4 cặp, sát mép, rõ ở các lá ở góc, các lá phía trên mờ, gân tam cấp khó nhận rõ (Hình 4B).

Mô tả về hình thái lá của chúng tôi tương đồng với mô tả của Đỗ Huy Bích & cs. (2006), có chi tiết và đầy đủ hơn. Đặc điểm lá đơn, mọc đối trên cây Hoàng cầm theo ghi nhận của chúng tôi mang đặc trưng của họ Bạc hà (Lamiaceae) theo mô tả của Phùng Thị Thu Hà & cs. (2021).

3.1.4. Đặc điểm hình thái hoa

Hoa đơn độc, lưỡng tính, đối xứng hai bên, mọc từ nách lá phía đỉnh cành (Hình 5A, B). Tuy nhiên theo ghi nhận của Đỗ Huy Bích & cs. (2006) thì Hoàng cầm có hoa dạng cụm xim khác với ghi nhận của chúng tôi.

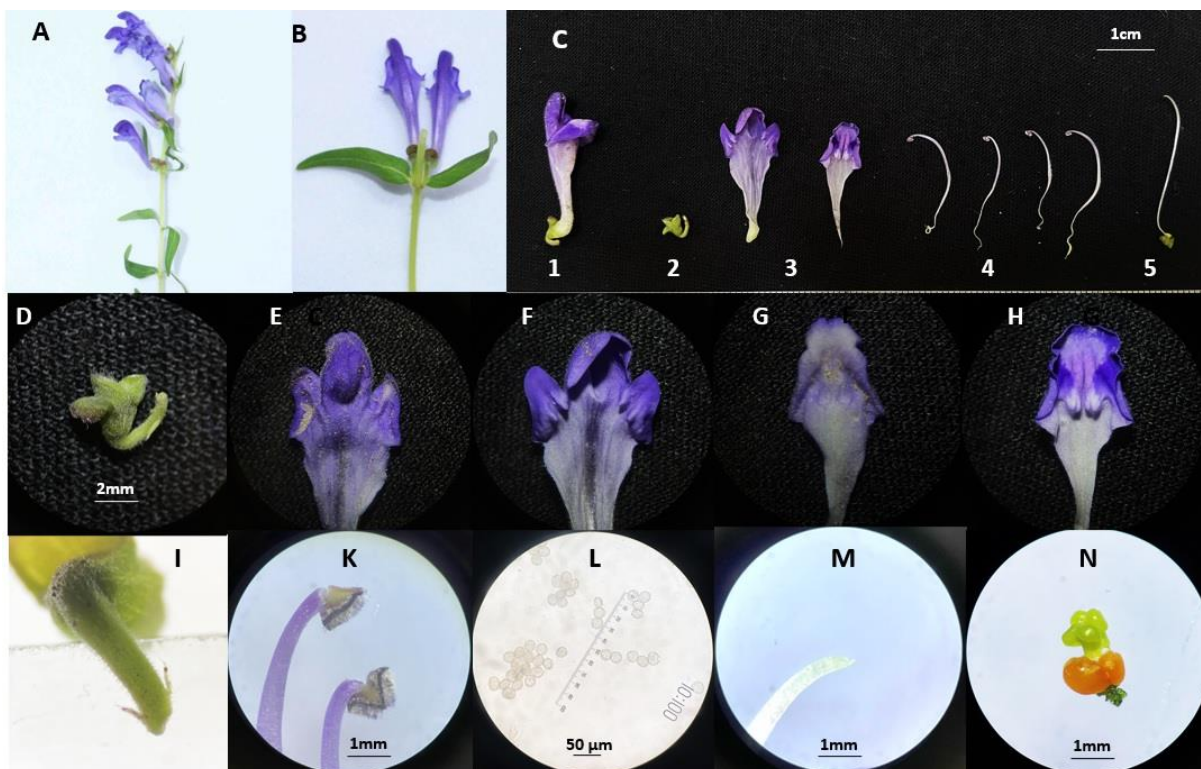
Lá bắc như lá sinh dưỡng, kích thước 1,0-3,0 x 0,5-1 cm, càng gần ngọn lá càng nhỏ, luôn dài hơn đài, bền (Hình 5A). Cuống hoa tròn, kích thước 3 x 1 mm, nhiều lông nhưng trắng ngắn, có phần phụ dạng sợi ở hai bên gốc cuống hoa (Hình 5I).

Đài hợp thành ống hình chuông, kích thước 4 x 2 mm, có 2 môi, mặt ngoài phủ nhiều lông biểu bì trắng, mặt trong không lông; tồn tại cùng quả; mào phát triển lớn, kích thước 6 x 7 mm (Hình 5C2, D).

Tràng hợp thành ống hình chuông, màu tím đậm, nhạt dần từ đỉnh tới gốc tràng; dài 2,0-2,5 cm; mặt ngoài phủ lông biểu bì; gốc ống tràng cong hướng lên trên; đỉnh tràng chia 2 môi (Hình 5C1); môi trên chia 3 thùy sâu, thùy giữa lớn hơn và đầu thùy tròn hơn 2 thùy bên; mỗi thùy có 2 vết lồi phía mặt trong (Hình 5E, F); môi dưới chia 2 thùy nông, mỗi thùy 1 mào lồi nổi rõ mặt trong (Hình 5G, H)

Nhị 4, cong về phía môi dưới, không thò khỏi tràng, chỉ nhị dính ống tràng 3-4 mm ở họng môi trên, 2 nhị ở giữa ngắn hơn 2 nhị phía ngoài, chỉ nhị màu tím nhạt, đậm hơn ở chỉ nhị ngắn (Hình 5C4, K). Nhị dài có bao phấn hình tam giác, màu tím đen, cạnh dài có nhiều lông trắng (Hình 5K). Nhị ngắn có bao phấn hình mũi mác, màu tím đen, hai cạnh của mũi mác có nhiều lông trắng (Hình 5K). Bao phấn đều chia 2 ô, 4 túi phấn. Nhị dài có phần chỉ nhị rời dài 7 mm, nhị ngắn có phần chỉ nhị rời dài 5 mm., Hạt phấn hình cầu, đường kính 22-25 μ m, có 3 rãnh, 3 lỗ phấn (Hình 5L).

Nhụy dài 2,7 cm, vòi nhụy cong cùng hướng với nhị, màu trắng; vòi nhụy dính họng môi trên của tràng; đầu nhụy nhọn, xẻ 2 (Hình 5C5, M). Bầu trên, màu xanh nhạt, nhẵn; phía dưới có đĩa mật màu cam dễ nhận, trên đĩa mật lấm tấm nốt trắng, thùy trước lớn làm bầu uốn cong. Bầu 2 ô sau hình thành vách ngăn giả thành bầu 4 ô, lồi rõ, mỗi ô chứa 1 noãn; gốc vòi nhụy dính ở đáy bầu (Hình 5N).



Hình 5. Đặc điểm hình thái hoa của cây thuốc Hoàng cầm

A. Hình thái hoa trên cây; B. hai hoa mọc từ hai nách lá đối nhau; C. Phân tích thành phần hoa; (1. Hình thái 1 hoa; 2. Đài; 3. Tràng (môi trên và môi dưới); 4. Bộ nhị gồm 4 nhị; 5. Bộ nhụy); D. Đài hợp hình chuông; E. Mặt ngoài môi trên; F. Mặt trong môi trên; G. Mặt ngoài môi dưới; H. Mặt trong môi dưới; I. Cuống hoa; K. Hình thái nhị dài và nhị ngắn; L. Hình thái hạt phấn; M. Vòi nhụy chẻ đôi. N. Bầu

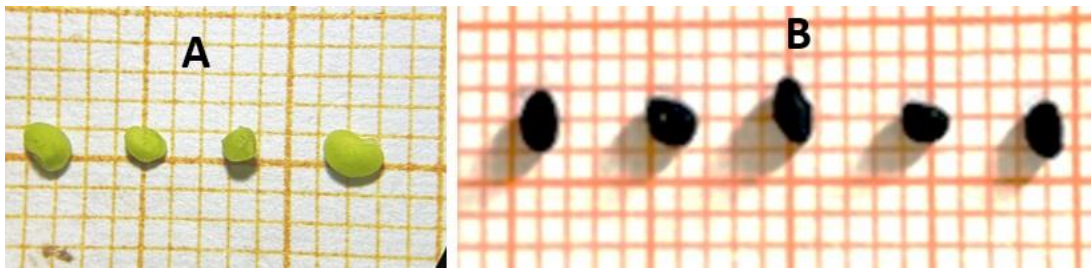
3.1.5. Đặc điểm hình thái quả và hạt

Quả quả bé, thường có 4 hạt nên gọi là bế tụy, đôi khi tiêu biến còn ít hơn 4 hạt; quả dài 5,5-6,5 cm, rộng 4-5 cm, có đài đồng trường (Hình 6).



Hình 6. Hình thái quả của cây thuốc Hoàng cầm

Hạt Hoàng cầm có hình trứng, màu đen, kích thước 2,0 x 1,5 mm, vỏ sần sùi, rón hóp ở đáy, hạt không có nội nhũ. (Hình 7).



Hình 7. Hình thái hạt của cây thuốc Hoàng cầm

A. Hình thái hạt khi quả non; B. Hình thái hạt khi quả chín

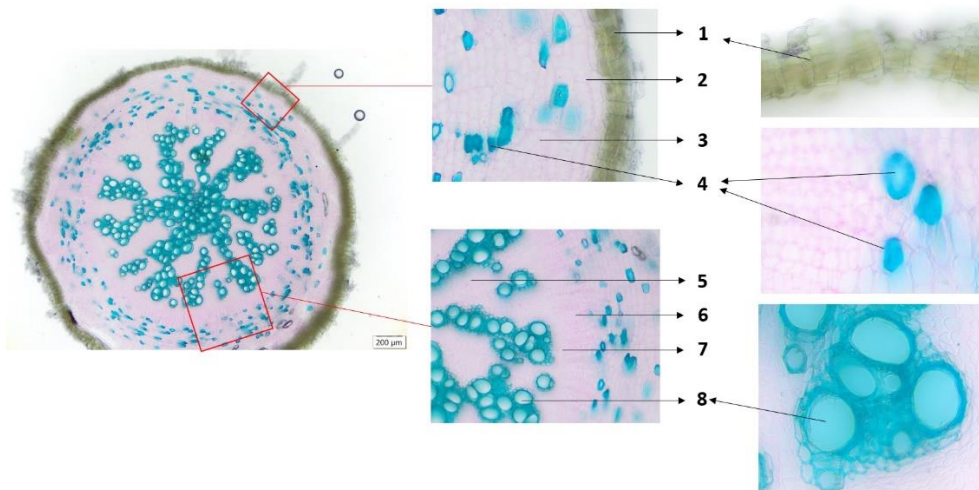
Theo Đỗ Huy Bích & cs. (2006) thì quả Hoàng cầm hình cầu, khác với kết quả của chúng tôi. Mô tả đặc điểm hình thái cây Hoàng cầm của chúng tôi chi tiết và đầy đủ hơn so với mô tả trước đây của Đỗ Huy Bích & cs. (2006), góp phần bổ sung cơ sở dữ liệu về đặc điểm hình thái cho loài.

3.2. Đặc điểm vi phẫu của cây thuốc Hoàng cầm

3.2.1. Vi phẫu rễ

Vi phẫu mặt cắt ngang rễ hoàng cầm có thiết diện tròn. Bao phủ phía ngoài rễ Hoàng cầm là mô bì thứ cấp gồm 7 – 8 lớp tế bào lớp tế bào hình chữ nhật xếp xuyên tâm, có vách thứ cấp hóa bản, các lớp bản bong tróc từng mảng và được thay thế bằng các lớp bản mới (1). Tiếp đến là nhu bì (2) gồm 2-3 lớp tế bào hình chữ nhật xếp xuyên tâm với bản, thỉnh thoảng có các tế bào mô cứng (4) xếp xen kẽ. Mô mềm (3) gồm các lớp tế bào hình gần tròn, vách sơ cấp mỏng, có nhiều tế bào đá (4) rải rác xếp xen kẽ. Tia ruột (5) rộng gồm 2-5 dãy tế bào hình đa giác xếp theo hướng xuyên tâm. Libe thứ cấp (6) gồm những tế bào hình đa giác không đều, bất màu hồng, xếp luân phiên với các bó gỗ bất màu xanh. Gỗ thứ cấp (8) không liên tục, mạch gỗ hình đa giác, tròn hay bầu dục kích thước to nhỏ không đều, vách thứ cấp dày, hóa gỗ; mô mềm gỗ hóa mô cứng. Tượng tầng (7) xen giữa libe và gỗ (Hình 8).

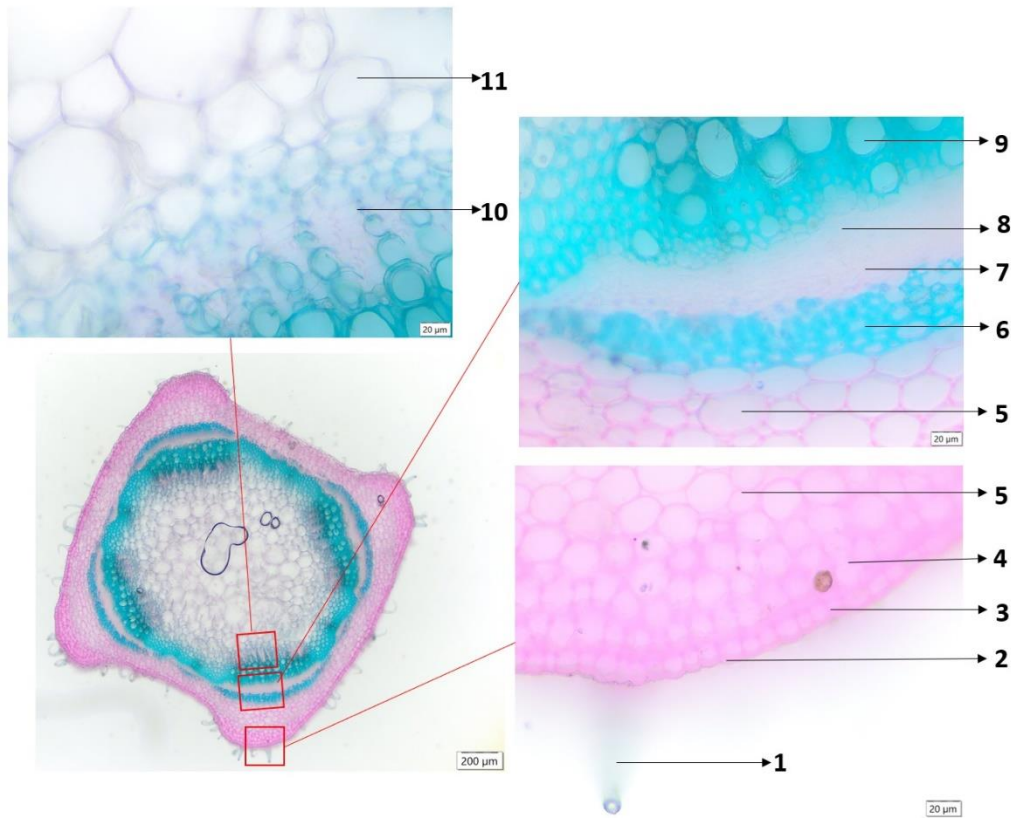
Vi phẫu rễ Hoàng cầm trong nghiên cứu của chúng tôi tương đồng với vi phẫu rễ loài của loài *S. tonkinensis* trong mô tả của Do Thi Xuyen & cs. (2022), tuy nhiên mức độ gỗ hóa và cương mô hóa trong miền trụ ở rễ của loài *S. tonkinensis* nhiều hơn ở rễ Hoàng cầm trong nghiên cứu của chúng tôi.



Hình 8. Vi phẫu rễ Hoàng cầm

(1. Bản; 2. Lục bì; 3. Mô mềm; 4. Tế bào đá; 5. Tia ruột; 6. Libe thứ cấp; 7. Tượng tầng; 8. Gỗ thứ cấp)

3.2.2. Vi phẫu thân



Hình 9. Vi phẫu thân Hoàng cầm

2. *Lông che chở*, 2. *Cutin*, 3. *Biểu bì*, 4. *Mô dày*, 5. *Mô mềm*, 6. *Cương mô*; 7. *Libe thứ cấp*; 8. *Tượng tầng*; 9. *Gỗ thứ cấp*, 10. *Gỗ sơ cấp*; 11. *Mô mềm ruột*

Vi phẫu mặt cắt ngang thân Hoàng cầm có hình vuông, các góc lồi. Tế bào biểu bì (3) hình chữ nhật hoặc đa giác, không đều, vách ngoài phủ cutin (2). Trên biểu bì có lông che chở (1). Mô dày góc (4) không liên tục gồm 1-7 lớp tế bào hình đa giác hay gần tròn, không đều, tập trung nhiều ở bốn góc lồi. Mô mềm (5) gồm khoảng 3-6 lớp tế bào hình đa giác, màu hồng nhạt, vách mỏng. Cương mô (6) tạo thành đám 1-5 lớp ở 4 góc lồi. Libe thứ cấp (8) hình đa giác kích, thước nhỏ, vách mỏng, uốn lượn, xếp lộn xộn. Gỗ thứ cấp (9) nhiều, xếp đều đặn thành từng dãy xuyên tâm, gồm các mạch gỗ vách dày hóa gỗ và mô mềm gỗ. Gỗ sơ cấp (10) ít, bị dồn vào trong ở đáy gỗ thứ cấp. Mô mềm ruột (11) gồm tế bào đa giác hoặc gần tròn, to, vách sơ cấp mảnh. (Hình 9).

Vi phẫu thân cây Hoàng cầm trong nghiên cứu của chúng tôi tương đồng với cấu tạo thân của loài *S. tonkinensis* trong mô tả của Do Thi Xuyen & cs. (2022) và loài Thuần râu (*S. barbata*) trong mô tả của Đỗ Thị Lan Hương (2015).

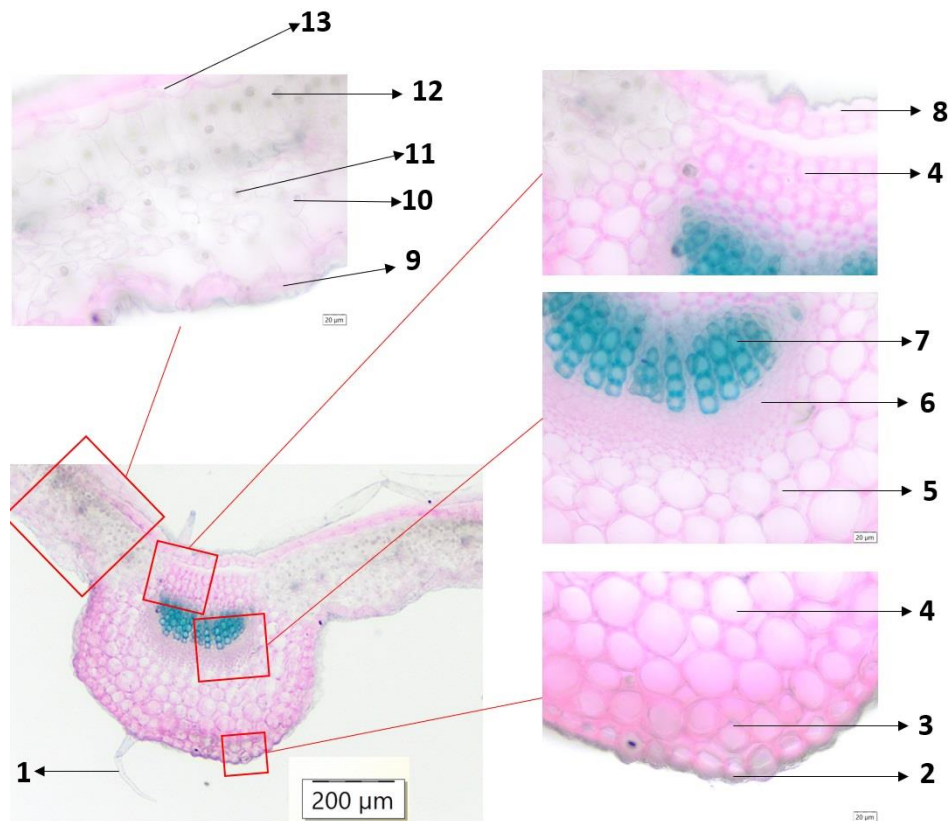
3.2.3. Vi phẫu lá

Phần gân lá: Vi phẫu lá Hoàng cầm có gân chính nổi rõ ở mặt dưới và mặt trên hơi lõm. Từ dưới lên trên có cấu tạo bao gồm: Có lông biểu bì (1) hình thành từ biểu bì. Biểu bì dưới (3) gồm một lớp tế bào, xếp sát nhau, vách ngoài phủ cutin. Mô dày (4) gồm 2-4 lớp tế bào hình tròn hoặc hình đa giác, vách sơ cấp dày, bắt màu hồng đậm. Mô mềm (5) gồm nhiều lớp tế bào kích thước lớn, không đều nhau, vách sơ cấp mỏng, bắt màu hồng. Libe và gỗ tập trung thành bó dẫn hình cung, cong theo chiều của gân lá, libe (6) ở phía ngoài gồm các tế bào vách mỏng, kích thước bé hơn mô mềm, gỗ (7) ở trong gồm các tế bào vách dày, hóa gỗ, bắt màu xanh. Mô dày trên (4) gồm 3-4 lớp tế bào, hình đa giác, vách dày bắt màu hồng đậm. Biểu bì trên (9) gồm một lớp thành tế bào xếp sát nhau, vách phía ngoài phủ cutin.

Phần phiến lá: Bề dày của phiến lá chiếm 1/4-1/3 bề dày phần gân lá. Bao phủ hai mặt của phiến lá là biểu bì trên (13) và biểu bì dưới (9) tương ứng với mặt trên và mặt dưới của phiến lá, đều

gồm 1 lớp tế bào, vách ngoài cùng phủ cutin. Nằm sát biểu bì dưới là mô xốp hay còn gọi là mô khuyết (10) gồm các tế bào vách mỏng, hình dạng không xác định, xếp xa nhau để chứa nhiều khoảng trống gian bào, xen kẽ có các tinh thể canxi oxalate hình đa giác (11). Mô giậu (12) nằm sát biểu bì trên, gồm 1-2 lớp tế bào hình chữ nhật, xếp sát nhau theo chiều dọc. (Hình 10).

Vi phẫu lá của cây Hoàng cầm trong nghiên cứu của chúng tôi tương đồng với cấu tạo lá loài *S. tonkinensis* trong mô tả của Do Thi Xuyen & cs. (2022).



Hình 10. Vi phẫu lá Hoàng cầm

(1. Lông biểu bì ; 2. Cutin ; 3. Biểu bì dưới phần gân lá ; 4. Mô dày ; 5. Mô mềm ; 6. Libe ; 7. Gỗ ; 8. Biểu bì trên phần gân lá ; 9. Biểu bì dưới phần phiến lá ; 10. Mô xốp; 11. Tinh thể canxi oxalate; 12. Mô giậu; 13. Biểu bì trên)

Qua đặc điểm thực vật học và giải phẫu bộ phận trên và dưới mặt đất còn cho thấy cây Hoàng cầm rất mẫn cảm với điều kiện môi trường. Do đó tạo các điều kiện tối ưu cho cây Hoàng cầm sinh trưởng và phát triển bao gồm các yếu tố như ánh sáng, nhiệt độ, độ ẩm, dinh dưỡng, độ cao... là hết sức cần thiết cho sự trồng trọt loài dược liệu quý có năng suất và chất lượng tối đa.

Mô tả về đặc điểm hình thái và vi phẫu trên cây Hoàng cầm của chúng tôi góp phần hoàn thiện bản mô tả của cây Hoàng cầm phục vụ nhận diện, tra cứu đặc điểm, đồng thời cũng cung cấp dẫn liệu cho các nghiên cứu tiếp theo nhằm tác động các biện pháp kỹ thuật để tăng năng suất, chất lượng dược liệu.

4. KẾT LUẬN

Cây Hoàng cầm là cây thân thảo lâu năm, có hệ rễ cọc, rễ chính phình to thành củ, thịt củ màu vàng đậm. Thân non có 4 cạnh, màu xanh nhạt, thân già tròn dần, chuyển dần sang màu nâu xám. Lá đơn, mọc đối, phiến hình mác, cuống rất ngắn, hệ gân lông chim, gân chính nổi rõ. Hoa đơn độc, lưỡng tính, đối xứng hai bên, đài màu xanh, chia 2 môi, tràng tím, cũng chia 2 môi. Nhị 4, bao phấn

hình tam giác. Bầu trên, 2 ô, sau có vách ngăn thành 4 ô. Quả bế tư, có đài đồng trường. Hạt đen, hình trứng.

Vi phẫu rễ có tiết diện tròn, phía ngoài có nhiều lớp bản bao phủ, gỗ thứ cấp và tế bào đá nhiều. Vi phẫu thân có tiết diện hình vuông, các góc lồi, bó dẫn tập trung ở 4 góc lồi, đỉnh bó dẫn có cương mô và mô dày bảo vệ, nhu mô ruột nhiều. Vi phẫu lá có phủ lông bì, mô mềm chuyên hóa chiếm diện tích lớn, kích thước bó gỗ nhỏ.

Kết quả về đặc điểm hình thái và vi phẫu các cơ quan sinh dưỡng và sinh sản của cây Hoàng cầm là cơ sở để nhận diện, tra cứu loài và cung cấp dẫn liệu để tác động các biện pháp kỹ thuật nhằm tăng năng suất dược liệu.

LỜI CẢM ƠN

*Nghiên cứu này được thực hiện từ sự tài trợ kinh phí của đề tài: “Nghiên cứu khai thác và phát triển nguồn gen cây thuốc Hoàng cầm (*Scutellaria baicalensis* Georgi) và Nân nghệ (*Dioscorea collettii* Hook.f.)”; Mã số: NVQG-2021/ĐT.34. Các tác giả xin chân thành cảm ơn Bộ Khoa học và Công nghệ; Trung tâm Nghiên cứu trồng và chế biến cây thuốc Hà Nội; Khoa Nông học – Học viện Nông nghiệp Việt Nam đã tạo điều kiện và hỗ trợ trong suốt quá trình thực hiện các nghiên cứu.*

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Chmiel M. & Stompor-Gorać M (2023). Promising Role of the *Scutellaria baicalensis* Root Hydroxyflavone–Baicalein in the Prevention and Treatment of Human Diseases. *Int. J. Mol. Sci.* 24(4732). <https://doi.org/10.3390/ijms24054732>.

Do Thi Xuyen, Ngo Thu Hao, Doan Van Ve, Nguyen Trung Thanh (2022). Anatomical Features of *Scutellaria tonkinensis* Doan in Vietnam. *VNU Journal of Science: Natural Sciences and Technology.* 38(4):1-5.

Đỗ Huy Bích, Đặng Quang Trung, Bùi Xuân Chương, Nguyễn Thượng Dong, Đỗ Trung Đàm, Phạm Văn Hiến, Vũ Ngọc Lộ, Phạm Duy Mai, Phạm Kim Mãn, Đoàn Thị Nhu, Nguyễn Tập & Trần Toàn (2006). Cây thuốc và Động vật làm thuốc (Tập 1). NXB Khoa học và Kỹ thuật. tr. 935-938.

Đỗ Thị Lan Hương (2015). Đặc điểm hình thái, giải phẫu của loài Thuần râu (*Scutellaria barbata* D. Don), thuộc họ bạc hà (Lamiaceae), được trồng ở Việt Nam. Kỷ yếu hội nghị khoa học toàn quốc về sinh thái và tài nguyên sinh vật lần thứ 6, tr 173-178.

Nguyễn Nghĩa Thìn (2007). Các phương pháp nghiên cứu thực vật. NXB Đại học Quốc gia Hà Nội, 171 trang.

Phùng Thị Thu Hà, Nguyễn Hữu Cường, Nguyễn Thị Hòa, Trần Bình Đà, Phạm Phú Long & Phạm Thị Huyền Trang (2021). Giáo trình thực vật học. NXB Học viện Nông nghiệp. tr 111-112.

Trần Công Khánh (1981). Giáo trình thực tập hình thái giải phẫu thực vật. NXB Đại học và trung học chuyên nghiệp Hà Nội, 172 tr.

Wojtunik-Kulesza, K., Kasprzak-Drozd, K., Sajdlowski, D., Oniszczyk, A., Swiatkowski, W., and Waksmundzka-Hajnos, M. (2021). *ScutellariaBaicalensis* - A Small Plant with Large Pro-health Biological Activities. *Curr.Issues Pharm. Med. Sci.* 34, 55–59.

Zhao T, Tang H, Xie L, Zheng Y, Ma Z, Sun Q, Li X, (2019). *Scutellaria baicalensis* Georgi. (Lamiaceae): a review of its traditional uses, botany, phytochemistry, pharmacology and toxicology. *J Pharm Pharmacol.* 71(9):1353-1369. doi: 10.1111/jphp.13129. Epub 2019 Jun 24. PMID: 31236960.

PHÁT TRIỂN KỸ THUẬT PCR CHẨN ĐOÁN VIRUS KHÂM LÁ SẮN SRI LANKA (*Begomovirus stanleyi*)

Trần Văn Chiên^{1, 2} và Hà Việt Cường¹

¹ Bộ môn Bệnh Cây, Học viện Nông nghiệp Việt Nam

² Trung tâm Kiểm dịch Thực vật Sau nhập khẩu I, Cục Bảo vệ Thực vật

*Tác giả liên hệ: hvcuongnh@vnua.edu.vn

ABSTRACT

Sri Lankan cassava mosaic virus (SLCMV, member of the species *Begomovirus stanleyi*) is currently the most dangerous pathogen affecting cassava in Vietnam. Since the virus spreads through vegetative propagation, accurate diagnosis is crucial for disease control. Using the online PCR primer design software, Primer-Blast, seven pairs of primers targeting both components of the virus's genome, DNA-A (genes AV1, AC1) and DNA-B (genes BV1 and BC1), were designed for SLCMV diagnosis. PCR reactions using plasmids containing the full begomovirus genome demonstrated that (1) all seven primer pairs specifically detected SLCMV and did not detect six other begomoviruses infecting plants of the Solanaceae family, and (2) all seven primer pairs produced specific PCR bands of equal intensity at five primer annealing temperatures: 52°C, 54°C, 56°C, 58°C, and 60°C.

Keywords: *Sri Lankan cassava mosaic virus, PCR, primer design, diagnosis*

TÓM TẮT

Virus khảm lá sắn Sri Lanka (Sri Lankan cassava mosaic virus, SLCMV, loài *Begomovirus stanleyi*) hiện là tác nhân gây bệnh nguy hiểm nhất trên cây sắn tại Việt Nam. Do virus lan truyền qua nhân giống vô tính nên chẩn đoán chính xác virus là yêu cầu quan trọng nhằm kiểm soát bệnh. Dựa trên phần mềm thiết kế mồi PCR trực tuyến, Primer-Blast, bảy cặp mồi chẩn đoán SLCMV đã được thiết kế nhằm vào cả 2 thành phần bộ gen của virus là DNA-A (gen AV1, AC1) và DNA-B (gen BV1 và BC1). Phản ứng PCR dùng khuôn là plasmid chứa toàn bộ bộ gen begomovirus đã chứng tỏ (1) tất cả 7 cặp mồi phát hiện đặc hiệu SLCMV và không phát hiện 6 begomovirus khác nhiễm trên cây họ cà, và (2) tất cả 7 cặp mồi đều tạo băng đặc hiệu có độ đậm tương đương nhau khi thực hiện phản ứng PCR ở 5 ngưỡng nhiệt độ gắn mồi 52°C, 54°C, 56°C, 58°C và 60°C.

Từ khóa: *Virus khảm lá sắn Sri Lanka, PCR, thiết kế mồi, chẩn đoán*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cây sắn (*Manihot esculenta*) là cây lương thực quan trọng thứ ba sau lúa và ngô tại Việt Nam (Nguyen & cs., 2021). Hiện nay, cây sắn đã trở thành cây trồng được ưu tiên nghiên cứu phát triển trong tầm nhìn chiến lược của Bộ Nông nghiệp & Phát triển Nông thôn và được xem là cây xóa đói giảm nghèo cho người nông dân. Tại Việt Nam, hiện nay, diện tích trồng sắn cả nước là 524,549 ha với năng suất củ tươi đạt 20,14 tấn/ ha và tổng sản lượng đạt 10,57 triệu tấn, được trồng tập trung tại 5 vùng sinh thái Nông nghiệp bao gồm Trung du miền núi phía Bắc, Bắc Trung Bộ, Nam Trung Bộ, Tây Nguyên và Đông Nam Bộ (FAOSTAT, 2021; Đỗ Hương, 2022).

Bệnh khảm lá sắn là bệnh nguy hiểm nhất trên sắn khắp thế giới. Bệnh do ít nhất 11 virus thuộc chi *Begomovirus* (họ *Germinividae*) gây ra và có thể làm giảm năng suất củ tươi từ 20% đến 95% (Owor & cs., 2004; Bisimwa & cs., 2015; Legg & cs., 2015). Cho tới trước năm 2015, tại Châu Á, bệnh khảm lá sắn chỉ xuất hiện tại Tiểu lục địa Ấn Độ và do 2 begomovirus gây ra là virus khảm lá sắn Sri Lanka và virus khảm lá sắn Ấn Độ (tên virus tiếng Anh và tên virus viết tắt lần lượt là Sri Lankan cassava mosaic virus (SLCMV) và Indian cassava mosaic virus (ICMV)) (Saunders & cs., 2002; Dutt & cs., 2005; Jose & cs., 2011). Năm 2015, bệnh khảm lá sắn được phát hiện thấy tại Campuchia và virus gây bệnh được xác định là SLCMV (Wang & cs., 2016). SLCMV thuộc loài *Begomovirus stanleyi* (đanh pháp tên loài trước năm 2023 là *Sri Lankan cassava mosaic virus*). Virus nhanh chóng lây lan sang Việt Nam, được phát hiện đầu tiên tại tỉnh Tây Ninh năm 2017 (Uke & cs., 2018) và tiếp tục lan rộng khắp các vùng trồng sắn cả nước. Tính đến hết tháng 6 năm 2023, bệnh khảm lá sắn đã được ghi nhận tại 29 tỉnh, thành phố của nước ta với tổng diện tích nhiễm là 77,615 ha, trong đó có 19,327 ha bị nhiễm nặng (Cục Bảo vệ thực vật, 2023). Giống như các begomovirus gây bệnh khảm lá sắn khác, SLCMV không truyền qua hạt giống và tiếp xúc cơ học, nhưng truyền qua hom giống và bộ phận trắng (*Bemisia tabaci*) theo kiểu bền vững tuần hoàn (Legg & cs., 2015; Uke & cs., 2022b). Các kỹ thuật đã được phát triển nhằm mục tiêu chẩn đoán SLCMV gồm triple antibody sandwich enzyme-linked immunosorbent assay (TAS-ELISA) dùng kháng thể đơn dòng (Charoenvilaisiri & cs., 2021), loop-mediated isothermal amplification (LAMP) (Uke & cs., 2022a; Arutselvan & Makeskumar, 2024), Real-time Polymerase Chain Reaction (Real-time PCR) (Trương Thị Huỳnh Như & cs., 2022) và PCR truyền thống (Uke & cs., 2019). Tất cả các kỹ thuật trên, ngoại trừ Real-time PCR, đều nhằm vào gen AV2 (mã hóa poritein vỏ) của SLCMV. Ngoài ra, các kỹ thuật trên, mặc dù phát hiện tốt SLCMV nhưng chưa được đánh giá tính đặc hiệu khi nhằm vào các begomovirus khác, đặc biệt các virus trên cây họ cà.

Trong nghiên cứu này, chúng tôi đã thiết kế một loạt các cặp mồi, nhằm vào cả DNA-A và DNA-B của SLCMV và chứng tỏ chúng phát hiện SLCMV rất đặc hiệu ở một loạt các nhiệt độ gắn mồi khác nhau.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Các plasmid chứa bộ gen các begomovirus nhằm kiểm tra tính đặc hiệu các cặp mồi

Bộ gen của SLCMV và 6 begomovirus đã được sử dụng để đánh giá tính đặc hiệu của các cặp mồi. Các bộ gen được xây dựng từ trước trên plasmid chuyển gen thực vật pCAMBIA2300 dưới dạng các cấu trúc xâm nhiễm được trình bày tại Bảng 1.

Bảng 1. Các cấu trúc xâm nhiễm của SLCMV và các begomovirus trên vector pCAMBIA2300

Virus	Viết tắt	Plasmid (cấu trúc xâm nhiễm)	Bộ gen
Sri Lankan cassava mosaic virus	SLCMV	pCAM-HLS-A23-1.5mer-3	DNA-A

		pCAM-HLS-A23-1.5mer-2-3	DNA-B
Tomato yellow leaf curl Kanchanaburi virus	TYLCKaV	pCAM-VNP843-4(A) pCAM-VNP843-6(B)	DNA-A DNA-B
Pepper yellow leaf curl Thailand virus	PepYLCTHV	pCAM-VN1500-1(A) pCAM-VN1500-20(B)	DNA-A DNA-B
Tomato leaf curl Hainan virus	ToLCHnV	pCAM-TH7-3	DNA-A
Tomato leaf curl Hanoi virus	ToLCHanV	pCAM-100-4	DNA-A
Tomato yellow leaf curl Vietnam virus	TYLCVNV	pCAM-TY-5	DNA-A
Tomato leaf curl Vietnam virus	ToLCVV	pCAM-To-3	DNA-A

2.2. Thiết kế mồi chẩn đoán SLCMV

Phần mềm Primer-Blast sẵn có online tại <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast/> đã được sử dụng để thiết kế mồi (Ye & cs., 2012).

Đối với DNA-A, các mồi được thiết kế nhằm phát hiện 2 gen nằm ở 2 phía gồm AV1 mã hóa protein vỏ (coat protein, CP) và AC1 mã hóa protein tái sinh (repplication protein, Rep). Dữ liệu đầu vào để thiết kế các cặp mồi trên DNA-A gồm:

+ Khuôn DNA (PCR template): DNA-A: mã GenBank **LC382269**

+ Phạm vi thiết kế mồi (Range): Av1: 297-1067; AC1: 1567-2601

Đối với DNA-B, các mồi được thiết kế nhằm phát hiện 2 gen nằm ở 2 phía gồm BV1 mã hóa protein hỗ trợ nhập nhân (nuclear shuttle protein, NSP) và BC1 mã hóa protein vận chuyển (movement protein, MP). Dữ liệu đầu vào để thiết kế các cặp mồi trên DNA-B gồm:

+ Khuôn DNA (PCR template): DNA-B: mã GenBank **LC382270**

+ Phạm vi thiết kế mồi (Range): Bv1: 342-1124 và BC1: 1133-1993

Các tùy chọn thiết kế mồi được đặt ở chế độ mặc định ngoại trừ các tùy chọn được trình bày ở Bảng 2.

Bảng 2. Các tùy chọn được điều chỉnh của phần mềm Primer-Blast nhằm thiết kế mồi trên DNA-A và DNA-B của SLCMV

Tùy chọn được điều chỉnh	Giá trị
Primer Parameters	
PCR product size	300 (min), 700 (Max)
Primer Pair Specificity Checking Parameters	
Database	Refseq representative genomes
Organism	Sri Lankan cassava mosaic virus (taxid:161378)
Primer parameter	
Primer Size	18 (Min), 20 (Opt), 22 (Max)
Primer GC content (%)	48 (Min), 52 (Max)
GC clamp	1
Max Poly-X	3
Max GC in primer 3' end	3

Các tham số liên quan chất lượng môi được xác định bằng phần mềm PrimerSelect 7.0 (DNASTAR, Inc.) và VectorNTI Advance 11.5 (Thermo Scientific).

2.3. Phản ứng Polymerase Chain Reaction

Phản ứng PCR được thực hiện với DreamTaq (5U/μl) và 10xDreamTaq Green Buffer (Thermo Scientific). Phản ứng được thực hiện với thể tích 20μl, chứa 0,5 U DreamTaq, 5 pmole mỗi môi (nồng độ cuối 250 nM), 2 pmole mỗi loại dNTP (nồng độ cuối 200 nM) và 0,5 μl plasmid tinh sạch (đã hòa loãng 20 lần). Phản ứng PCR được thực hiện với các bước sau: (1) Khởi đầu biến tính 95 °C trong 3 phút, (2) lặp lại 35 chu trình phản ứng gồm biến tính 95 °C trong 30 giây, gắn môi ở 54°C trong 30 giây, tổng hợp ở 72 °C trong 60 giây, và (3) kết thúc phản ứng ở 72 °C trong 5 phút.

Sản phẩm PCR được điện di agarose 1% trong đệm TAE ở hiệu điện thế 100V trong 20 phút.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Thiết kế môi chẩn đoán SLCMV

Dựa trên phần mềm trực tuyến Primer-Blast, 7 cặp môi chẩn đoán SLCMV đã được lựa chọn, trong đó có 2 cặp phát hiện gen AV1, 2 cặp phát hiện gen AC1 trên DNA-A, 2 cặp phát hiện gen BV1 và 1 cặp phát hiện gen BC1 trên DNA-B (Bảng 2, Hình 1). Đặc biệt, tùy chọn cơ sở dữ liệu (data base) là các bộ gen đại diện loài (Refseq representative genomes) và tùy chọn đối tượng đích (Organism) là tất cả các bộ gen của SLCMV (taxid:161378) đảm bảo tính đặc hiệu cao của các cặp môi (Ye & cs., 2012).

Tiếp theo, một loạt các tham số liên quan đến chất lượng của môi cũng đã được kiểm tra dựa theo các hướng dẫn về thiết kế môi PCR (Rychlik & cs., 1990; Dieffenbach & cs., 1993; Judelson, 2006).

Độ dài môi. Tất cả các môi đều có kích thước 20-22 nucleotide. Các kích thước này nằm trong phạm vi phù hợp của môi: đủ dài để đảm bảo tính đặc hiệu và đủ ngắn để môi gắn dễ dàng vào khuôn.

Nhiệt độ gắn môi (Ta = annealing temperature). Nhiệt độ gắn môi là một trong các tiêu chí quan trọng, được tính dựa trên nhiệt độ tách sợi (Tm = melting temperature). Nhiệt độ gắn môi quá cao làm môi khó gắn vào khuôn dẫn tới năng suất PCR thấp. Nhiệt độ gắn môi quá thấp làm môi dễ gắn không đặc hiệu vào khuôn dẫn tới tạo các sản phẩm không đặc hiệu. Một trong các công thức phổ biến nhất nhằm xác định nhiệt độ gắn môi tối ưu của cặp môi là: $Ta = 0.3 \times Tm$ (của môi có nhiệt độ tách sợi thấp hơn) + $0.7 \times Tm$ (của sản phẩm) - 14.9 (Rychlik & cs., 1990). Sử dụng công thức này trong phần mềm PrimerSelect (DNASTAR inc.), nhiệt độ gắn môi tối ưu của 7 cặp môi thiết kế đã được xác định là từ 53,1 – 54,6 °C (Bảng 2), nằm trong phạm vi phù hợp 50 – 60 °C.

Hàm lượng GC. Hàm lượng các gốc G và C của các môi thiết kế đều bằng 50% (Bảng 2) nằm trong phạm vi phù hợp 40-60 %.

Mẫu GC đầu 3'. Tất cả các môi thiết kế đều có ở đầu 3 'là G hoặc C hoặc GC hoặc CG hoặc GG (Bảng 2). Mẫu GC cho phép môi bám đặc hiệu vào khuôn.

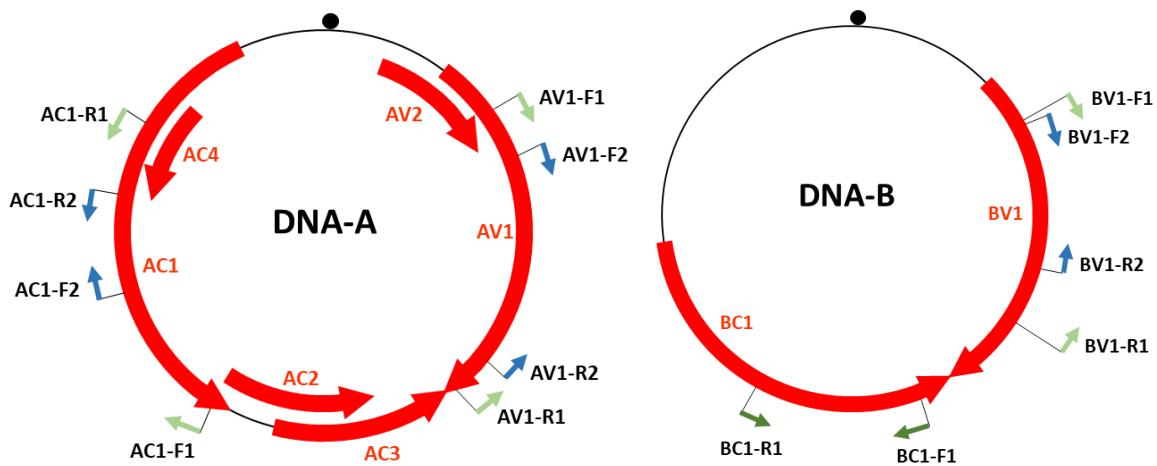
Độ ổn định đầu 3'. Khoảng 5 nucleotide (pentamer) đầu 3' cần có độ ổn định phù hợp để gắn đặc hiệu vào khuôn. Giá trị ΔG của 5 nucleotide đầu 3' của tất cả các môi thiết kế có giá trị từ -10,8 kcal/mol đến -7,7 kcal/mol (Bảng 3), nằm trong ngưỡng giới hạn tối đa ≥ -12 kcal/mol.

Cấu trúc thứ cấp. Cấu trúc thứ cấp có thể hình thành trong cùng một môi hoặc giữa 2 môi. Môi chứa cấu trúc thứ cấp xấu thường dẫn tới năng suất PCR bị giảm, thậm chí không có sản phẩm. Tính ổn định của cấu trúc thứ cấp được đo bằng năng lượng tự do Gibbs ΔG (là năng lượng cần để phá vỡ cấu trúc thứ cấp). Các loại cấu trúc thứ cấp là:

+ **Cấu trúc kẹp tóc (Hairpins).** Là cấu trúc thứ cấp hình thành trong nội bộ môi. Tất cả các môi thiết kế đều có giá trị ΔG tối đa từ -1,6 kcal/mol đến 2,5 kcal/mol (Bảng 3), nằm trong ngưỡng giới hạn tối đa ≥ -5 kcal/mol.

+ Tự mồi (Self Dimer). Là cấu trúc hình thành giữa các phân tử của cùng loại mồi. Ngoại trừ 3 mồi SLCMV-AV1-R2, -AC1-R1 và -BC1-R1, tất cả các mồi còn lại đều có giá trị ΔG tối đa từ -1,9 kcal/mol đến -5,4 kcal/mol (Bảng 2), nằm trong ngưỡng giới hạn tối đa ≥ -6 kcal/mol.

+ Tự mồi chéo (Cross Dimer). Là cấu trúc hình thành giữa các phân tử của 2 mồi khác nhau (cặp mồi trong phản ứng PCR). Tất cả các cặp mồi thiết kế đều có giá trị ΔG tối đa từ -5,2 kcal/mol đến -3,5 kcal/mol (Bảng 2), nằm trong ngưỡng giới hạn tối đa ≥ -6 kcal/mol.



Hình 1. Vị trí các cặp mồi được thiết kế trên DNA-A và DNA-B của SLCMV

Bảng 3. Đặc điểm các cặp môi được thiết kế nhằm phát hiện DNA-A and DNA-B của SLCMV

Môi	Trình tự (5'-3')	Độ dài môi (nu)	Mẫu GC đầu 3'	Hàm lượng GC (%)	Nhiệt độ tách môi (°C)	ΔG pentamer đầu 3' (kcal/mol)	ΔG cấu trúc kẹp tóc tối đa (kcal/mol)	ΔG tự môi tối đa (kcal/mol)	ΔG tự môi chéo tối đa (kcal/mol)	Nhiệt độ gắn môi tối ưu (°C)	Độ dài sản phẩm (bp)
SLCMV-AV1-F1	ACAAACAGGCCCATGAATCG	20	CG	50,0	54,7	-10,2	2,3	-5,4			
SLCMV-AV1-R1	TGCTGACCGAATCGTAGAAG	20	G	50,0	50,4	-7,7	1,6	-3,6	-5,2	54,1	634
SLCMV-AV1-F2	CAATCGTTTGAGTCCAGACACG	22	CG	50,0	54,6	-9,8	-0,9	-5,0			
SLCMV-AV1-R2	TACACGCCATGTACAGCATC	20	C	50,0	49,2	-9,7	9,1	-7,6	-3,6	53,1	478
SLCMV-AC1-F1	AAGGTCGCATTCTTCAGAGC	20	GC	50,0	51,1	-9,9	0,8	-3,2			
SLCMV-AC1-R1	TAACACAGGCAGTAAGCCAGAG	22	G	50,0	51,6	-9,8	-1,6	-6,2	-3,5	54,6	585
SLCMV-AC1-F2	TTTGCCTGTACGACTATCGC	20	GC	50,0	50,6	-10,8	0,0	-5,2			
SLCMV-AC1-R2	AAGCAGTAGCACCAGTTTCC	20	CC	50,0	48,7	-9,9	1,4	-1,9	-3,6	54,3	439
SLCMV-BV1-F1	AGTTCGTCGGAACCTGTTTG	20	G	50,0	51,6	-9,1	-0,4	-3,3			
SLCMV-BV1-R1	ACGTCGAGTGCCTTTGAAAC	20	C	50,0	51,8	-8,8	2,5	-3,9	-5,2	53,8	487

SLCMV- BV1-F2	TCGGAACCTGTTTGGTGATG	20	G	50,0	53,1	-8,3	0,0	-4,4	-5,0	53,2	351
SLCMV- BV1-R2	ATGGACCCAAACAACACTGTGG	20	GG	50,0	51,9	-9,9	0,5	-5,0	-4,9	54,5	403
SLCMV- BC1-F1	AGTCCTCTCGTGTGAAGTTGTC	22	C	50,0	49,9	-8,2	2,5	-1,9	-4,9	54,5	403
SLCMV- BC1-R1	GTCCACTTCTGTCGTATACAGG	22	GG	50,0	48,1	-8,9	-0,5	-6,1	-4,9	54,5	403

Ghi chú: Các tham số nhiệt động học của mỗi gồm nhiệt độ tách mỗi, nhiệt độ gắn mỗi tối ưu, ΔG cấu trúc kẹp tóc tối đa, ΔG tự mỗi tối đa và ΔG tự mỗi chéo tối đa được xác định bằng phần mềm PrimerSelect 7.0 (DNASTAR, Inc.), trong đó ΔG là năng lượng tự do Gibbs. ΔG pentamer đầu 3' được xác định bằng phần mềm VectorNTI Advance 11.5 (Invitrogen).

3.2. Xác định tính đặc hiệu của các cặp mồi

3.2.1. Tính đặc hiệu của các cặp mồi được thiết kế trên DNA-A của SLCMV

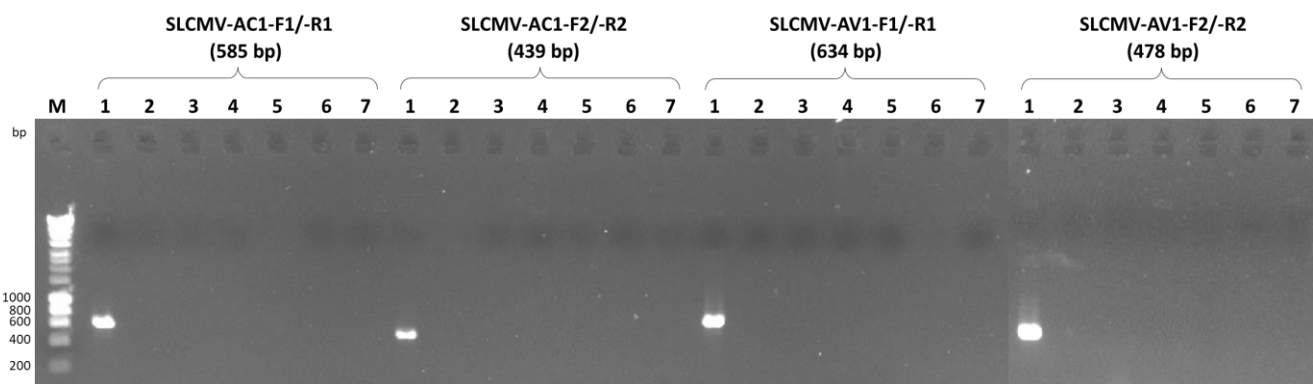
Tính đặc hiệu của mồi chẩn đoán là yêu cầu quan trọng nhất trong ứng dụng kỹ thuật PCR trong chẩn đoán. Trong phản ứng PCR dùng khuôn PCR là các plasmid mang toàn bộ bộ gen của virus và 4 cặp mồi phát hiện gen AV1 và AC1 trên DNA-A của SLCMV, tất cả 4 cặp mồi chỉ tạo băng đặc hiệu đối với gen đích của virus này và không phát hiện gen đích của 6 begomovirus khác gồm TYLCKaV, PepYLCTHV, TYLCVNV, ToLCVV, ToLCHnV và ToLCHanV (Bảng 4, Hình 2).

Bảng 4. Đánh giá tính đặc hiệu của các cặp mồi phát hiện DNA-A của SLCMV dùng khuôn phản ứng là plasmid mang toàn bộ DNA-A của begomovirus

Virus	Phản ứng PCR với các cặp mồi đặc hiệu gen AV1 và AC1			
	SLCMV-AV1-F1	SLCMV-AV1-F2	SLCMV-AC1-F1	SLCMV-AC1-F2
	SLCMV-AV1-R1	SLCMV-AV1-R2	SLCMV-AC1-R1	SLCMV-AC1-R2
SLCMV	+	+	+	+
TYLCKaV	-	-	-	-
PepYLCTHV	-	-	-	-
TYLCVNV	-	-	-	-
ToLCVV	-	-	-	-
ToLCHnV	-	-	-	-
ToLCHanV	-	-	-	-

Ghi chú:

- (+) là phản ứng dương tính, (-) là phản ứng âm tính
- Nhiệt độ gắn mồi bằng 54 °C



Hình 2. Phản ứng PCR của các cặp mồi chẩn đoán DNA-A của SLCMV

M: thang DNA 1 kb (HyperLadder 1 kb, Biotin) với các băng tham khảo được trình bày
 Các giếng tương ứng plasmid chứa toàn bộ DNA-A của các begomovirus: 1 (SLCMV), 2 (TYLCKaV), 3 (PepYLCTHV), 4 (ToLCHanV), 5 (ToLCHnV), 6 (TYLCVNV) và 7 (ToLCVV)

3.2.2. Tính đặc hiệu của các cặp mồi được thiết kế trên DNA-B của SLCMV

SLCMV là một begomovirus có bộ gen kép (bipartite), có nghĩa bộ gen của virus gồm 2 phân tử DNA-A và DNA-B. Trong phản ứng PCR dùng khuôn PCR là các plasmid mang toàn bộ bộ gen của virus và 3 cặp mồi phát hiện gen BV1 và BC1 trên DNA-B của SLCMV, tất cả 3 cặp mồi chỉ tạo băng đặc hiệu đối với gen đích của virus này và không phát hiện gen đích của 2 begomovirus khác gồm TYLCKanV và PepYLCTHV (Bảng 5, Hình 3).

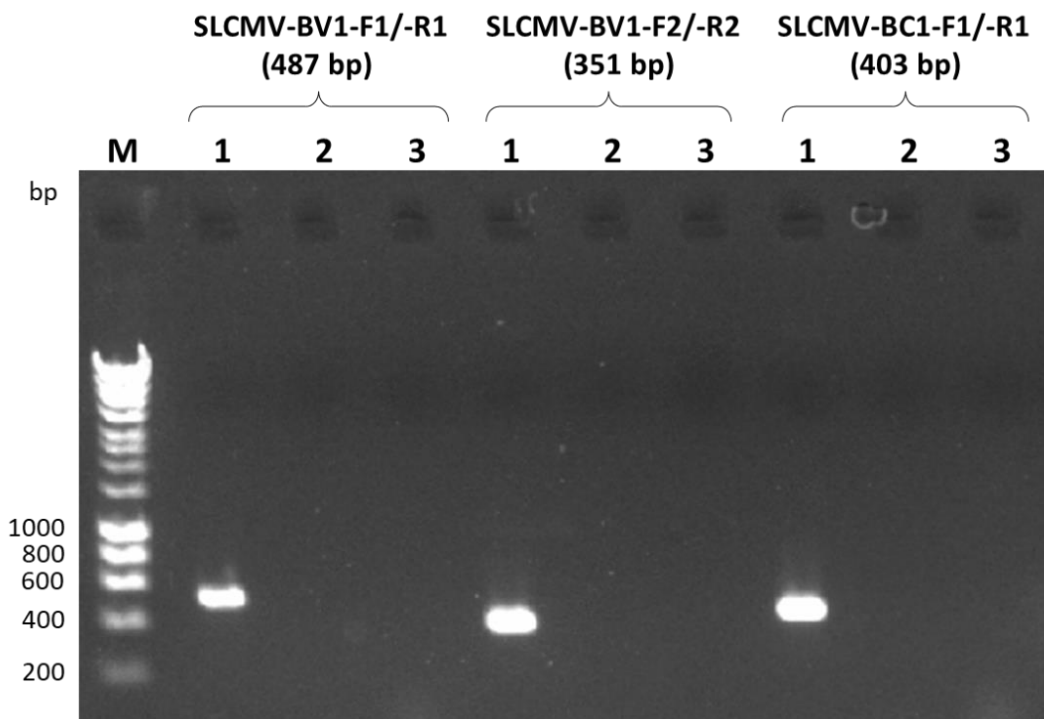
Bảng 5. Đánh giá tính đặc hiệu của các cặp mồi phát hiện DNA-B của SLCMV dùng khuôn phản ứng là plasmid mang toàn bộ DNA-B của begomovirus

Virus	Phản ứng PCR với các cặp mồi đặc hiệu gen BV1 và BC1		
	SLCMV-BV1-F1 SLCMV-BV1-R1	SLCMV-BV1-F2 SLCMV-BV1-R2	SLCMV-BC1-F1 SLCMV-BC1-R1
SLCMV	+	+	+
TYLCKanV	-	-	-
PepYLCTHV	-	-	-

Ghi chú:

3. (+) là phản ứng dương tính, (-) là phản ứng âm tính

4. Nhiệt độ gắn mồi bằng 54 °C



Hình 3. Phản ứng PCR của các cặp mồi chẩn đoán DNA-B của SLCMV

M: thang DNA 1 kb (HyperLadder 1 kb, Bioline) với các băng tham khảo được trình bày
 Các giếng tương ứng plasmid chứa toàn bộ DNA-B của các begomovirus: 1 (SLCMV), 2 (TYLCKaV) và 3 (PepYLCTHV)

3.3. Xác định nhiệt độ gắn mồi tối ưu của các cặp mồi

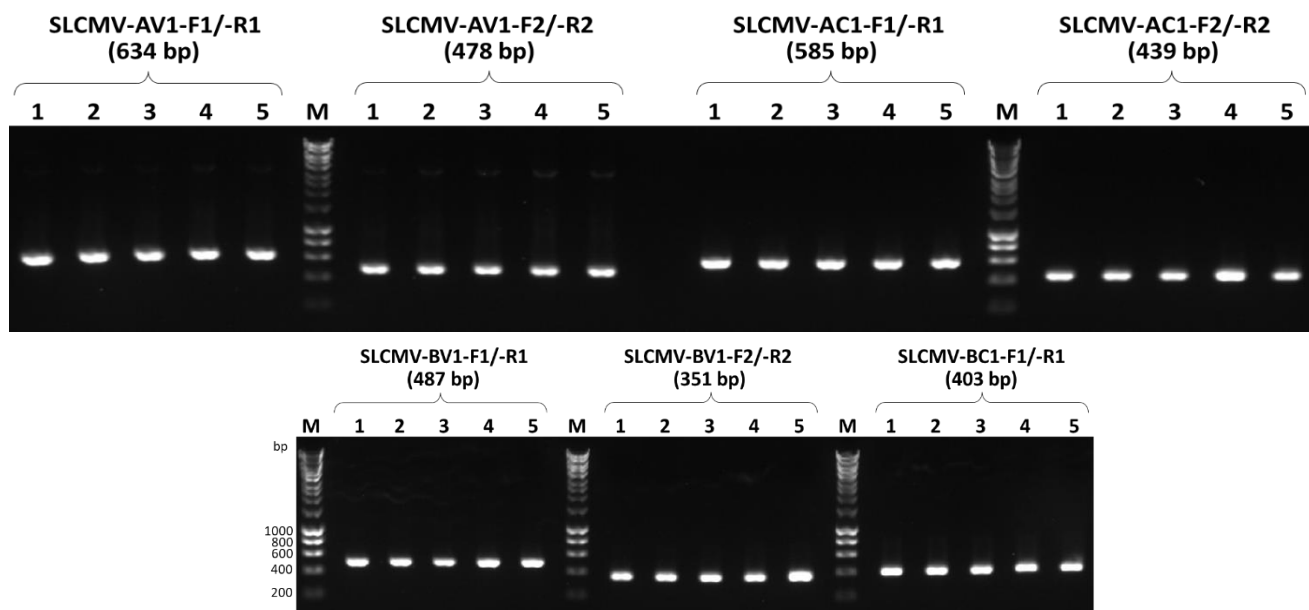
Một trong các yêu cầu của mỗi PCR chẩn đoán là tính mềm dẻo có nghĩa mỗi có thể gắn đặc hiệu vào khuôn ở nhiều điều kiện khác nhau, đặc biệt là nhiệt độ gắn mỗi. Mặc dù nhiệt độ gắn mỗi tối ưu của 7 cặp mỗi đã được xác định bằng phần mềm (Bảng 3), tuy nhiên chúng thường phải được xác định bằng thực nghiệm. Kết quả xác định nhiệt độ gắn mỗi tối ưu của 7 cặp mỗi đã được thực hiện bằng gradient PCR với 5 ngưỡng nhiệt độ là 52°C, 54°C, 56°C, 58°C và 60°C dùng khuôn là plasmid cấu trúc xâm nhiễm của DNA-A và DNA-B của SLCMV.

Kết quả đánh giá bằng PCR cho thấy các cặp mỗi đều tạo một băng đặc hiệu với độ đậm tương đương nhau ở tất cả các ngưỡng nhiệt độ gắn mỗi (Bảng 6, Hình 4).

Bảng 6. Phản ứng PCR của các cặp mỗi chẩn đoán SLCMV ở các nhiệt độ gắn mỗi khác nhau

Cặp mỗi	Độ đậm của băng PCR ở các nhiệt độ gắn mỗi				
	52°C	54°C (53,8°C)	56°C (55,7°C)	58°C (58,1°C)	60°C
SLCMV-AV1-F1/-R1	+++	+++	+++	+++	+++
SLCMV-AV1-F2/-R2	+++	+++	+++	+++	+++
SLCMV-AC1-F1/-R1	+++	+++	+++	+++	+++
SLCMV-AC1-F2/-R2	+++	+++	+++	+++	+++
SLCMV-BV1-F1/-R1	+++	+++	+++	+++	+++
SLCMV-BV1-F2/-R2	+++	+++	+++	+++	+++
SLCMV-BC1-F1/R1	+++	+++	+++	+++	+++

Ghi chú: Nhiệt độ trong ngoặc là nhiệt độ được xác định bằng chương trình gradient của máy PCR; các dấu +++ là độ đậm của băng PCR được ước lượng dựa trên điện di agarose (Hình 4)



Hình 4. Phản ứng PCR của các cặp mỗi chẩn đoán DNA-A (hình trên) và DNA-B (hình dưới) của SLCMV ở các nhiệt độ gắn mỗi khác nhau

*M: thang DNA 1 kb (HyperLadder 1 kb, Bioline) với các băng tham khảo được trình bày ở hình dưới
Các giếng tương ứng nhiệt độ gắn mỗi: 1 (52 °C), 2 (54 °C), 3 (56 °C), 4 (58 °C), 5(60 °C)*

4. KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã thiết kế được 7 cặp mồi chẩn đoán SLCMV nhằm vào cả 2 thành phần bộ gen của virus là DNA-A (gen AV1, AC1) và DNA-B (gen BV1 và BC1).

Tất cả 7 cặp mồi phát hiện đặc hiệu SLCMV và không phát hiện 6 begomovirus khác là TYLCKanV, PepYLCTHV, TYLCVNV, ToLCVV, ToLCHnV và ToLCHanV.

Tất cả 7 cặp mồi đều tạo băng đặc hiệu có độ đậm tương đương nhau khi thực hiện phản ứng PCR ở 5 ngưỡng nhiệt độ gán mồi 52°C, 54°C, 56°C, 58°C và 60°C.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Arutselvan R. & Makesh Kumar T. (2024). Single-tube colorimetric loop-mediated isothermal amplification (LAMP) assay for high-sensitivity detection of SLCMV in cassava from southern India. *Microbial Pathogenesis*. 106718.
- Bisimwa E., Walangululu J. & Bragard C. (2015). Cassava Mosaic Disease Yield Loss Assessment under Various Altitude Agro-ecosystems in the Sud-Kivu Region, Democratic Republic of Congo. *Tropicultura*. 33(2).
- Charoenvilaisiri S., Seepiban C., Kumposiri M., Rukpratanporn S., Warin N., Phuangrat B., Chitchuea P., Siripaitoon S., Chatchawankanphanich O. & Gajanandana O. (2021). Development of a triple antibody sandwich enzyme-linked immunosorbent assay for cassava mosaic disease detection using a monoclonal antibody to Sri Lankan cassava mosaic virus. *Virology Journal*. 18(1): 100.
- Dieffenbach C., Lowe T. & Dveksler G. (1993). General concepts for PCR primer design. *PCR methods appl.* 3(3): S30-S37.
- Dutt N., Briddon R. & Dasgupta I. (2005). Identification of a second begomovirus, Sri Lankan cassava mosaic virus, causing cassava mosaic disease in India. *Archives of Virology*. 150: 2101-2108.
- Jose A., Makesh Kumar T. & Edison S. (2011). Survey of cassava mosaic disease in Kerala. *Journal of Root Crops*. 37(1): 41-47.
- Judelson H. (2006). Guidelines For Designing Primers. *Primer Guidelines*. 10(6): 1-5.
- Legg J. P., Kumar P. L., Makesh Kumar T., Tripathi L., Ferguson M., Kanju E., Ntawuruhunga P. & Cuellar W. (2015). Cassava virus diseases: biology, epidemiology, and management. Trong: *Advances in virus research*. Elsevier: 85-142 trang.
- Nguyen N. C., Baba T., Nomura H. & Ito K. (2021). The Current Status of Cassava Producers and Healthy Cassava Seed Production and Distribution Trial in Vietnam. *Environmental and Rural Development*. 215.
- Owor B., Legg J. P., Okao-Okuja G., Obonyo R. & Ogenga-Latigo M. (2004). The effect of cassava mosaic geminiviruses on symptom severity, growth and root yield of a cassava mosaic virus disease-susceptible cultivar in Uganda. *Annals of applied biology*. 145(3): 331-337.
- Rychlik W., Spencer W. & Rhoads R. (1990). Optimization of the annealing temperature for DNA amplification in vitro. *Nucleic acids research*. 18(21): 6409-6412.
- Saunders K., Salim N., Mali V. R., Malathi V. G., Briddon R., Markham P. G. & Stanley J. (2002). Characterisation of Sri Lankan cassava mosaic virus and Indian cassava mosaic virus: evidence for acquisition of a DNA B component by a monopartite begomovirus. *Virology*. 293(1): 63-74.

- Trương Thị Huỳnh Như, Huỳnh Thị Ngọc Mai, Lê Hồng Kông, Trần Trung Chánh, Phạm Thị Nhạn, Lê Khanh, Phạm Quốc An & Hoàng N. H. (2022). Bước đầu nghiên cứu sự hiện diện của Sri Lankan Cassava Mosaic Virus (SLCMV) trên sắn (*Manihot esculenta* Crantz 1766). HCMCOUJS-Kỹ thuật và Công nghệ. 17(2): 5-20.
- Uke A., Hoat T. X., Quan M., Liem N., Ugaki M. & Natsuaki K. T. (2018). First report of Sri Lankan cassava mosaic virus infecting cassava in Vietnam. *Plant Disease*. 102(12): 2669.
- Uke A., Khin S., Kitaura K., Ugaki M. & Natsuaki K. T. (2019). Combination of an image-posting system and molecular diagnosis for detecting Sri Lankan cassava mosaic virus. *Tropical Plant Pathology*. 44: 238-243.
- Uke A., Khin S., Kobayashi K., Satou T., Kim O.-K., Hoat T. X., Natsuaki K. T. & Ugaki M. (2022a). Detection of Sri Lankan cassava mosaic virus by loop-mediated isothermal amplification using dried reagents. *Journal of virological methods*. 299: 114336.
- Uke A., Tokunaga H., Utsumi Y., Vu N. A., Nhan P. T., Srean P., Hy N. H., Ham L. H., Lopez-Lavalle L. A. B. & Ishitani M. (2022b). Cassava mosaic disease and its management in Southeast Asia. *Plant Molecular Biology*. 1-11.
- Wang H.-L., Cui X.-Y., Wang X.-W., Liu S., Zhang Z. & Zhou X. (2016). First report of Sri Lankan cassava mosaic virus infecting cassava in Cambodia. *Plant Disease*. 100(5): 1029-1029.
- Ye J., Coulouris G., Zaretskaya I., Cutcutache I., Rozen S. & Madden T. L. (2012). Primer-BLAST: a tool to design target-specific primers for polymerase chain reaction. *BMC bioinformatics*. 13: 1-11.

ĐÁNH GIÁ ẢNH HƯỞNG CỦA THUỐC TRỪ SÂU NHỆN ĐẾN QUẦN THỂ NHỆN BẮT MỒI (*Neoseiulus longispinosus*) THU TRÊN RAU ĂN QUẢ TẠI VÙNG ĐỒNG BẰNG SÔNG HỒNG

Trần Văn Tuyên^{1,2}, Phạm Thị Hào¹, Hồ Thị Thu Giang¹, Nguyễn Đức Tùng^{1*}

¹ Bộ môn Côn trùng, Học viện Nông nghiệp Việt Nam

² Trung tâm Kiểm định và khảo nghiệm thuốc bảo vệ thực vật phía Bắc

*Tác giả liên hệ: nguyenductung@vnua.edu.vn

TÓM TẮT

Sự suy giảm quần thể nhện bắt mồi có ích *Neoseiulus longispinosus* do tác động của thuốc trừ sâu là mối lo ngại lớn trong các chương trình quản lý dịch hại tổng hợp (IPM). Nghiên cứu này được tiến hành nhằm đánh giá hiệu lực của 10 loại thuốc trừ sâu đối với *N. longispinosus* thu thập tại Hà Nội, Bắc Ninh và Vĩnh Phúc. Thí nghiệm được thực hiện bằng cách xử lý nhện bắt mồi trưởng thành cái với các nồng độ thuốc khác nhau bằng 1/4, 1/2, 1, 2 và 4 lần liều khuyến cáo (FD) và theo dõi tỷ lệ tử vong sau 24 và 48 giờ. Kết quả cho thấy Catex 3.6EC, Alfamite 20WP, Secure 10EC và Mitac 20EC là những loại thuốc có hiệu lực cao nhất, đạt gần 100% ở nồng độ FD trở lên sau 48 giờ, cho thấy mức độ độc hại rất cao đối với *N. longispinosus*. Ngược lại, Danisaraba 20SC, Banter 50WG, Goldmite 240EC và Talstar 250EC có hiệu lực thấp hơn, đặc biệt ở nồng độ thấp (1/4FD và 1/2FD), với hiệu lực dao động từ 5% đến 56%, cho thấy chúng ít gây hại hơn đối với nhện bắt mồi. Kết luận, trong khi Catex 3.6EC, Alfamite 20WP, Secure 10EC và Mitac 20EC cần được hạn chế sử dụng trong IPM để bảo tồn quần thể thiên địch, Danisaraba 20SC, Banter 50WG, Goldmite 240EC và Talstar 250EC có thể là các lựa chọn an toàn hơn để duy trì sự cân bằng sinh thái trong canh tác bền vững.

Từ khóa: *Tetranychus urticae*, *Neoseiulus longispinosus*, hiệu lực.

ABSTRACT

The decline of beneficial predatory mites *Neoseiulus longispinosus* due to the impact of pesticides is a significant concern in integrated pest management (IPM) programs. This study was conducted to evaluate the efficacy of 10 pesticides on *N. longispinosus* collected from Hanoi, Bac Ninh, and Vinh Phuc. The experiment was carried out by treating female adult mites with various concentrations of the pesticides (1/4, 1/2, 1, 2, and 4 times field dose FD) and monitoring the mortality rates after 24 and 48 hours. The results showed that Catex 3.6EC, Alfamite 20WP, Secure 10EC, and Mitac 20EC were the most toxic, with efficacy levels nearing 100% at FD concentrations or higher after 48 hours, indicating a very high level of harm to *N. longispinosus*. Conversely, Danisaraba 20SC, Banter 50WG, Goldmite 240EC and Talstar 250EC had significantly lower efficacy, especially at lower concentrations (1/4FD and 1/2FD), with mortality rates ranging from 5% to 56%, suggesting they were less harmful to predatory mites. In conclusion, while Catex 3.6EC, Alfamite 20WP, Secure 10EC, and Mitac 20EC should be restricted in IPM to preserve predatory mite populations, Danisaraba 20SC, Banter 50WG, Goldmite 240EC and Talstar 250EC could be safer alternatives for maintaining ecological balance in sustainable farming practices.

Key words: *Tetranychus urticae*, *Neoseiulus longispinosus*, efficacy.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Trong những năm gần đây, diện tích rau đang phát triển khá nhanh, kéo theo đó là các dịch hại phát triển nhiều và loài nhện đỏ hai chấu *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) gây hại nhiều làm giảm năng suất cây trồng. Hiện nay có rất nhiều biện pháp để phòng trừ nhện đỏ *T. urticae*, trong đó biện pháp sử dụng thuốc bảo vệ thực vật (BVTV) hóa học là chủ yếu. Việc sử dụng thuốc BVTV hóa học trong phòng trừ nhện đỏ hai chấu làm ảnh hưởng đến sinh trưởng, phát triển của các loài thiên địch trong đó có loài nhện bắt mồi *Neoseiulus longispinosus* (Evans) (Acari: Phytoseiidae). Mục đích của nghiên cứu này là đánh giá hiệu lực của một số hoạt chất thuốc trừ sâu nhện đang được sử dụng ngoài sản xuất đối với một số quần thể nhện bắt mồi *N. longispinosus* thu được trên rau tại vùng đồng bằng sông Hồng.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1 Phương pháp nuôi nhện bắt mồi *Neoseiulus longispinosus*

Quần thể nhện bắt mồi *N. longispinosus* dùng làm thí nghiệm được thu trên rau ăn quả tại một số tỉnh vùng Đồng bằng sông Hồng: Hà Nội (xã Phú Thị, huyện Gia Lâm, TP Hà Nội); Bắc Ninh (xã Thái Bảo, huyện Gia Bình, tỉnh Bắc Ninh), Vĩnh Phúc (xã Hương Đạo, huyện Tam Dương, tỉnh Vĩnh Phúc). Mỗi quần thể được nuôi riêng biệt.

Thức ăn cho nhện bắt mồi *N. longispinosus* là nhện *T. urticae*, nuôi ở điều kiện phòng. Để đảm bảo đủ nguồn thức ăn nuôi nhện bắt mồi thì cần nhân nuôi nguồn nhện *T. urticae* thường xuyên. Hộp nuôi nhện bắt mồi là hộp nhựa cao 5,5cm, đường kính đáy 5cm, đường kính miệng 7cm, nắp đậy đục lỗ chữ nhật kích thước 3x5 cm và được dán bằng vải hoặc lưới che có mắt lưới nhỏ (dưới 0,2mm). Phía trong, xung quanh miệng hộp bôi một dải keo dính côn trùng rộng khoảng 1 cm nhằm tránh loài khác xâm nhập hoặc nhện nuôi bò ra ngoài.

Dùng bút lông chuyển đưa từ 50–100 con nhện bắt mồi *N. longispinosus* vào các hộp nuôi, đậy nắp, đảm bảo cách ly. Hằng ngày thả lá đậu có nhện *T. urticae* vào các hộp cho nhện bắt mồi *N. longispinosus* ăn.

2.2 Phương pháp đánh giá ảnh hưởng của thuốc trừ sâu nhện đến tỷ lệ chết của con cái trưởng thành nhện bắt mồi *Neoseiulus longispinosus*

Thí nghiệm thử độc tính của thuốc BVTV trên nhện cái trưởng thành được thực hiện theo phương pháp của Khajehali & cs. (2011)

Chuyển 10 cá thể nhện cái trưởng thành lên mặt trên của đĩa lá đậu cove (lá cắt hình vuông, viền bằng giấy ăn, đặt trên bông ẩm, đổ 1 ít nước vào trong đĩa Petri), sau đó đĩa lá được đặt phun trong tháp phun thuốc BVTV Potter (Burckard Manufacturing, Rickmansworth, Vương quốc Anh) với lượng nước thuốc là 2 mL/ đĩa lá, áp suất 1 Bar.

Sau khi phun xong, các đĩa lá chứa nhện đã xử lý thuốc sẽ được chuyển vào tủ định ôn và giữ nhiệt độ ở $27 \pm 0,5$ °C và độ ẩm 75% RH với chu kỳ quang sáng: tối 16: 8 giờ. Tỷ lệ chết được đánh giá sau 24 và 48 giờ. Những cá thể không thể di chuyển khi chạm bằng bút lông mịn dưới kính hiển vi soi nổi được coi là đã chết. Các đĩa đối chứng được phun nước lọc và tỷ lệ chết quan sát được luôn thấp hơn 10%.

Liều khuyến cáo (FD), $\frac{1}{4}$ FD, $\frac{1}{2}$ FD, FD, 2FD và 4FD được sử dụng cho tất cả các loại thuốc BVTV như mô tả của Khajehali & cs. (2011). Mỗi nồng độ được lặp lại 4 lần.

Bảng 1 Các loại thuốc trừ sâu nhện sử dụng trong thí nghiệm

STT	Tên thuốc	Hoạt chất	Nồng độ khuyến cáo (ml/l, g/l)
1	Catex 3.6EC	Abamectin 3,6% w/w	0,5
2	Alfamite 20WP	Pyridaben 150g/l	1,3
3	Comite 73EC	Propagite 73% w/w	0,98
4	Mitac 20EC	Amitraz 200g/l	2
5	Danisaraba 20SC	Cyflumetofen 200g/l	1,5
6	Banter 500WG	Bifenazate 500g/kg	0,48
7	Goldmite 240SC	Spirodiclofen 240g/l	1
8	Secure 10EC	Chlorfenapyr 100g/l	1,5
9	Talstar 250EC	Bifenthrin 25g/l	1,5
10	Taron 50EC	Chlorpyrifos Methyl 50% w/w	1,5

Tỷ lệ tử vong được hiệu chỉnh bằng cách sử dụng công thức của Abbott. Các loài được phân loại là kháng thuốc nếu tỷ lệ chết quan sát được thấp hơn 50% ở liều khuyến cáo; kháng vừa khi tỷ lệ tử chết quan sát được thấp hơn 50% ở liều gấp 2 lần liều khuyến cáo (2FD) và kháng cao khi tỷ lệ chết quan sát được thấp hơn 50% ở liều gấp 4 lần liều khuyến cáo (4FD).

1. Hiệu lực thuốc được tính được tính toán theo công thức Abbott:

$$H (\%) = \frac{(C_a - T_a) \times 100}{C_a}$$

Trong đó:

- + H (%) là hiệu lực của thuốc tính theo phần trăm;
- + C_a là số lượng cá thể côn trùng sống ở công thức đối chứng sau xử lý;
- + T_a là số lượng cá thể côn trùng sống ở công thức thí nghiệm sau xử lý.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Để đánh giá được ảnh hưởng của một số thuốc đang được sử dụng rộng rãi ngoài đồng ruộng cũng như các thuốc đang được đăng ký để trừ nhện đỏ, tôi tiến hành thử nghiệm 10 loại thuốc với 10 hoạt chất khác nhau đối với quần thể nhện bắt mồi thu tại Phú Thị, Gia Lâm, Hà Nội; Thái Bảo, Gia Bình, Bắc Ninh và Hưng Đạo, Tam Dương, Vĩnh Phúc ở các nồng độ, đó là nồng độ khuyến cáo (FD), nồng độ bằng ¼FD, ½FD, 2FD và 4FD, theo dõi sau 24 giờ và 48 giờ.

Bảng 2. Ảnh hưởng của một số loại thuốc trừ sâu nhện đến *N. longispinosus* thu thập tại Phú Thị, Gia Lâm, Hà Nội năm 2023

ST T	Tên thuốc	Hiệu lực thuốc (%)									
		Sau xử lý thuốc 24h					Sau xử lý thuốc 48h				
		1/4F D	1/2F D	FD	2FD	4FD	1/4F D	1/2F D	FD	2FD	4FD
1	Catex 3.6EC	28,20	30,76	46,1 5	48,7 1	66,6 6	47,50	70,00	87,5 0	90,0 0	95,0 0
2	Alfamite 20WP	38,46	58,97	69,2 3	82,0 5	84,6 1	56,41	71,79	89,7 4	92,3 0	97,4 3
3	Comite 73EC	7,69	12,82	15,3 8	23,0 7	23,0 7	15,38	20,51	20,0 7	30,7 6	56,4 1
4	Mitac 20EC	76,92	82,05	97,4 3	100	100	84,61	92,30	100	100	100
5	Danisaraba 20SC	2,56	7,69	7,69	12,8 2	17,9 4	5,12	10,25	10,2 5	23,0 7	28,2 0
6	Banter 50WG	2,56	7,69	10,2 5	12,8 2	17,9 4	17,94	20,51	28,2 0	33,3 3	41,0 2
7	Goldmite 240EC	7,69	12,82	17,9 4	20,5 1	25,6 4	20,51	28,20	30,7 6	35,8 9	56,4 1
8	Secure 10EC	87,17	89,74	94,8 7	100	100	89,74	94,87	97,4 3	100	100
9	Taron 50EC	17,94	20,51	12,8 2	30,7 6	64,1 0	15,38	17,94	23,0 7	51,2 8	69,2 3
10	Talstar 250EC	5,12	15,38	17,9 4	20,5 1	28,2 0	12,82	17,94	25,6 4	25,6 4	35,8 9

Ghi chú: FD: nồng độ khuyến cáo, 1/4FD, 1/2FD, 2FD, 4FD: nồng độ bằng 1/4, 1/2, 2 và 4 lần nồng độ khuyến cáo; Pha thử nghiệm: nhện cái trưởng thành

Dựa trên số liệu từ Bảng 2, có thể thấy rằng các loại thuốc trừ sâu nhện như Alfamite 20WP, Mitac 20EC và Secure 10EC có hiệu lực cao nhất đối với *Neoseiulus longispinosus*, tức là mức độ độc hại cũng cao nhất đối với loài nhện bắt mồi này. Sau 48 giờ xử lý, Alfamite 20WP đạt hiệu lực từ 56,41% ở nồng độ 1/4FD lên đến 97,43% ở nồng độ 4FD, cho thấy mức độ tiêu diệt cao, đặc biệt là khi tăng nồng độ. Secure 10EC và Mitac 20EC thậm chí còn cho thấy hiệu lực cực kỳ cao ngay cả ở nồng độ thấp. Hiệu lực của thuốc này đạt 89,74% và 84,61% ở liều 1/4FD và lên đến 100% ở nồng độ FD và cao hơn sau 48 giờ. Điều này cho thấy Secure 10EC và Mitac 20EC là hai loại thuốc độc hại nhất đối với nhện bắt mồi *N. longispinosus* tại Gia Lâm.

Ngược lại, Danisaraba 20SC là loại thuốc ít độc hại nhất với hiệu lực thấp nhất, chỉ đạt từ 5,12% đến 28,20% sau 48 giờ ở các nồng độ từ 1/4FD đến 4FD. Các loại thuốc khác như Banter 50WG và Talstar 250EC cũng có mức độ độc tính thấp đến trung bình, với hiệu lực dao động từ 20,51% đến 35,89% tùy theo nồng độ và thời gian xử lý. Điều này cho thấy rằng Danisaraba 20SC, Banter 50WG và Talstar 250EC là những lựa chọn an toàn hơn trong các chương trình quản lý dịch hại tổng hợp (IPM) khi mục tiêu là bảo tồn quần thể nhện bắt mồi

Bảng 3 Ảnh hưởng của một số loại thuốc trừ sâu nhện đến *N. longispinosus* thu thập tại Thái Bảo, Gia Bình, Bắc Ninh năm 2023

STT	Tên thuốc	Hiệu lực thuốc (%)									
		Sau xử lý thuốc 24h					Sau xử lý thuốc 48h				
		1/4FD	1/2FD	FD	2FD	4FD	1/4FD	1/2FD	FD	2FD	4FD
1	Catex 3.6EC	30,7	33,33	51,28	53,84	58,97	42,1	63,15	92,10	86,84	97,36
2	Alfamite 20WP	33,33	56,41	74,35	82,05	84,61	60,52	76,31	97,36	89,47	97,36
3	Comite 73EC	12,82	20,51	25,64	28,20	30,76	23,64	39,47	44,73	47,36	73,68
4	Mitac 20EC	66,66	79,92	94,87	-	-	71,05	81,57	100	-	-
5	Danisaraba 20SC	2,56	2,56	5,12	15,38	25,64	15,7	13,15	10,52	28,94	34,21
6	Banter 50WG	7,69	12,82	35,89	46,15	56,41	15,78	36,84	47,36	57,89	73,68
7	Goldmite 240EC	30,76	48,71	56,41	58,97	61,53	42,10	63,15	60,52	73,68	78,94
8	Secure 10EC	82,05	87,17	92,30	-	-	94,73	92,10	97,36	-	-
9	Taron 50EC	20,51	25,64	41,02	51,28	53,84	26,31	39,47	55,26	68,42	71,05
10	Talstar 250EC	12,82	15,38	23,07	28,20	41,02	21,05	28,94	34,21	36,84	55,26

Ghi chú: FD: nồng độ khuyến cáo, 1/4FD, 1/2FD, 2FD, 4FD: nồng độ bằng 1/4, 1/2, 2 và 4 lần nồng độ khuyến cáo; Pha thử nghiệm: nhện cái trưởng thành

Tại Gia Bình, Bắc Ninh, Catex 3.6EC, Alfamite 20WP và Secure 10EC một lần nữa là những loại thuốc có mức độ độc hại cao nhất đối với *N. longispinosus*. Hiệu lực của Catex 3.6EC và Alfamite 20WP đạt từ 42,1% và 60,52% ở nồng độ 1/4FD đến 97,36% ở nồng độ 4FD sau 48 giờ. Secure 10EC cũng cho thấy mức độ ảnh hưởng lớn với hiệu lực đạt 94,73% ở nồng độ 1/4FD và gần 100% ở nồng độ FD trở lên. Điều này khẳng định ba loại thuốc này là những loại độc nhất đối với loài nhện bắt mồi, làm suy giảm đáng kể quần thể của chúng chỉ sau 48 giờ xử lý.

Ngược lại, Danisaraba 20SC vẫn thể hiện là loại thuốc ít độc hại nhất, với hiệu lực chỉ từ 1,57% đến 34,21% sau 48 giờ xử lý ở các nồng độ từ 1/4FD đến 4FD. Banter 50WG và Talstar 250EC cũng cho thấy mức độ ảnh hưởng thấp hơn, với hiệu lực lần lượt đạt tối đa 73,68% và 55,26% ở liều cao nhất. Nhìn chung, các thuốc này ít ảnh hưởng hơn và có thể được xem xét sử dụng trong các chương trình IPM nhằm bảo vệ các loài thiên địch như nhện *N. longispinosus*.

Bảng 4 Ảnh hưởng của một số loại thuốc trừ sâu nhện đến *N. longispinosus* thu thập tại Hưng Đạo, Tam Dương, Vĩnh Phúc 2023

STT	Tên thuốc	Hiệu lực thuốc (%)									
		Sau xử lý thuốc 24h					Sau xử lý thuốc 48h				
		1/4FD	1/2FD	FD	2FD	4FD	1/4FD	1/2FD	FD	2FD	4FD
1	Catex 3.6EC	25,64	38,46	66,66	69,23	87,17	52,50	75,00	90,00	92,50	97,50

2	Alfamite 20WP	38,46	58,97	69,23	82,05	84,61	57,50	72,50	90,00	92,50	97,50
3	Comite 73EC	2,56	5,12	10,25	17,94	25,64	20,00	22,50	25,00	27,50	35,00
4	Mitac 20EC	58,97	76,92	79,48	89,74	92,30	87,5	87,50	90,00	97,50	100
5	Danisaraba 20SC	7,69	10,25	17,94	20,51	30,76	22,50	37,50	47,50	50,00	55,00
6	Banter 50WG	2,56	7,69	10,25	12,82	17,94	17,94	20,51	28,20	33,33	41,02
7	Goldmite 240EC	2,56	5,12	7,69	10,25	15,38	17,50	25,00	27,50	30,00	32,50
8	Secure 10EC	79,48	87,17	79,30	-	-	85,00	90,00	95,00	-	-
9	Taron 50EC	7,69	15,38	20,51	30,76	38,46	15,00	20,00	37,50	65,00	70,00
10	Talstar 250EC	5,12	7,69	10,25	12,82	15,38	15,00	12,50	17,50	27,50	35,00

Ghi chú: FD: nồng độ khuyến cáo, 1/4FD, 1/2FD, 2FD, 4FD: nồng độ bằng 1/4, 1/2, 2 và 4 lần nồng độ khuyến cáo; Pha thử nghiệm: nhện cái trưởng thành

Tại Tam Dương, Vĩnh Phúc, Catex 3.6EC, Alfamite 20WP và Mitac 20EC là ba loại thuốc có độc tính cao nhất đối với *N. longispinosus*. Catex 3.6EC và Alfamite 20WP cho thấy hiệu lực tăng dần theo nồng độ, từ 52,50% và 57,50% ở liều 1/4FD đến 97,50% ở liều 4FD sau 48 giờ xử lý. Mitac 20EC cũng cho thấy mức độ độc hại cao, đạt hiệu lực gần như tuyệt đối (100%) ở liều FD và cao hơn sau 48 giờ. Ba loại thuốc này tiêu diệt gần như hoàn toàn quần thể nhện bắt mồi sau thời gian xử lý ngắn, cho thấy chúng có khả năng gây hại lớn đối với các loài thiên địch trong hệ sinh thái nông nghiệp.

Ngược lại, Danisaraba 20SC tiếp tục là loại thuốc có độc tính thấp nhất, với hiệu lực chỉ đạt tối đa 55,00% ở liều 4FD sau 48 giờ. Banter 50WG, Goldmite 240EC và Talstar 250EC cũng thể hiện hiệu lực tương đối thấp, lần lượt đạt 41,02%, 56,41% và 35,00% ở liều cao nhất sau 48 giờ xử lý. Điều này cho thấy rằng bốn loại thuốc Danisaraba 20SC, Banter 50WG, Goldmite 240EC và Talstar 250EC là các lựa chọn ít độc hại hơn, phù hợp hơn cho việc sử dụng trong các chiến lược IPM nhằm bảo vệ và duy trì quần thể nhện bắt mồi *N. longispinosus*.

Nghiên cứu của chúng tôi đối với quần thể nhện bắt mồi thu được tại Hà Nội, Bắc Ninh và Vĩnh Phúc:

Thuốc Alfamite 20WP (*Pyridaben*) gây ảnh hưởng lớn đến trưởng thành cái *N. longispinosus*, kết quả này khác so với nghiên cứu của Manita & Akio (2006), kết quả này là giống với các nghiên cứu của Mochizuki (2003) và Amano & cs. (2004) hoạt chất Pyridaben gây hại nhẹ tới *N. womersleyi*.

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi về thuốc Catex 3.6EC (*Abamectin*) phù hợp với các nghiên cứu trước đó của Manita & Akio (2006) và Ibrahim & Yee (2000) đều chỉ ra rằng hoạt chất *Abamectin* gây ảnh hưởng đến nhện cái trưởng thành *N. longispinosus*.

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi về thuốc Mitac 20EC (*Amitraz*) cũng ảnh hưởng nặng đến nhện cái trưởng thành *N. longispinosus* phù hợp với nghiên cứu của Manita & Akio (2006).

Kết quả nghiên cứu về ảnh hưởng của thuốc Secure 10EC (*Chlorfenapyr*) ảnh hưởng nặng đến nhện cái trưởng thành. Kết quả này phù hợp với nghiên cứu của Kavya & cs. (2015)

Kết quả chúng tôi nghiên cứu cho thấy đối với quần thể nhện cái trưởng thành *N. longispinosus* thu tại Hà Nội và Bắc Ninh bị ảnh hưởng nhẹ khi xử lý thuốc Danisaraba 20SC (*Cyflumetofen*). Kết quả

này tương tự với nghiên cứu của Geum & cs. (2008) hoạt chất *Cyflumetofen* không ảnh hưởng tới nhện cái trưởng thành *Neoseiulus womersleyi*.

Đối với quần thể nhện bắt mồi *N.longispinosus* thu tại Hà Nội và Vĩnh Phúc bị ảnh hưởng nhẹ khi xử lý thuốc Talstar 50EC (*Bifenthrin*). Kết quả nghiên cứu của Cobanoglu & Alzoubi (2008) cho thấy hoạt chất Bifenthrin gây chết 52,94% loài *N.californicus* sau 3 ngày xử lý thuốc.

Đối với quần thể nhện bắt mồi *N.longispinosus* thu tại Hà Nội và Vĩnh Phúc bị ảnh hưởng nhẹ khi xử lý thuốc Banter 500WG (*Bifenazate*). Kết quả nghiên cứu của Xiu-Qin & cs. (2017) chỉ ra hoạt chất *Bifenazate* ảnh hưởng nhẹ đến nhện cái trưởng thành loài *N.bicaudus*.

4. KẾT LUẬN

Các loại thuốc bảo vệ thực vật dùng trong phòng trừ nhện đỏ hai chấm *T. urticae* đều có ảnh hưởng đến quần thể nhện bắt mồi *N.longispinosus* thu tại Hà Nội, Bắc Ninh và Vĩnh Phúc.

Catex 3.6EC, Alfamite 20WP, Secure 10EC và Mitac 20EC là những loại thuốc có hiệu lực cao nhất, đạt gần 100% ở nồng độ FD trở lên sau 48 giờ, cho thấy mức độ độc hại rất cao đối với *N. longispinosus*. Ngược lại, Danisaraba 20SC, Banter 50WG, Goldmite 240EC và Talstar 250EC có hiệu lực thấp hơn, đặc biệt ở nồng độ thấp (1/4FD và 1/2FD), với hiệu lực dao động từ 5% đến 56%, cho thấy chúng ít gây hại hơn đối với nhện bắt mồi.

Kết luận, trong khi Catex 3.6EC, Alfamite 20WP, Secure 10EC và Mitac 20EC cần được hạn chế sử dụng trong IPM để bảo tồn quần thể thiên địch, Danisaraba 20SC, Banter 50WG, Goldmite 240EC và Talstar 250EC có thể là các lựa chọn an toàn hơn để duy trì sự cân bằng sinh thái trong canh tác bền vững.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Amano, H., Y. Ishii and Y. Kobori (2004) Pesticide susceptibility of two dominant phytoseiid mites, *Neoseiulus californicus* and *N. womersleyi*, in conventional Japanese fruit orchards (Gamasina: Phytoseiidae). Journal of the Acarological Society of Japan, 13: 65–70.
2. Cobanoglu S. and Alzoubi S. (2008). Direct effects of some pesticides on two-spotted spider mite *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) and its predatory mite (Phytoseiulus persimilis athias-henriot, *Neoseiulus californicus* [McGregor] on cucumber plant under greenhouse conditions. 6th Symposium of the European Association of Acarologists.
3. Geum Su Cheon, Chae Hoon Paik and Sang Soo Kim. (2008). Selective toxicity of three Acaricides to the predatory mite, *Neoseiulus womersleyi* and its prey, *Tetranychus urticae* (Acari: Phytoseiidae, Tetranychidae). The Korean Journal of Pesticide Science vol.12 no.3: 249-255
4. Ibrahim, Y. B. and T. S. Yee (2000) Influence of sublethal exposure to abamectin on the biological performance of *Neoseiulus longispinosus* (Acari: Phytoseiidae). Journal of Economic Entomology, 93: 1085–1089.
5. Khajehali J., Van Nieuwenhuysse P., Demaeght P., Tirry L. & Van Leeuwen T. (2011). Acaricide resistance and resistance mechanisms in *Tetranychus urticae* populations from rose greenhouses in the Netherlands. Pest management science. 67(11): 1424-1433.

6. Manita Kongchuensin & Akio Takafuhi (2006). Effects of some pesticides on the predatory mite, *Neoseiulus longispinosus* (Evans) (Gamasina: Phytoseiidae). The Acarological Society of Japan. 15(1): 17-27
7. Mochizuki, M. (2003) Effectiveness and pesticide susceptibility of pyrethroid-resistant predatory mite *Amblyseius womersleyi* in the integrated pest management of tea pests. *BioControl*, 48: 207–221.
8. M.K.Kavya, N. Srinivasa, A. S. Vidyashree and G.B. Ravi (2015). Bioefficacy of newer acaricides against two spotted spider mite, *Tetranychus urticae* and Phytoseiid predator, *Neoseiulus longispinosus* on brinjal under field condition. *Plant Archive* vol 15. No.1: 493-497.
9. Xiu-Qin Shen, Yan-Nan Zhang, Ting Li, Jue-Ying-Qi Jiang and Jian-Ping Zhang (2017). Toxicity of three Acaricides to the Predatory mite, *Neoseiulus bicaudus* (Acari: Phytoseiidae) and their impact on the Functional response to *Tetranychus turkestani* (Acari: Tetranychidae). *Journal of Economic Entomology*, 110(5): 2031 - 2038

LỰA CHỌN GIỐNG VÀ THỜI VỤ TRỒNG CẢI BẮP AN TOÀN TRÁI VỤ CHO XÃ VÙNG CAO TỈNH HÒA BÌNH

Nguyễn Thị Ngọc Dinh^{1,2*}, Nguyễn Hồng Hạnh^{1,2}, Nguyễn Trọng Tuynh³, Phạm Thị Bích Phương¹

¹ Khoa Nông học, Học viện Nông nghiệp Việt Nam;

² Trung tâm Nông nghiệp hữu cơ, Khoa Nông học, Học viện Nông nghiệp Việt Nam

³ Khoa kế toán và quản trị kinh doanh, Học viện Nông nghiệp Việt Nam

*Tác giả liên hệ: ntndinh@vnua.edu.vn

ABSTRACT

One of the ways to create safe vegetable products with high economic efficiency is to produce off-season crops to take advantage of the climate of the highlands in Van Son commune, Tan Lac district, Hoa Binh province. The two-factor experiment was arranged in Split-plot design with mainplot as: three off-season planting date (March 25, 2023 (season 1), April 14, 2023 (season 2), May 7, 2023 (Season 3)), while subplots were three cabbage varieties as: Grand KKcross, Green Helmet and HMT34 with three replications. The experiment was conducted to determine which cabbage variety and off-season planting date were suitable for Van Son highland commune. The results showed that the climatic conditions in Van Son highland commune are completely capable of producing off-season cabbages. In which, the planting date of March 25, 2023 and April 14, 2023 were both suitable for the growth, physiology, yield and quality of cabbage with a actual yield of 22.48 tons ha⁻¹ and 21.54 tons ha⁻¹ respectively. The Grand KKcross cabbage variety was the most suitable for off-season cabbage production with an average corn mass, the highest actual yield (23.06 tons ha⁻¹), and the best fiber content. Combining the off-season planting date and variety, the planting date of March 25, 2024 and April 14, 2023 and the Grand KKcross variety are most suitable for Van Son highland commune because the growth, physiology, yield and quality characteristics are higher than the remaining varieties and seasons with a actual yield of 26.67 tons ha⁻¹ and 24.57 tons ha⁻¹ respectively.

Keywords: *Cabbage variety, VietGAP standards, off-season, highland*

TÓM TẮT

Một trong những cách làm để tạo ra sản phẩm rau an toàn có hiệu quả kinh tế cao là sản xuất trái vụ để tận dụng lợi thế về khí hậu của vùng cao tại xã Vân Sơn, huyện Tân Lạc, tỉnh Hòa Bình. Thí nghiệm hai nhân tố được bố trí theo kiểu Spit-plot với nhân tố ô lớn là thời vụ trái vụ với ba thời vụ gieo: thời vụ 1 (25/3/2023), thời vụ 2 (14/4/2023), thời vụ 3 (7/5/2023) và nhân tố ô nhỏ là ba giống cải bắp: giống cải bắp Grand KK cross, giống cải bắp Green Helmet và giống cải bắp HMT34 với 3 lần nhắc lại. Kết quả thí nghiệm khẳng định rằng, điều kiện khí hậu ở xã Vân Sơn hoàn toàn có thể sản xuất được cải bắp trái vụ. Trong đó, thời vụ gieo 25/03/2023 và 14/4/2023 đều thích hợp đối với sinh trưởng, sinh lý, năng suất và chất lượng của cải bắp với năng suất thực thu đạt 22,48 tấn/ha và 21,54 tấn/ha tương ứng. Giống cải bắp Grand KKcross là phù hợp nhất đối với sản xuất cải bắp trái vụ với khối lượng trung bình bắp, năng suất thực thu đạt cao nhất (23,06 tấn/ha), hàm lượng chất xơ tốt nhất. Kết hợp thời gian trái vụ và giống, thời vụ gieo trồng ngày 25/03/2024 (thời vụ 1) và 14/4/2023 (thời vụ 2) và giống Grand KKcross là phù hợp nhất với xã vùng cao Vân Sơn bởi vì các đặc điểm sinh trưởng, sinh lý, năng suất và chất lượng cao hơn so với các giống và thời vụ còn lại với năng suất thực thu đạt 26,67 tấn/ha và 24,57 tấn/ha tương ứng.

Từ khóa: *Giống cải bắp, tiêu chuẩn VietGAP, thời vụ trái vụ, vùng cao*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cải bắp (*Brassica oleracea* nhóm *Capitata*) là một loại rau chủ lực trong họ thập tự. Cải bắp được trồng phổ biến trên thế giới. Ở Việt Nam, cải bắp không chỉ được trồng ở quy mô lớn để làm hàng hóa mà trong những mảnh vườn của nhiều gia đình cũng tự trồng để cung cấp rau sạch cho gia đình. Cải bắp là cây rau quan trọng trong vụ đông xuân ở miền Bắc nước ta (Tạ Thu Cúc, 2007). Cải bắp là loại rau có giá trị dinh dưỡng và năng suất cao; dễ bảo quản, dễ vận chuyển; có thị trường tiêu thụ lớn. Với khí hậu mát mẻ quanh năm, xã vùng cao Vân Sơn, huyện Tân Lạc, tỉnh Hòa Bình hiện đang được xem là địa phương được thiên nhiên ưu đãi, có lợi thế sản xuất rau, nhất là các mặt hàng rau trái vụ phục vụ cho thị trường các tỉnh miền Bắc vào vụ hè.

Rau vụ đông trái vụ nghịch là các loại rau vụ đông như cải bắp, cà rốt, cải củ ... được trồng trong các tháng mùa hè (Krishna & cs., 2024). Vụ hè là thời điểm nhiệt độ cao, lượng mưa lớn và độ ẩm cao ít phù hợp cho các loại rau ôn đới (Schreinemachers & cs., 2016). Vì thế, không phải địa phương nào cũng có thể trồng được rau trái vụ. Mặt khác, sản xuất được rau trái vụ không chỉ mang lại việc làm cho nông dân mà còn làm tăng thu nhập (Krishna & cs., 2024). Trồng trọt trái vụ đóng vai trò then chốt trong việc giải quyết tình trạng thiếu hụt dinh dưỡng và mang lại lợi nhuận kinh tế cho nông dân ở Ấn Độ (Krishna & cs., 2024). Khi tính toán tỷ lệ lợi nhuận trên vốn đầu tư của sản xuất cà chua trái vụ là 3,3 lần (Zaman & cs., 2006) trong khi đó sản xuất cà chua chính vụ chỉ thu được 1,7 lần (Zaman & cs., 2010). Một số xã vùng cao ở Miền Bắc đã triển khai thành công trồng rau ôn đới trái vụ như xã Khâu Tinh, huyện Na Hang, tỉnh Tuyên Quang theo tiêu chuẩn VietGAP (Đào Thanh & Đồng Thường, 2020), xã Trinh Tường, xã Y Tý, huyện Bát Xát, tỉnh Lào Cao như cải củ, bắp cải, cà chua... (Nguyễn Hồng Quế, 2018).

Xã Vân Sơn, huyện Tân Lạc là 1 trong 3 xã vùng cao huyện Tân Lạc, tỉnh Hòa Bình với độ cao 600-800m so với mực nước biển với nhiệt độ trung bình tháng trong năm từ 18-19°C phù hợp cho trồng rau ôn đới trái vụ (Báo cáo quy hoạch đất đai huyện Tân Lạc, tỉnh Hòa Bình, 2020). Chiến lược phát triển của tỉnh trong thời gian tới là mở rộng diện tích trồng các loại rau ôn đới trồng trái vụ nhằm cho hiệu quả kinh tế cao, có chứng nhận rau an toàn VietGAP hoặc hữu cơ để phát huy các lợi thế về sinh thái của vùng. Tuy nhiên, để đảm bảo được sản xuất rau ôn đới trái vụ có hiệu quả, bền vững thì cần xác định thời điểm trồng phù hợp để né tránh điều kiện thời tiết bất thuận, sử dụng các giống chịu nhiệt, đầu vào phân bón và áp dụng kỹ thuật sản xuất phù hợp, cũng như thông tin thị trường (Krishna & cs., 2024). Do vậy, mục đích của nghiên cứu này là lựa chọn được giống và thời vụ trồng cải bắp trái vụ để sản xuất an toàn tại xã vùng cao Vân Sơn, huyện Tân Lạc, tỉnh Hòa Bình để tận dụng thế mạnh của địa phương và nâng cao được hiệu quả sản xuất cho người nông dân.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu

Ba giống cải bắp: Cải bắp F1 Grand KKcross (G1) (Công ty TNHH giống cây trồng Takii Việt Nam), Giống cải bắp F1 Green Helmet (G2) (Công ty cổ phần giống cây trồng Sakata), Giống cải bắp F1 HMT 34 (G3) (công ty TNHH Hai mũi tên đỏ).

Phân bón ủ hoai organic Thu Hoài 28 (Đạm tổng số: 1%, độ ẩm: 30%, Chất hữu cơ: 22%, tỷ lệ C/N: 12, pH_{H₂O}: 5), Phân vi sinh sông Gianh HC-15, Phân đạm ure Hà Bắc (N 46,3%), Phân supe lân (Lâm Thao 17% P₂O₅), Phân kali clorua Hà Anh (60% K₂O).

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Bố trí thí nghiệm

Thí nghiệm hai nhân tố được bố trí theo kiểu chia ô (Split - plot) với ba thời vụ trái vụ trồng ngày (25/3/2023 (thời vụ 1 - V1), 14/4/2023 (Thời vụ 2 - V2), 7/5/2023 (Thời vụ 3 - V3)), với ba giống cải bắp kí hiệu lần lượt là G1, G2 và G3 và 3 lần nhắc lại. Ô lớn là thời vụ, ô nhỏ là giống. Tổng số ô thí nghiệm là 27. Mỗi ô thí nghiệm 10m², tổng diện tích thí nghiệm là 270 m². Nền phân bón cho 1ha là 6 tấn phân chuồng, 100 kg N + 120 kg P₂O₅ + 120 kg K₂O, 1000 kg phân hữu cơ vi sinh/ha. Luống cải bắp rộng 1m, cải bắp trồng với khoảng cách hàng cách hàng 60 cm, cây cách cây 40 cm. Thí nghiệm được chăm sóc theo quy trình kỹ thuật sản xuất rau an toàn của Sở Nông nghiệp và PTNT Hà Nội ban hành theo quyết định số 577 QĐ/SNN-TT ngày 10 tháng 05 năm 2010.

Thí nghiệm được tiến hành từ tháng 3 đến tháng 8/2023 tại khu sản xuất của Tổ hợp tác sản xuất rau an toàn, rau hữu cơ Vân Sơn, Xóm Chiềng, xã Vân Sơn, huyện Tân Lạc, tỉnh Hòa Bình được chứng nhận đạt tiêu chuẩn VietGAP (20°33'54.6"B, 105°10'26.0"E).

2.2.2. Chỉ tiêu và phương pháp theo dõi

Các chỉ tiêu sinh trưởng, sinh lý được đo cho 5 cây/lần nhắc lại bao gồm: Thời gian sinh trưởng (TGST); số lá/cây; chỉ số SPAD (đo bằng máy SPAD-502 (Konica-Minolta 502, Nhật Bản).

Chỉ tiêu các yếu tố cấu thành năng suất và năng suất, chất lượng: Các chỉ tiêu đo bắp/lần nhắc lại bao gồm: Đường kính bắp (cm); chiều cao bắp (cm); Khối lượng trung bình bắp (g); năng suất lý thuyết (tấn/ha); năng suất thực thu (tấn/ha); độ cứng (kgf); độ Brix (đo bằng Milwaukee 882); khối lượng chất khô (g/bắp); hàm lượng chất khô (TCVN 5366 – 91); các chỉ tiêu trong sản phẩm bắp (mỗi lần nhắc lại phân tích 3 bắp) bao gồm: hàm lượng NO₃⁻ (10 TCN 457-2001), hàm lượng Vitamin C (TCVN 6427-2:1998), chất xơ (TCVN 5714:2007), đường tổng số (TCVN 4594 -88), kim loại nặng Pb (TCVN 7766:2007), Cd (TCVN 7768-1:2007).

Chỉ tiêu về đất và nước: Các chỉ tiêu về nước: DO (ôxy hòa tan), tổng chất rắn hòa tan (TDS) (đo bằng máy TDS HANNA HI 86302), các chỉ tiêu (pH_{KCL}, Clorua (TCVN 6194-1996), As (TCVN 6193-1996), Cd (TCVN 6193-1996), Cr (TCVN 6193-1996), Hg (TCVN 6193-1996), Cu (TCVN 6193-1996), Pb (TCVN 6193-1996), Zn (TCVN 6193-1996), E.coli (TCVN 6187-2:1996), Coliform (TCVN 6187-2:1996); Trước thí nghiệm lấy một mẫu đất chung cho cả thí nghiệm và sau thí nghiệm mỗi lần nhắc lại lấy một mẫu. Mỗi lần nhắc lại lấy ba điểm trên một ô thí nghiệm ở tầng canh tác 0-30 cm và trộn lại với nhau thành một mẫu hỗn hợp. Mẫu đất được lấy theo TCVN 5738-2:2005, ISO 10381-2:2005 (lấy tầng canh tác 30cm, sau đó phơi trong bóng tối cho khô) và phân tích các chỉ tiêu về đất trồng gồm: dung trọng (TCVN 6860:2001), pH_{KCL}(TCVN 5979:2007), CEC (dung lượng cation trao đổi) (TCVN 8568:2010), chất hữu cơ tổng số (TCVN 9294:2012), N tổng số (N_{ts}) (TCVN 6498:1999), P₂O₅ tổng số (P_{ts}) (TCVN 8940:2011), K₂O tổng số (K_{ts}) (TCVN 8660:2011), dung lượng cation trao đổi (CEC) (TCVN 8568:2010), Cd (TCVN 6496:2009), Pb (TCVN 6496:2009).

Theo dõi số liệu nhiệt độ, độ ẩm tại khu thí nghiệm bằng máy đo nhiệt ẩm kế tự ghi ElitechLog V6.4.3.

2.2.3. Phương pháp xử lý số liệu

Số liệu được xử lý thống kê bằng phương pháp phân tích phương sai (ANOVA) sử dụng phần

mềm thống kê sinh học Minitab 16. Tiêu chuẩn Tukey được sử dụng để so sánh sự sai khác giữa giá trị trung bình ở độ tin cậy 95%.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Điều kiện thời tiết và ảnh hưởng của giống và thời vụ đến các chỉ tiêu về nước, đất trước và sau thí nghiệm

Bảng 1. Đặc điểm thời tiết tại địa điểm nghiên cứu năm 2023

Tháng	Nhiệt độ cao nhất (°C)	Nhiệt độ thấp nhất (°C)	Nhiệt độ trung bình tháng (°C)	Độ ẩm cao nhất (%)	Độ ẩm thấp nhất (%)	Độ ẩm trung bình tháng (%)
3	34,0	14,7	20,7	91,8	37,6	79,2
4	32,6	16,1	23,8	96,1	61,1	84,5
5	40,7	18,5	26,1	98,8	35,6	78,9
6	40,1	19,8	26,2	100,0	46,2	84,3
7	35,3	19,9	26,3	98,7	49,2	82,4
8	34,2	20,5	25,0	95,4	60,5	86,2

Thí nghiệm thời vụ được tiến hành từ tháng 3 đến tháng 8/2023 tại xóm Chiềng, Vân Sơn, Tân Lạc. Nhiệt độ trung bình các tháng 5,6,7,8 biến động từ 25,0⁰C đến 26,3⁰C. Kết quả cho thấy xã Vân Sơn có điều kiện thời tiết thích hợp để sản xuất rau trái vụ (Bảng 1). Nhiệt độ trung bình tháng 4/2023 là 23,8⁰C, nhiệt độ thấp nhất vào đêm là 16,1⁰C nên vẫn thích hợp với sinh trưởng của cải bắp (Tạ Thu Cúc, 2007).

Bảng 2. Kết quả phân tích mẫu nước trước thử nghiệm

Tên chỉ tiêu	Đơn vị	Kết quả phân tích	Giới hạn cho phép
pH		7,36	6-8,5
DO	%	61,0	-
Tổng chất rắn hòa tan	mg/l	151	-
Clorua (Cl)	mg/l	22,9	≤350
Crom (Cr)	mg/l	0,01	≤0,04
Thủy ngân (Hg)	mg/l	KPH	≤0,001
Chì (Pb)	mg/l	KPH	≤0,005
Cadimi (Cd)	mg/l	KPH	≤0,01
Đồng (Cu)	mg/l	0,32	≤0,5
Kẽm (Zn)	mg/l	0,39	≤1,5
Asen (As)	mg/l	KPH	≤0,05
Mật độ Coliform	CFU/100ml	7000±250	≤7500
Mật độ E.coli	CFU/100ml	92 ± 5	≤100

(Ghi chú: Giới hạn cho phép được so sánh theo QCVN 08-MT:2015/BTNMT)

Nước được sử dụng ở khu thí nghiệm trồng rau an toàn trái vụ không có yếu tố hạn chế trong sản xuất rau an toàn theo tiêu chuẩn VietGAP (Bảng 2). Mẫu nước ở khu thí nghiệm đảm bảo tiêu chuẩn sản xuất an toàn theo VietGAP. Nước tại khu thí nghiệm có pH, DO, tổng chất rắn hòa tan, Cl, Mật độ Coliform và E.Coli đều nằm trong ngưỡng cho phép.

Bảng 3. Ảnh hưởng của tương tác giữa giống và thời vụ đến các chỉ tiêu chất lượng đất trồng cải bắp trái vụ trước và sau thí nghiệm

Tên chỉ tiêu Công thức	Dung trọng	pH _{kc} ₁	CEC	Chất hữu cơ	N _{ts}	P _{ts}	K _{ts}	Pb _{ts}	Cd _{ts}
	g/cm ³	-	cmol/kg	%	%	%	%	mg/kg	mg/kg
Trước thí nghiệm									
	1,09	6,5	21,5	2,12	0,21	0,08	1,1	1,9	0,01
Sau thí nghiệm									
V1G1	1,09	6,5	20,87 (-)	2,24 (+)	0,21	0,07 (-)	1,07 (-)	2,13	0,01
V1G2	1,10	6,5	21,87 (+)	2,23 (+)	0,22 (+)	0,06 (-)	0,99 (-)	2,23	0,02
V1G3	1,08	6,4	21,30 (-)	2,17 (+)	0,21	0,06 (-)	1,11 (+)	2,17	0,02
V2G1	1,08	6,5	21,43 (-)	2,23 (+)	0,22 (+)	0,06 (-)	1,11 (+)	2,10	0,01
V2G2	1,09	6,5	21,83 (+)	2,23 (+)	0,21	0,06 (-)	0,99 (-)	2,13	0,01
V2G3	1,10	6,4	21,37 (-)	2,16 (+)	0,20 (-)	0,05 (-)	1,11 (+)	2,17	0,02
V3G1	1,07	6,5	20,93 (+)	2,25 (+)	0,21	0,07 (-)	1,12 (+)	2,13	0,01
V3G2	1,08	6,5	21,90 (+)	2,22 (+)	0,22 (-)	0,06 (-)	1,01 (-)	2,17	0,01
V3G3	1,07	6,5	21,13(-)	2,16 (+)	0,21	0,06 (-)	1,11 (+)	2,17	0,01
Phân cấp đánh giá/ngưỡng									
Cao	>= 1,4	<4,5	>20	>2,0	>0,2	>0,1	>2,0	<70	<1,5
Thấp	<1,09	>6,0	<9,9	<0,9	<0,1	<0,06	<1,0		
Trung bình	1,1-1,39	4,6-6,0	10,0-19,9	1,0-1,9	0,1-0,2	0,06-0,10	1,0-2,0		

(Ghi chú: Chỉ tiêu Pb, Cd được so sánh theo Quy chuẩn quốc gia về giới hạn cho phép kim loại nặng trong đất sản xuất nông nghiệp (QCVN 03-MT:2015/BTNMT); (-) giảm so với trước thí nghiệm; (+) tăng so với trước thí nghiệm; V1, V2, V3 – Thời vụ trái vụ 1, 2, 3; G1: Grand KKcross, G2: Green Helmet, G3: HMT34)

Đất trước thí nghiệm có Cu tổng số (17,3mg/kg); Pb tổng số (Pb_{ts}) (1,9 mg/kg); Cd tổng số (Cd_{ts}) (0,01 mg/kg); Zn tổng số (12,1 mg/kg); As tổng số (0,02 mg/kg); Cr tổng số (0,06 mg/kg), và các chỉ tiêu kim loại nặng đều ở trong ngưỡng an toàn (QCVN 03-MT:2015/BTNMT).

Đất tại khu thí nghiệm đều có dung trọng thấp, vì thế đất xốp. pH_{KCL} từ 6,4 đến 6,5 là ngưỡng thích hợp với cây cải bắp (Tạ Thu Cúc, 2007). CEC của đất ở công thức trồng giống G1, G3 có xu hướng

giảm so với trước thí nghiệm ở vụ 1, 2, 3, tuy nhiên CEC ở công thức trồng giống G2 đều tăng ở cả 3 vụ nghiên cứu. Hàm lượng chất hữu cơ của đất đều tăng sau thí nghiệm ở tất cả các công thức. Giống và thời vụ trái vụ khác nhau đã làm ảnh hưởng đến hàm lượng N_{ts} , P_{ts} , K_{ts} của đất sau thí nghiệm. Hàm lượng N_{ts} sau thí nghiệm ở các công thức biến động không nhiều dao động từ 0,20 - 0,21%, trong khi đó hàm lượng đạm tổng số trước thí nghiệm là 0,21%. Hàm lượng lân tổng số sau thí nghiệm đều giảm ở tất cả các công thức. Hàm lượng Kali tổng số giảm ở tất cả các công thức sử dụng giống G2, chứng tỏ giống G2 sử dụng nhiều Kali hơn so với các giống còn lại. Đất sau thí nghiệm có hàm lượng Pb và Cd đều nằm trong ngưỡng an toàn (Bảng 3).

3.2. Ảnh hưởng của giống và thời vụ đến các chỉ tiêu sinh trưởng, sinh lý của cây cải bắp trái vụ

Bảng 4. Ảnh hưởng của giống và thời vụ đến các chỉ tiêu sinh trưởng, sinh lý của cây cải bắp trái vụ

Nhân tố thí nghiệm	Mức	Số lá			Chỉ số SPAD		
		Tổng TGST (ngày)	Trái lá bành	lá Bắt đầu bấp	Bắt đầu cuộn	Trái lá bành	Bắt đầu cuộn
Thời vụ	V1	73	11,96 ^a	14,68 ^a		46,94 ^a	53,18 ^a
	V2	74	11,71 ^a	14,02 ^b		44,31 ^b	51,40 ^{ab}
	V3	77	11,6 ^a	13,76 ^b		42,84 ^b	49,52 ^b
Giống	G1	77	12,20 ^a	14,58 ^a		44,66 ^{ab}	51,50 ^{ab}
	G2	74	12,00 ^a	14,71 ^a		46,22 ^a	53,40 ^a
	G3	72	11,00 ^b	13,16 ^b		43,22 ^b	49,21 ^b
Tổ hợp nhân tố thí nghiệm							
V1G1		76	12,13 ^a	15,40 ^a		47,63 ^a	52,67 ^{ab}
V1G2		74	12,53 ^a	15,20 ^a		47,57 ^a	56,30 ^a
V1G3		69	11,20 ^{ab}	13,40 ^{bc}		45,63 ^{ab}	50,57 ^{ab}
V2G1		77	11,73 ^{ab}	14,33 ^{ab}		44,60 ^{ab}	52,07 ^{ab}
V2G2		74	12,13 ^a	14,27 ^{ab}		45,73 ^{ab}	53,07 ^{ab}
V2G3		72	11,27 ^{ab}	13,47 ^{bc}		42,60 ^b	49,07 ^b
V3G1		79	12,13 ^a	14,00 ^{abc}		41,73 ^b	49,77 ^{ab}
V3G2		77	12,07 ^{ab}	14,67 ^{ab}		45,37 ^{ab}	50,80 ^{ab}
V3G3		74	10,47 ^b	12,60 ^c		41,43 ^b	48,00 ^b

(Ghi chú: Trong cùng một cột và cùng nhân tố nghiên cứu các giá trị có cùng chữ cái biểu thị sự sai khác không có ý nghĩa với $P \leq 0,05$ và ngược lại; V1, V2, V3 – Thời vụ trái vụ 1, 2, 3; G1: Grand KKcross, G2: Green Helmet, G3: HMT34; NST: Ngày sau trồng).

Thời gian sinh trưởng ở vụ 1 là ngắn nhất (73 NST) và thời gian sinh trưởng của các vụ biến động từ 73-77NST. Tổng thời gian sinh trưởng của giống G3 là ngắn nhất so với 3 giống còn lại. Xét về tương tác giữa giống và thời vụ thì tổng thời gian sinh trưởng của các công thức biến động từ 69-79 NST.

Tuy nhiên, điều kiện môi trường khác nhau cũng sẽ ảnh hưởng đến số lá thời kỳ bắt đầu cuốn bấp của giống. Trong 3 thời vụ trái vụ, vụ 1 có số lá/cây cao nhất sai khác có ý nghĩa so với các hai vụ còn lại. Vụ 3 có số lá cuối cùng/cây ít nhất, vì lúc đó thời tiết nóng hơn nên cây có xu hướng sinh trưởng kém hơn so với các vụ còn lại (Bảng 1,4). Khi xét riêng rẽ về các giống, giống G2 có số lá nhiều nhất, sai khác không có ý nghĩa so với giống G1, sai khác có ý nghĩa so với giống G3. Khi xét tương tác giữa giống và thời vụ trái vụ, thì V1G1 có số lá cao nhất, sai khác không có ý nghĩa so với công thức V1G2, V1G3, V2G1, V2G2 (Bảng 4).

Chỉ số SPAD đánh giá hàm lượng Chlorophyll trong lá cây và là yếu tố ảnh hưởng trực tiếp tới khả năng quang hợp của cây trồng. Nhiều nghiên cứu đã chỉ ra, có tương quan thuận giữa chỉ số SPAD và cường độ quang hợp của cây trồng (Zhang & Oweis, 1998). Chỉ số SPAD ở giai đoạn trái lá bằng cao nhất ở V1, sai khác có ý nghĩa so với các công thức còn lại. Chỉ số SPAD của giống G2 đạt cao nhất, sai khác không có ý nghĩa so với G1 nhưng cao hơn so với G3. Kết hợp V1G1 cho chỉ số SPAD đạt cao nhất nhưng sai khác không có ý nghĩa so với V1G2, V1G3, V2G1, V2G2 (Bảng 4). Chỉ số SPAD ở thời kỳ cuốn bấp cao nhất ở V1 nhưng sai khác không có ý nghĩa so với V2. Giống G2 có chỉ số SPAD cao nhất nhưng sai khác không có ý nghĩa so với G1. Xét tương tác, V1G2 cho chỉ số SPAD cao nhất nhưng sai khác không có ý nghĩa so với V1G1, V1G3, V2G1, V2G2 (Bảng 4).

3.3. Ảnh hưởng của giống và thời vụ đến các yếu tố cấu thành năng suất và năng suất, chất lượng của cây cải bắp trái vụ

Bảng 5. Ảnh hưởng của giống và thời vụ đến các yếu tố cấu thành năng suất và năng suất của cải bắp trái vụ

Nhân tố thí nghiệm	Mức	Đường kính bắp (cm)	Chiều cao bắp (cm)	Khối lượng trung bình bắp (g)	Năng suất lý thuyết (tấn/ha)	Năng suất thực thu (tấn/ha)
Thời vụ	V1	15,04 ^a	11,23 ^b	808,47 ^a	30,73 ^a	22,48 ^a
	V2	13,94 ^b	12,08 ^a	723,51 ^b	27,49 ^b	21,54 ^a
	V3	13,08 ^c	10,27 ^c	634,69 ^c	24,14 ^c	15,45 ^b
Giống	G1	14,81 ^a	12,31 ^a	805,91 ^a	30,62 ^a	23,06 ^a
	G2	14,67 ^a	11,68 ^b	749,42 ^b	28,50 ^b	21,22 ^b
	G3	12,57 ^b	9,60 ^c	611,33 ^c	23,24 ^c	15,20 ^c
Tổ hợp nhân tố thí nghiệm						
	V1G1	16,25 ^a	12,44 ^b	926,80 ^a	35,23 ^a	26,67 ^a
	V1G2	15,55 ^{ab}	11,70 ^c	853,67 ^{ab}	32,43 ^{ab}	23,93 ^a
	V1G3	13,30 ^{cd}	9,55 ^{fg}	644,93 ^{de}	24,45 ^{de}	16,83 ^b
	V2G1	14,64 ^b	13,29 ^a	803,07 ^b	30,50 ^b	24,57 ^a
	V2G2	14,88 ^b	12,79 ^{ab}	760,93 ^{bc}	28,90 ^{bc}	23,36 ^a
	V2G3	12,29 ^{de}	10,16 ^{ef}	606,53 ^{de}	23,07 ^{de}	16,70 ^b
	V3G1	13,53 ^c	11,20 ^{cd}	687,87 ^{cd}	26,13 ^{cd}	17,94 ^b
	V3G2	13,59 ^c	10,53 ^{de}	633,67 ^{de}	24,17 ^{de}	16,37 ^b
	V3G3	12,13 ^e	9,07 ^g	582,53 ^e	22,13 ^e	12,05 ^c

Ghi chú: Trong cùng một cột và cùng nhân tố nghiên cứu các giá trị có cùng chữ cái biểu thị sự sai khác không có ý nghĩa với $P \leq 0,05$ và ngược lại.

Thời vụ trái vụ khác nhau có ảnh hưởng đến các chỉ tiêu như đường kính bắp, chiều cao bắp, khối lượng trung bắp, năng suất lý thuyết và năng suất thực thu của cây cải bắp.

Đường kính bắp ở vụ 1 cao nhất, sai khác có ý nghĩa so với các vụ còn lại. Giống G1, G2 đều cho chỉ tiêu đường kính bắp không có sự sai khác. Tổ hợp giữa thời vụ và giống thì V1G1 cho chỉ tiêu đường kính bắp cao nhất sai khác không có ý nghĩa so với V1G2.

Chiều cao bắp đạt cao nhất ở V2, trong 3 giống thì giống G1 có chiều cao bắp cao nhất đạt 12,31 cm. Khi xét tương tác giữa thời vụ và giống thì V2G1 đạt chiều cao bắp cao nhất, sai khác không có ý nghĩa so với V2G2. Khối lượng trung bình bắp đạt cao nhất ở V1 sai khác có ý nghĩa so với các thời vụ còn lại. Giống G1 Grand KK Cross có khối lượng trung bình bắp cao nhất có ý nghĩa. V1G1 cho khối lượng trung bình bắp đạt cao nhất, sai khác không có ý nghĩa so với công thức V1G2. Năng suất lý thuyết đạt cao nhất ở V1, giống G1 và V1G1. Năng suất thực thu của cải bắp cũng cao nhất ở thời vụ 1 nhưng không có sự sai khác so với V2. Năng suất thực thu đạt cao nhất ở giống G1 sai khác có ý nghĩa so với các giống còn lại. Xét tương tác giữa thời vụ và giống thì V1G1 đạt cao nhất, sai khác không có ý nghĩa so với V1G2, V2G1, V2G2 và thấp nhất ở các công thức có giống G3 (Bảng 5). Điều này có thể giải thích V1 nhiệt độ trung bình tháng là 20,7⁰C, nhiệt độ lạnh vào ban đêm chỉ 14,7⁰C, ở V2, nhiệt độ trung bình tháng là 23,8⁰C, độ ẩm trung bình là 84,5% nên thích hợp với sinh trưởng của cây con, đến giai đoạn trời nắng vào tháng 5,6 thì cây cải bắp cũng vào giai đoạn cuốn nên ít bị ảnh hưởng bởi điều kiện môi trường. Vụ 3 nhiệt độ lại quá cao vào ban ngày cao nhất đạt 40,7⁰C nên ảnh hưởng đến sinh trưởng ở giai đoạn cuốn bắp của cây cải bắp (Bảng 1).

Bảng 6. Ảnh hưởng của giống và thời vụ đến các chỉ tiêu chất lượng sinh hóa của cải bắp

Nhân tố thí nghiệm	Mức	Độ cứng (kgf)	Độ Brix	Hàm lượng NO ₃ ⁻ (mg/kg)	Khối lượng chất khô (g/bắp)	Hàm lượng chất khô (%)
Thời vụ	V1	13,24 ^a	4,68 ^b	66,67 ^b	60,01 ^a	7,42
	V2	12,48 ^b	4,66 ^b	80,68 ^a	50,38 ^b	6,96
	V3	12,81 ^{ab}	5,09 ^a	84,00 ^a	40,83 ^c	6,43
Giống	G1	12,8 ^a	4,9 ^b	83,7 ^a	59,2 ^a	5,91
	G2	12,7 ^a	5,2 ^a	82,8 ^a	55,6 ^a	6,81
	G3	13,1 ^a	4,3 ^c	64,8 ^b	36,5 ^b	8,99
Tổ hợp nhân tố thí nghiệm						
	V1G1	13,53 ^a	5,07 ^{bc}	79,50 ^{abc}	73,33 ^a	7,91
	V1G2	13,17 ^{ab}	4,63 ^{de}	51,51 ^d	65,72 ^{ab}	7,70
	V1G3	13,03 ^{ab}	4,30 ^{ef}	69,00 ^{bcd}	47,09 ^d	6,35
	V2G1	12,77 ^{ab}	4,53 ^{de}	82,04 ^{abc}	57,09 ^{bc}	7,11
	V2G2	11,83 ^b	4,77 ^{bcd}	103,33 ^a	58,33 ^{abc}	7,67
	V2G3	12,83 ^{ab}	4,67 ^{cde}	56,67 ^{cd}	35,73 ^d	5,89
	V3G1	11,97 ^{ab}	5,27 ^b	89,67 ^{ab}	47,09 ^{cd}	6,58

V3G2	13,17 ^{ab}	6,13 ^a	93,67 ^{ab}	42.68 ^{cd}	6,74
V3G3	13,30 ^{ab}	3,97 ^f	68,67 ^{bcd}	32.73 ^d	5,62

Ghi chú: Trong cùng một cột và cùng nhân tố nghiên cứu các giá trị có cùng chữ cái biểu thị sự sai khác không có ý nghĩa với $P \leq 0,05$ và ngược lại.

Độ cứng của cải bắp ở V2 là cao nhất, sai khác không có ý nghĩa so với V3. Tuy nhiên, các giống không có sự sai khác về độ cứng. Độ Brix đạt cao nhất ở V3 và giống G2. Tương tác giữa thời vụ và giống thì giống V3G2 đạt độ Brix cao nhất. Hàm lượng Nitrat ở các công thức đều nằm trong ngưỡng an toàn theo quy định (Quyết định số 99/2008/QĐ-BNN ngày 15/10/2008 của Bộ NN & PTNT về giới hạn tối đa cho phép của một số vi sinh vật và hóa chất trong một số sản phẩm rau, quả, chè). Khối lượng chất khô đạt cao nhất ở V1. Giống G1 có khối lượng chất khô cao nhất tuy nhiên không sai khác so với G2. Xét tương tác giữa giống và thời vụ thì V1G1 có khối lượng chất khô cao nhất, sai khác không có ý nghĩa so với V1G2, V2G2. Hàm lượng chất khô đạt cao nhất ở V1 và giống G3. Xét tương tác giữa thời vụ và giống thì hàm lượng chất khô dao động từ 5,62 đến 7,91% .

Bảng 7. Ảnh hưởng của tương tác giữa giống và thời vụ đến các chỉ tiêu chất lượng an toàn vệ sinh thực phẩm của cải bắp trái vụ

Nhân tố thí nghiệm	Mức	Hàm lượng đường (%)	Chất xơ (%)	Hàm lượng VTMC (mg/100g mẫu tươi)	Pb (mg/kg)	Cd (mg/kg)
Thời vụ	V1	3.28 ^b	2.76 ^a	30.97 ^a	0.177 ^a	0.0019 ^b
	V2	3.34 ^a	2.72 ^a	31.12 ^a	0.167 ^b	0.0023 ^a
	V3	3.37 ^a	2.72 ^a	31.19 ^a	0.173 ^{ab}	0.0022 ^{ab}
Giống	G1	3.29 ^b	2.70 ^a	26.86 ^c	0.179 ^a	0.0016 ^b
	G2	3.44 ^a	2.80 ^b	36.37 ^a	0.167 ^b	0.0030 ^a
	G3	3.27 ^b	2.71 ^a	30.04 ^b	0.170 ^b	0.0018 ^b
Tổ hợp nhân tố thí nghiệm						
	V1G1	3.24 ^c	2.73 ^{ab}	26.77 ^c	0.183 ^a	0.0012 ^c
	V1G2	3.35 ^{bc}	2.82 ^a	36.52 ^a	0.175 ^{abc}	0.003 ^a
	V1G3	3.25 ^c	2.74 ^{ab}	29.61 ^b	0.173 ^{abc}	0.0016 ^c
	V2G1	3.32 ^{bc}	2.65 ^b	26.75 ^c	0.178 ^{ab}	0.0018 ^c
	V2G2	3.44 ^{ab}	2.79 ^{ab}	35.78 ^a	0.166 ^{abc}	0.0033 ^a
	V2G3	3.27 ^c	2.71 ^{ab}	30.82 ^b	0.156 ^c	0.0019 ^c
	V3G1	3.32 ^{bc}	2.71 ^{ab}	27.07 ^c	0.176 ^{ab}	0.0019 ^c
	V3G2	3.51 ^a	2.78 ^{ab}	36.80 ^a	0.161 ^{bc}	0.0028 ^{ab}
	V3G3	3.28 ^c	2.67 ^{ab}	29.70 ^b	0.182 ^a	0.002 ^{bc}

Ghi chú: Trong cùng một cột và cùng nhân tố nghiên cứu các giá trị có cùng chữ cái biểu thị sự sai khác không có ý nghĩa với $P \leq 0,05$ và ngược lại. Giới hạn cho phép Pb, Cd được so sánh theo QCVN 8-2:2011/BYT.

Hàm lượng đường tổng số trong cải bắp cao nhất ở V3, sai khác không có ý nghĩa so với V2. G2 có hàm lượng đường cao nhất, chứng tỏ là giống G2 là ngọt nhất. Xét tổ hợp giữa giống và thời vụ thì V3G2 có hàm lượng đường cao nhất, sai khác không có ý nghĩa với V2G2. Thời vụ không ảnh hưởng đến hàm lượng chất xơ trong cải bắp. Giống G1 có hàm lượng chất xơ nhất so với các giống còn lại. Ảnh hưởng tương tác bởi thời vụ trái vụ và giống cho hàm lượng chất xơ dao động từ 2,65 -2,73%. Thời vụ khác nhau không ảnh hưởng đến hàm lượng VTM C, trong 03 giống thì giống G2 có hàm lượng VTMC đạt cao nhất 36,37 mg/100g mẫu tươi. Xét về tương tác giữa thời vụ và giống hàm lượng VTMC dao động từ 26,75 đến 36,52 mg/100g mẫu tươi. Hàm lượng Pb, Cd tổng số của cải bắp đều nằm trong ngưỡng an toàn theo quy định.

4. KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã cho thấy điều kiện khí hậu ở xã vùng cao Vân Sơn, huyện Tân Lạc, tỉnh Hòa Bình hoàn toàn có thể sản xuất được cải củ trái vụ. Thời vụ trái vụ trồng vào 25/3/2023 (vụ 1) và 14/4/2023 (vụ 2) đều thích hợp nhất đối với sinh trưởng, sinh lý, năng suất, chất lượng của cây cải bắp với năng suất thực thu cao hơn 45,50% và 39,41% so với vụ 3 (trồng ngày 7/5/2023) tương ứng. Giống cải bắp Grand KK Cross là phù hợp nhất đối với sản xuất cải bắp trái vụ với khối lượng trung bình bắp, năng suất thực thu đạt cao nhất (23,06 tấn/ha), hàm lượng chất xơ tốt nhất. Kết hợp thời vụ trái vụ và giống, thời vụ gieo trồng ngày 25/03/2024 (thời vụ 1) và 14/4/2023 (thời vụ 2) và giống Grand KK Cross là phù hợp nhất với xã vùng cao Vân Sơn bởi vì các đặc điểm sinh trưởng, sinh lý, năng suất và chất lượng cao hơn so với các giống và thời vụ còn lại với năng suất thực thu đạt 26,67 tấn/ha và 24,57 tấn/ha tương ứng.

LỜI CẢM ƠN

Nhóm tác giả xin chân thành cảm ơn Ủy ban Nhân dân tỉnh Hòa Bình, Sở Khoa học và Công nghệ tỉnh Hòa Bình đã cấp kinh phí để chúng tôi thực hiện đề tài.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Đào Thanh & Đồng Thuởng (2020). Tuyên Quang: Trồng rau sạch trái vụ. Truy cập ngày 23/11/2021. <https://nongnghiep.vn/tuyen-quang-trong-rau-sach-trai-vu-d278619.html>.
- Gupta K., Talwar G., Jain V., Dhawan K. & Jain S. (2003). SALAD CROPS root, bulb, and tuber crops. In B. Caballero (Ed.), Encyclopedia of food sciences and nutrition (2nd ed., pp. 5060–5073). Academic Press.
- Krishna H., Hebbar S., Kumar P., Sharma S., Kumar R., Tiwari S., Maurya S., Srivastava K., Pal G., Bahadur A. & Behera T.K. (2024). Navigating Challenges and Prospects in Off-Season Vegetable Production. Vegetable Science. 51: 97-105.
- Nguyễn Hồng Quế (2018). Trồng rau trái vụ - hướng đi mới của nông dân Bát Xát. Truy cập ngày 23/11/2021. <https://laocai.gov.vn/1241/27929/45053/352161/thong-tin-hoat-dong/trong-rau-trai-vu-huong-di-moi-cua-nong-dan-bat-xat>.
- Schreinemachers P., Wu M., Nasir Uddin M., Ahmad S. & Hanson P. (2016). Farmer training in off-season vegetables: Effects on income and pesticide use in Bangladesh. Food Policy. 61: 132-140.
- QCVN 03-MT:2015/BTNMT. Quy chuẩn Kỹ thuật quốc gia về giới hạn cho phép của kim loại nặng trong đất.

QCVN 8-2:2011/BYT. Quy chuẩn Kỹ thuật quốc gia đối với giới hạn ô nhiễm kim loại nặng trong thực phẩm.

QCVN 08-MT:2015/BTNMT. Quy chuẩn Kỹ thuật quốc gia về chất lượng nước mặt.

Tạ Thu Cúc và cs, (2007), Giáo trình Kỹ thuật trồng rau. Nhà xuất bản Hà Nội.

Zaman M.M., Anawarul Huq A.S.M. & Chowdhury M.J.A. (2006). Production potentiality of summer tomato in Jamalpur region. *Int. J. Sustain. Crop Prod.* 1(2): 12-15.

Zaman M., Hemel R.A., Ferdous T. (2010). Comparative profitability of winter vegetables in a selected area of Dhaka district. *ASA Univ. Rev.* 4 (1):217-223

Zhang H.P. & Oweis (1998). Water yield relation and optimal irrigation scheduling of wheat in Mediteranean regions. *Agriculture water management.* 3: 195-211.

ẢNH HƯỞNG CỦA SELENIUM ĐẾN SINH TRƯỞNG VÀ SINH LÝ CÀ PHÊ VỚI TRONG ĐIỀU KIỆN HẠN

Lê Thị Nga¹, Vũ Ngọc Thắng^{2*}

¹Khoa Nông học, Phân hiệu Trường Đại học Lâm nghiệp tại tỉnh Gia Lai

²Khoa Nông học, Học viện Nông nghiệp Việt Nam

*Tác giả liên hệ: vungocthang@vnua.edu.vn

ABSTRACT

This study was conducted to investigate the effects of selenium application on the growth and physiology of TR4 robusta coffee variety under drought stress. The experiment was a completely random designed with six selenium concentrations (0; 0,01; 0,02; 0,04; 0,06; 0,08 g/l) under the normal watering and drought stress conditions. The result showed that drought stress condition significantly reduces leaf area, SPAD value, Fv/m value, relative water content in leaves while increasesing relative ion leakage. Application selenium increased growth and physiological parameters under both normal watering and drought stress conditions. Comparing among selenium concentrations, higher growth and physiological parameters and lower percentage reduction of leaf area were obseved in the selenium concentration of 0,04 mg/l.

Keywords: *Selenium, drought, growth, physiology, robusta coffee*

TÓM TẮT

Nghiên cứu được tiến hành nhằm đánh giá ảnh hưởng của selenium đến sinh trưởng và sinh lý của giống cà phê với TR4 trong điều kiện hạn. Thí nghiệm 2 nhân tố được bố trí theo khối ngẫu nhiên 3 lần nhắc lại gồm 6 công thức xử lý selenium (0; 0,01; 0,02; 0,04; 0,06; 0,08 g/l) trong 2 điều kiện xử lý hạn và không xử lý hạn. Kết quả nghiên cứu cho thấy hạn làm giảm đáng kể đến các chỉ tiêu sinh trưởng và sinh lý như diện tích lá, chỉ số SPAD, hiệu suất huỳnh quang diệp lục, hàm lượng nước tương đối trong lá, trong khi làm tăng mức độ rò rỉ ion trong lá của giống cà phê với TR4. Xử lý selenium làm tăng các chỉ tiêu sinh trưởng và sinh lý trong cả hai điều kiện xử lý hạn và không xử lý hạn. So sánh giữa các nồng độ xử lý selenium, nồng độ 0,04 g/l cho các chỉ tiêu sinh trưởng và sinh lý cao hơn so với các nồng độ còn lại đồng thời mức độ suy giảm diện tích lá cũng đạt giá trị thấp nhất.

Từ khóa: *Selenium, hạn, sinh trưởng, sinh lý, cà phê với*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Biến đổi khí hậu là một trong các nhân tố tác động đến sản lượng cà phê trên toàn thế giới (Ramírez-Builes & Küsters, 2021). Hạn hán là một trong những yếu tố môi trường ảnh hưởng bất lợi đến sinh trưởng, phát triển và năng suất của cây cà phê (Pinheiro & cs., 2005; DaMatta & Ramalho, 2006; Melke & Fetene, 2014). Chiến lược nghiên cứu cà phê thích ứng với biến đổi khí hậu dựa trên việc quản lý dinh dưỡng hợp lý có thể tăng khả năng chống chịu cho cây cà phê ở các vùng bị ảnh hưởng.

Mặc dù không phải là nguyên tố thiết yếu đối với thực vật, tuy nhiên Selenium (Se) đã được chứng minh làm tăng hoạt động chống oxy hóa (Ekanayake & cs., 2015), thay đổi chuyển hóa carbohydrate (Lara & cs., 2019; Silva & cs., 2020), bảo vệ diệp lục và điều chỉnh hệ thẩm thấu (Zhang & cs., 2014). Ứng dụng Se làm giảm tác động của các yếu tố phi sinh học ở trên nhiều loại cây trồng đã được công bố như giảm tác động của hạn trên các loại đậu (Ravello & cs., 2021) và lúa (Andrade & cs., 2018), giảm tác động bởi kim loại nặng trên cây lúa mì (Liu & cs., 2021; Hasanuzzaman & cs., 2022), giảm tác động gây ra bởi mặn trên cây ngô (Ashraf & cs., 2018;) và tỏi (Astaneh & cs., 2019). Đồng thời, nghiên cứu ứng dụng Se cho cây cà phê tác giả de Mateus & cs. (2021) cũng cho biết năng suất cà phê được cải thiện hơn khi được bón Se. Bên cạnh đó tác giả de Sousa & cs. (2022) cũng cho biết có thể sử dụng Se để bón lên lá như một chiến lược để cải thiện khả năng chống chịu nhiệt độ thấp. Tuy nhiên, đến nay vẫn chưa có nhiều kết quả nghiên cứu được công bố về ứng dụng selenium nhằm nâng cao sinh trưởng và sinh lý cho cây cà phê trong điều kiện hạn. Do đó, nghiên cứu ứng dụng selenium cho canh tác cà phê trong điều kiện thiếu nước là rất cần thiết.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu

Cây cà phê vối giống TR4 thực sinh 1 năm tuổi. Giống cà phê vối TR4 là giống được Viện Khoa học Kỹ thuật Nông Lâm nghiệp Tây Nguyên chọn lọc và được Bộ Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn công nhận chính thức theo quyết định số 1086/QĐ-BNN-KHCN ngày 14 tháng 4 năm 2006.

Đất thí nghiệm được lấy từ lô trồng cà phê tại thị trấn Ia Kha, huyện Ia Grai, tỉnh Gia Lai. Selenium được nhập khẩu từ Hàn Quốc

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Thí nghiệm 2 nhân tố được bố trí theo phương pháp khối ngẫu nhiên với 3 lần nhắc lại 8 chậu cho 1 lần nhắc lại cho 1 công thức. Nhân tố 1 gồm 6 nồng độ phun selenium (0, 10, 20, 40, 60, 80 g/L). Nhân tố 2 gồm điều kiện xử lý hạn và không xử lý hạn. Điều kiện không xử lý hạn (tưới nước bình thường): Cây được cung cấp nước bình thường trong suốt thời gian sinh trưởng (duy trì độ ẩm đất 75 - 80%). Điều kiện xử lý hạn: Sau khi cây đã ổn định, ngừng tưới nước 10 ngày liên tục sau 10 ngày xử lý hạn cây được tưới nước trở lại (duy trì độ ẩm đất 75 - 80%). Thí nghiệm được tiến hành trong nhà lưới có mái che tại Ia Kha, huyện Ia Grai, tỉnh Gia Lai. Cây cà phê được trồng trong chậu (chậu có đường kính 27 cm × chiều cao 24 cm). Mỗi chậu chứa 10 kg đất được lấy từ lô trồng cà phê tại Ia Kha, huyện Ia Grai, tỉnh Gia Lai. Đất được phơi khô sàng kỹ, mỗi chậu được trồng 1 cây cà phê vối 1 năm tuổi giống TR4. Sau 6 tháng trồng vào chậu cây cà phê được phun selenium với các nồng độ khác nhau. Selenium được phun ướt đẫm lá trên cả 2 bề mặt trên và dưới mỗi ngày 1 lần trong 3 ngày liên tiếp. Sau 2 tháng phun selenium cây cà phê được đưa vào xử lý hạn. Thời gian nghiên cứu từ tháng 6/2023 đến tháng 8/2024.

Các chỉ tiêu theo dõi bao gồm:

+ Diện tích lá (cm²). Sau 1 tháng tưới nước trở lại 3 cây ngẫu nhiên của mỗi lần nhắc lại cho một công thức được thu để đánh giá. Số lá của các cây được thu mẫu sẽ được đo diện tích lá bằng máy đo diện tích lá Li-3100 Area Meter – Licor.

+ Độ thiếu hụt bão hòa nước (%): Mỗi lần nhắc lại của một công thức lấy mẫu lá của 3 cây theo phương pháp ngẫu nhiên, vào khoảng 11-13 giờ. Cân khối lượng lá tươi (P₁). Sau đó cho ngâm vào nước khoảng 24 tiếng, bỏ mẫu ra, thấm khô bề mặt lá rồi cân khối lượng lá bão hòa (P₂). Mẫu sau đó được sấy khô ở nhiệt độ 105°C cho đến khi khối lượng không đổi (P₃). Công thức tính độ thiếu hụt bão hòa nước:

$$\text{THBHN (\%)} = \frac{P_2 - P_1}{P_2 - P_3} \times 100\%$$

+ Chỉ số SPAD: Được đo bằng máy đo chỉ số SPAD (SPAD-502, Japan). Lá được đo là cặp lá thứ 2 tính từ trên xuống trên 3 cây ngẫu nhiên của mỗi lần nhắc lại cho một công thức.

+ Hiệu suất huỳnh quang diệp lục (Fv/Fm): Đo bằng máy đo hiệu suất huỳnh quang diệp lục (Chlorophyll fluorescence meter). Lá được đo là cặp lá thứ 2 tính từ trên xuống trên 3 cây ngẫu nhiên của mỗi lần nhắc lại cho một công thức.

+ Mức độ rò rỉ ion (%) được đánh giá theo phương pháp của Zhao & cs. (2007). Đánh giá trên cặp lá thứ 3 tính từ trên xuống trên 3 cây ngẫu nhiên của mỗi lần nhắc lại cho một công thức.

- Đánh giá mức độ suy giảm (PYR) diện tích lá trong điều kiện hạn của các công thức xử lý selenium theo công thức được mô tả của Awoke (2021).

Trong đó:

$$\text{PYR} = \frac{(Y_{pi} - Y_{si})}{Y_{pi}} * 100$$

PYR: mức độ suy giảm trong điều kiện hạn (%)

Y_{pi}: giá trị trung bình của công thức i trong điều kiện có tưới

Y_{si}: giá trị trung bình của công thức i trong điều kiện hạn

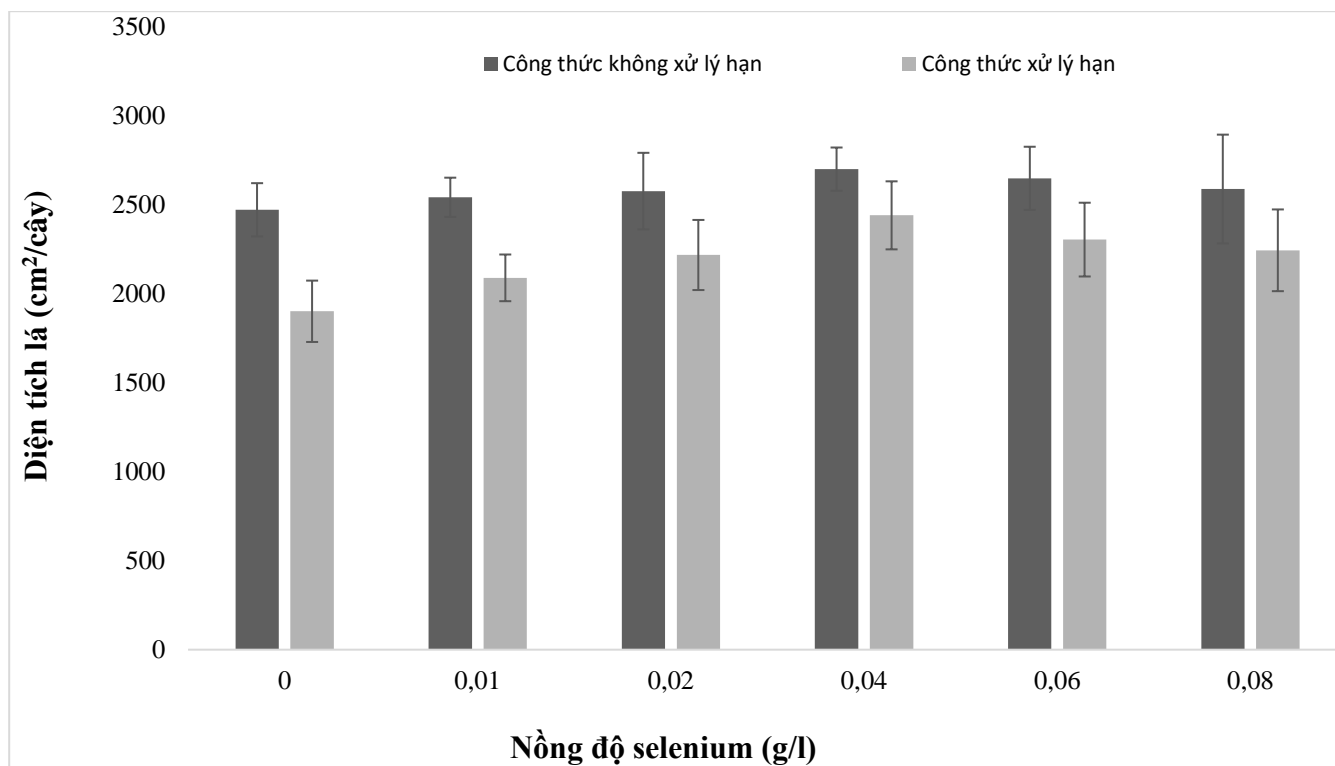
2.4. Xử lý thống kê

Số liệu thu thập được xử lý bằng chương trình Excel

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Ảnh hưởng của selenium đến diện tích lá cà phê vối trong điều kiện hạn

Sau 1 tháng tưới nước trở lại công thức được xử lý selenium có diện tích lá cao hơn so với không xử lý trong cả hai điều kiện không xử lý hạn và xử lý hạn. Trong điều kiện xử lý hạn diện tích lá có xu hướng giảm so với điều kiện không xử lý hạn ở tất cả các công thức. Kết quả nghiên cứu này cũng tương đồng với kết quả nghiên cứu của nhóm tác giả Tesfaye & cs. (2019) cho rằng hạn làm giảm rõ rệt đến diện tích lá của tất cả các nguồn gen cây cà phê chè trong thí nghiệm. So sánh giữa các công thức xử lý kết quả cho thấy khi tăng nồng độ xử lý selenium thì diện tích lá có xu hướng tăng lên và đạt giá trị cao nhất ở nồng độ xử lý 0,04 g/l tuy nhiên tiếp tục tăng nồng độ selenium lên 0,06 g/l hoặc 0,08 g/l thì diện tích lá không có xu hướng tăng lên nữa (Hình 1).



Hình 1. Ảnh hưởng của seleni đến diện tích lá của cà phê vối trong điều kiện hạn

Đánh giá mức độ suy giảm diện tích lá của giống cà phê vối TR4 trong điều kiện xử lý hạn kết quả cho thấy mức độ suy giảm diện tích lá thấp nhất (10,63%) được đánh giá ở công thức xử lý 0,04 g/l seleni trong khi đó công thức không xử lý seleni có mức độ suy giảm diện tích lá là cao nhất (30,00%), tiếp đến là công thức xử lý seleni với nồng độ 0,01 g/l giảm 21,67% (Bảng 1).

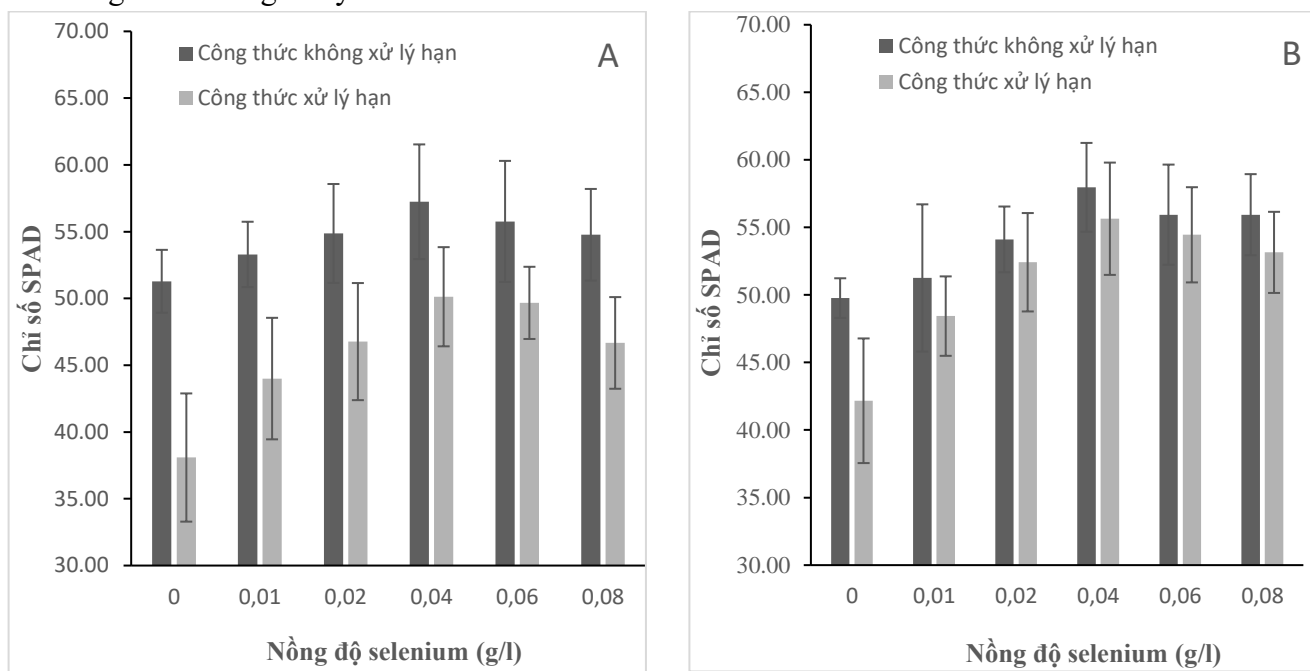
Bảng 1. Mức độ suy giảm diện tích lá của cà phê vối trong điều kiện hạn

Nồng độ seleni (g/l)	Mức độ suy giảm diện tích lá trong điều kiện hạn (%)
0	30,00
0,01	21,67
0,02	16,19
0,04	10,63
0,06	14,94
0,08	15,33

3.2. Ảnh hưởng của seleni đến chỉ số SPAD của cà phê vối trong điều kiện hạn

Chỉ số SPAD đạt giá trị cao được quan sát ở công thức xử lý 0,04 g/l seleni trong điều kiện không xử lý hạn trong khi đó chỉ số SPAD thấp nhất được quan sát ở công thức không xử lý seleni. Trong điều kiện xử lý hạn, chỉ số SPAD giảm xuống rõ rệt. Kết quả nghiên cứu này cũng tương đồng với các kết quả nghiên cứu trên cây cà phê chè của nhóm tác giả Vu & cs. (2018), Vu & cs. (2020), Vu & cs. (2021) nhóm tác giả chỉ ra rằng chỉ số SPAD giảm khi cây cà phê gặp điều kiện hạn. Sau khi tưới nước

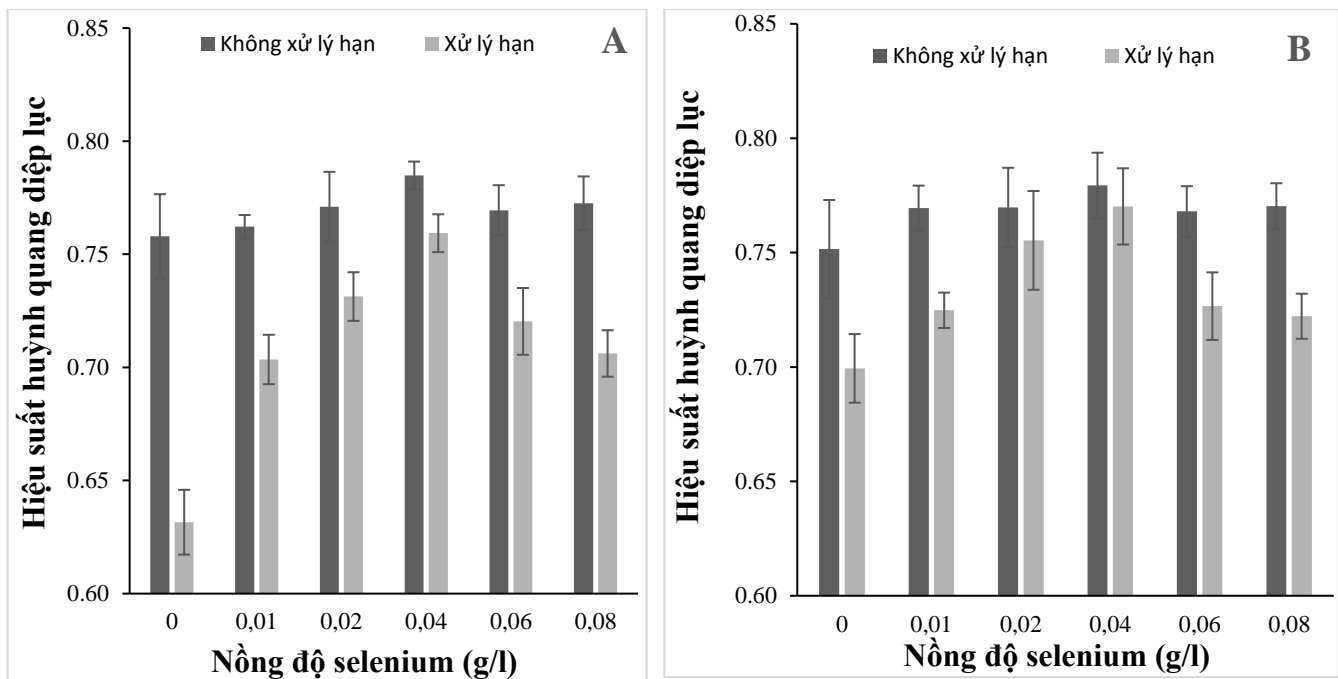
trở lại, chỉ số SPAD của tất cả các công thức có xu hướng tăng trở lại tuy nhiên sau 5 ngày tưới nước trở lại chỉ số SPAD đạt giá trị cao vẫn được quan sát ở công thức xử lý 0,04 g/l selenium tuy nhiên không có sự sai khác so với công thức xử lý 0,02 g/l selenium trong khi đó chỉ số SPAD thấp nhất được quan sát ở công thức không xử lý selenium.



Hình 2. Ảnh hưởng của selenium đến chỉ số SPAD của cà phê vối tại thời điểm kết thúc gây hạn (A) và sau 5 ngày tưới nước trở lại (B)

3.3. Ảnh hưởng của selenium đến hiệu suất huỳnh quang diệp lục của cà phê vối trong điều kiện hạn

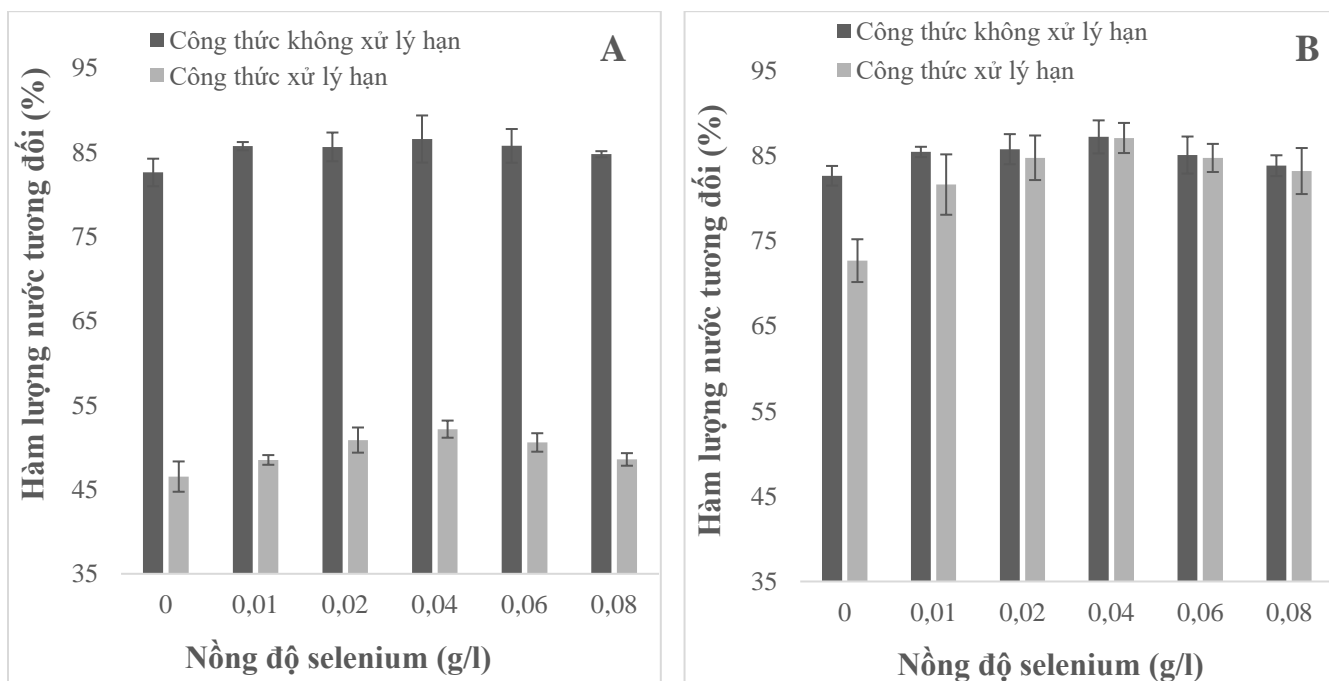
Hiệu suất huỳnh quang diệp lục đạt giá trị cao được quan sát ở công thức xử lý 0,04 g/l selenium trong điều kiện không xử lý hạn trong khi đó hiệu suất huỳnh quang diệp lục thấp nhất được quan sát ở công thức không xử lý selenium. Trong điều kiện xử lý hạn, hiệu suất huỳnh quang diệp lục giảm xuống rõ rệt. Kết quả nghiên cứu này cũng tương đồng với các kết quả nghiên cứu của nhóm tác giả He & cs. (1995) nhóm tác giả cũng đã chỉ ra rằng sự thiếu hụt nước ảnh hưởng lớn đến hàm lượng diệp lục, làm tổn hại các protein trong diệp lục và tác động đến hệ thống quang hóa II (PS II), dẫn đến làm giảm và biến đổi các thông số của hiệu suất huỳnh quang diệp lục. Bên cạnh đó, nghiên cứu trên cây cà phê chè nhóm tác giả Vu & cs. (2018), Vu & cs. (2020), Vu & cs. (2021) cũng chỉ ra rằng hiệu suất huỳnh quang diệp lục giảm khi cây gặp điều kiện hạn. Sau khi tưới nước trở lại, hiệu suất huỳnh quang diệp lục của tất cả các công thức có xu hướng tăng trở lại tuy nhiên sau 5 ngày tưới nước trở lại hiệu suất huỳnh quang diệp lục đạt giá trị cao vẫn được quan sát ở công thức xử lý 0,04 g/l selenium tuy nhiên không có sự sai khác so với công thức xử lý 0,02 g/l selenium trong khi đó hiệu suất huỳnh quang diệp lục thấp nhất được quan sát ở công thức không xử lý selenium



Hình 3. Ảnh hưởng của seleni đến hiệu suất huỳnh quang diệp lục của cà phê vối tại thời điểm kết thúc gây hạn (A) và sau 5 ngày tưới nước trở lại (B)

3.4. Ảnh hưởng của seleni đến hàm lượng nước tương đối trong lá của cà phê vối trong điều kiện hạn

Tại thời điểm kết thúc xử lý hạn, hàm lượng nước tương đối trong lá thấp nhất được quan sát ở công thức không xử lý seleni. Trong điều kiện xử lý hạn hàm lượng nước tương đối trong lá cao nhất được quan sát ở công thức xử lý 0,04 g/l seleni nhưng không có sự sai khác có ý nghĩa so với các công thức xử lý 0,02 và 0,06 g/l seleni. Hàm lượng nước tương đối trong lá thấp nhất được quan sát ở công thức không bón (Hình 4A). So sánh giữa 2 điều kiện xử lý kết quả cho thấy hàm lượng nước tương đối trong điều kiện xử lý hạn thấp hơn rất nhiều so với trong điều kiện không xử lý hạn. Kết quả nghiên cứu này cũng tương đồng với các kết quả nghiên cứu trên cây cà phê chè của nhóm tác giả Vu & cs. (2018), Vu & cs. (2020), Vu & cs. (2021). Trong nghiên cứu này, sau 2 tuần tưới nước trở lại mặc dù hàm lượng nước tương đối trong lá của các công thức được xử lý seleni sau khi được xử lý hạn có xu hướng phục hồi tuy nhiên giá trị thấp nhất vẫn được quan sát ở công thức không xử lý seleni trong khi đó giá trị cao nhất vẫn được quan sát ở công thức xử lý 0,04 g/l seleni (Hình 4B).

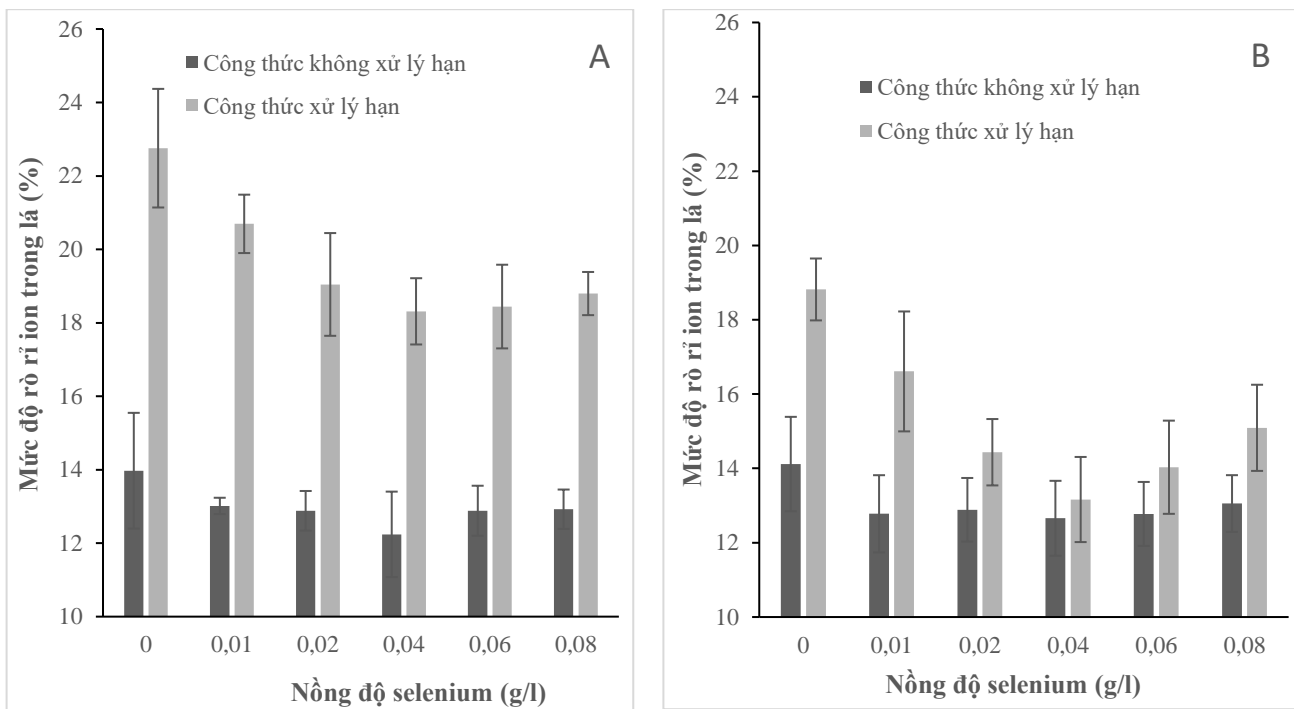


Hình 4. Ảnh hưởng của seleni đến hàm lượng nước tương đối trong lá của cà phê vối tại thời điểm kết thúc gây hạn (A) và sau 2 tuần tưới nước trở lại (B)

3.5. Ảnh hưởng của seleni đến mức độ rò rỉ ion trong lá của cà phê vối trong điều kiện hạn

Trong điều kiện không xử lý hạn, khi tăng nồng độ xử lý seleni mức độ rò rỉ ion trong lá của các công thức có xu hướng giảm xuống và đạt thấp nhất tại nồng độ 0,04 g/l tuy nhiên tiếp tục tăng nồng độ seleni thì mức độ rò rỉ ion có xu hướng tăng lên. Trong điều kiện xử lý hạn mức độ rò rỉ ion trong lá cao hơn rất nhiều so với điều kiện không xử lý hạn (Hình 4A). Kết quả nghiên cứu này cũng tương đồng với các kết quả nghiên cứu trên cây cà phê chè của nhóm tác giả Vu & cs. (2018); Vu & cs. (2020); Vu & cs. (2021); Chekol & cs. (2024). Bên cạnh đó, khi tăng nồng độ xử lý seleni mức độ rò rỉ ion trong lá của các công thức có xu hướng giảm xuống nhưng không có sự sai khác có ý nghĩa giữa giữa các công thức xử lý 0,02; 0,04; 0,06; 0,08 g/l. Mức độ rò rỉ ion trong lá cao nhất được quan sát ở công thức không xử lý seleni tuy nhiên không có sự sai khác có ý nghĩa so với công thức xử lý 0,01 g/l seleni (Hình 5A).

Sau 2 tuần tưới nước trở lại, mức độ rò rỉ ion trong lá của các công thức đã được xử lý hạn lúc này đã giảm xuống. Mức độ rò rỉ ion trong lá thấp nhất vẫn được quan sát ở công thức xử lý 0,04 g/l seleni tuy nhiên không có sự sai khác có ý nghĩa so với các công thức xử lý 0,02; 0,06 g/l seleni (Hình 5B).



Hình 5. Ảnh hưởng của seleni đến mức độ rò rỉ ion trong lá của cà phê vối tại thời điểm kết thúc gây hạn (A) và sau 2 tuần tưới nước trở lại (B)

4. KẾT LUẬN

Hạn làm giảm các chỉ tiêu sinh trưởng và sinh lý của giống cà phê vối TR4 như diện tích lá, chỉ số SPAD, hiệu suất huỳnh quang diệp lục, hàm lượng nước tương đối trong lá trong khi đó hạn làm tăng mức độ rò rỉ ion. Xử lý seleni làm tăng các chỉ tiêu sinh trưởng và sinh lý trong cả hai điều kiện xử lý hạn và không xử lý hạn. Kết quả cho thấy nồng độ 0,04 g/l cho các chỉ tiêu sinh trưởng và sinh lý cao hơn so với các nồng độ còn lại bên cạnh đó mức độ suy giảm diện tích lá (10,63%) đạt giá trị nhỏ nhất.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Andrade F.R., da Silva G.N., Guimarães K.C., Barreto H.B.F., de Souza K.R.D., Guilherme L.R.G., et al. (2018). Selenium protects rice plants from water deficit stress. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 164: 562–570.
- Ashraf M.A., Akbar A., Parveen A., Rasheed R., Hussain I. and Iqbal, M. (2018). Phenological application of selenium differentially improves growth, oxidative defense, and ion homeostasis in maize under salinity stress. *Plant Physiol. Biochem.* 123, 268–280.
- Astaneh R.K., Bolandnazar S., Nahandi F.Z. and Oustan S. (2019). Effects of selenium on enzymatic changes and productivity of garlic under salinity stress. *South African J. Bot.* 121, 447–455. doi: 10.1016/j.sajb.2018.10.037
- Awoke W. (2021). Evaluation of drought stress tolerance based on selection indices in haricot bean varieties exposed to stress at different growth stages. *International Journal of Agronomy.* 2021:1-9. <https://doi.org/10.1155/2021/6617874>.

- Chekol, H., Warkineh, B., Shimber, T., Mierek-Adamska, A., Dąbrowska, G.B. & Degu, A. (2024). Drought stress responses in arabica coffee genotypes: Physiological and metabolic insights. *Plants*. 13: 828. <https://doi.org/10.3390/plants13060828>.
- DaMatta F.M. & Ramalho J.D.C. (2006). Impacts of drought and temperature stress on coffee physiology and production: A review. *Brazilian Journal of Plant Physiology*. 18(1): 55-81.
- DeMateus M.P.B., Tavanti R.F.R., Tavanti T.R., Santos E.F., Jalal A., Reis A.R. dos (2021). Selenium biofortification enhances ROS scavenge system increasing yield of coffee plants. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 209:111772.
- de Mateus M.P.B., Tavanti R.F.R., Tavanti T.R., Santos E.F., Jalal A., Reis A.R., et al. (2021). Selenium biofortification enhances ROS scavenge system increasing yield of coffee plants. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 209:111772. doi: 10.1016/j.ecoenv.2020.111772
- de Sousa GF., Silva MA., de Moraes EG., Van Opbergen GAZ., Van Opbergen GGZ., de Oliveira RR., Amaral D., Brown P., Chalfun-Junior A and Guilherme L.R.G. (2022). Selenium enhances chilling stress tolerance in coffee species by modulating nutrient, carbohydrates, and amino acids content. *Front. Plant Sci.* 13:1000430. doi: 10.3389/fpls.2022.1000430.
- Ekanayake L.J., Thavarajah D., Vial E., Schatz B., McGee R. and Thavarajah P. (2015). Selenium fertilization on lentil (*Lens culinaris* Medikus) grain yield, seed selenium concentration, and antioxidant activity. *F. Crop. Res.* 177: 9–14.
- Hasanuzzaman M., Nahar K., García-Caparrós P., Parvin K., Zulfiqar F., Ahmed N., et al. (2022). Selenium supplementation and crop plant tolerance to metal/metalloid toxicity. *Front. Plant Sci.* 12:792770. doi: 10.3389/fpls.2021.792770
- Lara T.S., Lessa J.H., de L., de Souza K.R.D., Corguinha A.P.B., Martins F.A.D., et al. (2019). Selenium biofortification of wheat grain via foliar application and its effect on plant metabolism. *J. Food Compos. Anal.* 81:10–18.
- Liu Y., Huang S., Jiang Z., Wang Y. and Zhang Z. (2021). Selenium biofortification modulates plant growth, microelement and heavy metal concentrations, selenium uptake, and accumulation in black-grained wheat. *Front. Plant Sci.* 12:748523. doi: 10.3389/fpls.2021.748523
- Melke A. & Fetene M. (2014). Eco-physiological basis of drought stress in coffee (*Coffea arabica* L.) in Ethiopia. *Brazilian Society of Plant Physiology*. 26: 225 - 239.
- Pinheiro H.A., DaMatta F.M., Chaves A.R.M., Loureiro M.E. & Ducatti C. (2005). Drought tolerance is associated with rooting depth and stomatal control of water use in clones of coffee canephora. *Annals of Botany*. 96(1): 101-108.
- Ramírez F., Bertsch F. & Mora L. (2002). Nutrient consumption by Caturra coffee fruits and bandolas during a development and maturation cycle in Aquiares, Turrialba, Costa Rica (in Spanish). *Agron. Costarricense*. 26: 33–42.
- Rayman M.P. (2012). Selenium and human health. *Lancet* 379:1256–1268.

- Ravello R.A.V., de Oliveira C., Lessa J., Boas L.V.V., de Castro E.M., Guilherme L.R.G., et al. (2021). Selenium application influenced selenium biofortification and physiological traits in water-deficit common bean plants. *Crop Pasture Sci.* 73: 44-55.
- Tesfaye T., Beniam Y. & Tesfaye S. (2019). Response of coffee genotypes (*Coffea arabica*) for moisture stress condition at Tepi, South West of Ethiopia. *International Journal of Research Studies in Agricultural Sciences.* 5(1): 8-13.
- Silva V.M., Rimoldi Tavanti R.F., Gratão P.L., Alcock T.D., Reis A.R. and dos. (2020). Selenate and selenite affect photosynthetic pigments and ROS scavenging through distinct mechanisms in cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) walp) plants. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 201:110777. doi: 10.1016/j.ecoenv.2020.110777
- Vu N.T, Park J.M., Tran A.T., Bui T.K., Vu D.C., Jang D.C. & Kim I.S. (2018). Effect of water stress on the growth and physiology of coffee plants. *Journal of Agriculture, Life and Environmental Sciences.* 30(3):121-130.
- Vu N.T., Park J.M., Kim I.S., Tran A.T. & Jang D.C. (2020). Effect of abscisic acid on growth and physiology of Arabica coffee seedling under water deficit condition. *Sains Malaysiana.* 49(7):1499-1508.
- Vu N.T., Park J.M., Nguyen N.Q., Nguyen T.T.S., Kim I.S. & Jang D.C. (2021). Enhance drought tolerance of arabica coffee (*Coffea arabica* L.) by grafting. *Sains Malaysiana.* 50(11): 3219-3229.
- Lê Thị Nga & Vũ Ngọc Thắng. (2024). Ảnh hưởng của bột vỏ trứng đến sinh trưởng và sinh lý của cà phê vối trong điều kiện hạn. *Tạp chí Khoa học Nông nghiệp Việt Nam.* 22(8): 992-1001.
- Zhao M., Zhao X., Wu Y., Zhang L. (2007). Enhanced sensitivity to oxidative stress in an Arabidopsis nitric oxide synthase mutant. *J. Plant Physiol.* 164: 737–745.
- Zhang M., Tang S., Huang X., Zhang F., Pang Y., Huang Q., et al. (2014). Selenium uptake, dynamic changes in selenium content and its influence on photosynthesis and chlorophyll fluorescence in rice (*Oryza sativa* L.). *Environ. Exp. Bot.* 107: 39–45.

NGHIÊN CỨU NHÂN NHANH *IN VITRO* CÂY NÁT MOONG (*INULA CAPP*A (BUCH-HAM.EX D.DON) DC) LÀ CÂY NGUYÊN LIỆU CHO RƯỢU MEN LÁ BẰNG PHÚC, BẮC KẠN

Phạm Phú Long, Khoa Nông học, Viện nghiên cứu và phát triển cây dược liệu,

Email: pplong@vnua.edu.vn

Nguyễn Thị Luyến, Viện nghiên cứu và phát triển cây dược liệu,

Email: ntluyen.imp@gmail.com

SUMMARY

Inula cappa Buch-ham.ex D.Don DC. is a herbal plant used as material to make traditional wine of Bang Phuc village, Backan province, distributed in some regions of Asia. *Inula cappa* is propagated by seeds, but the germination rate is very low. This study was conducted to evaluate the growth ability of *Inula cappa* in in vitro and evaluate the propagation efficiency. Using Presept 0.5% for 10 minutes with the shoot formation rate of 73.56% is the highest. MS medium supplemented with 1.5 ppm of BA and 0.5 ppm of α -NAA is suitable for the rapid shoot multiplication with 4.02 shoots. MS medium supplemented with 2.0ppm of BA highest of shoot (5.86 cm). MS medium supplemented with 1.0 ppm of α -NAA is suitable for the rooting with root length was 9.11cm. In greenhouse conditions, with a substrate of soil + coconut fiber at a ratio of 1:2 *Inula cappa* shoot with a survival rate of 75% was highest.

TÓM TẮT

Nát moong (*Inula cappa* (Buch-ham.ex D.Don) DC) là cây thảo dược quý được sử dụng làm nguyên liệu tạo nên men lá phục vụ cho làng nghề nấu rượu truyền thống tại xã Bằng Phúc. Cây phân bố trải dài trên một số khu vực ở châu Á. Cây Nát moong hiện được nhân giống chủ yếu bằng phương pháp gieo hạt. Nghiên cứu này được tiến hành nhằm đánh giá khả năng tăng trưởng của cây Nát moong trong hệ thống nuôi cấy *in vitro* và đánh giá được hiệu quả nhân giống. Thời gian sử dụng chất khử trùng tối ưu nhất cho tạo nguồn vật liệu ban đầu là Presept 0,5% trong 10 phút với tỷ lệ tạo chồi là 73,56%. Môi trường MS có bổ sung 1,5 ppm 6-BA và 0,5 ppm α -NAA là phù hợp cho giai đoạn nhân nhanh chồi, hệ số nhân chồi là 4,02 chồi/mẫu. Bổ sung 6-BA ở nồng độ 2 ppm cho sự sinh trưởng và phát triển của chồi Nát moong tốt. Môi trường MS có bổ sung 1 ppm α -NAA là thích hợp cho giai đoạn tạo rễ, chiều dài rễ trung bình là 9,11 cm. Sinh trưởng và phát triển của Nát moong ngoài vườn ươm tốt nhất trong giá thể đất + xơ dừa tỷ lệ 1:2 với tỷ lệ sống là 75%.

Từ khóa: Nát moong, *Inula cappa* (Buch-ham.ex D.Don) DC, nuôi cấy mô, *in vitro*.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cây Nát moong (*Inula cappa* (Buch-ham.ex D.Don) DC) thuộc họ Cúc (*Asteraceae*), được phân bố trải dài trên một số khu vực ở châu Á. Cây thường mọc tự nhiên trên các trảng cỏ, sườn dốc thoáng đãng và bìa rừng ở độ cao 400 -1500 m so với mực nước biển. Nát moong là một loại cây thảo dược quý của xã Bằng Phúc. Theo y học cổ truyền thì cây có vị cay và tính hơi ấm nên được dùng làm thuốc và được sử dụng để trị một số bệnh như ho khan, ho có đờm; đau đầu do thần kinh, đau thượng vị; hay viêm thận phù thũng; hoặc lưng gối đau mỏi do phong thấp, đòn ngã tổn thương; đẻ xong bị phù thũng, kinh nguyệt không đều, bạch đới; da dễ nổi mẩn, lở ngứa, trĩ... Ngoài ra, cây còn có tác dụng khu phong, chỉ thống, giảm đau, điều kinh, hoạt huyết, bổ máu, làm ra mồ hôi, trừ đờm, trị hen. Tại xã Bằng Phúc-tỉnh Bắc Kạn, cây Nát moong được sử dụng làm nguyên liệu tạo nên men lá sử dụng để nấu rượu. Cây là một trong 16 loại cây giúp tạo nên hương vị hấp dẫn, ngọt mát và các công dụng tốt cho sức khỏe của món rượu men lá truyền thống của xã. Hiện nay, loài cây hiện nay hầu như đã bị khai thác quá mức và có nguy cơ cạn kiệt. Vậy nên, công tác quản lý, bảo tồn và phát triển bền vững men rượu truyền thống tại xã Bằng Phúc đang được quan tâm và thực hiện.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu

Cây Nát moong được lấy từ huyện Chợ Đồn, tỉnh Bắc Kạn.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Nghiên cứu được thực hiện tại Viện Nghiên cứu và Phát triển cây dược liệu-Học Viện Nông Nghiệp Việt Nam, với thời gian tiến hành từ tháng 01/2024 đến tháng 06/2024.

Môi trường nuôi cấy là môi trường MS (Murashige và Skoog) có bổ sung các chất điều tiết sinh trưởng như 6-Benzyladenin (BA), Axit α -naphtylaxetic (α -NAA), Thidiazuron (TDZ) ở các nồng độ khác nhau được sử dụng trong nghiên cứu. Môi trường được bổ sung 30 g/l saccharose, 6 g/l agar và 0,1 g/l Inositol, với pH = 5,7, được hấp khử trùng ở nhiệt độ 121°C, áp suất 1,5 atm trong 20 phút.

Các thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên, 3 lần lặp lại, 9 mẫu/công thức. Mẫu cấy được nuôi ở nhiệt độ từ 25 - 26°C, quang chu kỳ 10 giờ sáng và 14 giờ tối, cường độ ánh sáng 3000 - 4000 lux, độ ẩm 60 -70%.

Ngon cây Nát moong được đem đi rửa sạch bằng nước RO, sau đó ngâm mẫu 10 phút trong Javel. Tiếp đó, đưa mẫu vào buồng cấy để tiến hành thí nghiệm khử trùng. Mẫu được khử trùng với cồn 70° trong 5 phút, rồi tiếp đó khử trùng với Presept 0,5% với các thời gian khác nhau để xác định thời gian khử trùng mẫu thích hợp. Cuối cùng, rửa sạch lại mẫu bằng nước hấp vô trùng 5 lần, mỗi lần 1 phút. Các mẫu khử trùng được cắt thành các đoạn đốt thân có kích thước khoảng 1 cm, sau đó cấy lên môi trường MS.

Mẫu cấy trong giai đoạn nhân nhanh là các đoạn thân có kích thước khoảng 1 cm, được cắt từ ngon cây trong thí nghiệm khử trùng trước đó. Các đoạn thân sau đó được cấy lên môi trường MS có bổ sung chất điều tiết sinh trưởng ở các nồng độ khác nhau.

Vật liệu cho thí nghiệm tạo rễ để tạo cây hoàn chỉnh là các chồi đơn có chiều cao khoảng 2 cm, có trạng thái sinh trưởng và phát triển tốt.

Cây *in vitro* ra rễ được rửa sạch với nước để loại bỏ agar còn sót lại trên rễ, để trong bóng râm 30 phút - 1 tiếng rồi trồng ra ngoài giá thể. Cây được để ở nơi có bóng râm, độ ẩm cao, cường độ chiếu sáng

thấp. Sau khoảng 2 tuần, cây đã thích nghi với điều kiện bên ngoài, lúc này có thể tăng cường độ chiếu sáng và hạ độ ẩm.

2.3. Chỉ tiêu theo dõi

$$\text{Tỷ lệ mẫu sạch (\%)} = \frac{\text{Tổng số mẫu sạch}}{\text{Tổng số mẫu nuôi cấy}} \times 100$$

$$\text{Tỷ lệ mẫu sống (\%)} = \frac{\text{Tổng số mẫu sống}}{\text{Tổng số mẫu nuôi cấy}} \times 100$$

$$\text{Tỷ lệ mẫu tạo chồi (\%)} = \frac{\text{Tổng số mẫu tạo chồi}}{\text{Tổng số mẫu nuôi cấy}} \times 100$$

$$\text{Hệ số nhân chồi (\%)} = \frac{\text{Tổng số chồi thu được}}{\text{Tổng số mẫu nuôi cấy}}$$

Chiều cao chồi (cm): Đo từ phần gốc đến phần đỉnh ngọn.

Chiều cao cây: Đo từ ngọn lá dài nhất đến cổ rễ.

$$\text{Chiều cao cây trung bình (cm)} = \frac{\text{Tổng chiều cao cây}}{\text{Tổng số lá}}$$

Chiều dài rễ (cm): Đo từ phần gốc đến phần chóp đỉnh

$$\text{Chiều dài rễ trung bình (cm)} = \frac{\text{Tổng chiều dài của rễ}}{\text{Tổng số rễ đếm được}}$$

Số lá: Đếm số lượng lá thật được hình thành trong giai đoạn thí nghiệm.

Chiều dài lá (cm): Đo từ cuống lá đến chóp lá.

$$\text{Chiều dài lá trung bình (cm)} = \frac{\text{Tổng chiều dài các lá}}{\text{Tổng số lá}}$$

Chiều rộng lá (cm): Đo phần rộng nhất của phiến lá.

$$\text{Chiều rộng lá trung bình (cm)} = \frac{\text{Tổng chiều rộng các lá}}{\text{Tổng số lá}}$$

$$\text{Tỷ lệ sống của cây ngoài vườn ươm (\%)} = \frac{\text{Tổng số cây sống}}{\text{Tổng số cây được trồng}}$$

2.4. Xử lý số liệu

Các số liệu thu thập được xử lý bằng phần mềm Excel và đánh giá bởi chương trình thống kê SPSS 22.0 (Tập đoàn IBM, Somers, NY). So sánh giữa các phương tiện phân tích đã được kiểm tra bằng thử nghiệm phạm vi rộng với Duncan (DMRT) và mức ý nghĩa là 5%.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Tạo nguồn vật liệu ban đầu

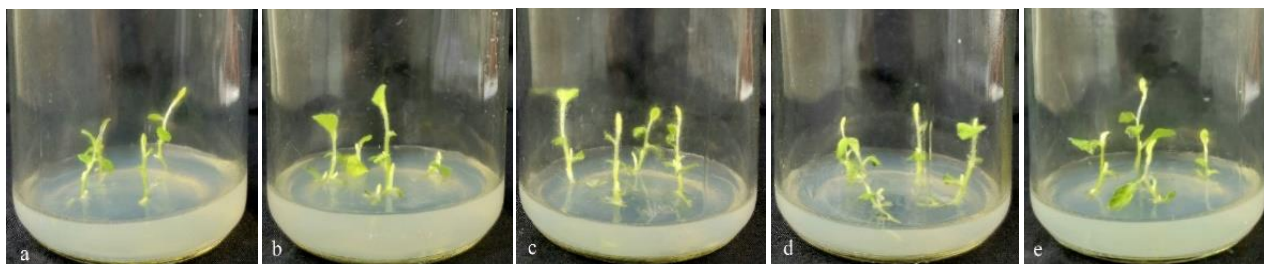
Việc lựa chọn loại hóa chất, nồng độ và thời gian khử trùng mẫu đóng một vai trò vô cùng quan trọng trong giai đoạn tạo nguồn vật liệu ban đầu để có thể xây dựng được các thí nghiệm tiếp theo. Presept với hoạt chất khử trùng là Sodium dichloroisocyanurate (SDIC) có tác dụng diệt khuẩn nhanh, phổ tác dụng rộng và có tác dụng đối với tất cả các loại vi khuẩn sinh dưỡng, nấm, virus và nha bào. Ngoài ra, Presept còn được biết tới là chất khử trùng ít độc đối với mẫu cây, do đó nó được sử dụng ở nồng độ từ 0,5 - 2,0% trong thời gian dài từ 5 - 90 phút (Mihaljević & cs., 2013; Kendon & cs., 2017). Trong thí nghiệm này, chúng tôi sử dụng chất khử trùng là Presept với nồng độ 0,5% trong thời gian từ 5 - 20 phút để xác định thời gian khử trùng tối ưu nhất. Kết quả sau 30 ngày nuôi cấy và theo dõi được trình bày ở bảng 1.

Bảng 1. Ảnh hưởng của thời gian xử lý bằng Presept 0,5% đến hiệu quả khử trùng mẫu

Công thức	Thời gian xử lý với Presept 0,5% (phút)	Tỷ lệ sạch (%)	Tỷ lệ sống (%)	Tỷ lệ mẫu tạo chồi (%)
ĐC	0	16,25±0,74 ^c	15,30±0,66 ^c	8,70±0,33 ^c
CT1	5	34,97±0,95 ^d	33,00±0,82 ^d	13,85±0,79 ^d
CT2	10	74,98±0,47 ^c	73,56±0,50 ^a	73,22±0,56 ^a
CT3	15	81,00±0,68 ^b	63,99±0,54 ^b	55,77±0,85 ^b
CT4	20	84,58±0,39 ^a	53,12±0,48 ^c	31,41±0,56 ^c

Ghi chú: Các giá trị trung bình theo sau bởi các chữ cái khác nhau (a, b, c, ...) trong cùng một cột biểu thị sự sai khác có ý nghĩa thống kê theo phép kiểm định Duncan với $p < 0,05$.

Theo kết quả ở bảng 1, sau 30 ngày nuôi cấy, các công thức thí nghiệm đều có sự khác nhau về giá trị các chỉ tiêu nghiên cứu. Tỷ lệ mẫu sạch, tỷ lệ mẫu sống và tỷ lệ mẫu tạo chồi tăng khi tăng thời gian khử trùng từ 0 phút đến 10 phút. Tuy nhiên, khi thời gian xử lý lên 15 phút khiến chồi bị tổn thương sâu nên tỷ lệ mẫu sống và tỷ lệ mẫu tạo chồi lại giảm dần. Ở thời gian khử trùng 10 phút, hiệu quả khử trùng đạt cao nhất với tỷ lệ mẫu sống đạt 73,56% và tỷ lệ mẫu tạo chồi đạt 73,22%. Rodrigues & cs. (2023) đã sử dụng HgCl₂ 0,5% trong 5 phút để khử trùng ngọn cây *Inula crithmoides* (một cây cùng loài với Nát moong) cho tỷ lệ sống là 67%. Kết quả này thấp hơn nhiều so với kết quả của chúng tôi chứng tỏ việc sử dụng Presept cho tỷ lệ mẫu sống tốt hơn việc sử dụng HgCl₂ để khử trùng.



Hình 1. Ngọn cây Nát moong ở các công thức khử trùng khác nhau sau 30 ngày nuôi cấy

- Ngọn cây Nát moong không được khử trùng bằng Presept 0,5% (ĐC)
- Ngọn cây Nát moong được khử trùng bằng Presept 0,5% trong 5 phút (CT1)
- Ngọn cây Nát moong được khử trùng bằng Presept 0,5% trong 10 phút (CT2)
- Ngọn cây Nát moong được khử trùng bằng Presept 0,5% trong 15 phút (CT3)
- Ngọn cây Nát moong được khử trùng bằng Presept 0,5% trong 20 phút (CT4)

3.2. Giai đoạn nhân nhanh chồi *in vitro* cây Nát moong

3.2.1. Ảnh hưởng của BA đến hệ số nhân chồi

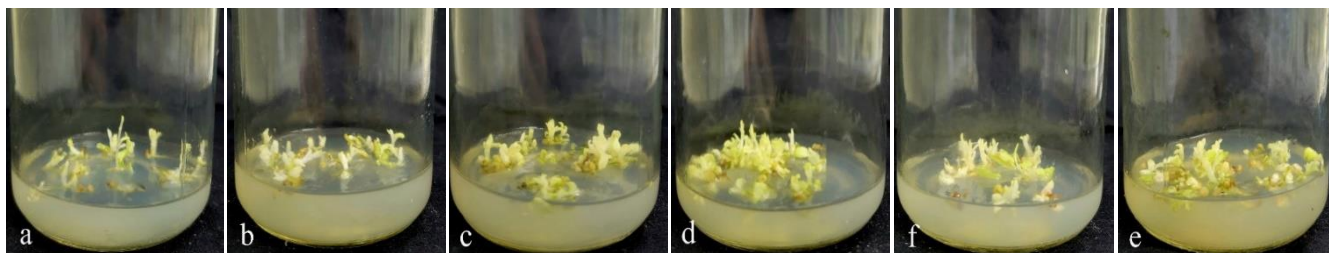
Trong thí nghiệm này, các mẫu đốt thân (có kích thước khoảng 1cm) được cắt từ ngọn cây Nát moong trong thí nghiệm tạo vật liệu ban đầu trước đó, sau đó được cấy vào môi trường BA với các nồng độ khác nhau. Mẫu được đặt trong điều kiện tối 30 ngày để kích thích nhân nhanh chồi, sau đó được đem trở lại ánh sáng. Kết quả thu được sau 30 ngày nuôi cấy được thể hiện trong bảng 2.

Bảng 2. Ảnh hưởng của BA tới khả năng nhân nhanh chồi ở Nát moong sau 30 ngày theo dõi

Công thức	6-BA (ppm)	Hệ số nhân chồi (chồi/mẫu)
ĐC	0	1,58±0,07 ^d
CT1	0,5	1,98±0,10 ^d
CT2	1	2,94±0,16 ^b
CT3	1,5	3,71±0,20 ^a
CT4	2	3,19±0,18 ^b
CT5	2,5	2,42±0,13 ^c

Ghi chú: Các giá trị trung bình theo sau bởi các chữ cái khác nhau (a, b, c, ...) trong cùng một cột biểu thị sự sai khác có ý nghĩa thống kê theo phép kiểm định Duncan với $p < 0,05$

Kết quả ở bảng 2 cho thấy bổ sung BA đã làm tăng hệ số nhân chồi. Trên môi trường không bổ sung BA, hệ số nhân chồi chỉ đạt 1,58 chồi/mẫu. Trong khi đó, trên môi trường bổ sung 1,5 ppm BA thì hệ số nhân chồi đạt cao nhất với 3,71 chồi/mẫu. Tuy nhiên, khi tăng nồng độ BA lên 2 ppm thì hệ số nhân chồi có xu hướng giảm xuống.



Hình 2. Chồi Nát moong sau 30 ngày nuôi cấy trong môi trường có bổ sung BA với các nồng độ khác nhau

- Chồi Nát moong được nuôi cấy trong môi trường ĐC, nồng độ 0 ppm BA (ĐC)*
- Chồi Nát moong được nuôi cấy trong môi trường CT1, nồng độ 0,5 ppm BA (CT1)*
- Chồi Nát moong được nuôi cấy trong môi trường CT2, nồng độ 1,0 ppm BA (CT2)*
- Chồi Nát moong được nuôi cấy trong môi trường CT3, nồng độ 1,5 ppm BA (CT3)*
- Chồi Nát moong được nuôi cấy trong môi trường CT4, nồng độ 2,0 ppm BA (CT4)*
- Chồi Nát moong được nuôi cấy trong môi trường CT5, nồng độ 2,5 ppm BA (CT5)*

3.2.2. Ảnh hưởng của tổ hợp BA và α -NAA đến hệ số nhân chồi

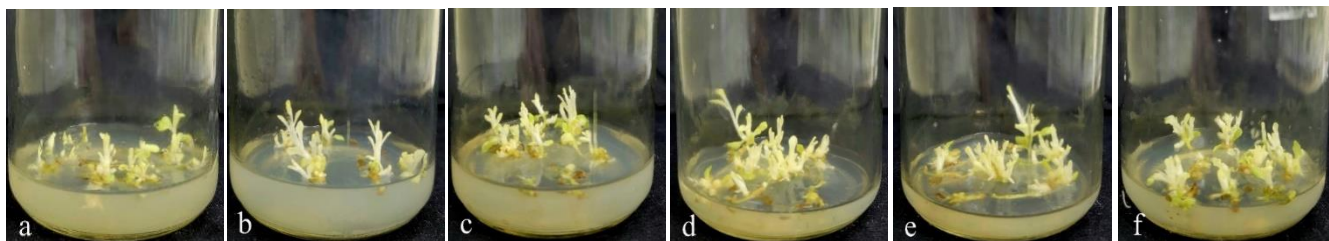
Auxin và cytokinin là hai nhóm chất điều tiết sinh trưởng thực vật có tác dụng kích thích sự phân chia của tế bào, kéo dài sự sinh trưởng cho cây. Chúng thường được bổ sung vào môi trường nuôi cấy với mục đích điều khiển sự phát sinh hình thái của mô nuôi cấy. Việc kết hợp hai nhóm chất này ở một nồng độ và tỷ lệ nhất định có thể nâng cao hệ số nhân chồi và chất lượng chồi đối với một số cây trồng. Tương tự như thí nghiệm với BA, thí nghiệm này cũng sử dụng mẫu cây là các mẫu đốt thân có kích thước khoảng 1 cm cấy vào môi trường có bổ sung 0,5 ppm α -NAA và BA ở các nồng độ khác nhau. Kết quả thu được sau 30 ngày nuôi cấy được thể hiện trong bảng 3.

Bảng 3. Ảnh hưởng của tổ hợp α -NAA và BA tới khả năng nhân nhanh chồi ở Nát moong sau 30 ngày theo dõi

Công thức	BA (ppm)	Hệ số nhân chồi (chồi/mẫu)
ĐC	0	1,61±0,07 ^d
CT1	0,5	2,28±0,12 ^c
CT2	1	3,34±0,18 ^b
CT3	1,5	4,02±0,21 ^a
CT4	2	3,50±0,18 ^b
CT5	2,5	2,63±0,14 ^c

Ghi chú: các giá trị trung bình theo sau bởi các chữ cái khác nhau (a, b, c, ...) trong cùng một cột biểu thị sự sai khác có ý nghĩa thống kê theo phép kiểm định Duncan với $p < 0,05$.

Kết quả thể hiện ở bảng 3 cho thấy việc bổ sung tổ hợp α -NAA và BA cho hệ số nhân chồi tăng đáng kể so với môi trường không bổ sung. Trong đó, hệ số nhân chồi đạt cao nhất ở công thức bổ sung 0,5 ppm α -NAA và 1,5 ppm BA với 4,02 chồi/mẫu. Hệ số nhân chồi này cao hơn hẳn với hệ số ở công thức chỉ sử dụng BA riêng lẻ (3,71 chồi/mẫu). Do đó, có thể thấy được, khi bổ sung thêm α -NAA và môi trường nuôi cấy, hệ số nhân chồi cao hơn khi chỉ sử dụng BA.



Hình 3. Chồi Nát moong sau 30 ngày nuôi cấy trong môi trường có bổ sung 0,5 ppm α -NAA và BA với các nồng độ khác nhau

- Chồi Nát moong được nuôi cấy trong môi trường ĐC, nồng độ 0 ppm BA (ĐC)
- Chồi Nát moong được nuôi cấy trong môi trường CT1, nồng độ 0,5 ppm BA (CT1)
- Chồi Nát moong được nuôi cấy trong môi trường CT2, nồng độ 1,0 ppm BA (CT2)
- Chồi Nát moong được nuôi cấy trong môi trường CT3, nồng độ 1,5 ppm BA (CT3)
- Chồi Nát moong được nuôi cấy trong môi trường CT4, nồng độ 2,0 ppm BA (CT4)
- Chồi Nát moong được nuôi cấy trong môi trường CT5, nồng độ 2,5 ppm BA (CT5)

3.2.3. Ảnh hưởng của TDZ đến hệ số nhân chồi

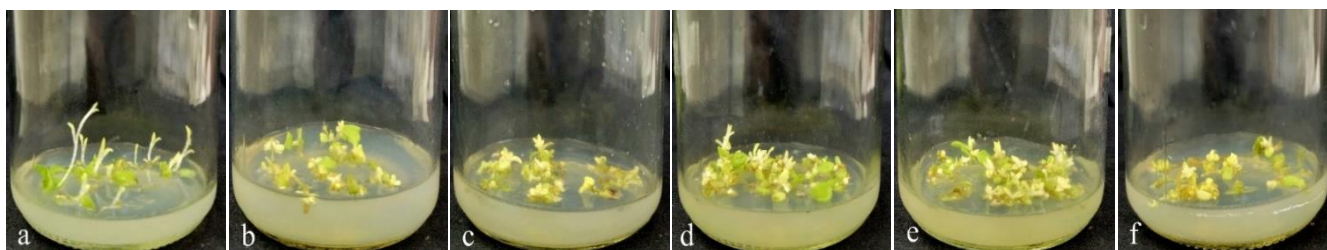
Trong thời gian gần đây thì TDZ được sử dụng rộng rãi trong nuôi cấy mô do hoạt tính auxin và cytokinin cao hơn hẳn so với các auxin và cytokinin thông thường. Tương tự như thí nghiệm với BA, thí nghiệm này cũng sử dụng mẫu cây là các mẫu đốt thân có kích thước khoảng 1 cm cấy vào môi trường có bổ sung TDZ ở các nồng độ khác nhau. Kết quả thu được sau 30 ngày nuôi cấy được thể hiện trong bảng 4.

Bảng 4. Ảnh hưởng của TDZ tới khả năng nhân nhanh chồi ở Nát moong sau 30 ngày theo dõi

Công thức	TDZ (ppm)	Hệ số nhân chồi (chồi/mẫu)
ĐC	0	1,57±0,06 ^d
CT1	0,5	1,81±0,08 ^d
CT2	1	2,76±0,14 ^b
CT3	1,5	3,44±0,16 ^a
CT4	2	3,02±0,15 ^b
CT4	2,5	2,32±0,12 ^c

Ghi chú: các giá trị trung bình theo sau bởi các chữ cái khác nhau (a, b, c, ...) trong cùng một cột biểu thị sự sai khác có ý nghĩa thống kê theo phép kiểm định Duncan với $p < 0,05$.

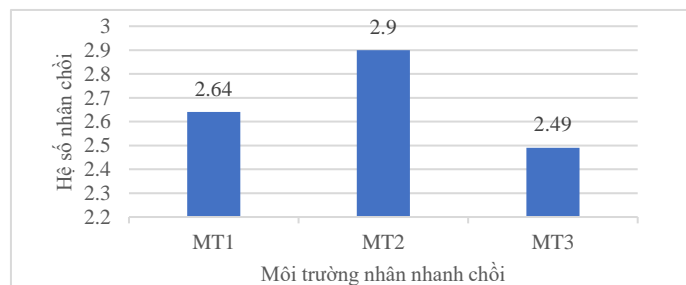
Kết quả thể hiện ở bảng 3 cho thấy việc bổ sung TDZ cho hệ số nhân chồi tăng đáng kể so với môi trường không bổ sung. Trên môi trường không bổ sung TDZ, hệ số nhân chồi chỉ đạt 1,57 chồi/mẫu. Trong khi đó, trên môi trường bổ sung 1,5 ppm TDZ thì hệ số nhân chồi đạt cao nhất với 3,44 chồi/mẫu. Tuy nhiên, khi tăng nồng độ TDZ lên 2 ppm thì hệ số nhân chồi có xu hướng giảm xuống.



Hình 4. Chồi Nát moong sau 30 ngày nuôi cấy trong môi trường có bổ sung TDZ với các nồng độ khác nhau

- Chồi Nát moong được nuôi cấy trong môi trường ĐC, nồng độ 0 ppm TDZ (ĐC)
- Chồi Nát moong được nuôi cấy trong môi trường CT1, nồng độ 0,5 ppm TDZ (CT1)
- Chồi Nát moong được nuôi cấy trong môi trường CT2, nồng độ 1,0 ppm TDZ (CT2)
- Chồi Nát moong được nuôi cấy trong môi trường CT3, nồng độ 1,5 ppm TDZ (CT3)
- Chồi Nát moong được nuôi cấy trong môi trường CT4, nồng độ 2,0 ppm TDZ (CT4)
- Chồi Nát moong được nuôi cấy trong môi trường CT5, nồng độ 2,5 ppm TDZ (CT5)

Kết luận chung cho giai đoạn nhân nhanh chồi: từ 3 thí nghiệm nhân nhanh chồi có thể thấy việc sử dụng BA kết hợp với α -NAA cho kết quả nhân chồi tốt hơn so với việc sử dụng BA và TDZ đơn lẻ. Việc tăng nồng độ của các chất trong các thí nghiệm giúp cho số chồi tăng cao dần, nhưng khi vượt quá nồng độ thích hợp thì sự ảnh hưởng sẽ đi theo hướng ngược lại.



Hình 5. Ảnh hưởng của các chất điều tiết sinh trưởng tới hệ số nhân chồi của Nát moong

MT1. Hệ số nhân chồi trung bình của công thức sử dụng 6-BA

MT2. Hệ số nhân chồi trung bình của công thức sử dụng tổ hợp 6-BA và α -NAA

MT3. Hệ số nhân chồi trung bình của công thức sử dụng TDZ

Qua kết quả của 3 thí nghiệm nhân nhanh chồi và hình 5, có thể thấy việc sử dụng tổ hợp BA kết hợp với α -NAA cho hệ số nhân chồi trung bình là cao nhất với 2,9 chồi/mẫu. Trong đó, tổ hợp 1,5 ppm BA kết hợp với 0,5 ppm α -NAA cho hệ số nhân chồi tốt nhất là 4,02 chồi. Dữ liệu liên quan đến nhân giống *in vitro* các loài *Inula* là rất khan hiếm. Tính cho đến nay chỉ có sáu nghiên cứu liên quan đến bốn loài cụ thể là *Inula racemosa*, *Inula verbascifolia* subsp. *verbascifolia*, *Inula germanica* và *Inula Royleana* (Stojakowska & Malarz, 2004; Jabeen & cs., 2007; Perica & cs., 2008; Trejgell & cs., 2018; Rodrigues & cs., 2023). Các tác giả khác cũng đánh giá tác động của việc sử dụng kết hợp cytokinin và auxin với quá trình nhân giống *in vitro* của loài *Inula*. Cụ thể là nghiên cứu của Stojakowska & cs. (2004) về nhân nhanh chồi của cây *Inula Royleana* DC. từ mắt lá mầm và đốt thân cho kết quả nhân nhanh tốt nhất lần lượt là 3,4 và 5,1 chồi/mẫu với môi trường MS có bổ sung 0,1 μ M NAA kết hợp 5,0 μ M Kinetin. Nghiên cứu trên cho kết quả nhân nhanh chồi tốt hơn kết quả nghiên cứu của đề tài có thể là do sự khác nhau về thời gian theo dõi: Ở thí nghiệm của đề tài, mẫu được theo dõi trong thời gian là 30 ngày, còn ở bài nghiên cứu của Stojakowska & cs. (2004) thì thời gian theo dõi là 6 tuần, gấp 1,5 lần thời gian theo dõi của đề tài.

3.3. Giai đoạn sinh trưởng và phát triển của chồi cây Nát moong

Bên cạnh việc sử dụng với mục đích phát sinh chồi bất định và kích thích sự bật chồi, thì chất điều tiết sinh trưởng BA còn được sử dụng để phát triển chồi, lá, giúp cây sinh trưởng và phát triển trong nuôi cấy mô. Trong thí nghiệm này, các chồi thu được từ thí nghiệm nhân nhanh sẽ được hủy đỉnh và cấy vào môi trường BA với các nồng độ khác nhau để quan sát sự sinh trưởng và phát triển trong 30 ngày. Kết quả được thể hiện trong bảng 5.

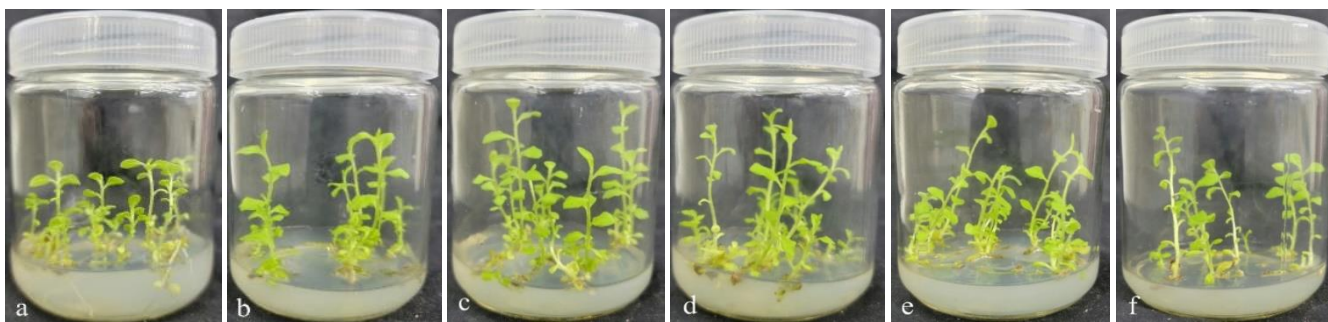
Bảng 5. Ảnh hưởng của BA tới khả năng sinh trưởng và phát triển của chồi ở cây Nát moong sau 30 ngày theo dõi

Công thức	BA (ppm)	Chiều cao chồi trung bình (cm)	Số lá (lá/mẫu)	Chiều dài lá trung bình (cm)	Chiều rộng lá trung bình (cm)
ĐC	0	3,59 \pm 0,06 ^c	6,06 \pm 0,18 ^d	0,90 \pm 0,02 ^c	0,59 \pm 0,02 ^a
CT1	0,5	4,79 \pm 0,14 ^c	6,94 \pm 0,18 ^c	0,93 \pm 0,02 ^{bc}	0,61 \pm 0,02 ^a
CT2	1	5,86 \pm 0,12 ^a	8,28 \pm 0,22 ^a	1,04 \pm 0,03 ^a	0,64 \pm 0,02 ^a
CT3	1,5	5,39 \pm 0,13 ^b	7,61 \pm 0,18 ^b	0,98 \pm 0,03 ^{ab}	0,63 \pm 0,02 ^a
CT4	2	5,01 \pm 0,13 ^c	7,01 \pm 0,18 ^c	0,95 \pm 0,03 ^{bc}	0,62 \pm 0,02 ^a
CT5	2,5	4,04 \pm 0,10 ^d	6,52 \pm 0,20 ^{cd}	0,92 \pm 0,02 ^{bc}	0,60 \pm 0,02 ^a

Ghi chú: Các giá trị trung bình theo sau bởi các chữ cái khác nhau (a, b, c, ...) trong cùng một cột biểu thị sự sai khác có ý nghĩa thống kê theo phép kiểm định Duncan với $p < 0,05$

Kết quả thể hiện ở bảng 5 cho thấy, việc bổ sung BA cho giá trị các chỉ tiêu nghiên cứu tăng đáng kể so với môi trường không bổ sung. Trên môi trường không bổ sung BA, chiều cao chồi chỉ đạt 3,59 cm, được 6,06 lá, chiều dài lá đạt 0,90 cm. Trong khi đó, trên môi trường bổ sung 1 ppm BA thì các chỉ

tiêu nghiên cứu đạt cao nhất với chiều cao chồi đạt 5,86 cm, 8,28 lá, chiều dài lá đạt 1,04 cm. Tuy nhiên, khi tăng nồng độ BA lên 1,5 ppm thì giá trị các chỉ tiêu nghiên cứu có xu hướng giảm xuống.



Hình 6. Chồi Nát moong sinh trưởng và phát triển sau 30 ngày nuôi cấy trong môi trường có bổ sung BA ở các nồng độ khác nhau

- a. Chồi Nát moong được nuôi cấy trong môi trường ĐC, nồng độ 0 ppm 6-BA (ĐC)
- b. Chồi Nát moong được nuôi cấy trong môi trường CT1, nồng độ 0,5 ppm 6-BA (CT1)
- c. Chồi Nát moong được nuôi cấy trong môi trường CT2, nồng độ 1,0 ppm 6-BA (CT2)
- d. Chồi Nát moong được nuôi cấy trong môi trường CT3, nồng độ 1,5 ppm 6-BA (CT3)
- e. Chồi Nát moong được nuôi cấy trong môi trường CT4, nồng độ 2,0 ppm 6-BA (CT4)
- f. Chồi Nát moong được nuôi cấy trong môi trường CT5, nồng độ 2,5 ppm 6-BA (CT5)

3.4. Giai đoạn tạo rễ ở cây Nát moong

Cây con *in vitro* hoàn chỉnh cần phải có bộ rễ phát triển tốt, vì chất lượng bộ rễ sẽ ảnh hưởng trực tiếp đến năng suất cây trồng và khả năng sống của cây trong điều kiện vườn ươm trước những yếu tố như độ ẩm, ánh sáng, nhiệt độ. Đối với nuôi cấy mô và tế bào thực vật thì auxin được sử dụng để kích thích phân chia tế bào và hình thành rễ. α -NAA là chất điều tiết sinh trưởng thuộc nhóm auxin. Hợp chất này có tác dụng nhiều mặt lên quá trình sinh trưởng của tế bào, thúc đẩy sự phân bào và phân hóa tổ chức đặc biệt là dùng để kích thích hình thành rễ nhánh và các rễ lá, dùng để tăng nhanh tốc độ ra rễ. Các chồi có chiều cao từ 2 cm thu được từ giai đoạn sinh trưởng và phát triển sẽ được cấy vào môi trường cấy vào môi trường α -NAA với các nồng độ khác nhau để quan sát sự tạo rễ của cây trong 30 ngày. Kết quả thu được được thể hiện trong bảng 6.

Bảng 6. Ảnh hưởng của α -NAA tới khả năng tạo rễ ở cây Nát moong sau 30 ngày theo dõi

Công thức	α -NAA (ppm)	Chiều dài rễ trung bình (cm)
ĐC	0	1,21±0,06 ^c
CT1	0,5	8,03±0,08 ^c
CT2	1	9,11±0,11 ^a
CT3	1,5	8,60±0,06 ^b
CT4	2	8,41±0,07 ^b
CT5	2,5	6,01±0,05 ^d

Ghi chú: Các giá trị trung bình theo sau bởi các chữ cái khác nhau (a, b, c, ...) trong cùng một cột biểu thị sự sai khác có ý nghĩa thống kê theo phép kiểm định Duncan với $p < 0,05$

Kết quả ở bảng 6 cho thấy: công thức không bổ sung α -NAA (ĐC) cho rễ khá ngắn (1,21 cm). Trong khi đó, khi bổ sung α -NAA đã làm tăng chiều dài rễ của chồi Nát moong. Chiều dài rễ đạt lớn nhất

với 9,11 cm khi chồi được cấy trên môi trường có bổ sung 1 ppm α -NAA. Mặc dù vậy, khi tăng nồng độ α -NAA lên 1,5 ppm thì chiều dài rễ đã giảm đi. Trong thí nghiệm này, có thể thấy là chồi cây Nát moong có khả năng tạo rễ trên môi trường MS cơ bản không được bổ sung chất điều tiết sinh trưởng. Điều này tương tự với các loài *Inula* khác đã được nghiên cứu là có sự phát triển rễ trên môi trường không có auxin như *Inula verbascifolia* subsp. *verbascifolia* với tỷ lệ hình thành rễ là 67% (Perica & cs., 2008) và tỷ lệ 70% ở *Inula royleana* (Stojakowska & Malarz, 2004). Việc bổ sung α -NAA vào môi trường nuôi cấy giúp tăng đáng kể chiều dài rễ của Nát moong nhưng không ảnh hưởng nhiều đến khả năng tạo rễ của cây.



Hình 7. Rễ cây Nát moong sau 30 ngày nuôi cấy trong môi trường có bổ sung α -NAA với các nồng độ khác nhau

- a. Chồi Nát moong được nuôi cấy trong môi trường ĐC, nồng độ 0,0 ppm α -NAA (ĐC)
- b. Chồi Nát moong được nuôi cấy trong môi trường CT1, nồng độ 0,5 ppm α -NAA (CT1)
- c. Chồi Nát moong được nuôi cấy trong môi trường CT2, nồng độ 1,0 ppm α -NAA (CT2)
- d. Chồi Nát moong được nuôi cấy trong môi trường CT3, nồng độ 1,5 ppm α -NAA (CT3)
- e. Chồi Nát moong được nuôi cấy trong môi trường CT4, nồng độ 2,0 ppm α -NAA (CT4)
- f. Chồi Nát moong được nuôi cấy trong môi trường CT5, nồng độ 2,5 ppm α -NAA (CT5)

3.5. Giai đoạn sinh trưởng và phát triển ngoài vườn ươm của cây Nát moong

Việc lựa chọn giá thể thích hợp để đưa cây ra ngoài vườn ươm là một khâu vô cùng quan trọng trong quá trình nhân giống vô tính. Cây Nát moong sau khi ra rễ được đưa ra trồng ở ngoài vườn ươm với các tỷ lệ phối trộn giá thể khác nhau giữa đất và xơ dừa nhằm so sánh khả năng thích nghi của cây. Kết quả thí nghiệm sau 15 ngày nuôi trồng được thể hiện ở bảng 7.

Bảng 7. Đánh giá khả năng sinh trưởng và phát triển ngoài vườn ươm của Nát moong ở các tỷ lệ phối trộn giá thể khác nhau (sau 15 ngày theo dõi)

Công thức	Tỷ lệ phối trộn giá thể (Đất: Xơ dừa)	Tỷ lệ sống (%)	Chiều cao cây trung bình (cm)	Số lá	Chiều dài lá trung bình (cm)	Chiều rộng lá trung bình (cm)
CT1	1:0	16,67±11,24 ^c	3,92±2,68 ^b	1,75±1,18 ^c	0,29±0,20 ^c	0,24±0,16 ^c
CT2	1:2	75,00±13,06 ^a	13,50±2,37 ^a	8,25±1,46 ^a	1,67±0,29 ^a	1,03±0,18 ^a
CT3	2:1	58,33±14,86 ^{ab}	10,50±2,69 ^{ab}	6,58±1,69 ^{ab}	1,23±0,31 ^{ab}	0,87±0,22 ^{ab}
CT4	0:1	25,00±13,06 ^{bc}	4,74±2,48 ^b	3,25±1,70 ^{bc}	0,60±0,31 ^{bc}	0,35±0,18 ^{bc}

Ghi chú: Các giá trị trung bình theo sau bởi các chữ cái khác nhau (a, b, c, ...) trong cùng một cột biểu thị sự sai khác có ý nghĩa thống kê theo phép kiểm định Duncan với $p < 0,05$

Qua kết quả trên bảng 7 cho thấy, các loại tỷ lệ giá thể khác nhau cũng ảnh hưởng đến tỷ lệ sống của cây con. Trên giá thể đất, cây con có tỷ lệ sống thấp nhất (16,67%), cây con sinh trưởng phát triển chậm, lá ít và nhỏ. Cây con trên trên giá thể xơ dừa cho tỷ lệ sống cao hơn với 25% nhưng vẫn chậm sinh trưởng và phát triển, lá ít và nhỏ. Giá thể đất và xơ dừa với tỷ lệ 2:1 cho tỷ lệ sống 58,33% đã cho thấy sự sinh trưởng và phát triển khá tốt của cây con. Và trên giá thể đất và xơ dừa với tỷ lệ 1:2 cho tỷ lệ sống cao nhất với 75%, cây con sinh trưởng và phát triển tốt, lá nhiều và to.



Hình 8. Cây Nát moong sau 15 ngày trồng trong các loại tỷ lệ giá thể khác nhau

- a. Cây Nát moong được trồng trong giá thể đất (100%) (CT1)
- b. Cây Nát moong được trồng trong giá thể đất + xơ dừa (1:2) (CT2)
- c. Cây Nát moong được trồng trong giá thể đất + xơ dừa (2:1) (CT3)
- d. Cây Nát moong được trồng trong giá thể xơ dừa (100%) (CT4)

4. KẾT LUẬN

Từ các kết quả nghiên cứu trên, có thể thấy rằng: Khử trùng bằng Presept 0,5% trong thời gian 10 phút cho hiệu quả khử trùng tốt nhất với tỷ lệ mẫu sống và tỷ lệ mẫu tạo chồi cao nhất. Môi trường cơ bản MS có bổ sung 1,5 ppm BA kết hợp 0,5 ppm α -NAA cho kết quả nhân nhanh chồi tốt nhất với hệ số nhân chồi là 4,02 chồi. Môi trường cơ bản MS có bổ sung 2 ppm BA cho kết quả sinh trưởng và phát triển của chồi tốt nhất với chiều cao chồi trung bình là 5,68 cm, số lá là 8,28 lá và chiều dài lá trung bình là 1,16 cm. Môi trường cơ bản MS 1 ppm α -NAA cho kết quả tạo rễ tốt nhất với chiều dài rễ trung bình là 9,11 cm. Cây *ex vitro* được tạo điều kiện thích nghi tốt nhất trong giá thể đất kết hợp xơ dừa tỷ lệ 1:2 với tỷ lệ sống cao nhất là 75%, chiều cao cây là 13,50 cm, 8,25 lá, chiều dài lá trung bình là 1,67 cm và chiều rộng lá trung bình là 1,03 cm.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Jabeen N., Shawl A. S. & Dar G. H. (2007). Micropropagation of *Inula racemosa* Hook. f. A valuable medicinal plant. International journal of botany.
- Kendon J. P., Rajaovelona L., Sandford H., Fang R., Bell J. & Sarasan V. (2017). Collecting near mature and immature orchid seeds for *ex situ* conservation: ‘*in vitro* collecting’ as a case study. Botanical Studies. 58: 34.
- Mihaljević I., Dugalić K., Tomaš V., Vuletić M. V., Pranjić A., Cmelik Z., Puškar B. & Jurkovic Z. (2013). *In vitro* sterilization procedures for micropropagation of ‘Oblačinska’ sour cherry. Journal of Agricultural Sciences. 58: 117-126.
- Perica M. Ć., Vršek I. & Mitić B. (2008). *In vitro* propagation of *Inula verbascifolia* (Willd.) Hausskn. subsp. *verbascifolia*. Plant biosystems. 142(1): 1-4.
- Rodrigues M. J., Castañeda-Loaiza V., Fernandes E. & Custódio L. (2023). A First Approach for the Micropropagation of the Edible and Medicinal Halophyte *Inula crithmoides* L. Plants (Basel). 12(12): 2366.
- Stojakowska A. & Malarz J. (2004). *In vitro* propagation of *Inula royleana* DC. Acta Societatis Botanicorum Poloniae. 73(1): 5-8.
- Trejgell A., Kamińska M., Lisowska K. & Tretyń A. (2018). Micropropagation of *Inula germanica* L. from the Seedlings Explants. Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca. 46(1): 52-57.

ẢNH HƯỞNG CỦA ẨM ĐỘ ĐẾN SỰ GIA TĂNG QUẦN THỂ CỦA NHỆN BẮT MỒI *Amblyseius largoensis* (Muma) (ACARI: PHYTOSEIIDAE)

Dương Thị Nga^{1,2}, Hồ Thị Quỳnh Trang², Hồ Thị Thu Giang¹ Nguyễn Đức Tùng^{1*}

¹Bộ môn Côn trùng, Khoa Nông học, Học viện Nông nghiệp Việt Nam

²Trung tâm Bảo vệ thực vật phía Bắc, Trưng Trắc, Văn Lâm, Hưng Yên

*Tác giả liên hệ: nguyenductung@vnua.edu.vn

ABSTRACT

This study aimed to investigate the effects of different relative humidity (RH%) levels on the life cycle and population growth of the predatory spider *Amblyseius largoensis* fed with citrus red spider *Panonychus citri*. Spiders are individually raised at five different humidity levels: 55%, 65%, 75%, 85% and 95%, temperature 27,5⁰C, 12 am: 12 pm. Research results show that humidity has a clear impact on the sexual development time of the prey spider *A. largoensis*. As humidity increases, the life cycle of *A. largoensis* prey spider decreases significantly. At 55% humidity the life cycle is the longest at 8.33 days and at 75% the life cycle drops to only 6.87 days at 85% it is 7.14 days. The fertility of *A. largoensis* is also affected by humidity. The total number of eggs laid gradually increased from 12.28 eggs/female at 55% to the highest 17.48 eggs/female at 75%. However, when humidity increased to 85%, the number of eggs laid decreased to only 16.32 eggs/female. Humidity also significantly affects population growth indicators of *A. largoensis*. As humidity increases, generation time (T) and population doubling time (DT) decrease, at 55 % DT decreasing from 4,953 days to 4,041 days (at 85%). Net reproductive rate (Ro) reached the highest at 55% (10,060), the lowest at 85% was 9,440. The natural increase rate (rm) is highest at 75% (0.178), next at 85% humidity (0.171), lower at 65% (0.158) and lowest at 55% (0.140). This study confirms that the optimal humidity for the development, reproduction and population growth of the predatory spider *A. largoensis* is 75-85%.

Keywords: *Predatory mite Amblyseius largoensis; Panonychus citri; Intrinsic rate of increase;*

TÓM TẮT

Nghiên cứu này nhằm tìm hiểu ảnh hưởng của các mức độ ẩm tương đối (RH%) khác nhau đến vòng đời và sức tăng quần thể của loài nhện bắt mồi *Amblyseius largoensis* nuôi bằng nhện đỏ cam chanh *Panonychus citri*. Nhện bắt mồi được nuôi cá thể ở năm mức ẩm độ khác nhau là 55%, 65%, 75%, 85% và 95%, nhiệt độ 27,5⁰C, 12 giờ sáng: 12 giờ tối. Kết quả nghiên cứu cho thấy ẩm độ tác động rõ rệt đến thời gian phát dục các pha của nhện bắt mồi *A. largoensis*. Khi ẩm độ tăng, thời gian vòng đời của nhện bắt mồi *A. largoensis* giảm rõ rệt. Ở ẩm độ 55% vòng đời là dài nhất 8,33 ngày và ở 75% vòng đời giảm xuống chỉ còn 6,87 ngày ở 85% là 7,14 ngày. Sức sinh sản của *A. largoensis* cũng bị ảnh hưởng bởi ẩm độ. Tổng số lượng trứng đẻ tăng dần từ 12,28 quả/con cái ở 55% lên cao nhất 17,48 quả/con cái ở 75%. Tuy nhiên, khi ẩm độ tăng lên 85%, số lượng trứng đẻ giảm xuống chỉ còn 16,32 quả/con cái. Ẩm độ cũng tác động đáng kể đến các chỉ số sức tăng quần thể của *A. largoensis*. Khi ẩm độ tăng, thời gian của một thế hệ (T) và thời gian nhân đôi quần thể (DT) giảm, ở 55 % DT giảm từ 4,953 ngày xuống 4,041 ngày (ở 85%). Tỷ lệ sinh sản thuần (Ro) đạt cao nhất ở 55% (10,060), thấp nhất ở 85% là 9,440. Tỷ lệ tăng tự nhiên (rm) cao nhất ở 75% (0,178), tiếp theo ở ẩm độ 85% (0,171), thấp hơn ở 65% (0,158) và thấp nhất ở 55% (0,140). Nghiên cứu này khẳng định rằng ẩm độ tối ưu cho sự phát triển, sinh sản và tăng trưởng quần thể của nhện bắt mồi *A. largoensis* là 75-85%.

Từ khóa: *Nhện bắt mồi Amblyseius largoensis; Panonychus citri; tỷ lệ tăng tự nhiên*

1. MỞ ĐẦU

Nhện bắt mồi (NBM) thuộc họ Phytoseiidae đã được chứng minh là một trong những thiên địch hiệu quả đối với các loài nhện hại, bao gồm nhện đỏ cam chanh (Kreiter & cs., 2006). Đặc biệt, loài nhện bắt mồi *Amblyseius largoensis* (Muma) (Acari: Phytoseiidae) đã được ghi nhận với khả năng kiểm soát nhện hại trên cây có múi tại nhiều vùng nhiệt đới và cận nhiệt đới trên thế giới (Rodríguez & cs., 2004; Melo & cs., 2015). Loài nhện bắt mồi *A. largoensis* lần đầu tiên được tìm thấy ở bang Florida, Mỹ vào năm 1952 (Muma, 1955). *A. largoensis* xuất hiện ở các vùng nhiệt đới và cận nhiệt đới tại trên 40 nước và vùng lãnh thổ trên thế giới và có thể tìm thấy trên nhiều loại cây trồng như táo, cây rau, cây có múi (Kreiter & cs., 2006).

Theo Nguyễn Văn Đĩnh (2004), một loài bắt mồi chỉ có thể trở thành loài có hiệu quả khi đáp ứng được yêu cầu: thời gian phát triển (vòng đời) ngắn hơn thời gian phát triển của con mồi, có sức sinh sản cao, có môi trường sống tương đồng với môi trường sống của con mồi. Theo nghiên cứu của tác giả Nguyễn Văn Đĩnh (2005) tại vùng Hà Nội trong số này, loài nhện bắt mồi (NBM) *Amblyseius largoensis* (Muma) (Acari: Phytoseiidae) là một loài thiên địch của nhện hại, bọ trĩ được tìm thấy phổ biến trên một số loại cây có múi như cây bưởi, cam, chanh... tại vùng đồng bằng sông Hồng

Trên thế giới, nhện bắt mồi *A. largoensis* đã được nghiên cứu về ảnh hưởng của các mức nhiệt độ và ẩm độ khác nhau đến sự phát triển và tăng trưởng quần thể khi nuôi bằng các loại vật mồi. Tuổi thọ của *A. largoensis* là 9,8 ngày khi nuôi bằng nhện dứa đỏ *Aceria guerreronis* Keifer (Acari: Eriophyidae) ở 27°C, độ ẩm 60% (Galvão & cs., 2007), và 30,08 ngày khi nuôi bằng nhện trắng *Polyphagotarsonemus latus* Banks (Acari: Tarsonemidae) ở nhiệt độ 20,9°C và độ ẩm 80,4% (Rodríguez & cs., 2004). Thời gian đẻ trứng của *A. largoensis* dao động từ 5,3 ngày khi nuôi bằng nhện dứa *A. guerreronis* ở 27°C và độ ẩm 60% (Galvão & cs., 2007) đến 14,09 ngày khi nuôi bằng nhện cọ đỏ *Raoiella indica* Hirst (Acari: Tenuipalpidae) ở 26,5°C và độ ẩm 70% (Carrillo & cs., 2010).

Ở Việt Nam hiện nay chưa có nghiên cứu nào về việc sử dụng *A. largoensis* trong phòng chống nhện hại trên cây có múi cũng như về ảnh hưởng của các mức ẩm độ đến sự phát triển và gia tăng quần thể của loài này khi vật mồi cung cấp là nhện đỏ *Panonychus citri*. Nghiên cứu ảnh hưởng của ẩm độ không chỉ giúp hiểu rõ hơn về đặc điểm sinh thái và sinh học của *A. largoensis*, mà còn tạo nền tảng cho việc nhân nuôi và sử dụng chúng hiệu quả trong kiểm soát sinh học nhện hại, góp phần vào phát triển bền vững ngành trồng cây có múi ở Việt Nam (Nguyễn Văn Đĩnh, 2005). Do đó, nghiên cứu này được thực hiện nhằm cung cấp cơ sở khoa học để xác định ẩm độ tối ưu, qua đó thúc đẩy việc nhân nuôi gia tăng quần thể *A. largoensis* trong điều kiện phòng thí nghiệm, làm tiền đề cho ứng dụng rộng rãi trong quản lý dịch hại tổng hợp IPM trên cây có múi tại Việt Nam.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Nuôi nguồn nhện đỏ cam chanh *P. citri* trên cây bưởi chua.

Nguồn nhện đỏ cam chanh *Panonychus citri* được thu trên cây có múi (cây bưởi và cây chanh) trồng tại Văn Giang, Hưng Yên và tại vườn cây của Trung Tâm Bảo vệ thực vật phía Bắc và lây nhiễm lên cây bưởi chua sạch bằng bút lông mềm. Cây bưởi chua *Citrus* sp. gieo từ hạt vào trong bầu (15 x 10cm) trồng trong nhà lưới cách ly côn trùng, khi cây có khoảng 9-10 lá, chuyển bầu cây vào bát nhựa (15 x 10 x 20cm) có một lớp nước bên trong để cách ly nguồn nhện với bên ngoài rồi cho vào lồng nuôi trong phòng (60cm x 40cm x 60cm), mỗi lồng nuôi đặt một chậu cây, mỗi một cây tiến hành lây nhiễm

nhện đỏ cam chanh là 50 cặp trưởng thành nhện. Nhện đỏ cam chanh được nuôi trong điều kiện phòng thí nghiệm nhiệt độ trung bình 27,5°C, ẩm độ 75±2%, thời gian chiếu sáng 12 giờ sáng và 12 giờ tối. Sau 2-3 tuần thu lá có nhện đỏ cam chanh để nuôi sinh học NBM *A. largoensis*.

2.2. Nuôi nguồn NBM *A. largoensis*

Nguồn NBM *A. largoensis* được thu trên cây có múi (cây bưởi và cây chanh) tại Văn Giang, Hưng Yên và tại vườn cây của Trung Tâm Bảo vệ thực vật phía Bắc. Sau đó mang về phòng soi trên kính hiển vi soi nổi dùng bút lông mềm để thu bắt nhện bắt mồi *A. largoensis* chuyển vào trong hộp nhựa caramen kích thước đường kính trên x đường kính đáy hộp x chiều cao (4 x 3 x 7cm) bôi một lớp keo dính côn trùng trên miệng hộp nhằm ngăn nhện bắt mồi chạy ra ngoài. Trong hộp có sẵn nguồn vật mồi là nhện đỏ cam chanh và 2 sợi chỉ đen nhỏ để làm giá thể cho NBM *A. largoensis* đẻ trứng, ở trên nắp hộp đục lỗ đường kính 2cm có gắn lưới (kích thước mắt lưới 0,01mm) để thông khí. Hộp caramen được đặt trên một tấm mút dày 1cm và đặt trong hộp nhựa trong kích thước chiều dài x rộng x cao (18 x 11 x 4cm) chứa nước để cách ly nguồn nhện với bên ngoài. Nhện được nuôi trong điều kiện phòng thí nghiệm nhiệt độ trung bình 27,5°C, ẩm độ 75%, thời gian chiếu sáng 12 giờ sáng và 12 giờ tối. Hộp nguồn được quan sát hàng ngày để bổ sung thêm vật mồi.

2.3. Nghiên cứu đặc điểm sinh học, sinh thái của Nhện bắt mồi *A. largoensis*

Thí nghiệm được thực hiện ở 5 mức ẩm độ: 55; 65; 75; 85 và 95%, nhiệt độ 27,5°C trong tủ sinh thái (plant grow chamber) Panasonic thời gian chiếu sáng ngày: đêm là 12 h:12 h với vật mồi là nhện đỏ cam chanh.

Thí nghiệm được tiến hành theo phương pháp nuôi cá thể. Trước khi thí nghiệm, nhện trưởng thành cái (khoảng 100 cá thể) và một sợi chỉ đen được cho vào hộp nuôi làm giá thể cho nhện bắt mồi đẻ trứng. Sau 8 giờ nhắc chỉ để thu trứng NBM dính vào sợi chỉ, rồi chuyển từng trứng vào trong lồng nuôi Munger cải tiến được mô tả bởi Nguyen & cs., (2013). Mỗi lồng nuôi gồm ba miếng mica kích thước 40x40mm. Tấm mica dưới cùng màu đen dày 2 mm chính giữa có một lỗ tròn đường kính 1 mm tại trung tâm. Tấm mica giữa màu đen dày 5 mm với một lỗ tròn đường kính 18 mm ở trung tâm, và tấm mica trên cùng màu trắng với lỗ tròn đường kính 20mm. Tấm bóng kính trong suốt kích thước 40x40mm trên có các lỗ nhỏ (dưới 0,1 mm) được đặt giữa tấm mica giữa và trên cùng giúp không khí lưu thông trong và ngoài lồng nuôi và đủ nhỏ để nhện bắt mồi không thể chui ra ngoài. Một kẹp giấy được sử dụng để giữ chặt các tấm mica với nhau, các lồng nuôi được đặt trên một khay chứa nước. Mỗi quả trứng được để trong vòng 8 giờ được chuyển vào một lồng Munger bên trong có sẵn từ 5 trưởng thành nhện đỏ cam chanh. Tổng số trứng ban đầu theo dõi là 60 quả cho mỗi công thức thí nghiệm. Đặt khay chứa lồng nuôi cá thể (n=60) NBM vào bên trong tủ sinh thái ở các mức ẩm độ thí nghiệm. Hàng ngày theo dõi quan sát vào cùng một thời điểm để xác định trứng nở, sự chuyển tuổi nhờ xác lột, thời gian phát dục, vòng đời và tỷ lệ sống sót, đồng thời bổ sung thức ăn vào lồng nuôi 2 ngày 1 lần để đảm bảo thức ăn luôn dư thừa. Vệ sinh lồng nuôi thường xuyên, sau khi NBM hóa trưởng thành các cá thể cái và đực được ghép đôi và cho đẻ trứng. Trứng được thu hàng ngày và tất cả trứng của các cá thể cái cùng một tuổi được chuyển vào lồng nuôi với thức ăn tương tự thức ăn của trưởng thành cái để xác định tỷ lệ đực cái của thế hệ thứ 2. NBM được quan sát mỗi ngày một lần để xác định ngày trứng nở, thời gian phát dục của từng pha, vòng đời, thời gian tiền đẻ trứng, số lượng trứng đẻ và tuổi thọ của trưởng thành cái.

2.4. Phương pháp tính sức tăng quần thể

Tỷ lệ tăng tự nhiên (r_m) được tính dựa trên công thức của Birch (1948):

$$\sum l_x m_x e^{-r_m * x} = 1$$

trong đó x là ngày tuổi của nhện cái (ngày), l_x là tỷ lệ sống sót của nhện cái tại ngày tuổi x và m_x là số lượng cá thể cái được nhện cái sinh ra tại ngày tuổi x . Giá trị m_x được tính bằng cách nhân số lượng trứng đẻ trung bình của nhện cái với tỷ lệ cái ở thế hệ sau tại ngày tuổi x của nhện cái. Phương pháp Jackknife của Meyer & cs. (1986) và Hulting & cs. (1990) được sử dụng để tính sai số chuẩn của giá trị r_m . Các chỉ tiêu khác của sức tăng quần thể được tính theo Maia & cs. (2000) như tỷ lệ sinh sản thuần (R_0) chỉ số lượng cá thể cái được sinh ra bởi một nhện cái (con cái/nhện cái)

$$R_0 = \sum l_x m_x$$

hay thời gian 1 thế hệ (T) là khoảng thời gian cần thiết để số lượng quần thể tăng R_0 lần (ngày)

$$T = \frac{\ln R_0}{r_m}$$

Giới hạn phát triển (λ): $\lambda = \text{antilog} e^r$

Thời gian nhân đôi quần thể (DT): $DT = \ln(2)/r_m$

2.5. Xử lý số liệu

Số liệu được xử lý thống kê bằng phần mềm SPSS phiên bản 2.0. Số liệu được kiểm tra phân bố chuẩn theo kiểm định Kolmogorov- Smirnov. Khi số liệu không phải phân bố chuẩn sử dụng kiểm định Kruskal Wallis để xác định sự sai khác giữa các công thức và kiểm định Mann-Whitney để xác định sự khác biệt giữa các cặp công thức. Nếu số liệu là phân bố chuẩn, sử dụng kiểm định One Way ANOVA để xác định sự sai khác giữa các công thức. Trong tất cả các kiểm định nếu giá trị $P \leq 0,05$ thì sai khác được chấp nhận là có ý nghĩa thống kê.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Ấm độ là một trong những yếu tố sinh thái ảnh hưởng lớn đến thời gian phát dục và sức sinh sản của nhiều loài động vật trong đó có nhóm nhện nhỏ bắt mồi. Ấm độ thấp quá hoặc cao quá đều không có lợi cho sự phát triển của sinh vật. Trong nghiên cứu này, khi nuôi ở ẩm độ 95% nhện bắt mồi *A. largoensis* cái có thời gian sống ngắn và phát triển đến trưởng thành có giao phối nhưng nhện cái không đẻ trứng nên số liệu của công thức ẩm độ 95% không được trình bày trong phần kết quả.

Bảng 1. Thời gian phát dục các pha trước trưởng thành NBM *A.largoensis* ở các mức ẩm độ khác nhau khi nuôi bằng nhện đỏ cam chanh *P. citri*

Ấm độ (%)	n	Thời gian phát dục (TB±SE) (ngày)				
		Trứng	Tuổi 1	Tuổi 2	Tuổi 3	Trước TT
Nhện cái						
55	18	1,44a±0,12	1,39a±0,12	1,56b±0,12	1,67ab±0,11	6,06ab±0,26
65	25	1,40a±0,10	1,36a±0,10	1,52b ±0,10	1,60ab±0,10	5,88b±0,18
75	31	1,23a±0,08	1,26a±0,08	1,35c±0,09	1,45b±0,09	5,29c±0,15
85	28	1,29a±0,09	1,29a±0,09	1,39c±0,09	1,54b±0,10	5,50bc±0,21
95	15	1,60a±0,13	1,53a±0,13	1,80a±0,11	2,13a±0,09	7,07a±0,27
χ^2		7,518	3,983	19,409	16,958	27,134
df		4	4	4	4	4

P		0,111	0,408	0,052	0,002	<0,001
Nhện đực						
55	15	1,40a±0,13	1,33a±0,13	1,53a±0,13	1,60b±0,13	5,87b±0,19
65	18	1,33a±0,11	1,29a±0,10	1,44a±0,12	1,56b±0,12	5,67b±0,23
75	21	1,14a±0,08	1,33a±0,08	1,29b±0,10	1,43c±0,11	5,19c±0,19
85	18	1,28a±0,11	1,28a±0,11	1,33b±0,11	1,50b±0,12	5,39b±0,29
95	12	1,58a±0,15	1,50a±0,15	1,75a±0,13	2,00a±0,12	6,83a±0,27
χ^2		6,833	1,648	10,093	9,862	17,595
df		4	4	4	4	4
P		0,145	0,08	0,048	0,043	0,001

Ghi chú: Ghi chú: n: số cá thể theo dõi; TT: trưởng thành; Các chữ khác nhau trong cùng một cột với cùng nhện cái hoặc nhện đực biểu diễn sự sai khác rõ rệt ở mức $P \leq 0,05$; χ^2 - df, và P- là giá trị của phép kiểm định Mann - Whitney cho mẫu phân bố không chuẩn.

Bảng 1 cho thấy ở trong khoảng ẩm độ từ 55% đến 85% thời gian phát dục của các pha trước trưởng thành của nhện bắt mồi *A. largoensis* giảm dần theo chiều tăng của ẩm độ. Ở ẩm độ 95% thì thời gian phát dục của các pha trước trưởng thành của nhện bắt mồi *A. largoensis* có cao hơn nhưng không khác biệt so với các mức ẩm độ khác, thời gian phát dục của trứng trong khoảng ẩm độ 55% - 95% dao động từ 1,14 đến 1,60 ngày, tuy nhiên ở ẩm độ 75%, thời gian này ngắn nhất là 1,23 ngày. Tương tự, ở các giai đoạn nhện non (tuổi 1, 2, 3) thời gian phát dục cũng ngắn nhất ở ẩm độ 75% và 85%. Ở giai đoạn trước trưởng thành thời gian phát dục của nhện bắt mồi cái ở ẩm độ 55% trung bình là 6,06 ngày kéo dài hơn so với các mức ẩm độ, ở 65%, 75% và 85% thời gian phát dục trước trưởng thành tương ứng là 5,88; 5,29 và 5,50 ngày. Ở ẩm độ 95% thời gian phát dục trước trưởng thành là 7,07 ngày cao hơn khác biệt so với các mức ẩm độ khác.

Nhện bắt mồi đực thời gian phát dục pha trứng dài nhất ở ẩm độ 55% với 1,40 ngày, và ngắn nhất ở 75% là 1,14 ngày. Thời gian phát dục của các giai đoạn nhện non cũng giảm đáng kể khi ẩm độ tăng. Ở 55%, thời gian phát triển ở các tuổi 1, 2 và 3 lần lượt là 1,33 ngày, 1,53 ngày và 1,60 ngày. Ở 75% thời gian phát dục các tuổi ngắn hơn khác biệt tương ứng các tuổi 1,2 và 3 là 1,33 ngày, 1,29 ngày và 1,43 ngày. Thời gian trước trưởng thành của nhện bắt mồi đực cũng cho thấy sự khác biệt rõ rệt ở 55% là 5,87 ngày để vũ hóa trưởng thành, trong khi ở 75% và 85% lần lượt là 5,19 và 5,39 ngày. Ở ẩm độ 95% thời gian phát dục trước trưởng thành là 6,83 ngày cao hơn khác biệt so với các mức ẩm độ khác.

Kết quả nghiên cứu cho thấy ẩm độ có ảnh hưởng rõ rệt đến thời gian phát dục của nhện bắt mồi *A. largoensis*. Thời gian phát dục của nhện bắt mồi cái và đực trước trưởng thành ở ẩm độ 75% ngắn nhất, lần lượt là 5,29 và 5,19 ngày, trong khi ở ẩm độ thấp hơn 55%, thời gian này kéo dài đáng kể là 6,06 ngày (đối với nhện cái) và 5,87 ngày đối với nhện đực. Ở ẩm độ cao hơn 95%, thời gian này kéo dài đáng kể là 7,07 ngày (đối với nhện cái) và 6,83 ngày đối với nhện đực. So sánh với nghiên cứu của Carrillo & cs. (2010) cho thấy thời gian phát dục của nhện bắt mồi *A. largoensis* dài hơn đáng kể trung bình là 13,5 ngày khi nuôi bằng *Nipaeococcus nipae* ở 27°C, ẩm độ 70%. Sự khác biệt này có thể do sự khác biệt trong loại vật mồi và điều kiện môi trường, cho thấy rằng ẩm độ tối ưu và loại thức ăn là những yếu tố quyết định quan trọng ảnh hưởng đến tốc độ phát triển của loài NBM.

Bảng 2. Thời gian phát dục của nhện bắt mồi cái *A. largoensis* ở các mức ẩm độ khác nhau nuôi bằng nhện đỏ cam chanh *P. citri*

Ẩm độ (%)	n	Thời gian (TB±SE) (ngày)				
		Trước đẻ trứng	Đẻ trứng	Tuổi thọ TT cái	Vòng đời	Đời
55	18	2,28a±0,11	12,72c ±0,45	16,63d ±0,43	8,33a ±0,29	22,33b±0,46
65	25	1,76b±0,09	14,96b ±0,33	18,16c ±0,37	7,64b ±0,16	23,68a±0,30
75	31	1,58b±0,09	16,61a ±0,27	20,03a ±0,21	6,87c ±0,13	24,13a±0,26
85	28	1,64b±0,09	15,79ab±0,27	19,00b ±0,27	7,14bc ±0,22	23,75a±0,40
F/ χ^2		6,205	37,902	40,197	22,916	10,704
df		3	3	3	3	3
P		<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,013

Ghi chú: n: số cá thể theo dõi; TT: trưởng thành; Các chữ khác nhau trong cùng một cột biểu diễn sự sai khác rõ rệt ở mức $P \leq 0,05$; χ^2 - df, và P- là giá trị của phép kiểm định Mann - Whitney cho mẫu phân bố không chuẩn cho các giá trị Thời gian sống của trưởng thành cái, Thời gian đẻ trứng, Thời gian sống của trưởng thành cái, Vòng đời; F - df, và P- là giá trị của phép kiểm định One - way Anova cho mẫu phân bố chuẩn cho giá trị Đời nhện cái.

Số liệu bảng 2 ghi nhận thời gian trước khi đẻ trứng dài nhất ở ẩm độ 55% là 2,28 ngày và ngắn nhất ở 75% và 85% là 1,58 và 1,64 ngày, cho thấy ẩm độ cao giúp rút ngắn giai đoạn này. Thời gian đẻ trứng dài nhất được ghi nhận ở 75% là 16,61 ngày, trong khi 55%, 65% và 85% thời gian đẻ trứng ngắn nhất lần lượt là 12,72 ngày và 14,96 ngày, 15,79 ngày. Tuổi thọ của trưởng thành nhện bắt mồi cái cũng kéo dài nhất ở 75% là 20,03 ngày và ngắn nhất ở 55% là 16,63 ngày. Vòng đời của nhện bắt mồi cái ngắn nhất ở 75% và 85% tương ứng là 6,87 và 7,14 ngày và vòng đời kéo dài nhất đáng kể ở 55% là 8,33 ngày. Nhìn chung, ẩm độ 75% và 85% là tối ưu cho sự phát triển và sinh sản của nhện cái, với thời gian đẻ trứng và tuổi thọ trưởng thành cao nhất.

So sánh với các nghiên cứu trước đây về thời gian đẻ trứng và tuổi thọ của nhện bắt mồi cái *A. largoensis* cho thấy sự khác biệt rõ rệt. Theo nghiên cứu của (Gómez-Moya & cs., 2018) ghi nhận thời gian đẻ trứng của loài này khi nuôi bằng *A. guerreronis* ở nhiệt độ 27°C và ẩm độ 66% chỉ kéo dài 7,7 ngày, 83% là 23,8 ngày, cao hơn nhiều so với nghiên cứu hiện tại ở 75% là 16,61 ngày và 85% là 15,79 ngày, tuy nhiên Carrillo & cs. (2010) ghi nhận thời gian đẻ trứng của nhện bắt mồi *A. largoensis* là 14,09 ngày khi vật mồi nuôi là loài *R. indica* ở nhiệt độ 26,5°C, ẩm độ 70%, gần giống với kết quả hiện tại. Theo Galvão & cs. (2007) tuổi thọ trung bình là 9,8 ngày khi nuôi bằng *Aceria guerreronis* ở 27°C, ẩm độ 60%.

Bảng 3. Tỷ lệ sống các pha trước trưởng thành của nhện bắt mồi *A.largoensis* ở các mức Ẩm độ khác nhau khi nuôi bằng nhện đỏ cam chanh *P. citri*

Ẩm độ (%)	Pha trứng			Tỷ lệ sống pha nhện non (%)		
	Tổng số trứng theo dõi (quả)	Số lượng trứng nở (quả)	Tỷ lệ nở (%)	Tuổi 1	Tuổi 2	Tuổi 3
55	221	189	85,2	92,38	86,79	71,74
65	378	334	88,4	93,10	90,74	87,75

75	542	516	95,2	96,67	94,83	94,54
85	465	435	93,5	96,36	94,33	92,00
95	0	0	0	89,28	80,77	67,28

Bảng 3 cho thấy tỷ lệ trứng nở cũng bị ảnh hưởng bởi ẩm độ, tỷ lệ trứng nở tăng lên khi ẩm độ tăng từ 55% đến 85%, với tỷ lệ trứng nở cao nhất là 95,2% ở 75% và 93,5% ở 85%. Tuy nhiên, ở ẩm độ 55% và 65%, tỷ lệ trứng nở giảm mạnh xuống chỉ còn 85,2-88,4%, điều này cho thấy ẩm độ quá thấp có thể gây ảnh hưởng xấu đến khả năng nở của trứng.

Tỷ lệ sống các tuổi của nhện non *A. largoensis* (tuổi 1, tuổi 2, và tuổi 3) tại năm mức ẩm độ khác nhau. Ở giai đoạn nhện non tuổi 1, ẩm độ 75% cho tỷ lệ sống cao nhất là 96,67%, trong khi ẩm độ 95% có tỷ lệ sống thấp nhất là 89,28%. Tương tự, tỷ lệ sống của nhện non tuổi 2 cao nhất ở 75% (94,83%) và ở 95% tỷ lệ sống thấp nhất (80,77%). Ở giai đoạn nhện non tuổi 3, ẩm độ 75% tỷ lệ sống cao nhất là 94,54%, trong khi ở 95%, tỷ lệ này giảm đáng kể đạt là 67,28%. Kết quả cho thấy ẩm độ 75% là lý tưởng cho sự phát triển của nhện non ở cả ba giai đoạn, trong khi ẩm độ quá cao (95%) hoặc quá thấp (55%) đều làm giảm đáng kể tỷ lệ sống.

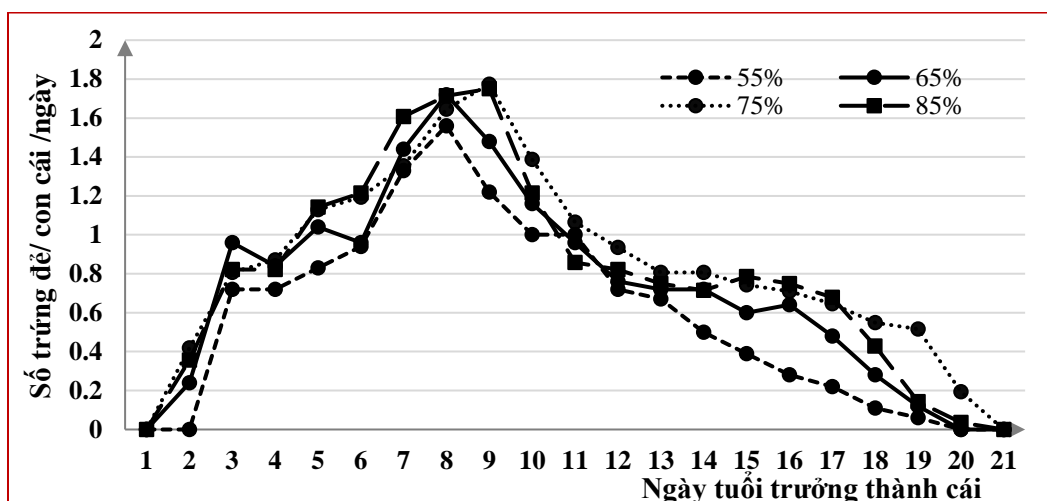
Bảng 4. Sức sinh sản và tỷ lệ cái của nhện bắt mồi *A. largoensis* nuôi bằng nhện đỏ cam chanh *P. citri* ở các mức nhiệt độ khác nhau

Ẩm độ (%)	n	Số trứng TB /con cái/ngày (quả)	Tổng số trứng đẻ/con cái (quả)	Tỷ lệ cái ở thế hệ thứ 2 (%)
55	18	1,17b±0,04	12,28c±0,24	55,79a±1,23
65	25	1,18b±0,02	15,12b±0,20	56,18a±1,20
75	31	1,25a± 0,02	17,48a±0,34	57,57a±0,61
85	28	1,21ab±0,02	16,32a±0,30	57,18a±0,65
χ^2		9,519	59,492	0,293
df		3	3	3
P		<0,023	<0,001	0,830

Ghi chú: n: số cá thể theo dõi; Các chữ khác nhau trong cùng một cột biểu diễn sự sai khác rõ rệt ở mức $P \leq 0,05$; χ^2 - df, và P- là giá trị của phép kiểm định Mann - Whitney cho mẫu phân bố không chuẩn

Bảng 4 cho thấy. Ẩm độ khác nhau cũng ảnh hưởng đến sức sinh sản của nhện bắt mồi *A. largoensis*. Trong khoảng ẩm độ từ 55% - 85% thì tổng số trứng đẻ của nhện bắt mồi *A. largoensis* tăng dần từ 12,28 quả/con cái ở 55% lên đến 17,48 quả/con cái ở 75%. Khi ẩm độ tăng lên 85% thì số lượng trứng đẻ giảm xuống đạt là 16,32 quả/con cái. Ở ẩm độ 75%, nhện cái đẻ nhiều trứng nhất với số trứng đẻ /con cái/ngày là 1,25 quả, trong khi ẩm độ 55% và 65% có số lượng trứng đẻ thấp nhất, đạt là 1,17 và 1,18 trứng/ngày và tổng số trứng đẻ lần lượt là 12,28 và 15,12 trứng. Tỷ lệ cái ở thế hệ thứ hai dao động từ 55,79% ở 55% đến 57,57% ở 75%. Như vậy ở ẩm độ 75-85% nhện bắt mồi *A. largoensis* đẻ số lượng trứng cao nhất.

Về tỷ lệ cái ở thế hệ thứ hai, các nghiên cứu trước đây cho thấy dao động từ 63% đến 73% (Carrillo & cs., 2010; Galvão & cs., 2007; Rodríguez & cs., 2004), theo (Gómez-Moya & cs., 2018) tỷ lệ cái ở thế hệ thứ hai dao động từ 57% – 62% trong khi thí nghiệm này ghi nhận tỷ lệ tương đối ổn định, từ 55,79% đến 57,57% ở các ẩm độ khác nhau, cho thấy một mức độ tương đồng với các nghiên cứu trước đây dù tỷ lệ có phần thấp hơn.



Hình 1. Nhịp điệu đẻ trứng của nhện bắt mồi *A. largoensis* nuôi bằng nhện đỏ cam chanh *P. citri* ở các mức nhiệt độ khác nhau

Hình 1 nhịp điệu đẻ trứng của trưởng thành NBM *A. largoensis* ở các mức ẩm độ 55%, 65%, 75%, 85% cho thấy trưởng thành cái nhện bắt mồi bắt đầu đẻ trứng sau 2 ngày tuổi và tăng dần từ ngày tuổi thứ 3 và đạt đỉnh vào khoảng ngày tuổi thứ 8- 9 sau đó giảm dần theo chiều tăng của tuổi. Ở ẩm độ 75% số trứng đẻ/ngày cao nhất ở ngày thứ 9, giá trị này là cao nhất so với các ẩm độ khác.

Bảng 5. Các chỉ số sức tăng quần thể của nhện bắt mồi *A. largoensis* nuôi bằng nhện đỏ cam chanh *P. citri* ở các mức ẩm độ khác nhau

Ẩm độ (%)	n	T	DT	Ro	λ	r_m
55	18	13,76a±0,18	4,95a±0,65	6,85d±0,13	1,150c±0,002	0,140d±0,002
65	25	13,44b±0,12	4,38b±0,05	8,41c±0,11	1,172b±0,002	0,158c±0,002
75	31	12,97b±0,12	3,90c±0,05	10,06a±0,20	1,195a±0,002	0,178a±0,002
85	28	13,09b±0,12	4,04c±0,05	9,44a±0,16	1,187a±0,003	0,171b±0,002
F		6,016	78,959	68,610	65,416	66,501
df		3	03	3	3	3
P		<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001

Ghi chú: n: Số cá thể theo dõi; Ro: tỷ lệ sinh sản thuần; T: Thời gian của thế hệ; r_m : Tỷ lệ tăng tự nhiên; λ : Giới hạn phát triển; DT: Thời gian nhân đôi quần thể; Trong cùng một cột, các giá trị với những chữ cái khác nhau chỉ sự sai khác có ý nghĩa thống kê với $P \leq 0,05$. F - df, và P- là giá trị của phép kiểm định One - way Anova cho mẫu phân bố chuẩn cho giá trị T, DT, λ , Ro và r_m .

Qua Bảng 5 cho thấy thời gian của một thế hệ (T) giảm dần khi ẩm độ tăng, từ 13,76 ngày ở 55% xuống 13,09 ngày ở 85%. Thời gian nhân đôi quần thể (DT) giảm khi ẩm độ tăng, từ 4,95 ngày ở 55% xuống còn 4,04 ngày ở 85%, cho thấy quần thể phát triển nhanh hơn ở ẩm độ cao. Tỷ lệ sinh sản thuần

(Ro) biểu thị số lượng con cái sinh ra từ một nhện cái trong suốt vòng đời. Ở ẩm độ 75%, chỉ số Ro đạt cao nhất với 10,06 cho thấy đây là ẩm độ tối ưu cho việc sinh sản. Ngược lại, ở 85%, Ro giảm xuống chỉ còn 9,44. Tỷ lệ tăng tự nhiên (r_m) và giới hạn phát triển (λ), Các chỉ số này tăng lên khi ẩm độ tăng từ 55% đến 75%, nhưng giảm nhẹ ở 85%, cho thấy tốc độ tăng trưởng của quần thể bị hạn chế ở ẩm độ quá cao. Tỷ lệ tăng tự nhiên cao nhất ở 75% (0,178), tiếp theo ở ẩm độ 85% và 65% (lần lượt là 0,171 và 0,158) và thấp nhất ở 55% (0,140). Kết quả của bảng này cho thấy ẩm độ từ 75-85% là điều kiện lý tưởng cho sự phát triển và sinh sản của nhện bắt mồi *A. largoensis* bao gồm sự phát.

Về thời gian của một thế hệ (T), các nghiên cứu trước đây cho thấy đều giảm dần khi ẩm độ tăng từ 20,0 ngày xuống còn 11,0 ngày, tỷ lệ sinh sản thuần (Ro) cũng tăng dần khi ẩm độ tăng ở 66% chỉ số Ro đạt 0,8 tăng lên ở 91% chỉ số đạt Ro đạt 26,0, ở 98% đạt 20,2 (Gómez-Moya & cs., 2018) trong khi thí nghiệm này ghi nhận thời gian của một thế hệ, tỷ lệ sinh sản thuần, tỷ lệ tăng tự nhiên có một mức độ tương đồng với các nghiên cứu trước đây dù tỷ lệ có phần thấp hơn.

4. KẾT LUẬN

Nhện bắt mồi *A. largoensis* phát triển và sinh sản trong khoảng ẩm độ từ 55-95%, thời gian phát dục các pha của nhện bắt mồi tương quan nghịch với chiều tăng ẩm độ và vòng đời kéo dài từ 6,87- 8,33 ngày. Tỷ lệ sống các pha trước trưởng thành ở 95% là thấp hơn đáng kể. Ở ẩm độ 95% nhện bắt mồi *A. largoensis* cái có thời gian sống ngắn và phát triển đến trưởng thành có giao phối nhưng nhện cái không đẻ trứng nên nhện không thể hoàn thành vòng đời.

Trong khoảng ẩm độ từ 55-85% tuổi thọ của nhện bắt mồi *A. largoensis* tăng dần và kéo dài nhất ở 75% là 20,03 ngày, khi ẩm độ tăng lên 85% thì tuổi thọ giảm xuống không đáng kể còn 19,00 ngày. Tương tự, tổng số trứng đẻ của nhện bắt mồi *A. largoensis* tăng dần đạt cao nhất ở 75% (17,48 quả/ngày) tuy nhiên khi ẩm độ tăng lên 85% thì số lượng trứng đẻ giảm xuống không đáng kể còn 16,32 quả/ngày. Trưởng thành đẻ trứng đạt đỉnh cao vào ngày tuổi thứ 8- 9.

Khi ẩm độ tăng, thời gian của 1 thế hệ và thời gian nhân đôi quần thể giảm, tỷ lệ sinh sản thuần Ro đạt cao nhất ở 75% (10,06), sau đó giảm mạnh xuống còn 9,44 ở 85%. Tỷ lệ tăng tự nhiên cao nhất ở 75% (0,178), tiếp theo ở ẩm độ 85% và 65% (lần lượt là 0,174 và 0,158) và thấp nhất ở 55% (0,140).

Nghiên cứu này khẳng định rằng ẩm độ tối ưu cho sự phát triển, sinh sản và tăng trưởng quần thể của *A. largoensis* là 75-85%..

Lời cảm ơn

Chúng tôi xin chân thành cảm ơn Bộ môn Côn trùng, khoa Nông học, Học viện Nông nghiệp Việt Nam, Trung tâm Bảo vệ thực vật phía Bắc đã giúp đỡ và tạo điều kiện cho nghiên cứu này. Chúng tôi cũng xin cảm ơn đến đề tài tiềm năng cấp Bộ NN&PTNT đã cung cấp một phần kinh phí để chúng tôi thực hiện nghiên cứu này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Birch L.C. 1948. The intrinsic rate of natural increase of an insect population. Journal of Animal Ecology 17: 15-26.
2. Carrillo, D., J. E. Peña, M. A. Hoy and J. H. Frank (2010). Development and reproduction of *Amblyseius largoensis* (Acari: Phytoseiidae) feeding on pollen, *Raoiella indica* (Acari:

- Tenuipalpidae), and other microarthropods inhabiting coconuts in Florida, USA. *Experimental and Applied Acarology*. 52 (2). pp. 119-129.
3. Galvão, A. S., M. G. Gondim, G. J. D. Moraes and J. V. D. Oliveira (2007). Biology of *Amblyseius largoensis* (Muma) (Acari: Phytoseiidae), a potential predator of *Aceria guerreronis* Keifer (Acari: Eriophyidae) on coconut trees. *Neotropical entomology*. 36 (3). pp. 465-470.
 4. Gómez-Moya C. A., Gondim Jr M. G., de Moraes G. J. & de Morais E. G. (2018). Effect of relative humidity on the biology of the predatory mite *Amblyseius largoensis* (Acari: Phytoseiidae). *International Journal of Acarology*. 44(8): 400-411.
 5. Kreiter, S., M. S. Tixier and J. Etienne (2006). New records of phytoseiid mites (Acari: Mesostigmata) from the French Antilles, with description of *Neoseiulus cecileae* sp. nov. *Zootaxa*. 1294. pp. 1-27.
 6. Melo J. W., Lima D. B., Staudacher H., Silva F. R., Gondim M. G. C., & Sabelis, M. W. (2015). Evidence of *Amblyseius largoensis* and *Euseius alatus* as biological control agent of *Aceria guerreronis*. *Experimental and Applied Acarology*, 67(3), 411-421.
 7. Nguyen, D. T., Vangansbeke, D., Lü, X., & De Clercq, P. (2013). Development and reproduction of the predatory mite *Amblyseius swirskii* on artificial diets. *BioControl*, 58, 369-377
 8. Nguyễn Văn Đĩnh (2004). Giáo trình nhện nhỏ hại cây trồng. Nhà xuất bản Nông nghiệp Hà Nội.
 9. Nguyễn Văn Đĩnh (2005). Động vật hại nông nghiệp. Trường Đại học Nông nghiệp Hà Nội, Bộ Giáo dục và Đào tạo. 203 trang.
 10. Rodríguez, H. and M. Ramos (2004). Biology and feeding behavior of *Amblyseius largoensis* (Muma) (Acari: Phytoseiidae) on *Polyphagotarsonemus latus* (Banks) (Acari: Tarsonemidae). No. 2132.
 11. Rodríguez H., Montoya A., Miranda I., Rodríguez Y., Depestre T. L., Ramos M., & Badii-Zabeh M. H. (2015). Control biológico de *Polyphagotarsonemus latus* (Banks) con el ácaro depredador *Amblyseius largoensis* (Muma), en la producción protegida de pimienta en Cuba. *Revista de Protección Vegetal*, 30(1), 70-76.

NGHIÊN CỨU NHÂN NHANH *IN VITRO* CÂY SÂM CAU

Vũ Ngọc Lan, Nguyễn Thị Phương Dung, Đặng Phương Hào

SUMMARY

The study aimed to develop a rapid *in vitro* propagation process for *Curculigo orchioides* Gaertn. Four experiments were conducted: (1) Effect of BAP and IBA on the ability to form shoot clusters; (2) Effect of IBA and Kinetin on the ability to rapidly multiply shoots; (3) Effect of IBA on the ability to form roots; (4) Effect of substrate humidity on the survival rate *in vitro* during the nursery stage. The results determined that the optimal environment used to create shoot clusters was: Knop + trace elements, vitamin MS + 2 mg/l BAP + 0.1 mg/l IBA + 7g/l agar + 30g/l sucrose for a shoot rate of 78.33%. The rapid multiplication medium was Knop + micronutrients, vitamin MS + 1mg/L IBA + 1mg/L Kinetin + 30g/l sucrose + 8g/l agar for the highest shoot multiplication coefficient of 3.96 shoots/sample. The most suitable rooting medium was Knop + micronutrients, vitamin MS + 0.7 g/l activated carbon + 0.3 mg/l IBA + 30g/l sucrose + 6.5 g/l agar, the number of roots reached 6.7 roots/plant, the shoot length reached 9.3 cm and the rooting rate reached 100%. The mixture of alluvial soil + burnt rice husk + manure (1:1:1) is the most suitable substrate for the growth of *in vitro* plants in the nursery with a survival rate of 100%.

Key words: *Curculigo orchioides*; *In vitro*; *Phytohormone*

TÓM TẮT

Nghiên cứu nhằm mục đích xây dựng quy trình nhân nhanh *in vitro* cây Sâm cau (*Curculigo orchioides* Gaertn). Bốn thí nghiệm đã được tiến hành (1) Ảnh hưởng của BAP và IBA đến khả năng tạo cụm chồi; (2) Ảnh hưởng của IBA và Kinetin đến khả năng nhân nhanh chồi; (3) Ảnh hưởng của IBA đến khả năng tạo rễ; (4) Ảnh hưởng của độ ẩm giá thể đến tỷ lệ sống của cây Sâm cau *in vitro* trong giai đoạn vườn ươm. Kết quả xác định được môi trường tối ưu sử dụng để tạo cụm chồi là: Knop + vi lượng, vitamin MS + 2 mg/l BAP + 0,1 mg/l IBA + 7g/l agar + 30g/l saccarozơ cho tỉ lệ chồi 78,33%. Môi trường nhân nhanh là Knop + vi lượng, vitamin MS + 1mg/L IBA + 1mg/L Kinetin + 30g/l saccarozơ + 8g/l agar cho hệ số nhân chồi cao nhất là 3,96 chồi/mẫu. Môi trường ra rễ phù hợp nhất là môi trường Knop + vi lượng, vitamin MS + 0,7 g/l than hoạt tính + 0,3 mg/l IBA + 30g/l saccarozơ + 6,5 g/l agar, số rễ đạt 6,7 rễ/cây, chiều dài rễ đạt 9,3 cm và tỷ lệ ra rễ đạt 100%. Hỗn hợp đất phù sa + trấu hun + phân chuồng (1:1:1) là giá thể phù hợp nhất cho sự sinh trưởng của cây *in vitro* trong vườn ươm với tỷ lệ sống đạt 100%.

Từ khóa: *Sâm cau*; *In vitro*; *Học môn sinh trưởng*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cây sâm cau (*Curculigo orchioides* Gaertn) là một loài thực vật có giá trị cao trong y học cổ truyền, được sử dụng rộng rãi để điều trị các bệnh liên quan đến sinh lý, cải thiện sức khỏe và tăng cường sinh lực. Do nhu cầu sử dụng lớn và việc khai thác quá ồ ạt ngoài tự nhiên, sâm cau đã trở thành một loài cây dược liệu quý hiếm, có nguy cơ suy giảm nghiêm trọng trong tự nhiên. Việc bảo tồn và phát triển sâm cau qua phương pháp nhân giống tiên tiến là rất cần thiết để đáp ứng nhu cầu của xã hội, bảo tồn nguồn gen quý, và duy trì sự bền vững của loài.

Phương pháp nuôi cấy mô *in vitro* là một giải pháp hiệu quả để nhân nhanh cây sâm cau. Công nghệ nhân giống này cho phép tạo ra số lượng lớn cây giống trong khoảng thời gian ngắn, đồng thời sạch bệnh và có chất lượng đồng nhất. Tuy nhiên, để tối ưu hóa quy trình nhân giống *in vitro*, cần có các nghiên cứu về điều kiện nuôi cấy, các yếu tố dinh dưỡng, và phytohormon thích hợp.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Vật liệu dùng trong nhân giống là mắt ngủ và củ của cây Sâm cau. Môi trường nuôi cấy MS, Knop, Sucrose, agar, các phytohormon Benzyladenine (BA), Kinetin (K), Naphthalene acetic acid (NAA), Indo-3-acetic acid (IBA).

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Phương pháp tạo cụm chồi: Mắt ngủ trên thân, củ Sâm cau được cấy vào các nền môi trường MS, Knop, có bổ sung Sucrose, agar, nước dừa và các phytohormon BA, K, NAA, IBA... với các nồng độ khác nhau để tái tạo vật liệu khởi đầu; Sau 3-5 tuần chuyển callus, protocorm sang môi trường tạo chồi.

Phương pháp tái sinh và nhân nhanh chồi: Chồi Sâm cau được tách ra từ cụm chồi và nuôi cấy trên môi trường nhân nhanh chồi. Tiến hành nghiên cứu ảnh hưởng của các chất điều tiết sinh trưởng (BAP, K, IBA...) đến hệ số nhân chồi Sâm cau. Môi trường nền được sử dụng là Knop bổ sung đường, agar, nước dừa và các phytohormon BA, K, NAA, IBA... với các nồng độ khác nhau.

Phương pháp tạo rễ invitro: Chồi *in vitro* (khoảng 2-3 cm) được tách ra từ cụm chồi trên môi trường nhân nhanh và được cấy vào môi trường ra rễ. Tiến hành bổ sung các chất điều tiết sinh trưởng (NAA, IBA) và than hoạt tính trên môi trường nuôi cấy phù hợp, pH=5,8.

Điều kiện nuôi cấy *in vitro* trong giai đoạn tái sinh, nhân nhanh và tạo cây hoàn chỉnh là: 14 giờ chiếu sáng, cường độ ánh sáng 2.000 - 2.500 lux, nhiệt độ $25 \pm 1^\circ\text{C}$. Thí nghiệm được bố trí 30 mẫu/một công thức, lặp lại mỗi công thức 3 lần.

Phương pháp đưa cây invitro ra ngoài vườn ươm: Bình cây hoàn chỉnh được đưa ra ngoài phòng huấn luyện 1-2 ngày để ra ngoài vườn ươm. Cây trong bình đưa ra rửa sạch agar ở rễ và được trồng trên 2 loại giá thể: đất phù sa + trấu hun + phân chuồng (1:1:1) và đất đồi + trấu hun + phân chuồng (1:1:1) với khoảng cách 2 x 2 cm. Mỗi thí nghiệm được bố trí theo kiểu khối ngẫu nhiên hoàn chỉnh với 3 lần nhắc lại.

Các chỉ tiêu theo dõi sẽ bao gồm tỷ mẫu nhiễm (%), tỷ lệ mẫu sạch (%), tỷ lệ mẫu chết (%), tỷ lệ mẫu sống (%), chất lượng chồi, hệ số nhân chồi (lần/tháng), tỷ lệ chồi ra rễ (%) và trung bình rễ/cây (rễ).

Các số liệu được xử lý theo phương pháp thống kê sinh học trên phần mềm Microsoft Excel, chương trình IRRISTAT 5.0

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Ảnh hưởng của BAP và IBA đến khả năng tạo cụm chồi của Sâm cau

Đinh sinh trưởng Sâm cau sau khi nuôi cấy trên: nền môi trường Knop + vi lượng MS+ vitamin có bổ sung 30g Saccarosa; được cấy lên môi trường MS có bổ sung các nồng độ BAP (1 mg/l; 1,5 mg/l; 2mg/l) và IBA (0 mg/l; 0,1 mg/l; 0,2 mg/l). Kết quả nghiên cứu sau 8 tuần nuôi cấy cho thấy: Bổ sung riêng rẽ BAP ở các nồng độ từ 1; 1,5 và 2 mg/l tỷ lệ tạo cụm chồi dao động từ 50-70%, khi kết hợp BAP với IBA khả năng tạo cụm chồi và số chồi/cụm cao hơn khi sử dụng BAP riêng rẽ. Môi trường có bổ sung 2 mg/l BAP + 0,1 mg/l IBA cho tỷ lệ tạo cụm chồi cao nhất: 78,33% và số chồi/cụm cũng nhiều nhất: trung bình 6,19 chồi/cụm.

3.2. Ảnh hưởng của IBA và Kinetin đến khả năng nhân nhanh chồi của Sâm cau

Chồi Sâm cau được tách ra từ cụm chồi và nuôi cấy trên môi trường nhân nhanh chồi, nền môi trường Knop + vi lượng, vitamin MS + 30g/l saccarose + 6,5g/l agar, bổ sung Kinetin có kết hợp Kinetin + IBA với các nồng độ khác nhau. Kết quả cho thấy nếu chỉ bổ sung Kinetin các nồng độ 0,5 - 4,0 mg/l khả năng kích thích phát sinh cụm chồi đều rất thấp. Số chồi chỉ đạt cao nhất là 1,75 chồi/mẫu ở nồng độ 1.0 mg/l. Tuy nhiên, kết hợp bổ sung tổ hợp Kinetin + IBA với tỉ lệ 1:1 ở các nồng độ 0,5 - 4,0 mg/l khả năng phát sinh cụm chồi tăng lên, số chồi tăng từ 0,5 - 1,0 mg/l sau đó giảm dần và đạt cao nhất ở 1,0 mg/l mỗi loại với 15,75 chồi/mẫu sau 8 tuần nuôi cấy.

3.3. Ảnh hưởng của IBA đến khả năng tạo rễ của Sâm cau

Chồi *in vitro* có kích thước 2-3 cm được tách ra từ cụm chồi trên môi trường nhân nhanh sau đó được cấy vào môi trường ra rễ Knop + vi lượng, vitamin MS + 30g/l saccarose + 6,5 g/l agar, bổ sung IBA với các nồng độ khác nhau (0,25 – 1,0 mg/ lít). Kết quả cho thấy trên môi trường không chứa IBA, cây sâm cau vẫn có khả năng tạo rễ *in vitro* nhưng với tỷ lệ thấp, chỉ khoảng 40%, rễ ngắn, mảnh, yếu, dễ đứt. Khi bổ sung IBA vào môi trường, tỷ lệ tạo rễ *in vitro* của cây sâm cau tăng lên 75% (ở nồng độ 0,25 mg/lít môi trường) và 100% (ở các nồng độ 0,5 và 1 mg/lít môi trường). IBA làm tăng tỷ lệ tạo thành rễ *in vitro* cây sâm cau. Ở nồng độ 0,25 mg/lít, tỷ lệ tạo rễ đạt 80%, cao gấp đôi so với môi trường không bổ sung IBA. Ở các nồng độ IBA từ 0,5 đến 1,0 mg/lít, tỷ lệ tạo thành rễ đều đạt 100%. Tuy nhiên, nồng độ IBA 0,75 mg/lít là thích hợp nhất, hệ số nhân chồi đạt 6,7 rễ/cây và chiều dài rễ đạt 9,3 cm. Rễ *in vitro* tạo trong môi trường có bổ sung IBA tuy rễ có mảnh nhưng dai, khó đứt, tạo điều kiện thuận lợi cho quá trình gặp các điều kiện bất thuận khi ra cây.

Trong nghiên cứu này, than hoạt tính cũng được bổ sung ở các nồng độ (0,3; 0,5; 0,7; 01g/lít) vào môi trường Knop + vi lượng, vitamin MS + 30g/l Saccarose + 6,5 g/l agar + 0,75 mg/l IBA nhằm tạo ra cây có rễ tốt nhất. Tỷ lệ tạo rễ *in vitro* của cây sâm cau tăng lên theo nồng độ than hoạt tính bổ sung vào môi trường nuôi cấy. Khi tăng nồng độ than hoạt tính lên 0,3 đến 0,7 g/lít, số rễ tăng lên từ 4,1 đến 7,2 rễ/cây; chiều dài trung bình tăng từ 5,0-10,9 cm/rễ. Nồng độ than hoạt tính phù hợp nhất để tạo rễ *in vitro* là 0,7 g/lít môi trường nuôi cấy.

3.4. Ảnh hưởng của độ ẩm giá thể đến tỷ lệ sống của cây Sâm cau invitro trong giai đoạn vườn ươm

Hai loại giá thể là đất phù sa + trấu hun + phân chuồng (1:1:1) và đất đồi + trấu hun + phân chuồng (1:1:1). Sau 60 ngày tiến hành đánh giá và so sánh nhận thấy sự sinh trưởng của cây sâm cau ở giá thể đất phù sa + trấu hun + phân chuồng (1:1:1), độ ẩm 80-90% cho cây phát triển tốt hơn, tỷ lệ sống đạt 100%, chiều cao cây 12,0 cm, số rễ xuất hiện 11,7 rễ sau 60 ngày nuôi trồng

4. KẾT LUẬN

Môi trường Knop có bổ sung vi lượng, vitamin MS + 2 mg/l BAP + 0,1 mg/l IBA + 7 g/l agar + 30g/l saccaroza cho tỷ lệ tạo cụm chồi cao nhất và số chồi/cụm là nhiều nhất, tỷ lệ tạo cụm chồi là 78,33%, hệ số tạo chồi là 6,19 chồi/cụm.

Môi trường Knop bổ sung vi lượng, vitamin MS bổ sung 30g/l Sacarose, 8.0g/lagar, 1.0g/l than hoạt tính, 1.0 mg/l tổ hợp IBA + Kinetin là tối ưu cho nhân nhanh chồi in vitro cây Sâm cau.

Môi trường ra rễ phù hợp nhất là môi trường Knop + vi lượng, vitamin MS+ 0,7 g/l than hoạt tính + 0,3 mg/l IBA + 30g/l Saccaroza + 6,5 g/l agar, số rễ đạt 6,7 rễ/cây, chiều dài rễ đạt 9,3 cm và tỷ lệ ra rễ đạt 100%.

Hỗn hợp đất phù sa + trấu hun + phân chuồng (tỷ lệ 1:1:1) với độ ẩm 80-90% là giá thể phù hợp nhất cho sinh trưởng của cây con trong vườn ươm đạt tỷ lệ sống đạt 100%; chiều cao cây 12,0 cm; số rễ xuất hiện 11,7 rễ sau 60 ngày nuôi trồng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Lê Văn Bé, Nguyễn Thị Hồng (2010). Nuôi cấy mô tế bào thực vật: lý thuyết và ứng dụng. Nhà Xuất Bản Giáo Dục.
2. Nguyễn Thị Thu Hương, Lê Quang Vinh (2020). Nghiên cứu nhân giống in vitro cây sâm cau bằng kỹ thuật nuôi cấy mô. Tạp chí Nghiên cứu và Phát triển Nông nghiệp, Số 5, tr. 101-110.
3. Nguyễn Văn Đoàn (2016). Ứng dụng nuôi cấy mô thực vật trong nhân giống các loài cây dược liệu quý hiếm. Tạp chí Sinh học, Số 30, tr. 60-75.
4. Phạm Văn Khôi, Trần Thị Hạnh (2018). Tối ưu hóa môi trường nuôi cấy và chất điều hòa sinh trưởng trong nhân giống cây sâm cau. Tạp chí Công nghệ Sinh học, Số 7, tr. 45-56.
5. Phạm Văn Lợi (2019). Nghiên cứu kỹ thuật nuôi cấy mô cây sâm cau nhằm bảo tồn và phát triển loài. Luận án Tiến sĩ, Đại học Nông nghiệp Hà Nội.
6. Phan Thị Minh Hòa (2021). Nhân giống in vitro cây sâm cau trong điều kiện phòng thí nghiệm. Luận văn Thạc sĩ, Đại học Khoa học Tự nhiên.
7. Trần Thị Mai Hoa (2021). Ảnh hưởng của các chất điều hòa sinh trưởng lên sự phát triển mô cây sâm cau trong điều kiện nuôi cấy in vitro. Tạp chí Khoa học Nông nghiệp.
8. Annette Drostel, Giancarlo Pasquali and Maria Helena Bodanese- zanettini (2000), "Integrated Bombardment and Agrobacterium Transformation System: an Alternative Method for Soybean Transformation", Plant Molecular Biology Reporter, 2000 (18), p 51 – 59.
9. Ahmed S., A. Sharma, B. Bhushan, A.K. Singh and V.K. Wali (2013). Effect of carbohydrate source, pH and supporting media on in vitro rooting of banana (musa spp.) cv. Grand naine plantlets. African Journal of Agricultural research 9(14): 1135-1140.

Shende, Undal and Chaudhari (2012)The *Curculigo orchioides* Gaertn. is a endangered, medicinally important perennial herb of the family Hypoxidaceae. Journal of Agricultural Technology 2012 Vol. 8(1): 353-362.

KẾT QUẢ CHỌN TẠO DÒNG CMS MỚI PHỤC VỤ PHÁT TRIỂN LÚA LAI BA DÒNG Ở VIỆT NAM

Vũ Văn Quang^{1(*)}, Nguyễn Văn Mười¹, Phạm Thị Ngọc Yến¹, Vũ Thị Bích Ngọc¹,
Lê Văn Thành¹, Vũ Hồng Tiến¹, Nguyễn Thị Trâm¹

¹ Viện Nghiên cứu và phát triển cây trồng - Học Viện Nông Nghiệp Việt Nam

(*) E-Mail: minhquangnnhn@gmail.com

SUMMARY

The study was conducted from the 2020 Summer crop, cross-breeding and improving B lines from three pairs of original CMS lines (IR58025A/B, L20A/B and 14A/B) to select and create new B lines through reciprocal cross-breeding between B lines (IR58025B/14B, 14B/IR58025B; L20B/14B and 14B/L20B). In the F2 generation, 200 individuals were selected to cross-breed with the original A lines, each pair of 25 phenotypes to preliminarily assess the ability to maintain sterility in F3. 18 individuals of the line (F3) were identified that were capable of maintaining sterility for the original A lines. Continue to select pure individuals of this line to the F7 generation, cross-breed with the 3 original A lines and evaluate the growth characteristics, agronomic characteristics, pollen, aroma and ability to receive external pollen of the new cross-breed. Select 3 new B lines (F7) with good maintenance ability to create new CMS lines including line B1-1 (IR58025B/14B), line B2-1 (14B/IR58025B) and line B4-2 (14B/L20B). The IR58025A/B1-1 line pair has many better characteristics than the original IR58025A/B and 14A/B lines: good pollen sterility (100%), long-slender seeds, light fragrance, sowing-flowering time from 75 to 76 days, average height (83.5cm), strong tillering (7.8 flowers), large number of seeds/flower (160.2 seeds), high stigma extension rate (82.1%), and good seed set rate when crossing the pair (40.2%). The IR58025A/B2-1 line pair has many better characteristics than the original IR58025A/B line: good pollen sterility (100%), long-slender seeds, light fragrance, sowing-flowering time from 74 to 76 days, average height (81.0cm), strong tillering (7.8 flowers), large number of seeds/flower (165.2 seeds), high stigma extension rate (80.6%), and good seed set rate when crossing the pair (48.2%). The 14A/B4-2 line pair has many better characteristics than the original 14A/B line pair: better pollen sterility (99.3%), long - slender grains, light fragrance, short sowing-flowering time (from 64 to 65 days), short plant (73.5cm), strong tillering (8.2 flowers), average number of grains/flower (144.1 seeds), very high stigma extension rate (84.6%), and high seed set rate when crossing pairs (50.6%). These three new A/B line pairs contribute to supplementing the new CMS line for cross-breeding (with the Restored line - R line), selecting new promising combinations to contribute to the development of new three-line hybrid rice varieties in Vietnam.

Keywords: *Cytoplasmic male sterility line (CMS), fragrance, improved hybridization, maintenance line (B line), pure selection.*

TÓM TẮT

Nghiên cứu được tiến hành từ vụ Mùa 2020, lai cải tạo các dòng B từ 3 cặp dòng CMS ban đầu (IR58025A/B, L20A/B và 14A/B) để chọn tạo dòng B mới thông qua phép lai thuận nghịch giữa các dòng B (IR58025B/14B, 14B/IR58025B; L20B/14B và 14B/L20B). Ở thế hệ F2 chọn được 200 cá thể để lai lại với các dòng A ban đầu, mỗi dạng kiểu hình cặp 25 cặp để đánh giá sơ bộ khả năng duy trì bất dục ở F3. Xác định được 18 cá thể dòng (F3) có khả năng duy trì bất dục cho các dòng A ban đầu. Tiếp tục chọn thuần các cá thể dòng này đến thế hệ F7, tiến hành lai cặp lại với 3 dòng A ban đầu và đánh giá đặc điểm sinh trưởng, đặc điểm nông học, hạt phấn, mùi thơm và khả năng nhận phấn ngoài của cặp lai mới. Tuyển chọn được 3 dòng B mới (F7) có khả năng duy trì tốt để tạo dòng CMS mới gồm dòng B1-1 (IR58025B/14B), dòng B2-1 (14B/IR58025B) và dòng B4-2 (14B/L20B). Cặp dòng IR58025A/B1-1 có nhiều đặc điểm tốt hơn dòng IR58025A/B và dòng 14A/B nguyên bản: bất dục phấn tốt (100%), hạt thon dài, thơm nhẹ, thời gian gieo-trỗ 75-76 ngày, cây cao trung bình (83,5cm), đẻ nhánh khỏe (7,8 bông), số hạt/bông lớn (160,2 hạt), tỷ lệ thò vòi nhụy cao (82,1%) và tỷ lệ đậu hạt khi lai cặp khá (40,2%). Cặp dòng IR58025A/B2-1 có nhiều đặc điểm tốt hơn dòng IR58025A/B nguyên bản: bất dục phấn tốt (100%), hạt thon dài, thơm nhẹ, thời gian gieo-trỗ 74-76 ngày, cây cao trung bình (81,0cm), đẻ nhánh khỏe (7,8 bông), số hạt/bông lớn (165,2 hạt), tỷ lệ thò vòi nhụy cao (80,6%) và tỷ lệ đậu hạt khi lai cặp khá (48,2%). Cặp dòng 14A/B4-2 có nhiều đặc điểm tốt hơn dòng 14A/B nguyên bản: bất dục phấn tốt hơn (99,3%), hạt thon dài, thơm nhẹ, thời gian gieo-trỗ ngắn (64-65 ngày), thấp cây (73,5cm), đẻ nhánh khỏe (8,2 bông), số hạt/bông trung bình (144,1 hạt), tỷ lệ thò vòi nhụy rất cao (84,6%) và tỷ lệ đậu hạt khi lai cặp cao (50,6%). Ba cặp dòng A/B mới này góp phần bổ sung dòng CMS mới để lai thử (với dòng phục hồi - dòng R), chọn THL triển vọng mới góp phần phát triển giống lúa lai ba dòng mới ở Việt Nam.

Từ khoá: Chọn thuần, dòng duy trì (B), dòng bất dục tế bào chất (CMS), lai cải tạo, thơm.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Trên toàn thế giới có 160 triệu ha trồng lúa, trong đó Châu Á chiếm 90%. Sản lượng trung bình 2,0-7,0 tấn/ha, một số giống lúa cho năng suất lên tới 10 tấn/ha. Hơn 3,5 tỷ người, chiếm 1 nửa dân số thế giới sử dụng gạo là lương thực chính. Năng lượng do lúa gạo cung cấp chiếm khoảng 20% năng lượng của tổng khẩu phần ăn toàn cầu. Tại Châu Á, tiêu thụ lúa gạo chiếm tới 70% lượng calo trong khẩu phần ăn hàng ngày. Trồng lúa là sinh kế của khoảng 144 triệu nông dân toàn cầu (FAO, 2023). Lúa gạo là ngành sản xuất truyền thống và quan trọng của Việt Nam, tạo ra sinh kế cho hàng chục triệu nông dân trên cả nước. Những năm qua, Việt Nam đã đạt được nhiều thành tựu to lớn trong sản xuất lúa gạo, góp phần quan trọng bảo đảm an ninh lương thực quốc gia và hiện vẫn giữ vững vị trí là một trong những nước xuất khẩu gạo hàng đầu thế giới với kim ngạch xuất khẩu không ngừng tăng cao (Cục trồng trọt, 2023).

Để đảm bảo an ninh lương thực khi diện tích trồng lúa ngày càng giảm để nhường chỗ cho các ngành dịch vụ khác và biến đổi khí hậu ngày càng khốc liệt thì việc sử dụng giống lúa thuần có năng suất cao, lúa lai có năng suất cao, chống chịu tốt và ổn định trong đó có lúa lai ba dòng là cần thiết. Việc chọn tạo được các dòng bố mẹ cải tiến từ khai thác ưu thế lai giữa loài phụ *Indica* và *Japonica* đã tạo ra nhiều giống siêu lúa lai hiện đang được sử dụng rộng rãi ở Trung Quốc (Shi-Hua Cheng *et al.*, 2007). Lúa lai đã và đang được sử dụng trên thế giới và Việt Nam thuộc hệ thống 3 dòng và 2 dòng. Trong lúa lai 3 dòng, tạo ra sự đa dạng nguồn bất dục tế bào chất CMS phù hợp với vùng sinh thái, làm giảm suy yếu nguồn gen và tăng ưu thế lai là những mục tiêu quan trọng (Kumar *et al.*, 2013). Hiện nay, đang sử dụng

các phương pháp sau để lai tạo cặp dòng A/B mới thông qua việc lai tạo dòng B (dòng duy trì mới): (1) dung hợp tế bào để chuyển tế bào chất cho giống thuần để tạo ra dòng CMS mới (Akagi *et al.*, 1995); (2) đột biến tia gamma dòng B (K17B) và sau đó lai trở lại đã tạo ra dòng CMS mới (K17eA) (Zhang *et al.*, 2002); (3) lai giữa các dòng B để tạo ra dòng B mới: ZhenfengB được tạo ra từ tổ hợp lai YouIB/BoB và sau đó lai trở lại với YouIA để tạo ra dòng ZhenfengA (Wang Feng *et al.*, 2004), BoB x IR58025B và II32B x IR58025B tạo dòng B mới lai với IR58025A tạo cặp CMS mới (Bùi Viết Thư, 2015). Dòng lúa bất dục đực CT6A được chọn tạo bằng cách hồi giao 8 lần dòng duy trì CT6B, một dòng con đời F8 chọn từ tổ hợp Kim 23B/MTL250 với dòng bất dục đực BoA. Dòng bất dục đực CT6A có đặc điểm: thời gian sinh trưởng ngắn (95 ngày), cây thấp, thân cứng, đẻ khỏe, bông to, bất dục ổn định, tỷ lệ thụ phấn chéo cao, khả năng phối hợp tốt, gạo đẹp, cơm ngon, kháng rầy nâu và bệnh đạo ôn. Dòng bất dục đực CT6A có thể dùng để lai tạo những giống lúa lai có phẩm chất tốt và kháng rầy nâu, bệnh đạo ôn ở Đồng bằng sông Cửu Long (ĐBSCL) (Dương Thành Tài, 2015).

Trong các dòng CMS đang sử dụng tại Học viện Nông nghiệp Việt Nam hiện nay, dòng L20A và IR58025A có chất lượng tốt, thơm nhẹ, đẻ khỏe nhưng khả năng nhận phấn ngoài kém, nhiễm bệnh bạc lá (L20A, IR58025A) và đen lép (IR58025A), còn dòng 14A có chất lượng trung bình nhưng trở thoát (mang gen *eui*), đẻ khá, gọn, nhận phấn ngoài tốt, nhiễm nhẹ sâu bệnh. Chúng tôi tiến hành lai giữa các dòng B: 14B/L20B, L20B/14B, 14B/IR58025B, IR58025B/14B nhằm tạo ra những con lai (dòng B) mới có chất lượng gạo tốt, thơm, thời gian sinh trưởng phù hợp, khả năng đẻ nhánh tốt, gọn, cứng cây, lá hẹp đứng, có thể duy trì cho nhiều dạng tế bào chất khác nhau, phục vụ cho công tác chọn tạo lúa lai ba dòng tại Việt Nam.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1 Vật liệu:

Ba dòng bất dục đực tế bào chất (CMS): L20A, IR58025A, 14A; ba dòng duy trì bất dục đực tương ứng là L20B, IR58025B, 14B và 4 tổ hợp lai thuận nghịch L20B/14B, 14B/L20B, IR58025B/14B, 14B/IR58025B và các thể hệ chọn lọc sau lai.

Dòng L20A (Viện Nghiên cứu và PTCT- Học viện NNVN phân lập từ dòng L20A nhập nội từ Trung Quốc) có chất lượng tốt, thơm, thò vòi nhụy khá, nhận phấn ngoài thấp - trung bình, nhiễm bệnh bạc lá; dòng duy trì là L20B. (2) Dòng IR58025A (nhập nội từ IRRRI) có kiểu bất dục đực tế bào chất dạng “WA”, có chất lượng tốt, thơm nhưng độ thò vòi nhụy và khả năng nhận phấn ngoài thấp, nhiễm bệnh bạc lá và đen lép hạt cây cao; dòng duy trì là IR58025B. Năng suất duy trì và sản xuất hạt lai của hai cặp lai này đều thấp. (3) Dòng 14A (do Viện Nghiên cứu và PTCT - Học viện NNVN chọn tạo) có kiểu bất dục đực tế bào chất dạng “WA”, có chất lượng gạo thấp bạc bụng, cơm khô nhưng khả năng nhận phấn ngoài cao, mang gen *eui* và dòng duy trì là 14B.

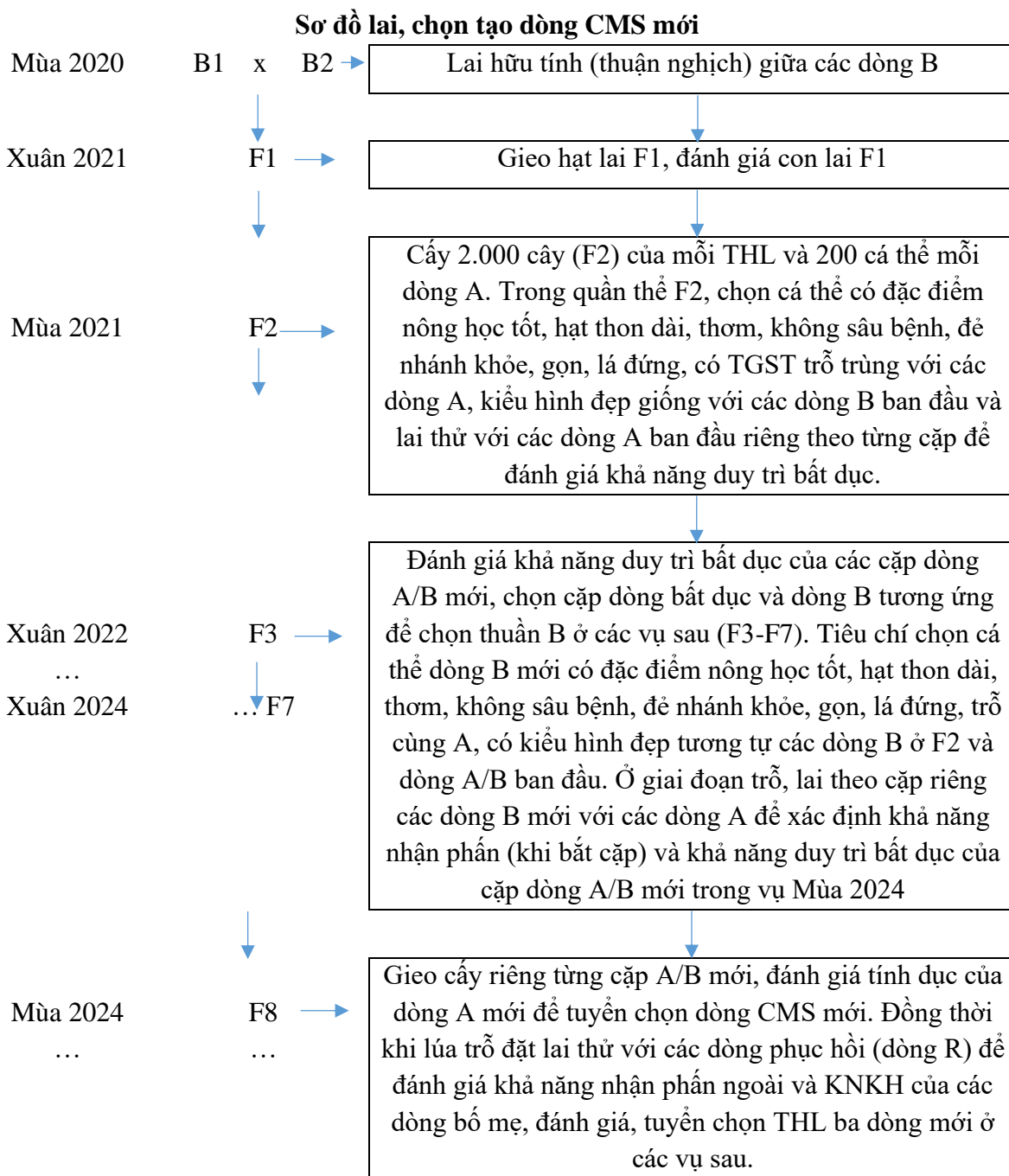
2.2 Phương pháp

(1) Lai cải tạo dòng B: Lai hữu tính giữa L20B/14B, 14B/L20B, IR58025B/14B 14B/IR58025B. Từ quần thể phân ly (F2), chọn cá thể có đặc điểm nông học tốt, kiểu hình đẹp, giống với các dòng A/B ban đầu nhất để lai lại với các dòng A.

(2) Lai thử cặp A/B mới, đánh giá khả năng duy trì bất dục: Lai thử các dòng (F2) có đặc điểm nông học tốt, kiểu hình đẹp tương tự các dòng A/B ban đầu lai với dòng mẹ L20A, IR58025A, 14A để đánh giá sơ bộ con lai, chọn tổ hợp lai có xuất hiện cây bất dục.

(3) Chọn thuần các cá thể dòng F2: các cá thể có khả năng duy trì bất dục cho các dòng A ở trên tiếp tục chọn thuần đến thế hệ F7 (dòng B mới) theo hướng chọn dòng có đặc điểm nông học tốt, kiểu hình đẹp tương tự với các cá thể F2 (được chọn lai thử cặp) và các dòng A/B ban đầu.

(4) Lai cặp lại các dòng B mới với các dòng A: các dòng B mới (F7) được chọn lai cặp lại với dòng L20A, IR58025A và 14A, chọn cặp dòng A/B mới có bất dục tốt, kiểu hình đẹp, không nhiễm sâu bệnh hại trên đồng ruộng, khả năng nhận phần (trong nhân duy trì dòng) tốt.



Phương pháp bố trí thí nghiệm và đánh giá tính dục của các dòng A theo Yuan Long Ping (1995). Cây 1 dảnh/khóm, mật độ cây 30 khóm/m². Đánh giá các đặc điểm nông sinh học và sâu bệnh được đánh giá

và cho điểm theo IRRI (2013). Bón phân và chăm sóc theo qui trình Viện Nghiên cứu và PTCT. Thời gian từ Mùa 2020 đến Mùa 2024; Địa điểm: thí nghiệm được bố trí trong nhà lưới và khu thí nghiệm đồng ruộng tại Viện Nghiên cứu và PTCT - Học viện Nông nghiệp Việt Nam.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1 Đặc điểm của các dòng A/B ban đầu

Vụ Mùa 2020, tiến hành gieo cấy 2 thời vụ cách nhau 7 ngày các dòng L20A/B, IR58025A/B, 14A/B tại khu nhà lưới Viện Nghiên cứu và PTCT- Học viện NNVN. Theo dõi đánh giá đặc điểm nông học của các cặp dòng A/B thu được kết quả bảng 1.

Bảng 1. Đặc điểm nông học của các dòng A, B nguyên bản, vụ Mùa 2020

Chi tiêu	Cặp dòng L20A/B		Cặp dòng IR58025A/B		Cặp dòng 14A/B	
	A	B	A	B	A	B
TGST gieo-trở (ngày)	67-68	66-67	74-75	72-73	65-66	64
Số lá thân chính (lá)	13,5	13,5	14,3	14,2	13,5	13,5
Dạng lá, màu sắc lá	Rộng, xanh sáng	Rộng, xanh sáng	Hẹp dài, lòng mo nhẹ, xanh sáng	Hẹp dài, lòng mo nhẹ, xanh sáng	Hẹp, xanh đậm	Hẹp, xanh đậm
Tỷ lệ trở thoát (%)	75	100	72	100	90	100
Tỷ lệ thò vòi nhụy (%)	75,8		68,6		85,5	
Chiều cao cây (cm)	73,1	73,3	80,2	80,3	75,2	75,3
Số bông/khóm (bông)	7,4	7,5	7,2	7,3	7,2	7,3
Số hoa/bông (hoa)	152	155	168	166	143,3	145,1
Dạng hạt	Thon	Thon	Dài	Dài	Thon	Thon
Màu sắc vỏ hạt và vòi nhụy	Trắng	Trắng	Trắng	Trắng	Trắng	Trắng
Mùi thơm	Thơm nhẹ	Thơm nhẹ	Thơm nhẹ	Thơm nhẹ	Không thơm	Không thơm
Khả năng nhận phấn ngoài	Thấp	-	Thấp	-	Cao	-

Khi lúa trở, chọn các cá thể dòng B có đặc điểm nông sinh học tốt, sinh trưởng khỏe, đẻ nhánh nhiều, sạch bệnh, bông to, nhiều hoa để khử đực và lai thuận nghịch: IR58025B/14B, 14B/IR58025B, L20B/14B, 14B/L20B. Các cá thể chọn ở quần thể F2 từ các cặp lai thuận nghịch này để lai cặp với các dòng A ký hiệu tương ứng lần lượt là B1, B2, B3 và B4.

3.2 Đánh giá, chọn lọc quần thể phân ly F1-2 để lai cặp lại với các dòng A

Vụ Xuân 2021, hạt lai F1 được gieo trồng, đánh giá F1, lúc chín thu hỗn hợp hạt F2 (trên cây F1) để gieo trồng vụ sau. Vụ Mùa 2021, tiến hành gieo cấy hạt F2 (ký hiệu B1, B2, B3 và B4 ở trên) và dòng L20A, IR58025, 14A. Cây 2.000 cá thể ở mỗi tổ hợp lai (F2) và 200 cá thể mỗi dòng A. Đến giai đoạn lúa trở, chọn cây ở quần thể phân ly F2 có TGST trở cùng các dòng A, đẻ khỏe, gọn, lá đứng, bông to,

hạt thon dài, thơm, không nhiễm sâu bệnh, có kiểu hình đẹp tương tự với các dòng A/B ban đầu để lai theo cặp, bao cách ly riêng bằng túi nilon. Mỗi cặp lai thuận nghịch trong quần thể phân ly F2, chọn 100 cá thể để lai với 2 dòng A theo cặp tương ứng. Cá thể dòng B1 và B2 được tuyển chọn có kiểu hình tương tự dòng IR58025B, đẻ nhánh khỏe, nhiều bông (7,2-7,6 bông/khóm), thấp cây (78,5-81,1cm), thời gian gieo – trổ ngắn (72-74 ngày); Cá thể dòng B1 và B2 có kiểu hình tương tự dòng 14B, đẻ nhánh khỏe, nhiều bông (7,0-7,4 bông/khóm), thấp cây (74,5-76,3cm), thời gian gieo – trổ rất ngắn (66-67 ngày). Cá thể dòng B3 và B4 được tuyển chọn có kiểu hình tương tự dòng L20B, đẻ nhánh khỏe, nhiều bông (7,2-7,5 bông/khóm), thấp cây (71,5-74,7cm), thời gian gieo – trổ rất ngắn (66-68 ngày); Cá thể dòng B3 và B4 có kiểu hình tương tự dòng 14B, đẻ nhánh khỏe, nhiều bông (7,1-7,4 bông/khóm), thấp cây (72,0-76,6cm), thời gian gieo – trổ rất ngắn (66-68 ngày) (bảng 2).

Bảng 2 Đặc điểm cá thể tuyển chọn (F2-3) để lai cặp với các dòng A trong vụ Mùa 2021

Cá thể chọn dòng	Kiểu hình tương tự với dòng	Số lượng cặp lai thử (cặp)	Thời gian gieo-trổ (ngày)	Chiều cao cây (cm)	Số bông/khóm (bông)
IR58025B/14B	IR58025B	25	72-74	78,5-81,2	7,2-7,6
	14B	25	66-67	74,5-76,3	7,1-7,3
14B/IR58025B	IR58025B	25	73-74	79,6-81,5	7,3-7,5
	14B	25	66-67	74,8-75,5	7,0-7,4
L20B/14B	L20B	25	66-68	71,5-73,8	7,2-7,4
	14B	25	67-68	72,0-73,2	7,1-7,4
14B/L20B	L20B	25	66-68	71,8-77,7	7,2-7,5
	14B	25	66-67	73,8-76,6	7,1-7,4
Tổng		200			

Vụ Xuân 2022, đánh giá 200 cặp dòng lai thử, xác định được 18 dòng B có khả năng duy trì bất dục cho các dòng A ban đầu (bảng 3). Cặp dòng IR58025A/B1 có thời gian gieo-trổ biến động 82-84 ngày, có chiều cao cây thấp (81-85cm), đẻ nhánh khỏe, nhiều bông và nhiều hạt tương ứng đạt 7-8 bông/khóm và 158-161 hạt. Cặp dòng 14A/B1 có thời gian gieo-trổ ngắn (76 ngày), thấp cây (75-76cm), đẻ nhánh khỏe, nhiều bông và nhiều hạt tương ứng đạt 7-8 bông/khóm và 144-145 hạt. Cặp dòng IR58025A/B2 có thời gian gieo-trổ 83-84 ngày, chiều cao cây biến động 80-82cm, có 8 bông/khóm và số hạt/ bông lớn (160-165 hạt). Cặp dòng 14A/B2 có thời gian gieo-trổ 76-77 ngày, thấp cây (74-76cm), có 7-8 bông/khóm và 143-148 hạt/bông. Cặp dòng L20A/B3 có thời gian gieo-trổ biến động 77-78 ngày, có chiều cao cây thấp (73-75cm), đẻ nhánh khỏe, nhiều bông và nhiều hạt tương ứng đạt 8 bông/khóm và 152-155 hạt. Cặp dòng 14A/B3 có thời gian gieo-trổ ngắn (76-77 ngày), thấp cây (74cm), đẻ nhánh khỏe, nhiều bông và nhiều hạt tương ứng đạt 7-8 bông/khóm và 144-147 hạt. Cặp dòng L20A/B4 có thời gian gieo-trổ 77-78 ngày, chiều cao cây biến động 71-75cm, có 8-9 bông/khóm và số hạt/ bông lớn (151-156 hạt). Cặp dòng 14A/B4 có thời gian gieo-trổ 76 ngày, thấp cây (73-74cm), có 7-8 bông/khóm và 144-148 hạt/bông. Theo dõi tỷ lệ hạt phân bất dục của dòng A mới biến động 95,5-100%, các cặp dòng có dòng mẹ là IR58025A và dòng L20A thì cho tỷ lệ bất dục hạt phân tốt nhất (100%) gồm cặp dòng IR58025A/B1-1, IR58025A/B2-2, L20A/B3-1, L20A/B3-2, L20A/B4-1, L20A/B4-3; thấp nhất là cặp dòng 14A/B1-1 (95,5%).

Bảng 3 Đánh giá khả năng duy trì bất dục của các cặp dòng A/B lai thử trong vụ Xuân 2022

TT	Ký hiệu dòng	Thời gian gieo-trỗ (ngày)	Chiều cao cây (cm)	Số bông /khóm (bông)	Số hạt/bông (bông)	Bất dục hạt phần (%)
1	IR58025A/B1-1	84	81	8	160,2	100
2	IR58025A/B1-2	82	82	7	158,5	98,5
3	IR58025A/B1-3	84	85	8	161,0	98,0
4	14A/B1-1	76	75	8	145,2	95,5
5	14A/B1-2	76	76	7	144,0	98,6
6	IR58025A/B2-1	83	80	8	165,1	99,2
7	IR58025A/B2-2	84	82	8	160,5	100
8	14A/B2-1	77	74	8	148,7	98,0
9	14A/B2-2	76	76	7	143,2	96,8
10	L20A/B3-1	78	73	8	152,0	100
11	L20A/B3-2	77	75	8	155,2	100
12	14A/B3-1	76	74	8	147,0	96,2
13	14A/B3-2	77	74	7	144,3	98,0
14	L20A/B4-1	78	72	8	156,2	100
15	L20A/B4-2	77	71	9	151,8	99,1
16	L20A/B4-3	78	75	8	155,2	100
17	14A/B4-1	76	74	7	148,0	98,2
18	14A/B4-2	76	73	8	144,5	98,6

3.3 Một số đặc điểm nông học của các dòng mới được chọn tạo ở thế hệ F7

Từ vụ Mùa 2022 đến vụ Xuân 2024, tiếp tục chọn thuần các dòng B mới F4-F7 từ 18 dòng đã lai cặp thử và có khả năng duy trì bất dục cho các dòng A tương ứng ở vụ Xuân 2022 theo tiêu chí: chọn dòng có kiểu hình đẹp, TGST tương đương các dòng A/B ban đầu, đẻ nhánh khỏe, đẻ gọn, lá đứng, bông to, hạt thon dài, thơm, không nhiễm sâu bệnh. Đánh giá đặc điểm nông học của các dòng B mới ở thế hệ F7 trong vụ Xuân 2024 thu được kết quả bảng 4 cho nhận xét:

Dòng B1-1 và B2-3 có kiểu hình tương tự dòng IR58025B, có thời gian gieo-trỗ là 83-84 ngày, chiều cây 80,5-81,5cm, đẻ nhánh khỏe, nhiều bông và nhiều hạt tương ứng đạt 7,4 - 7,5 bông/khóm và 162,2 - 164,5 hạt/bông, số hạt chắc cao (140 hạt). Dòng B1-2, B1-3, B2-1 và B2-2 có kiểu hình tương tự dòng 14B có thời gian gieo-trỗ ngắn (77-78 ngày), thấp cây (75,8-76,5cm), đẻ nhánh khỏe, nhiều bông (7,0-7,5 bông) số hạt/bông khá (145-151 hạt), số hạt chắc/bông khá cao (130-135 hạt). Dòng B3-1, B3-3, B4-2 và B4-3 có thời gian gieo-trỗ 75-77 ngày, chiều cao cây biến động 73-76 cm, có 6,9-7,2 bông/khóm và số hạt/ bông khá (143-145 hạt). Dòng B3-2, B4-1, B4-4 và B4-5 có thời gian gieo-trỗ 76-77 ngày, thấp cây (73-74 cm), có 7,2-7,4 bông/khóm và số hạt/bông khá cao (154-161 hạt), số hạt chắc biến động 142-154 hạt.

Bảng 4 Đặc điểm nông sinh học một số dòng F₇ được chọn từ cặp lai trong vụ Xuân 2024

Ký hiệu dòng	Thời gian gieo-trỗ (ngày)	Chiều cao cây (cm)	Số bông/khóm (bông)	Số hoa/bông (hoa)	Số hạt chắc/bông (hạt)	Kiểu hình tương tự với dòng
Cặp lai IR58025B/14B						
B1-1	84	81,5	7,4	162,2	140,1	IR58025B
B1-2	77	76,5	7,2	150,6	135,5	14B
B1-3	77	75,8	7,5	145,8	130,2	14B
Cặp lai 14B/IR58025B						
B2-1	77	75,8	7,0	151,6	133,7	14B
B2-2	78	76,3	7,2	148,0	130,4	14B
B2-3	83	80,5	7,5	164,5	140,2	IR58025B
Cặp lai L20B/14B						
B3-1	76	73,3	6,9	145,6	130,5	14B
B3-2	77	73,5	7,2	154,5	145,2	L20B
B3-3	77	73,8	7,1	143,6	128,5	14B
Cặp lai 14B/L20B						
B4-1	77	73,5	7,3	155,8	142,1	L20B
B4-2	76	76,8	7,2	145,5	130,8	14B
B4-3	75	75,8	7,1	145,6	128,8	14B
B4-4	76	74,3	7,3	161,0	145,2	L20B
B4-5	77	73,5	7,4	154,5	154,5	L20B

Quan sát một số đặc điểm dạng hạt, mùi thơm và một số đặc điểm hình thái và chất lượng khác của các dòng B mới (F₇) được chọn thuần cho thấy: Dòng B1-1 và B2-3 có dạng hạt thon dài, thơm nhẹ (điểm 3), không râu hoặc có râu nhẹ, vỏ hạt trắng, dễ nhánh chụm, lá đứng, xanh đậm, gạo trong đẹp. Dòng B1-2 có dạng hạt thon dài, thơm nhẹ, không râu, vỏ hạt sáng, vỏ hạt trắng, dễ gọn đứng, bản lá hẹp, xanh đậm, hạt gạo cong, trong; dòng B1-3 có dạng hạt thon, thơm nhẹ, không râu, vỏ hạt sáng, dễ nhánh gọn đứng, bản lá hẹp, xanh sáng, gạo trong, gạo nguyên cao; Dòng B2-1 có dạng hạt thon, thơm nhẹ, không râu, vỏ hạt sẫm, vỏ hạt sẫm, dễ nhánh chụm, bản lá hẹp, xanh sáng, hạt gạo trong đẹp; Dòng B2-2 có dạng hạt thon dài, không thơm, không râu, vỏ hạt sáng, dễ nhánh gọn đứng, bản lá hẹp, đứng, lòng mo nhẹ, xanh đậm, gạo trong, bạc bụng 5%, gạo nguyên cao. Dòng B3-1 và B4-3 đều có dạng hạt thon dài, không thơm, không râu-râu nhẹ, vỏ hạt sáng, dễ nhánh gọn đứng, bản lá hẹp, xanh sáng, gạo trong, gạo nguyên cao. Dòng B3-3 và dòng 4-2 đều có dạng hạt thon, thơm nhẹ, không râu, vỏ hạt sáng, vỏ dễ nhánh gọn đứng, bản lá hẹp, xanh sáng, gạo trong, gạo nguyên cao; Dòng B3-2, B4-4 và B4-5 đều có dạng hạt thon dài, thơm nhẹ (điểm 3), không râu- râu nhẹ, vỏ hạt sáng, vỏ hạt sẫm, dễ nhánh chụm, lá lòng mo nhẹ, đứng, xanh đậm, gạo trong. Dòng B4-1 có dạng hạt dài, thơm nhẹ, không râu, vỏ hạt sáng, vỏ hạt sẫm, dễ nhánh chụm, lá lòng mo nhẹ, đứng, xanh đậm, gạo trong (bảng 5).

Bảng 5. Đặc điểm hình thái và chất lượng của một số dòng F7 được chọn tạo trong vụ Xuân 2024

Ký hiệu dòng	Dạng hạt	Mùi thơm	Đặc điểm khác
Cặp lai IR58025B/14B			
B1-1	Hạt thon dài	Thơm nhẹ	Râu nhẹ, mỏ hạt trắng, đẻ nhánh chụm, lá lòng mo nhẹ, xanh đậm, gạo trong
B1-2	Hạt thon dài	Thơm nhẹ	Không râu, vỏ hạt sáng, mỏ hạt trắng, đẻ gọn đứng, bản lá hẹp, xanh đậm, hạt gạo cong, trong
B1-3	Hạt thon	Thơm nhẹ	Không râu, vỏ hạt sáng, đẻ nhánh gọn đứng, bản lá hẹp, xanh sáng, gạo trong, gạo nguyên cao
Cặp lai 14B/IR58025B			
B2-1	Hạt thon	Thơm nhẹ	Không râu, vỏ hạt sẫm, mỏ hạt sẫm, đẻ nhánh chụm, bản lá hẹp, xanh sáng, hạt gạo trong đẹp
B2-2	Hạt thon dài	Không thơm	Không râu, vỏ hạt sáng, đẻ nhánh gọn đứng, bản lá hẹp, đứng, lòng mo nhẹ, xanh đậm, gạo trong, bạc bụng 5%, gạo nguyên cao
B2-3	Hạt thon dài	Thơm nhẹ	Không râu, mỏ hạt trắng, đẻ nhánh hơi chụm, lá đứng, xanh đậm, gạo trong đẹp
Cặp lai L20B/14B			
B3-1	Hạt thon dài	Không thơm	Râu nhẹ, vỏ trấu và mỏ hạt sáng, đẻ nhánh gọn đứng, bản lá hẹp, mo nhẹ, xanh sáng, gạo trong, gạo nguyên cao
B3-2	Hạt thon dài	Thơm nhẹ	Râu nhẹ, mỏ hạt sẫm, đẻ nhánh gọn đứng, lá lòng mo nhẹ, dài, đứng, xanh sáng, gạo trong
B3-3	Hạt thon	Thơm nhẹ	Không râu, vỏ hạt sáng, đẻ nhánh gọn đứng, bản lá hẹp, phẳng, xanh sáng, gạo trong đẹp
Cặp lai 14B/L20B			
B4-1	Hạt dài	Thơm nhẹ	Không râu, vỏ hạt sáng, mỏ hạt sẫm, đẻ nhánh chụm, lá lòng mo nhẹ, đứng, xanh đậm, gạo trong
B4-2	Hạt thon	Thơm nhẹ	Không râu, vỏ hạt sáng, đẻ nhánh gọn đứng, bản lá hẹp, xanh sáng, gạo trong, gạo nguyên cao
B4-3	Hạt thon dài	Không thơm	Không râu, vỏ hạt sáng, đẻ nhánh gọn đứng, bản lá hẹp, xanh sáng, gạo trong, gạo nguyên cao

B4-4	Hạt thon dài	Thơm nhẹ	Râu nhẹ, mỏ hạt trắng, vòi nhụy trắng xanh, đẻ nhánh chụm, lá lòng mo nhẹ, xanh đậm, gạo trong
B4-5	Hạt thon dài	Thơm nhẹ	Không râu, vỏ hạt sáng, mỏ hạt trắng, đẻ gọn đứng, bản lá hẹp, xanh đậm, hạt gạo cong, trong

3.4 Đánh giá lai cặp của các dòng F7 với các dòng A để tuyển chọn dòng CMS mới

Trong vụ Xuân 2024, gieo cấy đánh giá và chọn thuần 18 dòng ở thế hệ F7, đồng thời gieo cấy dòng IR58025A, L20A và 14A thành 2 thời vụ: thời vụ 1 gieo sau các dòng F7 là 2 ngày, thời vụ 2 gieo sau thời vụ 1 là 7 ngày. Ở giai đoạn lúa trổ, tiến hành chọn cá thể dòng F7 có kiểu hình tương tự với các dòng A và chọn cá thể dòng A ở 2 thời vụ có kiểu hình đẹp, sinh trưởng khỏe, đẻ nhánh nhiều, sạch bệnh để lai theo cặp (mỗi cặp dòng lai 5 cặp), cách ly bằng túi nilon, thu hạt lai trên cây dòng A, đánh giá khả năng đậu hạt và thu hạt dòng B theo cặp, để gieo đánh giá khả năng duy trì bất dục của dòng F7 mới chọn lọc để chọn dòng A/B mới trong vụ Mùa 2024.

Bảng 6. Một số đặc điểm nông học, độ bất dục phân của các cặp dòng A/B mới trong vụ Mùa 2024

TT	Ký hiệu cặp dòng	Thời gian gieo-trổ (ngày)	Chiều cao cây (cm)	Số bông /khóm (bông)	Số hạt/bông (bông)	Tỷ lệ thò vòi nhụy (%) ^(*)	Bất dục phân (%)	Tỷ lệ đậu hạt (%) ^(**)
1	IR58025A/B1-1	75-76	83,5	7,8	160,2	82,1	100	40,2
2	IR58025A/B1-2	74-76	82,7	7,0	158,5	78,0	98,2	38,8
3	IR58025A/B1-3	74-74	83,8	7,8	161,0	77,3	98,0	42,5
4	14A/B1-1	65-66	75,1	8,0	145,4	83,5	95,5	48,1
5	14A/B1-2	66-68	77,4	7,1	144,0	85,4	98,1	55,2
6	IR58025A/B2-1	74-76	81,0	7,8	165,2	80,6	100	48,2
7	IR58025A/B2-2	72-75	82,2	8,1	160,7	78,3	99,0	48,1
8	14A/B2-1	64-66	75,6	7,8	148,8	82,8	98,0	51,7
9	14A/B2-2	65-66	76,7	7,2	143,2	85,1	96,5	48,8
10	L20A/B3-1	65-68	73,6	8,0	152,0	77,0	100	36,5
11	L20A/B3-2	66-68	72,8	7,8	155,1	81,3	100	38,3
12	14A/B3-1	65-66	75,5	8,0	147,6	84,2	96,2	54,7
13	14A/B3-2	64-66	74,2	7,2	144,3	80,0	98,4	52,9
14	L20A/B4-1	66-68	73,8	8,0	156,2	78,6	100	45,7
15	L20A/B4-2	65-67	72,5	8,3	151,0	77,3	99,0	36,9
16	L20A/B4-3	66-68	74,1	7,8	155,4	80,1	100	40,0
17	14A/B4-1	64-67	72,0	7,0	148,9	81,2	98,5	53,5
18	14A/B4-2	64-65	73,5	8,2	144,1	84,6	99,3	50,6
19	IR58025A/B (ĐC1)	75-76	75,5	7,6	163,2	66,8	100	35,2

20	L20A/B (ĐC2)	67-68	73,8	7,5	153,0	73,8	100	43,5
21	14A/B (ĐC3)	64-65	75,2	7,2	142,6	84,6	97,8	58,6

Ghi chú: (*) Tỷ lệ thò vòi nhụy 1 và 2 phía.

(**) Tỷ lệ đậu hạt của cặp lai A/B thu, đánh giá trong vụ Xuân 2024

Kết quả đánh giá cặp dòng A/B mới trong vụ Mùa 2024 thu được kết quả ở bảng 6 cho thấy: Cặp dòng có dòng mẹ là L20A và 14A thì có thời gian gieo đến trổ biến động 64-68 ngày, thấp cây (72-77 cm), nhiều bông, nhiều hạt biến động tương ứng lần lượt là 7,0-8,3 bông và 144-156 hạt, tỷ lệ thò vòi nhụy cao (77-85%); bắt dục hạt phần tốt (95,5-100%). Còn các cặp dòng có dòng mẹ là IR58025A thì có thời gian gieo đến trổ dài hơn (72-76 ngày), cây cao hơn (81,0-83,5 cm), nhiều bông (7-8 bông), số hạt/bông lớn (158-165 hạt), tỷ lệ thò vòi nhụy cao (77-82%); bắt dục hạt phần tốt hơn (98-100%). Đánh giá khả năng nhận phần ngoài của cặp dòng A/B mới nhận thấy: Cặp dòng có dòng mẹ là 14A, khi lai cặp có tỷ lệ đậu hạt cao hơn đạt 48,1-54,7%, ngược lại, cặp dòng có dòng mẹ là dòng IR58025A và L20A thì thấp hơn về giá trị này (36,5-48,2%). Tất cả cặp dòng mới đều có tỷ lệ đậu hạt cao hơn dòng IR58025A (35,2%) và L20A (43,5%) và thấp hơn so với dòng 14A ban đầu (58,6%). Điều này do dòng 14A ban đầu là dòng mang gen *eui* nên trong lai cặp (không sử dụng GA3) thì dòng này trổ thoát hơn làm tăng khả năng nhận phần và đậu hạt.

Như vậy, sơ bộ đánh giá cặp dòng A/B mới (dòng B chọn lọc ở thế hệ F7), sau lai cặp, đánh giá kiểu hình, đặc điểm nông sinh học, hình dạng hạt, mùi thơm, bắt dục hạt phần, tỷ lệ thò vòi nhụy, khả năng nhận phần ngoài (khi lai cặp), tuyển chọn ba cặp dòng A/B mới có nhiều đặc điểm tốt đáp ứng mục tiêu đặt ra gồm dòng IR58025A/B1-1, IR58025A/B2-1 và 14A/B4-2 với dòng B có nguồn gốc lai cải tạo lần lượt từ IR58025B/14B, 14B/IR58025B và 14B/L20B.

4. KẾT LUẬN

Lai thuận nghịch giữa các dòng B (IR58025B/14B, 14B/IR58025B; L20B/14B và 14B/L20B), ở thế hệ F2 chọn được 200 cá thể để lai lại với các dòng A ban đầu theo nguyên tắc bắt cặp cá thể dòng (F2) có kiểu hình tương tự các dòng A/B ban đầu, mỗi kiểu hình cặp 25 cặp để sơ bộ đánh giá duy trì bắt dục ở F3.

Xác định được 18 cá thể dòng F3 có khả năng duy trì bắt dục cho các dòng A ban đầu. Tiếp tục chọn thuần các cá thể dòng này đến thế hệ F7, sau đó lai cặp lại với 3 dòng A ban đầu. Tuyển chọn được 3 dòng B mới (F7) có khả năng duy trì tốt để tạo dòng CMS mới gồm dòng B1-1 (IR58025B/14B), dòng B2-1 (14B/IR58025B) và dòng B4-2 (14B/L20B):

Cặp dòng IR58025A/B1-1 có nhiều đặc điểm tốt hơn dòng IR58025A/B và dòng 14A/B nguyên bản: bắt dục phần tốt (100%), hạt thon dài, thơm nhẹ, thời gian gieo-trổ 75-76 ngày, cây cao trung bình (83,5cm), đẻ nhánh khỏe gọn (7,8 bông), số hạt/bông lớn (160,2 hạt), tỷ lệ thò vòi nhụy cao (82,1%) và tỷ lệ đậu hạt khi lai cặp khá (40,2%).

Cặp dòng IR58025A/B2-1 có nhiều đặc điểm tốt hơn dòng IR58025A/B nguyên bản: bắt dục phần tốt (100%), hạt thon dài, thơm nhẹ, thời gian gieo-trổ 74-76 ngày, cây cao trung bình (81,0cm), đẻ nhánh khỏe (7,8 bông), số hạt/bông lớn (165,2 hạt), tỷ lệ thò vòi nhụy cao (80,6%) và tỷ lệ đậu hạt khi lai cặp khá (48,2%).

Cặp dòng 14A/B4-2 có nhiều đặc điểm tốt hơn dòng 14A/B nguyên bản: bắt dục phần tốt hơn (99,3%), hạt thon dài, thơm nhẹ, thời gian gieo-trổ ngắn (64-65 ngày), thấp cây (73,5cm), đẻ nhánh khỏe

(8,2 bông), số hạt/bông trung bình (144,1 hạt), tỷ lệ thò vòi nhụy rất cao (84,6%) và tỷ lệ đậu hạt khi lai cặp cao (50,6%).

TÀI LIỆU THAM KHẢO.

1. Akagi H., Taguchi T., Fujimura T., (1995). Stable inheritance and expression of the CMS traits introduced by asymmetric protoplast fusion. *Theor Appl Genet* 91: 563-567.
2. Bùi Viết Thu (2015), Chọn tạo dòng duy trì bất dục đực tế bào chất mới phục vụ phát triển lúa lai ở Việt Nam. *Tạp chí Khoa học và phát triển* 2015, 13 (8):1352-1359.
3. Cục Trồng trọt (2023)- Định hướng phát triển ngành lúa gạo Việt Nam đến năm 2030 và giới thiệu đề án phát triển bền vững 1 triệu ha chuyên canh lúa chất lượng cao và phát thải thấp gắn với tăng trưởng xanh vùng ĐBSCL đến năm 2030. Festival ngành hàng lúa gạo quốc tế Hậu Giang 2023.
4. Dương Thành Tài, Bạch Thị Vững và Huỳnh Minh Nhu (2015), Kết quả lai tạo dòng lúa bất dục đực CT6A. *Tạp chí Khoa học công nghệ Việt Nam*, 1.3(3), 2015.
5. FAO, 2023 ("Lúa gạo Việt Nam- Con đường đổi mới đến bền vững và thịnh vượng". Bộ NN&PTNT. NXB tài chính: 564pp
6. IRRI (2013). Standard evaluation system for Rice, P.O. Box 933. 1099- Manila Philippines.
7. IRRI (1997). Hybrid rice breeding manual.
8. Jong Seong Jeon, Ki Hong Jung, Hyun Bi Kim, Jung Pil Suh, Gurdev S. Khush (2011). Genetic and molecular insights into the enhancement of rice yield potential. *Plant Biol.* 54:1-9.
9. Shi Hua Cheng, Jie Yun Zhuang, Ye Yang Fan, Jing Hong Du and Li Yong Cao (2007). Progress in research and development on hybrid rice: A super domestication in China. *Ann Bot* 100: 959-966.
10. Vikash Kumar, U.B. Apte, S.G. Bhagwat, B. B. Jadhay, D. S. Sawant and B. K. Das (2013). Phenotypic and molecular characterisation of diversified cytoplasmic male sterility lines of rice (*Oryza sativa* L.). *Plant Breeding*, 4(3): 1193-1200.
11. Wang Feng, Liu Zhen Rong, Li Shu Guang, Liu Wu Ge, Liao Yi Iong, Huang De Juan, Peng Hui Pu (2004). Breeding of *Indica* CMS line ZhenfengA with the characteristic of weak sensitive to photoperiod induced by gene interaction. *Hybrid rice*: 04.
12. Zhang Ruixiang, Lui Haiping, Zhang Honglin (2002). Breeding of *eui* CMS lines K17eA in *indica* rice, *Acta Agricultural University Jiangxiensis*, 24 (3): 307-311.

NGHIÊN CỨU GIẢM PHÁT THẢI KHÍ MÊ-TAN (CH₄) TRÊN LÚA THÔNG QUA QUẢN LÝ NƯỚC

Trung tâm Nông nghiệp hữu cơ – Bộ môn Canh tác học
Khoa Nông học, Học viện Nông nghiệp Việt Nam
*Email: vdhoang@vnua.edu.vn

SUMMARY

Rice is an important food crop worldwide, providing food for more than half of the world's population. However, wet rice cultivation also consumes a large amount of water in agriculture and also contributes significantly to greenhouse gas (GHG) emissions. The application of water-saving irrigation technologies can improve the efficiency of water use and reduce GHG emissions at the same time. The study was conducted in 2023 crop season at Vietnam National University of Agriculture with three treatments: T1- Continuous flooding (CF); T2- Mid-season drying (MD); T3- Alternate wetting and drying (AWD). The results showed that the application of AWD had a positive effect on rice growth, reduced pest and disease infestation and increased lodging resistance, resulting in an increase in rice yield compared to continuous flooding (CF). Water-saving irrigation significantly reduced methane (CH₄). MD reduced total seasonal crop CH₄ emissions by 17.5%, while AWD reduced total seasonal CH₄ emissions by 49.4% compared to CF. These emission reductions can be converted into carbon credits and increase farmers' income. Therefore, AWD should be widely used in rice cultivation to save water, reduce GHG emissions, and provide carbon credits to farmers.

Keywords: *water-saving irrigation, carbon credits, GHG emissions, sustainable rice.*

TÓM TẮT

Lúa là cây lương thực quan trọng trên toàn thế giới, cung cấp lương thực cho hơn một nửa dân số thế giới. Tuy nhiên, canh tác lúa nước cũng tiêu tốn một lượng lớn nước trong nông nghiệp và cũng phát thải đáng kể khí nhà kính (GHG). Áp dụng các công nghệ tưới tiết kiệm nước có thể cải thiện hiệu quả sử dụng nước đồng thời giảm lượng khí phát thải. Nghiên cứu thực hiện trong vụ mùa năm 2023 tại Học viện Nông nghiệp Việt Nam, với ba công thức tưới: T1- tưới ngập truyền thống (CF); T2- Tưới rút khô một lần sau kết thúc đẻ nhánh hữu hiệu (MD); T3- Tưới ướt khô xen kẽ (AWD). Kết quả cho thấy, việc áp dụng các kỹ thuật tưới tiết kiệm nước AWD ảnh hưởng tốt đến sinh trưởng của cây lúa, giảm tỷ lệ sâu bệnh và chống đổ, dẫn đến làm tăng năng suất lúa so với tưới ngập truyền thống (CF). Tưới tiết kiệm nước đã làm giảm đáng kể khí mê-tan (CH₄) và lượng khí thải CO₂ tương đương. MD làm giảm tổng lượng khí thải CH₄ của cây trồng theo mùa là 17,5%, trong khi AWD làm giảm tổng lượng khí thải CH₄ theo mùa là 49,4% so với CF. Lượng giảm phát thải này có thể được chuyển đổi thành tín chỉ cac-bon, làm tăng thu nhập cho người sản xuất. Do đó, AWD nên được sử dụng rộng rãi trong canh tác lúa để tiết kiệm nước, giảm phát thải khí nhà kính và chuyển đổi tín chỉ carbon cho người sản xuất.

Từ khóa: *tưới tiết kiệm nước, tín chỉ carbon, phát thải khí nhà kính, lúa bền vững.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Lúa (*Oryza sativa* L.) là một trong những cây lương thực quan trọng nhất trên thế giới, cung cấp lương thực cho hơn một nửa dân số toàn cầu. Theo thống kê của FAOSTAT (2024), diện tích sản xuất lúa trên thế giới năm 2022 đạt hơn 165 triệu ha, năng suất bình quân 4,7 tấn/ha với sản lượng 776,5 triệu tấn. Trong các hệ thống canh tác lúa, lúa nước có tưới được sản xuất trên diện tích khoảng 93 triệu ha, đóng góp hơn 75% sản lượng lúa toàn cầu, do đó đây là hệ thống sản xuất lúa lớn nhất và quan trọng nhất. Tuy nhiên việc duy trì lớp nước thường xuyên trên mặt ruộng trong hệ thống canh tác này đã dẫn đến tiêu tốn một lượng lớn nước trong nông nghiệp. Các nghiên cứu ước tính rằng lúa nước tiêu thụ khoảng 34 – 43% lượng nước tưới trong nông nghiệp (GRiSP, 2013) và điều này sẽ là một bất lợi trong bối cảnh biến đổi khí hậu, do tình trạng khan hiếm nước ngày càng trở nên trầm trọng hơn.

Hơn nữa việc duy trì mực nước ngập liên tục trong hầu hết thời gian canh tác đã tạo môi trường yếm khí trong đất, thúc đẩy hình thành khí mê-tan (CH_4). CH_4 phát thải trong canh tác lúa nước chiếm phần lớn khí CH_4 phát thải trong sản xuất trồng trọt toàn cầu, trong đó tập trung chủ yếu ở vùng nhiệt đới Châu Á với trên 90% (Smith & cs., 2021). CH_4 được tạo ra do việc phân giải các chất hữu cơ trong đất như phân bón hữu cơ, tàn dư rom rạ, rễ cây chết, chất hữu cơ tiết ra từ rễ bởi vi sinh vật trong điều kiện thiếu oxy.

Số liệu của Tổng cục thống kê (2024) cho thấy, diện tích canh tác lúa của Việt Nam năm 2022 đạt khoảng 7,1 triệu ha, năng suất trung bình 6,6 tấn/ha và sản lượng đạt hơn 47,1 triệu tấn. Cây lúa được trồng rộng khắp cả nước, đóng vai trò quan trọng trong an ninh lương thực quốc gia, đồng thời còn là mặt hàng nông sản xuất khẩu hàng đầu, đóng góp chung vào an ninh lương thực toàn cầu. Tuy vậy, với diện tích lúa nước lớn, tiềm năng phát thải CH_4 từ đất lúa là rất cao. CH_4 phát thải từ lúa nước được đánh giá chiếm đến 75% lượng CH_4 phát thải và 48% lượng khí nhà kính phát thải trong sản xuất nông nghiệp.

Trong các yếu tố ảnh hưởng đến phát thải của lúa, quản lý nước đóng vai trò quan trọng nhất và có ảnh hưởng nhiều nhất đến việc giảm phát thải. Nghiên cứu này nhằm đánh giá ảnh hưởng của một số phương pháp tưới đến sinh trưởng lúa và phát thải khí mê-tan trên đất lúa, làm cơ sở đưa ra khuyến cáo phù hợp trong sản xuất lúa giảm phát thải.

2. VẬT LIỆU VA PHƯƠNG PHAP NGHIEN CỨU

Thí nghiệm đồng ruộng được tiến hành tại Học viện Nông nghiệp Việt Nam (VNUA), trong vụ mùa năm 2023. Giống lúa được sử dụng cho thí nghiệm là giống lúa Bắc Thơm 7.

Thí nghiệm bao gồm 3 công thức: T1 - Tưới ngập liên tục (CF); T2- Rút khô một lần giữa vụ, khi kết thúc đẻ nhánh hữu hiệu (MD); T3 - Tưới ướt khô xen kẽ (AWD).

Thí nghiệm thực hiện trên lúa gieo sạ, với tỷ lệ 33 kg hạt giống/ha. Phân bón được bón với tỷ lệ 120 kg N : 90 kg P_2O_5 : 60 kg K_2O /ha.

Khí CH_4 được lấy mẫu 7 ngày một lần từ 17 ngày sau trồng (DAS) đến 94 DAS bằng các phương pháp được đề cập bởi Minamikawa & cs. (2015). Các khí thu được được lưu trữ trong các lọ mẫu tiêu chuẩn và được phân tích bằng máy GC.

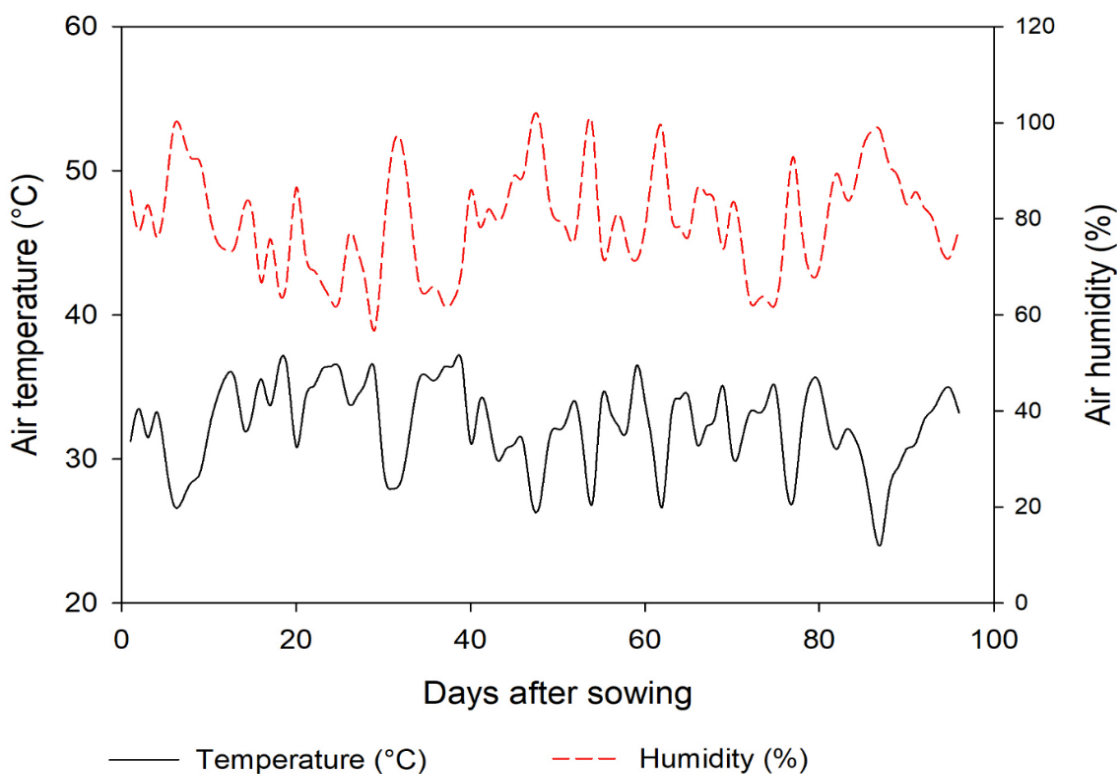
Thời gian sinh trưởng của cây, các chỉ tiêu sinh trưởng (chiều cao, số nhánh) được đo hàng tuần. Ở

giai đoạn đẻ nhánh hữu hiệu, giai đoạn trổ bông và 2 tuần sau trổ, cây được lấy mẫu để tính diện tích lá, chỉ số SPAD và chất khô tích lũy. Ruộng được theo dõi thường xuyên để phát hiện cỏ dại, sâu bệnh. Vào thời điểm thu hoạch, mẫu lúa được thu để đánh giá năng suất. Mức nước trong ruộng được ghi lại hàng ngày và điều chỉnh theo các công thức thí nghiệm. Nhiệt độ không khí và độ ẩm hàng ngày được tự động ghi sau mỗi 20 phút bằng thiết bị Tinytag (Gemini data loggers Ltd.).

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Nhiệt độ không khí và độ ẩm trong quá trình thí nghiệm

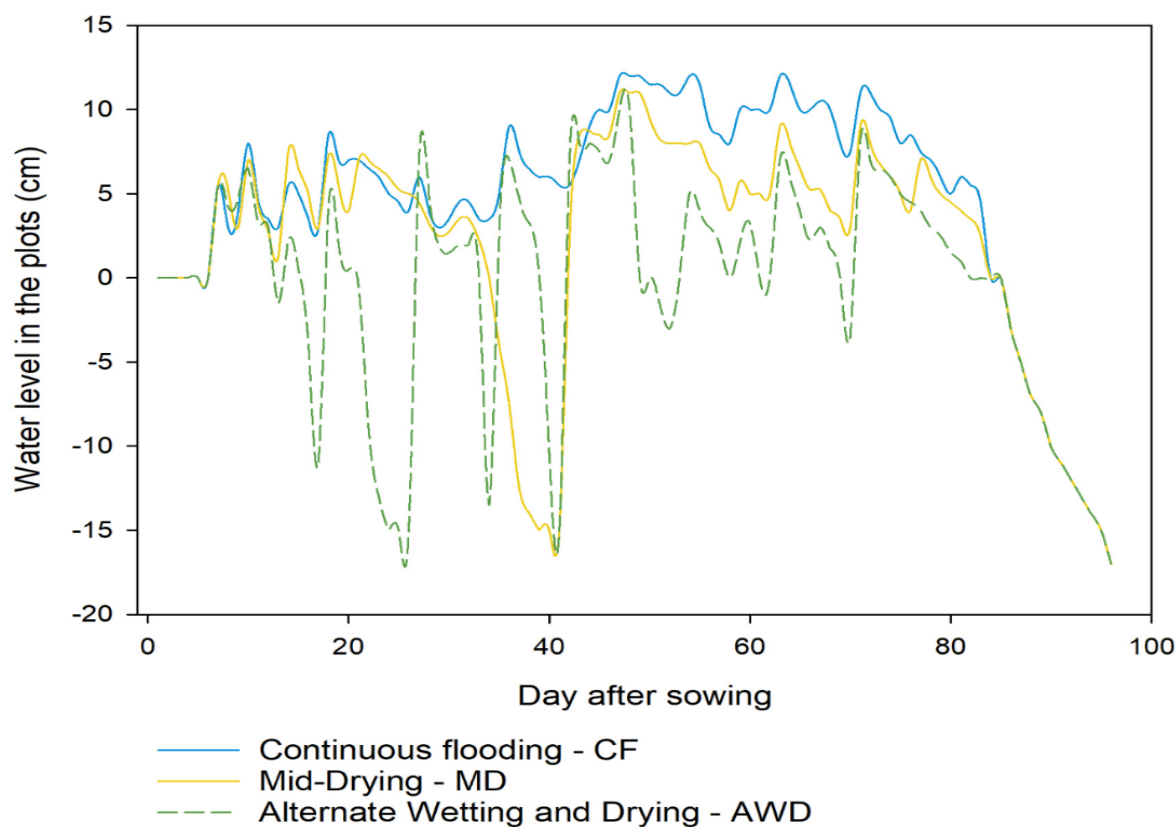
Thí nghiệm được tiến hành trong vụ mùa năm 2023, là một năm có mùa hè nóng với nhiệt độ cao và lượng mưa lớn. Nhiệt độ trung bình trong vụ lúa là 33,0°C vào ban ngày và 30,6°C vào ban đêm (Hình 1). Mặc dù có sự biến động, nhưng nhiệt độ trung bình đều đạt trên 30°C vào hầu hết các ngày của thí nghiệm. Độ ẩm không khí trung bình trong suốt mùa là 79,6% và hầu hết các ngày đều trên 70%.



Hình 1. Nhiệt độ và độ ẩm không khí trong vụ thí nghiệm

3.2. Mức nước trên đồng ruộng

Các ống nước được đặt trên ruộng để theo dõi mực nước và ghi chép hàng ngày (Hình 2). Trong cả vụ lúa, mực nước trên ruộng AWD đạt độ sâu -15 cm dưới mặt đất bốn lần và một số lần mực nước giảm trung bình -3 đến -5 cm dưới mặt đất do ảnh hưởng của mưa. Công thức tưới rút khô một lần giữa vụ (MD) được thực hiện thuận lợi, không có mưa trong thời gian rút nước. Công thức tưới ngập liên tục duy trì mực nước 3-10 cm, trong cả vụ. Trong 2 tuần trước khi thu hoạch, tất cả các xử lý đều được thoát nước nhân tạo để làm khô đồng ruộng và chuẩn bị cho thu hoạch. Các công thức tưới ướt khô xen kẽ AWD giảm được 3 lần tưới so với CF and MD.



Hình 2 : Diễn biến mực nước trên ruộng của các công thức thí nghiệm

3.3. Ảnh hưởng của quản lý nước đến một số chỉ tiêu sinh trưởng của lúa

Ở 2TSG và 4TSG, các công thức tưới không ảnh hưởng đến chiều cao cây của giống lúa Bắc thom 7, với chiều cao cây trung bình là 29,1cm (Bảng 1). Ở 6TSG (sau lần bón thúc đầu tiên ở 5TSG), cây lúa ở tất cả các công thức tưới đều sinh trưởng đáng kể với chiều cao trung bình là 88,6cm. Cây lúa ở công thức AWD cho thấy chiều cao cây thấp hơn đáng kể so với công thức CF, tuy nhiên, không có sự khác biệt đáng kể về chiều cao cây giữa MD và AWD. Ở 8TSG, cây ở ba công thức không cho thấy sự khác biệt về chiều cao cây. Sau lần bón thúc thứ hai ở 9TSG, cây lúa cho thấy sự gia tăng mạnh về chiều cao nhưng kém hơn so với lần bón thúc đầu tiên. Ở 10 TSG, cây lúa đạt chiều cao cây cao nhất, tuy nhiên, AWD có chiều cao cây thấp hơn so với CF. Chiều cao cây của giống lúa lần lượt là 126,0, 125,3 và 124,3 cm ở CF, MD, AWD.

Bảng 1. Ảnh hưởng của quản lý nước đến chiều cao cây lúa (cm)

Công thức	2TSG	4TSG	6TSG	8TSG	10TSG	12TSG
CF	28,3 ^a	46,5 ^a	90,0 ^a	96,0 ^a	126,0 ^a	126,0 ^a
MD	29,6 ^a	48,5 ^a	89,0 ^{ab}	95,3 ^a	125,3 ^{ab}	125,3 ^{ab}
AWD	28,6 ^a	45,0 ^a	87,0 ^b	95,5 ^a	124,3 ^b	124,3 ^b
<i>LSD (0.05)</i>	0,86	3,68	2,90	0,79	1,23	1,23

CV %	3,65	9,85	4,00	1,02	1,36	1,21
------	------	------	------	------	------	------

Kết quả ở bảng 1 cho thấy cây đẻ nhánh sớm sau khi gieo. Số nhánh ở 2 TSG trung bình là 185,3 nhánh/m². Ở 2TSG, cây ở chế độ tưới AWD ra nhánh nhiều nhất trong khi không có sự khác biệt đáng kể về số nhánh giữa CF và MD. Số nhánh tăng đáng kể ở 4 TSG và 6 TSG và cây ở chế độ tưới MD cho thấy số nhánh thấp nhất trong khi không có sự khác biệt đáng kể giữa CF và AWD. Ở 8TSG, số nhánh ở cả ba công thức đều có xu hướng giảm, điều này chỉ ra sự cạnh tranh giữa cây và carbohydrate ưu tiên cho sự phát triển của hạt, do đó một số nhánh nhỏ đã chết. Ở 8TSG, số nhánh cao nhất ở AWD, tiếp theo là MD và số nhánh thấp nhất được quan sát thấy ở CF. Ở 10 WAS, số nhánh liên tục giảm. Cây ở AWD cho thấy số nhánh cao nhất trong khi không có sự khác biệt đáng kể giữa CF và MD. Ở 12TSG (lần đo cuối cùng), số nhánh tiếp tục giảm và số nhánh trung bình là 285. Số nhánh cao nhất được quan sát thấy ở công thức AWD (295,0 nhánh) và MD (291,7 nhánh) trong khi số nhánh thấp nhất ở công thức CF (275,67 nhánh).

Bảng 2. Ảnh hưởng của quản lý nước đến số nhánh (nhánh/m²) của lúa

Công thức	2TSG	4TSG	6TSG	8TSG	10TSG	12TSG
CF	192,0 ^a	684,7 ^a	801,5 ^a	668,0 ^c	343,7 ^b	275,7 ^b
MD	190,0 ^a	679,3 ^a	730,9 ^b	624,3 ^b	340,7 ^b	291,7 ^a
AWD	195,0 ^a	680,0 ^a	821,3 ^a	694,1 ^a	360,0 ^a	295,0 ^a
<i>LSD (0.05)</i>	4,72	5,67	26,96	14,61	9,88	10,97
<i>CV (%)</i>	8,66	6,05	2,88	2,18	3,48	4,67

(CF: Continuous flooding; MD: Mid-drying; AWD: Alternate wetting and drying)

Trong thí nghiệm, vụ mùa 2023 lúa ít bị nhiễm sâu bệnh, do đó không sử dụng thuốc bảo vệ thực vật. Tuy nhiên, sâu cuốn lá lúa (*Cnaphalocrocis medinalis*) đã được quan sát thấy trong giai đoạn đẻ nhánh và hai tuần sau khi trở bông. Kết quả nghiên cứu cho thấy tất cả các công thức đều bị sâu cuốn lá gây hại ở mức 3 ở giai đoạn 3 TSG, tuy nhiên, công thức tưới ngập liên tục CF có mức độ nhiễm sâu cuốn lá nhiều nhất ở giai đoạn trổ hoa.

Bảng 3. Ảnh hưởng của quản lý nước đến mức nhiễm sâu cuốn lá của giống lúa Bắc thơm số 7

Công thức	4 TSG (điểm)	Trổ (điểm)
CF	3	3
MD	3	1

Đánh giá theo : TCVN 13381-1:2023

Trong ba công thức, công thức CF cho thấy khả năng chống đổ của cây lúa thấp nhất, tiếp theo là ở công thức MD, trong khi tỷ lệ cây đổ ở AWD rất ít. Khả năng chống đổ cao hơn của cây lúa ở MD và AWD được giải thích là do tác động của việc thoát nước, kích thích rễ cây phát triển sâu hơn và lớn hơn. Hơn nữa, thân cây cũng cứng hơn và có khả năng chống gió tốt hơn.

Bảng 4. Ảnh hưởng của quản lý nước đến khả năng chống đổ của lúa

Treatment	Mức độ đổ (điểm)*
CF	9
MD	5
AWD	1

**Đánh giá theo TCVN 13381-1:2023.*



MD



CF



AWD

Hình 3: Lúa đổ ở giai đoạn thu hoạch

3.4. Ảnh hưởng của quản lý nước đến năng suất của lúa

Số lượng bông/m² cao nhất được quan sát thấy ở công thức AWD với 283 bông/m², tiếp theo là MD với 277 bông/m² và số bông lúa thấp nhất được quan sát thấy ở công thức CF với 273 bông/m².

Tỷ lệ hạt chắc ở công thức CF là 92%, tiếp đến là AWD 91,3%, và thấp nhất ở MD 87,4%. Mặc dù có số lượng bông và tỷ lệ hạt chắc cao nhất, nhưng chế độ xử lý CF có khối lượng 1000 hạt thấp nhất (17,0g) trong khi khối lượng 1000 hạt cao nhất đạt được ở AWD (17,3g), tiếp theo là MD (17,1g).

Năng suất hạt cao nhất ở công thức AWD (5,1 tấn/ha), trong khi năng suất thấp nhất được ghi nhận ở công thức CF. Ở công thức MD, năng suất hạt có xu hướng cao hơn ở công thức CF (6,1%), nhưng thấp hơn đáng kể so với công thức AWD.

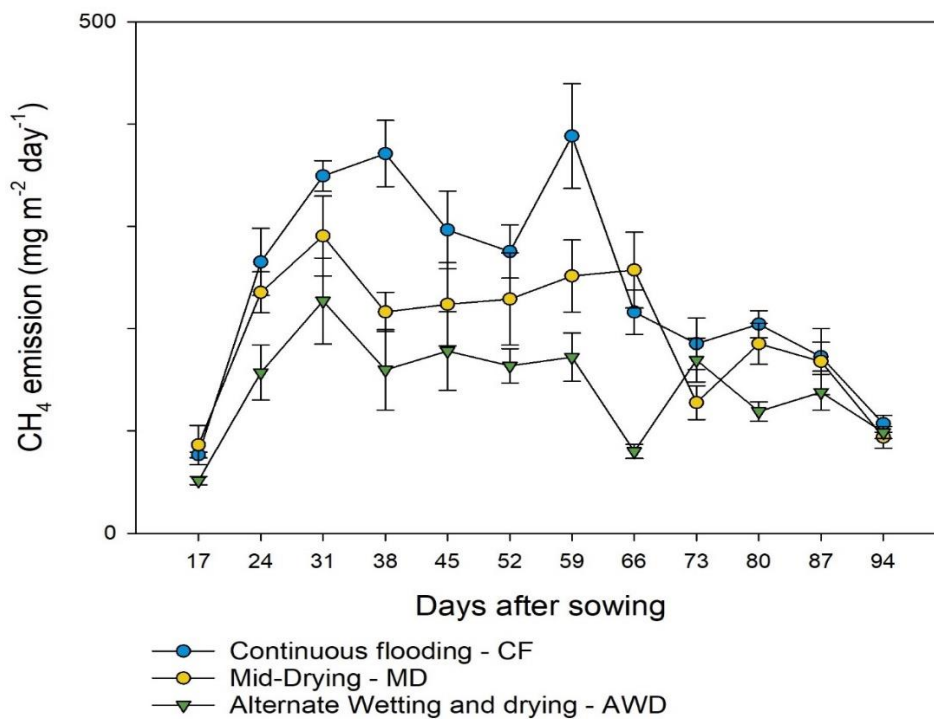
Năng suất lúa thấp nhất ở công thức CF có thể được giải thích là do lúa bị đổ do chịu ảnh hưởng của gió mùa khoảng 10 ngày trước khi thu hoạch, dẫn đến tỷ lệ đổ ngã cao. Tỷ lệ đổ ngã ở công thức MD thấp hơn đáng kể so với công thức CF, trong khi cây lúa ở công thức AWD hầu như không bị ảnh hưởng bởi gió mùa. Ở công thức CF, rễ cây lúa không phát triển sâu, trong khi chồi yếu do số lượng nhánh vô hiệu cao và tình trạng nhiễm sâu bệnh hại nhiều.

Bảng 5. Các yếu tố cấu thành năng suất của lúa

Công thức	Số bông/m ²	Số hạt/bông	Tỷ lệ hạt chắc (%)	P1000 hạt (g)
CF	273 ^b	167,3 ^a	92,0	17,0 ^a
MD	277 ^{ab}	161,0 ^a	87,4	17,1 ^a
AWD	283 ^a	154,8 ^b	91,3	17,3 ^a
LSD (0.05)	7.06	6,56	-	0,69
CV (%)	18.13	15,77	-	1,19

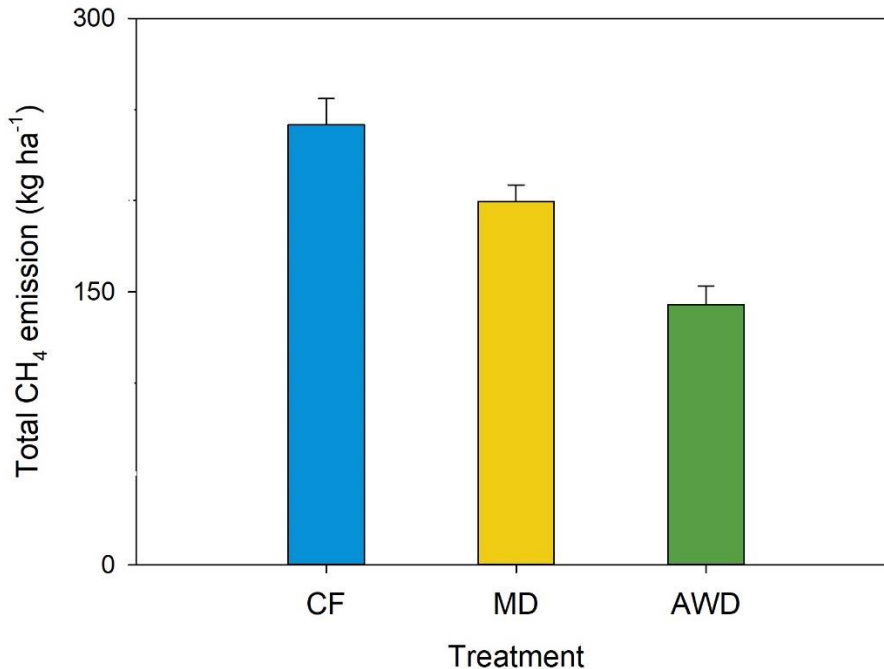
3.4. Ảnh hưởng của quản lý nước đến phát thải khí mê-tan

Lượng khí thải CH₄ hàng ngày tăng mạnh từ 17 đến 34 NSG ở tất cả các công thức. Trong công thức CF, lượng khí thải CH₄ đạt trung bình 371 mg CH₄/ha/ngày ở 38 NSG. Trong giai đoạn từ 59 đến 66 NSG, lượng khí thải CH₄ có xu hướng tăng trở lại trong công thức CF, đạt 388 mg CH₄/ha/ngày. Lượng khí thải CH₄ trong công thức MD thấp hơn đáng kể so với trong CF, đặc biệt là trong quá trình thoát nước nhân tạo. AWD làm giảm đáng kể lượng khí thải CH₄ hàng ngày so với CF và MD trong hầu hết các giai đoạn đo lường.



Hình 4: Ảnh hưởng của quản lý nước đất phát thải khí mê-tan trên lúa

Trong thí nghiệm của chúng tôi, tổng lượng khí thải CH₄ trong vụ cao nhất ở CF, tiếp theo là MD và thấp nhất ở AWD. Công thức tưới MD giảm 17,5% và AWD giảm 49,4% lượng khí thải CH₄ theo mùa so với CF. Điều này cho thấy việc áp dụng tưới tiết kiệm nước có thể làm giảm đáng kể lượng khí thải CH₄ trên ruộng lúa.



Hình 5: Tổng mức phát thải khí mê-tan trên lúa ở các công thức

4. KẾT LUẬN

Kết quả của chúng tôi cho thấy cả hai phương pháp tưới tiết kiệm nước AWD ảnh hưởng tốt đến sinh trưởng của lúa. Cả hai phương pháp tưới AWD và MD đều làm giảm mức độ nhiễm sâu bệnh và khả năng chống đổ của lúa, dẫn đến làm tăng năng suất lúa. Cây lúa trong hệ thống tưới tiết kiệm nước (AWD và MD) có khả năng chống đổ ngã cao hơn so với CF, điều này làm giảm đáng kể tỷ lệ đổ ngã của cây lúa dưới tác động của gió mùa. Do đó, cả AWD và MD đều có thể làm tăng năng suất lúa trong những điều kiện như vậy so với CF. Tưới tiết kiệm nước AWD và MD đều làm giảm đáng kể lượng khí thải CH₄. Giảm phát thải CO₂ và tăng năng suất lúa là ưu điểm của AWD, điều này mở ra cơ hội tạo ra tín chỉ carbon thông qua quản lý nước tưới cho lúa, khuyến khích người nông dân áp dụng phương pháp tưới này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Minamikawa, K., Tokida, T., Sudo, S., Padre, A., Yagi, K. (2015). Guidelines for measuring CH₄ and N₂O emissions from rice paddies by a manually operated closed chamber method. National Institute for Agro-Environmental Sciences, Tsukuba, Japan

FAOSTAT [WWW Document] (2024). URL <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC> (accessed 20.09.24).

GRiSP (2013): Rice almanac: source book for one of the most economic activities on Earth., 4th ed.
International Rice Research Institute (IRRI), Los Baños, Philippines.

Smith, P., Reay, D., Smith, J. (2021). Agricultural methane emissions and the potential for mitigation.
Philos. Trans. R. Soc. Math. Phys. Eng. Sci. 379, 20200451.

Tổng cục thống kê (2024). <https://www.gso.gov.vn/> (Truy cập ngày 16/9/2024).

ĐÁNH GIÁ HIỆU LỰC CỦA MỘT SỐ THUỐC TRỪ SÂU ĐỐI VỚI SÂU KEO DA LÁNG *Spodoptera exigua* (Hübner) HẠI HÀNH TẠI HÀ NỘI NĂM 2024

Nguyễn Đức Khánh, Lê Ngọc Anh*, Hồ Thị Thu Giang

Khoa Nông học, Học viện Nông nghiệp Việt Nam

* Tác giả liên hệ lengocanh@vnua.edu.vn

ABSTRACT

The beet armyworm *Spodoptera exigua* (Hübner) is currently a dangerous pest on onions in many growing areas of Vietnam. Chemical control methods, despite their adverse ecological effects, still play the key role for *S. exigua* management. This study aims to select insecticides that can effectively control the *S. exigua* from the laboratory-based to the field scale, hence suggest for the most effective product should be applied against *S. exigua*. Besides, lethal effect of the most potential insecticide on each developmental stage of the *S. exigua* was evaluated. In total 5 chemical pesticides and 4 biological insecticides were evaluated in the laboratory. The results showed that the control efficacy of chemical pesticides was ranged from high to low in the order Incipio 100DC > Radiant 60SC > Solo 350SC > Vayego 200SC > Prevathon 5SC and biological insecticides Akasa 25SC > Az Tron WG > Sokupi 0.5SL > Proclaim 1.9EC. The small-scale field trial was conducted with the 9 pesticides mentioned above, result of which showed Incipio 100DC, Solo 350SC, Radiant 60SC, Akasa 25SC and AZ Tron WG have highly effective in controlling onion worm. Large-scale field trial showed that Radiant 60SC is the most suitable product to control *S. exigua* on onion. Radiant 60SC has a high lethal effect on the developmental stages of *S. exigua* such as neonates, 1st instar larvae, 2nd instar larvae, and 3rd instar larvae. Based on the results of this study, we recommend that Radiant 60SC could be maintain used to effectively control *S. exigua*.

Keyword: Onion worm, *Spodoptera exigua*, insecticide, efficacy, mortality.

TÓM TẮT

Sâu keo da láng *Spodoptera exigua* (Hübner) hiện là loài sâu hại nguy hiểm trên cây hành tại nhiều vùng canh tác của Việt Nam. Công tác phòng trừ loài sâu hại trên hành này vẫn dựa chủ yếu vào biện pháp hóa học đặt ra nhiều nguy cơ tiềm ẩn như ô nhiễm môi trường, an toàn thực phẩm và vấn đề sâu kháng thuốc. Nghiên cứu thực hiện trong phòng thí nghiệm và ngoài đồng nhằm đánh giá hiệu lực sinh học của các thuốc thương phẩm đối với sâu keo da láng, trên cơ sở đó khuyến cáo loại thuốc trừ sâu đạt hiệu quả nhất, đồng thời xác định ảnh hưởng gây chết của thuốc trừ sâu tiềm năng nhất lên từng giai đoạn phát triển của sâu keo da láng. Hiệu lực của 5 thuốc trừ sâu hóa học và 4 thuốc trừ sâu sinh học được đánh giá trong phòng thí nghiệm, kết quả ghi nhận hiệu lực trừ sâu đạt cao sau 4 ngày xử lý từ cao nhất (100%) tới thấp nhất (75,9%) theo thứ tự các thuốc hóa học Incipio 100DC > Radiant 60SC > Solo 350SC > Vayego 200SC > Prevathon 5SC và các thuốc sinh học hiệu lực sau 5 ngày xử lý đạt cao nhất từ 93,3% đến thấp nhất 73,3% theo thứ tự Akasa 25SC > Az Tron WG > Sokupi 0,5SL > Proclaim 1.9EC. Thử nghiệm đánh giá hiệu lực ngoài đồng theo quy mô diện hẹp và diện rộng tiến hành với 9 loại thuốc trừ sâu kể trên, hiệu lực sinh học các thuốc đều đạt thấp hơn so với trong phòng thí nghiệm và kết quả xác định được thuốc trừ sâu là Incipio 100DC, Radiant 60SC, Akasa 25SC và AZ Tron WG là những thuốc có khả năng phòng trừ sâu keo da láng hiệu quả cao. Trên cơ sở kết quả thử nghiệm đánh giá hiệu lực ngoài đồng diện rộng, thuốc Radiant 60SC là thuốc thích hợp nhất kiểm soát quần thể sâu keo da láng *S. exigua*, đây cũng là thuốc có mức độ ảnh hưởng gây chết cao đối với các pha phát triển của sâu keo da láng như sâu non mới nở, sâu non tuổi 1, tuổi 2, tuổi 3.

Từ khóa: Sâu keo da láng, *Spodoptera exigua*, thuốc trừ sâu, hiệu lực, tỷ lệ chết

IMPACT OF SOIL TEXTURES ON N FATE AND MAIZE GROWTH UNDER DIFFERENT MFW RATES

BUI NGOC TAN

Faculty of Agronomy, Vietnam National University of Agriculture, Vietnam.

ABSTRACT

The study aimed to optimize methane fermentation waste fluid (MFW) rates for maize growth and clarify the fate of N from MFW application depending on the soil texture. MFW boosted yield and nitrogen (N) uptake more on sandy loam soil than on clayey loam soil, as did chemical fertilizer. However, raising MFW rates caused severe NH_3 volatilization and NO_3 leaching, especially on clayey loam soil. Therefore, it is necessary to consider the impact of soil texture to mitigate N loss while ensuring the maize yield with MFW application.

Keywords: *Upland field, Biogas waste, N distribution, Environmental impact*

INTRODUCTION

Nitrogen (N) is the most essential nutrient for the ecosystem and human life. However, excess N application in both kinds of chemical or organic fertilizers damages the ecosystem and human health (Vries, 2021; Nieder & Benbi, 2022) through $\text{NO}_3\text{-N}$ leaching and N emissions (Smith et al., 1999; Akiyama et al., 2004; Chalk et al., 2012; Bijay-Singh & Craswell, 2021). Quantifying N distribution from fertilizer to plants, soils, and environmental loss is essential to managing N fertilizer practice in sustainable agriculture (Allison, 1966; Anas et al., 2020).

Methane fermentation waste fluid (MFW) or digestate is the waste from biogas production used as a cheaper source of N, which was adapted to sustainable agriculture by utilizing local agricultural waste sources (Haraldsen et al., 2011; Scarlat et al., 2018; Baştıbak and Koçar 2020). The waste contains mainly $\text{NH}_4\text{-N}$, divert of bacteria, high pH, and low C: N ratio in comparison with original feedstocks (Akhiar, 2017; Risberg et al., 2017; Iocoli et al., 2019; Logan & Visvanathan, 2019). MFW has been used as a biofertilizer for crops, not only as a cheaper source than chemical fertilizers (Fumiko 2016) but also as safety and stabilize soil microbial diversity than undigested manures (Abubaker et al. 2013; Coelho et al. 2020). Furthermore, soil texture is the most critical factor influencing maize growth and N transaction (Aulakh et al., 1996; Li et al., 2023). However, there was limited understanding of the impact of soil textures and MFW rates on the growth of maize cultivation and quantifying the fate of N. Therefore, to fully understand the N fate for improving the MFW utilization on maize production in various soil conditions, we conducted this study, aiming (i) to identify the impact of MFW rates on maize growth and the fate of N under contrasting soil texture types with sandy loam soil and clayey loam soil by using the tracer isotope method; (ii) to determine the optimum rate of MFW for maize in each soil texture type while minimizing the environmental impacts in comparison with chemical fertilizer.

MATERIALS AND METHODS

The experiments were conducted with two types of soil: Sandy loam soil (SL) and Clay loam soil (CL), three levels of total N-MFW at 375 mg pot^{-1} (0.5N-MFW), 750 mg pot^{-1} (1N-MFW), and 1500 mg pot^{-1}

(2N-MFW), compared with chemical fertilizer (1N-Chem) at 750 mg pot⁻¹ (15 kg N ha⁻¹ equivalent, as the Japanese recommendation for maize) and control treatments (without N fertilizer). ¹⁵N-NH₄Cl was mixed in all treatments to trace the fate of N derived from inorganic fertilizer (Ndfif). All fertilizer was applied into the pot at the basal and mixed well with the top layer. Daily watering in each pot was determined for each growing stage by the [Blaney-Criddle Method](#) following FAO's irrigation water management guidance (FAO, 1986). Artificial rainfall was applied every three days after transplanting, referring to the average monthly rainfall during the cultivation season in Kyoto for 20 years (2000 - 2020).

The plant's height and Soil Plant Analysis Development (SPAD) chlorophyll values every two weeks following transplantation. Dry biomass and yield were measured after harvesting.

The NH₃ gas emission was collected immediately by the vented chamber method, described by Wang et al. (2004) and Chen et al. (2012). N₂O Gas was collected by the closed chamber method (Kim et al., 2021) in 2-4 day intervals over three weeks, every two weeks during the growth stage, and monthly after harvest. The leachate solution was collected from the bottom of the pot every three days until the flowering stage and weekly during the maturity stage until harvesting.

The total N in the leached solution was examined by the TOC_TN analyzer (Shimadzu, Japan). At the same time, the inorganic N (NH₄-N, NO₃-N) was analyzed by the FIA system (Shimadzu, Japan). Plant and soil samples collected after harvesting were oven-dried at 70 and 105°C, respectively, for a total N and ¹⁵N content analysis by EA-IRMS system (Thermo Fisher).

RESULTS

The yield of maize was significantly enhanced in sandy loam soil than in clayey loam soil. It resulted in higher N recovery by plants, leading to less N loss to the environment in sandy loam soil than in clayey loam soil. However, higher clay content enhanced N remains in the soil.

As MFW increased, the growth and yield of maize were improved for both soil types. MFW booth maize yields similar chemical fertilizers for both soil types. The content of Ndfif in plants and soil and loss to the environment increased linearly with MFW rates and was influenced by soil textures. The sum-up of the N recovery rate in plant and soil was not significantly different between MFW application rates, fertilizer types and was more stable in sandy loam soil. Meanwhile, N loss from MFW applications was severe due to increasing rates in clay loam soil, mainly due to NH₃-N volatilization and NO₃-N leaching. The percentage of Ndfif recovered by the plant was significantly higher in SL soil (54.6 ± 3.5% to 67.9 ± 1.7%) than in CL soil (22.9 ± 1.8% to 65.9 ± 0.8%). However, this recovery does not display a linear relationship with MFW rates. Contrastingly, although the proportion of Ndfif retained in soil significantly decreased with increasing MFW rates, it was significantly higher in CL soil (18.1 ± 1.8% to 26.0 ± 1.1%) than in SL soil (13.3 ± 0.8% to 20.2 ± 2.5%).

The suitable rate of MFW for SL soil and CL soil was 700 mg N and 500 mg N pot⁻¹, respectively.

CONCLUSION

Soil texture is the main factor influencing maize growth and the fate of N from fertilizer. Even though MFW has lower N recovery compared to chemical fertilizer, it can also provide enough N for maize yield. The optimum MFW rate strongly depends on each soil texture type. Our finding suggested that it

must be considered to mitigate the N loss when using MFW in the environment, especially for soils with higher clayey content.

REFERENCE

- Abubaker, J., H. Cederlund, V. Arthurson, and M. Pell. 2013. 'Bacterial Community Structure and Microbial Activity in Different Soils Amended with Biogas Residues and Cattle Slurry'. *Applied Soil Ecology* 72 (October):171–80. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2013.07.002>.
- Akhiar, A. 2017. 'Characterization of Liquid Fraction of Digestates after Solid-Liquid Separation from Anaerobic Co-Digestion Plants'. *Chemical and Process Engineering. Université Montpellier, 2017. English. NNT: 2017MONT004. Tel-01684830*, 240.
- Akiyama, H., I. P. McTaggart, B. C. Ball, and A. Scott. 2004. 'N₂O, NO, and NH₃ Emissions from Soil after the Application of Organic Fertilizers, Urea and Water'. *Water, Air, and Soil Pollution* 156 (1): 113–29. <https://doi.org/10.1023/B:WATE.0000036800.20599.46>.
- Allison, F. E. 1966. 'The Fate of Nitrogen Applied to Soils'. In *Advances in Agronomy*, edited by A. G. Norman, 18:219–58. Academic Press. [https://doi.org/10.1016/S0065-2113\(08\)60651-3](https://doi.org/10.1016/S0065-2113(08)60651-3).
- Anas, M., F. Liao, K. K. Verma, M. A. Sarwar, A. Mahmood, Z. L. Chen, Q. Li, X. P. Zeng, Y. Liu, and Y. R. Li. 2020. 'Fate of Nitrogen in Agriculture and Environment: Agronomic, Eco-Physiological and Molecular Approaches to Improve Nitrogen Use Efficiency'. *Biological Research* 53 (1): 47. <https://doi.org/10.1186/s40659-020-00312-4>.
- Aulakh, M., K. Singh, B. Singh, and J. Doran. 1996. 'Kinetics of Nitrification under Upland and Flooded Soils of Varying Texture'. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 27 (May)::2079-2089. <https://doi.org/10.1080/00103629609369689>.
- Baştabak, B., and G. Koçar. 2020. 'A Review of the Biogas Digestate in Agricultural Framework'. *Journal of Material Cycles and Waste Management* 22 (5): 1318–27. <https://doi.org/10.1007/s10163-020-01056-9>.
- Bijay-Singh, and E. Craswell. 2021. 'Fertilizers and Nitrate Pollution of Surface and Ground Water: An Increasingly Pervasive Global Problem'. *SN Applied Sciences* 3 (4): 518. <https://doi.org/10.1007/s42452-021-04521-8>.
- Chalk, P., A. Magalhães, and C. Inácio. 2012. 'Towards an Understanding of the Dynamics of Compost N in the Soil-Plant-Atmosphere System Using ¹⁵N Tracer'. *Plant and Soil* 362 (January). <https://doi.org/10.1007/s11104-012-1358-5>.
- Chen, D., L. Jiang, H. Huang, K. Toyota, R.A. Dahlgren, and J. Lu. 2012. 'Nitrogen Dynamics of Anaerobically Digested Slurry Used to Fertilize Paddy Fields'. Undefined. 2012. /paper/Nitrogen-dynamics-of-anaerobically-digested-slurry-Chen-Jiang/96fcc18d6d06879a8fe79bb47a89a648a866400.
- Coelho, J. J., A. Hennessy, I. Casey, C. R. S. Bragança, T. Woodcock, and N. Kennedy. 2020. 'Biofertilisation with Anaerobic Digestates: A Field Study of Effects on Soil Microbial Abundance and Diversity'. *Applied Soil Ecology* 147 (March):103403. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2019.103403>.
- FAO. 1986. 'Irrigation Water Management: Irrigation Water Needs'. 1986. <https://www.fao.org/3/S2022E/s2022e00.htm#Contents>.

- Fumiko, O. 2016. 'Use of Digested Slurry from Livestock Manure in Paddy Fields and Its Environmental Effect in Southeast Asia'. Renewable Energy and Resources Unit, Regional Resources Engineering Division: Kyoto University. <http://doi.org/10.14989/doctor.r13024>.
- Haraldsen, T. K., U. Andersen, T. Krogstad, and R. Sørheim. 2011. 'Liquid Digestate from Anaerobic Treatment of Source-Separated Household Waste as Fertilizer to Barley'. *Waste Management & Research* 29 (12): 1271–76. <https://doi.org/10.1177/0734242X11411975>.
- Iocoli, G. A., M. C. Zabaloy, G. Pasdevicelli, and M. A. Gómez. 2019. 'Use of Biogas Digestates Obtained by Anaerobic Digestion and Co-Digestion as Fertilizers: Characterization, Soil Biological Activity and Growth Dynamic of *Lactuca Sativa L.*' *Science of The Total Environment* 647 (January):11–19. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.07.444>.
- Kim, S. U., H. H. Lee, S. M. Moon, H. R. Han, and C. O. Hong. 2021. 'Nitrous Oxide Emissions and Maize Yield as Influenced by Nitrogen Fertilization and Tillage Operations in Upland Soil'. *Applied Biological Chemistry* 64 (1): 18. <https://doi.org/10.1186/s13765-021-00593-7>.
- Li, X., Y. Wang, G. Feng, Z. Xu, F. Meng, and Q. Gao. 2023. 'Differential Fertilizer Nitrogen Fates in Maize Cropping System among Three Soil Textures Based on ¹⁵N'. *Field Crops Research* 291 (February):108780. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2022.108780>.
- Logan, M., and C. Visvanathan. 2019. 'Management Strategies for Anaerobic Digestate of Organic Fraction of Municipal Solid Waste: Current Status and Future Prospects'. *Waste Management & Research* 37 (1_suppl): 27–39. <https://doi.org/10.1177/0734242X18816793>.
- Nieder, R., and D. K. Benbi. 2022. 'Reactive Nitrogen Compounds and Their Influence on Human Health: An Overview'. *Reviews on Environmental Health* 37 (2): 229–46. <https://doi.org/10.1515/reveh-2021-0021>.
- Risberg, K., H. Cederlund, M. Pell, V. Arthurson, and A. Schnürer. 2017. 'Comparative Characterization of Digestate versus Pig Slurry and Cow Manure – Chemical Composition and Effects on Soil Microbial Activity'. *Waste Management* 61 (March):529–38. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2016.12.016>.
- Scarlat, N., J. Dallemand, and F. Fahl. 2018. 'Biogas: Developments and Perspectives in Europe'. *Renewable Energy* 129 (March). <https://doi.org/10.1016/j.renene.2018.03.006>.
- Smith, V. H., G. D. Tilman, and J. C. Nekola. 1999. 'Eutrophication: Impacts of Excess Nutrient Inputs on Freshwater, Marine, and Terrestrial Ecosystems'. *Environmental Pollution* 100 (1–3): 179–96. [https://doi.org/10.1016/S0269-7491\(99\)00091-3](https://doi.org/10.1016/S0269-7491(99)00091-3).
- Vries, W. de. 2021. 'Impacts of Nitrogen Emissions on Ecosystems and Human Health: A Mini Review'. *Current Opinion in Environmental Science & Health* 21 (June):100249. <https://doi.org/10.1016/j.coesh.2021.100249>.
- Wang, Z. H., X. J. Liu, X. T. Ju, F. S. Zhang, and S. S. Malhi. 2004. 'Ammonia Volatilization Loss from Surface-Broadcast Urea: Comparison of Vented- and Closed-Chamber Methods and Loss in Winter Wheat–Summer Maize Rotation in North China Plain'. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 35 (19–20): 2917–39. <https://doi.org/10.1081/CSS-200036499>.