

P-ISSN 1859-4794 * E-ISSN 2615-9929

TẬP 67, SỐ 11, THÁNG 11 NĂM 2025
VOLUME 67, NUMBER 11, NOVEMBER 2025

TẠP CHÍ & KHOA HỌC CÔNG NGHỆ

Vietnam Journal of Science and Technology - MOST VIỆT NAM



HỘI ĐỒNG BIÊN TẬP

Chủ tịch

Châu Văn Minh - Viện Hàn lâm KH&CN Việt Nam, Việt Nam

Thành viên

Nguyễn Việt Anh - Trường Đại học Xây dựng, Việt Nam

Bùi Chí Bửu - Viện Khoa học Kỹ thuật Nông nghiệp miền Nam, Việt Nam

Vũ Dũng - Hội Tâm lý học Việt Nam, Việt Nam

Trần Thọ Đạt - Đại học Kinh tế Quốc dân, Việt Nam

Nguyễn Đình Đức - Trường Đại học Công nghệ, Đại học Quốc gia Hà Nội, Việt Nam

Vũ Minh Giang - Đại học Quốc gia Hà Nội, Việt Nam

Trương Nam Hải - Viện Công nghệ Sinh học, Viện Hàn lâm KH&CN Việt Nam, Việt Nam

Trần Thanh Hải - Trường Đại học Mở - Địa chất, Việt Nam

Phạm Huy Khang - Trường Đại học Giao thông Vận tải, Việt Nam

Phạm Gia Khánh - Hội Ghép tạng Việt Nam, Việt Nam

Hồ Đắc Lộc - Trường Đại học Công nghệ TP. Hồ Chí Minh, Việt Nam

Nguyễn Thị Mỹ Lộc - Trường Đại học Giáo dục, Đại học Quốc gia Hà Nội, Việt Nam

Bành Tiến Long - Đại học Bách khoa Hà Nội, Việt Nam

Lê Quan Nghiêm - Đại học Y Dược TP. Hồ Chí Minh, Việt Nam

Mai Trọng Nhuận - Đại học Quốc gia Hà Nội, Việt Nam

Trần Hữu Phúc - Hội đồng Giáo sư Nhà nước, Việt Nam

Nguyễn Thanh Phương - Trường Đại học Cần Thơ, Việt Nam

Nguyễn Thanh Thủy - Trường Đại học Công nghệ, Đại học Quốc gia Hà Nội, Việt Nam

Phạm Hùng Việt - Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội, Việt Nam

Tổng biên tập

Nguyễn Thị Hương Giang - Bộ Khoa học và Công nghệ, Việt Nam

Phó Tổng biên tập

Trần Anh Tú - Bộ Khoa học và Công nghệ, Việt Nam

Phạm Thị Minh Nguyệt - Bộ Khoa học và Công nghệ, Việt Nam

Ban biên tập

Phí Công Thường - Bộ Khoa học và Công nghệ, Việt Nam

Nguyễn Lan Phương - Bộ Khoa học và Công nghệ, Việt Nam

Lê Thị Bắc - Bộ Khoa học và Công nghệ, Việt Nam

Lê Thu Hiền - Bộ Khoa học và Công nghệ, Việt Nam

Hà Thị Minh Lộc - Bộ Khoa học và Công nghệ, Việt Nam

Phùng Thị Tuyết Mai - Bộ Khoa học và Công nghệ, Việt Nam

Tăng Xuân Bình - Bộ Khoa học và Công nghệ, Việt Nam

Trương Thị Thảo Dương - Bộ Khoa học và Công nghệ, Việt Nam

EDITORIAL BOARD

Chairman

Chau Van Minh - Vietnam Academy of Science and Technology, Vietnam

Members

Nguyen Viet Anh - National University of Civil Engineering, Vietnam

Bui Chi Bui - Institute of Agricultural Science for Southern Vietnam, Vietnam

Vu Dung - Vietnam Association of Social Psychology, Vietnam

Tran Tho Dat - National Economics University, Vietnam

Nguyen Dinh Duc - University of Engineering and Technology, VNU, Hanoi, Vietnam

Vu Minh Giang - VNU, Hanoi, Vietnam

Truong Nam Hai - Institute of Biotechnology, Vietnam Academy of Science and Technology, Vietnam

Tran Thanh Hai - Hanoi University of Mining and Geology, Vietnam

Pham Huy Khang - University of Transport and Communications, Vietnam

Pham Gia Khanh - Vietnam Society of Organ Transplantation, Vietnam

Ho Dac Loc - HUTECH University

Nguyen Thi My Loc - University of Education, VNU, Hanoi, Vietnam

Banh Tien Long - Hanoi University of Science and Technology, Vietnam

Le Quan Nghiem - University of Medicine and Pharmacy at Ho Chi Minh City, Vietnam

Mai Trong Nuan - VNU, Hanoi, Vietnam

Tran Huu Phuc - The State Council for Professorship, Vietnam

Nguyen Thanh Phuong - Can Tho University, Vietnam

Nguyen Thanh Thuy - University of Engineering and Technology, VNU, Hanoi, Vietnam

Pham Hung Viet - University of Science, VNU, Hanoi, Vietnam

Editor-in-Chief

Nguyen Thi Huong Giang - Ministry of Science and Technology, Vietnam

Deputy Editors-in-Chief

Tran Anh Tu - Ministry of Science and Technology, Vietnam

Pham Thi Minh Nguyệt - Ministry of Science and Technology, Vietnam

Managing Editors

Phi Cong Thuong - Ministry of Science and Technology, Vietnam

Nguyen Lan Phuong - Ministry of Science and Technology, Vietnam

Le Thi Bac - Ministry of Science and Technology, Vietnam

Le Thu Hien - Ministry of Science and Technology, Vietnam

Ha Thi Minh Loc - Ministry of Science and Technology, Vietnam

Phung Thi Tuyet Mai - Ministry of Science and Technology, Vietnam

Tang Xuan Binh - Ministry of Science and Technology, Vietnam

Truong Thi Thao Duong - Ministry of Science and Technology, Vietnam

TÒA SOẠN

115 Trần Duy Hưng, Phường Yên Hòa, Hà Nội, Việt Nam

Tel: (84.24) 39436793; Fax: (84.24) 39436794

Email: khcnvn@mst.gov.vn

Tạp chí điện tử: b.vjst.vn

GIẤY PHÉP XUẤT BẢN

Số 459/GP-BTTTT ngày 20/7/2021

Số 50/GP-BTTTT ngày 01/02/2023

Giá: 18000^d

EDITORIAL OFFICE

115 Tran Duy Hung Street, Yen Hoa Ward, Hanoi, Vietnam

Tel: (84.24) 39436793; Fax: (84.24) 39436794

Email: khcnvn@mst.gov.vn

E-journal: b.vjst.vn

PUBLICATION LICENCE

No. 459/GP-BTTTT 20th July 2021

No. 50/GP-BTTTT 1st February 2023

Nhân dòng và phân tích trình tự gen mã hoá dị nguyên Der f 1 từ mạt bụi nhà *Dermatophagoides farinae* trong *Escherichia coli*

Trần Thị Quỳnh Trang¹, Vũ Mai Phương¹, Nguyễn Thị Linh Chi¹, Nguyễn Thị Phương Liên¹, Nguyễn Quang Huy², Nguyễn Thị Anh Đào¹, Nguyễn Duy Hà³, Nguyễn Quỳnh Uyên¹, Hoàng Văn Vinh^{1*}

¹Viện Vi sinh vật và Công nghệ Sinh học, Đại học Quốc gia Hà Nội, 144 Xuân Thủy, phường Cầu Giấy, Hà Nội, Việt Nam

²Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội, 334 Nguyễn Trãi, phường Thanh Xuân, Hà Nội, Việt Nam

³Viện Y học Dự phòng Quân đội, 21 Trung Liệt, phường Đồng Đa, Hà Nội, Việt Nam

Ngày nhận bài 22/11/2024; ngày chuyển phân biện 25/11/2024; ngày nhận phân biện 20/12/2024; ngày chấp nhận đăng 25/12/2024

Tóm tắt:

Kháng nguyên Der f 1 của *Dermatophagoides farinae* (*D. farinae*) là một trong những tác nhân chính gây dị ứng mạt bụi nhà. Mục tiêu của nghiên cứu là tách dòng gen mã hóa kháng nguyên Der f 1 từ *D. farinae* được thu thập tại Việt Nam làm cơ sở cho việc phát triển protein Der f 1 tái tổ hợp. Sản phẩm khuếch đại toàn bộ trình tự mã hóa cho Der f 1 (thực hiện bằng phản ứng PCR 3 bước, sử dụng cDNA tổng hợp từ RNA của *D. farinae*) được nhân dòng trong vector pGEM-T và biến nạp vào vi khuẩn *Escherichia coli* DH5α. Plasmid tái tổ hợp được sàng lọc bằng PCR khuẩn lạc và giải trình tự theo phương pháp Sanger. Trình tự gen Der f 1 và amino acid suy diễn tương ứng có độ tương đồng 99% so với các trình tự nucleotide và amino acid tham chiếu trên GenBank (mã số lần lượt là AB034946.1 và ABL84751.1). Trình tự gen Der f 1 từ *D. farinae* thu thập tại Việt Nam đã được đăng ký trên GenBank với mã số PP417680.1. Kết quả nghiên cứu cung cấp dữ liệu nền tảng quan trọng cho các nghiên cứu về protein Der f 1 tái tổ hợp, phục vụ cho chẩn đoán và điều trị dị ứng mạt bụi nhà bằng liệu pháp miễn dịch đặc hiệu tại Việt Nam.

Từ khóa: *Dermatophagoides farinae*, dị nguyên Der f 1, nhân dòng, PCR.

Chỉ số phân loại: 1.6, 2.6, 3.5

Cloning and analysis of the antigen-coding gene Der f 1 from house dust mite *Dermatophagoides farinae* in *Escherichia coli*

Thi Quynh Trang Tran¹, Mai Phuong Vu¹, Thi Linh Chi Nguyen¹, Thi Phuong Lien Nguyen¹, Quang Huy Nguyen², Thi Anh Dao Nguyen¹, Duy Ha Nguyen³, Quynh Uyen Nguyen¹, Van Vinh Hoang^{1*}

¹Institute of Microbiology and BioTechnology, Vietnam National University - Hanoi, 144 Xuan Thuy Street, Cau Giay Ward, Hanoi, Vietnam

²Hanoi University of Science, Vietnam National University - Hanoi, 334 Nguyen Trai Street, Thanh Xuan Ward, Hanoi, Vietnam

³Military Institute of Preventive Medicine, 21 Trung Liet Street, Dong Da Ward, Hanoi, Vietnam

Received 22 November 2024; revised 20 December 2024; accepted 25 December 2024

Abstract:

Der f 1, an allergen from *Dermatophagoides farinae* (*D. farinae*), is one of the major causes of house dust mite (HDM) allergy. The aim of this study was to clone the gene encoding the Der f 1 allergen from *D. farinae* collected in Vietnam, providing a basis for the development of recombinant Der f 1 protein. The amplified product containing the full-length coding sequence of Der f 1 (obtained through a three-step PCR using cDNA synthesised from the RNA of *D. farinae*) was cloned into the pGEM-T vector and transformed into *Escherichia coli* DH5α. The recombinant plasmids were screened by colony PCR and sequenced using the Sanger method. The sequence of Der f 1 and its deduced amino acid had 99% similarities to the reference nucleotide and amino acid sequences in GenBank, with the accession number of AB034946.1 and ABL84751.1, respectively. The Der f 1 gene sequence from *D. farinae* collected in Vietnam has been deposited in GenBank under the accession number PP417680.1. The results of the study provide essential foundational data for further research on recombinant Der f 1 protein, supporting the diagnosis and treatment of house dust mite allergy through specific immunotherapy in Vietnam.

Keywords: cloning, Der f 1 allergen, *Dermatophagoides farinae*, PCR.

Classification numbers: 1.6, 2.6, 3.5

*Tác giả liên hệ: Email: vinh.imbt@gmail.com

1. Đặt vấn đề

Mạt bụi nhà (MBN) được xem là một trong những nguồn dị nguyên chính trong nhà, gây ra hơn 50% tổng số bệnh nhân bị dị ứng. *D. farinae*, một trong ba loài MBN chính gây dị ứng, thường gặp ở các nước có khí hậu khô lạnh [1]. Tuy nhiên, theo một nghiên cứu mới của D. Kim và cs (2024) [2], tỷ lệ phát hiện *D. farinae* trong bụi đệm giường tại Việt Nam lên đến 97%. Một số nghiên cứu khác cho thấy, tại miền Nam Việt Nam, tỷ lệ bệnh nhân bị dị ứng đường hô hấp có test lấy da (Skin Prick Test - SPT) dương tính và bị dị ứng với *D. farinae* là cao nhất (lần lượt là 59,8 và 54,3%) [3, 4]. Trong số 37 dị nguyên đã được xác định của *D. farinae*, các nhóm dị nguyên 1, 2 và 23 được xác định là dị nguyên chính do có khả năng liên kết cao với IgE và hoạt tính kháng nguyên mạnh [5]. Dị nguyên Der f 1 được xác định là dị nguyên chính (thuộc nhóm 1) và có hoạt tính cysteine protease. Trình tự nucleotide tại vùng biến đổi của gen mã hóa cho Der f 1 có sự đa dạng giữa các chủng *D. farinae* thu thập từ các khu vực khác nhau trên thế giới [6].

Các bệnh dị ứng do MBN nói chung và *D. farinae* nói riêng có thể gây ra các vấn đề hô hấp nghiêm trọng như viêm mũi dị ứng và hen suyễn, làm giảm chất lượng cuộc sống của bệnh nhân. Gần đây, việc ứng dụng các protein tái tổ hợp trong liệu pháp miễn dịch đặc hiệu chẩn đoán và điều trị dị ứng đã cho thấy những ưu điểm vượt trội (số lượng, độ tinh khiết, hoạt tính kháng nguyên, độ ổn định giữa các mẻ sản xuất và giảm nguy cơ gây phản ứng phụ) so với dịch chiết thô [7]. Các hệ tế bào chủ biểu hiện như *E. coli*, nấm men, hệ tế bào baculovirus-insect (baculovirus-insect cell system), hệ tế bào động vật có vú và tế bào thực vật đã được phát triển và sử dụng với mục đích biểu hiện các protein tái tổ hợp này [8, 9]. Hệ biểu hiện *E. coli* là hệ biểu hiện phổ biến nhất với nhiều ưu điểm như sự phát triển nhanh của tế bào chủ, thời gian sinh trưởng ngắn, dễ thao tác, hiệu suất sản xuất protein tái tổ hợp cao và giá thành thấp [10].

Tại Việt Nam, mặc dù tỷ lệ bệnh nhân dị ứng MBN nói chung và dị ứng với *D. farinae* nói riêng là khá cao, nhưng các nghiên cứu về vấn đề này vẫn chủ yếu tập trung vào điều tra, khảo sát tỷ lệ mắc cảm với từng loài dựa trên kết quả test lấy da và xét nghiệm IgE đặc hiệu [3, 4]. Ngoài ra, nguồn nguyên liệu dị nguyên sử dụng trong các xét nghiệm dị ứng vẫn phụ thuộc hoàn toàn vào nguồn dị nguyên nhập khẩu từ nước ngoài, dẫn đến một số nhược điểm về chi phí, thời gian, thủ tục, chất lượng và tính đặc trưng của dị nguyên. Do vậy, nghiên cứu này được thực hiện với mục đích tách dòng gen mã hóa cho kháng nguyên Der f 1 của *D. farinae* thu thập tại Việt Nam để làm nền tảng cho việc biểu hiện protein tái tổ hợp Der f 1, hướng tới việc phát triển các bộ kit chẩn đoán và liệu pháp miễn dịch đặc hiệu, phù hợp với nhu cầu trong nước cũng như giảm sự phụ thuộc vào nguồn nguyên liệu nhập khẩu.

2. Nguyên liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Nguyên liệu

Mẫu MBN *D. farinae* được thu nhận, định danh bằng phương pháp hình thái học và sinh học phân tử, lưu giữ tại -80°C [11]. Chủng vi khuẩn *E. coli* DH5α được cung cấp bởi hãng Fermentas (Thermo Fisher Scientific, Mỹ).

Vector tách dòng pGEM-T do Promega cung cấp và các cặp mồi được tổng hợp bởi hãng IDT (Mỹ). Các hóa chất và bộ kit đạt tiêu chuẩn trong lĩnh vực sinh học phân tử đã được sử dụng trong nghiên cứu.

Các hoá chất sử dụng trong nghiên cứu như Master Mix (Promega), Agarose (Promega), RedSafe (Intron)... đều có độ tinh khiết cao, đạt tiêu chuẩn sử dụng trong nghiên cứu sinh học phân tử.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Tách chiết RNA và tổng hợp cDNA [12]:

Quá trình tách chiết RNA tổng số từ mẫu *D. farinae* sử dụng bộ kit SV Total RNA Isolation System (Promega) được bổ sung thêm bước xử lý RNA với RQ1 RNase free DNase nhằm đảm bảo xử lý hoàn toàn DNA và thực hiện theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Nồng độ và độ tinh khiết (tỷ lệ $OD_{260\text{ nm}}/OD_{280\text{ nm}}$) của RNA tổng số được xác định bằng máy Nanodrop (ThermoFisher). Nồng độ RNA trong mẫu được xác định theo công thức sau:

$$\text{Nồng độ RNA } (\mu\text{g/ml}) = 40 \times OD_{260\text{ nm}} \times n$$

trong đó: $OD_{260\text{ nm}}$ là độ hấp thụ của dung dịch RNA ở 260 nm; 40 là nồng độ RNA ứng với $OD_{260\text{ nm}}=1$; n là hệ số pha loãng.

Sản phẩm cDNA thu nhận sau khi sử dụng RNA tổng số làm khuôn cho quá trình phiên mã ngược (bằng bộ kit SuperScript III Reverse Transcriptase, Invitrogen) được bảo quản ở -20°C để sử dụng cho các nghiên cứu sau.

Thiết kế các cặp mồi:

Hai cặp mồi được thiết kế sử dụng phần mềm Primer-BLAST dựa trên vùng bảo thủ của 32 trình tự gen mã hóa cho Der f 1 của các chủng *D. farinae* được công bố trên cơ sở dữ liệu GenBank là AB034946.1, DQ185509.1, EF139428.1, EF139429.1, EF139430.1, X65196.1, HQ009399.1, EU095368.1, AY283290.1, JN222804.1, KJ542085.1, KJ542084.1, KJ542083.1, KJ542082.1, KJ542081.1, KJ542080.1, KJ542079.1, KJ542078.1, KJ542077.1, KJ542076.1, KJ542075.1, KJ542074.1, KJ542073.1, KJ542072.1, KJ542071.1, KJ542070.1, KJ542069.1, KJ542068.1, KJ542067.1, KJ542066.1, KJ542065.1 và KJ542064.1.

Phản ứng PCR và điện di kiểm tra sản phẩm PCR [13]:

Phản ứng PCR được thực hiện với các cặp mồi F1/R2, F3/R3 và M13 F/M13 R, có thành phần là H₂O: 6,2 µl, GoTaq G2 Hot Start Green Mastermix, 2X: 10,0 µl, mồi F 10 µM: 0,4 µl, mồi R 10 µM: 0,4 µl, DNA khuôn: 3,0 µl và chương trình là: 95°C - 2 phút, (95°C - 30 giây, 59°C - 30 giây, 72°C - 60 giây) x 45 chu kỳ, 72°C - 5 phút. PCR khuôn lạc cũng được tiến hành tương tự như trên với DNA khuôn là dịch ly giải các khuẩn lạc đơn mọc trên môi trường LB có ampicillin với cặp mồi F1/R2 và cặp mồi M13 F/M13 R ở nhiệt độ gần mồi 60°C. Phản ứng PCR gộp mở rộng (Overlap Extension PCR) để tạo khuôn cho phản ứng khuếch đại toàn bộ gen mã hóa Der f 1, được thực hiện bằng cách trộn các sản phẩm PCR của cặp mồi F1/R1; F2/R2 và sử dụng chu trình nhiệt như sau: 95°C - 2 phút, (95°C - 30 giây, 59°C - 60 giây, 72°C - 60 giây) x 40 chu kỳ, 72°C - 5 phút. Các sản phẩm PCR được điện di trên gel agarose 1%, trong đệm TBE 1X và chụp ảnh bằng hệ thống soi gel ImageQuant™ LAS 500 (GE Healthcare, Mỹ).

Tách dòng sản phẩm PCR trong vector pGEM-T [14]:

Sản phẩm PCR được tách dòng trong vector pGEM-T theo hướng dẫn của bộ kit pGEM-T Vector Systems (Promega). Các khuẩn lạc đơn trên đĩa LB có ampicillin (50 µg/ml) được sàng lọc bằng PCR khuẩn lạc (PCR colony) với cặp mồi F1/R2 và M13 F/M13 R. Plasmid từ dịch nuôi cấy các khuẩn lạc (trong môi trường LB lỏng có bổ sung 50 µg/ml ampicillin) cho kết quả PCR dương tính với cả 2 cặp mồi trên, được tách bằng kit ZR Plasmid Miniprep (Zymo Research), rồi được giải trình tự theo phương pháp Sanger (Công ty DNA sequencing, Việt Nam).

So sánh trình tự nucleotide và trình tự amino acid:

Trình tự amino acid suy diễn từ trình tự nucleotide được xác định bằng công cụ Translate Tool trên ExPASy. Các trình tự amino acid và trình tự nucleotide được tải lên GenBank, thực hiện các bước so sánh với các trình tự đã được công bố tương ứng.

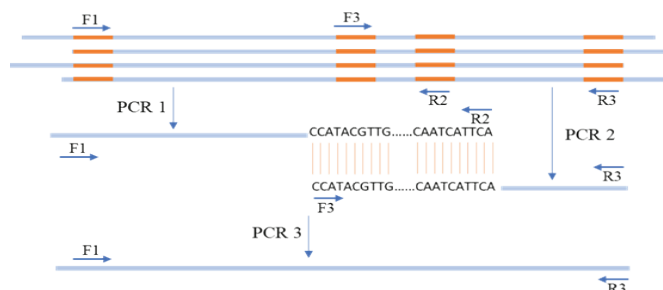
3. Kết quả

3.1. Thiết kế mồi cho phản ứng PCR khuếch đại gen mã hóa Der f 1

Dựa trên các vùng bảo thủ của 32 trình tự cDNA mã hóa cho kháng nguyên Der f 1 của *D. farinae*, trình tự 2 cặp mồi sử dụng trong phản ứng khuếch đại gen Der f 1 được chúng tôi thiết kế là F1: 5' TTCATCAAAAATGAAATTCGTTTGGCC 3' (có chiều dài là 28 nucleotide), R2: 5' TGAATGATTGTTTCGTCCATCATAATG 3' (có chiều dài là 26 nucleotide), F3: 5' CCATACGTTGCACGAGAACAAC 3' (có chiều dài là 22 nucleotide), và R3: 5' CAAATGTTACATGATTACAACATATGG 3' (có chiều dài là 28 nucleotide). Kích thước sản phẩm PCR của 2 cặp mồi F1/R2 và F3/R3 theo tính toán lý thuyết lần lượt là 786 và 394 bp, với 197 bp gộp nhau.

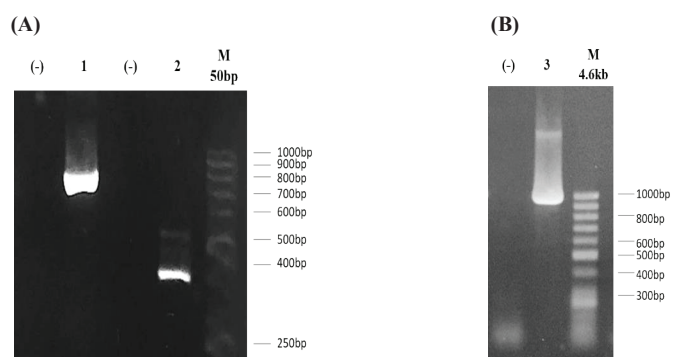
3.2. Lắp ráp cDNA hoàn chỉnh mã hóa Der f 1

RNA tổng số sau tách chiết đáp ứng yêu cầu về nồng độ (2806,90 ng/µl) và độ sạch (tỷ lệ OD_{260 nm}/OD_{280 nm}=1,83), được sử dụng để tạo cDNA, và cDNA này được sử dụng làm khuôn để khuếch đại toàn bộ trình tự mã hóa cho Der f 1 qua phản ứng PCR 3 bước liên tiếp (hình 1).



Hình 1. Sơ đồ thiết kế các mồi và phản ứng PCR 3 bước liên tiếp nhằm khuếch đại toàn bộ gen mã hóa cho Der f 1. PCR 1, PCR 2: sử dụng lần lượt cặp mồi F1/R2, F3/R3 và cDNA của *D. farinae* làm khuôn; PCR 3: sử dụng cặp mồi F1/R3 và khuôn là sản phẩm thu được khi thực hiện phản ứng nối kéo dài của PCR 1 và PCR 2; vùng màu vàng: trình tự vùng nucleotide bảo thủ của 32 trình tự mã hóa cho Der f 1.

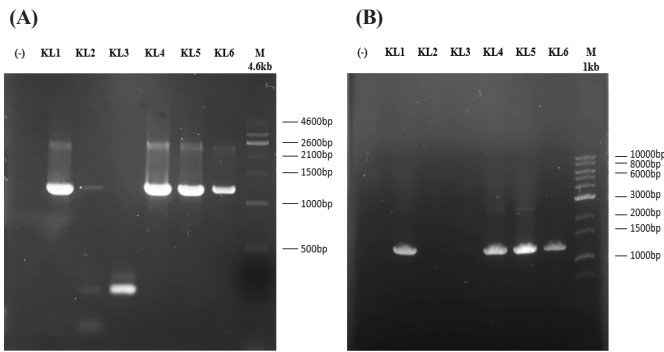
Kết quả các phản ứng PCR 1 và PCR 2 (lần lượt sử dụng cặp mồi F1/R2, F3/R3) cho thấy tính đặc hiệu (1 băng duy nhất) với kích thước phù hợp theo tính toán lý thuyết của 2 đoạn cDNA vùng 5' và 3' của gen Der f 1 (hình 2A). Sản phẩm PCR 3 cũng thu được 1 băng đậm với kích thước khoảng 1000 bp, phù hợp với tính toán theo lý thuyết của cDNA hoàn chỉnh mã hóa cho Der f 1 (hình 2B).



Hình 2. Sản phẩm PCR sử dụng cặp mồi F1/R2, F3/R3 (hình 2A) và F1/R3 (hình 2B). 1, 2: sản phẩm PCR 1 và PCR 2 lần lượt sử dụng cặp mồi F1/R2, F3/R3 và cDNA của *D. farinae* làm khuôn; 3: sản phẩm PCR 3 sử dụng cặp mồi F1/R3 và khuôn là sản phẩm thu được khi thực hiện phản ứng nối kéo dài của PCR 1 và PCR 2; (-): đối chứng âm sử dụng nước làm khuôn cho phản ứng PCR; M: thang chuẩn DNA.

3.3. Tách dòng cDNA mã hóa cho Der f 1 trong vector pGEM - T

Sau khi được thôi gel bằng kit Wizard SV Gel and Clean up system (Promega) sản phẩm PCR khuếch đại cDNA hoàn chỉnh mã hóa cho Der f 1 (kích thước khoảng 1000 bp), được đưa vào vector pGEM - T theo hướng dẫn của nhà sản xuất và biến nạp vào tế bào khả biến của *E. coli* DH5α. Các khuẩn lạc đơn trên đĩa LB có ampicillin được tiến hành sàng lọc PCR khuẩn lạc với cặp mồi F1/R3 và M13 F/M13 R (hình 3).



Hình 3. Sản phẩm PCR khuẩn lạc với cặp mồi F1/R3 (hình 3A) và cặp mồi M13 F/M13 R (hình 3B) của các khuẩn lạc sàng lọc. KL1, KL2, KL3, KL4, KL5, KL6: sản phẩm PCR sử dụng khuôn là DNA tổng số của các khuẩn lạc đơn tương ứng trên môi trường LB có ampicillin; (-): đối chứng âm sử dụng nước làm khuôn cho phản ứng PCR; M: thang chuẩn DNA.

Dermatophagoides farinae mRNA for Der f 1 allergen preproenzyme, complete cds
Sequence ID: [AB034946.1](#) Length: 1081 Number of Matches: 1

Score	Expect	Method	Identities	Gaps	Strand
1786 bits(967)	0.0	Compositional matrix adjust.	973/976(99%)	0/976(0%)	Plus/Plus
Query 1	TT CATCAAAATGAAATCGTTTGGCCATTGCTCTTTGGTATTGAGCACTGTTTA		60		
Sbjct 34	TT CATCAAAATGAAATCGTTTGGCCATTGCTCTTTGGTATTGAGCACTGTTTA		93		
Query 61	TGCTCGCCAGCTTCAATCAAAATTTTGAAGAAATCAAAAAGCCTTCAACAAAACTA		120		
Sbjct 94	TGCTCGCCAGCTTCAATCAAAATTTTGAAGAAATCAAAAAGCCTTCAACAAAACTA		153		
Query 121	TGCCACGTTGAAGAGGAAGGTTGCCCGTAAAAATTTTGGAAATCATGAAATATGT		180		
Sbjct 154	TGCCACGTTGAAGAGGAAGGTTGCCCGTAAAAATTTTGGAAATCATGAAATATGT		213		
Query 181	TGAAGCTAACAAAGGTGCTCAACCAATTTGTCGATTGTGATGGATGAATCAAAAA		240		
Sbjct 214	TGAAGCTAACAAAGGTGCTCAACCAATTTGTCGATTGTGATGGATGAATCAAAAA		273		
Query 241	CCGTTATTTGATGAGTGCCTGAAAGCTTTTGAACCACTCAAACTCAATTCGATTGAATGC		300		
Sbjct 274	CCGTTATTTGATGAGTGCCTGAAAGCTTTTGAACCACTCAAACTCAATTCGATTGAATGC		333		
Query 301	CGAAACAAAGCGCTTGCCTATCAATTCGGTTAACTTCATCGGAATTCGATTACGATC		360		
Sbjct 334	CGAAACAAAGCGCTTGCCTATCAATTCGGTTAACTTCATCGGAATTCGATTACGATC		393		
Query 361	ACTGCGAATGTCACCTCAATCGTATGCGAGGAGGCTGTGGTTCATGTTGGGCTTTCTC		420		
Sbjct 394	ACTGCGAATGTCACCTCAATCGTATGCGAGGAGGCTGTGGTTCATGTTGGGCTTTCTC		453		
Query 421	TGGTGTCCGCCCACTGAATCAGCTTATTTGGCTACCGTAACACGCTTTGGATCTTTT		480		
Sbjct 454	TGGTGTCCGCCCACTGAATCAGCTTATTTGGCTACCGTAACACGCTTTGGATCTTTT		513		
Query 481	TGAACAGGAATCGTGCATTCGCGATCTCAACACGATGTCACGGGATACAAATCAAG		540		
Sbjct 514	TGAACAGGAATCGTGCATTCGCGATCTCAACACGATGTCACGGGATACAAATCAAG		573		
Query 541	AGGCATCGAATACATCAACAAATGTTGCTGTTGAAGAAAGAGCTATCCATACGTTGC		600		
Sbjct 574	AGGCATCGAATACATCAACAAATGTTGCTGTTGAAGAAAGAGCTATCCATACGTTGC		633		
Query 601	ACGAGAACAAATGCGGACGACCAATTCGCAACATTACGGTATCTCAAACTACTGCCA		660		
Sbjct 634	ACGAGAACAAATGCGGACGACCAATTCGCAACATTACGGTATCTCAAACTACTGCCA		693		
Query 661	AGTTTATCCACAGATGTGAACAAATCGTGAAGCTTTGACTCAACACACACAGCTAT		720		
Sbjct 694	AGTTTATCCACAGATGTGAACAAATCGTGAAGCTTTGACTCAACACACACAGCTAT		753		
Query 721	TGCCGTCATTATTGGCATTAAAGATTTGAGAGCTTTTCAACATTATGATGGACGAACAT		780		
Sbjct 754	TGCCGTCATTATTGGCATTAAAGATTTGAGAGCTTTTCAACATTATGATGGACGAACAT		813		
Query 781	CATTGACATGACATGGTTATCAACAAATATCATGCCGTCAACATTGTCGGTTACGG		840		
Sbjct 814	CATTGACATGACATGGTTATCAACAAATATCATGCCGTCAACATTGTCGGTTACGG		873		
Query 841	AAGTACACAGCGGCTGATTATTGGATGCTACGAACAGTTGGGATACCTACCTGGGGTGA		900		
Sbjct 874	AAGTACACAGCGGCTGATTATTGGATGCTACGAACAGTTGGGATACCTACCTGGGGTGA		933		
Query 901	TAGCGGATACGGATATTTTCAAGCGGAAACAACTCATGATGATGAAATATCCATA		960		
Sbjct 934	TAGCGGATACGGATATTTTCAAGCGGAAACAACTCATGATGATGAAATATCCATA		993		
Query 961	TGTTGTAATCATGTGA 976				
Sbjct 994	TGTTGTAATCATGTGA 1009				

Hình 4. So sánh trình tự nucleotide của gen Der f 1 được tách dòng và trình tự Der f 1 (mã số AB034946.1) đã được công bố trên GenBank.

Kết quả PCR cho thấy, khuẩn lạc số 1 (KL1), số 4 (KL4), số 5 (KL5) và số 6 (KL6) cho kết quả phản ứng PCR dương tính với đồng thời 2 cặp mồi F1/R3 (hình 3A) và M13 F/M13 R (hình 3B). Khuẩn lạc số 5 được chúng tôi lựa chọn để nuôi cấy, tách plasmid bằng ZR Plasmid Miniprep kit (Zymo Research) theo hướng dẫn của nhà sản xuất để kiểm tra trình tự gen mã hóa cho Der f 1 theo phương pháp Sanger.

3.4. So sánh trình tự cDNA mã hóa cho Der f 1 được tách dòng trong vector pGEM - T và trình tự amino acid suy diễn của chúng

Kết quả so sánh trình tự cDNA mã hóa cho Der f 1 trong nghiên cứu của chúng tôi với trình tự tham chiếu mã hóa cho Der f 1 (mã số AB034946.1) trên GenBank cho thấy, có khác biệt ở 3 vị trí (đánh dấu đỏ) và có 99% tương đồng (hình 4). Trình tự amino acid suy diễn của Der f 1 tách dòng của chúng tôi chỉ có 1 vị trí sai khác (đánh dấu đỏ) và cũng có 99% tương đồng với trình tự amino acid tham chiếu của Der f 1 (mã số ABL84751.1) đã đăng ký trên GenBank (hình 5).

Der f 1 allergen [Dermatophagoides farinae]

Sequence ID: [ABL84751.1](#) Length: 321 Number of Matches: 1

Score	Expect	Method	Identities	Positives	Gaps
674 bits(1740)	0.0	Compositional matrix adjust.	320/321(99%)	321/321(100%)	0/321(0%)
Query 1	MKFVLAIASLLVSTVYARPAKSTFEFKKFNKNYATVEEEVARKNFLESKYVEAN		60		
Sbjct 1	MKFVLAIASLLVSTVYARPAKSTFEFKKFNKNYATVEEEVARKNFLESKYVEAN		60		
Query 61	KGAINHLSDSLDEFKNRYLMSAEAFQKTFDLNAETSAKRINSVWVPSLDLRLSRT		120		
Sbjct 61	KGAINHLSDSLDEFKNRYLMSAEAFQKTFDLNAETSAKRINSVWVPSLDLRLSRT		120		
Query 121	VTPIRMGGGCGSFAFSGVAATESAYLAYRNTSLDSEQLVDCASQHGHDITPRGIE		180		
Sbjct 121	VTPIRMGGGCGSFAFSGVAATESAYLAYRNTSLDSEQLVDCASQHGHDITPRGIE		180		
Query 181	YIQNGVVEERSYPVAREQCCRRPNSQHYGISNYCVPDPVKQIREALTQTHTAIAVI		240		
Sbjct 181	YIQNGVVEERSYPVAREQCCRRPNSQHYGISNYCVPDPVKQIREALTQTHTAIAVI		240		
Query 241	IGIKDLRAFQHYDGRITIRHNGYQPNYHVNIVGSGTGQVDYIVRNSMDTTWGSQGY		300		
Sbjct 241	IGIKDLRAFQHYDGRITIRHNGYQPNYHVNIVGSGTGQVDYIVRNSMDTTWGSQGY		300		
Query 301	GVFQAGNNLMIEQYPPVVM 321				
Sbjct 301	GVFQAGNNLMIEQYPPVVM 321				

Hình 5. So sánh trình tự amino acid suy diễn của gen Der f 1 được tách dòng và trình tự kháng nguyên Der f 1 (mã số ABL84751.1) được công bố trên GenBank.

4. Bàn luận

Các cặp mồi F1/R2 và F3/R3 được thiết kế dựa trên các vùng bảo thủ của 32 trình tự cDNA mã hóa cho kháng nguyên Der f 1 đã cho thấy, khả năng liên kết đặc hiệu với cDNA khuôn của *D. farinae* để tạo ra 2 đoạn cDNA vùng 5' và 3' của gen Der f 1 với 197 nucleotide gối nhau. Ba phản ứng PCR lần lượt dựa vào sự gối lên nhau của 2 đoạn cDNA thành phần đã được sử dụng trong nghiên cứu của Best EA (2000), để khuếch đại toàn bộ gen mã hóa cho Der f 1 [9]. Với kích thước 983 nucleotide, trình tự mã hóa cho Der f 1 trong nghiên cứu của chúng tôi bao gồm ~19 amino acid trình tự peptide tín hiệu, 80 amino acid thuộc trình tự tiền protein chưa hoạt hóa (pro-form) và 222-223 amino acid thuộc trình tự protein trưởng thành [8].

Trình tự cDNA của gen Der f 1 trong nghiên cứu của chúng tôi có 3 vị trí khác biệt so với trình tự nucleotide tham chiếu (mã số AB034946.1). Tuy nhiên, do tính chất thoái hóa của bộ ba mã di truyền mà trình tự amino acid suy diễn tương ứng của gen Der f 1 chỉ có 1 amino acid khác biệt so với trình tự amino acid tham chiếu (mã số ABL84751.1) và amino acid sai khác này không nằm trong trung tâm hoạt động của cysteine protease Der f 1 [15]. Cả trình tự cDNA của gen này và amino acid suy diễn tương ứng đều có 99% tương đồng với 2 trình tự tham chiếu trên. Sự sai khác giữa các trình tự nucleotide và amino acid của Der f 1 trong nghiên cứu này có thể phản ánh sự đa dạng tự nhiên của các chủng *D. farinae* tại các khu vực sinh thái khác nhau. Điều này có thể do sự thích nghi của *D. farinae* với điều kiện môi trường địa phương, dẫn đến sự biến đổi di truyền trong quần thể loài. Trình tự nucleotide của gen mã hóa cho Der f 1 trong nghiên cứu của chúng tôi đã được đăng ký trên GenBank với mã số PP417680.1.

5. Kết luận

Gen mã hóa cho Der f 1 đã được tách dòng thành công trong vector pGEM-T ở vi khuẩn *E. coli*. Trình tự gen mã hóa thu được có độ dài 966 bp và mã hóa cho 321 amino acid. Trình tự nucleotide và amino acid suy diễn của gen Der f 1 từ *D. farinae* thu thập ở Việt Nam không có sự khác biệt đáng kể so với các trình tự tham chiếu. Cụ thể là, cả hai trình tự này đều tương đồng 99% với trình tự nucleotide và trình tự amino acid tham chiếu của Der f 1 với mã số lần lượt là AB034946.1 và ABL84751.1 trên GenBank. Trình tự gen mã hóa cho Der f 1 trong nghiên cứu của chúng tôi đã được đăng ký trên GenBank với mã số PP417680.1.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu được thực hiện với sự hỗ trợ kinh phí từ nhiệm vụ khoa học và công nghệ cấp quốc gia “Nghiên cứu chế tạo dị nguyên mật bụi nhà (HDM - House dust mites) bằng công nghệ protein tái tổ hợp định hướng ứng dụng trong chẩn đoán bệnh dị ứng tại Việt Nam”, mã số ĐTĐL.CN-109/21, thuộc Chương trình 562 - Lĩnh vực khoa học sự sống. Chúng tôi xin cảm ơn và cam kết không có bất kỳ xung đột lợi ích nào trong nghiên cứu này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] L.G. Arlian, M.S. Morgan, J.S. Neal (2002), “Dust mite allergens: Ecology and distribution”, *Current Allergy and Asthma Reports*, **2**, pp.401-411, DOI: 10.1007/s11882-002-0074-2.
- [2] D. Kim, H. Jeon, J.Y. Park, et al. (2024), “Characteristics of house dust mite allergens in Southeast and East Asia with the effect of hygienic practices”, *Indoor Environments*, **1**(2), DOI: 10.1016/j.indenv.2024.100010.
- [3] T.H. Trinh, P.T. Nguyen, T.T. Tran, et al. (2023), “Profile of aeroallergen sensitizations in allergic patients living in southern Vietnam”, *Front Allergy*, **3**, DOI: 10.3389/falgy.2022.1058865.
- [4] N.H.H. Pham, N.D. Tran, H.L. Do (2021), “The prevalence of allergens detected by immunoblotting assay and some related factors among allergy patients at Can Tho Hospital of Dermato-Venereology in 2020”, *Can Tho Journal of Medicine and Pharmacy*, **41**, pp.167-175 (in Vietnamese).
- [5] W.R. Thomas (2015), “Hierarchy and molecular properties of house dust mite allergens”, *Allergology International*, **64**(4), pp.304-311, DOI: 10.1016/j.alit.2015.05.004.
- [6] R.H. Shafique, P.B. Klimov, M. Inam, et al. (2014), “Group 1 allergen genes in two species of house dust mites, dermatophagoides farinae and *D. pteronyssinus* (Acari: Pyroglyphidae): Direct sequencing, characterization and polymorphism”, *PLOS ONE*, **9**(12), DOI: 10.1371/journal.pone.0114636.
- [7] S.V. Susanne, H.H. Hans, V.R. Thomas (2014), “Recombinant house dust mite allergens”, *Methods*, **66**(1), pp.67-74, DOI: 10.1016/j.ymeth.2013.07.034.
- [8] E.A. Best, K.E. Stedman, C.M. Bozic, et al. (2000), “A recombinant group 1 house dust mite allergen, rDer f 1, with biological activities similar to those of the native allergen”, *Protein Expr. Purif.*, **20**, pp.462-471, DOI: 10.1006/prep.2000.1327.
- [9] G. Schmidt, G. Gadermaier, H. Pertl, et al. (2008), “Production of recombinant allergens in plants”, *Phytochem. Rev.*, **7**, pp.539-552, DOI: 10.1007/s11101-008-9099-z.
- [10] D.M. Francis, R. Page (2010), “Strategies to optimize protein expression in *E. coli*”, *Curr. Protoc. Protein Sci.*, **5**(1), DOI: 10.1002/0471140864.ps0524s61.
- [11] T.L.C. Nguyen, Q.U. Nguyen, Q.Q.H. Nguyen, et al. (2024), “Identification of some species of house dust mites isolated in Hanoi, Vietnam using molecular biology”, *Vietnam Journal of Preventive Medicine*, **34**(2), pp.85-93, DOI: 10.51403/0868-2836/2024/1626 (in Vietnamese).
- [12] J.M. Chirgwin, A.E. Przybyla, R.J. MacDonald, et al. (1979), “Isolation of biologically active ribonucleic acid from sources enriched in ribonuclease”, *Biochemistry*, **18**(24), pp.5294-5299, DOI: 10.1021/bi00591a005.
- [13] M. Miura, C. Tanigawa, Y. Fujii, et al. (2013), “Comparison of six commercially-available DNA polymerases for direct PCR”, *Revista do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo*, **55**(6), pp.401-406, DOI: 10.1590/S0036-46652013000600005.
- [14] C. Ayling (2023), “TA cloning approaches to cloning DNA with damaged ends DNA”, *Methods in Molecular Biology*, **2633**, pp.55-64, DOI: 10.1007/978-1-0716-3004-4_5.
- [15] K. Takahashi, T. Takai, T. Yasuhara, et al. (2001), “Effects of site-directed mutagenesis in the cysteine residues and the N-glycosylation motif in recombinant Der f 1 on secretion and protease activity”, *Int. Arch. Allergy Immunol.*, **124**(4), pp.454-460, DOI: 10.1159/000053780.

Xác định một số đặc tính sinh học và đánh giá khả năng sinh miễn dịch của hai chủng parvovirus phân lập tại Việt Nam

Trịnh Thị Thu Hằng^{1*}, Vũ Khắc Minh Dương¹, Đỗ Văn Tấn², Phạm Trung Hiếu¹, Vũ Khắc Hùng¹

¹Bộ môn Công nghệ Sinh học, Phân viện Thú y miền Trung, 227 đường 2/4, phường Bắc Nha Trang, tỉnh Khánh Hòa, Việt Nam

²Bộ môn Nghiên cứu vi rút, Phân viện Thú y miền Trung, 227 đường 2/4, phường Bắc Nha Trang, tỉnh Khánh Hòa, Việt Nam

Ngày nhận bài 28/8/2024; ngày chuyển phân biên 3/9/2024; ngày nhận phân biên 24/9/2024; ngày chấp nhận đăng 30/9/2024

Tóm tắt:

Trong nghiên cứu này, 2 chủng (VC5 và TX7) có độc lực cao trong số 32 chủng parvovirus phân lập từ 6 tỉnh (Thái Bình, Thanh Hóa, Bình Định, Đắk Lắk, Bình Dương và Đồng Nai) (trước sáp nhập) được tuyển chọn để xác định một số đặc tính sinh học và đánh giá khả năng sinh miễn dịch. Kết quả phân tích trình tự đoạn gen *NS1* cho thấy, cả 2 chủng VC5 và TX7 cùng thuộc tuýp porcine parvovirus 1 (PPV1) và tương đồng 99,70% về trình tự nucleotide với chủng PPV1 từ Trung Quốc (PPV1-0225-L-SD). Điều kiện nuôi cấy thích hợp nhất đối với 2 chủng porcine parvovirus (PPV) trên tế bào PK15 là môi trường EMEM có bổ sung 5% FBS, 1% kháng sinh Pen/Strep ở nhiệt độ 37°C và 5% CO₂. Ở 21 ngày sau miễn dịch lần 2, hiệu giá HI trung bình của lợn miễn dịch là 7,33 và 7,66 log₂ đối với nhóm miễn dịch VC5 và TX7, theo thứ tự; không phát hiện kháng thể ở nhóm đối chứng. Khi thử thách với chủng parvovirus cường độc, trên 80% thai lợn ở nhóm được gây miễn dịch sống và dưới 10% số thai lợn phát hiện sự có mặt của PPV. Trong khi đó, ở nhóm đối chứng, 100% thai lợn chết, 75% thai lợn chết có các biểu hiện khô thai và 90% thai lợn ở nhóm đối chứng phát hiện sự có mặt của PPV.

Từ khóa: điều kiện nuôi cấy, miễn dịch, parvovirus, phân tích gen.

Chỉ số phân loại: 1.6, 2.8, 4.3

Determination of some biological characteristics and evaluation of immunogenicity of two parvovirus isolates in Vietnam

Thi Thu Hang Trinh^{1*}, Khac Minh Duong Vu¹, Van Tan Do², Trung Hieu Pham¹, Khac Hung Vu¹

¹Department of Biotechnology, Institute of Veterinary Research and Development of Central Vietnam, 227 2/4 Street, Bac Nha Trang Ward, Khanh Hoa Province, Vietnam

²Department of Virology, Institute of Veterinary Research and Development of Central Vietnam, 227 2/4 Street, Bac Nha Trang Ward, Khanh Hoa Province, Vietnam

Received 28 August 2024; revised 24 September 2024; accepted 30 September 2024

Abstract:

In this study, two highly virulent strains (VC5 and TX7) among 32 parvovirus strains isolated from six provinces (Thai Binh, Thanh Hoa, Binh Dinh, Dak Lak, Binh Duong, and Dong Nai) (prior to the administrative merger) were selected to determine some biological characteristics and assess the immunogenicity. Sequence analysis of the *NS1* gene fragment revealed that both VC5 and TX7 strains belong to the porcine parvovirus 1 (PPV1) type and share 99.70% nucleotide sequence identity with the PPV1 strain from China (PPV1-0225-L-SD). The optimal culture conditions for the two porcine parvovirus (PPV) strains on PK15 cells were EMEM medium supplemented with 5% FBS and 1% Penicillin-Streptomycin antibiotic (Pen/Strep), incubated at 37°C and 5% CO₂. 21 days after the second immunisation, the average HI titer of the immunised pigs was 7.33 and 7.66 log₂ for the VC5 and TX7 immunised groups, respectively, while no antibodies were detected in the control group. Upon challenge with a highly virulent parvovirus strain, over 80% of the fetuses in the immunised groups survived, and less than 10% of the fetuses were detected with PPV. In contrast, in the control group, 100% of the fetuses died, with 75% showing signs of mummification and 90% testing positive for PPV.

Keywords: culture conditions, gene analysis, immunity, parvovirus.

Classification numbers: 1.6, 2.8, 4.3

*Tác giả liên hệ: Email: hangdhnt@gmail.com

1. Đặt vấn đề

Chăn nuôi lợn là một ngành mũi nhọn trong tăng trưởng và phát triển kinh tế quốc dân. Theo Tổng cục Thống kê (tháng 4/2024), trong năm 2023, Việt Nam có khoảng 25,5 triệu con lợn, trong đó có khoảng 3,1 triệu lợn nái sinh sản. Bệnh khô thai do parvovirus là bệnh truyền nhiễm nguy hiểm ở lợn nái với các biểu hiện lâm sàng chỉ thấy ở lợn nái như: chết lưu thai, thai gỗ, thai thối, hoặc lợn con đẻ ra có sức sống rất kém. Đây là một bệnh gây thiệt hại lớn cho các trại giống lợn sinh sản, làm giảm 50-60% số đầu lợn con sơ sinh, giảm khối lượng ở lợn con lúc cai sữa và tăng chi phí khắc phục hậu quả do bệnh gây ra [1]. Bệnh khô thai là bệnh gây tổn hại nghiêm trọng cho ngành chăn nuôi. PPV là nguyên nhân phổ biến và quan trọng nhất dẫn đến bệnh sảy thai trên lợn [2, 3]. Vì vậy, việc phân lập và nghiên cứu về các đặc tính của parvovirus tại Việt Nam là hết sức cần thiết.

Việc hiểu rõ về các đặc tính sinh học của các chủng parvovirus ở Việt Nam sẽ giúp phát triển các công cụ chẩn đoán, vắc xin và các chiến lược điều trị hiệu quả. Trong bộ gen của PPV, *NSI* là protein phi cấu trúc quan trọng nhất. Gen *NSI* có độ bảo tồn cao và rất cần thiết cho quá trình sao chép DNA của PPV [4]. *NSI* là một protein đa chức năng, được đặc trưng bởi các hoạt động endonuclease, DNA helicase và ATPase, và khả năng liên kết cộng hóa trị với đầu 5' của DNA virus bộ gen. Protein *NSI* cũng là yếu tố chính góp phần vào quá trình điều hòa phiên mã, có vai trò gây bệnh cho tế bào vật chủ [5].

Bên cạnh đó, việc lựa chọn môi trường nuôi cấy tối ưu nhất cho parvovirus cũng là một bước thiết yếu trong quá trình nghiên cứu và phát triển vắc xin. Môi trường nuôi cấy thích hợp giúp tối đa hóa sản lượng virus, giảm chi phí và thời gian sản xuất vắc xin. Hơn nữa, môi trường nuôi cấy tối ưu sẽ giảm nguy cơ gây biến đổi không mong muốn của virus.

Cho đến nay, ở Việt Nam chưa có đơn vị nào phát triển thành công vắc xin parvovirus. Các vắc xin được sử dụng để phòng bệnh khô thai do parvovirus đang được lưu hành tại Việt Nam đều là nhập khẩu, như Parvovax (Pháp), PPV-VAC (Hàn Quốc)...., thường có giá cao. Các chủng sử dụng để sản xuất vắc xin là những chủng phân lập từ nước ngoài, có thể không tương đồng kháng nguyên với các chủng phân lập ở Việt Nam, dẫn đến vắc xin kém hiệu quả. Vì vậy, việc phân lập và tuyển chọn chủng parvovirus đang lưu hành tại Việt Nam có tính kháng nguyên mạnh để nghiên cứu chế tạo một loại vắc xin phòng bệnh khô thai ở lợn sinh sản có tầm quan trọng đặc biệt. Điều này giúp chủ động nguồn vắc xin phòng bệnh do parvovirus một cách hiệu quả, góp phần phát triển chăn nuôi lợn của Việt Nam. Việc đánh giá tính sinh miễn dịch của parvovirus là một bước quan trọng và không thể thiếu trong quá trình phát triển vắc xin. Chỉ khi hiểu rõ được tính sinh miễn dịch mới có thể nghiên cứu tối ưu hóa sao cho vắc xin đạt được hiệu quả bảo vệ cao nhất.

Vì vậy, trong nghiên cứu này, chúng tôi thực hiện phân tích đoạn gen *NSI*, tối ưu hóa môi trường nuôi cấy và xác định tính sinh miễn dịch của hai chủng parvovirus độc lực cao đã được phân lập trong nghiên cứu trước đó [6].

2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Vật liệu

Hai chủng VC5 (Đồng Nai), TX7 (Thanh Hóa) có độc lực cao [6] được tuyển chọn từ 32 chủng parvovirus phân lập từ 6 tỉnh Thái Bình, Thanh Hóa, Bình Định, Đắk Lắk, Bình Dương và Đồng Nai được sử dụng để nghiên cứu phân tích đoạn gen *NSI*, tối ưu hóa môi trường nuôi cấy và xác định tính sinh miễn dịch.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Nghiên cứu này thuộc đề tài: “Nghiên cứu chế tạo vắc xin nhĩ giá vô hoạt phòng bệnh khô thai do parvovirus và đóng dấu do vi khuẩn *Erysipelothrix rhusiopathiae* gây ra ở lợn”. Các nghiên cứu trên động vật của đề tài đã được chấp thuận bởi Hội đồng y đức động vật Trường Đại học Nông Lâm TP Hồ Chí Minh theo giấy chứng nhận số NLU-230313 ngày 24/5/2023 [7].

2.2.1. Phân tích trình tự đoạn gen *NSI*

DNA virus được tách chiết bằng bộ kit MagMAX Viral Pathogen Kit (Thermo Fisher Scientific). Theo K.S. Lyoo và cs (2001) [8], đoạn gen *NSI* (330 bp) được nhân lên bằng phản ứng chuỗi polymerase (PCR) với cặp mồi đặc hiệu PPVF: 5'-ATA CAA TTC TAT TTC ATG GGC CAG C-3', PPVR: 5'-TAT GTT CTG TTT CCT CGC ATC-3'. Thành phần cho 25 µl gồm: 9 µl nước (nuclease-free), 12,5 µl 2X Taq PCR Master Mix, 0,5 µl mồi PPVF, 0,5 µl mồi PPVR, 2,5 µl DNA. Phản ứng PCR gồm 1 chu kỳ 94°C - 2 phút, 30 chu kỳ 94°C - 45 giây, 55°C - 60 giây, 72°C - 90 giây, 1 chu kỳ 72°C - 10 phút. Đoạn gen *NSI* sau đó được gửi giải trình tự tại Công ty Firstbase (Singapore). Trình tự được phân tích bằng BLAST trên Ngân hàng Gen NCBI. Cây phát sinh loài được xây dựng dựa trên trình tự đoạn gen *NSI* của chủng TX7, VC5 với một số chủng đã công bố trên Ngân hàng Gen (GenBank) bằng chương trình MEGA6, theo phương pháp kết nối liên kết (Neighbour-Joining) [9], sử dụng độ tin cậy 1000 bootstrap [10].

2.2.2. Xác định điều kiện nuôi cấy thích hợp cho hai chủng VC5 và TX7

Đường chuẩn xác định số lượng bản sao virus dựa trên giá trị Ct của phản ứng Real-time PCR được thực hiện theo mô tả của L.F. Miao và cs (2009) [11].

Dựa trên các kết quả nghiên cứu trước đây, chúng tôi đã chọn các điều kiện nghiên cứu bao gồm nhiệt độ 33, 37 và 39°C, kết hợp với các tỷ lệ FBS là 2, 3 và 5%, được bổ sung vào môi trường EMEM [8, 12-15]. Trong các nghiên cứu về nuôi cấy parvovirus, tỷ lệ kháng sinh và nồng độ CO₂ luôn được sử dụng là 1% kháng sinh và 5% CO₂. Vì vậy, các chỉ tiêu về tỷ lệ kháng sinh và nồng độ CO₂ được giữ cố định trong quá trình khảo sát.

Chủng virus được gây nhiễm lên tế bào PK15 với MOI=0,01. Sau đó, virus được nuôi trong các điều kiện khác nhau và thu mẫu sau mỗi 24 giờ trong 7 ngày sau gây nhiễm. Số lượng bản sao virus tại mỗi thời điểm thu mẫu được xác định bằng phản ứng Real-time PCR [11].

2.2.3. Xác định tính sinh miễn dịch

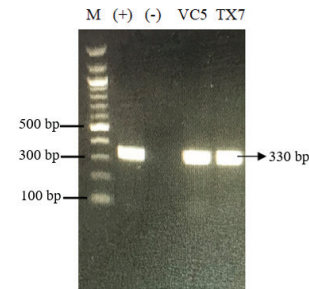
Chín lợn nái hậu bị khỏe mạnh, không nhiễm PPV và không có kháng thể kháng PPV được chia thành 3 nhóm (3 con/1 nhóm). Nhóm 1 được gây miễn dịch bằng chủng VC5, nhóm 2 được gây miễn dịch bằng chủng TX7 và nhóm 3 được tiêm PBS (nhóm đối chứng). Lợn được gây miễn dịch với liều 10^6 TCID₅₀ virus đã được bất hoạt bằng cách gây nhiễm lên tế bào PK15, trong vòng 7 ngày không quan sát thấy sự xuất hiện bệnh tích tế bào. Virus sau bất hoạt 100% được phối trộn với 20% chất bổ trợ keo phen qua đường tiêm bắp. Mũi 1 được tiêm vào ngày 35 trước phối giống. Mũi miễn dịch thứ hai cách mũi một 21 ngày. Sau 2 mũi tiêm, lợn được lấy máu vào các ngày 7, 14, 21 và xác định hiệu giá kháng thể bằng phản ứng HI. Tại ngày 40 của thai kỳ, lợn được công cường độc với liều 4×10^6 TCID₅₀. Ngày thứ 90 của kỳ mang thai, các lợn thí nghiệm được mổ khám, thu dạ con để kiểm tra hình thái, bệnh tích trên phôi thai [16]. Sự có mặt của PPV trong mẫu phôi thai được xác định bằng phản ứng Real-time PCR [11].

Lợn được chăn nuôi trong khu vực nhà chăn nuôi động vật thí nghiệm đạt chuẩn GLP tại Phân viện Thú y miền Trung. Thức ăn được cung cấp theo Quyết định số 217/QĐ-BNN-KHCN ngày 14/1/2021 của Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn (nay là Bộ Nông nghiệp và Môi trường) về định mức kinh tế - kỹ thuật đối với hoạt động khoa học và công nghệ trong lĩnh vực chăn nuôi, thú y. Lợn được gây mê bằng Zoletil với liều 0,1 mg/kg thể trọng trước khi giết mổ để tránh sợ hãi, đau đớn cho vật nuôi. Sau khi giết mổ, động vật được tiêu hủy bằng phương pháp đốt. Khử trùng trong và ngoài chuồng trại bằng Virkon.

3. Kết quả và bàn luận

3.1. Kết quả phân tích đoạn gen NS1

Sau khi đã phân lập, 2 chủng parvovirus VC5 và TX7 sẽ được xác định mối quan hệ di truyền dựa trên trình tự đoạn gen NS1. Chúng tôi đã nhân lên thành công đoạn gen 330 bp (đoạn gen có vị trí từ 1.453 đến 1.782 trên gen NS1) như ở hình 1. Đoạn gen này là vùng có độ bảo tồn cao giữa các chủng từ PPV1-PPV6 và được dùng để ghi nhận tỷ lệ nhiễm PPV [8]. NS1 là protein phi cấu trúc chính được bảo tồn cao và rất cần thiết cho quá trình sao chép DNA PPV. NS1 là một protein đa chức năng được đặc trưng bởi các hoạt động endonuclease, DNA helicase và ATPase và khả năng liên kết cộng hóa trị với đầu 5' của DNA virus bộ gen [17]. Nhiều nghiên cứu về PPV sử dụng việc phân tích trình tự gen NS1 để nghiên cứu về sự tiến hóa và phát sinh loài của PPV. X. Hao và cs (2011) [18] đã sử dụng trình tự gen NS1 của 23 chủng parvovirus để tiến hành phân tích, nhằm phân nhóm và xây dựng dữ liệu phân tử về các chủng PPV phân lập tại Trung Quốc. Một nghiên cứu khác tại Trung Quốc của H. Deng và cs (2024) [19] cũng sử dụng cây phân loại dựa trên trình tự gen NS1 để phân loại và xác định mối quan hệ di truyền của 2 chủng PPV1 mới phân lập (HLJ202108-Y, SDLC202109). Để phân tích tiến hóa di truyền của chủng PPV7 phân lập tại Phúc Kiến, Trung Quốc, trình tự gen NS1 cũng được sử dụng để phân tích mối quan hệ tiến hóa trong nghiên cứu của Z. Lyu và cs (2023) [20].



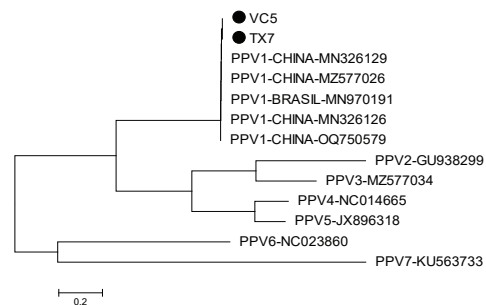
Hình 1. Kết quả phản ứng chuỗi polymerase nhân lên đoạn gen NS1.
M: thang đo; (+): đối chứng dương; (-): đối chứng âm; VC5: chủng VC5; TX7: chủng TX7.

Trong nghiên cứu này, trình tự gen NS1 cũng được chúng tôi sử dụng để phân tích mối quan hệ di truyền của 2 chủng parvovirus VC5 và TX7 với các chủng tham chiếu có trên Ngân hàng Gen NCBI.

Hai chủng VC5 và TX7 được xác định mối quan hệ di truyền dựa trên trình tự đoạn gen NS1. Đoạn gen này là vùng có độ bảo tồn cao giữa các chủng PPV [8]. Với kết quả phân tích độ tương đồng trong trình tự nucleotide của đoạn gen NS1, chúng tôi thấy rằng, 2 chủng VC5 và TX7 có tỷ lệ tương đồng 100% với nhau. Trình tự gen NS1 của 2 chủng này cũng tương đồng từ 99,39 đến 99,70% với một số chủng PPV1 từ Trung Quốc và Brazil. Trong đó, tương đồng cao nhất với chủng PPV1-0225-L-SD (99,70%) được phân lập tại Trung Quốc năm 2022 (bảng 1).

Bảng 1. Tỷ lệ tương đồng đoạn gen NS1 của chủng VC5 và TX7 với một số chủng tham chiếu trên Ngân hàng Gen NCBI.

TT	Chủng	TX7 (%)	VC5 (%)
1	VC5	100	
2	TX7		100
3	PPV1-HuB78-2017 (Trung Quốc) (Mã số GenBank: MN326129)	99,39	99,39
4	PPV1-GD10-1999 (Trung Quốc) (Mã số GenBank: MN326126)	99,39	99,39
5	PPV1-JSYZ20170418-30 (Trung Quốc) (Mã số GenBank: MZ577026)	99,39	99,39
6	PPV1/BRA-UEL/GO-1074/2018 (Brazil) (Mã số GenBank: MN970191)	99,39	99,39
7	PPV1-0225-L-SD (Trung Quốc) (Mã số GenBank: OQ750579)	99,70	99,70



Hình 2. Cây phả hệ dựa trên đoạn gen NS1.

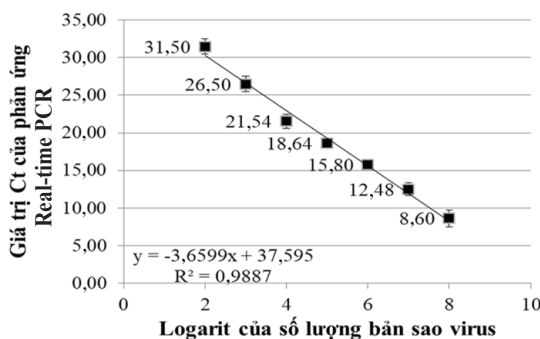
Kết quả phân tích cây phả hệ dựa trên đoạn gen *NSI* (hình 2) chỉ ra rằng, 2 chủng VC5, TX7 trong nghiên cứu này đều thuộc tuýp PPV1 và cùng nhóm phân bố với một số chủng PPV1 phân lập tại Trung Quốc.

Mức độ lưu hành chủng PPV1 tại Việt Nam là khá cao. Năm 2020, một nghiên cứu tại Việt Nam cho thấy, 88,2% (60/68) mẫu huyết thanh thu thập từ các trang trại chăn nuôi ở 6 tỉnh, bao gồm Hà Nội, Bắc Ninh, Hưng Yên, Phú Thọ (Vĩnh Phúc, Hòa Bình) và Hải Dương, đều có chứa kháng thể kháng PPV1. Phân tích di truyền của 10 mẫu sử dụng gen mã hóa protein *NSI* đã xác nhận các chủng này đều thuộc PPV1 [21]. Mặt khác, các loại vắc xin trên thị trường hiện nay chủ yếu phát triển dựa trên chủng PPV1. Vắc xin Porcilis® Parvo (vắc xin vô hoạt - Hà Lan), Eryseng® Parvo (vắc xin vô hoạt - Tây Ban Nha), ReproCyc® ParvoFLEX (vắc xin tiểu phần - Đức) đều sử dụng kháng nguyên từ chủng PPV1 [22]. Nhiều nghiên cứu về vắc xin PPV tiểu phần cũng được thực hiện trên chủng PPV1. K.N. Cho và cs (2023) [23] đã tiến hành nghiên cứu phát triển vắc xin tiểu phần phòng bệnh do parvovirus gây ra trên lợn sử dụng protein VP2 của chủng PPV1-28. Một nghiên cứu khác của Z. Ling và cs (2023) [24] cũng phát triển vắc xin tiểu phần từ protein VP2 của chủng PPV1. 2 chủng VC5 và TX7 đều thuộc PPV1, do đó các chủng này có tiềm năng cao trong việc sử dụng để nghiên cứu phát triển vắc xin.

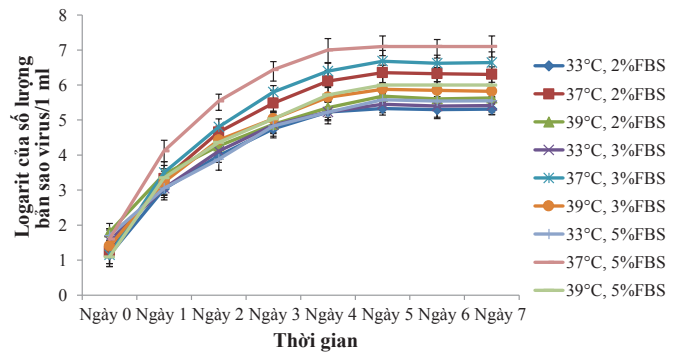
Cho đến đầu những năm 2000, những thay đổi di truyền của bộ gen PPV vẫn chưa được nghiên cứu một cách có hệ thống [25]. Sang thế kỷ 21, các nghiên cứu về biến chủng của parvovirus mới được chú ý. Tỷ lệ đột biến của gen VP vào khoảng $3-5 \times 10^{-4}$ đột biến/nucleotide/năm, trong khi đó, đột biến ở gen NS vào khoảng 10^{-5} đột biến/nucleotide/năm [26]. Như vậy, có thể thấy rằng việc phân lập các chủng PPV đang lưu hành tại Việt Nam là hết sức cần thiết. Hai chủng VC5 và TX7 được phân lập trong nghiên cứu này có thể là nguồn chủng hữu ích cho nghiên cứu sâu hơn về sản xuất vắc xin parvovirus tại Việt Nam.

3.2. Kết quả xác định điều kiện nuôi cấy thích hợp với hai chủng VC5 và TX7

Với kết quả Real-time PCR và đường chuẩn (hình 3), chúng tôi xác định được số lượng bản sao virus tại mỗi thời điểm thu mẫu. Kết quả đó được ghi nhận và xây dựng biểu đồ như trong hình 4.



Hình 3. Đường chuẩn xác định số lượng bản sao virus.



Hình 4. Biểu đồ khảo sát điều kiện nuôi cấy parvovirus.

Từ biểu đồ khảo sát điều kiện nuôi cấy như ở hình 4, chúng tôi thấy rằng, số logarit của lượng bản sao virus tại nhiệt độ 33 và 39°C thấp hơn tại nhiệt độ 37°C. Như vậy, nhiệt độ thích hợp nhất với PPV trong nghiên cứu này là 37°C. Số lượng bản sao virus đạt cao nhất tại điều kiện 37°C, 5% FBS.

Từ kết quả trên, chúng tôi xác định được điều kiện nuôi cấy thích hợp nhất đối với 2 chủng PPV (VC5 và TX7) trên tế bào PK15 là môi trường EMEM có bổ sung 5% FBS, 1% kháng sinh Pen/Strep ở nhiệt độ 37°C, 5% CO₂.

3.3. Kết quả xác định tính sinh miễn dịch của 2 chủng VC5 và TX7

Hiệu giá HI của các nhóm lợn thí nghiệm được đánh giá và thể hiện ở bảng 2.

Bảng 2. Hiệu giá HI trên lợn sau tiêm 2 mũi miễn dịch theo thời gian.

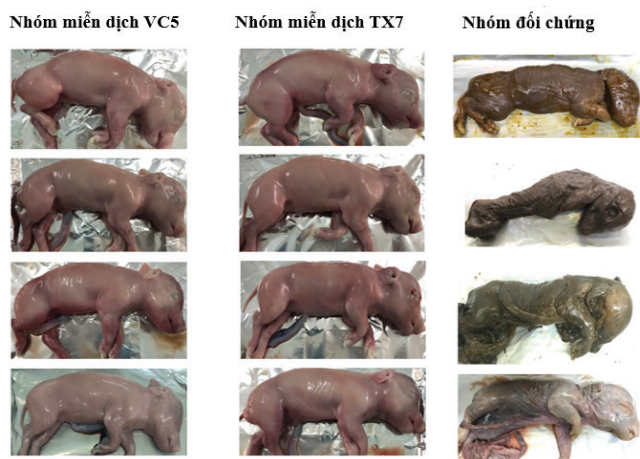
Nhóm thí nghiệm	Hiệu giá HI trung bình			
	Ngày 0	Ngày 7	Ngày 14	Ngày 21
Nhóm miễn dịch VC5	3,33	4,33	5,66	7,33
Nhóm miễn dịch TX7	3,66	4,66	6,33	7,66
Nhóm đối chứng (PBS)	0	0	0	0

Kết quả hiệu giá HI cho thấy, lợn miễn dịch có hiệu giá HI trung bình tăng dần (bảng 2). Tại ngày 0 (trước khi tiêm mũi 2), hiệu giá HI trung bình với nhóm VC5 và TX7 lần lượt đạt 3,33 và 3,66 log₂. Tại ngày thứ 21, sau mũi 2, hiệu giá HI trung bình đạt 7,33 log₂ với nhóm VC5; 7,66 log₂ với nhóm TX7. Trong khi đó, suốt quá trình thí nghiệm, không phát hiện được kháng thể kháng PPV (HI=0) ở nhóm đối chứng PBS. Kết quả này tương tự nghiên cứu của P.S. Paul và cs (1986) [27], sau liều tiêm thứ nhất hiệu giá HI tăng lên không đáng kể. Hai liều vắc xin mang lại hiệu quả miễn dịch tốt hơn và lâu dài hơn đối với vắc xin PPV bất hoạt. Nghiên cứu của E.V.D. Born và cs (2020) [28] khảo sát tính sinh miễn dịch của vắc xin tam giá Ery + Parvo + Lepto cũng sử dụng 2 mũi tiêm và chỉ ra rằng, kháng thể xuất hiện sớm từ ngày thứ 6 và đạt đỉnh vào ngày 21 sau tiêm 2 mũi miễn dịch. Một nghiên cứu khác của K.J. Sørensen và cs (1981) [29] cũng sử dụng vắc xin PPV vô hoạt với 2 mũi tiêm để gây đáp ứng miễn dịch và cho kết quả HI từ 7 đến 9 log₂ sau 2-3 tuần tiêm mũi 2.

Kết quả thử thách với chủng PPV cường độc của các nhóm thí nghiệm được thể hiện ở bảng 3.

Bảng 3. Kết quả bảo hộ thai lợn sau công cường độc.

Nhóm thí nghiệm	Lợn nái	Tổng số thai lợn	Khả năng sống sót của thai lợn sau công cường độc			Thai lợn dương tính PPV sau công cường độc
			Sống	Chết		
				Không có biểu hiện khô thai	Khô thai	
Nhóm miễn dịch VC5	Lợn số 1	8	6	2	0	1
	Lợn số 2	7	5	2	0	1
	Lợn số 3	7	7	0	0	0
Tỷ lệ (%)		100	81,82	18,18 18,18	0	9,09
Nhóm miễn dịch TX7	Lợn số 4	6	6	0	0	0
	Lợn số 5	8	6	2	0	1
	Lợn số 6	7	6	1	0	1
Tỷ lệ (%)		100	85,71	14,29 14,29	0	9,52
Nhóm đối chứng	Lợn số 7	7	0	2	5	6
	Lợn số 8	7	0	1	6	6
	Lợn số 9	6	0	2	4	6
Tỷ lệ (%)		100	0	25 100	75	90



Hình 5. Thai lợn sau công cường độc.

Sau khi công cường độc, nhóm được gây miễn dịch VC5 có 18/22 (81,82%) thai sống, nhóm được tiêm miễn dịch TX7 có 18/21 (85,71%) thai sống, trong khi 100% thai lợn của nhóm đối chứng chết và có bệnh tích điển hình (bảng 3). 75% (15/20) thai lợn có các biểu hiện như thai bị hấp thu nước, khô, cứng lại và chuyển màu thành màu đen, kích thước nhỏ hơn so với các thai bình thường (hình 5). Phát hiện sự có mặt của PPV ở 90% thai lợn của nhóm đối chứng, trong khi chỉ 2/22 (9,09%) và 2/21 thai lợn (9,52%) được phát hiện PPV ở nhóm miễn dịch VC5 và TX7, theo thứ tự. Kết quả này cũng tương đương với kết quả của một số nghiên cứu khác về vắc xin PPV vô hoạt.

Nghiên cứu của K.J. Sørensen và cs (1981) [29] cho kết quả 50/65 (76,92%) thai nhiễm virus và 43/65 (66,15%) thai chết ở nhóm không tiêm vắc xin, 100% thai sống ở nhóm tiêm vắc xin sau khi công cường độc với liều 1×10^7 TCID₅₀ chủng PPV 839. E.V.D. Born và cs (2020) [28] cũng cho thấy, 69% thai lợn chết, 90% phát hiện PPV ở nhóm không tiêm vắc xin; 100% lợn sống và 10% phát hiện PPV ở nhóm tiêm vắc xin. I. Kiss và cs (2020) [30] nghiên cứu khả năng bảo hộ của vắc xin Parvoruvax® và 3 loại vắc xin PPV thương mại (vắc xin B, vắc xin C, vắc xin D). Kết quả cho thấy, sau công cường độc với liều $4 \times 10^{5.5}$ TCID₅₀ chủng PPV1-HUN, 100% thai lợn sống với nhóm tiêm vắc xin Parvoruvax®; 89, 92 và 64% lần lượt là tỷ lệ thai lợn sống với nhóm vắc xin B, vắc xin C, vắc xin D; 40% thai lợn sống sau công cường độc ở nhóm đối chứng.

Kết quả trên cho thấy, 2 chủng VC5 và TX7 có khả năng gây đáp ứng miễn dịch tốt trên lợn hậu bị, lợn mang thai và có khả năng bảo hộ 81,82% (chủng VC5) và 85,71% (chủng TX7) thai sống, trong khi 100% thai lợn chết ở nhóm đối chứng PBS và có biểu hiện đặc trưng của bệnh. 2 chủng VC5, TX7 có tiềm năng tốt và sẽ được sử dụng trong các nghiên cứu để lựa chọn liều kháng nguyên, chất bổ trợ thích hợp để phát triển vắc xin phòng bệnh do PPV trong thời gian tới.

4. Kết luận

Hai chủng VC5, TX7 có trình tự nucleotide của đoạn gen 330 bp *NS1* tương đồng 100% với nhau, đồng thời tương đồng trên 99% với một số chủng PPV1 từ Trung Quốc và Brazil. Trong đó, tương đồng cao nhất (99,70%) với chủng PPV1-0225-L-SD được phân lập tại Trung Quốc năm 2022. Điều kiện nuôi cấy thích hợp nhất đối với hai chủng PPV (VC5 và TX7) trên tế bào PK15 là môi trường EMEM có bổ sung 5% FBS, 1% kháng sinh Pen/Strep ở nhiệt độ 37°C, 5% CO₂.

Tỷ lệ bảo hộ thai ở nhóm tiêm miễn dịch VC5 và TX7 lần lượt là 81,82 và 85,71%, trong khi 100% thai lợn ở nhóm đối chứng đều chết. Kết quả này tương đồng với các nghiên cứu trước đó về vắc xin PPV vô hoạt. Như vậy, hai chủng VC5 và TX7 có tiềm năng sử dụng cho nghiên cứu sản xuất vắc xin phòng bệnh PPV hiệu quả.

Đây là những kết quả bước đầu về phân lập chủng virus, xác định nguồn gốc chủng, điều kiện nuôi cấy và đặc tính sinh miễn dịch. Kết quả này là một phần của đề tài “Nghiên cứu chế tạo vắc xin nhị giá vô hoạt phòng bệnh khô thai do parvovirus và đóng dấu do vi khuẩn *Erysipelothrix rhusiopathiae* gây ra ở lợn”. Để đánh giá toàn diện hơn các chủng parvovirus phân lập được, chúng tôi sẽ tiếp tục đánh giá độ an toàn và ổn định của chủng giống vắc xin, lựa chọn chất bổ trợ cũng như đánh giá hiệu quả của vắc xin trong những nghiên cứu tiếp theo.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] B.H. Nguyen, T.M.L. Huynh (2010), *Veterinary Infectious Diseases Textbook*, Agricultural Publishing House, 644pp (in Vietnamese).
- [2] S.L. Pham, H.N. Nguyen (2015), *Diseases Transmitted from Animals to Humans*, Agricultural Publishing House, 366pp (in Vietnamese).
- [3] N.H. Nguyen, T.D. Do (2018), *Important and Emerging Infectious Diseases in Pigs*, Agricultural Publishing House, 200pp (in Vietnamese).
- [4] Q. Xie, J. Wang, C. Gu, et al. (2023), "Structure and function of the parvoviral NS1 protein: A review", *Virus Genes*, **59**(2), pp.195-203, DOI: 10.1007/s11262-022-01944-2.
- [5] S. Fernandes, M. Boisvert, J. Szelei, et al. (2014), "Differential replication of two porcine parvovirus strains in bovine cell lines ensues from initial DNA processing and NS1 expression", *Journal of General Virology*, **95**, pp.910-921, DOI: 10.1099/vir.0.059741-0.
- [6] T.T.H. Trinh, V.T. Do, V.K. Do, et al. (2024), "Isolation and characterization of porcine parvovirus in Vietnam", *Veterinary World*, **17**(7), pp.1530-1537, DOI: 10.14202/vetworld.2024.1530-1537.
- [7] Nong Lam University - Ho Chi Minh City (2023), *Certificate of Animal Medical Ethics No. NLU-230313* (in Vietnamese).
- [8] K.S. Lyoo, Y.H. Park, B.K. Park (2001), "Prevalence of porcine reproductive and respiratory syndrome virus, porcine circovirus type 2 and porcine parvovirus from aborted fetuses and pigs with respiratory problems in Korea", *Journal of Veterinary Science*, **2**(3), pp.201-207.
- [9] N. Saitou, M. Nei (1987), "The neighbor-joining method: A new method for reconstructing phylogenetic trees", *Molecular Biology and Evolution*, **4**, pp.406-425, DOI: 10.1093/oxfordjournals.molbev.a040454.
- [10] J. Felsenstein (1985), "Confidence limits on phylogenies: An approach using the bootstrap", *Evolution*, **39**, pp.783-791, DOI: 10.1111/j.1558-5646.1985.tb00420.x.
- [11] L.F. Miao, C.F. Zhang, C.M. Chen, et al. (2009), "Real-time PCR to detect and analyze virulent PPV loads in artificially challenged sows and their fetuses", *Veterinary Microbiology*, **138**, pp.145-149, DOI: 10.1016/j.vetmic.2009.02.006.
- [12] A.F. Streck, T. Homeier, T. Foerster, et al. (2013), "Analysis of porcine parvoviruses in tonsils and hearts from healthy pigs reveals high prevalence and genetic diversity in Germany", *Archives of Virology*, **158**, pp.1173-1180, DOI: 10.1007/s00705-013-1603-0.
- [13] H.J. Kim, S.R. Kwon, K. Yuasa (2020), "Establishing the optimal fetal bovine serum concentration to support replication of cyprinid herpesvirus 3 in CCB and KF-1 cell lines", *Journal of Virological Methods*, **276**, DOI: 10.1016/j.jviromet.2019.113733.
- [14] C.S. Choi, H.S. Joo, T.W. Molitor (1990), "Replication of two porcine parvovirus isolates at non-permissive temperatures", *Archives of Virology*, **113**(3), pp.235-244, DOI: 10.1007/BF01316676.
- [15] P.A. Bachmann (1972), "Porcine parvovirus infection *in vitro*: A study model for the replication of parvoviruses I. Replication at different temperatures", *Experimental Biology and Medicine*, **140**(4), pp.1369-1374, DOI: 10.3181/00379727-140-36676.
- [16] T. Foerster, A.F. Streck, S. Speck, et al. (2016), "An inactivated whole-virus porcine parvovirus vaccine protects pigs against disease but does not prevent virus shedding even after homologous virus challenge", *Journal of General Virology*, **97**(6), pp.1408-1413, DOI: 10.1099/jgv.0.000446.
- [17] D.S.V. Bermudez, J.D. Mogollon, C.F. Rodriguez, et al. (2023), "The novel porcine parvoviruses: Current state of knowledge and their possible implications in clinical syndromes in pigs", *Viruses*, **15**(12), DOI: 10.3390/v15122398.
- [18] X. Hao, Z. Lu, P. Sun, et al. (2011), "Phylogenetic analysis of porcine parvoviruses from swine samples in China", *Virology Journal*, **8**(320), DOI: 10.1186/1743-422X-8-320.
- [19] H. Deng, G. Cong, H. Wang, et al. (2024), "Isolation, characterisation, and phylogenetic analysis of two new porcine parvovirus 1 isolates from Northern China", *Virus Research*, **339**, DOI: 10.1016/j.virusres.2023.199247.
- [20] Z. Lyu, X. Zhang, S. Xue, et al. (2023), "Detection and genetic evolution analysis of porcine parvovirus type 7 (PPV7) in Fujian province", *Infection, Genetics and Evolution*, **115**, DOI: 10.1016/j.meegid.2023.105515.
- [21] T.M.L. Huynh, V.G. Nguyen, T.N. Mai, et al. (2020), "Presence of porcine parvovirus 1 (PPV) in pigs in Hanoi and surrounding areas", *Vietnam Journal of Agricultural Sciences*, **18**(7), pp.495-503 (in Vietnamese).
- [22] N. Vereecke, L.K. Kvisgaard, G. Baele, et al. (2022), "Molecular epidemiology of porcine parvovirus type 1 (PPV1) and the reactivity of vaccine-induced antisera against historical and current PPV1 strains", *Virus Evolution*, **8**(1), DOI: 10.1093/ve/veac053.
- [23] K.N. Cho, I.O. Ouh, Y.M. Park, et al. (2023), "A plant-produced porcine parvovirus 1-82 VP2 subunit vaccine protects pregnant sows against challenge with a genetically heterologous PPV1 strain", *Vaccines*, **11**(1), DOI: 10.3390/vaccines11010054.
- [24] Z. Ling, H. Zhang, Y. Chen, et al. (2023), "A subunit vaccine based on the VP2 protein of porcine parvovirus 1 induces a strong protective effect in pregnant gilts", *Vaccines (Basel)*, **11**(11), DOI: 10.3390/vaccines11111692.
- [25] S. Duffy, L.A. Shackleton, E.C. Holmes (2008), "Rates of evolutionary change in viruses: Patterns and determinants", *Nature Reviews Genetics*, **9**(4), pp.267-276, DOI: 10.1038/nrg2323.
- [26] X. Ren, Y. Tao, J. Cui, et al. (2013), "Phylogeny and evolution of porcine parvovirus", *Virus Research*, **178**(2), pp.392-397, DOI: 10.1016/j.virusres.2013.09.014.
- [27] P.S. Paul, W.L. Mengeling (1986), "Vaccination of swine with an inactivated porcine parvovirus vaccine in the presence of passive immunity", *Journal of The American Veterinary Medical Association*, **188**(4), pp.410-413, DOI: 10.2460/javma.1986.188.04.410.
- [28] E.V.D. Born, P.P.M.V.D. Elzen, E.V. Kilsdonk, et al. (2020), "An octavalent vaccine provides pregnant gilts protection against a highly virulent porcine parvovirus strain", *BMC Veterinary Research*, **16**(1), 6pp, DOI: 10.1186/s12917-020-2272-3.
- [29] K.J. Sørensen, J. Askaa (1981), "Vaccination against porcine parvovirus infection", *Acta Veterinaria Scandinavica*, **22**(2), pp.171-179, DOI: 10.1186/BF03547506.
- [30] I. Kiss, E. Kovács, Z. Zádori, et al. (2020), "Vaccine protection against experimental challenge infection with a PPV-27a genotype virus in pregnant gilts", *Veterinary Medicine (Auckland, N.Z.)*, **11**, pp.17-24, DOI: 10.2147/VMRR.S236912.

Vai trò của nano molybdenum trioxide thay thế natri molybdate dehydrat trong môi trường nuôi cấy lên khả năng sinh trưởng và phát triển của cây hoa Cúc nuôi cấy *in vitro*

Phan Lê Hà Nguyễn^{1,2}, Dương Tấn Nhựt^{2*}, Nguyễn Thị Thanh Thúy², Nguyễn Thị Như Mai², Hoàng Thanh Tùng³, Hoàng Đắc Khải², Đỗ Mạnh Cường², Vũ Quốc Luận², Hoàng Thị Như Phương³, Nguyễn Hoài Châu⁴, Ngô Quốc Bưu⁴

¹Học viện Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, 18 Hoàng Quốc Việt, phường Nghĩa Đô, Hà Nội, Việt Nam

²Viện Khoa học sự sống, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, 9/621 Võ Nguyên Giáp, phường Linh Xuân, TP Hồ Chí Minh, Việt Nam

³Trường Đại học Đà Lạt, 1 Phù Đồng Thiên Vương, phường Lâm Viên, tỉnh Lâm Đồng, Việt Nam

⁴Viện Công nghệ môi trường, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, 18 Hoàng Quốc Việt, phường Nghĩa Đô, Hà Nội, Việt Nam

Ngày nhận bài 25/3/2024; ngày chuyển phản biện 27/3/2024; ngày nhận phản biện 10/4/2024; ngày chấp nhận đăng 15/4/2024

Tóm tắt:

Nghiên cứu đã thay thế $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ bằng dung dịch nano MoO_3NPs trong môi trường Murashige và Skoog (MS) để đánh giá tác động của loại nano này lên quá trình sinh trưởng, phát triển, khả năng hấp thu các chất dinh dưỡng và hoạt động của các enzyme chống oxy hóa ở cây hoa Cúc nuôi cấy *in vitro*. Kết quả cho thấy, các mẫu chồi đỉnh 1 tháng tuổi (1 cm) được nuôi cấy trên môi trường thay thế $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ bằng MoO_3NPs với tỷ lệ 1:1 (tương ứng với 149 $\mu\text{g/l}$ MoO_3NPs) cho kết quả tối ưu nhất. Sau 30 ngày nuôi cấy, môi trường này cho ra các chỉ tiêu sinh trưởng vượt trội, bao gồm: số chồi/mẫu (3,00), chiều cao chồi (5,40 cm), số lá/chồi (14,00), số đốt/chồi (8,67), chiều dài lá (1,30 cm), SPAD (31,17 nmol/cm^2) và khối lượng tươi (0,98 g). Hoạt động của các enzyme chống oxy hóa ở nghiệm thức này cũng tốt hơn so với đối chứng dương (trừ SOD) và các nghiệm thức còn lại; trong đó việc thiếu hoặc dư thừa Mo trong môi trường nuôi cấy cũng gây ra sự suy giảm hoạt động của các enzyme SOD, CAT và APX. Ngoài ra, ở nồng độ 149 $\mu\text{g/l}$ MoO_3NPs , chất dinh dưỡng được cây hấp thu hiệu quả và nhanh chóng hơn. Những phát hiện này cho thấy, việc thay thế $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ trong môi trường nuôi cấy bằng MoO_3NPs giúp tăng cường khả năng hấp thu khoáng, cung cấp nguồn dinh dưỡng cho thực vật để hỗ trợ quá trình sinh tổng hợp và các chức năng thiết yếu.

Từ khóa: cây hoa Cúc, dư lượng, enzyme chống oxy hóa, khả năng hấp thu khoáng, môi trường Murashige và Skoog, nano molybdenum trioxide.

Chỉ số phân loại: 1.6, 4.6

The role of molybdenum trioxide nanoparticles replacing sodium molybdate dehydrate in the culture medium on the growth and development of *in vitro* cultured Chrysanthemum

Nguyen Phan Le Ha^{1,2}, Tan Nhut Duong^{2*}, Thi Thanh Thuy Nguyen², Thi Nhu Mai Nguyen², Thanh Tung Hoang³, Dac Khai Hoang², Manh Cuong Do², Quoc Luan Vu², Thi Nhu Phuong Hoang³, Hoai Chau Nguyen⁴, Quoc Bui Ngo⁴

¹Graduate University of Science and Technology, Vietnam Academy of Science and Technology, 18 Hoang Quoc Viet Street, Nghia Do Ward, Hanoi, Vietnam

²Institute of Life Science, Vietnam Academy of Science and Technology, 9/621 Vo Nguyen Giap Street, Linh Xuan Ward, Ho Chi Minh City, Vietnam

³University of Da Lat, 1 Phu Dong Thien Vuong Street, Lam Vien Ward, Lam Dong Province, Vietnam

⁴Institute of Environmental Technology, Vietnam Academy of Science and Technology, 18 Hoang Quoc Viet Street, Nghia Do Ward, Hanoi, Vietnam

Received 25 March 2024; revised 10 April 2024; accepted 15 April 2024

Abstract:

This study replaced sodium molybdate dehydrate ($\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) with molybdenum trioxide nanoparticles solution (MoO_3NPs) in Murashige and Skoog (MS) medium to evaluate the impact of these nanoparticles on growth and development, the ability to absorb nutrients, and the activity of antioxidant enzymes in *in vitro* cultured Chrysanthemum. The results of the study showed that one-month-old (1 cm) shoot explants were cultured on a medium replacing $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ with MoO_3NPs at a ratio of 1:1 (corresponding to 149 $\mu\text{g/l}$ MoO_3NPs) was the most optimal. After 30 days of culture, the explants exhibited superior growth parameters, including number of shoots/explant (3.00), shoot height (5.40 cm), number of leaves/shoot (14.00), number of stem nodes/shoot (8.67), leaf length (1.30 cm), SPAD (31.17 nmol/cm^2) and fresh weight (0.98 g). The activity of antioxidant enzymes in this treatment was also better than that in the positive control (except for SOD) and all other treatments, whereas the lack or excess of Mo in the culture medium also led to a decrease in the activity of SOD, CAT, and APX enzymes. In addition, at a concentration of 149 $\mu\text{g/l}$ MoO_3NPs , plantlets absorb nutrients more effectively and quickly. These findings suggest that replacing $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ in the culture medium with MoO_3NPs will enhance mineral absorption, providing a source of nutrients for plants to support biosynthesis and essential functions.

Keywords: antioxidant enzyme, Chrysanthemum, molybdenum trioxide nanoparticles, Murashige and Skoog medium, nutrient absorption, residue.

Classification numbers: 1.6, 4.6

*Tác giả liên hệ: Email: duongtannhut@gmail.com

1. Đặt vấn đề

Hoa Cúc được biết đến là một loại hoa cắt cành có giá trị thẩm mỹ và kinh tế cao nên được ưa chuộng trên toàn thế giới [1]. Tại Việt Nam, hoa Cúc được trồng ở nhiều tỉnh, thành phố. Đặc biệt, thành phố Đà Lạt, tỉnh Lâm Đồng (trước sáp nhập) là nơi nghiên cứu nhân giống và trồng tập trung với quy mô và số lượng lớn nhất cả nước. Theo số liệu của Cục Hải quan, xuất khẩu hoa của Việt Nam năm 2021 đạt 61,8 triệu USD, tăng 27% so với 2020; trong đó, hoa Cúc có giá trị xuất khẩu đạt gần 55,2 triệu USD, tăng 11,3% so với năm 2020. Hoa Cúc đã trở thành mặt hàng có giá trị xuất khẩu cao nhất, chiếm 82,4% tổng kim ngạch xuất khẩu nhóm hàng hoa tươi của nước ta năm 2022 [2]. Chính vì vậy, việc tạo ra số lượng lớn cây hoa Cúc có chất lượng tốt để đáp ứng được nhu cầu của người dùng trong và ngoài nước là vấn đề cấp thiết cần được thực hiện. Tuy nhiên, các phương pháp nhân giống truyền thống thường mất nhiều thời gian để tạo ra số lượng lớn cây giống, chất lượng cây kém, không đồng đều và dễ nhiễm bệnh. Vì vậy, việc ứng dụng công nghệ nuôi cấy mô, tế bào thực vật vào nhân giống cây hoa Cúc là điều cần thiết. Từ lâu, nhân giống cây hoa Cúc trong điều kiện nuôi cấy *in vitro* đã được nghiên cứu rộng rãi để phục vụ nhu cầu về sản xuất cây giống Cúc sạch bệnh, có chất lượng đồng đều với giá cả hợp lý [3]. Gần đây, một số nghiên cứu đã ứng dụng công nghệ nano trong nuôi cấy *in vitro* cây hoa Cúc như sử dụng nano đồng (Cu), vàng (Au) và bạc (Ag) để loại bỏ sự nhiễm nấm và vi khuẩn trong môi trường nuôi cấy cây hoa Cúc [4, 5].

Vi lượng là một trong những nhóm dinh dưỡng có ảnh hưởng trực tiếp đến hình thái, khả năng sinh trưởng và phát triển của cây trồng [6]. Molybdenum (Mo) là nguyên tố vi lượng thiết yếu trong chức năng trao đổi chất của thực vật [7]. Trong cơ thể thực vật, Mo được sử dụng để tổng hợp đồng yếu tố molybdenum (Moco), tạo thành các vị trí hoạt động của molybdoenzyme như sulfite oxidase (SOX), aldehyde oxidase (AO), xanthine dehydrogenase (XDH) và nitrat reductase (NR) [8]. Những enzyme này tham gia vào nhiều quá trình trao đổi chất quan trọng, bao gồm sinh tổng hợp phytohormone, chuyển hóa purine, giải độc sulfite và đồng hóa nitrat [9]. Bên cạnh đó, Mo cũng có vai trò chính trong việc thúc đẩy sự vận chuyển các sản phẩm quang hợp từ lá đến các cơ quan dự trữ làm tăng hiệu quả của chu trình quang hợp [10]. Do đó, sự thiếu hụt hoặc dư thừa Mo đều có thể ảnh hưởng tiêu cực đến sự sinh trưởng, phát triển và năng suất cây trồng [11].

Trong những năm gần đây, sự tương tác giữa vật liệu nano và thực vật đã thu hút sự quan tâm của nhiều nhà khoa học trên thế giới. Các nghiên cứu đã cho thấy cả ảnh hưởng tích cực và tiêu cực của vật liệu nano đến sự sinh trưởng và phát triển của thực vật, tùy thuộc vào thành phần, cấu trúc, nồng độ hạt nano và loài thực vật sử dụng [6, 12]. Trong lĩnh vực nuôi cấy mô tế bào thực vật, gần đây có một số nghiên cứu về tác động tích cực của nano kim loại lên thực vật nuôi cấy *in vitro*, như tăng tỷ lệ nảy mầm [13], gia tăng sinh trưởng [4, 5], tăng cường chuyển hóa các hợp chất thứ cấp như phenol, flavonoid hay alkaloid [14]. Molybdenum trioxide ở kích thước nano (MoO_3NPs) đã được chứng minh giúp cải thiện sự phát triển và tăng khả năng sử dụng nitrat trên cây lúa [15]. Bên cạnh đó, MoO_3NPs đã được chứng minh dễ hấp thu, tích lũy,

chuyển vị và chuyển hóa nhanh trong cơ thể thực vật [8, 9]. Tuy nhiên, so với các nano kim loại khác, các nghiên cứu ứng dụng MoO_3NPs trong khoa học thực vật nói chung và vi nhân giống thực vật nói riêng vẫn còn hạn chế.

Đặc biệt, cho đến nay vẫn chưa có các nghiên cứu ứng dụng hạt nano kim loại nói chung và MoO_3NPs nói riêng vào vi nhân giống cây hoa Cúc với vai trò như một nguồn dinh dưỡng thay thế có lợi cho sự sinh trưởng và phát triển của cây. Do đó, trong nghiên cứu này, lần đầu tiên thay thế muối natri molybdate dehydrat ($\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) bằng MoO_3NPs trong môi trường nuôi cấy MS [15] nhằm đánh giá tác động của MoO_3NPs lên khả năng sinh trưởng và phát triển của cây hoa Cúc được ghi nhận. Ngoài ra, nghiên cứu này còn đánh giá khả năng hấp thu khoáng và hoạt động của các enzyme chống oxy hóa.

2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Vật liệu thực vật

Chồi *in vitro* một tháng tuổi của cây hoa Cúc được nuôi cấy trên môi trường trong nghiên cứu của T. Murashige và cs (1962) [16] (Sigma-Aldrich, Mỹ) được bổ sung 8 g/l agar (Việt Xô, Việt Nam), 30 g/l sucrose và không có chất điều hòa sinh trưởng thực vật (PGRs) được sử dụng làm vật liệu ban đầu.

2.2. Dung dịch nano molybdenum trioxide

Dung dịch MoO_3NPs (kích thước hạt nano trung bình từ 20 đến 60 nm) được cung cấp bởi Viện Công nghệ Môi trường. Nồng độ của dung dịch MoO_3NPs ban đầu là 500 mg/l.

2.3. Ảnh hưởng của MoO_3NPs lên khả năng sinh trưởng và phát triển của chồi cây hoa Cúc nuôi cấy *in vitro*

Chồi ngọn của cây hoa Cúc *in vitro* 1 tháng tuổi (1 cm) với 1 cặp lá được nuôi cấy trên môi trường MS thay thế $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ bằng MoO_3NPs ở các nồng độ khác nhau (37,25; 74,5; 149; 223,5 và 298 $\mu\text{l/l}$ tương ứng với 1/4, 1/2, 1, 3/2 và 2 lần nồng độ $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ có trong môi trường MS cơ bản). Đối chứng âm (-) là môi trường MS đã loại bỏ muối $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ và đối chứng dương (+) là môi trường MS cơ bản. Các chỉ tiêu như số lượng chồi/mẫu, chiều cao chồi (cm), số lá, số đốt, chiều dài lá (cm), SPAD (nmol/cm^2) và khối lượng tươi (g) được ghi nhận sau 30 ngày nuôi cấy.

2.4. Xác định hoạt tính enzyme chống oxy hóa bằng phương pháp quang phổ tử khả kiến (UV-Vis)

2.4.1. Chuẩn bị dung dịch thử

Đầu tiên, 0,3 g mẫu chồi cây hoa Cúc tươi được nghiền thành bột bằng nitor lỏng, sau đó đồng nhất hóa bằng cách phân tán siêu âm trong 2 ml dung dịch đệm photphat 0,1 M (pH 7,4) chứa 0,1 mM Ethylene Diamine Tetra Acetic Acid (EDTA) để chiết xuất superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) và ascorbate peroxidase (APX). Sau khi chuyển sang ống ly tâm, mỗi chất đồng nhất được ly tâm ở tốc độ 15.000×g trong 20 phút ở 4°C. Chất nổi phía trên được thu thập và bảo quản trên đá lạnh để đánh giá hoạt động của các enzyme chống oxy hóa.

2.4.2. Hoạt động SOD

Phân tích hoạt độ SOD được thực hiện bằng phương pháp được mô tả bởi S. Marklund và cs (1974) [17], trong đó pyrogallol trải qua quá trình oxy hóa trong môi trường kiềm với sự có mặt của oxy trong không khí, tạo ra sản phẩm hấp thụ tối đa ở bước sóng 320 nm. Để ngăn pyrogallol tự oxy hóa, SOD trong mẫu xúc tác cho phản ứng phân hủy các gốc peroxide (-O-O-). Hoạt tính SOD trong mẫu được biểu thị bằng tỷ lệ ức chế. Sự thay đổi độ hấp thụ ở bước sóng 320 nm được sử dụng để tính toán đơn vị hoạt động của enzyme (U), tương đương với mức ức chế 50% quá trình tự oxy hóa pyrogallol. Điều này được tính toán bằng công thức sau: đơn vị enzyme (U/g protein) = (% bị ức chế/50) × tỷ lệ pha loãng.

2.4.3. Hoạt động CAT

Phân tích hoạt độ CAT của mẫu thử được thực hiện theo phương pháp của L. Goth (1991) [18], mẫu thử tiếp xúc với 100 μl H₂O₂ 65 mM trong 2 phút, sau đó phần H₂O₂ còn sót lại được trộn với 100 μl NH₄Mo₇O₂₄ để tạo ra phức hợp màu vàng ổn định có khả năng hấp thụ tốt nhất ở nhiệt độ 405 nm (một đơn vị hoạt tính CAT U/g prot tương đương với 1 μmol H₂O₂ thủy phân trong 1 phút).

2.4.4. Hoạt động APX

Phương pháp của Y. Nakano và cs (1981) [19] được sử dụng để tính toán hoạt độ APX. Sự hấp thụ APX tối đa ở bước sóng 290 nm bị giảm và bị oxy hóa bởi APX trong mẫu. Độ hấp thụ APX tối đa (290 nm) trong 3 phút với sự có mặt của 0,5 mM H₂O₂ được sử dụng để xác định đơn vị hoạt độ APX (U). Lượng APX bị oxy hóa được xác định trực tiếp bằng hệ số hấp thụ 2,8 mM/cm. Lượng APX cần thiết để oxy hóa 1 m ascorbate trong 1 phút trong điều kiện thí nghiệm được gọi là đơn vị hoạt độ enzyme (U/g prot).

2.5. Ảnh hưởng của dư lượng MoO₃NPs trong mẫu cây lên khả năng ra rễ của cây hoa Cúc nuôi cấy in vitro

Chồi cây hoa Cúc thu được từ thí nghiệm trước được chuyển sang môi trường MS không có Na₂MoO₄·2H₂O và PGRs, để đánh giá ảnh hưởng của dư lượng MoO₃NPs đến khả năng ra rễ. Chiều cao cây (cm), số lá, số rễ, chiều dài rễ (cm), SPAD (nmol/cm²) và khối lượng tươi (mg) được ghi nhận sau 15 ngày nuôi cấy.

2.6. Phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử

Phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử (AAS) được sử dụng để đánh giá sự hấp thụ kali (K), canxi (Ca), magie (Mg), sắt (Fe), đồng (Cu) và dư lượng Mo của chồi cây hoa Cúc sau 30 ngày nuôi cấy theo quy trình của Y. Kojuncu và cs (2004) [20]. Các mẫu phân tích được chuyển hóa thành các nguyên tử tự do hoặc hơi ion bằng nguồn năng lượng phù hợp sau khi môi trường nuôi cấy được thu gom và phân hủy bằng axit HNO₃/HCl (tỷ lệ 3:1). Phương pháp vô cơ ướt được sử dụng để phân tích dư lượng khoáng chất đa lượng và được đo bằng AAS-6650 (Shimadzu, Nhật Bản). Dư lượng trong môi trường nuôi cấy quyết định lượng chất dinh dưỡng và hạt nano được hấp thụ. Lớp vỏ bên ngoài của vật liệu nano giúp ổn định chúng, khiến chúng trở thành vật liệu có cấu trúc tương đối ổn định. Do đó, các phương pháp vô cơ ướt đã được sử dụng để tách MoO₃NPs thành dạng nguyên tử, nhằm đánh

giá dư lượng hạt nano trong môi trường nuôi cấy. Tiếp theo, cường độ hấp thụ của các nguyên tử Mo được đo, số lượng dư lượng hạt nano trong môi trường được xác định và tốc độ hấp thụ MoO₃NPs của hoa Cúc được tính toán.

2.7. Ảnh hưởng của dư lượng MoO₃NPs lên quá trình ra rễ của cây hoa Cúc nuôi cấy in vitro

Chồi cây hoa cúc có nguồn gốc từ nuôi cấy trên môi trường thay thế Na₂MoO₄·2H₂O bằng MoO₃NPs được chuyển sang môi trường MS không có Na₂MoO₄·2H₂O và PGRs, để đánh giá ảnh hưởng của dư lượng MoO₃NPs lên khả năng hình thành rễ *in vitro* và sinh trưởng của cây con. Số ngày cảm ứng ra rễ, số rễ, chiều dài rễ (cm), trọng lượng tươi (g), trọng lượng khô (g) và tỷ lệ tích lũy chất khô được ghi nhận sau 15 ngày nuôi cấy.

$$\text{Tỷ lệ tích lũy chất khô (\%)} = \frac{\text{Trọng lượng khô (g)}}{\text{Trọng lượng tươi (g)}} \times 100\%$$

2.8. Điều kiện nuôi cấy

Các mẫu được nuôi cấy *in vitro* trong điều kiện được kiểm soát trong phòng nuôi cấy có nhiệt độ 25±2°C và độ ẩm tương đối 55-60%. Ánh sáng huỳnh quang cung cấp cường độ 40-45 μmol m⁻².s⁻¹ với chu kỳ quang học là 12 giờ mỗi ngày.

2.9. Phân tích thống kê

Tất cả các thí nghiệm trong nghiên cứu này được lặp lại 3 lần với 30 mẫu/nghiệm thức. Tất cả số liệu được xử lý bằng phần mềm Microsoft Excel 2016 và phần mềm phân tích thống kê SPSS 20.0 theo phương pháp Duncan's test với p<0,05 [21].

3. Kết quả và bàn luận

3.1. Khả năng sinh trưởng và phát triển của chồi cây hoa Cúc nuôi cấy trên môi trường thay thế Na₂MoO₄·2H₂O bằng MoO₃NPs

Sau 30 ngày nuôi cấy, kết quả cho thấy, ở nghiệm thức (-), sự vắng mặt của Mo đã gây ảnh hưởng đến sự sinh trưởng của chồi cây hoa Cúc; chồi thu được từ nghiệm thức này có kích thước nhỏ, hình thành mô sẹo dưới gốc, lá nhỏ, cụp và vàng (hình 1). Khi nồng độ MoO₃NPs trong môi trường tăng lên (37,25-149 μg/l) thì khả năng sinh trưởng và phát triển của các chồi cây hoa Cúc cũng tốt hơn. Đặc biệt, ở nghiệm thức 149 μg/l MoO₃NPs, các chỉ tiêu như chiều cao chồi (5,4 cm), số lá (14,00 lá/chồi), số đốt (8,67 đốt/chồi), chiều dài lá (1,30 cm), SPAD (31,17 nmol/cm²) và khối lượng tươi (0,98 g) thu được tối ưu nhất khi so sánh với các nghiệm thức khác. Tuy nhiên, khi nồng độ MoO₃NPs quá cao (223,5-298 μg/l), khả năng sinh trưởng của các chồi Cúc lại giảm dần (bảng 1).



Hình 1. Ảnh hưởng của MoO₃NPs lên khả năng sinh trưởng và phát triển của các chồi cây hoa Cúc sau 4 tuần nuôi cấy [(-); (+); 37,25; 74,5; 149; 223,5 và 298 μg/l; trái sang phải]. Thanh bar = 2 cm; (-) Đối chứng âm: môi trường MS loại bỏ muối Na₂MoO₄·2H₂O; (+) Đối chứng dương: môi trường MS cơ bản.

Bảng 1. Ảnh hưởng của MoO_3NPs lên khả năng sinh trưởng và phát triển của chồi cây hoa Cúc sau 30 ngày nuôi cấy.

Nghiệm thức ($\mu\text{g/l}$)	Số chồi	Cao chồi (cm)	Số lá	Số đốt	Chiều dài lá (cm)	SPAD (nmol/cm^2)	Khối lượng tươi (g)
(-)	1,00a*	3,17b	8,67bc	3,67c	1,10ab	14,00b	0,23b
(+)	1,67a	4,90a	12,00ab	4,67c	1,17ab	29,07a	0,63ab
37,25	1,67a	3,67b	7,67c	7,00b	1,17ab	15,00b	0,26b
74,5	1,67a	5,13a	10,33ab	8,00ab	1,20ab	29,60a	0,74a
149	3,00a	5,40a	14,00a	8,67a	1,30a	31,17a	0,98a
223,5	1,00a	3,10b	8,67bc	5,00c	1,07ab	25,93ab	0,51ab
298	1,00a	2,93b	6,67c	4,33c	0,97b	24,07ab	0,19b

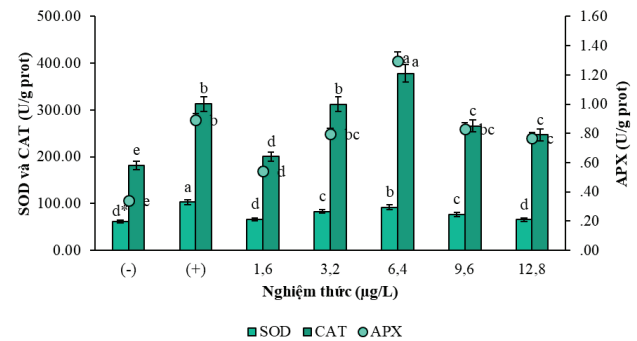
*Các chữ cái khác nhau (a, b...) trong cùng một cột thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$ (Duncan's test); (-) Đối chứng âm: môi trường MS loại bỏ muối $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$; (+) Đối chứng dương: môi trường MS cơ bản.

Mo, một ion kim loại thiết yếu được thực vật hấp thụ tự nhiên, là thành phần quan trọng của các enzyme như nitrat reductase, xanthine dehydrogenase và aldehyde oxidase trong thực vật [7]. Nồng độ của Mo trong đất nông nghiệp dao động từ 0,2 đến 5,0 mg/kg [22] và nồng độ cao hơn 1000 mg/kg (hoặc 1000 ppm) trong khối lượng khô có thể gây độc và làm giảm chất lượng cây trồng [23]. Thiếu Mo gây ra sự tích tụ nitrat trong thực vật [24]. Hơn nữa, các nghiên cứu trước đây cho thấy rằng, MoO_3NPs có thể được sử dụng làm phân bón bổ sung các nguyên tố vi lượng để dễ dàng cung cấp Mo cho cây trồng trong điều kiện thiếu hụt chất vi lượng này [25]. Mặc dù có rất ít nghiên cứu về MoO_3NPs , nhưng chúng đã cho thấy tác dụng tích cực đối với sự nảy mầm của hạt, hoạt động của enzyme chống oxy hóa [26], sự đa dạng của hệ vi sinh vật vùng rễ [27], phát sinh hình thái, tăng khả năng hấp thu dinh dưỡng và cân bằng ion của thực vật [28].

Những phát hiện của nghiên cứu này đã góp phần củng cố và làm rõ tác động của MoO_3NPs đối với sự sinh trưởng và phát triển của cây con, làm sáng tỏ vai trò tiềm năng của MoO_3NPs trong việc thay thế cho $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ trong môi trường nuôi cấy truyền thống (hình 1), từ đó giúp bổ sung vi lượng ở dạng nano nhằm cải thiện khả năng sinh trưởng và phát triển của cây trồng trong điều kiện nuôi cấy *in vitro*.

3.2. Enzyme chống oxy hóa

Tác động tối ưu của MoO_3NPs trong việc tăng cường hoạt động của các enzyme chống oxy hóa cũng được ghi nhận trong nghiên cứu này. Hoạt tính của enzyme chống oxy hóa ở nghiệm thức bổ sung 149 $\mu\text{g/l}$ MoO_3NPs tốt hơn so với nghiệm thức đối chứng (+) (trừ SOD) và các nghiệm thức khác. Sự tăng trưởng của cây cũng giảm tương tự khi Mo không được bổ sung vào môi trường dinh dưỡng cũng phản ánh hoạt động của hệ enzyme chống oxy hóa giảm mạnh. Ngoài ra, hoạt động của các enzyme này bị ức chế khi có quá nhiều Mo (hình 2). Kết quả này cho thấy, tác dụng tích cực không chỉ đối với sự tăng trưởng mà còn đối với hoạt độ enzyme chống oxy (hình 2). Cụ thể, tác dụng tích cực của Mo cao hơn đáng kể khi nó ở dạng hạt nano so với dạng ion.



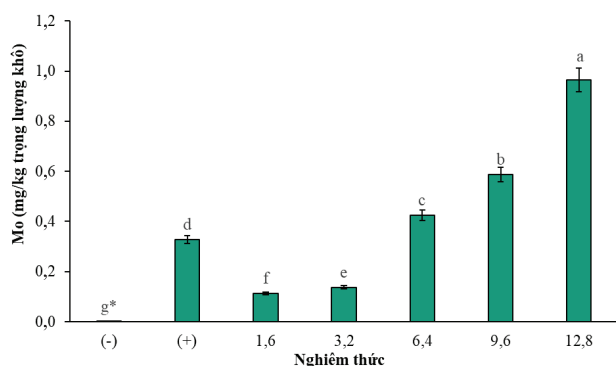
Hình 2. Hoạt tính của enzyme chống oxy hóa SOD, APX và CAT trong chồi cây hoa Cúc sau 30 ngày nuôi cấy trên môi trường MS thay thế muối $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ bằng MoO_3NPs . (-) Đối chứng âm: môi trường MS loại bỏ muối $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$; (+) Đối chứng dương: môi trường MS cơ bản; *Các giá trị với các chữ cái khác nhau có sự khác biệt đáng kể giữa các nghiệm thức.

Trong quá trình nuôi cấy thực vật, các yếu tố môi trường bất lợi tồn tại và tạo ra một lượng lớn các loại oxy phản ứng (ROS) bao gồm hydro peroxide (H_2O_2), oxy nhóm đơn ($\cdot\text{O}_2^-$) và các gốc hydroxyl ($\cdot\text{OH}$). ROS phá vỡ nhiều quá trình sinh học bằng cách thay đổi đường truyền tín hiệu nội bào [29]. Ví dụ, ROS gây ra quá trình peroxid hóa lipid làm tổn thương màng tế bào. Nghiêm trọng hơn, ROS có thể làm hư tổn cấu trúc của chuỗi DNA bằng cách phản ứng với các phân tử sinh học tạo ra DNA [30]. Do đó, cải thiện hoạt động của hệ thống enzyme chống oxy hóa là một quá trình sinh học quan trọng để cải thiện sự phát triển của thực vật; hơn nữa, sự cải thiện này đặc biệt quan trọng đối với khả năng chống chịu stress của cây con *in vitro* trong giai đoạn thích nghi ở điều kiện *ex vitro*. Mo có tác động lên các enzyme chịu trách nhiệm cho quá trình dị hóa purine, sinh tổng hợp ureide, acid abscisic và oxy hóa sulfite trong cây họ Đậu [11, 31]. Việc sử dụng phân bón Mo thông thường, chẳng hạn như ammonium heptamolybdate, ammonium dimolybdate và natri molybdate, gây lo ngại do độ tinh khiết của chúng thấp, từ đó đưa các hợp chất khác vào đất gây sự tích tụ và gây tác động có hại đến cây trồng. Trong khi đó, MoO_3NPs có độ tinh khiết 99%, làm giảm khả năng tích lũy các yếu tố không mong muốn như các hợp chất Mo khác [32, 33]. Ngoài ra, Mo cũng cần thiết cho quá trình sinh tổng hợp Moco và enzyme molybdo, ảnh hưởng đến quá trình chuyển đổi năng lượng và điều chỉnh biểu hiện gen [34, 35].

3.3. Dự lượng Mo và khả năng hấp thụ khoáng của các chồi cây hoa Cúc nuôi cấy trên môi trường thay thế $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ bằng MoO_3NPs

Kết quả phân tích cho thấy, dự lượng Mo trong chồi cây hoa Cúc tăng dần theo nồng độ Mo có trong môi trường nuôi cấy (hình 3). Trong nghiệm thức (-), Mo vẫn được phát hiện ngay cả khi mẫu được nuôi cấy trên môi trường không có $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$; điều này cho thấy sự tích tụ Mo vẫn còn sót lại từ giai đoạn nuôi cấy trước đó. Tuy nhiên, nồng độ Mo này không đủ cho quá trình sinh trưởng và phát triển của chồi

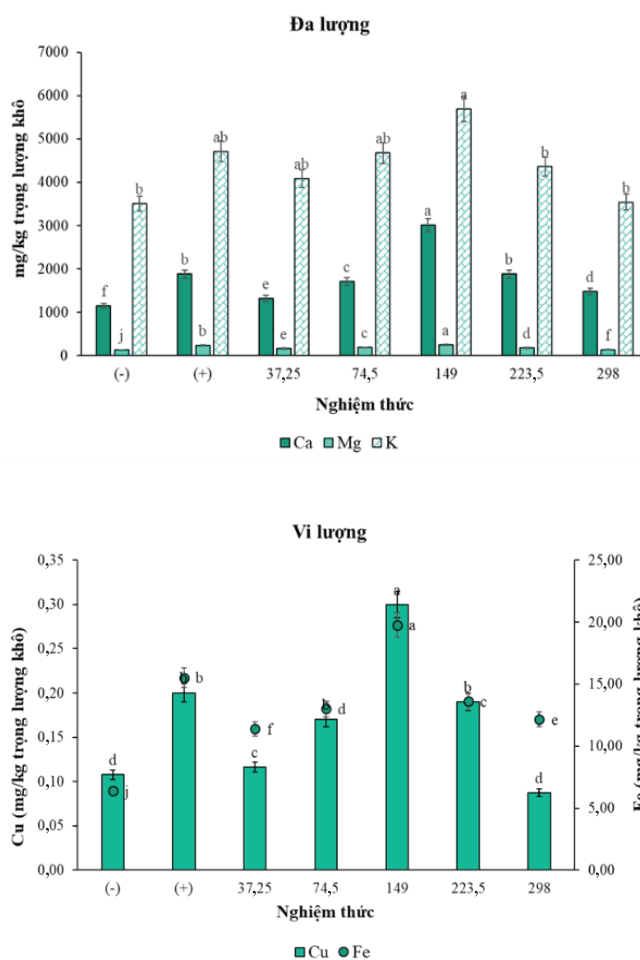
cây hoa Cúc (hình 1). Ngoài ra, nghiên cứu này còn chứng minh rằng các chất dinh dưỡng được hấp thụ hiệu quả và nhanh chóng hơn bởi các mẫu thực vật khi ở kích thước hạt nano (hình 3). Những phát hiện này cho thấy rằng, việc thay thế muối $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ bằng MoO_3NPs trong môi trường nuôi cấy đã giúp tăng cường khả năng hấp thụ, cung cấp nguồn dinh dưỡng vì lượng cho thực vật để hỗ trợ quá trình sinh trưởng và các hoạt động quan trọng khác.



Hình 3. Dư lượng Mo trong mẫu chồi ngọn cây hoa Cúc được nuôi cấy trên môi trường MS thay thế muối $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ bằng MoO_3NPs . (-) Đối chứng âm: môi trường MS loại bỏ muối $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$; (+) Đối chứng dương: môi trường MS cơ bản.

Hơn nữa, tác động tích cực của Mo đối với khả năng hấp thụ chất dinh dưỡng đã được quan sát thấy trong nghiên cứu này (hình 4). Kết quả cho thấy, khả năng hấp thụ dinh dưỡng của chồi cây hoa Cúc ở nghiệm thức (-) là thấp nhất so với các nghiệm thức còn lại. Ngoài ra, khả năng hấp thụ khoáng Ca, Mg, K, Cu, Fe tăng dần theo nồng độ MoO_3NPs trong môi trường nuôi cấy (37,25-149 µg/l). Kết quả tối ưu nhất được quan sát thấy ở nghiệm thức 149 µg/l MoO_3NPs . Mặc dù nồng độ Mo trong nghiệm thức (+) tương đương với nghiệm thức 149 µg/l MoO_3NPs , tuy nhiên hiệu quả hấp thụ chất dinh dưỡng trong nghiệm thức này lại không tối ưu (hình 4). Vì vậy, ở kích thước nano, Mo có tác động tối ưu hơn đến khả năng hấp thụ khoáng của cây trồng. Tuy nhiên, nồng độ MoO_3NPs quá cao (223,5 và 298 µg/l) lại gây độc đối với chồi cây hoa Cúc, làm giảm khả năng hấp thụ chất dinh dưỡng ở đối tượng thực vật này (hình 4).

Các chất dinh dưỡng thiết yếu bao gồm N, P, K, Cu, Fe, Mn, Zn và Mo rất quan trọng cho sự phát triển và năng suất tối ưu của cây trồng [36, 37]. Sự thiếu hụt các chất dinh dưỡng đa lượng và vi lượng này làm gián đoạn sự phát triển của cây trồng, dẫn đến sản lượng cây trồng giảm đáng kể [38]. Mo làm tăng hoạt động của enzyme chống oxy hóa, sản xuất ABA, đồng hóa N và Fe, dẫn đến cải thiện sự phát triển của thực vật và khả năng chống lại stress oxy hóa [39, 40]. Nồng độ Mo không đủ có thể làm giảm hiệu quả của phân bón nitơ (N), dẫn đến năng suất cây trồng và trái cây giảm, đặc trưng là lá bất thường và tăng trưởng còi cọc [41]. Mo không thể thiếu trong quá trình chuyển hóa N, bao gồm

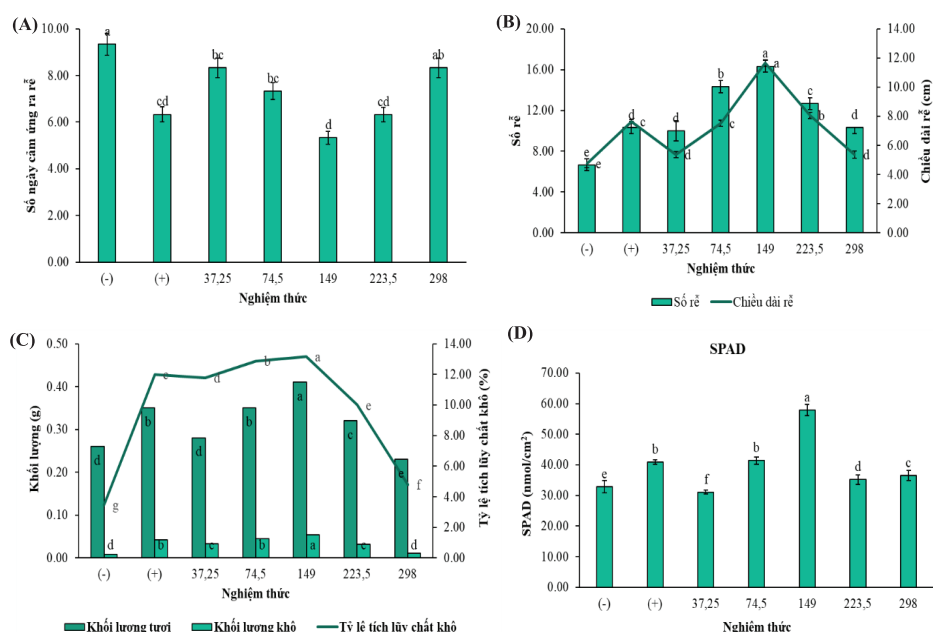


Hình 4. Khả năng hấp thụ đa lượng (Ca, Mg, K) và vi lượng (Cu, Fe) của chồi cây hoa Cúc nuôi cấy trên môi trường MS thay thế muối $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ bằng MoO_3NPs . (-) Đối chứng âm: môi trường MS loại bỏ muối $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$; (+) Đối chứng dương: môi trường MS cơ bản.

cố định N, khử nitrat và đồng hóa N [29]. Ở cây Cà chua, Mo hỗ trợ hấp thụ Fe; trong khi đó, ở cây Lúa, khi được phát triển trong môi trường giàu Fe sẽ tăng cường khả năng hấp thụ Mo [34, 35]. Ngoài ra, vai trò của Mo lên sự sinh trưởng, phát triển và ra hoa của cây hoa Cúc trong điều kiện *ex vitro* cũng đã được nghiên cứu [42]. Ở hoa Cúc, lượng Mo thích hợp sẽ hỗ trợ sự phát triển của hạt giống khỏe mạnh. Hơn thế nữa, Mo ảnh hưởng đến quá trình chuyển hóa N, có tác động gián tiếp đến quá trình quang hợp của thực vật [43].

3.4. Đánh giá quá trình ra rễ của cây hoa Cúc từ nuôi cấy trên môi trường bổ sung MoO_3NPs

Sau 15 ngày nuôi cấy, dư lượng MoO_3NPs còn lại trong mẫu chồi đã ảnh hưởng đến giai đoạn ra rễ *in vitro* của cây hoa Cúc (hình 5 và 6). Ở tất cả các chỉ tiêu (chiều cao cây, số rễ, chiều dài rễ, SPAD, khối lượng tươi, khối lượng khô và tỷ lệ tích lũy chất khô) của nghiệm thức 149 µg/l MoO_3NPs vẫn cho thấy ưu thế ở giai đoạn ra rễ. Điều thú vị là, mặc dù dư lượng Mo trong mẫu ở nghiệm thức (+) cao hơn so với các nghiệm thức 37,25



Hình 5. Ảnh hưởng của dư lượng MoO_3NPs lên khả năng ra rễ của cây hoa Cúc sau 15 ngày nuôi cấy. (A) Số ngày cảm ứng ra rễ; (B) Số rễ và chiều dài rễ; (C) Khối lượng tươi, khô và tỷ lệ tích lũy chất khô; (D) SPAD. (-) Đối chứng âm: môi trường MS loại bỏ muối $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$; (+) Đối chứng dương: môi trường MS cơ bản.

và 74,5 $\mu\text{g/l}$, khả năng ra rễ và sinh trưởng của những cây này không tốt bằng những cây có nguồn gốc từ môi trường thay thế $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ bằng MoO_3NPs . Cây con ở nghiệm thức (+) có màu vàng, lá nhỏ, cụp; trong khi đó, ở các nghiệm thức thay thế $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ bằng MoO_3NPs cây con có màu xanh đậm, lá to (hình 6).

Sự phát triển của hệ thống rễ rất quan trọng để cây lấy nước, hấp thụ chất dinh dưỡng từ các nguồn phân bố không đều, duy trì sự ổn định về cấu trúc và phản ứng với các yếu tố sinh học và phi sinh học. Sự phát triển của hệ thống rễ bị ảnh hưởng đáng kể bởi các tín hiệu N khác nhau và nguồn N có trong vùng rễ. Mo rất quan



Hình 6. Ảnh hưởng của dư lượng MoO_3NPs lên khả năng ra rễ của cây hoa Cúc sau 15 ngày nuôi cấy. Thanh bar = 2 cm. (-) Đối chứng âm: môi trường MS loại bỏ muối $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$; (+) Đối chứng dương: môi trường MS cơ bản.

trọng cho quá trình đồng hóa và chuyển hóa nitơ. Nghiên cứu của M. Imran và cs (2021) [44] đã chỉ ra rằng, Mo góp phần đáng kể vào việc tăng cường sự phát triển của hệ thống rễ cây Lúa mì bằng cách thúc đẩy sản xuất oxit nitric, tạo điều kiện cho sự hấp thụ và đồng hóa N hiệu quả, cũng như điều chỉnh các biểu hiện gen nitrate transporter.

4. Kết luận

Nghiên cứu này đã chứng minh được vai trò của MoO_3NPs trong việc thay thế vai trò của $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ trong môi trường nuôi cấy cây hoa Cúc trong các giai đoạn sinh trưởng, phát triển và ra rễ. Tùy thuộc vào từng giai đoạn sinh trưởng, nồng độ MoO_3NPs tối ưu (149 $\mu\text{g/l}$) sẽ tăng cường khả năng sinh trưởng, sự hấp thụ các chất dinh dưỡng và hoạt động của enzyme chống oxy hóa của mẫu nuôi cấy hoa Cúc cây *in vitro*.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được hỗ trợ kinh phí bởi Chương trình phát triển nhóm nghiên cứu xuất sắc hạng I về “Nghiên cứu ảnh hưởng của một số hạt nano kim loại lên sự phát sinh hình thái, sinh trưởng - phát triển, sinh lý - sinh hóa và tích lũy hợp chất thứ cấp của một số cây trồng có giá trị kinh tế nuôi cấy *in vitro*” theo số mã số đề tài NCXS01.03/22-24 của Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam. Các tác giả xin chân thành cảm ơn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] M. Mekapogu, O.K. Kwon, H.Y. Song, et al. (2022), “Towards the improvement of ornamental attributes in chrysanthemum: Recent progress in biotechnological advances”, *International Journal of Molecular Sciences*, **23**(20), DOI: 10.3390/ijms232012284.
- [2] A. Tam (2023), “Earned more than 55 million USD from selling chrysanthemums to foreign customers”, *VietNamNet.vn*, <https://vietnamnet.vn/thu-hon-55-trieu-usd-tu-ban-hoa-cuc-cho-khach-tay-2109695.html>, accessed 15 May 2023 (in Vietnamese).
- [3] N. Miler, I. Jedrzejczyk, S. Jakubowski, et al. (2021), “Ovaries of chrysanthemum irradiated with high-energy photons and high-energy electrons can regenerate plants with novel traits”, *Agronomy*, **11**, DOI: 10.3390/agronomy11061111.
- [4] H.T. Tung, N.B. Nam, N.P. Huy, et al. (2018), “A system for large scale production of chrysanthemum using microponics with the supplement of silver nanoparticles under light-emitting diodes”, *Scientia Horticulturae*, **232**, pp.153-161, DOI: 10.1016/j.scienta.2017.12.063.
- [5] A. Tymoszyk, N. Miler (2019), “Silver and gold nanoparticles impact on *in vitro* adventitious organogenesis in chrysanthemum, gerbera and Cape Primrose”, *Scientia Horticulturae*, **257**, DOI: 10.1016/j.scienta.2019.108766.
- [6] D.H. Kim, J. Gopal, I. Sivasenan (2017), “Nanomaterials in plant tissue culture: The disclosed and undisclosed”, *The Royal Society of Chemistry*, **7**, pp.36492-36505, DOI: 10.1039/C7RA07025J.

- [7] A.V. Barker, D.J. Pilbeam (2015), *Handbook of Plant Nutrition*, CRC Press, pp.110-121.
- [8] T. Kruse, C. Gehl, M. Geisler, et al. (2010), "Identification and biochemical characterization of molybdenum cofactor-binding proteins from *Arabidopsis thaliana*", *Journal of Biological Chemistry*, **285**(9), pp.6623-6635, DOI: 10.1074/jbc.M109.060640.
- [9] R.R. Mendel, S. Leimkühler (2015), "The biosynthesis of the molybdenum cofactors", *Journal of Biological Inorganic Chemistry*, **20**, pp.337-347, DOI: 10.1007/s00775-014-1173-y.
- [10] F.J. Maathuis, E. Diatloff (2013), "Roles and functions of plant mineral nutrients", *Methods in Molecular Biology*, pp.1-21, DOI: 10.1007/978-1-62703-152-3_1.
- [11] B.N. Kaiser, K.L. Gridley, B.J. Ngai, et al. (2005), "The role of molybdenum in agricultural plant production", *Annals of Botany*, **96**(5), pp.745-754, DOI: 10.1093/aob/mci226.
- [12] M.H. Siddiqui, M.H.A. Whaibi, F. Mohammad (2015), *Nanotechnology and Plant Sciences*, Springer, pp.289-311 (in Switzerland).
- [13] K. Gopinath, S. Gowri, V. Karthika, et al. (2014), "Green synthesis of gold nanoparticles from fruit extract of Terminalia arjuna, for the enhanced seed germination activity of *Gloriosa superba*", *Journal of Nanostructure in Chemistry*, **4**(3), pp.1-11, DOI: 10.1007/s40097-014-0115-0.
- [14] J.P. Giraldo, M.P. Landry, S.M. Faltermeier, et al. (2014), "Plant nanobionics approach to augment photosynthesis and biochemical sensing", *Nature Materials*, **13**(5), pp.400-408, DOI: 10.1038/nmat3947.
- [15] H. Zhang, R. Wang, Z. Chen, et al. (2022), "Nanoscale molybdenum oxide improves plant growth and increases nitrate utilisation in rice (*Oryza sativa* L.)", *Food and Energy Security*, **11**(2), DOI: 10.1002/fes3.383.
- [16] T. Murashige, F. Skoog (1962), "A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures", *Physiologia Plantarum*, **15**(3), pp.473-497, DOI: 10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x.
- [17] S. Marklund, G. Marklund (1974), "Involvement of the superoxide anion radical in the autooxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase", *European Journal of Biochemistry*, **47**(3), pp.469-474, DOI: 10.1111/j.1432-1033.1974.tb03714.x.
- [18] L. Goth (1991), "A simple method for determination of serum catalase activity and revision of reference range", *Clinica Chimica Acta*, **196**(2-3), pp.143-151, DOI: 10.1016/0009-8981(91)90067-M.
- [19] Y. Nakano, K. Asada (1981), "Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate specific peroxidase in spinach chloroplasts", *Plant Cell Physiology*, **22**(5), pp.867-880, DOI: 10.1093/oxfordjournals.pcp.a076232.
- [20] Y. Kojuncu, J.M. Bundalevska, Ü. Ay, et al. (2004), "Atomic absorption spectrometry determination of Cd, Cu, Fe, Ni, Pb, Zn, and Tl traces in seawater following flotation separation", *Separation Science and Technology*, **39**(11), pp.2751-2765, DOI: 10.1081/SS-200026751.
- [21] D.B. Duncan (1955), "Multiple range and multiple F tests", *Biometrics*, **11**(1), pp.1-42, DOI: 10.2307/3001478.
- [22] F. Scheffer, P. Schachtschabel (2002), *Textbook of Soil Science*, Auflage Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg, German, **15**, 593pp.
- [23] H. Marschner (2012), *Marschner's Mineral Nutrition of Higher Plants*, 3rd Edition, Academic Press, DOI: 10.1016/C2009-0-63043-9.
- [24] M.G. Moussa, X. Sun, M.A. Ismael, et al. (2022), "Molybdenum-induced effects on grain yield, macro-micro-nutrient uptake, and allocation in Mo-inefficient winter wheat", *Journal of Plant Growth Regulation*, **41**(4), pp.1516-1531, DOI: 10.1007/s00344-021-10397-0.
- [25] P.K. Sharma, A.S. Raghubanshi, K. Shah (2021), "Examining the uptake and bioaccumulation of molybdenum nanoparticles and their effect on antioxidant activities in growing rice seedlings", *Environmental Science and Pollution Research International*, **28**, pp.13439-13453, DOI: 10.1007/s11356-020-11511-7.
- [26] N. Taran, L. Batsmanova, O. Kosyk, et al. (2016), "Colloidal nanomolybdenum influence upon the antioxidative reaction of chickpea plants (*Cicer arietinum* L.)", *Nanoscale Research Letters*, **11**, pp.1-5, DOI: 10.1186/s11671-016-1690-4.
- [27] E. Thomas, I. Rathore, J. Tarafdar (2017), "Bioinspired production of molybdenum nanoparticles and its effect on chickpea (*Cicer arietinum* L.)", *Journal of Bionanoscience*, **11**(2), pp.153-159, DOI: 10.1166/jbns.2017.1425.
- [28] T. Ahmed, M. Noman, M. Rizwan, et al. (2022), "Green molybdenum nanoparticles-mediated bio-stimulation of *Bacillus* sp. strain ZH16 improved the wheat growth by managing in planta nutrients supply, ionic homeostasis and arsenic accumulation", *Journal of Hazardous Materials*, **423**, DOI: 10.1016/j.jhazmat.2021.127024.
- [29] R. Mittler (2002), "Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance", *Trends in Plant Science*, **7**(9), pp.405-410, DOI: 10.1016/s1360-1385(02)02312-9.
- [30] W. Józwiak, B. Politycka (2019), "Effect of selenium on alleviating oxidative stress caused by a water deficit in cucumber roots", *Plants*, **8**(7), DOI: 10.3390/plants8070217.
- [31] R.R. Mendel, G. Schwarz (2011), "Molybdenum cofactor biosynthesis in plants and humans", *Coordination Chemistry Reviews*, **255**(9-10), pp.1145-1158, DOI: 10.1016/j.ccr.2011.01.054.
- [32] A. Heidarzade, M. Esmaceli, M. Bahmanyar, et al. (2016), "Response of soybean (*Glycine max*) to molybdenum and iron spray under well-watered and water deficit conditions", *Journal of Experimental Biology and Agricultural Sciences*, **4**(1), pp.37-46, DOI: 10.18006/2015.4(1).37.46.8.
- [33] L.V. Trong, B.B. Thinh, N. Hung (2020), "Impacts of molybdenum on drought tolerance of some maize (*Zea mays* L.) cultivars at seedling stage", *Plant Cell Biotechnology and Molecular Biology*, **21**(19-20), pp.70-77.
- [34] M.T. Jiménez, A.C. Ampudia, A. Galván, et al. (2013), "Molybdenum metabolism in plants", *Metallomics*, **5**(9), pp.1191-1203, DOI: 10.1039/c3mt00078h.
- [35] F. Bittner (2014), "Molybdenum metabolism in plants and crosstalk to iron", *Frontiers of Plant Science*, **28**(5), DOI: 10.3389/fpls.2014.00028.
- [36] S. Kumar, S. Kumar, T. Mohapatra (2021), "Interaction between macro- and micro-nutrients in plants", *Frontiers of Plant Science*, **12**, DOI: 10.3389/fpls.2021.665583.
- [37] S. Guha, H. Sharma, G.K. Deshwal, et al. (2021), "A comprehensive review on bioactive peptides derived from milk and milk products of minor dairy species", *Food Production, Processing and Nutrition*, **3**(1), DOI: 10.1186/s43014-020-00045-7.
- [38] D.K. Tripathi, S. Singh, S. Singh, et al. (2015), "Micronutrients and their diverse role in agricultural crops: Advances and future prospective", *Acta Physiologiae Plantarum*, **37**, DOI: 10.1007/s11738-015-1870-3.
- [39] M. Zhang, C. Hu, X. Zhao, et al. (2012), "Molybdenum improves antioxidant and osmotic-adjustment ability against salt stress in Chinese cabbage (*Brassica campestris* L. ssp. *Pekinensis*)", *Plant Soil*, **355**, pp.375-383, DOI: 10.1007/s11104-011-1109-z.
- [40] M.H. Wu, L. Li, N. Liu, et al. (2018), "Molybdenum disulfide (MoS₂) as a co-catalyst for photocatalytic degradation of organic contaminants: A review", *Process Safety and Environmental Protection*, **118**, pp.40-58, DOI: 10.1016/j.psep.2018.06.025.
- [41] Y. Gao, C. Chen, X. Tan, et al. (2016), "Polyaniline-modified 3D-flower-like molybdenum disulfide composite for efficient adsorption/photocatalytic reduction of Cr (VI)", *Journal of Colloid and Interface Science*, **476**, pp.62-70, DOI: 10.1016/j.jcis.2016.05.022.
- [42] K.R.T. Wood, E.J. Flaherty, A.J. Donetz, et al. (2023), "Improving boron and molybdenum use efficiencies in contrasting cultivars of subirrigated greenhouse-grown pot chrysanthemums", *Plants*, **12**(12), DOI: 10.3390/plants12122348.
- [43] S. Jayakumar, A.K. Abhangrao, R.A. Sarje, et al. (2024), "Critical analysis on effect of micronutrients on flowering plants: A review", *International Journal of Plant & Soil Science*, **36**(6), pp.776-782, DOI: 10.9734/ijpss/2024/v36i64683.
- [44] M. Imran, X. Sun, S. Hussain, et al. (2021), "Molybdenum supply increases root system growth of winter wheat by enhancing nitric oxide accumulation and expression of NRT genes", *Plant Soil*, **459**, pp.235-248, DOI: 10.007/s11104-020-04765-0.

Đánh giá sự khác biệt kiểu hình và thông số di truyền trên các giống/dòng lúa màu để cải thiện chất lượng hạt gạo chức năng

Huỳnh Như Điền, Huỳnh Kỳ, Nguyễn Lộc Hiền, Phạm Thị Bé Tư, Chung Trương Quốc Khang, Châu Thanh Nhã*

Trường Nông nghiệp, Đại học Cần Thơ, khu 2, đường 3/2, phường Ninh Kiều, TP Cần Thơ, Việt Nam

Ngày nhận bài 26/5/2024; ngày chuyển phản biện 28/5/2024; ngày nhận phản biện 8/6/2024; ngày chấp nhận đăng 18/6/2024

Tóm tắt:

Lúa màu được xem là loại gạo đặc sản, có chứa hoạt tính chống oxy hóa mạnh và có lợi cho sức khỏe con người. Nghiên cứu này được thực hiện nhằm đánh giá các tính trạng nông học, chất lượng và chất chống oxy hóa trên 45 giống/dòng lúa màu và chỉ số khoảng cách kiểu gen - kiểu hình đa tính trạng (MGIDI) để tuyển chọn ra giống/dòng lúa màu tiềm năng nhất. Kết quả cho thấy, các tính trạng có sự khác biệt lớn về kiểu hình và di truyền. Hàm lượng anthocyanin dao động 5,3-315,3 mg/g. Hệ số di truyền theo nghĩa rộng (H^2_{bs}) dao động từ 44 đến 87% cho các tính trạng. Phân tích thành phần chính 1 (PCA1) đóng góp 22,5% vào tổng biến thể trong khi PCA2 đóng góp 14,3%. Bảy giống/dòng lúa màu ưu tú được chọn dựa trên chỉ số MGIDI gồm: Nếp đỏ, Phước ly, Sóc nâu 2, Lút tím 2, Blau sáng, Lút tím 1 và NT Đắc Hà. Các giống/dòng lúa màu được chọn này sẽ là nguồn vật liệu quý cho việc lai tạo lúa chức năng trong tương lai, nhằm mục đích phát triển các giống có giá trị dinh dưỡng cao, góp phần nâng cao sức khỏe cho người tiêu dùng.

Từ khóa: anthocyanin, kiểu gen - kiểu hình đa tính trạng, lúa màu.

Chỉ số phân loại: 1.6, 4.6

Evaluation of phenotypic variation and genetic parameters in coloured rice varieties/lines to improve functional grain quality

Nhu Dien Huynh, Ky Huynh, Loc Hien Nguyen, Thi Be Tu Pham, Truong Quoc Khang Chung, Thanh Nha Chau*

College of Agriculture, Can Tho University, Campus 2, 3/2 Street, Ninh Kieu Ward, Can Tho City, Vietnam

Received 26 May 2024; revised 8 June 2024; accepted 18 June 2024

Abstract:

Coloured rice is considered a specialty rice variety, has significant antioxidant properties, and beneficial effects for human health. This study was conducted to evaluate the agronomic traits, quality, and antioxidant capacity on 45 coloured rice varieties/lines and the multi-trait genotype-ideotype distance index (MGIDI) to select the most potential coloured rice varieties/lines. The results showed substantial genetic and phenotypic variation. The anthocyanin content varied widely, spanning from 5.3 to 315.3 mg/g. The broad-sense heritability (H^2_{bs}) coefficient ranged from 44 to 87% for the traits. The first principal component analysis (PCA1) contributed 22.5% of the total variance, while the second principal component (PCA2) contributed 14.3%. Based on the MGIDI, seven elite coloured rice varieties/lines including Nep do, Phuoc Ly, Soc nau 2, Lut tim 2, Blau Sang, Lut tim 1, and NT Dak Ha were chosen. Therefore, these selected coloured rice lines/varieties will be a valuable resource for future functional rice breeding programmes aimed at developing nutrient-rich varieties that contribute to improved consumer health.

Keywords: anthocyanin, coloured rice, multi-trait genotype-ideotype distance index.

Classification numbers: 1.6, 4.6

*Tác giả liên hệ: Email: ctnha@ctu.edu.vn

1. Đặt vấn đề

Cây lúa (*Oryza sativa* L.) là một trong năm loại ngũ cốc chính cung cấp năng lượng và dinh dưỡng quan trọng cho phần lớn dân số châu Á [1]. Ở Việt Nam, gạo trắng được tiêu thụ chủ yếu trong khẩu phần ăn hằng ngày, nhưng lại có giá trị dinh dưỡng và các chất chống oxy hóa thấp hơn so với việc sử dụng gạo lứt hoặc gạo màu. Hiện nay, người dân nói chung đã nhận thức rõ hơn về lợi ích sức khỏe và giá trị dinh dưỡng của gạo lứt hoặc gạo màu mang lại. Do đó, nhu cầu về gạo màu và các sản phẩm của nó phục vụ cho các ngành công nghiệp thực phẩm, y tế và mỹ phẩm đã tăng lên, tạo cơ hội xuất khẩu cho các nước trồng lúa lớn ở châu Á [2].

Anthocyanin đã được tìm thấy ở nhiều bộ phận khác nhau trên cây lúa, góp phần tạo ra màu sắc hấp dẫn, đặc biệt là màu sắc của hạt gạo [3]. Màu sắc hạt có màu từ nâu, đỏ, tím và đen do thành phần và nồng độ sắc tố khác nhau [4]. Sắc tố tăng lên cùng với sự phát triển của hạt và những thay đổi được quan sát thấy ở các giai đoạn phát triển khác nhau [5]. Các sắc tố khác nhau là kết quả của sự kết hợp một số hợp chất trong lớp vỏ ngoài hạt (pericarp) hoặc lớp vỏ cám (aleurone). Sắc tố anthocyanin giúp giảm mức cholesterol trên người, có lợi cho việc phòng ngừa bệnh tiểu đường và ung thư do hoạt động ức chế men aldose reductase [6]. Sự tích lũy anthocyanin trong hạt lúa rất khác nhau giữa các giống/dòng lúa hay nơi canh tác [7]. Hầu hết các giống lúa mùa truyền thống, lúa rẫy vùng cao và các giống lúa hoang đều có chứa sắc tố màu, những giống lúa này chiếm tỷ lệ đáng kể trong ngân hàng gen lúa. Ngoài ra, các giống lúa với hạt gạo màu đỏ, tím, đen, nâu và vàng, vẫn được trồng ở một số khu vực tại Việt Nam vì giá trị dinh dưỡng và được tính của chúng, hoặc có thể là do tập quán văn hóa truyền thống canh tác lúa ở mỗi vùng miền. Một số nghiên cứu cho thấy, hàm lượng các hợp chất chống oxy hóa, vitamin và khoáng chất cao gấp 3 đến 4 lần so với các giống lúa hiện đại [8]. Các giống lúa truyền thống thường sở hữu các vùng gen quý về giá trị dinh dưỡng và khoáng chất có lợi, do đó, việc đưa chương trình cải tiến các giống lúa đặc sản nhằm hướng đến nền nông nghiệp xanh, an toàn và bền vững là nhu cầu cấp thiết.

Các phương pháp thăm dò đa biến như phân tích thành phần chính (PCA), phân tích phân biệt tuyến tính (LDA) đã được sử dụng rộng rãi để giảm khoảng cách và xấp xỉ trực quan hai chiều, liên quan đến các nghiệm thức và tính trạng số lượng trên thực vật [9]. Mặc dù những cách tiếp cận này dễ dàng cung cấp cái nhìn tổng quan về mối quan hệ giữa các tính trạng phức tạp, nhưng việc xếp hạng các phương pháp nghiệm thức xử lý dựa trên giá trị tính trạng phức tạp vẫn là một thách thức không nhỏ trong chọn giống cây trồng. Để khắc phục nhược điểm này, chỉ số khoảng cách MGIDI đã được đề xuất và thiết kế để chọn lọc kiểu gen trong chọn giống cây trồng, dựa trên thông tin của nhiều tính trạng số lượng và đã được sử dụng thành công để chọn kiểu gen tốt [10]. Phân tích mối quan hệ giữa các tính trạng số lượng là rất quan trọng để đánh giá tính khả thi của việc chọn lọc chung hai hoặc nhiều tính trạng, ảnh hưởng của việc chọn lọc các tính trạng thứ cấp đến mức tăng di truyền cho tính trạng chính.

Một bộ giống/dòng lúa đa dạng về màu được lưu trữ từ ngân hàng gen, Trường Đại học Cần Thơ được đánh giá. Mục tiêu chính là sử dụng chỉ số MGIDI để khai thác thông tin của nhiều tính trạng nông học, sinh hoá và chất lượng nhằm xác định lựa chọn các giống/dòng lúa màu tiềm năng phục vụ cho chương trình chọn tạo giống lúa chức năng.

2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Vật liệu

Vật liệu cho nghiên cứu nằm trong chương trình chọn giống/dòng lúa màu chức năng của Trường Nông nghiệp, Trường Đại học Cần Thơ. Bộ gồm 43 giống/dòng lúa và 2 đối chứng (IR64 - gạo không màu và lúa tím Long An - gạo màu) từ ngân hàng gen, Trường Đại học Cần Thơ, được đánh giá trong vụ đông xuân 2022-2023 tại Cần Thơ (bảng 1). Thí nghiệm được bố trí theo kiểu khối hoàn toàn ngẫu nhiên với 3 lần lặp lại. Diện tích mỗi khối là 10 m², khoảng cách cây 20x20 cm. Cây mạ sau 2 tuần tuổi được cấy sang ruộng và công thức phân bón được sử dụng cho vụ đông xuân là 100 kg/ha N - 40 kg/ha K₂O - 30 kg/ha K₂O. Kỹ thuật canh tác và quản lý sâu bệnh hại chính cho thí nghiệm đánh giá ngoài đồng được thực hiện theo quy trình canh tác các giống lúa [11].

Bảng 1. Danh sách 45 giống/dòng lúa màu và đối chứng được đánh giá trong vụ đông xuân 2022-2023.

STT	Giống/dòng	Nhóm	STT	Giống/dòng	Nhóm
1	Bầu sáng	LR	24	Lứt tím 3	CS
2	Nếp cẩm	LR	25	Lứt tím 4	CS
3	Pèo du dây	LR	26	Lứt tím 6	CS
4	Phầu sáng râu	LR	27	Lứt tím 10	CS
5	Xiền pân	LR	28	Lứt tím 11	CS
6	NT Đắc Hà	LR	29	Lứt đỏ VL 1	CS
7	NT Tu Mơ Rông	LR	30	Lứt đỏ VL 2	CS
8	NT Sa Thầy	LR	31	Lứt đỏ VL 3	CS
9	NT Đắc Gle	LR	32	Lứt đỏ VL 4	CS
10	Nàng co đỏ	LM	33	Jasmine 85	CS
11	Nàng co dọt	LM	34	KorKhor57	CS
12	Ngự	LM	35	NV24	CS
13	Phước ly	LM	36	TC26	CS
14	Sóc	LM	37	Nếp tím thơm	CS
15	Sóc sâu 2	LM	38	SH38	CS
16	Sóng đôi	LM	39	SH44	CS
17	Nhỏ đỏ	LM	40	SH47	CS
18	Mắc cu 1	LM	41	HNOE	CS
19	Núi voi dạng 1	CS	42	Nếp đỏ	CS
20	Lứt đỏ 1	CS	43	Ngọc đỏ hương dứa	CS
21	Lứt đỏ 2	CS	44	Lúa tím Long An (Đ/C màu)	CS
22	Lứt tím 1	CS	45	IR64 (Đ/C không màu)	CS
23	Lứt tím 2	CS			

Đ/C: đối chứng; LR: lúa rẫy; LM: lúa màu; CS: lúa cao sản.

2.2. Đánh giá kiểu hình

Dữ liệu các tính trạng: 14 tính trạng nông học gồm chiều dài thìa lá (CDTL), đường kính lóng (DKL), chiều dài lá (CDL), chiều rộng lá (CRL), chiều cao cây (CCC), chiều dài bông (CDB), số bông/bụi (SBB), tổng số hạt (TSH), số hạt chắc (SHC), số hạt lép (SHL), khối lượng 1000 hạt (KL1000), khối lượng gam/bụi (KLGB), chiều dài hạt gạo (CDH), chiều rộng hạt (CRH); 2 tính trạng chất lượng hạt gồm hàm lượng amylose và độ bền gel (DBG); 4 tính trạng dinh dưỡng hạt gồm hàm lượng anthocyanin, flavonoid, phenolic và ABTS. Quy trình và tiêu chuẩn đánh giá các tính trạng nông học, hình thái và sâu, bệnh thực hiện theo tiêu chuẩn của Viện Nghiên cứu lúa quốc tế (IRRI) [12] như sau:

- CDTL: Ghi nhận số đo thực tế tính bằng cm và được đo từ gốc thìa lá đến đỉnh thìa.

- DKL: Ghi nhận số đo thực tế bằng cm và được đo vị trí ngay giữa của lóng thứ 3 tính từ gốc thân lúa.

- CDL: Ghi nhận số đo thực tế tính bằng cm của lá ngay dưới lá cờ, ở giai đoạn phát triển thứ 6 của cây lúa. Năm khóm/khối được xác định ngẫu nhiên.

- CRL: Ghi nhận số đo thực tế tính bằng cm của phần rộng nhất của phiến lá ngay bên dưới lá cờ, ở giai đoạn phát triển thứ 6 của cây lúa. 5 khóm/khối được xác định ngẫu nhiên.

- CCC: Xác định từ mặt đất đến đỉnh bông cao nhất, ở giai đoạn lúa trưởng thành $\geq 80\%$. Năm khóm/khối được xác định ngẫu nhiên.

- CDB: 5 bông/khối được chọn ngẫu nhiên để xác định chiều dài bông tính từ gốc đến đỉnh bông.

- SBB: 5 khóm/khối được chọn ngẫu nhiên để xác định số bông/khóm.

- TSH: 5 bông/tổng số hạt đếm được trên năm bông và tính trung bình.

- SHC: Hạt chắc/bông được xác bằng cách dùng ngón tay ấn lên hạt và ghi nhận có hạt hoàn chỉnh. 5 bông/khối được chọn ngẫu nhiên.

- SHL: Hạt lép/bông được xác bằng cách dùng ngón tay ấn lên hạt và ghi nhận không có hạt. 5 bông/khối được chọn ngẫu nhiên.

- KL1000: Sau khi hạt được thu hoạch và phơi khô với độ ẩm (MC) khoảng 14%, đếm 1.000 hạt và dùng cân điện tử để xác định khối lượng.

- KLGB: Sau khi hạt được thu hoạch và phơi khô, cân khối lượng hạt của một bụi lúa, đo ẩm độ. Sau đó quy về ẩm độ chuẩn 14%.

- CDH: Ghi nhận đo thực tế của chiều rộng hạt tính bằng mm là khoảng cách giữa 2 đỉnh của hạt. 10 hạt được xác định trên mỗi lần lặp lại.

- CRH: Ghi nhận đo thực tế của chiều rộng hạt tính bằng mm là khoảng cách giữa và vùng tại điểm rộng nhất của hạt. 10 hạt được xác định trên mỗi lần lặp lại.

- Phân tích hàm lượng amylose: Được xác định dựa trên phương pháp sinh hóa [13]. Amylose được phân tích trên máy quang phổ theo phương pháp của G. Graham (2002) [14]. Thang điểm đánh giá hàm lượng amylose thực hiện theo IRRI [12].

- Đánh giá DBG: Thực hiện theo phương pháp của G.B. Cagampang và cs (1973) [15], các mẫu gạo được tách vỏ trấu, sau đó nghiền mịn và đo ẩm độ hạt gạo. Đọc và ghi nhận kết quả bằng cách để ống nghiệm nằm ngang trên bề mặt phẳng của giấy kẻ ô ly, sau 60 phút thì đo chiều dài thể gel, đơn vị mm. Đánh giá kết quả độ bền thể gel theo thang điểm của IRRI [14].

- Phân tích hàm lượng anthocyanin: Thực hiện theo A. Ghasemzadeh và cs (2018) [16] và có hiệu chỉnh. Mẫu bột của 45 giống/dòng được chiết xuất bằng cách cân 50 mg với 5 ml methanol chứa 1% HCl (99:1), để qua đêm ở nhiệt độ là 4°C. Hỗn hợp được ly tâm và phần nổi trên mặt được thu thập để phân tích hàm lượng anthocyanin.

- Phân tích hàm lượng flavonoid: Thực hiện theo H.I. Jun và cs (2012) [17]. Mẫu bột của giống gạo lứt được chiết xuất bằng cách cân 90 mg với 1,8 ml ethanol 85%. Hỗn hợp được ly tâm 1.000 vòng/phút trong 15 phút, phần nổi trên mặt được thu thập và trừ ở -20°C để phân tích hàm lượng polyphenol, flavonoid tổng số và các khả năng kháng oxy hóa.

- Phân tích hàm lượng phenolic: Thực hiện theo H.I. Jun và cs (2012) [17]. Mẫu bột của giống gạo lứt được chiết xuất bằng cách cân 90 mg với 1,8 ml ethanol 85%. Hỗn hợp được ly tâm 1.000 vòng/phút trong 15 phút, phần nổi trên mặt được thu thập và trừ ở -20°C để làm phân tích hàm lượng polyphenol, flavonoid tổng số và các khả năng kháng oxy hóa. Định lượng hàm lượng polyphenol tổng số (TPC) bằng thuốc thử Folin-Ciocalteu, theo quy trình được mô tả bởi A.C. Mella và cs (2014) [18] có hiệu chỉnh.

- Phân tích hàm lượng ABTS: Thực hiện theo H.I. Jun và cs (2012) [17]. Mẫu bột của giống gạo lứt được chiết xuất bằng cách cân 90 mg với 1,8 ml ethanol 85%. Hỗn hợp được ly tâm 1.000 vòng/phút trong 15 phút, phần nổi trên mặt được thu thập và trừ ở -20°C để làm phân tích hàm lượng polyphenol, flavonoid tổng số và khả năng kháng oxy hóa. Khả năng bắt gốc tự do ABTS⁺ được xác định theo phương pháp của R. Re và cs (1999) [19], N. Nenadis và cs (2004) [20] có hiệu chỉnh.

2.3. Phân tích dữ liệu

Tóm tắt các thông số thống kê cơ bản, phân tích ANOVA một chiều và hệ số di truyền theo nghĩa rộng (H^2_{bs}) cho 20 tính trạng đánh giá được tính dựa trên gói phân tích [21]. Biểu đồ hộp cho 20 tính trạng được xây dựng dựa trên gói phân tích [22]. Trong đó, mô hình phân tích phương sai (ANOVA) thí nghiệm một nhân tố xây dựng theo khối ngẫu nhiên đủ theo công thức sau:

$$Y_{ij} = \mu + \beta_j + \omega_{ij}$$

trong đó: Y_{ij} là quan sát thứ j ở lần xử lý thứ i ; j là số lần quan sát; i là số giống/dòng; μ là giá trị ảnh hưởng chung cho toàn thí nghiệm; β_j là ảnh hưởng của nghiệm thứ j ; ω_{ij} là lỗi ngẫu nhiên xuất hiện trong quan sát thứ j ở lần xử lý thứ i .

Hệ số di truyền theo nghĩa rộng (H^2_{bs}) cho mỗi tính trạng được tính theo công thức sau:

$$H^2_{bs} = \frac{\delta_a^2}{\delta_b^2} \text{ và } \delta_b^2 = \delta_a^2 + \frac{\delta_c^2}{r}$$

trong đó: δ_a^2 là phương sai do kiểu gen, δ_b^2 là phương sai do kiểu hình, δ_c^2 là phương sai do môi trường và r là số lần lặp lại.

Bảng độ nhiệt thể hiện phân nhóm di truyền 20 tính trạng của các giống/dòng sử dụng phương pháp Ward để phân nhóm các giống/dòng và tính trạng đánh giá thông qua gói phân tích [23]. Phân nhóm được thực hiện theo thứ bậc nhất định, cho phép xác định các cấu trúc phân nhóm mạnh hay yếu, giúp giảm thiểu tổng phương sai trong nhóm. Đồng thời, phân nhóm di truyền giúp nhận biết sự đa dạng di truyền cao hay thấp trong số các giống/dòng lúa đánh giá.

Phân tích PCA được thực hiện dựa trên chức năng của hai phương thức tính toán bổ sung chính như: `prcomp()` và `princomp()` nhằm giảm tính hai chiều của dữ liệu để phương sai ít bị ảnh hưởng [24]. Mục đích chính của phân tích PCA là giảm kích thước của nguồn dữ liệu lớn, tăng khả năng giải thích nhưng đồng thời giảm thiểu mất thông tin. Phân tích PCA được sử dụng để trích xuất thông tin quan trọng từ nguồn dữ liệu đa biến và hiển thị thông tin này dưới dạng một tập hợp các biến mới. Các biến mới này tương ứng với sự kết hợp tuyến tính so với các biến ban đầu.

Chỉ số chọn lọc khoảng cách giữa MGIDI dựa trên dữ liệu của 20 tính trạng đánh giá và thông qua hai bước tính toán: phân tích nhân tố [25, 26] và chỉ số khoảng cách MGIDI [10]. Chỉ số MGIDI dùng để phân tích các thí nghiệm thực vật với thông tin về nhiều tính trạng, xác định các phương pháp xử lý mang lại hiệu quả thuận lợi cho hầu hết các tính trạng đang được nghiên cứu, đã được sử dụng thành công để chọn lọc các giống/dòng ưu việt. Cường độ chọn lọc các giống/dòng lúa màu được đánh giá ở mức ý nghĩa 10%. Xếp hạng các giống/dòng lúa màu được thực hiện như một chức năng của các giá trị chỉ số chọn lọc được ước đoán. Phép tính các hệ số biến thiên kiểu gen (CVg) và giá trị số dư (CVr) cũng được tính toán, cung cấp trong kết quả khi phân tích chỉ số MGIDI.

Tất cả các gói phân tích dữ liệu nêu trên được xử lý và phân tích trên nền tảng ngôn ngữ R [27].

3. Kết quả và bàn luận

3.1. Khác biệt kiểu hình của 20 tính trạng trong bộ lúa màu

Kết quả đánh giá cho thấy, sự khác biệt di truyền ý nghĩa ($p < 0,1\%$) của các tính trạng giữa các giống/dòng lúa màu được đánh giá (hình 1, bảng 2). Phần lớn các tính trạng cho thấy tần suất phân phối bình thường, nhưng một vài tính trạng cho thấy tần suất phân phối bị sai lệch so với trung bình chung như: CRL, amylose, DBG và hàm lượng anthocyanin cho thấy có độ sai lệch lớn (hình 1). Các tính trạng dao động và trung bình được ghi nhận cho 20 tính trạng như sau: CDTL (0,5-3; 1,76 cm), DKL (0,2-1; 0,54 cm), CDL (21,5-81; 57,1 cm), CRL (0,6-2,3; 1,59 cm), CCC (71,5-166; 115,76 cm), CDB (16,6-35,7; 25,85 cm), SBB

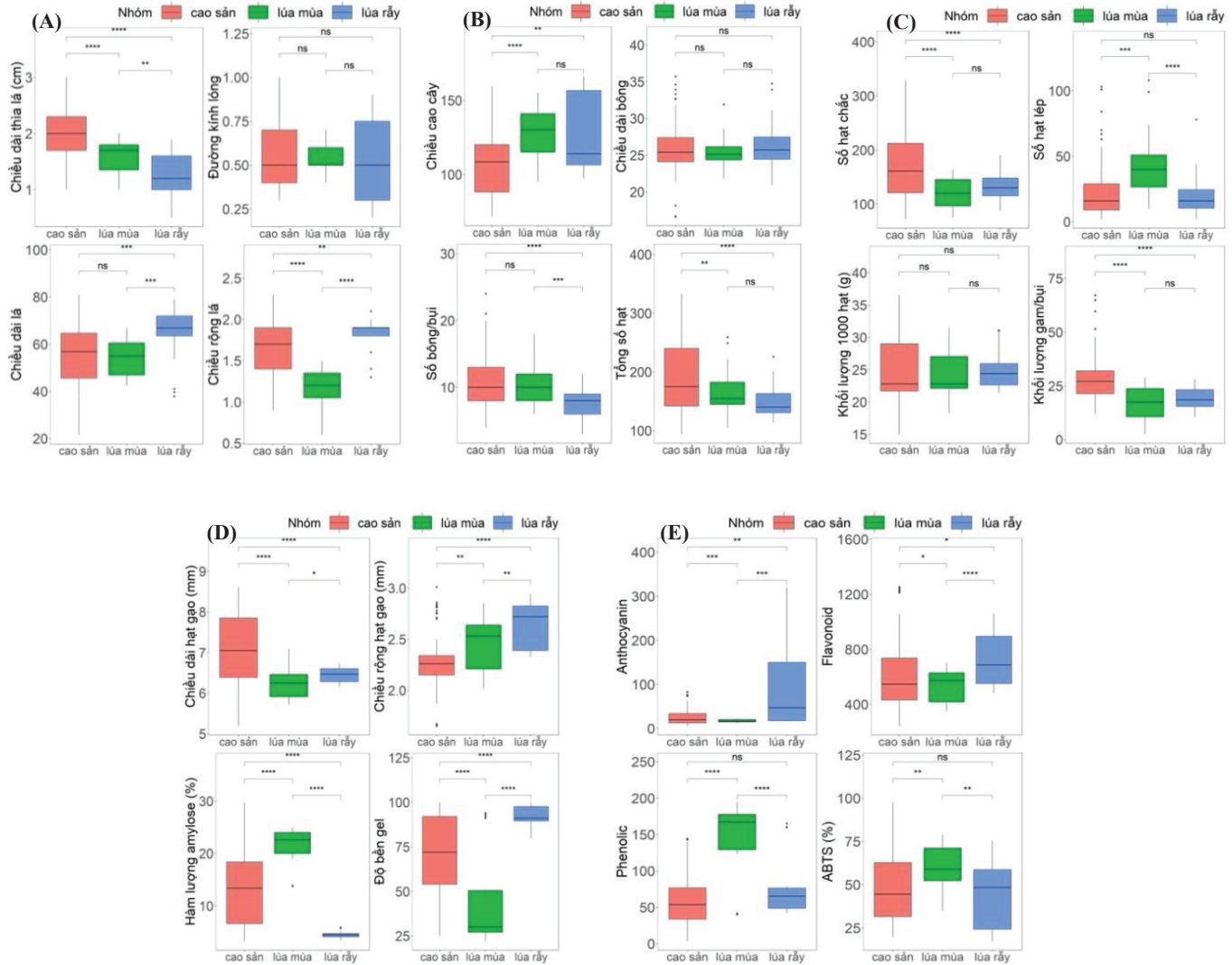
(3-24; 9,93 bông), TSS (93-333; 178,1 hạt), SHC (72-329; 151,51 hạt), SHL (2-108; 26,57 hạt), KL1000 (15-36,5; 24,74 g), KLGB (2,49-67,1; 23,89 g), CDH (5,19-8,61; 6,78 cm), CRH (1,65-3,01; 2,4 cm), hàm lượng amylose (3,23-29,8; 13,09%), DBG (22-100; 70,32 mm), anthocyanin (5,3-315,3; 39,29 mg/g), flavonoid (242-1252; 623,02 mg GAE/ml), phenolic (3,4-194,3; 77,67 mg GAE/ml) và ABTS (17,3-97,7; 51,31%). Có 3/20 tính trạng không có khác biệt giữa lúa mùa, rẫy và cao sản, gồm DKL, KL1000 và CDB. Có 7/20 tính trạng cho thấy sự khác biệt ý nghĩa giữa 2/3 nhóm (lúa mùa, rẫy và cao sản). Điều này chứng tỏ yếu tố môi trường có tác động đến các giống/dòng lúa màu.

Hệ số biến thiên (CVr và CVg) dao động trong khoảng 1,04-44,63 và 11,4-157,35% theo thứ tự (bảng 2). Đối với CVr, cao nhất là SHL, điều này cho biết độ chính xác thí nghiệm tốt. Ngược lại, đối với CVr, thấp nhất quan sát trên CDH, điều này cho thấy độ chính xác thí nghiệm bị giảm đi. Đối với CVg, tìm thấy cao nhất trên anthocyanin, cho biết khác biệt di truyền lớn. Ngược lại, CVg thấp nhất trên CDH, cho thấy ít có sự khác biệt di truyền. Hệ số di truyền theo nghĩa rộng (H^2_{bs}) của 20 tính trạng được

Bảng 2. Hệ số di truyền (H^2_{bs}), các thành phần phương sai ước tính và các thông số di truyền cho 20 tính trạng nông học được đánh giá ở 45 giống/dòng lúa màu.

Tính trạng	H^2_{bs} (%)	CVr (%)	CVg (%)	P-value	
CDTL	0,71	14,74	26,61	10,76	***
DKL	0,46	13,43	26,89	12,88	***
CDL	0,46	5,83	20,82	36,63	***
CRL	0,82	9,26	20,58	15,88	***
CCC	0,66	4,02	19,61	69,04	***
CDB	0,51	4,03	11,67	26,7	***
SBB	0,47	24,21	30,2	5,69	***
TSH	0,41	11,65	27,82	18,32	***
SHC	0,53	13,5	31,6	17,41	***
SHL	0,51	44,63	72,81	9,06	***
KL1000	0,61	2,49	18,16	163,3	***
KLGB	0,65	14,02	41,16	27,37	***
CDH	0,52	1,04	11,4	362	***
CRH	0,56	2,53	12,42	70,59	***
Amylose	0,87	2,6	59,47	1578	***
DBG	0,76	3,49	36,42	325	***
Anthocyanin	0,7	2,35	157,35	13412	***
Flavonoid	0,47	2,89	39,70	571,2	***
Phenolic	0,84	2,53	67,87	2081	***
ABTS	0,44	1,11	42,1	4266	***

Ghi chú: *: có ý nghĩa thống kê ở mức 5%; **: có ý nghĩa ở mức 1%; ***: có ý nghĩa thống kê ở mức 0,1%. ns: không ý nghĩa. H^2_{bs} : hệ số di truyền theo nghĩa rộng. CVg: hệ số biến thiên kiểu gen; CVr: hệ số biến thiên giá trị dư.



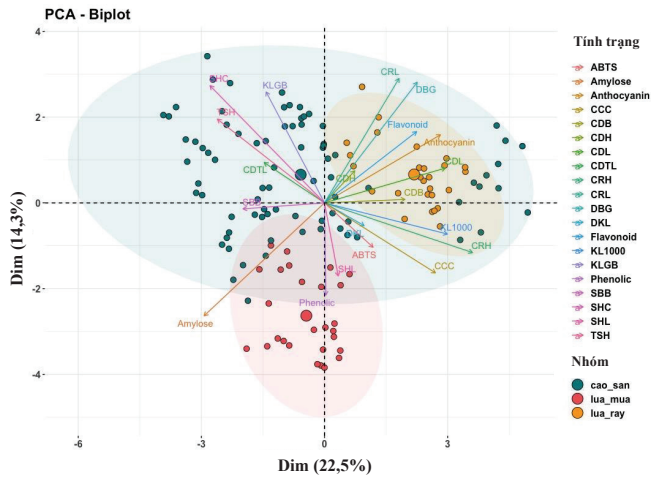
Hình 1. Biểu đồ hộp của 20 tính trạng đánh giá trong bộ 45 giống/dòng lúa màu và đối chứng. (A) Chiều dài thìa lá, đường kính lóng, chiều dài lá và chiều rộng lá; **(B)** Chiều cao cây, chiều dài bông, số bông/bụi và tổng số hạt; **(C)** Số hạt chắc, số hạt lép, khối lượng 1000 hạt và khối lượng gam/bụi; **(D)** Chiều dài hạt gạo, chiều rộng hạt gạo, hàm lượng amylose và độ bền gel; **(E)** Anthocyanin, flavonoid, phenolic và ABTS.

ước lượng dao động 0,44-0,87 trong vụ (bảng 2). CRL, amylose và phenolic có $H^2_{bs} > 0,8$ cho thấy, về lợi ích chọn lọc có thể đạt được đối với những tính trạng này. CDTL, CCC, CDB, SBB, SHC, SHL, KL1000, KLGB, CDH, CRH, anthocyanin có H^2_{bs} dao động 0,5-0,79. DKL, CDL, flavonoid, ABTS có H^2_{bs} thấp ($< 0,5$) cho thấy, việc tuyển chọn tính trạng có H^2_{bs} từ trung bình đến cao sẽ phù hợp trong dự đoán. Riêng các tính trạng có H^2_{bs} thấp ($< 0,5$) cần được xem xét đánh giá trong vụ tiếp theo, đặc biệt, cần tăng diện tích lấy mẫu và tăng số lần lặp lại để nghiên cứu cải thiện các tính trạng tốt hơn.

3.2. Phân tích các thành phần ảnh hưởng chính (PCA)

Hai thành phần chính đầu tiên (PCA1 và PCA2) chiếm 36,8% trên tổng số khác biệt di truyền (hình 2), giải thích cho sự phân bố và sự đa dạng tự nhiên cho giống/dòng và biến số. PCA1

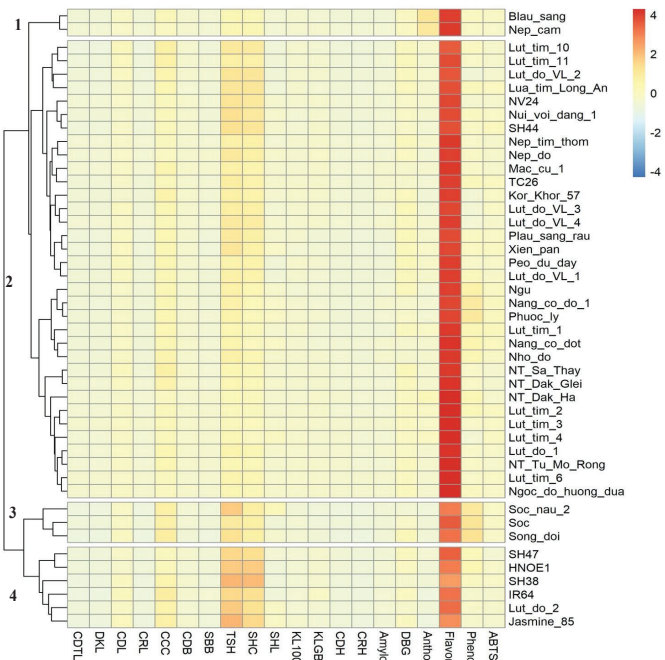
đóng góp 22,5% tổng biến thể trong khi PCA2 đóng góp 14,3%. PCA1, CRL, DBG, CDH, CDL, CDB, KL1000, CRH, CCC, SHL, DKL, flavonoid, anthocyanin, phenolic và ABTS cho thấy hướng tải trọng dương trong số các đặc điểm nông học được phân tích, còn KLGB, SHC, TSH, CDTL, SBB và amylose thể hiện hướng tải trọng âm. Đối với PCA2, CDTL, TSH, SHC, KLGB, CDH, CRL, DBG, CDL, CDB, anthocyanin và flavonoid hướng tải trọng dương, ngược lại, SBB, KL1000, CRH, CCC, DKL, SHL, ABTS, phenolic và amylose theo hướng tải trọng âm. Kết quả này cho thấy, đã xác định được một số tính trạng chịu trách nhiệm cho sự biến đổi kiểu gen quan sát được trong bộ 45 giống/dòng, từ đó xác định các tính trạng có tác động lớn nhất đến kiểu hình của các giống/dòng, cung cấp thông tin hữu ích cho việc lựa chọn giống/dòng trong các chương trình chọn giống lúa hướng đến dinh dưỡng và khoáng chất.



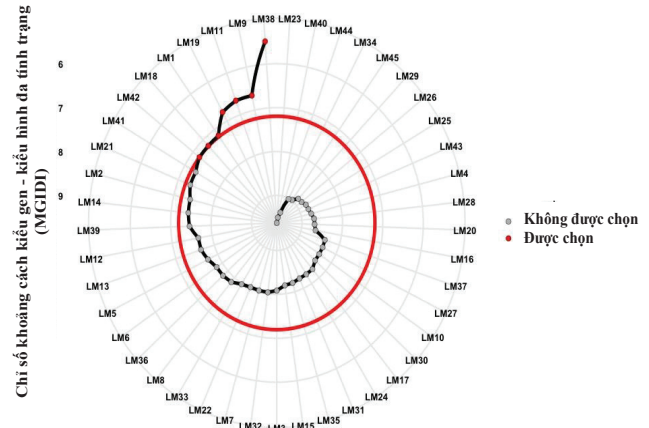
Hình 2. Phân tích thành phần chính (PCA) cho 45 giống/dòng lúa màu và đối chứng. Biểu đồ chấm điểm của PCA1 và PCA2 với khoảng tin cậy 95% bị che mờ.

3.3. Phân nhóm di truyền

Kết quả phân nhóm di truyền của 45 giống/dòng lúa màu và 20 tính trạng thành 4 phân nhóm chính trong vụ (hình 3), thể hiện được sự đa dạng di truyền bên trong bộ lúa màu. Nhóm I gồm 2/45 giống/dòng; nhóm II gồm 34/45 nằm cùng phân nhóm với giống đối chứng màu Lúa tím Long An, nhóm III gồm 3/45 giống/dòng, và nhóm IV gồm 6/45 giống/dòng nằm cùng phân nhóm với giống đối chứng không màu IR64. Kết quả này có thể sẽ trợ giúp cho nhà chọn giống nhận biết được



Hình 3. Bảng độ nhiệt thể hiện phân nhóm di truyền của 20 tính trạng trên bộ 45 giống/dòng lúa màu và đối chứng. Màu đỏ tượng trưng cho các giống/dòng có nhiều hơn trong mẫu tương ứng. Màu xanh lá cây tượng trưng cho các giống/dòng ít phong phú hơn.



Hình 4. Kết quả tập 7 giống/dòng lúa màu triển vọng được tuyển chọn bằng phương pháp chọn lọc đa biến kiểu gen - kiểu hình đa tính trạng với cường độ chọn lọc 10%. Chấm tròn màu đỏ và xám cho thấy cá thể được chọn và không được chọn.

các giống/dòng lúa màu ưu tú, có đặc tính di truyền tương tự và cũng là các thông tin quan trọng giúp xây dựng chiến lược phát triển dòng lúa màu tiềm năng giúp cải thiện chất lượng bữa ăn hằng ngày.

3.4. Chỉ số chọn lọc kiểu gen - kiểu hình đa tính trạng trên bộ 45 giống/dòng lúa màu

Việc sử dụng chỉ số chọn lọc tuyến tính được sử dụng để chọn tạo giống lúa có kiểu gen - kiểu hình đa tính trạng vẫn còn hạn chế [28]. Do đó, việc tính toán chỉ số khoảng cách kiểu gen - kiểu hình đa tính trạng (MGIDI) được sử dụng để chọn kiểu gen trong các chương trình chọn giống cây trồng dựa trên nhiều tính trạng [29]. Kết quả nghiên cứu đã tuyển chọn được 7 dòng lúa ưu tú (Nếp đỏ, Phước ly, Sóc nâu 2, Lút tím 2, Bláu sáng, Lút tím 1 và NT Đắc Hà) với hàm lượng anthocyanin (12-276,8 mg/g) được xếp hạng từ 1 tới 7, cường độ chọn lọc ở mức 10% (bảng 3, hình 4). Trong đó, chỉ số MGIDI dao động từ 5,48 đến cao nhất 7,19 cùng với mức xếp hạng từ 1 đến 7.

Bảng 3. Chỉ số khoảng cách kiểu gen - kiểu hình đa tính trạng của các giống/dòng lúa màu được chọn, với cường độ chọn lọc 10%.

STT	Giống/dòng	MGIDI	Anthocyanin (mg/g)	Xếp hạng
LM38	Nếp đỏ	5,48	14,7	1
LM9	Phước ly	6,66	1	2
LM11	Sóc nâu 2	6,66	12,3	3
LM19	Lút tím 2	6,76	74,9	4
LM1	Bláu sáng	7,16	276,8	5
LM18	Lút tím 1	7,18	61,8	6
LM42	NT Đắc Hà	7,19	149,1	7
	Lúa tím Long An (Đ/C màu)	-	23,6	-
	IR64 (Đ/C không màu)	-	5,4	-

4. Kết luận

Nghiên cứu này cung cấp các giống/dòng lúa màu dựa trên các tính trạng nông học, sinh hóa và chất lượng bằng cách sử dụng chỉ số chọn lọc MGIDI trong bộ đa dạng lúa màu. Các giống/dòng lúa màu có giá trị dinh dưỡng cao hơn so với các giống lúa không có sắc tố, vì chúng chứa hàm lượng vi chất dinh dưỡng và các hợp chất chống oxy hóa cao. Kết quả cho thấy, gạo màu có chứa các khoáng chất chống oxy hóa cao. Bảy giống/dòng lúa màu có giá trị dinh dưỡng và chất chống oxy hóa cao được xác định trong nghiên cứu này có thể được sử dụng để phát triển các giống lúa năng suất cao và chức năng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] J.M. Awika (2011), "Advances in cereal science: Implications to food processing and health promotion", *American Chemical Society*, **1089**, pp.131-147, DOI: 10.1021/bk-2011-1089.
- [2] K. Petroni, R. Pilu, C. Tonelli (2014), "Anthocyanins in corn: A wealth of genes for human health", *Planta*, **240**(5), pp.901-911, DOI: 10.1007/s00425-014-2131-1.
- [3] S.J. Han, S.N. Ryu, S. Kang (2004), "A new 2-arylbenzofuran with antioxidant activity from the black colored rice (*Oryza sativa* L.) bran", *Chem. Pharm. Bull.*, **52**, pp.1365-1366, DOI: 10.1248/cpb.52.1365.
- [4] Y. Savitha, V. Singh (2011), "Status of dietary fiber contents in pigmented and non-pigmented rice varieties before and after parboiling", *J. LWT-Food Sci.*, **44**, pp.2180-2184, DOI: 10.1016/j.lwt.2011.06.004.
- [5] E. Mackon, G.C. Mackon, Y. Ma, et al. (2021), "Recent insights into anthocyanin pigmentation, synthesis, trafficking, and regulatory mechanisms in rice (*Oryza sativa* L.) caryopsis", *Biomolecules*, **11**, DOI: 10.3390/biom11030394.
- [6] R. Yawadio, S. Tanimori, N. Morita (2007), "Identification of phenolic compounds isolated from pigmented rices and their aldose reductase inhibitory activities", *Food Chem.*, **101**(4), pp.1616-1625, DOI: 10.1016/j.foodchem.2006.04.016.
- [7] G.P. Caro (2013), "Phytochemical profile of a Japanese black purpler rice", *Food Chem.*, **141**(3), pp.2821-2827, DOI: 10.1016/j.foodchem.2013.05.100.
- [8] K. Pathak, S.W. Rahman, S. Bhagawati, et al. (2017), "Assessment of nutritive and antioxidant properties of some indigenous pigmented hill rice (*Oryza sativa* L.) cultivars of Assam", *Indian J. Agric. Res.*, **51**, pp.214-220, DOI: 10.18805/ijare.v51i03.7909.
- [9] M. Aamer, M.R. Anwar, G. Mustafa, et al. (2018), "Principal component analysis (PCA) of some morphological and quality traits in sugarcane (*Saccharum officinarum* L.)", *J. Nat. Sci. Res.*, **8**(14), pp.22-26.
- [10] T. Olivoto, M. Nardino (2021), "MGIDI: Toward an effective multivariate selection in biological experiments", *Bioinformatics*, **37**(10), pp.1383-1389, DOI: 10.1093/bioinformatics/btaa981.
- [11] Ministry of Agriculture and Rural Development (2011), *QC/N 01-55:2011/BNNTNT - National Technical Regulation on Testing for Value of Cultivation and Use of Rice Varieties* (in Vietnamese).
- [12] Standard Evaluation System for Rice (2013), *International Rice Research Institute (IRRI)*, <http://www.knowledgebank.irri.org/images/docs/rice-standard-evaluation-system.pdf>, accessed 2 May 2024.
- [13] B.O. Juliano (1971), "A simplified assay for milled-rice amylose", *Cereal Science Today*, **16**, pp.334-340.
- [14] R. Graham (2002), *A Proposal for IRRI to Establish a Grain Quality and Nutrition Research Center*, International Rice Research Institute.
- [15] G.B. Cagampang, C.M. Perez, B.O. Juliano (1973), "A gel consistency test for eating quality of rice", *Journal of The Science of Food and Agriculture*, **24**, pp.1589-1594, DOI: 10.1002/jsfa.2740241214.
- [16] A. Ghasemzadeh, M.T. Karbalaii, H.Z.E. Jaafar, et al. (2018), "Phytochemical constituents, antioxidant activity, and antiproliferative properties of black, red, and brown rice bran", *Chemistry Central Journal*, **12**, DOI: 10.1186/s13065-018-0382-9.
- [17] H.I. Jun, G.S. Song, E.I.Y. El, et al. (2012), "Antioxidant activities and phenolic compounds of pigmented rice bran extracts", *J. Food Sci.*, **77**(7), pp.759-764, DOI: 10.1111/j.1750-3841.2012.02763.
- [18] A.C. Mella, A.P. Neira, P.A. Gálvez, et al. (2014), "Phenolic composition and mouthfeel characteristics resulting from blending Chilean red wines", *J. Sci. Food Agric.*, **94**(4), pp.666-676, DOI: 10.1002/jsfa.6303.
- [19] R. Re, N. Pellegrini, A. Proteggente, et al. (1999), "Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay", *Free Radic. Biol. Med.*, **26**(9-10), pp.1231-1237, DOI: 10.1016/s0891-5849(98)00315-3.
- [20] N. Nenadis, L.F. Wang, M. Tsimidou, et al. (2004), "Estimation of scavenging activity of phenolic compounds using the ABTS* assay", *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **52**(15), pp.4669-4674, DOI: 10.1021/jf0400056.
- [21] F. Mendiburu, M. Yaseen (2020), *Agricolae: Statistical Procedures for Agricultural Research*, <https://CRAN.R-project.org/package=agricolae>, accessed 10 May 2024.
- [22] H. Wickham (2016), *Ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis*, Springer-Verlag New York, ISBN 978-3-319-24277-4, <https://ggplot2.tidyverse.org>, accessed 20 March 2024.
- [23] T. Galili (2023), *Introduction to Dendextend*, <https://cran.r-project.org/web/packages/dendextend/vignettes/dendextend.html>, accessed 15 March 2024.
- [24] D.T. Harvey, B.A. Hanson (2022), *A Comparison of Functions for PCA*, https://cran.rproject.org/web/packages/LearnPCA/vignettes/Vig_07_Functions_PCA, accessed 10 March 2024.
- [25] H.F. Kaiser (1958), "The varimax criterion for analytic rotation in factor analysis", *Psychometrika*, **23**(3), pp.187-200, DOI: 10.1007/BF02289233.
- [26] K.A. Yeomans, P.A. Golder (1982), "The guttmann-kaiser criterion as a predictor of the number of common factors", *The Statistician*, **31**(3), pp.221-229, DOI: 10.2307/2987988.
- [27] R.C. Team (2021), *R: A Language and Environment for Statistical Computing*, <https://www.R-project.org>, accessed 1 February 2024.
- [28] J.J.C. Rojas, J. Crossa (2022), "The statistical theory of linear selection indices from phenotypic to genomic selection", *Crop Sci.*, **62**(2), pp.537-563, DOI: 10.1002/csc2.20676.
- [29] T. Olivoto, M.I. Diel, D. Schmidt, et al. (2022), "MGIDI: A powerful tool to analyze plant multivariate data", *Plant Methods*, **18**, DOI: 10.1186/s13007-022-00952-5.

Bước đầu phân lập và tuyển chọn vi khuẩn cổ ưa mặn tiềm năng sinh cellulase, chitinase, xylanase và hyaluronidase

Cao Thị Thúy Hằng^{1,2}, Nguyễn Thị Thuận¹, Võ Thị Diệu Trang¹, Phan Thị Thuỳ Trang², Đinh Thành Trung¹, Trần Nguyễn Hà Vy¹, Hoàng Hồng Hạnh¹, Phạm Đức Thịnh^{1,2}, Huỳnh Hoàng Như Khánh^{1,2*}

¹Viện Hải dương học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, 1 Cầu Đá, phường Nha Trang, tỉnh Khánh Hòa, Việt Nam

²Học viện Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, 18 Hoàng Quốc Việt, phường Nghĩa Đô, Hà Nội, Việt Nam

Ngày nhận bài 4/11/2024; ngày chuyển phản biện 6/11/2024; ngày nhận phản biện 22/11/2024; ngày chấp nhận đăng 27/11/2024

Tóm tắt:

Haloarchaea là vi khuẩn cổ ưa mặn, có khả năng sản sinh enzyme hoạt động hiệu quả trong môi trường siêu mặn. Nghiên cứu này đã phân lập 27 chủng vi sinh vật từ cánh đồng muối Hòn Khoai, Khánh Hòa (trước sáp nhập) và sàng lọc năm chủng tiềm năng thuộc nhóm Haloarchaea qua thử nghiệm độ nhạy anisomycin. Các chủng này được sàng lọc khả năng sinh enzyme phân giải polysaccharide như cellulase/xylanase, chitinase và hyaluronidase bằng phương pháp đĩa thạch sử dụng cơ chất CMC (carboxymethyl cellulose), chitin và acid hyaluronic. Kết quả cho thấy, chủng VS7M5.3 có hoạt tính mạnh trên cả ba cơ chất, đặc biệt với CMC và acid hyaluronic. Hai chủng VS7M5.1 và VS7M5.7 cũng có hoạt tính enzyme đáng chú ý. Đây là nghiên cứu đầu tiên ở Việt Nam tập trung vào vi khuẩn cổ nuôi cấy được, phân lập từ môi trường siêu mặn tại đồng muối Hòn Khoai và sàng lọc thành công các chủng tiềm năng sinh enzyme phân giải polysaccharide. Nghiên cứu đã bước đầu xác định các chủng có hoạt tính enzyme mạnh, đặc biệt là VS7M5.3, mở ra tiềm năng khai thác nguồn vi sinh vật bản địa cho các ứng dụng công nghệ sinh học.

Từ khóa: cellulase, chitinase, Haloarchaea, hyaluronidase, xylanase.

Chỉ số phân loại: 1.6, 4.6

Preliminary isolation and screening of halophilic archaea with potential to produce cellulase, chitinase, xylanase, and hyaluronidase enzymes

Thi Thuý Hang Cao^{1,2}, Thi Thuan Nguyen¹, Thi Dieu Trang Vo¹, Thi Thuý Trang Phan², Thanh Trung Dinh¹, Nguyen Ha Vy Tran¹, Hong Hanh Hoang¹, Duc Thinh Pham^{1,2}, Hoang Nhu Khanh Huynh^{1,2*}

¹Institute of Oceanography, Vietnam Academy of Science and Technology, 1 Cau Da Street, Nha Trang Ward, Khanh Hoa Province, Vietnam

²Graduate University of Science and Technology, Vietnam Academy of Science and Technology, 18 Hoang Quoc Viet Street, Nghia Do Ward, Hanoi, Vietnam

Received 4 November 2024; revised 22 November 2024; accepted 27 November 2024

Abstract:

Haloarchaea are halophilic archaea capable of producing enzymes that function effectively in hypersaline environments. This study isolated 27 microbial strains from the salt fields of Hon Khoi, Khanh Hoa (before the administrative merger), and screened five potential haloarchaea strains using anisomycin sensitivity tests. These strains were assessed for their ability to produce polysaccharide-degrading enzymes, including cellulase or xylanase, chitinase, and hyaluronidase, using agar plate assays with carboxymethyl cellulose (CMC), chitin, and hyaluronic acid as substrates. The results showed that strain VS7M5.3 exhibited strong activity on all three substrates, particularly carboxymethyl cellulose and hyaluronic acid. Two other strains, VS7M5.1 and VS7M5.7, also demonstrated noteworthy enzyme activities. This is the first study in Vietnam to focus on culturable halophilic archaea isolated from hypersaline environments in the salt fields of Hon Khoi, successfully screening potential strains for polysaccharide - degrading enzyme production. The study has preliminarily identified strains with strong enzymatic activity, especially VS7M5.3, highlighting the potential of exploiting local microbial resources for biotechnological applications.

Keywords: cellulase, chitinase, Haloarchaea, hyaluronidase, xylanase.

Classification numbers: 1.6, 4.6

*Tác giả liên hệ: Email: khanhhuynh@nitra.vast.vn

1. Đặt vấn đề

Haloarchaea, hay vi khuẩn cổ ưa mặn, là nhóm vi sinh vật phát triển mạnh trong các môi trường siêu mặn như hồ muối, biển Chết và các đồng muối nhân tạo [1, 2]. Các vi sinh vật này có khả năng chịu nồng độ muối cao nhờ cơ chế thích nghi đặc biệt, đồng thời sản sinh các enzyme có hoạt tính vượt trội trong điều kiện khắc nghiệt. Trong môi trường siêu mặn, nguồn carbon chủ yếu bao gồm cellulose, xylan, chitin và hemicellulose - những polysaccharide đóng vai trò quan trọng trong chu trình carbon trên Trái Đất [3, 4].

Cellulose, xylan và chitin là các polysaccharide chính, cấu thành thành tế bào thực vật và vỏ chitin của động vật, đại diện cho nguồn carbon hữu cơ lớn nhất trong hệ sinh thái trên cạn và đại dương [5]. Để sử dụng những nguồn carbon này, các vi sinh vật siêu mặn, bao gồm Haloarchaea, sản sinh các enzyme chuyên biệt như cellulase, xylanase và chitinase. Các enzyme này không chỉ phân giải polysaccharide thành năng lượng mà còn có những đặc tính đặc biệt như chịu mặn, bền nhiệt và ổn định ở pH thấp, làm cho Haloarchaea trở thành đối tượng tiềm năng trong các ứng dụng công nghiệp, xử lý môi trường, nông nghiệp và thủy sản [3].

Đặc biệt, enzyme hyaluronidase - thủy phân acid hyaluronic (HA), một polysaccharide quan trọng trong cơ thể người và động vật - đang nhận được nhiều sự chú ý. HA đóng vai trò quan trọng trong các quá trình sinh học như di chuyển tế bào, biệt hóa, sửa chữa tổn thương và điều trị ung thư. Tuy nhiên, trọng lượng phân tử cao của HA làm giảm khả năng hấp thụ và hiệu quả điều trị, đòi hỏi sự phát triển các enzyme sinh học an toàn để cắt mạch HA, tạo ra các sản phẩm có khối lượng phân tử thấp với ứng dụng tiềm năng trong y-dược phẩm [6]. Các nghiên cứu phân tích hệ gen gần đây đã phát hiện nhiều enzyme thuộc nhóm CAZyme (Carbohydrate - Active enzymes) từ Haloarchaea, trong đó có hyaluronidase, nhấn mạnh tiềm năng lớn của nhóm vi sinh vật này trong công nghệ sinh học.

Tại Việt Nam, mặc dù đã có nhiều nghiên cứu về cellulase, xylanase và chitinase từ vi khuẩn hiếu khí, vi nấm hoặc vi sinh vật chịu mặn thông thường [7-9], các nghiên cứu về enzyme từ Haloarchaea vẫn còn rất hạn chế. Việc nghiên cứu nhóm vi khuẩn cổ này gặp nhiều thách thức vì chúng khó phân lập và nuôi cấy trong điều kiện phòng thí nghiệm [10]. Hầu hết các phân tích vi sinh vật biển hiện nay tập trung vào đa dạng hệ gen (metagenomics), thay vì các nghiên cứu thực nghiệm về khả năng sản sinh enzyme [11, 12].

Trong nghiên cứu này, chúng tôi đã phân lập và tuyển chọn các chủng Haloarchaea từ đồng muối Hòn Khói, tỉnh Khánh Hòa, Việt Nam (trước sáp nhập). Mục tiêu chính là xác định các chủng có khả năng sản xuất enzyme thủy phân polysaccharide (cellulase, xylanase, chitinase và hyaluronidase), từ đó tìm kiếm nguồn enzyme đặc biệt phục vụ các ứng dụng công nghệ sinh học hiện đại. Đây là bước đầu tiên để khai thác tiềm năng từ nguồn tài nguyên vi sinh vật bản địa, đồng thời cung cấp dữ liệu thực nghiệm góp phần phát triển lĩnh vực công nghệ sinh học.

2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Vật liệu

Mẫu được thu thập tại cánh đồng muối Hòn Khói, xã Ninh Diêm, huyện Ninh Hòa, tỉnh Khánh Hòa, một trong những khu vực sản xuất muối lớn nhất miền Trung Việt Nam vào tháng 6/2023. Mẫu được thu thập từ các vị trí được chọn tại ruộng muối, chứa trong chai nhựa vô trùng, bảo quản ở 4°C và chuyển về phòng thí nghiệm (hình 1).

Ký hiệu mẫu	Mẫu	Vị trí thu mẫu	Độ mặn của mẫu (g/Lit)	Nhiệt độ tại thời điểm thu mẫu (°C)	pH mẫu
VS1	Nước muối và trầm tích	12°32'7.732" N	375	40,8	7,07
VS7	Nước muối	12°32'16.735" N	165	36,5	7,60
VS8	Nước muối	12°32'20.868" N	320	42,8	6,80
VS9	Nước muối và trầm tích	12°32'23.496" N	340	60,2	6,90



Hình 1. Địa điểm thu mẫu ở các ruộng muối Hòn Khói, xã Ninh Diêm, huyện Ninh Hòa, tỉnh Khánh Hòa vào tháng 6/2023.

Các hóa chất sử dụng trong nghiên cứu: xylan (Megazyme, Ireland), cellulose (Sigma, Đức), chitin (Sigma, Đức), cao chiết nấm men (YE) (Merck, Đức), peptone (Sigma, Đức), kháng sinh anisomycin (Santa Cruz, Mỹ), hyaluronic acid chiết xuất từ dây rốn người (HA) (Sigma, Đức) và các hóa chất khác đều có nguồn gốc từ hãng Sigma, Đức.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Phương pháp phân lập cổ khuẩn Haloarchaea: Một lượng 100 µl từ mỗi mẫu được cấy vào môi trường tăng trưởng (MGM) với nồng độ muối 23% (w/v). Môi trường MGM bao gồm: 1% (w/v) chiết xuất đậu tương, 0,5% chiết xuất nấm men, 1,5% agar và các loại muối: 3,1 M NaCl, 0,1 M MgCl₂.6H₂O, 0,1 M MgSO₄.7H₂O, 0,07 M KCl và 5×10⁻³ M CaCl₂.2H₂O (dung dịch CaCl₂ được tiệt trùng riêng trước khi bổ sung vào môi trường). Độ pH của môi trường được điều chỉnh trong khoảng 7,2-7,4. Các mẫu đã cấy được ủ ở 40°C trong thời gian tối đa một tháng. Các khuẩn lạc sẽ mọc trên màng lọc và tiếp tục được chuyển sang môi trường MGM nhiều lần để được đồng thuần. Các chủng này được lưu trữ ngắn hạn trong tủ lạnh và sử dụng nitơ lỏng để bảo quản lâu dài ở -80°C [13].

Thử nghiệm độ nhạy của vi sinh vật đối với kháng sinh: Để xác định các chủng Haloarchaea trong số các chủng vi sinh vật đã phân lập, thử nghiệm độ nhạy kháng sinh anisomycin được thực hiện bằng phương pháp khuếch tán đĩa thạch. Mỗi đĩa thạch được sử dụng chứa 30 µg kháng sinh anisomycin [3, 13]. Các chủng vi sinh vật nhạy cảm với anisomycin được lựa chọn để tiếp tục sàng lọc khả năng sinh enzyme thủy phân polysaccharide, bao gồm chitinase, cellulase, xylanase và hyaluronidase.

Sàng lọc Haloarchaea theo định hướng sinh enzyme thủy phân chitin: Để sàng lọc định tính khả năng sinh chitinase, các chủng cổ khuẩn thuần được cấy trên môi trường thạch MGM không chứa peptone, bổ sung 23% (w/v) muối và 1% (w/v)

chitin nguồn carbon duy nhất, ủ ở 40°C trong 15-30 ngày. Vùng trong suốt xung quanh các vùng sinh khối vi sinh vật chỉ thị sự sinh chitinase [13].

Sàng lọc *Haloarchaea* theo định hướng sinh enzyme thủy phân cellulase/xylanase: Để sàng lọc định tính khả năng sinh cellulase/xylanase, các chủng cổ khuẩn thuần được cấy trên môi trường thạch MGM không chứa peptone, bổ sung 23% (w/v) muối và 1% (w/v) CMC nguồn carbon duy nhất, ủ ở 40°C trong 15-30 ngày. Sau đó, đĩa môi trường được nhuộm với dung dịch thuốc nhuộm iodine trong 15 phút, cuối cùng đĩa thạch được rửa lại với nước nhiều lần để nhìn thấy vòng phân giải rõ ràng, chủng vi sinh thủy phân CMC sẽ tạo vùng không màu xung quanh điểm sinh khối vi sinh vật phát triển.

Phương pháp sàng lọc *Haloarchaea* sinh hyaluronidase: Hoạt tính hyaluronidase được đánh giá bằng phương pháp khuếch tán đĩa thạch. Môi trường thạch được chuẩn bị với các thành phần: 1% thạch Noble, 0,4 mg/ml hyaluronic acid, 1% muối NaCl, albumin huyết thanh bò (BSA) và 0,1% sodium azide, tạo ra các giếng đường kính 6 mm trên đĩa thạch. Để kiểm tra hoạt tính enzyme, 0,1 ml dung dịch nuôi cấy vi sinh trong môi trường MGM được thêm vào từng giếng. Sau đó, các đĩa được ủ ở 37°C trong 3-5 ngày, tiếp theo nhuộm đĩa thạch với dung dịch acid acetic 2N trong 30 phút. Trong môi trường này, hyaluronic acid không bị phân hủy sẽ tạo thành kết tủa, làm vùng thạch xung quanh giếng trở nên mờ đục. Các vùng trong suốt xuất hiện quanh giếng là dấu hiệu của hoạt tính enzyme hyaluronidase, cho thấy sự phân hủy hyaluronic acid bởi enzyme do vi sinh vật tiết ra.

Phương pháp xử lý số liệu: Các thử nghiệm đánh giá hoạt tính enzyme được thực hiện ít nhất ba lần lặp lại độc lập.

3. Kết quả và bàn luận

3.1. Kết quả phân lập cổ khuẩn từ các mẫu thu ở đồng muối Hòn Khói

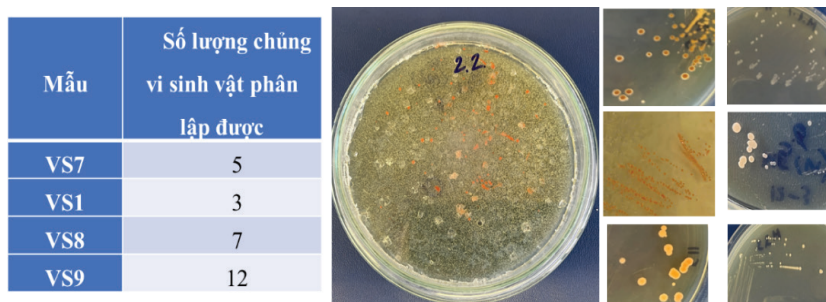
Khu vực Hòn Khói, tỉnh Khánh Hòa, nổi tiếng với các cánh đồng muối tự nhiên, tạo nên môi trường siêu mặn đặc trưng và lý tưởng cho sự phát triển của các vi sinh vật ưa mặn, đặc biệt là vi khuẩn cổ. Các hệ sinh thái siêu mặn này đóng vai trò như một nguồn tài nguyên quý giá để nghiên cứu các vi sinh vật ưa cực, vốn có khả năng sinh tồn và hoạt động hiệu quả trong điều kiện khắc nghiệt.

Từ 4 mẫu thu nhận tại ruộng muối Hòn Khói, tỉnh Khánh Hòa, đã phân lập được 27 chủng vi sinh vật, một số đặc điểm của vi sinh vật phân lập được thể hiện ở hình 2. Trong tổng số 27 chủng vi sinh vật đã được phân lập, mẫu VS9 có số lượng vi sinh vật được phân lập nhiều nhất (12 chủng), tiếp theo là mẫu VS8 (7 chủng), VS7 (5 chủng), thấp nhất là VS1 (3 chủng). So với nghiên cứu của M.Y. Bafghi và cs (2019) [13] (phân lập được 500 chủng từ 3 mẫu), số lượng chủng phân lập trong nghiên cứu này thấp hơn. Sự khác biệt có thể bắt nguồn từ điều kiện môi trường, như nồng độ muối, hàm lượng chất hữu cơ hoặc phương pháp phân lập. Cụ thể, hàm lượng muối trong các mẫu của nghiên cứu này dao động từ 165-375 g/l, cao hơn rất nhiều so với mức 2,3-2,8 g/l trong các mẫu của M.Y. Bafghi và cs (2019) [13]. Điều này cho thấy, các chủng vi sinh vật được phân lập trong nghiên cứu này là những chủng có khả năng thích nghi và tồn tại ở điều kiện siêu mặn, đặc trưng của môi trường đồng muối. Ngoài ra, nhiệt độ tại thời điểm thu mẫu dao động từ 36,5 đến 60,2°C và môi trường nuôi cấy được duy trì ở 40°C trong 4 tuần nuôi cấy, cho thấy các chủng vi sinh vật này cũng có khả năng chịu nhiệt cao, phù hợp với các điều kiện khắc nghiệt của môi trường siêu mặn.

Hình ảnh các đĩa phân lập cho thấy các chủng vi sinh vật có sự khác biệt rõ rệt về hình thái khuẩn lạc, bao gồm kích thước, màu sắc và bề mặt khuẩn lạc. Đặc biệt là các khuẩn lạc có màu đỏ hoặc hồng và kết hợp với các thông tin từ các nghiên cứu trước đây, có thể dự đoán rằng đây là các chủng cổ khuẩn có khả năng thuộc các họ *Haloarculaceae*, *Halobacteriaceae* và *Haloferacaceae*. Các họ này bao gồm các chi như *Halorubrum*, *Haloferax* và *Haloarcula*, vốn phổ biến trong môi trường siêu mặn và thường thể hiện màu sắc khuẩn lạc đặc trưng do sự hiện diện của sắc tố carotenoid như bacterioruberin [14].

Với điều kiện độ mặn cao (165-375 g/l) tại đồng muối Hòn Khói, các chủng phân lập được nhiều khả năng là các loài ưa mặn cực đoan (extreme halophiles), phù hợp với các loài cổ khuẩn đã được nghiên cứu [15]. Hơn nữa, kết quả phân tích metagenomics trong một công bố liên quan của chúng tôi đã xác định rằng, các nhóm cổ khuẩn chính trong mẫu nghiên cứu bao gồm *Halorubrum*, *Halobacterium* và *Haloarcula* từ các họ *Halobacteriaceae*, *Haloferacaceae* và *Haloarculaceae*. Đặc biệt, mẫu VS7 có sự hiện diện cao của nhóm *Nanohaloarchaeota* (78,5%), cho thấy tính đặc thù về điều kiện môi trường siêu mặn tại khu vực đồng muối này [16].

Trong số 27 chủng vi sinh vật được phân lập, để bước đầu xác định chúng thuộc nhóm cổ khuẩn hay vi khuẩn chịu mặn, chúng tôi tiến hành thử nghiệm độ nhạy cảm với kháng sinh anisomycin [13]. Anisomycin là một kháng sinh được biết đến với khả năng ức chế tổng hợp protein ở sinh vật nhân thực và cổ khuẩn bằng cách gắn vào vị trí trung tâm peptidyl transferase trên ribosome, ngăn chặn sự hình thành liên kết peptide trong quá trình dịch mã. Tuy nhiên, ribosome của vi khuẩn nhân sơ,



Hình 2. Các chủng vi sinh vật trên môi trường phân lập sau 3 tuần nuôi cấy và một số khuẩn lạc đã được làm thuần.

bao gồm cả vi khuẩn chịu mặn, có cấu trúc khác biệt tại vị trí này, khiến anisomycin không thể gắn kết hiệu quả, dẫn đến sự kháng thuốc tự nhiên ở các vi khuẩn này [17]. Kết quả cho thấy, có 5 chủng vi sinh vật nhạy cảm với anisomycin, bao gồm VS1M2.1.4, VS7M5.1, VS7M5.3, VS7M5.7 và VS7M5.11. Các chủng vi sinh vật này được sử dụng để sàng lọc khả năng sinh enzyme phân cắt chitin, cellulose/xylanase và HA.

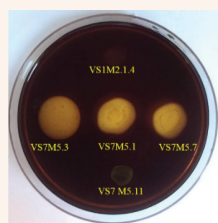
3.2. Kết quả sàng lọc *Haloarchaea* có khả năng sinh enzyme phân cắt chitin, cellulose/xylanase và acid hyaluronic

Haloarchaea là nhóm vi sinh vật cực đoan, có khả năng thích nghi và phát triển trong môi trường có nồng độ muối cao, đồng thời có tiềm năng ứng dụng lớn trong các quy trình công nghệ sinh học hiện đại, nhờ khả năng tổng hợp các enzyme hoạt động hiệu quả ở điều kiện khắc nghiệt. Trong nghiên cứu này, 5 chủng vi sinh vật, bao gồm VS1M2.1.4, VS7M5.1, VS7M5.3, VS7M5.7 và VS7M5.11, đã được sàng lọc khả năng phân giải polysaccharide, cụ thể với các cơ chất sử dụng là chitin, CMC và acid HA. Kết quả thử nghiệm được trình bày chi tiết ở bảng 1 cho thấy, các chủng này có tiềm năng sản sinh enzyme với hoạt tính phân giải rõ rệt trên các cơ chất polysaccharide thử nghiệm.

Bảng 1. Hoạt tính trên các cơ chất chitin, carboxymethyl cellulose và acid hyaluronic của *Haloarchaea*.

Ký hiệu chủng cổ khuẩn	Hoạt tính enzyme trên các cơ chất		
	Chitin	Carboxymethyl cellulose	Acid hyaluronic
VS1M2.1.4	+/-	-	+/-
VS7M5.1	+/-	+++	+
VS7M5.3	++	+++	+++
VS7M5.7	++	++	+/-
VS7M5.11	+/-	-	++

+/-: Hoạt tính rất yếu hoặc không rõ ràng; +: Hoạt tính yếu; ++: Hoạt tính trung bình; +++: Hoạt tính mạnh.



Đĩa thạch carboxymethyl cellulose

Kết quả bảng 1 cho thấy sự khác biệt đáng kể về hoạt tính enzyme giữa các chủng cổ khuẩn phân lập. Trong đó, chủng VS7M5.3 và VS7M5.1 nổi bật với hoạt tính cao trên CMC, cho thấy khả năng sản sinh enzyme cellulase và xylanase. Đây là các enzyme quan trọng trong công nghiệp năng lượng sinh học, đặc biệt trong việc chuyển hóa lignocellulose thành nhiên liệu sinh học như bioethanol [18]. Ngoài ra, trong lĩnh vực xử lý sinh học, enzyme cellulase và xylanase từ các chủng này có thể được ứng dụng để phân hủy chất thải nông nghiệp giàu lignocellulose trong môi trường mặn, giúp giảm thiểu ô nhiễm và tạo ra các sản phẩm có giá trị.

Hoạt tính chitinase được ghi nhận ở mức trung bình đối với VS7M5.3 và VS7M5.7, trong khi các chủng khác có hoạt tính yếu hoặc không rõ ràng. Các enzyme chitinase không chỉ hỗ trợ xử lý sinh học chất thải như vỏ tôm, cua mà còn tạo

ra các sản phẩm giá trị gia tăng như N-acetylglucosamine, một hợp chất quan trọng trong y học và công nghiệp thực phẩm. Tại Việt Nam, mặc dù đã có nhiều nghiên cứu về vi sinh vật sinh chitinase như *Aspergillus* spp. [9], *Bacillus* spp. [19], các nghiên cứu về chitinase từ cổ khuẩn vẫn còn hạn chế. Do đó, kết quả này cung cấp thông tin mới, góp phần mở rộng phạm vi nghiên cứu vi sinh vật sinh enzyme tại các khu vực siêu mặn trong nước.

Về khả năng sinh hyaluronidase, chủng VS7M5.3 thể hiện hoạt tính cao nhất, trong khi VS7M5.11 đạt mức trung bình và các chủng khác có hoạt tính thấp hơn. Hyaluronidase là enzyme thủy phân HA, một polysaccharide quan trọng tham gia vào các quá trình sinh lý và bệnh lý như di chuyển tế bào, sửa chữa tổn thương và hỗ trợ điều trị ung thư [6]. Sự ổn định của enzyme này trong môi trường mặn cao từ các chủng cổ khuẩn có thể mở ra tiềm năng ứng dụng trong y học, đặc biệt là sản xuất các chế phẩm HA có trọng lượng phân tử thấp.

Nhìn chung, chủng VS7M5.3 nổi bật với hoạt tính enzyme cao trên cả ba cơ chất, cho thấy tiềm năng ứng dụng đa dạng trong các ngành công nghiệp liên quan đến năng lượng sinh học, xử lý chất thải và y sinh học. Các phát hiện này không chỉ làm phong phú thêm dữ liệu về vi sinh vật tại Việt Nam, mà còn mở ra hướng khai thác các enzyme từ cổ khuẩn trong môi trường khắc nghiệt, góp phần vào phát triển công nghệ sinh học bền vững.

4. Kết luận

Nghiên cứu đã phân lập và sàng lọc thành công 27 chủng vi sinh vật từ môi trường siêu mặn tại ruộng muối Hòn Khói, tỉnh Khánh Hòa, trong đó có 5 chủng được xác định thuộc nhóm *Haloarchaea* nhờ khả năng nhạy cảm với anisomycin. Đây là các chủng cổ khuẩn nuôi cấy được trong điều kiện phòng thí nghiệm, một bước quan trọng trong việc nghiên cứu và khai thác tiềm năng của nhóm vi sinh vật này. Kết quả sàng lọc cho thấy, hai chủng có hoạt tính phân giải mạnh với CMC, một chủng có hoạt tính cao với hyaluronan và hai chủng khác thể hiện hoạt tính trung bình trên cơ chất chitin, chứng tỏ khả năng sinh enzyme cellulase, xylanase, chitinase và hyaluronidase. Những phát hiện này không chỉ khẳng định khả năng sinh enzyme phân giải polysaccharide của các chủng cổ khuẩn, mà còn mở ra hướng nghiên cứu sâu hơn để thu nhận enzyme và phát triển các ứng dụng trong công nghệ sinh học.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được thực hiện với sự hỗ trợ kinh phí từ Nhiệm vụ hợp tác quốc tế mã số QTIT01.01/23-24. Chúng tôi xin trân trọng cảm ơn sự hỗ trợ quý báu từ những người nông dân và chủ nhân của cánh đồng muối Hòn Khói, xã Ninh Diêm, huyện Ninh Hòa, tỉnh Khánh Hòa trong quá trình thu thập mẫu.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] B. Tschitschko, T.J. Williams, M.A. Allen, et al. (2016), “Ecophysiological distinctions of Haloarchaea from a Hypersaline Antarctic Lake as determined by metaproteomics”, *Appl. Environ. Microbiol.*, **82**, pp.3165-3173, DOI: 10.1128/AEM.00473-16.
- [2] J. Li, Y. Gao, H. Dong, et al. (2022), “Haloarchaea, excellent candidates for removing pollutants from hypersaline wastewater”, *Trends Biotechnol.*, **40**, pp.226-239, DOI: 10.1016/j.tibtech.2021.06.006.
- [3] A.M. Kakhki, M.A. Amoozegar, E.M. Khaledi (2011), “Diversity of hydrolytic enzymes in Haloarchaeal strains isolated from salt lake”, *International Journal of Environmental Science & Technology*, **8(4)**, pp.705-714, DOI: 10.1007/BF03326255.
- [4] R.M. Espinosa, M.G. Alonso, L.S. Cabrera, et al. (2022), “Industrial applications of enzymes from Haloarchaea”, *Extremozymes and Their Industrial Applications*, pp.289-320, DOI: 10.1016/B978-0-323-90274-8.00014-9.
- [5] J. Verbančič, J.E. Lunn, M. Stitt, et al. (2018), “Carbon supply and the regulation of cell wall synthesis”, *Mol. Plant*, **11(1)**, pp.75-94, DOI: 10.1016/j.molp.2017.10.004.
- [6] B.A. Buhren, H. Schrumpf, N.P. Hoff, et al. (2016), “Hyaluronidase: From clinical applications to molecular and cellular mechanisms”, *Eur. J. Med. Res.*, **21**, DOI: 10.1186/S40001-016-0201-5.
- [7] N.N. An, N.M. Tan, N.T.T. Hien, et al. (2019), “Isolation, selection and enhanced cellulase production of TH-VK22 and TH-VK24 bacterial strains”, *Journal of Science and Technology*, **39B**, pp.248-259, DOI: 10.46242/jst-juh.v39i03.481.
- [8] C.T. Giang, L.H.T. Vo, T.K. Le (2024), “Isolation and selection of salt tolerant bacteria in Can Gio district, Ho Chi Minh city with fixed nitrogen and phosphate solubilising activity”, *CTU Journal of Science*, **60**, pp.438-447, DOI: 10.22144/ctujos.2024.365 (in Vietnamese).
- [9] N.T. Ha (2012), “Optimisation of the culture conditions for chitinase production by *Aspergillus protuberans* isolated from Can Gio mangrove forest”, *CTU Journal of Science*, **22B**, pp.26-35 (in Vietnamese).
- [10] M. Rafiq, N. Hassan, M. Rehman, et al. (2023), “Challenges and approaches of culturing the unculturable archaea”, *Biology (Basel)*, **12(12)**, DOI: 10.3390/biology12121499.
- [11] L.M. Cycil, S. Dassarma, W. Pecher, et al. (2020), “Metagenomic insights into the diversity of halophilic microorganisms indigenous to the Karak salt mine”, *Pakistan*, **11**, pp.1-14, DOI: 10.3389/fmicb.2020.01567.
- [12] S. Nag, P. DasSarma, D.J. Crowley, et al. (2023), “Genomic analysis of Haloarchaea from diverse environments, including permian halite, reveals diversity of ultraviolet radiation survival and DNA photolyase gene variants”, *Microorganisms*, **11**, DOI: 10.3390/microorganisms11030607.
- [13] M.Y. Bafghi, H. Babavalian, M.A. Amoozegar (2019), “Isolation, screening and identification of Haloarchaea with chitinolytic activity from hypersaline lakes of Iran”, *Arch. Biol. Sci.*, **71**, pp.71-81, DOI: 10.2298/ABS180525049Y.
- [14] E.S. Cho, I.T. Cha, S.W. Roh, et al. (2021), “*Haloferax litoreum* Sp. Nov., *Haloferax marinesediminis* Sp. Nov., and *Haloferax marinum* Sp. Nov., low salt-tolerant Haloarchaea isolated from seawater and sediment”, *Antonie van Leeuwenhoek*, **114**, pp.2065-2082, DOI: 10.1007/S10482-021-01661-0/metrics.
- [15] E.O. Casamayor, R. Massana, S. Benlloch, et al. (2002), “Changes in archaeal, bacterial and eukaryal assemblages along a salinity gradient by comparison of genetic fingerprinting methods in a multipond solar saltern”, *Environ. Microbiol.*, **4**, pp.338-348, DOI: 10.1046/J.1462-2920.2002.00297.X.
- [16] V.L. Cono, G.L. Spada, F. Smedile, et al. (2024), “Unique features of extremely halophilic microbiota inhabiting solar saltworks fields of Vietnam”, *Microorganisms*, **12**, DOI: 10.3390/Microorganisms12101975/S1.
- [17] R.E. Bardavid, A. Oren (2008), “Sensitivity of haloquadratum and salinibacter to antibiotics and other inhibitors: Implications for the assessment of the contribution of archaea and bacteria to heterotrophic activities in hypersaline environments”, *FEMS Microbiol. Ecol.*, **63**, pp.309-315, DOI: 10.1111/J.1574-6941.2007.00433.X.
- [18] P. Bajaj, R. Mahajan (2019), “Cellulase and xylanase synergism in industrial biotechnology”, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **103**, pp.8711-8724, DOI: 10.1007/S00253-019-10146-0/METRICS.
- [19] L.T. Mai, L.V.K. Trang, C.K. Cuong, et al. (2020), “Study on selection of chitinase - producing *Bacillus thuringiensis* and survey their chitinase biosynthesis affecting factors”, *Journal of Science and Technology, University of Danang*, **18**, pp.56-61 (in Vietnamese).

Xây dựng quy trình knockout gen *keap1a* bằng kỹ thuật CRISPR-Cas9 trên cá ngựa vằn (*Danio rerio*) tại Việt Nam

Nguyễn Thành Vũ*, Trần Ngọc Uyên, Bùi Thị Thu Vân, Lê Lưu Phương Hạnh, Nguyễn Hoàng Thụy Vy

Phòng Công nghệ Sinh học Thủy sản, Trung tâm Công nghệ Sinh học TP Hồ Chí Minh, phường Trung Mỹ Tây, TP Hồ Chí Minh, Việt Nam

Ngày nhận bài 26/8/2024; ngày chuyển phản biện 30/8/2024; ngày nhận phản biện 22/9/2024; ngày chấp nhận đăng 25/9/2024

Tóm tắt:

Đây là nghiên cứu đầu tiên tại Việt Nam thực hiện quy trình knockout gen *keap1a* ở cá ngựa vằn (*Danio rerio*) bằng kỹ thuật CRISPR-Cas9 nhằm nghiên cứu hệ thống Keap1-Nrf2. Hệ thống này đóng vai trò quan trọng trong bảo vệ tế bào khỏi stress oxy hóa. Cá ngựa vằn có hai paralog *keap1* (*keap1a* và *keap1b*), là mô hình lý tưởng cho nghiên cứu này. Quy trình thực hiện bằng cách thiết kế RNA dẫn đường (gRNA) đặc hiệu nhắm vào *keap1a* và vi tiêm phức hợp gRNA/Cas9 vào phôi cá giai đoạn một tế bào. Kết quả cho thấy, cá knockout *keap1a* phát triển bình thường nhưng có khả năng chống chịu stress oxy hóa tốt hơn khi tiếp xúc H_2O_2 , thể hiện qua tỷ lệ sống cao hơn và tăng biểu hiện của các gen đích của Nrf2 (*gstp1* và *prdx1*). Nghiên cứu này không chỉ cung cấp một quy trình knockout gen hiệu quả ở cá ngựa vằn mà còn mở ra những triển vọng mới trong việc sử dụng kỹ thuật CRISPR-Cas9 để nghiên cứu chức năng gen và ứng dụng trong nuôi trồng thủy sản tại Việt Nam, đồng thời mở đường cho các nghiên cứu sâu hơn về vai trò của hệ thống Keap1-Nrf2 trong việc duy trì cân bằng oxy hóa khử và thích nghi với stress môi trường ở cá.

Từ khóa: cá ngựa vằn, CRISPR-Cas9, *keap1a*, knockout gen, stress oxy hóa.

Chỉ số phân loại: 1.6, 4.6

Establishment of a CRISPR-Cas9-mediated *keap1a* knockout protocol in zebrafish (*Danio rerio*) for implementation in Vietnam

Thanh Vu Nguyen*, Ngoc Uyen Tran, Thi Thu Van Bui, Luu Phuong Hanh Le, Hoang Thuy Vy Nguyen

Division of Aquaculture Biotechnology, Biotechnology Centre of Ho Chi Minh City, Trung My Tay Ward, Ho Chi Minh City, Vietnam

Received 26 August 2024; revised 22 September 2024; accepted 25 September 2024

Abstract:

This is the first study in Vietnam to generate Kelch-like ECH-associated protein 1a (*keap1a*) knockout zebrafish (*Danio rerio*) using clustered regularly interspaced short palindromic repeats-CRISPR associated protein 9 (CRISPR-Cas9) technology, aiming to investigate the Keap1-Nuclear factor erythroid 2-related factor 2 (Keap1-Nrf2) system. This system plays a key role in protecting cells against oxidative stress zebrafish, possessing two *keap1* paralogs (*keap1a* and *keap1b*), serve as an ideal model for this investigation. The experimental procedure involved designing a specific guide RNA (gRNA) targeting the *keap1a* gene and microinjecting the gRNA/Cas9 complex into single-cell stage zebrafish embryos. The *keap1a* knockout fish exhibited normal development but demonstrated enhanced resistance to oxidative stress upon hydrogen peroxide (H_2O_2) exposure, as indicated by higher survival rates and elevated expression of Nrf2 target genes (Glutathione S-transferase pi 1, *gstp1* and Peroxiredoxin 1, *prdx1*). This study not only establishes an efficient gene knockout protocol in zebrafish but also opens new avenues for CRISPR-Cas9 applications in gene function research and aquaculture in Vietnam, while facilitating further investigations into the Keap1-Nrf2 system's role in maintaining redox homeostasis and adapting to environmental stress in fish.

Keywords: CRISPR-Cas9, gene knockout, *keap1a*, oxidative stress, zebrafish.

Classification numbers: 1.6, 4.6

*Tác giả liên hệ: Email: nthanhvus.htp@tphcm.gov.vn

1. Đặt vấn đề

Cá ngựa vằn (*Danio rerio*) với những ưu điểm nổi bật như kích thước nhỏ, thời gian thế hệ ngắn và phôi trong suốt dễ quan sát, đã khẳng định vị thế là một sinh vật mô hình quan trọng trong nghiên cứu sinh học và y học [1, 2]. Loài cá này đã được ứng dụng rộng rãi trong nhiều lĩnh vực, từ sinh học phát triển, di truyền học đến độc chất học, cho phép các nhà khoa học khám phá những cơ chế phức tạp của sự sống và bệnh tật.

Đặc biệt, cá ngựa vằn sở hữu hai loại Keap1 (Kelch-like ECH-associated protein 1) là Keap1a và Keap1b [3-5], mang đến cơ hội độc đáo để nghiên cứu sâu hơn về vai trò của hệ thống Keap1-Nrf2, một hệ thống quan trọng trong việc duy trì cân bằng nội môi oxy hóa của tế bào. Keap1 hoạt động như một cảm biến stress oxy hóa, tương tác với yếu tố phiên mã Nrf2 (Nuclear factor erythroid 2-related factor 2). Trong điều kiện bình thường, Keap1 ức chế Nrf2, ngăn chặn sự biểu hiện của các gen chống oxy hóa. Tuy nhiên, khi tế bào gặp stress oxy hóa, Keap1 giải phóng Nrf2, cho phép Nrf2 di chuyển vào nhân và kích hoạt biểu hiện của các gen bảo vệ tế bào [6]. Sự cân bằng giữa Keap1 và Nrf2 đóng vai trò then chốt trong việc bảo vệ cơ thể chống lại các tác nhân gây hại từ môi trường và quá trình lão hóa [7, 8].

Sự ra đời của công nghệ CRISPR-Cas9 đã tạo nên một cuộc cách mạng trong lĩnh vực chỉnh sửa gen, cung cấp một công cụ mạnh mẽ để tạo ra các đột biến chính xác và hiệu quả trên nhiều sinh vật, bao gồm cả cá ngựa vằn [3, 9]. Hệ thống CRISPR-Cas9 hoạt động dựa trên sự kết hợp giữa RNA hướng dẫn (gRNA) và enzyme Cas9. gRNA dẫn đường cho Cas9 đến vị trí đích trên DNA, nơi Cas9 tạo ra đứt gãy sợi đôi. Tế bào sau đó sẽ sửa chữa đứt gãy này, thường thông qua cơ chế nối các đầu không tương đồng (NHEJ) hoặc tái tổ hợp tương đồng (HDR), dẫn đến việc tạo ra các đột biến khác nhau như: đột biến mất đoạn (một số nucleotide bị mất đi); đột biến thêm đoạn (một số nucleotide được thêm vào); đột biến thay thế (một nucleotide được thay thế bằng một nucleotide khác); sắp xếp lại trình tự (các nucleotide bị sắp xếp lại vị trí) [10]. Tính đơn giản, hiệu quả và khả năng ứng dụng rộng rãi của CRISPR-Cas9 đã nhanh chóng đưa công nghệ này vượt lên trên các phương pháp chỉnh sửa gen trước đây như TALENs (Transcription activator-like effector nucleases) và ZFNs (Zinc finger nucleases) [11].

Trong lĩnh vực nuôi trồng thủy sản, CRISPR-Cas9 hứa hẹn mang lại những cải tiến đáng kể về năng suất, chất lượng và khả năng chống chịu bệnh của cá nuôi [12-14]. Nghiên cứu này tập trung vào việc xây dựng quy trình knockout gen *keap1a* trên cá ngựa vằn bằng kỹ thuật CRISPR-Cas9. Việc loại bỏ gen *keap1a* được kỳ vọng sẽ kích hoạt Nrf2 một cách liên tục, từ đó tăng cường khả năng chống chịu stress oxy hóa của cá. Đây là một bước tiến quan trọng trong việc ứng dụng công

nghệ CRISPR-Cas9 vào nghiên cứu cơ bản và ứng dụng tại Việt Nam, đặc biệt là trong lĩnh vực nuôi trồng thủy sản, góp phần tạo ra những giống cá mới có khả năng thích nghi tốt hơn với điều kiện môi trường và tăng cường sức khỏe.

2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Vật liệu

2.1.1. Đối tượng nghiên cứu

Dòng cá ngựa vằn hoang dại (WT), có nguồn gốc tại phòng thí nghiệm của giáo sư Makoto Kobayashi (Đại học Tsukuba, Nhật Bản), được chăm sóc và nuôi lớn tại Trung tâm Công nghệ Sinh học TP Hồ Chí Minh, Việt Nam. Dòng cá ngựa vằn WT được sử dụng để loại bỏ gen *keap1a* bằng phương pháp CRISPR-Cas9.

Cá ngựa vằn trưởng thành được nuôi trong các bể nhựa thể tích 4-5 lít, tại Phòng Công nghệ Sinh học Thủy sản, Trung tâm Công nghệ Sinh học TP Hồ Chí Minh, Việt Nam (hình 1). Nhiệt độ phòng nuôi cá 26-28°C, mỗi ngày cho ăn 2 lần vào lúc 9 giờ sáng bằng thức ăn bột dành cho cá và 15 giờ chiều bằng ấu trùng *Artemia*. Hệ thống nước nuôi cá được lọc khử clo và được vệ sinh, thay bông lọc mỗi tuần 1 lần.



Hình 1. Hệ thống nuôi cá ngựa vằn tại Trung tâm Công nghệ Sinh học TP Hồ Chí Minh được thiết lập năm 2022.

2.1.2. Thiết bị và hóa chất

Nghiên cứu này được thực hiện với sự hỗ trợ của các thiết bị chuyên dụng, bao gồm: máy PCR (Bio-Rad, Mỹ), hệ thống Real-time PCR LightCycler 480 II (Roche, Thụy Sĩ), máy giải trình tự gen 3500XL (Applied Biosystems, Mỹ), bể ủ nhiệt, tủ lạnh, tủ mát, hệ thống điện di (Bio-Rad, Mỹ), máy ly tâm lạnh Centrifuge 5424R (Eppendorf, Đức), máy đo quang phổ NanoDrop 2000 (Thermo Fisher Scientific, Mỹ) và cân phân tích.

Đối với quy trình nuôi cá, thức ăn chính là bột thương mại (Inve, Thái Lan) và ấu trùng *Artemia* (Petrel Brand, Mỹ). Dung dịch methylene blue 0,04% được sử dụng để kiểm soát nấm trong quá trình nuôi.

Trong các phân tích di truyền, các hóa chất cần thiết cho PCR bao gồm: mồi (primers), DreamTaq Green PCR Master Mix, acrylamide gel 30%, 10X TBE, TEMED và APS 10%. Quá trình giải trình tự gen sử dụng ExoSAP-IT, BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit, đệm phản ứng, EDTA, ethanol (100% và 75%) và HiDi-Formamide.

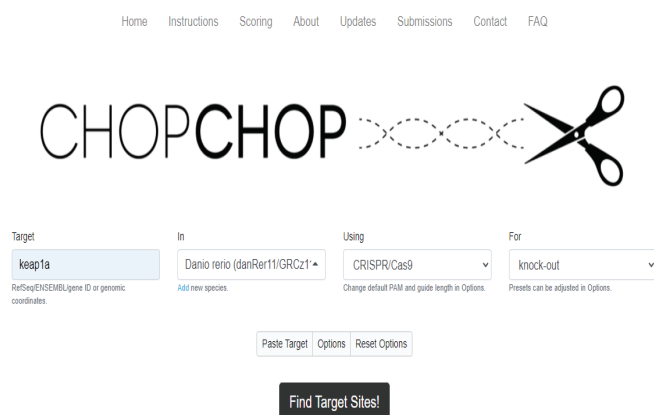
Stress oxy hóa được tạo ra bằng cách sử dụng hydrogen peroxide 35% (Scharlau, Tây Ban Nha). Quá trình tách chiết RNA sử dụng TRIzol™ Reagent Kit (Invitrogen) và chloroform, isopropanol, ethanol 99,8% và nước DEPC. Tổng hợp cDNA được thực hiện với bộ kit SensiFAST™ cDNA Synthesis Kit (Bioline), bao gồm 5x TransAmp Buffer, Reverse Transcriptase và nước không chứa DNase/RNase.

Cuối cùng, Maxima SYBR Green qPCR Master Mix (Thermo Scientific, Mỹ) được sử dụng cho phản ứng Real-time PCR.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Thiết kế chuỗi RNA hướng dẫn - guide RNA (gRNA) và mồi cho gen *keap1a*

Để thiết kế chuỗi RNA hướng dẫn đơn (sgRNA) đặc hiệu cho gen *keap1a*, nghiên cứu sử dụng công cụ trực tuyến ChopChop (<http://chopchop.cbu.uib.no>). Cụ thể, tên gen *keap1a* được nhập vào mục “Target”, loài “Danio rerio (danRer11/GRCz11)” được chọn ở mục “In”. Các thông số “CRISPR/Cas9” và “knockout” lần lượt được lựa chọn cho mục “Using” và “For”. Sau đó, quá trình tìm kiếm các vị trí mục tiêu gRNA trên gen *keap1a* được khởi động bằng cách nhấn nút “Find Target Sites” (hình 2).



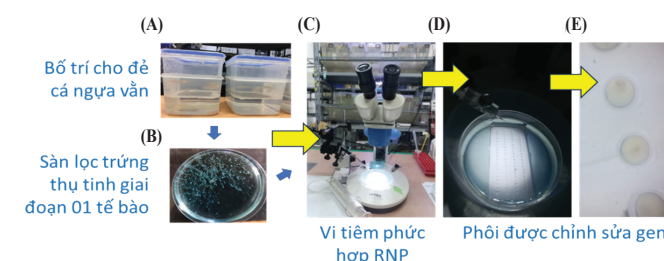
Hình 2. Trang web (<http://chopchop.cbu.uib.no>) hỗ trợ thiết kế vị trí các chuỗi RNA hướng dẫn (gRNA) của gen *keap1a* ở cá ngựa vằn.

Hiệu quả của việc knockout gen *keap1a* sau vi tiêm được đánh giá thông qua phương pháp phân tích kiểu gen (sử dụng kỹ thuật PCR và giải trình tự Sanger) để xác nhận sự thay đổi trình tự DNA tại vị trí gen *keap1a* ở cá thể biến đổi gen. Phân tích kiểu gen của cá thể F0 và F1 cho phép xác định tỷ lệ cá mang đột biến và mức độ thành công của quá trình knockout gen *keap1a*.

2.2.2. Loại bỏ gen bằng công nghệ CRISPR-Cas9 thông qua phương pháp vi tiêm

Để tiến hành knockout gen *keap1a*, dòng cá ngựa vằn WT được sử dụng để cho sinh sản tạo phôi trứng, sẵn sàng để thực hiện knockout gen *keap1a*. Cá ngựa vằn bố mẹ được nuôi trong điều kiện ổn định, hằng ngày được cho ăn với ấu trùng *Artemia* và thức ăn công nghiệp. Khi cá đạt độ tuổi trưởng thành, có thể tiến hành cho cá bắt đầu sinh sản. Cá đực và cái được nuôi riêng trong cùng hệ thống (hình 1).

Cá đực được chọn theo tiêu chuẩn minh thuận, bơi nhanh và cá cái có bụng cong, ăn khỏe - giữa chúng có kích thước tương đồng. Trước ngày cho đẻ 1 ngày, tiến hành ghép cá đực và cái theo tỷ lệ 3 cái:2 đực trong bể cho đẻ được thiết kế có lớp lưới inox ngăn bên dưới để trứng rơi xuống, mà tránh cá bố mẹ ăn trứng (hình 3A).



Hình 3. Cho sinh sản cá ngựa vằn phục vụ vi tiêm knockout gen. (A) Cá ngựa vằn bố mẹ được nuôi trong bể đẻ sinh sản; (B) Trứng đã thụ tinh được thu thập và sàng lọc để chọn những trứng ở giai đoạn một tế bào; (C) Phức hợp sgRNA/Cas9 được vi tiêm vào trứng đã thụ tinh; (D) Phôi biến đổi gen được phát triển từ trứng đã vi tiêm; (E) Hình ảnh phóng lớn vị trí vi tiêm vào phôi của hình.

Để tạo phức hợp ribonucleoprotein (RNP) cho vi tiêm CRISPR-Cas9, 10 nmol sgRNA *keap1a* 100 base đã được chuẩn hóa bằng cách thêm 100 µl dung dịch đệm duplex không chứa nuclease (IDT) để đạt nồng độ cuối cùng là 100 µM. Đồng thời, Alt-R S.p HiFi Cas9 Nuclease V3 (100 µg) được pha loãng trong dung dịch đệm protein Cas9 (20 mM HEPES; 150 mM KCl, pH 7,5) để đạt nồng độ làm việc 0,5 µg/µl. Sau đó, 3 µl sgRNA *keap1a* đã được trộn với 3 µl Cas9 đã pha loãng và ủ ở 37°C trong 10 phút để tạo phức hợp RNP [3]. Cuối cùng, mẫu được làm nguội đến nhiệt độ phòng trước khi tiến hành vi tiêm.

Quy trình vi tiêm được tiến hành theo mô tả của V.T. Nguyen và cs (2022a) [15] và V.N.H. Thuy và cs (2021) [16], cụ thể, phôi cá ngựa vằn giai đoạn một tế bào (hình 3B) được tiêm vào nhân hoàng với thể tích bằng 1/10 thể tích của phôi (hình 3C và 3D). Sau khi vi tiêm, trứng không thụ tinh hoặc chết được đếm và loại bỏ.

2.2.3. Xác định hiệu quả knockout gen *keap1a* và sàng lọc dòng cá ổn định

Để đánh giá hiệu quả knockout gen *keap1a* ở thế hệ F0, 15 cá bột (4-5 ngày sau khi thụ tinh - dpf) được chọn ngẫu nhiên để phân tích PCR. Cặp mồi Keap1a.hma.fl/r1 được thiết kế dựa trên các vị trí sgRNA *keap1a* đề xuất bởi ChopChop (bảng 1) để khuếch đại vùng đích trên gen *keap1a*. Sản phẩm PCR được phân tích trên gel acrylamide 4,5% để phát hiện sự hiện diện của các đoạn DNA dị hợp tử (heteroduplex), cho biết sự thành công của quá trình chỉnh sửa gen.

Bảng 1. Trình tự các cặp mồi (Oligonucleotide).

Gen	Mục đích	Tên mồi	Trình tự mồi	Kích thước (bp)	Nguồn
<i>keap1a</i>	Giải trình tự	Keap1a-seq-f1	5'-TTTCAACAATGCCAACCTGG	508	Thiết kế trong nghiên cứu này
		Keap1a-seq-r1	5'-GCCTCTCCATTGAATCTGTGTT		
	Xác định hiệu quả knockout gen	Keap1a-hma-f1	5'-TTGTGCCTGATTCTTCATGG	204	
		Keap1a-hma-r1	5'-AACCGTGAATCCAAGTAACCG		
<i>ef1a</i>		<i>ef1a-qpcr-f1</i>	5'-CGTGGAATGTGGCTGGAGA	66	
		<i>ef1a-qpcr-r1</i>	5'-CTGAGCGTTGAAGTTGGCAG		
<i>gstp1</i>	Chạy Realtime-qPCR	<i>gstp1-qpcr-f1</i>	5'-CAACGCCATGCTGAGACATC	104	[8]
		<i>gstp1-qpcr-r1</i>	5'-GAAGATCTTCAACGCCGTCG		
<i>prdx1</i>		<i>prdx1-qpcr-f1</i>	5'-GTCCCACTGAGATCATCGCC	135	[17]
		<i>prdx1-qpcr-r1</i>	5'-AACCACTTGTTCCTGGGGT		

Cá F0 mang đột biến được nuôi đến giai đoạn trưởng thành (khoảng 3 tháng) và sau đó lai với cá hoang dại để tạo ra thế hệ F1. Ấu trùng F1 (hoặc F2) ở giai đoạn 4-5 dpf cũng được phân tích PCR tương tự như F0 để xác định các cá thể mang đột biến ổn định. Nếu xuất hiện band heteroduplex, các mẫu này được giải trình tự Sanger sử dụng mồi Keap1a-seq-f1/r1 được thiết kế bởi phần mềm SnapGene 7.1.0 (bảng 1) để xác định chính xác loại đột biến (thêm hoặc mất nucleotide) trên gen *keap1a*.

Khi các tế bào chứa cả DNA gốc và DNA đã chỉnh sửa được nhân lên, các sợi đơn của hai loại DNA này có thể kết hợp với nhau tạo thành phân tử DNA lai ghép (heteroduplex). Khi chạy điện di, các phân tử DNA lai ghép này tạo ra các băng sáng đặc trưng, khác với băng sáng của DNA gốc và DNA đã chỉnh sửa hoàn toàn. Bên cạnh đó, băng heteroduplex chạy chậm hơn so với băng homoduplex cùng kích thước do sự tồn tại của các loop [18]. Ý nghĩa của vạch heteroduplex: Xác định hiệu quả chỉnh sửa gen (sự xuất hiện của vạch heteroduplex cho thấy hệ thống CRISPR/Cas9 đã hoạt động và tạo ra những thay đổi trên genome); Đánh giá tỷ lệ chỉnh sửa (bằng cách so sánh cường độ của các băng sáng, chúng ta có thể ước tính tỷ lệ tế bào đã bị chỉnh sửa) và phân tích loại đột biến (phân tích thêm về kích thước và vị trí của vạch heteroduplex có thể giúp xác định loại đột biến đã xảy ra).

2.2.4. Quy trình giải trình tự Sanger

Tinh sạch mẫu và chuẩn bị cho giải trình tự: Sản phẩm PCR thu được sau khi khuếch đại vùng đích trên gen *keap1a* bằng cặp mồi Keap1a.seq.f1/r1 đã được tinh sạch để loại bỏ các thành phần không mong muốn trước khi giải trình tự. 5 µl sản phẩm PCR được trộn với 2 µl hỗn hợp ExoSAP-IT và ủ lần lượt ở 37°C trong 15 phút và 80°C trong 15 phút. Mẫu sau đó được bảo quản ở 4°C hoặc -20°C cho đến khi giải trình tự.

Tiếp theo, sản phẩm PCR đã tinh sạch được chuẩn bị cho giải trình tự bằng phản ứng chuỗi với thuốc nhuộm huỳnh quang (BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit). Hỗn hợp phản ứng bao gồm 0,5 µl BigDye terminator, 1,5 µl buffer BigDye, 1 µl mồi giải trình tự (1,6 µM Keap1a.seq.f1), 4 µl nước và 3 µl sản phẩm PCR đã tinh sạch [3].

Quy trình giải trình tự Sanger: Phản ứng chuỗi được thực hiện trong một chu trình nhiệt trên máy PCR với các bước: biến tính ban đầu ở 96°C trong 3 phút, sau đó 25 chu kỳ gồm biến tính ở 96°C trong 10 giây, gắn mồi ở 50°C trong 5 giây và kéo dài ở 60°C trong 4 phút. Cuối cùng là bước kéo dài cuối ở 60°C trong 7 phút và bảo quản ở 4°C. Sản phẩm sau phản ứng chuỗi được tinh sạch bằng phương pháp kết tủa ethanol/EDTA để loại bỏ các thuốc nhuộm huỳnh quang dư thừa. Cuối cùng, mẫu được hòa tan trong 15 µl formamide và phân tích trên máy giải trình tự gen 3500 XL (Applied Biosystems) tại Trung tâm Công nghệ Sinh học TP Hồ Chí Minh, Việt Nam.

2.2.5. Xác định kiểu gen

Để xác định kiểu gen của cá F1 Keap1 knockout, DNA tổng số được chiết xuất từ vây đuôi cá trưởng thành. Vây đuôi được cắt và ủ trong dung dịch TNEST (10 mM Tris-HCl pH 8,2; 10 mM EDTA pH 8,0; 200 mM NaCl, 0,1% sodium dodecyl sulfate và 400 µg/ml proteinase K) ở 55°C trong ít nhất 4 giờ để phân giải mô và giải phóng DNA. DNA sau đó được pha loãng và sử dụng làm khuôn cho phản ứng PCR với cặp mồi đặc hiệu cho gen *keap1a* (bảng 1). Sản phẩm PCR được phân tích trên gel polyacrylamide 4,5% để xác định kiểu gen của cá.

Cắt vây đuôi cá và tách chiết DNA: Cá F1 Keap1 knockout được gây mê nhẹ bằng benzocaine. Một phần nhỏ vây đuôi được cắt bằng nhíp và chuyển ngay vào ống eppendorf chứa sẵn 40 µl dung dịch TNEST. Mẫu được ủ ở 55°C trong ít nhất 4 giờ để phân giải mô và giải phóng DNA. Sau đó, DNA được pha loãng 1/10 để sử dụng cho PCR.

Phản ứng PCR và phân tích kết quả: Phản ứng PCR được thực hiện với hỗn hợp gồm 1,6 µl nước; 0,1 µl mồi xuôi (10 µM Keap1a.hma.f1); 0,1 µl mồi ngược (10 µM Keap1a.hma.r1); 2,2 µl DreamTaq Green PCR Master Mix và 1 µl DNA mẫu đã pha loãng. Chu trình nhiệt gồm các bước: biến tính ban đầu ở 95°C trong 2 phút, 35 chu kỳ gồm biến tính ở 95°C trong 10 giây, gắn mồi ở 60°C trong 30 giây và kéo dài ở 72°C trong 30 giây, sau đó kéo dài cuối cùng ở 72°C trong 5 phút và bảo quản ở 4°C.

Sản phẩm PCR được phân tích trên gel polyacrylamide 4,5% được đổ từ hỗn hợp gồm 5,625 ml nước, 0,875 ml 30% acrylamide, 0,4 ml 10X TBE, 5 µl TEMED và 150 µl 10% APS. Gel được nhuộm ethidium bromide và quan sát dưới ánh sáng UV. Sự hiện diện của các đoạn DNA dị hợp tử (heteroduplex) cho biết sự thành công của quá trình chỉnh sửa gen *keap1a*.

2.2.6. Đánh giá tỷ lệ sống

Để đánh giá vai trò của *keap1a* trong đáp ứng stress oxy hóa, chúng tôi đã thực hiện thử nghiệm tỷ lệ sống trên cá ngựa vằn hoang dại (WT) và cá knockout *keap1a* là anh chị em ruột, cùng một lứa, chỉ khác nhau về kiểu gen *keap1a*. Cả hai nhóm cá WT và cá knockout *keap1a* giai đoạn 4 dpf sau đó được phơi nhiễm với 3 mM H₂O₂ [19, 20]. Tỷ lệ sống của các nhóm được theo dõi và so sánh trong vòng 48 giờ. Việc sử dụng cá anh chị em ruột cho phép

chúng tôi loại bỏ các yếu tố gây nhiễu kết quả có thể phát sinh từ sự khác biệt về di truyền hoặc môi trường giữa các nhóm cá. Dự kiến cá knockout *keap1a* thể hiện khả năng sống sót cao hơn khi tiếp xúc với H₂O₂ do sự hoạt hóa của Nrf2.

2.2.7. Đánh giá mức độ biểu hiện gen mục tiêu của Nrf2 (*gstp1* và *prdx1*) bằng phương pháp Real-time PCR

RNA tổng số được tách chiết từ 15 phôi thử nghiệm sử dụng TRIzol™ Reagent Kit (Invitrogen). Sau đó, 300 ng RNA được sử dụng để tổng hợp cDNA với bộ kit SensiFAST™ cDNA Synthesis Kit (Bioline). Mức độ biểu hiện của các gen mục tiêu Glutathione S-transferase Pi 1 (*gstp1*) và peroxiredoxin 1 (*prdx1*) được phân tích bằng phương pháp Real-time PCR trên hệ thống LightCycler® 96 System (Roche Life Science) sử dụng Maxima SYBR Green/ROX qPCR Master Mix (2X) (ThermoFisher). Gen nội *efla* được sử dụng để chuẩn hóa biểu hiện gen. Trình tự các cặp mồi được sử dụng cho phản ứng Real-time PCR bao gồm: *efla*, *gstp1* và *prdx1* (bảng 1).

Gen *gstp1* và *prdx1* được lựa chọn làm gen mục tiêu do chúng là các gen đáp ứng trực tiếp với hoạt động của Nrf2, không chịu ảnh hưởng bởi các yếu tố điều hòa khác [19-23]. Gen nội *efla* được sử dụng để chuẩn hóa biểu hiện gen do có mức biểu hiện ổn định trong nhiều loại tế bào và mô, không bị ảnh hưởng bởi các yếu tố ngoại cảnh [19, 20].

Mức độ biểu hiện gen *gstp1* và *prdx1* ở ấu trùng cá ngựa vằn knockout *keap1a* khi được xử lý hóa chất gây stress oxy hóa, hóa chất gây stress mạng lưới nội chất, và không xử lý hóa chất được so sánh với ấu trùng cá ngựa vằn hoang dại. Phương pháp định lượng tương đối 2^{-ΔΔCt} được sử dụng để phân tích dữ liệu.

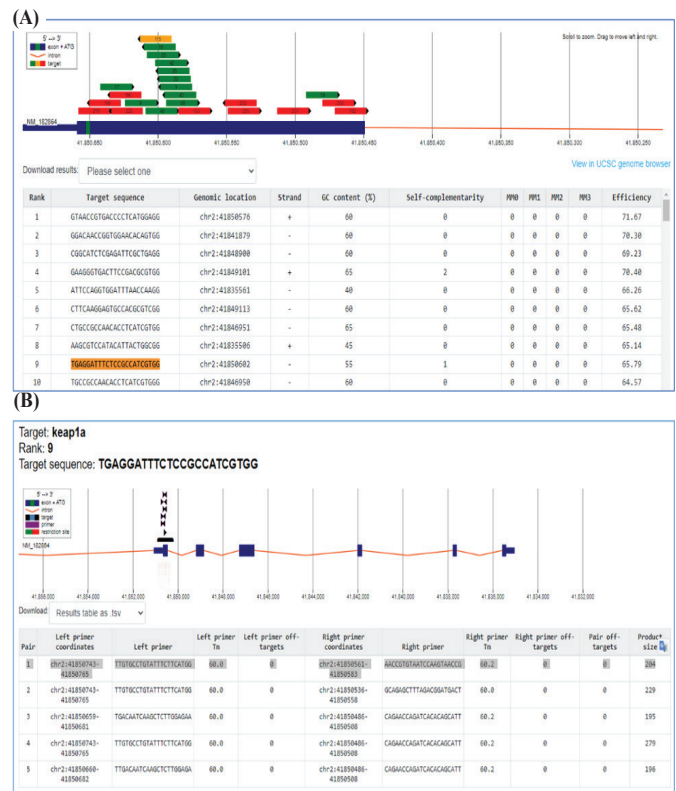
2.2.8. Phân tích thống kê

Tất cả dữ liệu được phân tích dưới dạng trung bình ±SE. Phương pháp thống kê với Student's t-test được sử dụng để tính P-value. Thử nghiệm tỷ lệ sống được phân tích theo phương pháp đường cong Kaplan-Meier, sử dụng phần mềm GraphPad Prism 9.4.0 (GraphPad software Inc, LLC, San Diego CA, Mỹ). Dữ liệu tỷ lệ sống được so sánh bằng cách dùng phương pháp kiểm tra log-rank test. P-value ≤ 0,05 được xem xét là có ý nghĩa thống kê. Phân tích dữ liệu mức độ biểu hiện gen sử dụng phương pháp định lượng tương đối 2^{-ΔΔCt}. So sánh biểu hiện mức độ gen được thực hiện bằng cách sử dụng two-tailed Student's t-test và Tukey's test. Mỗi thí nghiệm được lặp lại 3 lần.

3. Kết quả

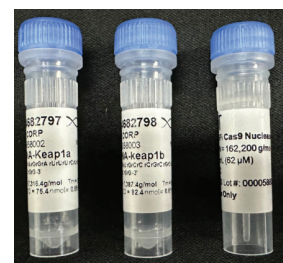
3.1. Thiết kế mồi và gRNA cho gen *keap1a*

Vị trí gRNA mục tiêu của *keap1a* ở cá ngựa vằn là 5'-TGAGGATTCTCCGCCATCGTGG-3' (trình tự PAM được gạch chân) (hình 4A). Cặp mồi *keap1a.hma.fl*; *keap1a.hma.r1* được thiết kế theo đề xuất của trang web: <http://chopchop.cbu.uib.no>, với nhiệt độ nóng chảy mồi (Tm) là 60°C (hình 4B, bảng 1).



Hình 4. Thiết kế gRNA *keap1a* và cặp mồi xác định hiệu quả knockout gen. (A) Vị trí gRNA *keap1a* cá ngựa vằn được thiết kế từ <http://chopchop.cbu.uib.no>. Rank: 9 với trình tự mục tiêu được lựa chọn (trình tự PAM được gạch chân); (B) Cặp mồi thiết kế sẵn có sau khi thiết kế gRNA *keap1a*.

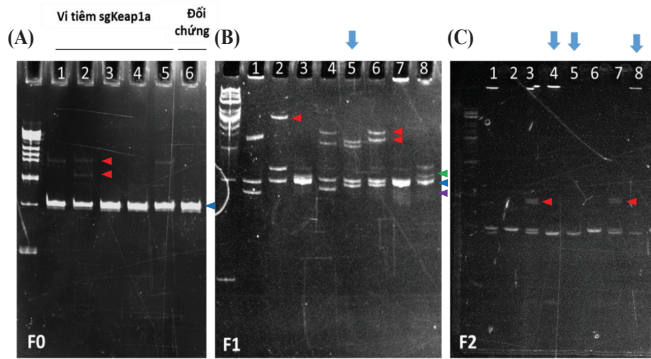
Trình tự gRNA mục tiêu của *keap1a* ở cá ngựa vằn sau đó được gửi đến công ty Integrated DNA Technologies, Inc để tổng hợp RNA dẫn đường đơn (sgRNA) *keap1a*. Alt-R S.p HiFi Cas9 Nuclease V3 được mua từ Công ty Integrated DNA Technologies, Inc (hình 5).



Hình 5. Alt-R S.p HiFi Cas9 Nuclease V3 và sgRNA của *keap1a* cá ngựa vằn được tổng hợp từ Công ty Integrated DNA Technologies, Inc để tổng hợp.

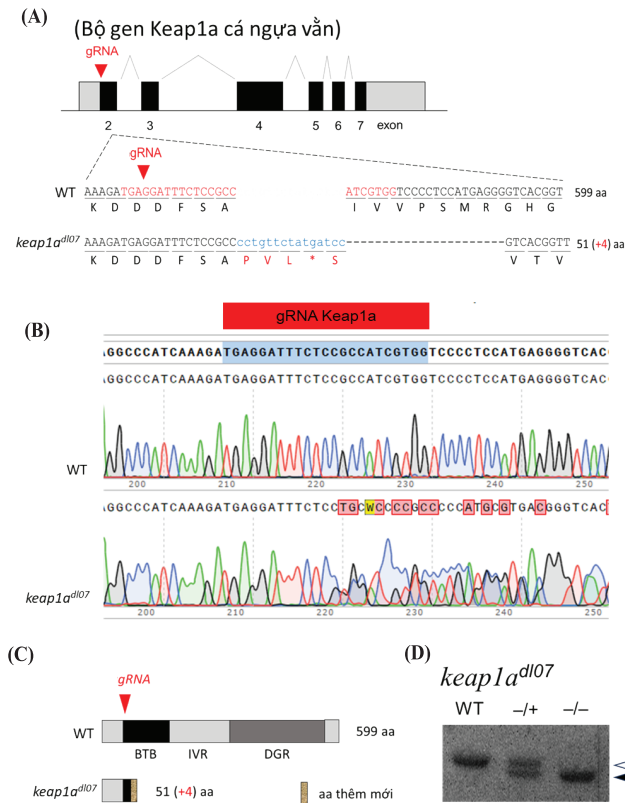
3.2. Tạo dòng cá ngựa vằn knockout gen *keap1*

Việc vi tiêm sgRNA *keap1a* cùng với Cas9 protein vào phôi 1 tế bào cá ngựa vằn đã được thực hiện, trong đó 250 phôi trứng được tiêm và 52 con cá sống sót sau đó. Hiệu quả vi tiêm được đánh giá sau 4-7 ngày (hình 6A) cho thấy sự thành công ở các giếng số 1, 2 và 5. Ấu trùng cá sau vi tiêm được nuôi đến giai đoạn trưởng thành và lai với cá hoang dã (WT) để tạo ra đàn cá F1. Cá mang kiểu gen từ giếng số 2 (hình 6A) được lai với cá WT, tạo ra các kiểu gen khác nhau ở đàn cá F1 (hình 6B).



Hình 6. Hiệu quả knockout gen được kiểm tra qua các thế hệ. (A) Hiệu quả vi tiêm sau 4 ngày vi tiêm; (B) Hiệu quả knockout gen và lựa chọn dòng cá được knockout của cá ở thế hệ F1; (C) Lựa chọn các dòng cá ổn định knockout gen ở thế hệ F2. Các dấu mũi tên màu đỏ là các band heteroduplex. Dấu mũi tên màu xanh dương là vạch DNA gốc (hoang dại); Dấu mũi tên xanh lá cây và tím là các vạch DNA đã bị chỉnh sửa lần lượt thêm hoặc mất một số nucleotide [18].

Giải trình tự các dòng cá F1 này cho thấy các đột biến khác nhau. Giếng 1, 2 và 4 có 15 nucleotide bị chèn hoặc xóa, trong khi giếng 3 và 7 có các nucleotide bị đột biến khác. Giếng 8 có 2 nucleotide bị xóa, giếng 5 có cả chèn 15 nucleotide và xóa 22 nucleotide, dẫn đến kết quả cuối cùng là xóa 7 nucleotide (hình 6B).



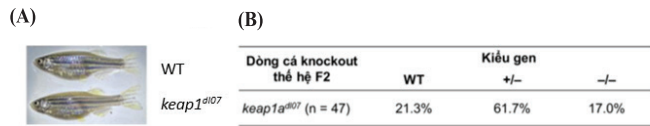
Hình 7. (A) Biểu đồ mô tả về gen *keap1* của cá ngựa vằn, gRNA mục tiêu nằm ở exon 2, dãy đột biến do Cas9/sgRNA gây ra và dãy axit amin dự đoán từ dãy gen *keap1* được knockout. WT: cá hoang dã; *keap1*^{Δ107}: cá knockout gen đồng hợp tử; (B) Phân tích giải trình tự gen cá knockout gen *keap1*; (C) Kết quả gen *keap1* knockout còn có 51 amino acid (aa); (D) Kết quả điện di dòng cá knockout gen *keap1* có 7 bp bị xóa (*keap1*^{Δ107}).

Phân tích chi tiết hơn về dòng cá có 7 nucleotide bị xóa (đặt tên là *keap1*^{Δ107}) cho thấy cấu trúc protein *Keap1* bị thay đổi đáng kể. Thay vì 599 amino acid ban đầu, protein *Keap1* ở cá knockout chỉ còn 51 amino acid (hình 7A). Trình tự DNA của *keap1*^{Δ107} cũng được xác định (hình 7B). Đột biến mất 7 nucleotide ở cá knockout dẫn đến sự thay đổi khung đọc mở (frameshift), làm xuất hiện codon stop sớm, kết thúc quá trình dịch mã. Do đó, protein *Keap1* ở cá knockout bị cắt ngắn đáng kể, chỉ còn 51 amino acid (hình 7C).

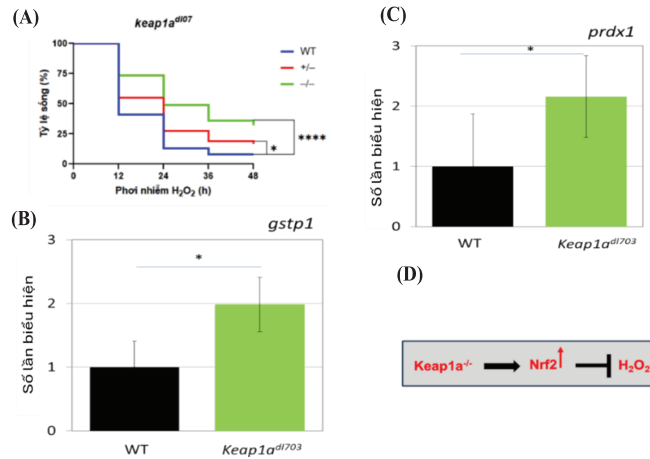
Để xác nhận knockout thành công, cá *keap1*^{Δ107/+} dị hợp tử được lai với nhau, tạo ra đàn cá F2 mang các kiểu gen WT, *keap1*^{Δ107/+} dị hợp tử và *keap1*^{Δ107/Δ107} đồng hợp tử (hình 6C). Điện di (hình 6C và 7D) cho thấy band WT có kích thước 204 bp, trong khi cá knockout *keap1* đồng hợp tử có kích thước 197 bp, chứng tỏ knockout gen *keap1* đã thành công.

3.3. Đánh giá chức năng sinh lý của dòng cá knockout gen *keap1*

Sau khi xác định thành công việc knockout gen *keap1*, dòng cá *keap1*^{Δ107} được nuôi đến 3 tháng tuổi. Kiểu hình của cá đồng hợp tử knockout không cho thấy sự khác biệt đáng kể so với cá hoang dã (hình 8A). Điều này trái ngược với quan sát ở chuột knockout, thường chết sau 15 ngày tuổi [21]. Cá ngựa vằn knockout gen *keap1* tiếp tục phát triển bình thường và các cá tái tạo từ dòng dị hợp tử *keap1*^{Δ107/+} tuân theo định luật Mendel, không có bất thường trong quá trình phát triển và sinh sản (hình 8B).



Hình 8. Knockout *keap1* không ảnh hưởng đến sự sinh trưởng và phát triển của cá ngựa vằn. (A) Cá ngựa vằn được knockout *keap1*^{Δ107} sống sót tương tự như cá hoang dã (WT) ở thế hệ F2. Hình cá ở giai đoạn 3 tháng tuổi; (B) Cá thế hệ F2 sinh sản và phát triển bình thường theo định luật Mendel sau khi cho lai 2 dòng dị hợp tử của mỗi dòng cá *keap1*^{Δ107/+} với nhau.



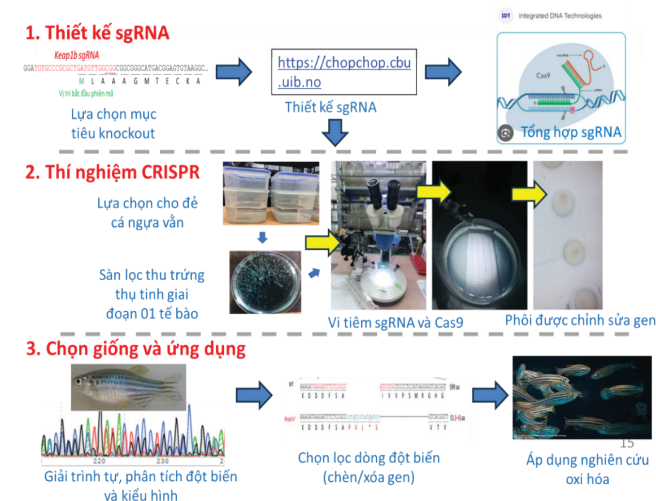
Hình 9. Dòng cá *keap1*^{Δ107} tăng khả năng kháng oxy hóa và biểu hiện gen mục tiêu của Nrf2. (A) Biểu đồ đánh giá tỷ lệ sống khi phơi nhiễm với dòng cá ngựa vằn *keap1*^{Δ107}; (B) Biểu hiện gen mục tiêu của Nrf2 với gen *gstp1* và (C) *prdx1*; (D) Mô tả dòng cá *keap1*^{Δ107} tăng cường hoạt hóa Nrf2 để kháng oxy hóa.

Để đánh giá khả năng sống sót của cá knockout khi tiếp xúc với stress oxy hóa, đàn cá F2 được nuôi lớn và thử nghiệm. Kết quả cho thấy, cá đồng hợp tử knockout có tỷ lệ sống cao hơn cá dị hợp tử và cá hoang dã khi tiếp xúc với H_2O_2 (hình 9A). Điều này có thể liên quan đến việc hoạt hóa gen mục tiêu của Nrf2 (hình 9B và 9C), giúp cá chống lại stress oxy hóa (hình 9D).

Nghiên cứu này chứng minh rằng, việc knockout gen *keap1a* làm tăng khả năng sinh lý của cá ngựa vằn khi đối mặt với stress oxy hóa, mở ra hướng nghiên cứu mới về vai trò của gen này trong đáp ứng oxy hóa.

4. Bàn luận

Nghiên cứu này đã thành công trong việc sử dụng công nghệ CRISPR-Cas9 để tạo ra dòng cá ngựa vằn knockout gen *keap1a* (hình 10). Quy trình bao gồm các bước chính: thiết kế gRNA, tổng hợp gRNA và Cas9 mRNA, vi tiêm vào phôi cá ngựa vằn một tế bào, nuôi phôi và cuối cùng là xác định kiểu gen của cá thể biến đổi gen. Mỗi bước trong quy trình đều được tối ưu hóa để đạt hiệu quả cao nhất. Ví dụ, chúng tôi đã lựa chọn gRNA có hiệu suất cắt cao và sử dụng kỹ thuật vi tiêm chính xác để đảm bảo đưa thành công phức hợp CRISPR/Cas9 vào phôi. Sử dụng kỹ thuật vi tiêm phức hợp ribonucleoprotein (RNP) vào phôi cá một tế bào, một kỹ thuật đã được chứng minh là có hiệu quả cao trong việc tạo đột biến gen mục tiêu ở cá ngựa vằn và các loài khác [22-25].



Hình 10. Quy trình knockout gen *keap1a* ở cá ngựa vằn.

Các thông số đánh giá và hiệu quả cho thấy, quy trình được đánh giá thông qua tỷ lệ phôi biến đổi gen thành công và tỷ lệ cá thể mang đột biến ở gen đích. Kết quả cho thấy, chúng tôi đã đạt được tỷ lệ phôi biến đổi gen lên đến 80% và tỷ lệ cá thể F0 mang đột biến là 50% (hình 6A). Đây là những con số đáng khích lệ, chứng tỏ quy trình knockout gen *keap1a* của chúng tôi có tính khả thi và hiệu quả. Ngoài ra, chúng tôi cũng đã phân tích trình tự gen của các cá thể biến đổi gen để xác nhận sự xuất hiện của đột biến trên gen *keap1a*. Kết quả giải trình tự cho thấy, đột biến đã xảy ra đúng vị trí đích trên gen (hình 7B), chứng tỏ tính đặc hiệu cao của hệ thống CRISPR/Cas9.

Một điểm đáng chú ý là cá ngựa vằn knockout *keap1a* trong nghiên cứu này không hề biểu hiện bất kỳ dấu hiệu bất thường hoặc tử vong nào, ngay cả khi chúng mang đột biến đồng hợp tử. Điều này khác biệt hoàn toàn so với những gì đã được quan sát ở chuột knockout *keap1*, thường chết sau 15 ngày tuổi [21]. Sự khác biệt này có thể xuất phát từ sự khác nhau về cấu trúc và chức năng của hệ thống Keap1-Nrf2 giữa các loài, hoặc do cá ngựa vằn có các cơ chế bù trừ khác giúp duy trì cân bằng oxy hóa ngay cả khi *keap1a* bị bất hoạt.

Một kết quả quan trọng khác của nghiên cứu là cá ngựa vằn knockout *keap1a* cho thấy khả năng chống chịu stress oxy hóa tốt hơn so với cá hoang dã. Điều này củng cố giả thuyết rằng việc loại bỏ *keap1a* sẽ dẫn đến sự hoạt hóa liên tục của Nrf2 [26], từ đó kích hoạt các gen chống oxy hóa và bảo vệ tế bào khỏi stress oxy hóa [8]. Kết quả này mở ra tiềm năng ứng dụng công nghệ CRISPR-Cas9 để tạo ra các dòng cá nuôi có khả năng chống chịu stress oxy hóa cao hơn, qua đó nâng cao năng suất và chất lượng cho ngành nuôi trồng thủy sản.

Tuy nhiên, cần lưu ý rằng nghiên cứu này mới chỉ tập trung vào việc đánh giá khả năng chống chịu stress oxy hóa cấp tính ở cá knockout *keap1a*. Cần có thêm các nghiên cứu sâu hơn để xem xét ảnh hưởng lâu dài của việc knockout *keap1a* đến sức khỏe, sự tăng trưởng và khả năng sinh sản của cá, để có thể đánh giá toàn diện tiềm năng ứng dụng của công nghệ này trong nuôi trồng thủy sản. Bên cạnh đó, việc nghiên cứu chi tiết các cơ chế phân tử liên quan đến sự hoạt hóa Nrf2 và biểu hiện của các gen chống oxy hóa ở cá knockout *keap1a* cũng sẽ cung cấp những hiểu biết sâu sắc hơn về vai trò của hệ thống Keap1-Nrf2 trong việc duy trì cân bằng oxy hóa và đáp ứng với stress oxy hóa ở cá.

Những kết quả này cho thấy, quy trình knockout gen *keap1a* mà chúng tôi phát triển có thể được áp dụng để nghiên cứu chức năng của gen này trong các nghiên cứu tiếp theo. Hơn nữa, quy trình này cũng có thể được điều chỉnh và sử dụng để knockout các gen khác trên cá ngựa vằn, mở ra nhiều cơ hội nghiên cứu mới trong lĩnh vực sinh học phát triển và y sinh học. Trong tương lai, chúng tôi sẽ tiếp tục cải tiến quy trình này để nâng cao hiệu quả biến đổi gen và giảm thiểu các tác động không mong muốn. Đồng thời, chúng tôi cũng sẽ sử dụng các cá thể cá ngựa vằn knockout *keap1a* để nghiên cứu vai trò của gen này trong các quá trình sinh lý và bệnh lý khác nhau.

Tóm lại, nghiên cứu này đã thành công trong việc sử dụng công nghệ CRISPR-Cas9 để tạo ra dòng cá ngựa vằn knockout *keap1a* (hình 10) và chứng minh khả năng chống chịu stress oxy hóa cao hơn của chúng. Đây là một bước tiến quan trọng, mở ra cánh cửa cho việc ứng dụng công nghệ CRISPR-Cas9 vào nghiên cứu cơ bản và ứng dụng tại Việt Nam, đặc biệt là trong lĩnh vực nuôi trồng thủy sản. Mặc dù vậy, các nghiên cứu sâu hơn về ảnh hưởng của việc knockout *keap1a* đến cá ngựa vằn vẫn là cần thiết để khai thác hết tiềm năng của công nghệ này, mở ra những hướng nghiên cứu và ứng dụng mới trong tương lai.

5. Kết luận

Nghiên cứu này đã thành công thiết lập quy trình knockout gen *keap1a* trên cá ngựa vằn sử dụng công nghệ CRISPR-Cas9, đánh dấu một bước tiến quan trọng trong việc ứng dụng công nghệ chỉnh sửa gen tại Việt Nam. Cá ngựa vằn knockout *keap1a* không chỉ phát triển và sinh sản bình thường mà còn thể hiện khả năng chống chịu stress oxy hóa vượt trội, mở ra tiềm năng ứng dụng to lớn trong việc tạo ra các dòng cá nuôi có khả năng chống chịu stress và nâng cao chất lượng sản phẩm trong ngành nuôi trồng thủy sản. Nghiên cứu này không chỉ cung cấp một công cụ mạnh mẽ cho nghiên cứu chức năng gen mà còn đặt nền tảng cho việc phát triển các ứng dụng công nghệ sinh học tiên tiến trong tương lai. Tuy nhiên, cần tiếp tục nghiên cứu sâu hơn để đánh giá toàn diện ảnh hưởng của việc knockout *keap1a* cũng như khai thác tối đa tiềm năng của công nghệ CRISPR-Cas9 trong lĩnh vực nuôi trồng thủy sản.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu được tài trợ bởi Quỹ Phát triển Khoa học và Công nghệ Quốc gia (NAFOSTED) qua đề tài mã số 108.06-2020.19. Các tác giả trân trọng cảm ơn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

[1] S. Scholz, S. Fischer, U. Gündel, et al. (2008), "The zebrafish embryo model in environmental risk assessment - applications beyond acute toxicity testing", *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.*, **15**(5), pp.394-404, DOI: 10.1007/s11356-008-0018-z.

[2] K.I. Adamson, E. Sheridan, A.J. Grierson (2008), "Use of zebrafish models to investigate rare human disease", *J. Med. Genet.*, **55**(10), pp.641-654, DOI: 10.1136/jmedgenet-2018-105358.

[3] V.T. Nguyen, L. Bian, J. Tamaoki, et al. (2020), "Generation and characterisation of *keap1a*- and *keap1b*-knockout zebrafish", *Redox Biol.*, **36**, DOI: 10.1016/j.redox.2020.101667.

[4] L. Li, M. Kobayashi, H. Kaneko, et al. (2008), "Molecular evolution of Keap1: Two Keap1 molecules with distinctive intervening region structures are conserved among fish", *Journal of Biological Chemistry*, **283**(6), pp.3248-3255, DOI: 10.1074/jbc.M708702200.

[5] V.T. Nguyen, L. Bian, J. Tamaoki, et al. (2023), "Genetic hyperactivation of Nrf2 causes larval lethality in *Keap1a* and *Keap1b*-double-knockout zebrafish", *Redox Biol.*, **62**, DOI: 10.1016/j.redox.2023.102673.

[6] T. Suzuki, J. Takahashi, M. Yamamoto (2023), "Molecular basis of the KEAP1-NRF2 signaling pathway", *Mol. Cells*, **46**(3), pp.133-141, DOI: 10.14348/molcells.2023.0028.

[7] K. Mukaigasa, T. Tsujita, V.T. Nguyen, et al. (2018), "Nrf2 activation attenuates genetic endoplasmic reticulum stress induced by a mutation in the phosphomannomutase 2 gene in zebrafish", *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **115**(11), pp.2758-2763, DOI: 10.1073/pnas.1714056115.

[8] V.T. Nguyen, Y. Fuse, J. Tamaoki, et al. (2016), "Conservation of the Nrf2-mediated gene regulation of proteasome subunits and glucose metabolism in zebrafish", *Oxid. Med. Cell Longev.*, **2016**(1), pp.1-10, DOI: 10.1155/2016/5720574.

[9] S. Ota, Y. Hisano, Y. Ikawa, et al. (2014), "Multiple genome modifications by the CRISPR/Cas9 system in zebrafish", *Genes to Cells*, **19**(7), pp.555-564, DOI: 10.1111/gtc.12154.

[10] A. Hruscha, P. Krawitz, A. Rechenberg, et al. (2013), "Efficient CRISPR/Cas9 genome editing with low off-target effects in zebrafish", *Development*, **140**(24), pp.4982-4987, DOI: 10.1242/dev.099085.

[11] M. Jinek, K. Chylinski, I. Fonfara, et al. (2012), "A programmable dual-RNA-guided DNA endonuclease in adaptive bacterial immunity", *Science*, **6096**(337), pp.816-821, DOI: 10.1126/science.1225829.

[12] M. Zhu, S.L. Sumana, M.M. Abdullateef, et al. (2024), "CRISPR/Cas9 technology for enhancing desirable traits of fish species in aquaculture", *Int. J. Mol. Sci.*, **25**(17), DOI: 10.3390/ijms25179299.

[13] S. Roy, V. Kumar, B.K. Behera, et al. (2022), "CRISPR/Cas genome editing - can it become a game changer in future fisheries sector?", *Front. Mar. Sci.*, **9**, DOI: 10.3389/fmars.2022.924475.

[14] Z. Yang, G. Fu, M. Lee, et al. (2024), "Genes for editing to improve economic traits in aquaculture fish species", *Aquac. Fish.*, **10**(1), DOI: 10.1016/j.aaf.2024.05.005.

[15] V.T. Nguyen, B.H. Loc, V.N.H. Thuy, et al. (2022a), "Expression of red fluorescent protein (RFP) in transgenic angelfish (*Pterophyllum scalare* Schultze, 1823)", *J. Fish. Environ.*, **46**(3), pp.72-83.

[16] V.N.H. Thuy, T.M.N. Thanh, B.N. Quoc, et al. (2021), "Generation of transgenic medaka *Oryzias latipes* (Nichols & Pope, 1927) carrying a cyan fluorescent protein gene driven by alpha actin promoter", *Asian Fish. Sci.*, **34**(1), pp.56-62, DOI: 10.33997/j.afs.2021.34.1.006.

[17] V.T. Nguyen, T.T.T. Nguyen, N.P. Phi, et al. (2022b), "Keap1/Nrf2-independent antioxidative activity of *Phyllanthus amarus* extract in zebrafish", *Vietnam Journal of Biotechnology*, **20**(4), pp.653-661, DOI: 10.15625/1811-4989/17475.

[18] D. Bhattacharya, E.G.V. Meir (2019), "A simple genotyping method to detect small CRISPR-Cas9 induced indels by agarose gel electrophoresis", *Sci. Rep.*, **9**(1), DOI: 10.1038/s41598-019-39950-4.

[19] V.T. Nguyen, V.T.M. Thao, L.L.P. Hanh, et al. (2024), "Exploring the phytochemical diversity and antioxidant potential of the Vietnamese *Smilax glabra* Roxb: Insights from UPLC-QTOF-MS/MS and zebrafish model studies", *Appl. Biochem. Biotechnol.*, pp.1-18, DOI: 10.1007/s12010-024-04930-6.

[20] Y. Fuse, V.T. Nguyen, M. Kobayashi (2016), "Nrf2-dependent protection against acute sodium arsenite toxicity in zebrafish", *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **305**, pp.136-142, DOI: 10.1016/j.taap.2016.06.012.

[21] N. Wakabayashi, K. Itoh, J. Wakabayashi, et al. (2023), "Keap1-null mutation leads to postnatal lethality due to constitutive Nrf2 activation", *Nat. Genet.*, **35**(3), pp.238-245, DOI: 10.1038/ng1248.

[22] S. Lebedeva, A.M.J. Domingues, F. Butter, et al. (2017), "Characterization of genetic loss-of-function of Fus in zebrafish", *RNA Biol.*, **14**(1), pp.29-35, DOI: 10.1080/15476286.2016.1256532.

[23] H. Kotani, K. Taimatsu, R. Ohga, et al. (2015), "Efficient multiple genome modifications induced by the crRNAs, tracrRNA and Cas9 protein complex in zebrafish", *PLOS ONE*, **10**(5), DOI: 10.1371/journal.pone.0128319.

[24] A. Rossi, Z. Kontarakis, C. Gerri, et al. (2015), "Genetic compensation induced by deleterious mutations but not gene knockdowns", *Nature*, **7564**(524), pp.230-233, DOI: 10.1038/nature14580.

[25] M. Ohama, Y. Washio, K. Kishimoto, et al. (2020), "Growth performance of myostatin knockout red sea bream *Pagrus major* juveniles produced by genome editing with CRISPR/Cas9", *Aquaculture*, **529**, DOI: 10.1016/j.aquaculture.2020.735672.

[26] L. Bian, V.T. Nguyen, J. Tamaoki, et al. (2023), "Genetic hyperactivation of Nrf2 causes larval lethality in *Keap1a* and *Keap1b*-double-knockout zebrafish", *Redox Biol.*, **62**, DOI: 10.1016/j.redox.2023.102673.

Thử nghiệm thuật toán tìm đường đi tối ưu cho hệ thống robot di động vận chuyển hàng trong kho tự động

Nguyễn Chính Kiên^{1*}, Nguyễn Thị Hồng Hạnh¹, Trương Xuân Hùng²

¹*Viện Cơ học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, 18 Hoàng Quốc Việt, phường Nghĩa Đô, Hà Nội, Việt Nam*

²*Trung tâm Vũ trụ Việt Nam, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, 18 Hoàng Quốc Việt, phường Nghĩa Đô, Hà Nội, Việt Nam*

Ngày nhận bài 9/12/2024; ngày chuyển phản biện 10/12/2024; ngày nhận phản biện 30/12/2024; ngày chấp nhận đăng 5/1/2025

Tóm tắt:

Robot di động ngày càng được sử dụng phổ biến để vận chuyển hàng hóa trong kho hàng tự động. Nghiên cứu này trình bày việc áp dụng thử nghiệm thuật toán tìm đường đi tối ưu cho hệ thống robot di động vận chuyển hàng. Thuật toán được xây dựng và kiểm tra bằng mô hình giả lập, sau đó được áp dụng thử nghiệm để điều khiển hệ thống robot trong ba sơ đồ kho hàng thực tế theo thứ tự tăng dần về mức độ chi tiết, phức tạp do nhóm tác giả thiết lập. Một số cải tiến thuật toán đã được nghiên cứu khi gặp các vấn đề trong thực tế: quy tắc chiều đường đi, quy tắc ưu tiên thứ tự tại giao điểm, quy tắc chờ tại các điểm thắt nút (cửa kho). Trong quá trình thực nghiệm, robot vật lý chạy thực tế và cập nhật lộ trình di chuyển theo thời gian thực trên giao diện chương trình máy tính cho kết quả xử lý tốt với thời gian xử lý nhanh và quỹ đạo đã được kiểm chứng là đạt mức độ tối ưu vận hành, hoạt động ổn định với nhiều kịch bản nhiệm vụ. Kết quả này giúp cho những nhà nghiên cứu, nhà quản lý kho hàng có thể định hướng xây dựng mô hình phù hợp, tùy biến theo các điều kiện thực tiễn.

Từ khóa: robot di động, thuật toán A*, thuật toán Dijkstra, tối ưu quãng đường, xe tự hành.

Chỉ số phân loại: 1.8, 2.2

Experimenting with algorithms to find optimal paths for a mobile robot system transporting goods in an automated warehouse

Chinh Kien Nguyen^{1*}, Thi Hong Hanh Nguyen¹, Xuan Hung Truong²

¹*Institute of Mechanics, Vietnam Academy of Science and Technology, 18 Hoang Quoc Viet Street, Nghia Do Ward, Hanoi, Vietnam*

²*Vietnam National Space Center, Vietnam Academy of Science and Technology, 18 Hoang Quoc Viet Street, Nghia Do Ward, Hanoi, Vietnam*

Received 9 December 2024; revised 30 December 2024; accepted 5 January 2025

Abstract:

Mobile robots are increasingly being used for goods transportation in automated warehouses. The study presents the experimental application of a routing algorithm to find the optimal paths for a mobile robot system transporting goods. The algorithms were first developed and tested in a simulation model, then experimentally applied to control the robot system in three warehouse layouts with increasing levels of detail and complexity, as designed by the research team. Several algorithmic improvements were studied to address practical issues, including path direction rules, priority at intersections, waiting rules at choke points (warehouse doors). During the experiments, the physical robot operated under real-world conditions and updated its movement trajectory in real-time on the computer program interface, which shows the efficient processing results with fast computation times, while the verified trajectory achieved an optimal level of operational performance and stable operation across multiple task scenarios. These results provide researchers and warehouse managers with insights to design and customise models according to practical conditions.

Keywords: A* algorithm, automated guided vehicle, Dijkstra algorithm, mobile robot, optimal path.

Classification numbers: 1.8, 2.2

*Tác giả liên hệ: Email: nckien@imech.vast.vn

1. Tổng quan

Ngày nay, trong kho hàng tự động, các robot tự hành phải thực hiện một lượng lớn hành trình vận chuyển hàng hóa trong một thời gian ngắn. Việc đưa ra lịch trình di chuyển của robot hợp lý để giảm chi phí vận hành thiết bị và thời gian chờ đợi là rất quan trọng. Vì vậy, việc nghiên cứu cách thức để đưa ra kế hoạch, phương pháp định tuyến tối ưu bằng chương trình máy tính là cần thiết.

Bài toán định tuyến này hướng tới việc thiết lập hành trình cho các robot trong kho mang các giá kệ hàng ra cửa kho và đưa chúng quay trở lại vị trí ban đầu để mà không vượt quá năng lực của mỗi robot với chi phí là nhỏ nhất. Bài toán định tuyến được đánh giá là một trong những thách thức lớn nhất trong lĩnh vực Vận trù học suốt 50 năm qua. Đây là một bài toán thuộc nhóm NP - khó, đã có nhiều nghiên cứu được tiến hành nhằm đề xuất các phương pháp giải quyết khác nhau như: thuật toán di truyền, thuật toán sinh cột hoặc kỹ thuật nhánh cận để tìm lời giải tối ưu.

E. Eade và cs (2007) [1] đã nghiên cứu một hệ thống định vị trong môi trường có phạm vi hạn chế, theo phương pháp tiếp cận dựa trên một camera đơn lẻ, quy mô thử nghiệm được xây dựng thành các nút riêng biệt, kết nối với nhau thông qua một đồ thị lớn bằng cách áp dụng các kỹ thuật tối ưu hóa phi tuyến. F. Dellaert và cs (2006) [2], H. Strasdat và cs (2010) [3] đã sử dụng các kỹ thuật như Smoothing, Bundle Adjustment (BA) và Mapping (SAM) để theo dõi các đặc trưng qua từng khung hình trong chuỗi ảnh liên tiếp.

Nghiên cứu của B. Williams (2009) [4] đã thực hiện nghiên cứu đánh giá tầm quan trọng của thủ tục vòng lặp đóng, giúp kiểm tra xem các vị trí trong hệ thống SLAM sử dụng một camera đơn lẻ (Monocular SLAM) đã được nhận diện hay chưa. Phương pháp này được sử dụng cho các bài toán định vị sử dụng hình ảnh và sử dụng ba phương pháp đối sánh ảnh là: Map-to-Map [5], Image-to-Map [6] và Image-to-Image [7, 8]. Thử nghiệm được tiến hành trong môi trường trong nhà, ngoài trời, với quỹ đạo di chuyển là một vòng đơn và nhiều vòng. Kết quả cho thấy, đối sánh Image-to-Image đạt hiệu suất cao nhất, trong khi Map-to-Map và Image-to-Map có hiệu quả thấp hơn.

S. Perera và cs (2011) [9] đã phát triển một thuật toán giám sát nhằm theo dõi các đối tượng chuyển động trong môi trường. Thuật toán này giải quyết vấn đề nhận diện các điểm chuyển động từ một camera đang di chuyển, dựa trên các ràng buộc epipolar và thông tin được thu thập từ thuật toán monoSLAM. Tuy nhiên, để thiết lập ngưỡng phân loại chính xác cho các điểm chuyển động, cần thực hiện nhiều thử nghiệm, phụ thuộc vào số lượng và phân bố của các điểm chuyển động được phát hiện trong môi trường nghiên cứu.

R. Ozawa và cs (2005) [10] đã phát triển một hệ thống trực tuyến nhằm tái tạo bản đồ 3D thông qua kỹ thuật đo hành trình dựa trên dữ liệu thị giác (visual odometry). Hệ thống này bao gồm 2 thành phần: thành phần đầu tiên xử lý việc tạo dựng

bản đồ 3D từ chuỗi hình ảnh thu được từ camera-stereo, giúp mô tả chi tiết môi trường thực tế và hỗ trợ việc lập kế hoạch di chuyển cho robot trên bản đồ đã được tái tạo; thành phần thứ hai đo hành trình thị giác nhằm kết nối các khung hình 3D liên tiếp để xác định mô hình chuyển động của camera theo phương pháp sáu bậc tự do (6DOF) cùng với thông tin về môi trường 3D. Các kỹ thuật sử dụng bao gồm: tính toán độ sâu của hình ảnh, ước lượng chuyển động camera theo mô hình 6DOF bằng kỹ thuật RANSAC [11]. Ngoài ra, dữ liệu kết quả từ bản đồ 3D được sử dụng để lập kế hoạch di chuyển cho robot bằng cách kết hợp các điểm dự đoán cho những bước di chuyển tiếp theo. P. Michel và cs (2007) [12] đã đề xuất một phương pháp thời gian thực trên GPU để hỗ trợ robot di chuyển và leo cầu thang trong không gian 3D, dựa trên chuỗi hình ảnh thu được từ camera-stereo. Tuy nhiên, phương pháp này có giới hạn nhất định là sự lệ thuộc với đối tượng 3D cần theo dõi và mô hình 3D có kích thước nhỏ, nhưng nó đặc biệt hiệu quả trong các tình huống cụ thể như leo cầu thang.

Trong nghiên cứu của H.T. Tran và cs (2022) [13], phương pháp Gradient cùng bộ điều khiển mờ Takagi-Sugeno đã được sử dụng để tối ưu hóa các tham số, nhằm điều chỉnh quá trình điều hướng và tránh chướng ngại vật cho robot di động. Kiến trúc điều khiển mờ này mô phỏng hành vi của robot trong môi trường chưa biết, ở đây bao gồm các hành vi như tìm kiếm mục tiêu và tránh vật cản, theo dõi robot. Robot di động bánh xe có trang bị bộ điều khiển logic mờ được thực hiện trên vi điều khiển Atmega, với dữ liệu đầu vào từ các cảm biến kiểm soát động cơ bên trái và bên phải. Ngoài ra, việc sử dụng bộ điều khiển mờ kết hợp với thuật toán di truyền đã được triển khai cho một nhóm robot tự hành trong nhà. Trong đó, bộ điều khiển mờ hỗ trợ một robot ban đầu, sau đó thuật toán di truyền tối ưu hóa chức năng điều khiển khi di chuyển trong các môi trường phức tạp.

Q. Liu và cs (2006) [14] trong nghiên cứu của mình đã sử dụng thuật toán di truyền để điều khiển robot tự hành (AMR), kết hợp dữ liệu từ cảm biến siêu âm nhằm xác định các thông số môi trường và lập kế hoạch đường đi. So sánh giữa hai loại mô hình mờ Takagi-Sugeno và Mamdani cho thấy, mô hình Mamdani mang lại sự vận hành mượt mà hơn, trong khi Takagi-Sugeno lại tiêu thụ ít tài nguyên bộ nhớ hơn, phù hợp khi sử dụng với các vi điều khiển trong thời gian thực.

Nhiều nghiên cứu kết hợp thuật toán logic mờ với các phương pháp tính toán từ phần mềm, bao gồm thuật toán di truyền, mạng nơ-ron nhân tạo và tối ưu hóa bầy đàn hạt, nhằm tối ưu hóa các tham số trong bộ điều khiển mờ và cải thiện được hiệu suất điều hướng cho robot di động [15]. Các hành vi logic mờ cơ bản được thiết kế trong các nghiên cứu này bao gồm: di chuyển theo mục tiêu và tránh các chướng ngại vật. Kết hợp các thuật toán này, robot có thể lập kế hoạch đường đi hiệu quả trong môi trường có các chướng ngại vật động. Thuật toán di truyền và mạng nơ-ron cũng đã được áp dụng để cải thiện khả năng điều hướng của robot. Các thuật toán tiên tiến được thiết kế nhằm tối ưu hóa tham số đầu vào và hiệu quả hoạt

động của bộ điều khiển mờ, nâng cao hiệu suất trong các môi trường phức tạp. Hành vi tránh vật cản được điều chỉnh nhờ dữ liệu từ cảm biến phạm vi để xác định khoảng cách tới chướng ngại vật gần nhất, trong khi hành vi tìm kiếm mục tiêu dựa vào cảm biến la bàn để xác định hướng di chuyển chính xác. Trong nghiên cứu của M. Faisal và cs (2013) [16], thuật toán di truyền mờ (GA-FL) được áp dụng để giải quyết bài toán lập kế hoạch chuyển động trong môi trường động. Nghiên cứu sử dụng các cảm biến không dây để hỗ trợ robot di chuyển trong các môi trường chứa cả chướng ngại vật tĩnh và động. Hai bộ điều khiển mờ được thiết kế, bao gồm điều khiển theo dõi logic mờ (TFLC) và điều khiển tránh vật cản logic mờ (AFLC) để đảm bảo robot có thể tìm kiếm đường đi tối ưu từ điểm xuất phát tới mục tiêu trong nhiều tình huống vận hành khác nhau. Ngoài ra, nghiên cứu cũng đề xuất phương pháp lập kế hoạch đường đi trực tuyến theo nguồn dữ liệu thu được từ cảm biến trong môi trường động. Các bộ điều khiển mờ được thiết kế để hoạt động trong thời gian thực sử dụng vi mạch (FPGA) có thể lập trình lại. Các luật mờ thực hiện trong nghiên cứu này được xây dựng nhằm mô phỏng hành vi lái xe của con người và đã được kiểm chứng thông qua các hệ thống tác nhân. Trong đó, robot có khả năng tự học hỏi và điều hướng hiệu quả ngay cả trong các môi trường phức tạp và không chắc chắn.

H. Xiao và cs (2007) [17] đã kết hợp các lớp mạng nơ-ron nhân tạo để tạo kho dữ liệu đầu vào nhân tạo. Đồng thời, phương pháp học tăng cường Q được sử dụng để phát triển thuật toán lập kế hoạch đường đi cho robot di động. Hệ thống này điều khiển tốc độ động cơ DC của robot qua vi điều khiển Arduino Uno, với sự hỗ trợ của nhiều lớp nơ-ron. Với bộ điều khiển mạng nơ-ron và PID được xây dựng và thử nghiệm trên các robot có mang hộp số tự động. Một số tác giả khác đã sử dụng mạng nơ-ron để tạo ra các đường đi dẫn tránh va chạm trong môi trường không xác định, đặc biệt là trong các tình huống yêu cầu khả năng lập kế hoạch trực tuyến khi robot hoạt động trong môi trường có chướng ngại vật không được biết trước.

Một số nghiên cứu khác đã phân tích các hành vi tránh chướng ngại vật sử dụng kết hợp mạng nơ-ron và học tăng cường. Trong nghiên cứu, C.T. Vo và cs (2021) [18] đã phát triển bộ điều khiển mạng nơ-ron chuyển tiếp sử dụng nguồn cấp dữ liệu đa lớp, để tự động điều khiển hướng lái của robot trong các môi trường tĩnh và động. Mạng nơ-ron này có bốn lớp đầu vào dựa trên khoảng cách đi tới chướng ngại vật và đầu ra là góc lái của các robot. Tuy vậy, ở môi trường năng động và không có cấu trúc, xác định đường dẫn phù hợp để giảm thiểu va chạm trở nên phức tạp hơn đáng kể.

Nghiên cứu của S.X. Yang và cs (2003) [19] đã giới thiệu giải pháp nhằm lập kế hoạch đường đi cho robot di động và bản địa hóa cho robot di động bằng cách sử dụng mạng thần kinh nhân tạo hồi quy (RNN). Nghiên cứu áp dụng hai bộ điều khiển mạng thần kinh cho mục tiêu lập kế hoạch và không chế đường

dẫn: một bộ điều khiển hỗ trợ robot phát hiện các khoảng trống trong không gian. Bộ điều khiển thứ hai giúp huấn luyện robot nhằm tránh chướng ngại vật. Hệ thống dùng cảm biến tầm nhìn loại Kohonen, được thiết kế chuyên dụng cho việc điều hướng robot thông minh.

Trong nghiên cứu của A. Zhu và cs (2007) [20], tác giả đã đề xuất một phương pháp nhằm điều hướng dựa trên lý thuyết của điều khiển mờ, tận dụng phản ứng của các robot ở trong môi trường không xác định. Hệ thống này sử dụng 48 luật mờ để điều khiển hai hành vi chính: tìm kiếm mục tiêu và tránh chướng ngại vật. Các thông số chức năng của mạng nơ-ron được điều chỉnh để cải thiện khả năng học tập của robot, giúp rút ngắn đường đi từ điểm xuất phát đến đích. Cảm biến siêu âm cung cấp dữ liệu về các chướng ngại vật xung quanh, làm đầu vào cho bộ điều khiển mờ, đầu ra của bộ điều khiển sẽ kiểm soát tốc độ của hai bánh xe trái, phải. Trong mô hình này, bộ điều khiển mờ và mạng nơ-ron nhân tạo sử dụng hàm cơ sở xuyên tâm để kiểm soát vận tốc và điều chỉnh sự biến đổi môi trường.

S.U. Deshpande và cs (2013) [21] đã xây dựng một mạng nơ-ron mờ dựa trên kinh nghiệm, sử dụng dữ liệu từ cảm biến siêu âm để xác định tốc độ của robot. Nghiên cứu áp dụng 16 quy tắc mờ để kiểm soát hướng di chuyển của robot, với hai hệ thống chính là hệ thống thần kinh mờ thích ứng (ANFIS) và hệ thống thần kinh mờ lai. Bộ điều khiển mờ này dựa vào dữ liệu từ cảm biến giúp robot di chuyển an toàn trong môi trường trong nhà. Nghiên cứu cũng chỉ ra rằng, sự kết hợp giữa mạng nơ-ron và bộ điều khiển mờ có thể nâng cao hiệu quả trong việc điều hướng, kiểm soát hướng đi của robot.

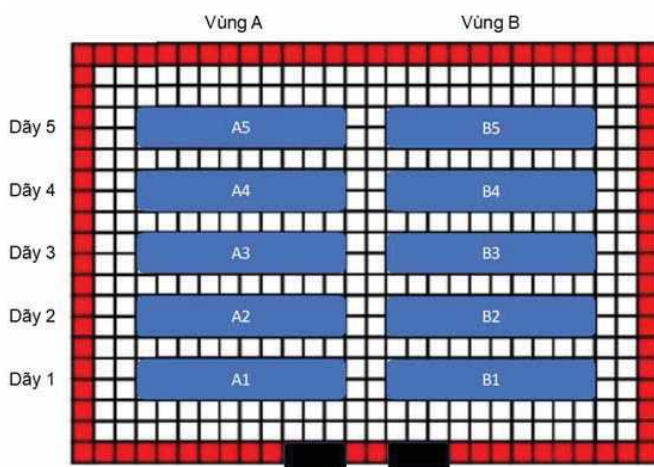
Nghiên cứu của M. Gao và cs (2007) [22] đã phát triển một hệ thống tối ưu cho bộ điều khiển logic mờ, nhằm hỗ trợ robot di động trong việc điều hướng và tránh vật cản. Phương pháp tối ưu này kết hợp thuật toán di truyền với thuật toán ủ mô phỏng (Simulated annealing algorithm - SAA). Thuật toán ủ mô phỏng và bộ điều khiển thông minh được thiết kế để robot xác định lộ trình tối ưu trong môi trường phức tạp. Ngoài ra, việc tích hợp thuật toán ủ mô phỏng với tối ưu hóa đàn kiến (ACO) đã cải thiện đáng kể tốc độ điều hướng của robot, trong khi việc kết hợp thuật toán ủ mô phỏng và mạng nơ-ron lại giúp cải thiện về tốc độ hội tụ.

Bên cạnh đó, nhiều nghiên cứu khác cũng đề xuất giải pháp xây dựng kế hoạch điều hướng dành cho robot di động thông qua việc ứng dụng thuật toán ACO và thuật toán Dijkstra [23]. Thuật toán ACO được sử dụng để tìm kiếm các giá trị tối ưu được lấy từ bảng luật mờ, nhằm giảm khoảng cách di chuyển từ điểm xuất phát đến điểm đích của robot, đồng thời hỗ trợ robot hiệu quả trong việc tránh chướng ngại vật. Các cải tiến từ ACO không chỉ tối ưu hóa tốc độ tìm đường của robot di động mà đáp ứng linh hoạt các hành vi như tìm kiếm mục tiêu và tránh vật cản.

Ở Việt Nam, bài toán này cũng được nghiên cứu sâu rộng từ lý thuyết đến ứng dụng vào thực tế bởi các tổ chức nghiên cứu, trường đại học cũng như các công ty logistics. Nhóm các nhà nghiên cứu của Học viện Kỹ thuật Quân sự đã chế tạo thành công hệ thống robot y tế vận chuyển Vibot vào năm 2023 [24], tuy nhiên, vẫn tồn tại một số thách thức trong việc phát triển các hệ thống này, bao gồm: Độ chính xác của các hệ thống định vị và dẫn đường, độ tin cậy và độ bền của các cảm biến, phải đảm bảo hệ thống có thể hoạt động ổn định trong môi trường thay đổi và không đồng nhất. Bên cạnh đó, việc tích hợp các cảm biến và xây dựng hệ thống truyền thông cho phép quan sát mục tiêu từ xa thông qua hệ thống camera được trang bị trên robot ở chế độ thời gian thực cũng là một thách thức trong lĩnh vực nghiên cứu.

N.K. Nguyen và cs (2023) [25] đã xây dựng thuật toán định tuyến mới dựa trên cơ sở giải thuật Dijkstra áp dụng cho các robot tự hành trong hệ thống chia chọn bưu phẩm, bưu kiện. Đặc biệt, thuật toán chú trọng tới các yếu tố thay đổi trong quá trình hoạt động của hệ thống, từ đó điều chỉnh một cách đồng bộ để mang lại quỹ đạo tối ưu cho từng robot, cũng như tối thiểu chi phí của toàn hệ thống và đã được áp dụng trong hệ thống kho của Viettel Post. Nghiên cứu này đã thiết lập quy tắc: Sau khi robot thứ nhất xác định đường đi, robot thứ hai coi các nút trên đường đi của robot 1 là vật cản và thay đổi trọng số để thuật toán xác định lại đường đi của robot 2 (tránh các nút đó), tiếp tục cho các robot sau nữa. Tuy nhiên, khi kho hàng nhỏ, có số lượng đường đi ít (tối ưu hóa không gian chứa hàng), đặc biệt là các quỹ đạo đường đi đều hướng ra cửa kho nên phương án xác định này là không phù hợp thực tế.

Trong nghiên cứu này, các tác giả thử nghiệm một số thuật toán cho bài toán hoạch định tuyến tối ưu của các robot tải hàng trong nhà kho. Các thuật toán sẽ được thử nghiệm với bài toán giả lập để đánh giá hiệu quả, sau đó sẽ được thử nghiệm trên mô hình nhà kho thật với một số điều kiện: chiều đi giữa các nút, trạng thái tải/không tải của robot, thứ tự xếp hàng chờ tại cửa kho... (hình 1).



Hình 1. Sơ đồ kho hàng.

2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

Sơ đồ mặt bằng của kho hàng được tổ chức thành một bản đồ, hình 1 minh họa một sơ đồ mặt bằng cụ thể. Theo đó, bản đồ có các thông tin về vị trí của giá để hàng hoá, được tập hợp thành dãy. Các dãy giá hàng được bố trí cách đều nhau, khoảng không gian giữa các dãy tạo thành con đường có thể di chuyển được. Thông qua tọa độ hóa vị trí trên bản đồ bằng cách gán giá trị định vị cho từng nút gắn trên sơ đồ mặt bằng. Khi đó, các con đường (được gọi là cạnh) kết nối các nút; mỗi nút có thể kết nối tới một hoặc nhiều cạnh. Giá thiết mỗi cạnh có tương ứng một giá trị chi phí, ví dụ độ dài hoặc thời gian cần thiết để di chuyển cạnh đó. Đối với những bản đồ có kích thước nhỏ và phương án bố trí giá hàng đơn giản, việc tính toán tất cả các tuyến đường có thể đến đích và lựa chọn tuyến đường ngắn nhất là khả thi. Tuy nhiên, khi kích thước của bản đồ tăng lên cùng với sự phức tạp trong phương án bố trí giá hàng làm cho quá trình tính toán cho bản đồ có số lượng nút lớn tăng theo cấp số nhân. Do đó, thuật toán tìm đường đi tối ưu được nghiên cứu để áp dụng trong thực tế cho những mặt bằng kho hàng loại này.

2.1. Thuật toán Dijkstra

Năm 1959, E.W. Dijkstra đã giới thiệu thuật toán Dijkstra, đây là một phương pháp để giải quyết bài toán tìm đường đi ngắn nhất từ nguồn đơn trong một đồ thị có hướng với điều kiện không có cạnh mang trọng số âm. Thuật toán hoạt động giá trị gần đúng bằng cách liên tục cập nhật khoảng cách chính xác hơn. Ban đầu, khoảng cách đến mỗi đỉnh được ước tính là giá trị lớn hơn thực tế. Qua mỗi bước, giá trị này được thay thế bằng giá trị nhỏ hơn nếu tìm được đường đi ngắn hơn.

Quy trình hoạt động của thuật toán Dijkstra bao gồm các bước duyệt qua các đỉnh của đồ thị lần lượt theo khoảng cách ngắn nhất từ đỉnh xuất phát, mở rộng từ đỉnh này đến các đỉnh kế tiếp theo có chi phí thấp nhất, đồng thời duy trì một bộ đường đi ngắn nhất tới các đỉnh đã xem xét.

Thuật toán sử dụng hàng đợi ưu tiên kết hợp với phương pháp tham lam để chọn đỉnh gần nhất chưa được xử lý, sau đó thực hiện quá trình giảm bớt trên tất cả các cạnh liên quan. Nguyên lý hoạt động của thuật toán bao gồm các bước sau [23]:

Khởi tạo: Đặt giá trị khoảng cách từ đỉnh xuất phát là 0; gán giá trị khoảng cách là $+\infty$ cho tất cả các đỉnh còn lại; tạo một tập hợp trống để lưu trữ các đỉnh đã được xử lý.

Lặp lại: Tìm đỉnh chưa được xử lý có khoảng cách là nhỏ nhất (đỉnh xuất phát ở bước đầu); cập nhật khoảng cách cho các đỉnh kề: nếu khoảng cách từ đỉnh hiện tại qua một cạnh đến đỉnh kề bé hơn khoảng cách đã biết, cập nhật lại giá trị khoảng cách này; đánh dấu ở đỉnh hiện tại là đã được xử lý.

Kết thúc: Quá trình tiếp tục được lặp lại cho đến khi tất cả các đỉnh đã được xử lý hoặc khi tìm được khoảng cách ngắn nhất đến đích; dựa vào nguyên lý hoạt động của thuật toán Dijkstra để tìm đường đi ngắn nhất từ đỉnh A đến các đỉnh

khác, các tác giả đã lập trình theo quy trình từng bước dựa trên nguyên lý hoạt động trên của thuật toán: từ nút bắt đầu, thêm tất cả các nút được kết nối vào hàng ưu tiên; sắp xếp hàng đợi ưu tiên theo chi phí thấp nhất và đặt nút đầu tiên làm nút hiện tại; đối với mỗi nút con, chọn nút tốt nhất dẫn đến con đường ngắn nhất để bắt đầu; khi tất cả các cạnh đã được tính từ một nút, nút đó gán đã duyệt và không cần phải đến đó nữa; thêm từng nút con được kết nối với nút hiện tại vào hàng ưu tiên; chuyển sang bước 2 cho đến khi hàng đợi trống; đệ quy tạo danh sách từng nút nút dẫn đường đi ngắn nhất từ đầu đến cuối; đảo ngược danh sách và bạn đã tìm thấy con đường ngắn nhất.

Nói cách khác, theo phương pháp đệ quy, đối với mỗi nút kế tiếp của một nút, thực hiện đo khoảng cách giữa chúng đến điểm bắt đầu, so sánh và lưu trữ khoảng cách cùng với nút tương ứng với con đường ngắn nhất. Khi đến nút cuối, đệ quy quay lại điểm xuất phát theo con đường ngắn nhất, đảo ngược danh sách đó và có được đường đi ngắn nhất.

2.2. Thuật toán A*

Kể từ khi thuật toán Dijkstra được công bố, nhiều giải pháp cải tiến thuật toán này đã được đề xuất và A* là một thuật toán phổ biến nhất. A* là một thuật toán tìm kiếm theo cơ chế heuristic, tức là nó sử dụng thông tin dự đoán để hướng dẫn quá trình tìm kiếm. Thuật toán này kết hợp giữa tìm kiếm theo chi phí thấp nhất (thuật toán Dijkstra) và tìm theo chiều sâu, giúp tìm ra đường đi ngắn nhất một cách nhanh chóng.

A* đã có một sửa đổi đơn giản, cụ thể là các cạnh cũng được ưu tiên dựa trên mức độ gần hơn của cạnh đó dẫn đến khoảng cách theo đường thẳng tới mục tiêu. Vì vậy, trước khi chạy tìm kiếm A*, khoảng cách đường thẳng đến đích cuối cùng phải được đo cho mọi nút, điều này thật dễ dàng nếu biết tọa độ của từng nút. Đây là dạng đơn giản nhất của A* và định nghĩa của nó cũng cho phép cải tiến chức năng phỏng đoán. Thuật toán này có lợi thế lớn về hiệu suất vì nó không cần phải truy cập nhiều nút khi biết hướng cuối cùng của đường dẫn.

A* hoạt động bằng cách mở rộng các nút (điểm) từ điểm bắt đầu đến điểm kết thúc dựa trên hàm đánh giá $f(n)$. Hàm này kết hợp giữa chi phí đi từ điểm bắt đầu đến điểm hiện tại ($g(n)$) và có chi phí ước lượng từ điểm hiện tại đến điểm đích ($h(n)$) như sau:

$$f(n) = g(n) + h(n)$$

trong đó: $g(n)$ là chi phí từ điểm bắt đầu đến điểm hiện tại; $h(n)$ là hàm heuristic cho ước lượng chi phí từ điểm hiện tại đến điểm đích.

Nguyên lý của thuật toán A* được mô tả như sau:

Khởi tạo: Đặt điểm bắt đầu vào danh sách mở (open list) và gán giá trị f ban đầu cho nó; đặt danh sách đóng (closed list) rỗng.

Lặp lại: Chọn nút trong danh sách mở có giá trị f nhỏ nhất và di chuyển nó sang danh sách đóng; nếu nút này là điểm đích, thì đường đi ngắn nhất đã được tìm thấy.

Nếu không, đối với mỗi nút kề cận: Tính giá trị g và f cho nút kề; nếu nút này chưa có trong danh sách mở hoặc có giá trị f nhỏ hơn giá trị hiện tại trong danh sách mở, thì cập nhật giá trị và đặt nút này vào danh sách mở.

Kết thúc: Lặp lại quá trình cho đến khi tìm thấy điểm đích hoặc danh sách mở rỗng (đường đi không tồn tại).

Các tác giả đã lập trình theo quy trình dựa trên nguyên lý hoạt động trên của thuật toán A* [23] như sau: Khởi tạo đồ thị và tạo một hàng đợi ưu tiên để lưu trữ các đỉnh chưa được xét đến; đặt các giá trị ban đầu cho toàn bộ đồ thị là vô cùng và chọn đỉnh bắt đầu; tính toán giá trị $f(g+h)$ cho mỗi đỉnh, trong đó: g là khoảng cách từ đỉnh bắt đầu đến đỉnh đó và h là giá trị heuristic từ đỉnh đó đến đỉnh kết thúc; đặt đỉnh bắt đầu vào hàng đợi ưu tiên; trong khi hàng đợi không rỗng, lặp lại các bước sau: lấy đỉnh có f nhỏ nhất ra khỏi hàng đợi ưu tiên và đặt là đỉnh hiện tại; nếu đỉnh hiện tại là đỉnh kết thúc, dừng thuật toán; đánh dấu đỉnh hiện tại là đã xét; tìm các đỉnh kề của đỉnh hiện tại và tính toán giá trị f cho chúng; nếu đỉnh kề chưa được xét, đặt giá trị f và đẩy nó vào hàng đợi ưu tiên; trả về đường đi tới đỉnh kết thúc.

2.3. Xây dựng hệ thống điều khiển cho hệ nhiều robot

Đối với việc xác định đường đi của một robot đơn lẻ trong một không gian xác định, các thuật toán Dijkstra và A* đã xác định tốt được quỹ đạo di chuyển tối ưu theo điều kiện “chi phí”. Tuy nhiên, khi có nhiều robot cùng làm việc trong không gian, đường đi của từng robot thường xuyên xảy ra chồng chéo, cản trở hoặc đôi khi đối đầu nhau. Điều này làm cho các robot phải có khả năng xử lý tránh nhau và tiếp tục đường đi ban đầu, dẫn đến việc phải tính toán, xử lý quỹ đạo trên từng robot đòi hỏi yêu cầu lớn hơn về tài nguyên và kết quả thu được đôi khi không đảm bảo tính tối ưu toàn cục cho toàn hệ robot. Để hạn chế những xung đột nêu trên, cần đặt ra các quy tắc vận chuyển của từng robot tại các giao điểm, quy tắc vận chuyển theo các chiều đi. Giải pháp cụ thể được nhóm tác giả đề xuất để kết hợp với thuật toán tìm đường tối ưu cho hệ nhiều robot trong bài toán thực như sau: Khi nhận được yêu cầu xử lý một đơn hàng, ví dụ lấy nhiều loại hàng từ nhiều giá hàng ở những vị trí khác nhau đưa ra cửa kho. Xác định nhiệm vụ cho từng robot dựa trên chi phí tổng thể toàn bộ công việc dựa vào trạng thái, vị trí tức thời của từng robot; bản đồ đường đi khi robot đang mang giá hàng và không mang giá hàng là khác nhau, theo đó, robot không mang giá hàng có thể di chuyển trong vùng không gian bên dưới giá hàng. Đường đi của robot thực thi tác vụ được phân đoạn với trọng số di chuyển khác nhau. Thực hiện tìm thuật toán tối ưu cho từng phân đoạn; các hành lang có tính định hướng chiều di chuyển, trọng số nhỏ theo đúng chiều và trọng số rất lớn nếu theo chiều ngược lại; thiết lập dãy chờ tại cửa kho cùng với quy tắc chờ lần lượt: vận tốc robot giảm và chờ di chuyển theo trạng thái robot xếp hàng phía trước; khi có từ hai robot trở lên tại điểm giao nút trong cùng một thời điểm, xác định thứ tự di chuyển theo phân mức ưu tiên của chúng.

Hai thuật toán Dijkstra và A* được sử dụng nhằm tìm ra đường đi tối ưu cho các robot, sử dụng bộ quy tắc 5 điểm để làm điều kiện vận hành đối với hai thuật toán. Xét một cách tổng quát với vị trí xuất phát là $(q_{10}, q_{20}, \dots, q_{N0})$, vị trí đích là $(q_{1G}, q_{2G}, \dots, q_{NG})$. Các vị trí nêu trên đều biết trước, trong đó vị trí xuất phát được xác định dựa trên dữ liệu di chuyển của bản thân từng robot và vị trí đích được xác định từ tác vụ mà robot được phân công, vị trí giá hàng cần mang.

3. Mô hình kho hàng và tính toán

3.1. Thiết lập kho hàng và sơ đồ khối của hệ thống điều khiển

Nhóm tác giả thiết lập 3 sơ đồ kho hàng theo thứ tự tăng dần về mức độ chi tiết, phức tạp. Sơ đồ mặt bằng thứ nhất bao gồm 8 ô có kích thước 1x1 m, chia thành 2 hàng, mỗi hàng có 4 ô; mỗi ô được gán mã định danh duy nhất. Số lượng robot sử dụng là 1. Hình 2 minh họa hình ảnh thực tế của sơ đồ mặt bằng thứ nhất.



Hình 2. Sơ đồ mặt bằng thứ nhất.

Sơ đồ mặt bằng thứ hai bao gồm 20 ô 1x1 m, chia thành 4 hàng, 1 hàng có 4 ô và 3 hàng có 5 ô/hàng. Số lượng robot sử dụng là 2 chiếc cùng với 4 giá hàng. Hình 3 minh họa hình ảnh thực tế của sơ đồ mặt bằng thứ hai.



Hình 3. Sơ đồ mặt bằng thứ hai.

Sơ đồ mặt bằng thứ ba có diện tích lớn với số lượng robot sử dụng là 10 chiếc. Mặt bằng hình chữ nhật, có kích thước 26x18 ô 1x1 m, tương ứng với diện tích tối thiểu là 468 m². Mặt bằng cho phép bố trí 20 dãy giá hàng với tổng số 200 giá. Kho hàng này được thử nghiệm thực thi nhiều đơn hàng (nhiều nhiệm vụ) khác nhau ngẫu nhiên cho phù hợp với bài toán diễn ra trong thực tế.

Quy trình xử lý một đơn hàng, tương ứng với một tác vụ gán cho robot, được mô tả gồm 5 bước như sau:

Bước 1: Cần xác định số lượng giá hàng cần vận chuyển đến cửa kho, sử dụng giải thuật phân công tác vụ để xác định số lượng robot cần tham gia vào xử lý đơn hàng. Lập tổ hợp cặp robot - giá hàng để tìm ra tổng đường đi ngắn nhất sử dụng một trong hai thuật toán Dijkstra hoặc A*. Xác lập cặp robot - giá hàng.

Bước 2: Gửi quyết định thực thi cho từng robot di chuyển đến vị trí giá hàng tương ứng. Đường đi của các robot có thể nằm một phần ở không gian bên dưới các giá hàng, điều kiện ràng buộc là khu vực có vật cản tĩnh và chiều di chuyển tại hành lang.

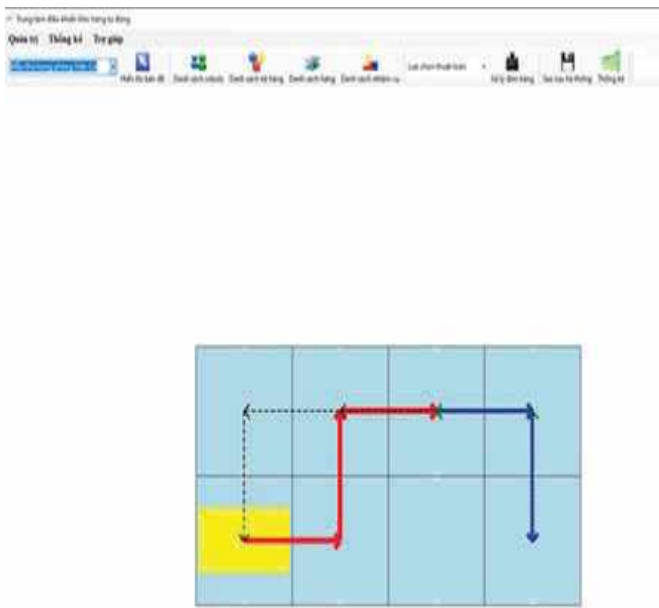
Bước 3: Robot mang giá hàng ra cửa kho. Khi đó, đường đi sẽ là các hành lang, chính là toàn bộ bản đồ loại trừ các khu vực có vật cản tĩnh và khu vực xếp giá hàng. Quá trình di chuyển, bản đồ được cập nhật thông tin về vị trí hiện tại của tất cả robot và thông tin khác có liên quan.

Bước 4: Robot mang giá hàng từ cửa kho về vị trí đặt giá hàng ban đầu. Khi đó, đường đi sẽ là các hành lang, chính là toàn bộ bản đồ loại trừ các khu vực có vật cản tĩnh và khu vực xếp giá hàng. Trong quá trình di chuyển, bản đồ có thể được cập nhật thông tin có liên quan nếu cần thiết.

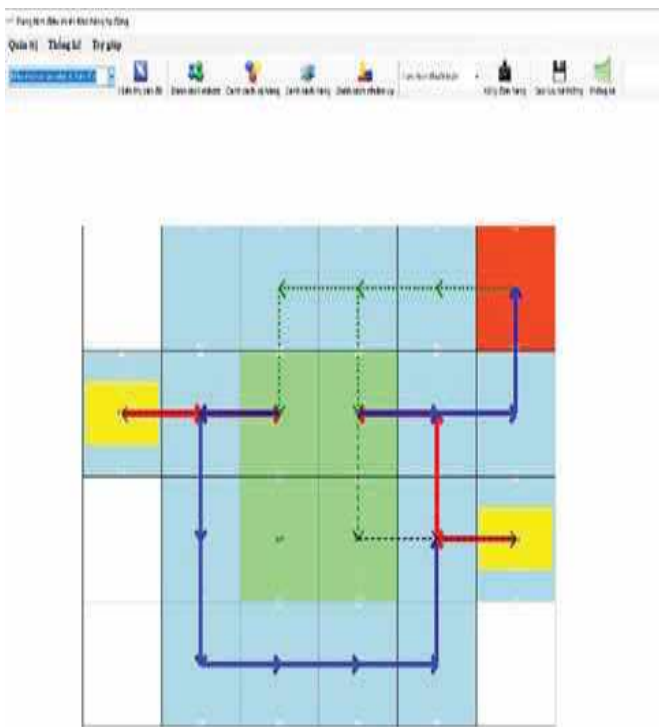
Bước 5: Robot quay trở về vị trí ban đầu. Đường đi của robot có thể nằm một phần ở không gian bên dưới các giá hàng, điều kiện ràng buộc là khu vực có vật cản tĩnh và chiều di chuyển tại hành lang. Bản đồ được cập nhật thông tin về vị trí hiện tại của tất cả robot và thông tin khác có liên quan.

3.2. Kết quả thử nghiệm và bàn luận

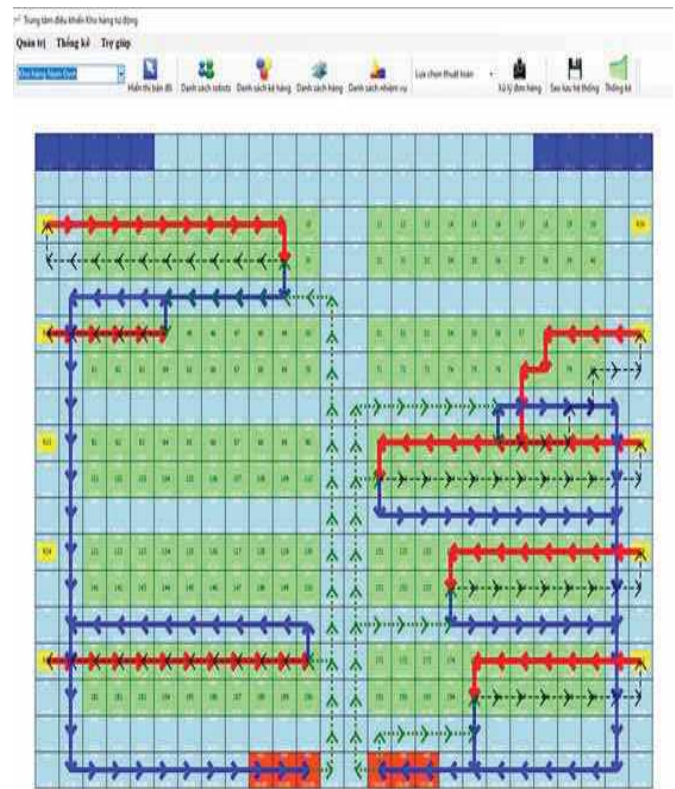
Thử nghiệm hai thuật toán với giải pháp điều khiển và quy trình xử lý đơn hàng cho cả ba sơ đồ mặt bằng. Hệ thống đã vận hành tốt, thuật toán đã đưa ra kết quả lộ trình hợp lý cho từng loại sơ đồ, minh họa trong các hình 4-6. Do đặc điểm bố trí giá hàng trong kho hàng đơn giản, kích thước mặt bằng không quá lớn nên các chỉ tiêu hoạt động của hai thuật toán gần như không có sai lệch, cụ thể được trình bày trong bảng 1.



Hình 4. Xác định đường đi tối ưu trong sơ đồ mặt bằng thứ nhất.



Hình 5. Xác định đường đi tối ưu trong sơ đồ mặt bằng thứ hai.



Hình 6. Xác định đường đi tối ưu trong sơ đồ mặt bằng thứ ba.

Bảng 1. Kết quả chỉ số đánh giá mô hình huấn luyện của hai thuật toán.

Bản đồ	Thuật toán Dijkstra		Thuật toán A*	
	Quãng đường (m)	Thời gian xử lý (giây)	Quãng đường (m)	Thời gian xử lý (giây)
Kho hàng 1	12,5	0,0307606	12	0,030702
Kho hàng 2	45,5	0,0480335	44,5	0,0356332
Kho hàng 3	373,5	1,9528019	373,5	1,8758726

Kết quả bảng 1 cho thấy, thời gian xử lý của hệ thống trên máy tính cá nhân (laptop core i3, 4 lõi, tốc độ xung nhịp 2,3 Ghz) là nhanh, cho thấy khả năng dễ áp dụng trong thực tiễn. Quãng đường kết quả của lộ trình và thời gian xử lý của cả hai thuật toán khác nhau chưa nhiều do ba mô hình kho được xây dựng đơn giản. Tuy nhiên, kết quả thử nghiệm với nhiều loại kho và nhiệm vụ khác nhau cho thấy, hệ thống vận hành tốt, đưa ra kết quả nhanh và chính xác.

4. Kết luận

Từ thuật toán tìm đường đi tối ưu của từng robot đơn lẻ, nhóm nghiên cứu áp dụng cho nhiều robot với cải tiến về mặt quy tắc tính chi phí nhỏ nhất cho toàn hệ robot bằng cách phân công nhiệm vụ, chiều di chuyển, thứ tự ưu tiên... để phù hợp với bài toán trong thực tế: kho hàng mật độ cao, nhiều robot cùng hoạt động, công ra tập trung tại số ít điểm, từ đó xây dựng được một hệ thống điều khiển hệ nhiều robot, có khả năng phối

hợp, tương tác trong quá trình thực hiện nhiệm vụ mà vẫn đảm bảo được trạng thái tối ưu của toàn hệ thống. Hệ thống được áp dụng thử nghiệm tại 3 kho hàng thực tế, với robot vật lý chạy thực tế và cập nhật lộ trình di chuyển theo thời gian thực trên giao diện chương trình máy tính cho kết quả xử lý tốt, với thời gian xử lý nhanh và quỹ đạo đã được kiểm chứng là đạt mức độ tối ưu vận hành. Tuy nhiên, nếu trên quy mô ứng dụng công nghiệp, cần phải tiếp tục thử nghiệm thêm các thuật toán khác trên các mô hình kho phức tạp hơn nữa để đáp ứng với các điều kiện thực tế. Ngoài ra, cần nghiên cứu thêm các quy tắc vận hành mang tính thống nhất vừa có thể áp dụng cho mọi sơ đồ kho hàng khác nhau, vừa đạt được yêu cầu về tối thiểu chi phí cho toàn hệ thống cũng như khả năng vận hành liên tục, không có sự cố, giảm thiểu tác động của con người, tạo nên một hệ thống kho hàng có tính tự động cao.

LỜI CẢM ƠN

Các tác giả xin cảm ơn đề tài “Nghiên cứu, phát triển tổ hợp robot có tích hợp một số công nghệ chủ chốt của Cách mạng công nghiệp lần thứ tư (CMCN 4.0) , ứng dụng trong logistics”, mã số KC-4.0-34/19-25 đã hỗ trợ kinh phí, giúp đỡ thực hiện nghiên cứu này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] E. Eade, T. Drummond (2007), “Monocular SLAM as a graph of coalesced observations”, *2007 IEEE 11th International Conference on Computer Vision*, pp.1-8, DOI: 10.1109/ICCV.2007.4409098.
- [2] F. Dellaert, M. Kaess (2006), “Square root SAM: Simultaneous localization and mapping via square root information smoothing”, *The International Journal of Robotics Research*, **25**(12), pp.1181-1203, DOI: 10.1177/0278364906072768.
- [3] H. Strasdat, J. Montiel, A.J. Davison (2010), “Scale drift-aware large scale monocular SLAM”, *Robotics: Science and Systems*, **3**(2), DOI: 10.7551/mitpress/9123.003.0014.
- [4] B. Williams, M. Cummins, J. Neira, et al. (2009), “A comparison of loop closing techniques in monocular SLAM”, *Robotics and Autonomous Systems*, **57**(12), pp.1188-1197, DOI: 10.1016/j.robot.2009.06.010.
- [5] H.D. Whyte, T. Bailey (2006), “Simultaneous localization and mapping: Part I”, *IEEE Robotics & Automation Magazine*, **13**(2), pp.99-110, DOI: 10.1109/MRA.2006.1638022.
- [6] B. Williams, M. Cummins, J. Neira, et al. (2008), “An image-to-map loop closing method for monocular SLAM”, *2008 IEEE/RSJ International Conference on Intelligent Robots and Systems*, pp.2053-2059, DOI: 10.1109/IROS.2008.4650996.
- [7] M. Cummins, P. Newman (2008a), “FAB-MAP: Probabilistic localization and mapping in the space of appearance”, *The International Journal of Robotics Research*, **27**(6), pp.647-665, DOI: 10.1177/0278364908090961.
- [8] M. Cummins, P. Newman (2008b), “Accelerated appearance-only SLAM”, *2008 IEEE International Conference on Robotics and Automation*, pp.1828-1833, DOI: 10.1109/ROBOT.2008.4543473.
- [9] S. Perera, A. Pasqual (2011), “Towards realtime handheld monoslam in dynamic environments”, *Advances in Visual Computing: 7th International Symposium*, pp.313-324, DOI: 10.1007/978-3-642-24028-7_29.
- [10] R. Ozawa, Y. Takaoka, Y. Kida, et al. (2005), “Using visual odometry to create 3D maps for online footstep planning”, *2005 IEEE International Conference on Systems, Man and Cybernetics*, **3**, pp.2643-2648, DOI: 10.1109/ICSMC.2005.1571548.
- [11] D. Nistér (2005), “Preemptive RANSAC for live structure and motion estimation”, *Machine Vision and Applications*, **16**(5), pp.321-329, DOI: 10.1109/ICCV.2003.1238341.
- [12] P. Michel, J. Chestnutt, S. Kagami, et al. (2007), “GPU-accelerated real-time 3D tracking for humanoid locomotion and stair climbing”, *2007 IEEE/RSJ International Conference on Intelligent Robots and Systems*, pp.463-469, DOI: 10.1109/IROS.2007.4399104.
- [13] H.T. Tran, T.C. Vo, Q.N. Nguyen, et al. (2022), “A novel design of a smart interactive guiding robot for busy airports”, *International Journal on Smart Sensing and Intelligent Systems*, **15**(1), DOI: 10.2478/ijssis-2022-0017.
- [14] Q. Liu, Y.G. Lu, C.X. Xie (2006), “Optimal genetic fuzzy obstacle avoidance controller of autonomous mobile robot based on ultrasonic sensors”, *2006 IEEE International Conference on Robotics and Biomimetics*, pp.125-129, DOI: 10.1109/ROBIO.2006.340327.
- [15] M. Algabri, H. Mathkour, H. Ramdane, et al. (2015), “Comparative study of soft computing techniques for mobile robot navigation in an unknown environment”, *Computers in Human Behavior*, **50**, pp.42-56, DOI: 10.1016/j.chb.2015.03.062.
- [16] M. Faisal, R. Hedjar, M.A. Sulaiman, et al. (2013), “Fuzzy logic navigation and obstacle avoidance by a mobile robot in an unknown dynamic environment”, *International Journal of Advanced Robotic Systems*, **10**(1), DOI: 10.5772/54427.
- [17] H. Xiao, L. Liao, F. Zhou (2007), “Mobile robot path planning based on Q-ANN”, *2007 IEEE International Conference on Automation and Logistics*, pp.2650-2654, DOI: 10.1109/ICAL.2007.4339028.
- [18] C.T. Vo, N.A.Q. Nguyen, L.T.D. Tran, et al. (2021), “Fusion of inertial and magnetic sensors for autonomous vehicle navigation and freight in distinctive environment”, *International Conference on Engineering Research and Applications*, pp.431-439, DOI: 10.1007/978-3-030-92574-1.
- [19] S.X. Yang, T. Hu, X. Yuan, et al. (2003), “A neural network based torque controller for collision-free navigation of mobile robots”, *2003 IEEE International Conference on Robotics and Automation*, **1**, pp.13-18, DOI: 10.1109/ROBOT.2003.1241566.
- [20] A. Zhu, S.X. Yang (2007), “Neurofuzzy-based approach to mobile robot navigation in unknown environments”, *IEEE Transactions on Systems*, **37**(4), pp.610-621, DOI: 10.1109/TSMCC.2007.897499.
- [21] S.U. Deshpande, S.S. Bhosale (2013), “Adaptive neuro-fuzzy inference system based robotic navigation”, *2013 IEEE International Conference on Computational Intelligence and Computing Research*, pp.1-4, DOI: 10.1109/ICCIC.2013.6724153.
- [22] M. Gao, J. Tian (2007), “Path planning for mobile robot based on improved simulated annealing artificial neural network”, *Third International Conference on Natural Computation*, **3**, pp.8-12, DOI: 10.1109/ICNC.2007.
- [23] A. Alyasin, E.I. Abbas, S.D. Hasan (2019), “An efficient optimal path finding for mobile robot based on Dijkstra method”, *2019 4th Scientific International Conference Najaf (SICN)*, pp.11-14, DOI: 10.1109/SICN47020.2019.9019345.
- [24] Q.N. Tang, V.T. Hoang, A.V. Nguyen, et al. (2023), “Development of an autonomous mobile robot system for hospital logistics in quarantine zones”, *The International Conference on Intelligent Systems & Networks*, pp.271-281, DOI: 10.1007/978-981-99-4725-6_34.
- [25] N.K. Nguyen, V.T. Nguyen (2023), “Application of Dijkstra’s algorithm in mobile robot path-planning for items sorting function”, *Vietnam Electromechanical Magazine*, **302**, pp.78-83 (in Vietnamese).

Ảnh hưởng của phụ gia S^{2-} lên đặc trưng điện hóa của vật liệu tổ hợp Fe_3O_4/C

Lê Quang Phong¹, Nguyễn Văn Hợp², Trịnh Tuấn Anh³, Vũ Mạnh Thuận⁴, Doãn Hà Thắng⁴, Bùi Thị Hằng^{5*}

¹Khoa Vật lý Kỹ thuật, Đại học Bách khoa Hà Nội, 1 Đại Cồ Việt, phường Bạch Mai, Hà Nội, Việt Nam

²Nhà máy sản xuất pin, Tổ hợp nhà máy VinFast, đặc khu Cát Hải, TP Hải Phòng, Việt Nam

³Trường Đại học Điện lực, 235 Hoàng Quốc Việt, phường Nghĩa Đô, Hà Nội, Việt Nam

⁴Văn phòng Ủy ban Vũ trụ Việt Nam, 113 Trần Duy Hưng, phường Yên Hòa, Hà Nội, Việt Nam

⁵Khoa Vật liệu Điện tử và Linh kiện, Trường Vật liệu, Đại học Bách khoa Hà Nội, 1 Đại Cồ Việt, phường Bạch Mai, Hà Nội, Việt Nam

Ngày nhận bài 30/12/2024; ngày chuyển phản biện 2/1/2025; ngày nhận phản biện 19/1/2025; ngày chấp nhận đăng 25/1/2025

Tóm tắt:

Vật liệu ôxit sắt có nhiều trên Trái Đất, được ứng dụng trong nhiều lĩnh vực, trong đó có sản xuất pin sắt/khí. Trong nghiên cứu này, nano ôxit sắt Fe_3O_4 được sử dụng làm vật liệu hoạt động điện hóa, nano carbon acetylene black (AB) dùng làm chất phụ gia tăng độ dẫn điện để chế tạo vật liệu tổ hợp Fe_3O_4/AB , ứng dụng làm điện cực âm trong pin sắt/khí. Chất phụ gia trên cơ sở S^{2-} được kết hợp vào điện cực và chất điện ly để nghiên cứu ảnh hưởng của chúng đối với hiệu suất phóng - nạp của Fe_3O_4/AB . Đặc trưng điện hóa của điện cực tổ hợp Fe_3O_4/AB được khảo sát bằng phép đo quét thế vòng tuần hoàn và tổng trở điện hóa. Kết quả cho thấy, chất phụ gia chứa S^{2-} có ảnh hưởng mạnh đến đặc trưng điện hóa của điện cực tổ hợp Fe_3O_4/AB . Sự có mặt của S^{2-} trong điện cực tổ hợp Fe_3O_4/AB làm tăng tốc độ phản ứng oxy hóa - khử của sắt dẫn đến cải thiện dung lượng và hiệu suất phóng - nạp của điện cực. Vai trò quan trọng của chất phụ gia S^{2-} trong dung dịch điện ly được thể hiện qua việc cải thiện tính thụ động của điện cực sắt, hạn chế sinh khí hydrô, tăng tốc độ phản ứng oxy hóa - khử của sắt, do vậy cải thiện khả năng chu trình hóa và dung lượng của điện cực Fe_3O_4/AB .

Từ khóa: điện cực tổ hợp Fe_3O_4/C , pin sắt/khí, vật liệu nano Fe_3O_4 , vật liệu tổ hợp Fe_3O_4/C .

Chỉ số phân loại: 2.4, 2.5

Effect of S^{2-} additives on electrochemical properties of Fe_3O_4/C composite materials

Quang Phong Le¹, Van Hop Nguyen², Tuan Anh Trinh³, Manh Thuan Vu⁴, Ha Thang Doan⁴, Thi Hang Bui^{5*}

¹School of Engineering Physics, Hanoi University of Science and Technology, 1 Dai Co Viet Street, Bach Mai Ward, Hanoi, Vietnam

²Battery Factory, VinFast Factory Complex, Cat Hai Special Zone, Hai Phong City, Vietnam

³Electric Power University, 235 Hoang Quoc Viet Street, Nghia Do Ward, Hanoi, Vietnam

⁴Vietnam Space Committee, Ministry of Science and Technology, 113 Tran Duy Hung Street, Yen Hoa Ward, Hanoi, Vietnam

⁵Department of Electronic Materials and Devices, School of Materials Science and Engineering, Hanoi University of Science and Technology, 1 Dai Co Viet Street, Bach Mai Ward, Hanoi, Vietnam

Received 30 December 2024; received 19 January 2025; accepted 25 January 2025

Abstract:

Iron oxide materials are abundant on Earth and are widely used in various fields, including iron/air batteries. In this study, iron oxide (Fe_3O_4) nanomaterials are employed as electrochemically active materials, while acetylene black (AB) carbon nanomaterials serve as electrode additives to fabricate Fe_3O_4/AB composites for use as negative electrodes in iron/air batteries. S^{2-} based additives are incorporated into both the electrode and the electrolyte to examine their effects on the charge - discharge performance of Fe_3O_4/AB . The electrochemical properties of the Fe_3O_4/AB composite electrodes are evaluated through the cyclic voltammetry and electrochemical impedance spectroscopy. The results indicate that the S^{2-} additives significantly influence the electrochemical performance of the Fe_3O_4/AB composite electrode. The presence of S^{2-} in the Fe_3O_4/AB composite electrode enhances the rate of iron redox reactions, thereby improving the capacity and charge - discharge efficiency of the Fe_3O_4/AB electrode. The S^{2-} additive in the electrolyte solution plays a crucial role by improving the passivation of the iron electrode, reducing hydrogen evolution, and accelerating iron redox reactions, thereby enhancing the cycleability and capacity of the Fe_3O_4/AB electrode.

Keywords: Fe_3O_4/C composite electrode, Fe_3O_4/C composite material, Fe_3O_4 nanomaterials, iron/air battery.

Classification numbers: 2.4, 2.5

*Tác giả liên hệ: Email: hang@itims.edu.vn, hang.bui@hust.edu.vn

1. Đặt vấn đề

Hiện nay, ô nhiễm môi trường đang là vấn đề cấp bách cần giải quyết do ảnh hưởng nghiêm trọng đến cuộc sống con người và hệ sinh thái. Sự gia tăng khí thải từ các phương tiện giao thông sử dụng nguyên liệu hoá thạch là nguyên nhân chính gây ra ô nhiễm không khí, hiệu ứng nhà kính và biến đổi khí hậu. Trước thực trạng này, việc tìm kiếm những giải pháp bền vững là điều tất yếu. Sử dụng nguồn năng lượng tích trữ là một trong những giải pháp không thể bỏ qua. Pin sắt/khí gần đây được các nhà khoa học quan tâm nghiên cứu rộng rãi nhờ vào những ưu điểm của chúng so với các hệ pin khác như dung lượng và năng lượng lý thuyết cao, giá thành rẻ, thân thiện với môi trường [1, 2]. Tuy nhiên, với những hạn chế hiện có của điện cực sắt như sự hình thành lớp thụ động $\text{Fe}(\text{OH})_2$ trong quá trình phóng và sự sinh khí H_2 đồng thời với phản ứng khử sắt gây ra sự suy giảm hiệu suất của pin [3, 4]. Do đó, việc tìm ra các giải pháp để cải thiện tình trạng này là rất cần thiết. Một số các nghiên cứu trước đã chỉ ra rằng, việc thay đổi cấu trúc điện cực, thay đổi vật liệu hoạt động điện cực ô xít sắt sẽ làm cải thiện hiệu suất của pin sắt/khí [4-8]. Mặc dù, đặc trưng điện hoá của điện cực sắt đã được cải thiện nhưng các nhược điểm của pin sắt/khí vẫn chưa khắc được phục triệt để. Có thể tăng hiệu suất phóng- nạp của điện cực sắt bằng cách thay đổi vật liệu hoạt động điện cực, thành phần điện cực, tỷ lệ các thành phần cấu thành điện cực, sử dụng chất phụ gia cho điện cực, phụ gia cho chất điện ly... Một số nghiên cứu khác đã sử dụng chất phụ gia S^{2-} vào vật liệu để cải thiện những nhược điểm mà điện cực sắt đang gặp phải [3, 4, 9-11]. Nano carbon là chất có độ dẫn điện cao, diện tích bề mặt lớn, thường được chọn làm chất phụ gia điện cực để tăng độ dẫn điện của điện cực trong pin [12-14].

Trong nghiên cứu này, AB được sử dụng làm chất dẫn điện nhằm tăng độ dẫn điện của điện cực, trong khi Bi_2S_3 và K_2S được sử dụng như những chất phụ gia điện cực và phụ gia dung dịch điện ly tương ứng để cải thiện đặc trưng điện hóa của sắt. Việc kết hợp vật liệu tổ hợp $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{AB}$ với Bi_2S_3 và K_2S trong nghiên cứu này được kỳ vọng sẽ giúp cải thiện tính chất điện hóa cũng như khắc phục những điểm còn tồn tại của điện cực âm trong pin sắt/khí.

2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

Bột Fe_3O_4 (Aldrich) được sử dụng làm vật liệu hoạt động điện cực và AB (Denki Kagaku Co. Ltd) được thêm vào làm chất phụ gia của điện cực để làm tăng độ dẫn điện của điện cực. Lá điện cực $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{AB}$ được chế tạo bằng cách nghiền trộn bột Fe_3O_4 với AB và chất kết dính polytetrafluoroethylene (PTFE; Daikin Co.) theo tỷ lệ khối lượng $\text{Fe}_3\text{O}_4:\text{AB}:\text{PTFE}=45:45:10\%$, sau đó được cán mỏng với độ dày khoảng 0,1 cm. Lá điện cực $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{AB}$ chứa 2% Bi_2S_3 cũng được chế tạo bằng cách tương tự. Điện cực

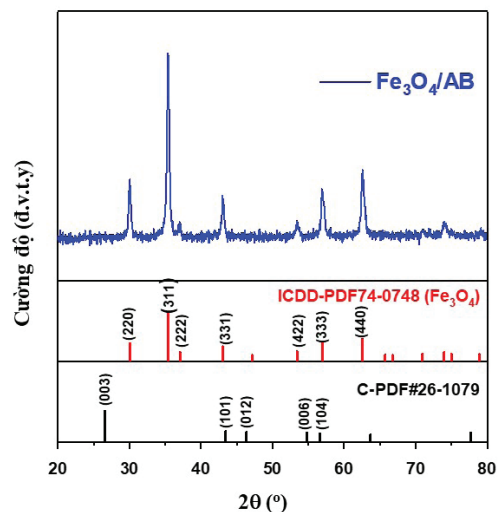
nghiên cứu được cắt ra từ lá điện cực thành dạng đĩa tròn mỏng với đường kính 1 cm, sau đó ép lên vật liệu dẫn dòng là lưới titan.

Hình thái học của vật liệu Fe_3O_4 được quan sát bằng kính hiển vi điện tử quét (SEM). Đặc trưng cấu trúc vật liệu $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{AB}$ được nghiên cứu thông qua phép đo nhiễu xạ tia X (XRD).

Để nghiên cứu tính chất điện hoá của điện cực tổ hợp $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{AB}$ trong dung dịch kiềm, phép đo quét thế vòng tuần hoàn (CV) và phổ tổng trở điện hóa (EIS) được thực hiện trên hệ AutoLab sử dụng cell 3 điện cực với $\text{Fe}_2\text{O}_3/\text{AB}$ là điện cực làm việc (WE), Pt là điện cực đối (CE) và Hg/HgO là điện cực so sánh (RE). Dung dịch điện ly là KOH 8M hoặc KOH 8 M + K_2S 0,05 M. Các phép đo CV được thực hiện với tốc độ quét 1 mV/s và thế quét trong khoảng thế từ -1,3 đến -0,1 V. Phép đo phổ tổng trở điện hóa (EIS) được thực hiện trước và sau phép đo CV, cell được dừng ở điện thế mạch hở rồi thực hiện phép đo phổ tổng trở với dòng điện xoay chiều (AC) 10 mV và dải tần số từ 10^{-2} đến 2×10^5 Hz.

3. Kết quả và bàn luận

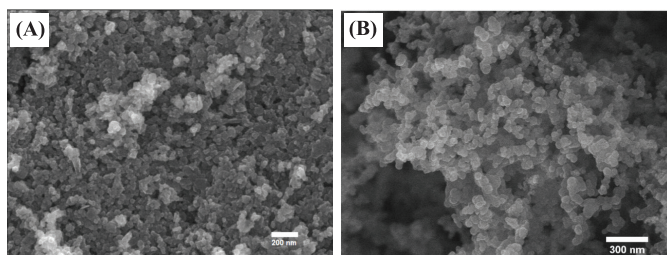
3.1. Giản đồ nhiễu xạ tia X (XRD)



Hình 1. Giản đồ nhiễu xạ tia X của mẫu $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{AB}$.

Kết quả đo nhiễu xạ tia X (XRD) của mẫu $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{AB}$ được mô tả ở hình 1. Trên giản đồ nhiễu xạ có sự xuất hiện của các đỉnh nhiễu xạ tại các góc $2\theta \sim 18,41; 30,29; 35,68; 37,32; 43,36; 53,81; 57,36$ và $63,00$, tương ứng với các mặt tinh thể (111), (220), (311), (222), (331), (422), (333) và (440). Các đỉnh nhiễu xạ này đặc trưng cho phổ nhiễu xạ của vật liệu Fe_3O_4 theo phổ chuẩn ICDD-PDF74-0748. Đỉnh (311) là đỉnh mạnh nhất, khẳng định Fe_3O_4 là pha chủ đạo trong mẫu. Carbon AB thường có cấu trúc vô định hình, do đó, không xuất hiện các đỉnh nhiễu xạ sắc nét. Trong phổ XRD của composit $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{AB}$, các đỉnh nhiễu xạ của AB có thể trùng với nền nhiễu.

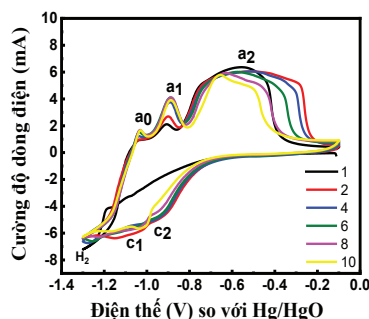
3.2. Hình thái học của vật liệu Fe_3O_4 và carbon AB



Hình 2. Ảnh hiển vi điện tử quét của vật liệu (A) Fe_3O_4 và (B) AB.

Ảnh SEM của vật liệu carbon AB và Fe_3O_4 được biểu diễn ở hình 2. Kết quả cho thấy, hạt ô xít sắt Fe_3O_4 có kích thước dưới 100 nm, không đồng đều. Một số hạt nhỏ có hiện tượng kết tụ lại thành hạt to. Đa phần các hạt có dạng hình cầu trong khi một số hạt dạng mảnh. AB có dạng hình cầu tương đối đồng đều với kích thước trung bình dưới 100 nm. Khi kết hợp thành vật liệu tổ hợp $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{AB}$, chất phụ gia AB sẽ làm tăng độ dẫn điện của điện cực $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{AB}$ đồng thời là môi trường để phân tán mảnh sắt hòa tan hình thành trong quá trình phóng - nạp, do vậy, làm tăng khả năng chu trình hoá của điện cực sắt.

3.3. Đặc trưng điện hóa của điện cực tổ hợp $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{AB}$

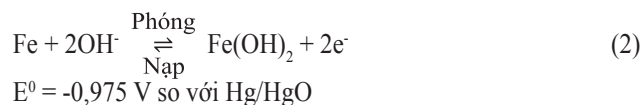


Hình 3. Đặc trưng phép đo quét thế vòng tuần hoàn của điện cực $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{AB}$ trong dung dịch KOH 8 M.

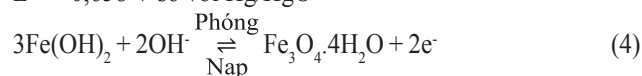
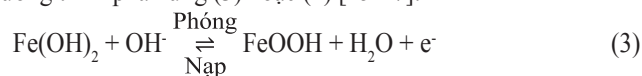
Đặc trưng CV của các điện cực composit $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{AB}$ ($\text{Fe}_3\text{O}_4:\text{AB}:\text{PTFE}=45:45:10\%$) trong dung dịch KOH 8 M được thể hiện ở hình 3. Các cặp đỉnh oxy hoá - khử với cường độ dòng điện tương đối lớn xuất hiện rõ ràng. Đỉnh oxy hoá a_1 ($\text{Fe}/\text{Fe(II)}$) xuất hiện ở thế khoảng -0,9 V (a_1) và đỉnh oxy hoá a_2 ($\text{Fe(II)}/\text{Fe(III)}$) xuất hiện ở thế khoảng -0,6 V (a_2). Khi quét thế theo chiều ngược lại, đỉnh khử c_2 ($\text{Fe(III)}/\text{Fe(II)}$) xuất hiện ở thế khoảng -0,95 V (c_2) và đỉnh khử c_1 ($\text{Fe(II)}/\text{Fe}$) xuất hiện ở thế khoảng -1,05 V (c_1). Đỉnh c_1 bị che phủ một phần bởi đỉnh sinh khí H_2 do thế của phản ứng sinh khí H_2 gần với thế của phản ứng khử $\text{Fe(II)}/\text{Fe}(c_1)$. Ngoài ra, ta còn quan sát thấy một đỉnh oxy hoá nhỏ a_0 ở điện thế khoảng -1,05 V là do sắt hấp phụ nhóm OH^- tạo thành $[\text{Fe}(\text{OH})]_{\text{ad}}$ theo phương trình phản ứng (1) [15-17]:



Như vậy, a_1/c_1 là cặp phản ứng oxy hóa - khử của $\text{Fe}/\text{Fe(II)}$ theo phương trình phản ứng (2) [15-17]:



và a_2/c_2 là cặp phản ứng oxy hóa - khử của $\text{Fe(II)}/\text{Fe(III)}$ theo phương trình phản ứng (3) hoặc (4) [15-17]:

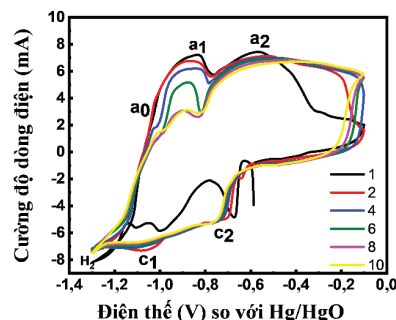


Tuy nhiên, đỉnh oxy hoá a_1 lại nhỏ hơn khá nhiều so với đỉnh oxy hoá a_2 chứng tỏ đỉnh oxy hoá a_2 xảy ra cả 2 cặp phản ứng $\text{Fe}/\text{Fe(II)}$ và $\text{Fe(II)}/\text{Fe(III)}$.

Ở các chu kỳ tiếp theo, đỉnh oxy hoá có xu hướng thu hẹp lại, dòng điện dưới các đỉnh oxy hoá - khử có xu hướng giảm nhẹ. Điều này có thể giải thích là do lớp thụ động $\text{Fe}(\text{OH})_2$ hình thành trong chu trình điện hoá gây cản trở phản ứng oxy hoá của sắt ở lớp bên trong. Đây chính là một vấn đề của điện cực sắt mà các nhà nghiên cứu đang cố gắng cải thiện.

3.4. Ảnh hưởng của Bi_2S_3

Phép đo điện hoá của điện cực $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{AB}$ ($\text{Fe}_3\text{O}_4:\text{AB}:\text{PTFE}=45:45:10\%$) với 2% chất phụ gia Bi_2S_3 trong dung dịch điện ly KOH 8 M (hình 4). Các đỉnh oxy hoá của các cặp phản ứng $\text{Fe}/\text{Fe(II)}$ và $\text{Fe(II)}/\text{Fe(III)}$ có thể quan sát ở thế khoảng -0,85 V (a_1) và -0,55 V (a_2) theo chiều quét thuận và các đỉnh khử tương ứng xuất hiện ở thế khoảng -0,7 V (c_2) và -1,1 V (c_1) theo chiều quét ngược lại. Đỉnh a_0 rất nhỏ gần như bị bao trùm bởi đỉnh a_1 chứng tỏ sự hấp phụ nhóm OH^- theo phương trình (1) xảy ra nhanh và phản ứng $\text{Fe}/\text{Fe(II)}$ theo phương trình (2) được tăng cường. Kết quả này chứng tỏ tốc độ phản ứng của $\text{Fe}/\text{Fe(II)}$ và $\text{Fe(II)}/\text{Fe(III)}$ đã được tăng lên.



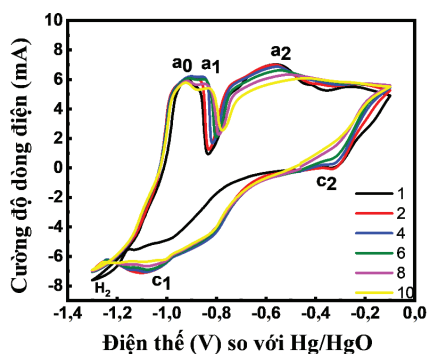
Hình 4. Đặc trưng phép đo quét thế vòng tuần hoàn của điện cực $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{AB}+2\% \text{Bi}_2\text{S}_3$ trong dung dịch KOH.

So với đường đặc trưng CV của mẫu $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{AB}$ (hình 3), đường đặc trưng CV của điện cực $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{AB}$ có Bi_2S_3 cho thấy, các đỉnh oxy hoá - khử rộng hơn, cường độ dòng điện lớn hơn chứng tỏ các phản ứng oxy hoá - khử của sắt được tăng cường bởi Bi_2S_3 . Đỉnh c_1 xuất hiện rõ ràng, tách biệt khỏi đỉnh sinh khí H_2 . Đỉnh khử c_2 cũng

dịch chuyển về phía dương hơn chứng tỏ quá thế của cặp oxy hoá - khử Fe(II)/Fe(III) đã giảm đi. Điều này sẽ dẫn đến dung lượng và hiệu suất phóng - nạp của điện cực $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{AB}+\text{Bi}_2\text{S}_3$ được cải thiện đáng kể. Kết quả này cho thấy ảnh hưởng tích cực của Bi_2S_3 trong điện cực $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{AB}$.

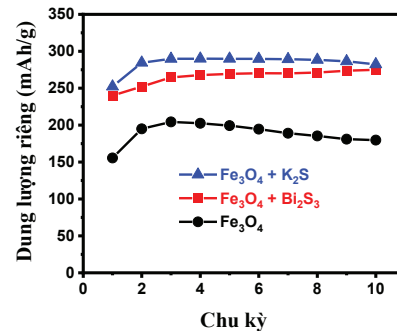
3.5. Ảnh hưởng của K_2S

Phép đo điện hoá của điện cực $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{AB}$ ($\text{Fe}_3\text{O}_4:\text{AB}:\text{PTFE}=45:45:10\%$) được thực hiện 10 chu kỳ đầu trong dung dịch điện ly KOH 8M + K_2S 0,05M và kết quả được biểu diễn ở hình 5. So với kết quả CV của mẫu $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{AB}$ ($\text{Fe}_3\text{O}_4:\text{AB}:\text{PTFE}=45:45:10\%$) (hình 3) cho thấy, khi đưa K_2S vào trong dung dịch điện ly các đỉnh oxy hóa - khử a_1 , a_2 , c_1 , c_2 vẫn xuất hiện ở các khoảng thế tương tự -0,85 V (a_1) và -0,55 V (a_2) theo chiều quét thuận và -0,3 V (c_2) và -1,1 V (c_1) theo chiều ngược lại. Tuy nhiên, đỉnh oxy hoá a_0 gần như bị bao phủ bởi đỉnh a_1 trong khi các đỉnh oxy hoá a_1 , a_2 đã được mở rộng về phía dương hơn theo chiều quét thuận. Điều này chứng tỏ, tốc độ phản ứng oxy hoá của Fe/Fe(I)(a_0) và Fe/Fe(II)(a_1) đã được tăng lên nhiều, nghĩa là tính thụ động của $\text{Fe}(\text{OH})_2$ đã được hạn chế bởi S^{2-} có trong dung dịch điện ly. Đỉnh a_0 trong trường hợp này cũng gần như bị bao trùm bởi đỉnh a_1 chứng tỏ sự hấp phụ nhóm OH^- theo phương trình (1) và phản ứng Fe/Fe(II) theo phương trình (2) diễn ra nhanh, tuần tự dưới dự tác động của S^{2-} trong dung dịch điện ly. Đỉnh c_2 xuất hiện ở điện thế dương hơn so với mẫu $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{AB}$ trong KOH (hình 3) làm giảm quá thế của cặp phản ứng Fe(II)/Fe(III) dẫn đến tăng hiệu suất phóng - nạp của điện cực $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{AB}$ trong KOH+ K_2S . Ngoài ra, đỉnh khử c_1 cũng xuất hiện rõ ràng hơn và không bị che lấp bởi đỉnh sinh khí hydro. Đó có thể là do sự hấp phụ của các ion S^{2-} trên bề mặt điện cực giúp hạn chế sự hấp phụ của các nguyên tử hydro dẫn đến hạn chế khí hydro sinh ra. Tuy nhiên, khi tăng số chu kỳ quét, vẫn quan sát thấy sự giảm nhẹ của dòng điện. Việc thêm chất phụ gia K_2S vào trong dung dịch điện ly KOH đã giúp tăng cường độ dòng điện tại các đỉnh oxy hoá - khử và đặc biệt là các cặp phản ứng a_1/c_1 và a_2/c_2 diễn ra nhanh hơn so với điện cực $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{AB}$ trong dung dịch điện ly KOH. Tuy nhiên, việc hình thành lớp thụ động $\text{Fe}(\text{OH})_2$ vẫn diễn ra nhưng với tốc độ chậm hơn dẫn đến sự suy giảm của dòng điện cũng chậm hơn.



Hình 5. Đặc trưng phép đo quét thế vòng tuần hoàn của điện cực $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{AB}$ trong dung dịch KOH+ K_2S .

Từ kết quả đo CV, có thể tính được dung lượng riêng của tất cả các mẫu theo phương trình $C = \frac{I\Delta t}{m\Delta V}$ [18], trong đó I (A) là cường độ dòng điện; Δt (s) là thời gian phóng điện, m (g) là khối lượng vật liệu hoạt động của điện cực làm việc, ΔV (V) là cửa sổ điện thế trong quá trình phóng điện (hình 6).



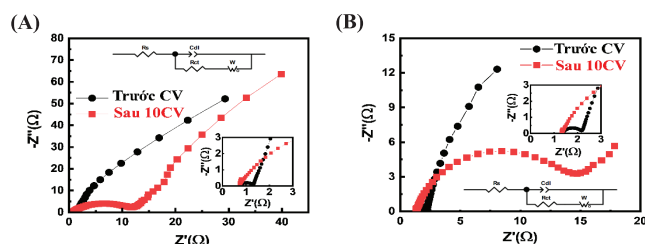
Hình 6. Dung lượng riêng của điện cực $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{AB}$, $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{AB}+2\% \text{Bi}_2\text{S}_3$ trong dung dịch KOH và điện cực $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{AB}$ trong dung dịch KOH+ K_2S .

Dung lượng riêng của các mẫu sử dụng chất phụ gia Bi_2S_3 và K_2S đều cao hơn mẫu Fe_3O_4 không có chất phụ gia S^{2-} . Các mẫu có chất phụ gia S^{2-} đều duy trì dung lượng riêng tốt theo chu kỳ quét trong khi mẫu Fe_3O_4 không chất phụ gia S^{2-} có dung lượng riêng giảm nhanh theo chu kỳ quét. So sánh giữa mẫu Fe_3O_4 không chất phụ gia và Fe_3O_4 có chất phụ gia Bi_2S_3 và K_2S cho thấy mẫu dùng K_2S có dung lượng riêng cao hơn mẫu dùng Bi_2S_3 , cụ thể dung lượng phóng cực đại của điện cực tổ hợp $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{AB}$ tăng từ khoảng 200 lên 275 mAh/g khi có S^{2-} trong điện cực và lên 290 mAh/g khi có S^{2-} trong dung dịch điện ly KOH (hình 6). Kết quả này hoàn toàn phù hợp với kết quả đo CV thu được ở trên. Như vậy, trong số các điện cực nghiên cứu, mẫu với tỷ lệ $\text{Fe}_3\text{O}_4:\text{AB}:\text{PTFE}=45:45:10\%$ đo trong dung dịch điện ly KOH 8M + K_2S 0,05M cho dung lượng cao nhất, độ ổn định tốt nhất.

3.6. Phổ tổng trở của điện cực $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{AB}$

Phổ tổng trở Nyquist của mẫu $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{AB}+2\% \text{Bi}_2\text{S}_3$ trong dung dịch điện ly KOH và mẫu $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{AB}$ trong dung dịch điện ly KOH+ K_2S đo ở thể mạch hở (OCP) được biểu diễn ở hình 7. Phổ tổng trở của mẫu chứa chất phụ gia Bi_2S_3 trong điện cực (hình 7A) và K_2S trong dung dịch điện ly (hình 7B) đều bao gồm một hình bán nguyệt ở vùng tần số trung bình liên quan đến quá trình truyền điện tích và điện dung lớp kép ở lớp tiếp xúc giữa điện cực và dung dịch điện ly. Đoạn thẳng tiếp sau hình bán nguyệt ở tần số thấp liên quan đến quá trình khuếch tán của các ion trong vật liệu trong khi điểm cắt trục thực Z' trong vùng tần số cao tương ứng với điện trở của dung dịch điện ly. Trước khi đo CV, cả hai mẫu đều có đường kính hình bán nguyệt rất nhỏ (hình chèn bên trong hình 7A, 7B) chứng tỏ mẫu có điện trở nhỏ. Sau 10 chu kỳ quét, đường kính hình bán nguyệt của cả hai mẫu đều tăng lên chứng tỏ điện trở truyền điện tích của các phản ứng điện hóa trong hai mẫu đều tăng lên. Đây có thể là một trong những nguyên nhân gây ra sự suy giảm dần dung lượng của điện cực trong quá trình phóng - nạp như đã quan sát thấy ở trên. Ban đầu khi có mặt S^{2-} trong điện

cực hoặc dung dịch điện ly, tốc độ phản ứng điện hóa của sắt được cải thiện, tính thụ động gây ra bởi $\text{Fe}(\text{OH})_2$ hình thành trong quá trình phóng được hạn chế, lượng hydro sinh ra cũng giảm đi. Tuy nhiên, sau các quá trình phóng - nạp được lặp lại, cấu trúc bề mặt của điện cực có thể đã bị biến đổi, lớp thụ động có thể lại hình thành và dày lên theo chu kỳ làm cản trở quá trình truyền điện tích dẫn đến sự gia tăng trở kháng của mẫu, do đó dung lượng bị giảm dần. Kết quả fit mạch tương đương của 2 mẫu được thể hiện trong hình 7 và bảng 1.



Hình 7. Phổ tổng trở Nyquist của các điện cực $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{AB}$ với các chất phụ gia S^{2-} (A) $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{AB}+2\% \text{Bi}_2\text{S}_3$ trong dung dịch điện ly KOH và (B) $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{AB}$ trong dung dịch điện ly KOH+ K_2S .

Bảng 1. Kết quả fit mạch phổ tổng trở Nyquist của điện cực $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{AB}$ với các chất phụ gia S^{2-} .

	K_2S (trước CV)	Bi_2S_3 (trước CV)	K_2S (sau CV)	Bi_2S_3 (sau CV)
R_s	1,352	0,70243	1,37	0,70795
R_{ct}	0,95	0,63705	12,87	11,72

Kết quả fit mạch cho thấy, điện trở dung dịch R_s của điện cực $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{AB}+2\% \text{Bi}_2\text{S}_3$ trong dung dịch điện ly KOH và điện cực $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{AB}$ trong dung dịch điện ly KOH+ K_2S đều có giá trị nhỏ, thay đổi không đáng kể trước và sau phóng - nạp. Khi có S^{2-} trong dung dịch KOH, điện trở dung dịch R_s và điện trở truyền điện tích R_{ct} của cả hai điện cực đều tăng lên. Sau 10 chu kỳ quét CV, điện trở truyền điện tích R_{ct} của cả hai điện cực đều tăng lên đáng kể so với trước phóng - nạp. Kết quả này hoàn toàn phù hợp với đường Nyquist đã thảo luận ở trên.

4. Kết luận

Đặc trưng điện hóa của điện cực tổ hợp $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{AB}$ và ảnh hưởng của chất phụ gia trên cơ sở S^{2-} đã được khảo sát. Sự có mặt của chất phụ gia Bi_2S_3 trong điện cực và K_2S trong dung dịch điện ly đã cải thiện tốc độ phản ứng oxy hóa - khử của sắt, hạn chế tính thụ động của điện cực gây ra bởi $\text{Fe}(\text{OH})_2$, giảm lượng khí hydro sinh ra và tăng dung lượng riêng của điện cực tổ hợp $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{AB}$. Cụ thể giá trị dung lượng phóng cực đại của điện cực $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{AB}$ được tăng từ khoảng 200 lên 275 mAh/g khi có Bi_2S_3 trong điện cực và lên 290 mAh/g khi có K_2S trong dung dịch điện ly KOH. Kết hợp chất phụ gia S^{2-} cho cả điện cực và dung dịch điện ly, điện cực tổ hợp $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{AB}$ có tiềm năng ứng dụng làm điện cực âm trong pin sắt/khí. Trong giai đoạn tiếp theo, các nghiên cứu để tối ưu hóa tỷ lệ chất phụ gia Bi_2S_3 và K_2S sẽ được thực hiện để hướng tới ứng dụng làm điện cực âm trong pin sắt/khí trong tương lai.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] E.J. Rudd, D.W. Gibbons (1994), "High energy density aluminum/oxygen cell", *Journal of Power Sources*, **47**(3), pp.329-340, DOI: 10.1016/0378-7753(94)87012-8.
- [2] K.F. Blurton, A.F. Sammells (1979), "Metal/air batteries: Their status and potential - A review", *Journal of Power Sources*, **4**(4), pp.263-279, DOI: 10.1016/0378-7753(79)80001-4.
- [3] A.S. Rajan, S. Sampath, A.K. Shukla (2014), "An *in situ* carbon-grafted alkaline iron electrode for iron-based accumulators", *Energy Environ. Sci.*, **7**, pp.1110-1116, DOI: 10.1039/C3EE42783H.
- [4] A.K. Manohar, C. Yang, S. Malkhandi, et al. (2013), "Enhancing the performance of the rechargeable iron electrode in alkaline batteries with bismuth oxide and iron sulfide additives", *J. Electrochem. Soc.*, **160**, pp.A2078-A2084, DOI: 10.1149/2.066311jes.
- [5] B.T. Hang, D.H. Thang (2016), "Electrochemical properties of Fe_2O_3 microparticles and their application in Fe/air battery anodes", *J. Alloys Compd.*, **655**, pp.44-49, DOI: 10.1016/J.JALLCOM.2015.09.170.
- [6] A.R. Paulraj (2019), *Studies on Rechargeable Fe-air Electrodes in Alkaline Electrolyte*, Doctoral Thesis, KTH Royal Institute of Technology, Department of Chemical Engineering, School of Engineering Sciences in Chemistry.
- [7] A. Inoishi, Y.W. Ju, S. Ida, et al. (2013), "Fe-air rechargeable battery using oxide ion conducting electrolyte of Y_2O_3 stabilized ZrO_2 ", *Journal of Power Sources*, **229**, pp.12-15, DOI: 10.1016/j.jpowsour.2012.11.121.
- [8] S. Yang, D.J. Siegel (2015), "Intrinsic conductivity in sodium-air battery discharge phases: Sodium superoxide vs sodium peroxide", *Chem. Mater.*, **27**(11), pp.3852-3860, DOI: 10.1021/acs.chemmater.5b00285.
- [9] H. Kitamura, L. Zhao, B.T. Hang, et al. (2012), "Effect of charge current density on electrochemical performance of Fe/C electrodes in alkaline solutions", *J. Electrochem. Soc.*, **159**(6), pp.A720-A724, DOI: 10.1149/2.049206jes.
- [10] B.T. Hang, M. Eashira, I. Watanabe, et al. (2005), "The effect of carbon species on the properties of Fe/C composite for metal-air battery anode", *Journal of Power Sources*, **143**(1-2), pp.256-264, DOI: 10.1016/j.jpowsour.2004.11.044.
- [11] S.M.A.E. Haleem, E.E.A.E. Aal (2008), "Electrochemical behaviour of iron in alkaline sulphide solutions", *Corrosion Engineering Science and Technology*, **43**(2), pp.173-178, DOI: 10.1179/174327807X234769.
- [12] D. Wei, Z. Xu, J. Wang, et al. (2017), "A one-pot thermal decomposition of $\text{C}_6\text{H}_4\text{ZnO}_6$ to ZnO @carbon composite for lithium storage", *J. Alloys Compd.*, **714**, pp.13-19, DOI: 10.1016/j.jallcom.2017.04.214.
- [13] H. Liu, L. Shi, D. Li, et al. (2018), "Rational design of hierarchical ZnO @carbon nanoflower for high performance lithium ion battery anodes", *J. Power Sources*, **387**, pp.64-71, DOI: 10.1016/j.jpowsour.2018.03.047.
- [14] X. Yang, J. Qiu, M. Liu, et al. (2020), "A surface multiple effect on the ZnO anode induced by graphene for a high energy lithium-ion full battery", *J. Alloys Compd.*, **824**, DOI: 10.1016/j.jallcom.2020.153945.
- [15] K. Vijayamohan, T.S. Balasubramanian, A.K. Shukla (1991), "Rechargeable alkaline iron electrodes", *Journal of Power Sources*, **34**(3), pp.269-285, DOI: 10.1016/0378-7753(91)80093-D.
- [16] J. Černý, K. Míka (1989), "Voltammetric study of an iron electrode in alkaline electrolytes", *Journal of Power Sources*, **25**(2), pp.111-122, DOI: 10.1016/0378-7753(89)85003-7.
- [17] K. Míka, Z. Zábranský (1987), "Study of iron oxide electrodes in an alkaline electrolyte", *Journal of Power Sources*, **19**(4), pp.315-323, DOI: 10.1016/0378-7753(87)87007-6.
- [18] S.X. Yan, S.H. Luo, H. Liu, et al. (2021), "*In-situ* partial reduction-sulfurized Fe_3O_4 @FeS based on pickling iron red as a versatile electrode for high-performance lithium ion batteries and supercapacitor devices", *Surf. Coatings Technol.*, **429**, DOI: 10.1016/j.surfcoat.2021.127980.

Nghiên cứu sản xuất nhiên liệu đặc chủng diesel DO L-62 tại Nhà máy Lọc dầu Dung Quất phục vụ cho quốc phòng - an ninh

Lê Mạnh Hùng¹, Bùi Minh Tiến¹, Lê Xuân Huyền¹, Bùi Ngọc Dương²,
Nguyễn Văn Hội², Khương Lê Thành², Nguyễn Việt Thắng², Mai Tuấn Đạt^{2*}

¹Tập đoàn Công nghiệp - Năng lượng Quốc gia Việt Nam, 18 Láng Hạ, phường Giảng Võ, Hà Nội, Việt Nam

²Công ty Cổ phần Lọc hóa dầu Bình Sơn, 208 Hùng Vương, phường Nghĩa Lộ, tỉnh Quảng Ngãi, Việt Nam

Ngày nhận bài 15/4/2025; ngày chuyển phản biện 17/4/2025; ngày nhận phản biện 14/5/2025; ngày chấp nhận đăng 20/5/2025

Tóm tắt:

Bài báo giới thiệu kết quả nghiên cứu thương mại hóa nhiên liệu đặc chủng diesel DO L-62 tại Nhà máy Lọc dầu Dung Quất theo tiêu chuẩn TCVN/QS 1754:2014 nhằm đáp ứng nhu cầu nhiên liệu trong lĩnh vực quốc phòng - an ninh. Dựa trên cơ sở nghiên cứu các tài liệu kỹ thuật, đánh giá ảnh hưởng của chế độ/thông số vận hành phân xưởng chưng cất dầu thô (CDU) và tính chất nguồn nguyên liệu dầu thô đến chất lượng sản phẩm, nhóm tác giả đã đề xuất các giải pháp cải tiến công nghệ tối ưu nhằm sản xuất sản phẩm mới DO L-62 trên dây chuyền công nghệ hiện có của Nhà máy Lọc dầu Dung Quất. Trong giai đoạn 2022-2024, Công ty Cổ phần Lọc hóa dầu Bình Sơn (BSR) thuộc Tập đoàn Công nghiệp - Năng lượng Quốc gia Việt Nam (Petrovietnam) đã sản xuất và cung cấp cho Bộ Quốc phòng khoảng 70.000 m³ nhiên liệu đặc chủng DO L-62. Kết quả của nghiên cứu này cũng góp phần thúc đẩy sản xuất trong nước, giảm sự phụ thuộc vào nguồn cung nhiên liệu nhập khẩu, đảm bảo an ninh năng lượng quốc gia và tăng cường khả năng tự chủ của Việt Nam trong sản xuất nhiên liệu phục vụ hoạt động quốc phòng.

Từ khóa: diesel DO L-62, Nhà máy Lọc dầu Dung Quất, nhiên liệu đặc chủng.

Chỉ số phân loại: 2.4, 2.11

Research on production of special diesel fuel DO L-62 at Dung Quat Refinery for national defense and security

Manh Hung Le¹, Minh Tien Bui¹, Xuan Huyen Le¹, Ngoc Duong Bui², Van Hoi Nguyen²,
Le Thanh Khuong², Viet Thang Nguyen², Tuan Dat Mai^{2*}

¹Vietnam National Industry - Energy Group, 18 Lang Ha Street, Giang Vo Ward, Hanoi, Vietnam

²Binh Son Refining and Petrochemical Joint Stock Company, 208 Hung Vuong Street, Nghia Lo Ward, Quang Ngai Province, Vietnam

Received 15 April 2025; revised 14 May 2025; accepted 20 May 2025

Abstract:

The article presents the results of research on the commercialisation of special diesel fuel DO L-62 at Dung Quat Refinery according to TCVN/QS 1754:2014 to meet the fuel demand in the field of defense and security. Based on the review of technical documentation and the assessment of the impact of operating modes/parameters of the Crude Distillation Unit as well as the properties of crude oil feedstocks on product quality, the authors proposed optimal technological improvement solutions to produce the new DO L-62 product on the existing technological line of Dung Quat Refinery. In the 2022-2024 period, the Binh Son Refining and Petrochemical Joint Stock Company (BSR) under the Vietnam National Industry - Energy Group (Petrovietnam) produced and supplied approximately 70,000 m³ of DO L-62 special fuel to the Ministry of National Defence. The results of this research also contribute to promoting domestic production, reducing dependence on imported fuel supply, ensuring national energy security, and enhancing Vietnam's self-reliance in producing fuel for defense applications.

Keywords: diesel DO L-62, Dung Quat Refinery, special fuel.

Classification numbers: 2.4, 2.11

*Tác giả liên hệ: Email: datmt@bsr.com.vn

1. Đặt vấn đề

Nhiên liệu DO 0,05S truyền thống của Nhà máy Lọc dầu Dung Quất được sản xuất bằng cách pha trộn 4 cấu tử: 3 phân đoạn kerosene (10-14% khối lượng), dầu khí nhẹ: Light gas oil - LGO (40-50% khối lượng), dầu khí nặng: Heavy gas oil - HGO (15-20% khối lượng) từ CDU và dầu tuần hoàn nhẹ: Light cycle oil - LCO (20-30% khối lượng) từ phân xưởng cracking xúc tác (RFCC - residue fluid catalytic cracking) sau khi được xử lý loại bỏ tạp chất lưu huỳnh tại phân xưởng LCO-HDT, sau đó bổ sung các loại phụ gia như chống mài mòn, tăng trị số cetane, hạ điểm đông... So với DO 0,05S, nhiên liệu đặc chủng DO L-62 được sử dụng cho các trang bị quân sự như tàu ngầm, tàu chiến... có tính chất khác biệt, yêu cầu kỹ thuật nghiêm ngặt hơn. Loại nhiên liệu này chủ yếu được nhập khẩu từ nước ngoài.

Thực hiện chủ trương của Đảng, Nhà nước về tăng cường nghiên cứu, sản xuất và sử dụng nguồn lực trong nước thay thế hàng nhập khẩu, kể từ năm 2012, Bộ Quốc phòng đã đề nghị Petrovietnam và BSR phối hợp nghiên cứu sản xuất nhiên liệu đặc chủng diesel DO L-62 tại Nhà máy Lọc dầu Dung Quất nhằm tự chủ nguồn cung nhiên liệu trong nước đảm bảo quốc phòng - an ninh, giúp chủ động ứng phó trước mọi tình huống.

Trong giai đoạn đầu nghiên cứu (2012-2014), BSR đã hợp tác với Bộ Quốc phòng đánh giá tính phù hợp của chất lượng dầu DO 0,05S dân dụng do Nhà máy Lọc dầu Dung Quất sản xuất theo TCVN 5689:2013 so với yêu cầu kỹ thuật đối với nhiên liệu diesel đặc chủng của Liên bang Nga GOST 305. Trên cơ sở kết quả phân tích, nhóm nghiên cứu đã xây dựng đơn pha chế các thành phần trung gian trong phòng thí nghiệm nhằm đưa chất lượng nhiên liệu DO 0,05S đạt các chỉ tiêu của GOST 305. Sau khi đánh giá khả năng áp dụng các đơn pha chế vào thực tế sản xuất, nhận thấy rằng có thể sử dụng 100% phân đoạn LGO thu được từ quá trình chưng cất dầu thô ở phân xưởng CDU để sản xuất trực tiếp dầu diesel đặc chủng DO L-62. Từ năm 2014, Nhà máy Lọc dầu Dung Quất đã sản xuất thử nghiệm thành công lô công nghiệp nhiên liệu DO L-62 theo tiêu chuẩn TCVN 1754:2014 (tương đương tiêu chuẩn GOST 305). Sau quá trình kiểm nghiệm độc lập chất lượng DO L-62 tại các viện nghiên cứu của Liên bang Nga, Cục Nhiên liệu và Chất cháy tên lửa - Bộ Tham mưu Bảo đảm vật tư - kỹ thuật - Các lực lượng vũ trang Liên bang Nga đã ban hành Quyết định số 71/14 ngày 6/10/2014 cấp phép cho nhiên liệu DO L-62 do Nhà máy Lọc dầu Dung Quất sản xuất được sử dụng trên vũ khí trang bị, thiết bị quân sự và thiết bị đặc biệt.

Tuy nhiên, do nhiều nguyên nhân khách quan, quá trình nghiên cứu thương mại hóa sản phẩm DO L-62 chỉ được bắt đầu từ năm 2019 nhằm đáp ứng nhu cầu nhiên liệu cấp bách của quân đội trước tình hình nguồn cung bị gián đoạn do những xung đột địa chính trị trên thế giới. Đến tháng 11/2022, BSR đã sản xuất thương mại thành công nhiên liệu đặc chủng DO L-62 cung cấp cho Bộ Quốc phòng, hoàn thành xuất sắc nhiệm vụ bảo đảm nguồn cung nhiên liệu trọng yếu cho các hoạt động quốc phòng - an ninh.

Bài báo trình bày quá trình nghiên cứu thương mại hóa sản phẩm đặc chủng DO L-62 tại Nhà máy Lọc dầu Dung Quất trong

giai đoạn 2019-2022. Nghiên cứu này kế thừa các kết quả nghiên cứu thử nghiệm ở giai đoạn trước và tiếp tục tìm ra các giải pháp cải tiến công nghệ tối ưu để giải quyết các vấn đề kỹ thuật phát sinh liên quan đến sự thay đổi về nguồn nguyên liệu. Trong giai đoạn 2012-2014, quá trình nghiên cứu dựa trên nguồn dầu thô chủ yếu từ mỏ Bạch Hổ. Đến năm 2019, Nhà máy Lọc dầu Dung Quất đã chế biến các loại dầu thô khác (trong nước và nhập khẩu), nhằm bảo đảm nguồn nguyên liệu ổn định khi sản lượng dầu Bạch Hổ trên đà suy giảm. Do tính chất dầu thô đầu vào liên tục thay đổi nên gây ảnh hưởng đến một số chỉ tiêu quan trọng của sản phẩm DO L-62 như độ nhớt, độ acid. Vì vậy, nhóm tác giả đã thực hiện nghiên cứu, đánh giá đồng bộ tính chất nguồn nguyên liệu chế biến, các chế độ vận hành, thông số công nghệ của phân xưởng CDU nhằm xác định cơ sở khoa học để đề xuất các giải pháp cải tiến công nghệ tối ưu, giúp đạt mục tiêu thương mại hóa nhiên liệu đặc chủng DO L-62 theo tiêu chuẩn TCVN 1754:2014, đồng thời vẫn duy trì vận hành Nhà máy Lọc dầu Dung Quất an toàn, ổn định và hiệu quả.

2. Phương pháp nghiên cứu

Phương pháp nghiên cứu tập trung vào các đối tượng nghiên cứu chính là nguồn nguyên liệu, sản phẩm, cấu tử trung gian và hệ thống công nghệ chế biến của Nhà máy Lọc dầu Dung Quất. Các phương pháp nghiên cứu chính bao gồm:

Nghiên cứu lý thuyết: Tìm hiểu lý thuyết cơ bản về các quá trình công nghệ đang được ứng dụng; tính chất, vai trò, chức năng của các dòng công nghệ; sơ đồ công nghệ, quy trình vận hành, giới hạn thiết kế của từng thiết bị, cụm thiết bị trong các phân xưởng, yêu cầu kỹ thuật đối với sản phẩm...

Nghiên cứu thống kê - điều tra: Thu thập, phân tích dữ liệu vận hành nhằm xác định các nút thắt kỹ thuật hoặc đánh giá trạng thái, tính chất, tình trạng hoạt động của đối tượng nghiên cứu qua đó định hướng nghiên cứu/tìm kiếm giải pháp khắc phục hoặc cơ hội tối ưu hóa điều kiện hoạt động của các đối tượng nghiên cứu.

Nghiên cứu so sánh: Đánh giá, so sánh yêu cầu kỹ thuật đối với các loại nhiên liệu đặc chủng và nhiên liệu truyền thống của Nhà máy Lọc dầu Dung Quất. So sánh thành phần, tính chất hóa lý các nguồn nguyên liệu, cấu tử trung gian và sản phẩm để tối ưu hóa quy trình sản xuất.

Nghiên cứu thực nghiệm: Từ quy mô phòng thí nghiệm đến quy mô thiết bị, cụm thiết bị và mở rộng đến quy mô toàn phân xưởng và toàn bộ Nhà máy Lọc dầu Dung Quất.

3. Kết quả và bàn luận

3.1. So sánh yêu cầu kỹ thuật đối với nhiên liệu diesel đặc chủng và nhiên liệu diesel dân dụng

Do điều kiện hoạt động đặc thù và tính năng chuyên biệt của các phương tiện kỹ thuật quân sự (như tàu ngầm, tàu hải quân, xe tăng...), yêu cầu nhiên liệu diesel sử dụng phải có chất lượng cao và số lượng các chỉ tiêu kỹ thuật cần kiểm soát nhiều hơn so với nhiên liệu diesel thông thường. Sự khác biệt giữa tiêu chuẩn TCVN 5689:2013 và TCVN/QS 1754:2014 được trình bày cụ thể tại bảng 1 [1-3]. Theo kết quả phân tích, các yêu cầu kỹ thuật theo tiêu

chuẩn TCVN 5689:2013 cho nhiên liệu DO 0,05S chưa phù hợp với tiêu chuẩn TCVN/QS 1754:2014 về các chỉ tiêu: thành phần cất, điểm đông đặc, nhiệt độ chớp cháy cốc kín, cặn carbon của 10% cặn chung cất. Ngoài ra, tiêu chuẩn TCVN/QS 1754:2014 yêu cầu kiểm soát thêm các chỉ tiêu như: trị số cetane, hàm lượng nhựa thực tế, điểm đục, nhiệt độ giới hạn lọc, độ nhớt động học ở 20°C, hàm lượng lưu huỳnh mercaptan và độ acid (TAN - Total acid number).

Bảng 1. So sánh yêu cầu kỹ thuật giữa các tiêu chuẩn TCVN 5689:2013 (DO 0,05S) và TCVN/QS 1754:2014 (DO L-62).

TT	Chỉ tiêu	TCVN 5689:2013 DO 0,05S	TCVN/QS 1754:2014 DO L-62	Phương pháp thử
1	Thành phần cất			
	Nhiệt độ cất 50% (°C)	-	≤280	TCVN 2698
	Nhiệt độ cất 90% (°C)	≤360	-	ASTM D86
	Nhiệt độ cất 95% (°C)	-	≤360	GOST 2177
2	Khối lượng riêng tại 15°C (kg/m³)	820-860	≤860	TCVN 6594 ASTM D4052 GOST 3900
3	Nhiệt độ chớp cháy cốc kín (°C)	≥55	≥62	TCVN 7485 ASTM D56 GOST 6356
4	Độ nhớt động học, cSt			TCVN 3171
	Ở 20°C	-	3-6	ASTM 445
	Ở 40°C	2-4,5	2-4,5	GOST 33
5	Điểm đục (°C)	-	≤-5	TCVN 7990 ASTM D2500 GOST 5066
6	Điểm đông đặc (°C)	≤6	≤-10	TCVN 3753 ASTM D97 GOST 20287
7	Nhiệt độ giới hạn lọc (°C)	-	≤-5	ASTM D6371 GOST 22254
8	Trị số cetane	-	≥45	TCVN 7630 ASTM D613 GOST 52709
9	Chỉ số cetane	≥46	≥50	TCVN 3180 ASTM D4737 GOST 27768
10	Hàm lượng nhựa thực tế (mg/100 cm³ nhiên liệu)	-	≤40	TCVN 6593 ASTM D381 GOST 1567
11	Hàm lượng lưu huỳnh mercaptan (% khối lượng)	-	≤0,01	TCVN 2685 ASTM D3227 GOST 17323
12	Hàm lượng lưu huỳnh tổng (mg/kg)	≤500	≤2000	TCVN 7760 ASTM D5453 GOST 51947
13	Độ acid (mg KOH/100 ml)	-	≤5	TCVN 6325 ASTM D664 GOST 5985
14	Cặn carbon của 10% cặn chung cất (% khối lượng)	≤0,3	≤0,2	TCVN 6324 ASTM D4530 GOST 19932

TCVN 5689:2013 dành cho nhiên liệu diesel loại Euro 2 (DO 0,05S) có hiệu lực trong giai đoạn nghiên cứu 2013-2022. Tiêu chuẩn mới ban hành TCVN 5689:2024 dành cho nhiên liệu diesel mức 2 bổ sung thêm chỉ tiêu trị số cetane (không nhỏ hơn 46) và điều chỉnh điểm đông đặc dành cho mùa hè không lớn hơn 12°C và cho mùa đông không lớn hơn 3°C.

Nhiên liệu diesel sở hữu một số tính chất sử dụng như tính lưu chuyển, tính bắt cháy, tính bay hơi và tính ăn mòn.

Tính lưu chuyển được thể hiện qua các chỉ tiêu đặc trưng như: độ nhớt, nhiệt độ vẩn đục, nhiệt độ đông đặc và nhiệt độ giới hạn lọc. Để mở rộng phạm vi hoạt động của các loại tàu ngầm, tàu hải quân ở những vùng biển lạnh, TCVN/QS 1754:2014 yêu cầu nhiệt độ vẩn đục và nhiệt độ giới hạn lọc không lớn hơn -5°C, điểm đông đặc không lớn hơn -10°C, trong khi TCVN 5689:2013 chỉ có quy định đối với nhiệt độ đông đặc (không lớn hơn 6°C). Đồng thời, tiêu chuẩn quân sự còn yêu cầu phân tích thêm độ nhớt động học ở 20°C nhằm kiểm soát hiệu quả bôi trơn và hiệu suất bơm phun nhiên liệu ở nhiệt độ thấp.

Về tính bắt cháy, TCVN/QS 1754:2014 yêu cầu tính trị số cetane, trong khi TCVN 5689:2013 chỉ yêu cầu tính toán chỉ số cetane. Các động cơ diesel hiện đại sử dụng nhiên liệu có trị số cetane tối ưu trong khoảng 40-50. Nhưng khi động cơ làm việc trong điều kiện nhiệt độ thấp hơn thì cần dùng nhiên liệu có trị số cetane cao hơn. Bên cạnh đó, nhiên liệu DO L-62 đòi hỏi nhiệt độ chớp cháy cốc kín cao hơn so với nhiên liệu DO 0,05S. Điều này liên quan đến việc các phương tiện hàng hải nói chung hay các tàu quân sự nói riêng hoạt động nhiều ngày trên biển, thời gian tồn chứa lâu, nên nếu nhiệt độ chớp cháy quá thấp rất dễ gây hiện tượng cháy nổ.

Tính bay hơi của nhiên liệu diesel chủ yếu được đặc trưng bằng thành phần cất. Các chỉ tiêu này ảnh hưởng đến mức độ phun nhiên liệu, độ cháy hoàn toàn, khả năng tạo khói, tạo cặn và làm loãng dầu trong carter của nhiên liệu. TCVN/QS 1754:2014 yêu cầu xác định thành phần cất tại 50 và 95% thể tích, trong khi TCVN 5689:2013 chỉ yêu cầu xác định chỉ tiêu này tại 90% thể tích.

Tính ăn mòn của nhiên liệu rất có hại cho hệ thống động cơ thiết bị quân sự, ngoài các chỉ tiêu như hàm lượng lưu huỳnh, hàm lượng nước, thí nghiệm ăn mòn mảnh đồng, TCVN/QS 1754:2014 còn kiểm soát thêm các chỉ tiêu khác như: hàm lượng lưu huỳnh mercaptan và độ acid.

Ngoài ra, các chỉ tiêu quan trọng khác của DO L-62 như hàm lượng nhựa thực tế, thể hiện độ ổn định và độ sạch của nhiên liệu trong quá trình lưu trữ, còn cặn carbon 10% cặn chung cất cho thấy khả năng tạo muội của nhiên liệu khi đốt cháy. Cả hai chỉ tiêu này càng thấp càng tốt, giúp diesel duy trì chất lượng tốt trong thời gian bảo quản lâu dài, cháy sạch hơn, bảo vệ động cơ và hệ thống xả hiệu quả hơn.

Như vậy, tiêu chuẩn TCVN/QS 1754:2014 có nhiều quy định kiểm soát chất lượng nghiêm ngặt hơn so với TCVN 5689:2013 nhằm nâng cao hiệu suất động cơ cho các phương tiện kỹ thuật quân sự và bảo đảm tính chất nhiên liệu ít bị biến đổi trong quá trình lưu trữ lâu dài lên đến 5-10 năm.

3.2. Nghiên cứu thương mại hóa nhiên liệu diesel đặc chủng DO L-62

Công ty Cổ phần Lọc hóa dầu Bình Sơn đã tiến hành nghiên cứu, đánh giá mức độ sẵn sàng của hệ thống công nghệ sản xuất của Nhà máy Lọc dầu Dung Quất nhằm thương mại hóa sản phẩm DO L-62 cung cấp cho Bộ Quốc phòng. Quá trình này được chia làm 2 giai đoạn bao gồm: quá trình nghiên cứu sản xuất thử nghiệm và quá trình sản xuất thương mại các lô sản phẩm đầu tiên.

Trong giai đoạn nghiên cứu sản xuất thử nghiệm, các tác giả tiến hành đánh giá các yếu tố ảnh hưởng đến chất lượng sản phẩm DO L-62.

Về tính chất nguồn nguyên liệu: Trong giai đoạn sản xuất thử nghiệm, Nhà máy Lọc dầu Dung Quất đang chế biến hỗn hợp dầu thô trong nước (Bạch Hổ, Heavy Bạch Hổ, Ruby, Sư Tử Đen) và nhập khẩu (Bonny Light, Sokol). Trong đó, dầu Bạch Hổ và Sư Tử Đen có tổng tỷ lệ chế biến cao nhất, chiếm 60-81% thể tích. Một số tính chất cơ bản của các loại dầu thô chế biến được trình bày tại bảng 2. Trong số các loại dầu thô chế biến, dầu Sư Tử Đen thuộc loại nhẹ, có khối lượng riêng và độ nhớt động học thấp hơn so với các loại dầu khác, hàm lượng naphtha cao trên 30% thể tích. Ngoài ra, 2 loại dầu ngoại nhập Bonny Light và Sokol cũng có độ nhớt động học thấp, hàm lượng naphtha chiếm lần lượt khoảng 27 và 29% thể tích. Dựa trên độ nhớt động học có thể chia các loại dầu thô chế biến thành 3 nhóm: nhóm dầu có độ nhớt thấp (Sư Tử Đen, Bonny Light, Sokol), nhóm dầu có độ nhớt trung bình (Bạch Hổ) và nhóm dầu có độ nhớt cao (Heavy Bạch Hổ, Ruby).

Bảng 2. Tính chất hóa lý của các loại dầu thô được chế biến ở giai đoạn thử nghiệm.

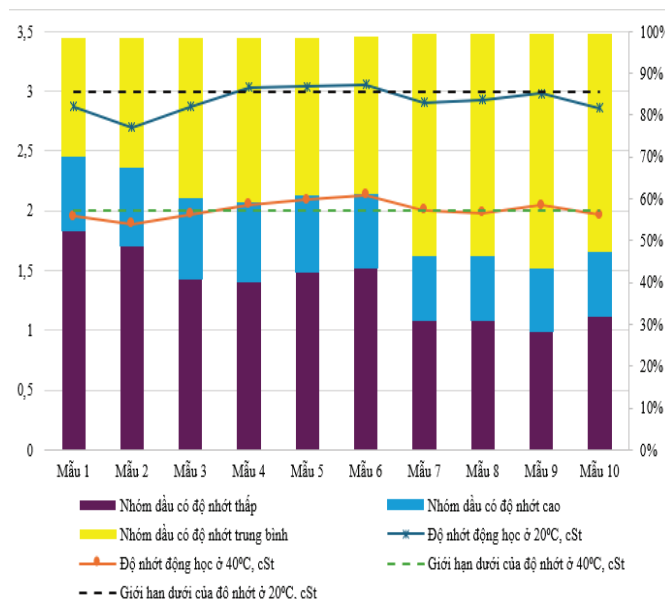
TT	Chi tiêu chất lượng	Tên dầu thô					
		Bạch Hổ	Heavy Bạch Hổ	Sư Tử Đen	Ruby	Bonny Light	Sokol
1	Khối lượng riêng ở 15°C (kg/l)	0,8247	0,8452	0,7967	0,8453	0,8456	0,8508
2	Hàm lượng naphtha (C5-165°C) (% thể tích)	17,37	14,64	32,38	17,67	28,78	26,59
3	Nhiệt độ đông đặc (°C)	36	33	27	24	-39	-30
4	Độ nhớt động học ở 50°C (cSt)	5,356	8,801	2,161	6,764	2,406	2,431
5	Hàm lượng lưu huỳnh tổng (% khối lượng)	0,041	0,0824	0,026	0,0707	0,15	0,289
6	Acid tổng (mg KOH/g)	0,037	0,043	0,017	0,270	0,267	0,173
7	Độ nhớt động học của phân đoạn LGO (205-300°C) (cSt)						
	Ở 20°C	3,365	3,346	3,413	3,353	-	-
	Ở 40°C	2,206	2,270	2,204	2,286	2,470	2,305
8	Tỷ lệ chế biến (% thể tích)	28-56	7-15	15-33	11-12	2-17	14-15

Kết quả phân tích các mẫu LGO từ phân xưởng CDU trong giai đoạn nghiên cứu sản xuất thử nghiệm được trình bày tại bảng 3.

Bảng 3. Kết quả phân tích một số chỉ tiêu chất lượng của mẫu dầu khí nhẹ.

TT	Chi tiêu	TCVN/QS 1754:2014	Tên các mẫu									
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	Chỉ số cetane	≥50		52,3		53,3			54,7		58,5	51,4
2	Khối lượng riêng tại 15°C (kg/m³)	≤860		813,9		816,6			812,6		807,7	
3	Thành phần cất											
	Nhiệt độ cất 50% thể tích (°C)	≤280		236,7		243,5			242,4		245	240,3
	Nhiệt độ cất 95% thể tích (°C)	≤360		285		289,6			294,7		292,8	283,7
	Độ nhớt động học (cSt)											
4	Ở 20°C	3-6	2,869	2,696	2,872	3,033	3,035	3,057	2,905	2,929	2,98	2,861
	Ở 40°C	2-4,5	1,951	1,888	1,973	2,051	2,09	2,132	2,003	1,982	2,044	1,963
5	Điểm chớp cháy cốc kín (°C)	≥62							63		64	68,5
6	Điểm vân đục (°C)	≤-5	-17	-18	-18	-19	-17	-14	-18	-21	-17	-21
7	Điểm đông đặc (°C)	≤-10	-21	-24	-21	-21	-21	-18	-21	-21	-18	-21

Theo số liệu bảng 3, các chỉ tiêu chất lượng chính của phân đoạn LGO như chỉ số cetane, khối lượng riêng, điểm chớp cháy, điểm đông đặc... đều đáp ứng theo quy định của TCVN/QS 1754:2014. Tuy nhiên, độ nhớt động học ở 20 và 40°C không phù hợp với tiêu chuẩn này. Mỗi tương quan giữa độ nhớt động học với thành phần dầu thô chế biến được mô tả ở hình 1.



Hình 1. Mỗi tương quan giữa độ nhớt động học và loại dầu thô chế biến.

Giá trị của độ nhớt động học ở 20 và 40°C của các mẫu LGO đều thấp và nằm ở mức tiệm cận giới hạn dưới, lần lượt là 3 và 2 cSt. Nguyên nhân do Nhà máy Lọc dầu Dung Quất đang trong giai đoạn chế biến các loại dầu nhẹ có độ nhớt thấp và chứa nhiều naphtha như Sư Tử Đen, Bonny Light và Sokol. Hình 1 cho thấy, mẫu 1 và 2 có độ nhớt thấp khi nhóm dầu có độ nhớt thấp chiếm tỷ lệ cao trong hỗn hợp chế biến (49-52% thể tích). Độ nhớt động học của các mẫu 3-6 tăng lên khi tỷ lệ nhóm dầu có độ nhớt thấp trong hỗn hợp chế biến giảm, chỉ còn khoảng 40-44% thể tích, trong khi tỷ lệ dầu có độ nhớt cao không thay đổi (chiếm 18-19% thể tích). Đối với các mẫu 7-10, tỷ lệ các nhóm dầu có độ nhớt thấp và cao đồng thời giảm, lần lượt còn 28-32% và 15-16% thể tích, trong khi tỷ lệ dầu Bạch Hổ có độ nhớt trung bình tăng lên đáng kể, chiếm tới 52-56% thể tích. Tuy nhiên, độ nhớt của các mẫu 7-10 có xu hướng giảm nhẹ thay vì tăng lên.

Ngoài ra, theo kết quả phân tích độ nhớt động học của phân đoạn LGO (205-300°C) của các loại dầu thô tại bảng 2, giá trị độ nhớt đều cao hơn 3 và 2 cSt, lần lượt tại 20 và 40°C. Như vậy, sự thay đổi độ nhớt của LGO không hoàn toàn phụ thuộc vào độ nhớt của các loại dầu thô chế biến. Nguyên nhân độ nhớt của LGO thấp dưới mức quy định có thể do bị nhiễm lẫn các thành phần nhẹ từ phân đoạn kerosene và naphtha trong quá trình chế biến tại phân xưởng CDU.

Về chế độ vận hành của phân xưởng chưng cất dầu thô: Các chế độ vận hành được quy định trong sổ tay vận hành 8474L-011-ML-001-3 (bảng 4) [4]. Khi phân xưởng CDU vận hành ở các chế độ khác nhau thì dải nhiệt độ sôi của các phân đoạn chưng cất cũng có sự chênh lệch nhất định, trong khoảng 5-10°C.

Bảng 4. Các chế độ vận hành của phân xưởng chưng cất dầu thô.

TT	Chế độ vận hành	Dải nhiệt độ sôi của các phân đoạn (°C)				
		Naphtha	Kerosene	LGO	HGO	Cặn
1	Theo thiết kế	C5-165	165-205	205-330	330-370	>370
2	Tối đa naphtha	C5-170	170-205	205-330	330-370	>370
3	Tối thiểu naphtha	C5-160	160-205	205-330	330-370	>370
4	Tối đa kerosene	C5-160	160-210	210-330	330-370	>370
5	Tối thiểu kerosene	C5-170	170-200	200-330	330-370	>370
6	Tối đa LGO	C5-165	165-200	200-340	340-370	>370
7	Tối thiểu LGO	C5-165	165-210	210-320	320-370	>370
8	Tối đa HGO	C5-165	165-205	205-320	320-370	>370

Trong giai đoạn nghiên cứu sản xuất thử nghiệm, phân xưởng CDU được vận hành ở chế độ tối thiểu naphtha, tối thiểu kerosene trong khi đang chế biến các loại dầu thô có tỷ lệ naphtha cao, nên dẫn đến một phần naphtha bị đẩy xuống kerosene và một phần kerosene nhiễm lẫn vào LGO làm giảm độ nhớt động học của sản phẩm diesel DO L-62.

Như vậy, chỉ tiêu độ nhớt động học của LGO không phù hợp với tiêu chuẩn TCVN/QS 1754:2014 do chịu ảnh hưởng từ nguồn dầu thô chế biến và chế độ vận hành của phân xưởng

CDU. Khi giảm điểm cắt phân đoạn Kerosene/LGO, các thành phần nhẹ có trong dầu thô đã nhiễm lẫn vào LGO, dẫn đến giảm độ nhớt.

3.3. Giải pháp cải tiến kỹ thuật

Đối với trường hợp điều chỉnh thành phần nguồn nguyên liệu chế biến phù hợp với yêu cầu chất lượng của diesel DO L-62, phương án này ít linh động vì phụ thuộc vào các hợp đồng mua bán dầu thô, có thể gây ảnh hưởng đến chế độ vận hành ổn định của Nhà máy và chất lượng các dòng công nghệ khác. Do đó, nhóm tác giả đề xuất thực hiện giải pháp cải tiến

Bảng 5. Kết quả phân tích mẫu dầu khí nhẹ của phân xưởng chưng cất dầu thô ở giai đoạn thử nghiệm.

TT	Chỉ tiêu	TCVN/QS 1754:2014	Kết quả phân tích			Phương pháp thử
			Mẫu 11	Mẫu 12	Mẫu 13	
1	Chỉ số cetane	≥50	53,1	54,6	54,0	ASTM D4737
2	Khối lượng riêng tại 15°C (kg/m³)	≤860	819,8	818,5	818,7	ASTM D4052
Thành phần cất						
3	Nhiệt độ cất 50% thể tích (°C)	≤280	246,6	250,4	248,9	ASTM D86
	Nhiệt độ cất 95% thể tích (°C)	≤360	287,3	290,3	286,7	
	Độ nhớt động học (cSt)					
4	Ở 20°C	3-6	3,305	3,227	3,178	ASTM D445
	Ở 40°C	2-4,5	2,208	2,191	2,169	
5	Điểm chớp cháy cốc kín (°C)	≥62	76,5	74,0	74,0	ASTM D93
6	Điểm vẫn đục (°C)	≤-5	-18	-18	-18	ASTM D2500
7	Điểm đông đặc (°C)	≤-10	-18	-18	-18	ASTM D97
8	Nhiệt độ giới hạn lọc (°C)	≤-5	-18	-17	-19	ASTM D6371
9	Lưu huỳnh tổng (mg/kg)	≤2000	314	301	298	ASTM D4294
10	Hàm lượng tro (% khối lượng)	≤0,01	0,001	0,0007	0,0011	ASTM D482
11	Độ cốc hóa của cặn 10% (% khối lượng)	≤0,2	0,01	0,01	0,01	ASTM D4530
12	Hàm lượng tạp chất cơ học (% khối lượng)	≤0,005	0,0003	0,0003	0,0004	ASTM D2276
13	Hàm lượng nước (mg/l)	≤200	59	63	51	ASTM E203/ D6304
14	Độ bôi trơn: đường kính vết xước ở 60°C (µm)	≤460	420	440	420	ASTM D6079
15	Độ acid (mg OH/100 ml)	≤5	0,028	0,019	0,025	ASTM D664
16	Ăn mòn mảnh đồng ở 50°C (3 giờ)	≤1	1a	1a	1a	ASTM D130
17	Hàm lượng lưu huỳnh mercaptan (% khối lượng)	≤0,01	0,0002	0,0001	0,0001	ASTM D3227
18	Hàm lượng nhựa thực tế (mg/100 ml)	≤40	1,0	1,2	1,0	ASTM D381

kỹ thuật nhằm điều chỉnh các thông số công nghệ của phân xưởng CDU để chủ động sản xuất nhiên liệu diesel DO L-62 ngay cả khi nguồn dầu thô có tính chất không phù hợp.

Để điều chỉnh giá trị độ nhớt động học của DO L-62, phân xưởng CDU đã được vận hành theo chế độ tối đa xăng và tối đa kerosene nhằm hạn chế các thành phần nhẹ nhiễm lẫn vào phân đoạn LGO. Kết quả phân tích mẫu LGO được trình bày ở bảng 5.

Từ kết quả phân tích, chất lượng các mẫu LGO hoàn toàn phù hợp với yêu cầu kỹ thuật của TCVN/QS 1754:2014 đối với nhiên liệu DO L-62. Như vậy, sau khi điều chỉnh chế độ vận hành của phân xưởng CDU, Nhà máy lọc dầu Dung Quất đã sản xuất thử nghiệm thành công nhiên liệu DO L-62 trực tiếp từ dòng LGO.

3.4. Giai đoạn nghiên cứu sản xuất thương mại

Về tính chất nguồn nguyên liệu: Sau 2 năm kể từ khi thực hiện sản xuất thử nghiệm, BSR đã ký kết hợp đồng để bàn giao các lô sản phẩm thương mại đầu tiên cho phía khách hàng. Tuy nhiên, tại thời điểm này, nguồn nguyên liệu đã có sự thay đổi về thành phần và tính chất. So với giai đoạn nghiên cứu sản xuất thử nghiệm, Nhà máy Lọc dầu Dung Quất chế biến bổ sung thêm các loại dầu thô mới như: Tê Giác Trắng, Đại Hùng, Azeri Light, WTI và Bu Attifel. Trong đó, dầu Azeri Light và Đại Hùng có chỉ số acid tổng cao hơn nhiều so với các loại dầu thô còn lại nên có khả năng cao gây ảnh hưởng đến chất lượng diesel DO L-62. Một số tính chất cơ bản của dầu thô được trình bày tại bảng 6.

Bảng 6. Tính chất hóa lý của các loại dầu thô được chế biến ở giai đoạn thương mại hóa.

TT	Chỉ tiêu chất lượng	Loại dầu thô							
		Bạch Hồ	Heavy Bạch Hồ	Đại Hùng	Sư Tử Đen	Tê Giác Trắng	Azeri Light	WTI	Bu Attifel
1	Khối lượng riêng ở 15°C (kg/l)	0,8247	0,8452	0,8434	0,7967	0,8223	0,8305	0,8159	0,8075
2	Hàm lượng naphtha (% thể tích)	17,37	14,64	24,37	32,38	21,2	27,34	31,3	16,98
3	Nhiệt độ đông đặc (°C)	36	33	24	27	24	-33	-21	36
4	Độ nhớt động học ở 50°C (cSt)	5,356	8,801	2,542	2,161	3,994	2,627	3,719	4,813
5	Hàm lượng lưu huỳnh tổng (% khối lượng)	0,041	0,0824	0,077	0,026	0,047	0,15	0,071	0,166
6	Acid tổng (mg KOH/g)	0,037	0,043	0,242	0,017	0,117	0,496	0,017	0,051
7	Tỷ lệ chế biến (% khối lượng)	15-34	3-21	0-24	11-25	4-24	0-18	2-5	3-18

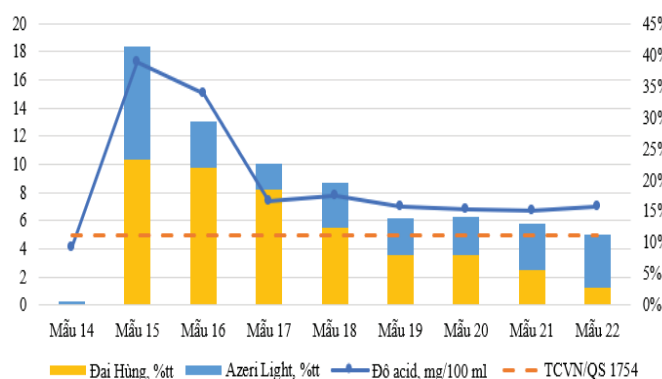
Về chế độ vận hành: Dựa trên kết quả nghiên cứu ở giai đoạn thử nghiệm, Nhà máy được vận hành ở chế độ tối đa xăng, tối đa kerosene để điều chỉnh chỉ tiêu độ nhớt động học của sản phẩm.

Kết quả phân tích các mẫu LGO được trình bày tại bảng 7.

Bảng 7. Kết quả phân tích mẫu dầu khí nhẹ của phân xưởng chưng cất dầu thô ở giai đoạn thương mại hóa.

TT	Tên mẫu	Tên chỉ tiêu					Ghi chú
		Độ nhớt động học (cSt)		Độ acid (mg KOH/100 ml)	Điểm đông đặc (°C)	Độ bôi trơn ở 60°C (μm)	
		Ở 20°C	Ở 40°C				
		3-6	2-4,5	≤5	≤-10	≤460	
1	Mẫu 14	3,663	2,415	4,1	-12	430	TCVN/QS 1754:2014
2	Mẫu 15	3,402	2,254	17,3	-15	410	
3	Mẫu 16	3,396	2,237	15	-12	430	
4	Mẫu 17	3,419	2,272	7,4	-12	420	
5	Mẫu 18	3,317	2,217	7,8	-12	430	
6	Mẫu 19	3,489	2,322	7,0	-12	440	
7	Mẫu 20	3,56	2,372	6,8	-12	440	
8	Mẫu 21	3,439	2,379	6,7	-12	430	
9	Mẫu 22	3,344	2,256	7,0	-12	420	

Theo kết quả thu được ở bảng 7, các tính chất chính của các mẫu LGO như độ nhớt động học, điểm đông đặc, độ bôi trơn đều đáp ứng tiêu chuẩn TCVN/QS 1754:2014, ngoại trừ chỉ tiêu độ acid tổng. Sau lô sản phẩm thương mại đầu tiên (Mẫu 14), các mẫu về sau đều không đạt yêu cầu về độ acid. Mối tương quan giữa loại dầu thô chế biến và độ acid được thể hiện ở hình 2.



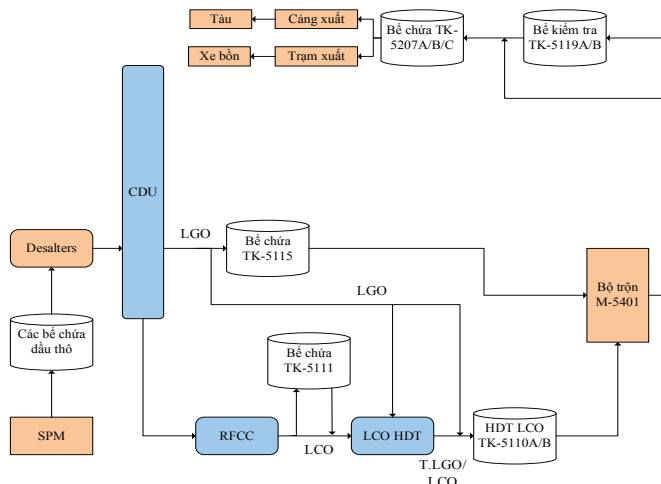
Hình 2. Mối tương quan giữa độ acid tổng và loại dầu thô chế biến.

Nguyên nhân chỉ tiêu độ acid không đạt yêu cầu do Nhà máy chế biến các loại dầu thô có độ acid cao như Azeri Light (0,5-0,6 mg KOH/100 ml), Đại Hùng (khoảng 0,2-0,3 mg KOH/100 ml). Chỉ tiêu acid của Mẫu 15 tăng đột biến đến 17,3 mg KOH/100 ml do thành phần dầu Azeri Light và Đại Hùng chiếm đến 41% thể tích hỗn hợp dầu thô chế biến. Sau đấy, BSR điều chỉnh lại tỷ lệ dầu thô theo hướng giảm dần hàm lượng của 2 loại dầu này xuống dưới 15% thể tích nguyên liệu, độ acid tuy giảm nhưng vẫn dao động ở mức 6,7-7 mg KOH/100 ml, cao hơn ngưỡng quy định là 5 mg KOH/100 ml.

3.5. Giải pháp cải tiến kỹ thuật

Để giảm độ acid trong phân đoạn LGO khi Nhà máy Lọc dầu Dung Quất chế biến các loại dầu có chỉ số TAN cao, nhóm tác giả đã đưa ra giải pháp cải tiến bằng cách điều chỉnh tỷ lệ dầu Azeri Light và Đại Hùng xuống dưới 15% thể tích nguyên liệu nhằm hạ độ acid của LGO nhỏ hơn <7 mgKOH/100 ml và xử lý bổ sung phân đoạn này bằng hydro tại phân xưởng LCO-HDT (U-24) [5].

Sơ đồ minh họa quá trình sản xuất được mô tả ở hình 3. Phân đoạn LGO thu được từ quá trình chưng cất dầu thô dưới áp suất khí quyển tại phân xưởng CDU, một phần được chuyển về bể chứa trung gian TK-5115, phần còn lại được chuyển qua phân xưởng LCO-HDT, phối trộn cùng với LCO từ phân xưởng RFCC để xử lý tạp chất bằng hydro, điều chỉnh chỉ tiêu độ acid. Sau đấy, 2 dòng LGO và LGO-LCO đã qua xử lý được pha trộn tại bộ trộn M-5401 và vận chuyển ra bể TK-5119A/B để lấy mẫu kiểm tra chất lượng sản phẩm. Sản phẩm đạt chất lượng được bơm vào 1 trong 3 bể chứa TK 5207 A/B/C để xuất bán theo đường bộ hoặc đường thủy.



Hình 3. Sơ đồ quá trình sản xuất nhiên liệu DO L-62 tại Nhà máy Lọc dầu Dung Quất. SPM: phao nhập dầu thô; Desalters: cụm thiết bị tách muối; CDU: phân xưởng chưng cất dầu thô; RFCC: phân xưởng cracking xúc tác; LCO HDT: phân xưởng xử lý dầu tuần hoàn nhẹ bằng hydro.

Điều kiện thử nghiệm tại phân xưởng LCO-HDT như sau: Công suất U-24: 70-90%; nhiệt độ phản ứng: 302-310°C; tỷ lệ nguyên liệu: thử nghiệm chế biến hỗn hợp LGO-LCO ở tỷ lệ 30:70 và 80:20 thể tích.

Với thành phần hỗn hợp LGO-LCO ở tỷ lệ 30:70 thể tích, chỉ số cetane của sản phẩm sau xử lý chỉ đạt 42-43. Khi điều chỉnh tỷ lệ LGO-LCO thành 80:20 thể tích, chỉ số cetane đạt 50-51 (theo tiêu chuẩn TCVN/QS 1754:2014, chỉ số cetane không nhỏ hơn 50). Nguyên nhân do phân xưởng LCO-HDT sử dụng công nghệ hydrotreating nhẹ nên các hợp chất thơm trong LCO không chuyển hóa hoàn toàn, dẫn đến sản phẩm chưa đạt yêu cầu về chỉ số cetane khi LCO chiếm tỷ lệ cao trong thành phần nguyên liệu. Vì vậy, nhóm tác giả lựa chọn phương án tăng tỷ lệ của phân đoạn chưng cất trực tiếp LGO trong hỗn hợp đầu vào LCO-HDT lên 80% thể tích để tiếp tục thử nghiệm giảm độ acid của sản phẩm.

Bảng 8. Kết quả phân tích mẫu thử nghiệm của quá trình xử lý dầu khí nhẹ tại U-24.

TT	Chỉ tiêu chất lượng	TCVN/QS 1754	Mẫu đầu vào	Mẫu đầu ra	Phương pháp thử
1	Độ acid (mg KOH/100ml)	≤5	5-7	1,8-2,2	ASTM D664
2	Độ bôi trơn: đường kính vết xước ở 60°C (μm)	≤460	380-400	550-600	ASTM D6079
3	Điểm đông đặc (°C)	≤-10	-12	-12	ASTM D97

Theo số liệu phân tích thí nghiệm tại bảng 8, chỉ tiêu độ acid đã giảm sau khi phân đoạn LGO được xử lý tạp chất ở phân xưởng LCO-HDT, tuy nhiên giá trị của đường kính vết xước ở 60°C lại tăng lên. Nguyên nhân do trong quá trình xử lý bằng hydro, xảy ra phản ứng tách loại S khỏi các hợp chất hydrocarbon tạo thành khí H₂S. Mặc dù lưu huỳnh dễ gây ra hiện tượng ăn mòn kim loại và tạo ra các khí thải độc hại khi đốt cháy nhưng chất này cũng có vai trò như một chất bôi trơn tự nhiên do các đặc tính hóa học của nó và ảnh hưởng đến khả năng tạo màng bảo vệ trên bề mặt kim loại. Cơ chế chính bao gồm:

Hình thành màng bảo vệ: Lưu huỳnh trong diesel có thể phản ứng với các bề mặt kim loại để tạo thành sulfide. Các hợp chất này hoạt động như một lớp bảo vệ mỏng trên bề mặt kim loại, giúp giảm ma sát và mài mòn giữa các bộ phận chuyển động, có khả năng duy trì bôi trơn trong môi trường áp suất cao của hệ thống phun nhiên liệu.

Khả năng tạo màng bôi trơn: Lưu huỳnh có tính năng giúp tăng khả năng bám dính của nhiên liệu trên bề mặt kim loại, tạo thành màng bôi trơn hiệu quả hơn. Khi có lớp màng bám này, sự mài mòn giữa các bề mặt kim loại được giảm đi đáng kể, giúp bảo vệ các bộ phận của động cơ.

Do đó, để điều chỉnh chỉ tiêu độ bôi trơn cho sản phẩm diesel, cần bổ sung thêm phụ gia bôi trơn như EC5719A. Theo hướng dẫn của nhà cung cấp, bổ sung phụ gia bôi trơn với nồng độ 150 ppmv có thể giảm giá trị của đường kính vết xước ở 60°C khoảng 150-250 μm. Kết quả thử nghiệm phụ gia được trình bày ở bảng 9.

Bảng 9. Kết quả thử nghiệm phụ gia bôi trơn với nồng độ 150 ppmv cho các mẫu LGO-LCO sau xử lý tại U-24.

TT	Tên mẫu	TCVN/QS 1754:2014	Kết quả phân tích độ bôi trơn (μm)	
			Mẫu trắng	Mẫu có phụ gia
1	Mẫu 23		580	400
2	Mẫu 24		600	430
3	Mẫu 25	≤460	680	450
4	Mẫu 26		630	420
5	Mẫu 27		620	420

Kết quả bảng 9 cho thấy, khi bổ sung phụ gia bôi trơn với nồng độ 150 ppmv, chỉ tiêu độ bôi trơn của các mẫu thử nghiệm đã được cải thiện đáng kể, đạt mức yêu cầu của TCVN/QS 1754:2014.

Sau quá trình xử lý tại U-24, mẫu đầu ra LGO-LCO sẽ được phối trộn trực tiếp với dòng LGO từ CDU, và bổ sung thêm phụ gia bôi trơn để sản xuất diesel DO L-62. Kết quả phân tích mẫu nhiên liệu diesel hoàn toàn phù hợp với yêu cầu của tiêu chuẩn TCVN/QS 1754:2014 (bảng 10).

Bảng 10. Kết quả phân tích mẫu nhiên liệu DO L-62.

TT	Chỉ tiêu	Phương pháp thử	TCVN 1754:2014 (TCCS 12:2022/ BSR)	Kết quả phân tích
1	Ngoại quan	TCVN 7759 (ASTM D4176)	Sạch, trong, không có nước tự do và tạp chất	Sạch, trong, không có nước tự do và tạp chất
2	Chỉ số cetane	TCVN 3180 (ASTM D4737)	≥50	53,3
3	Khối lượng riêng ở 15°C (kg/m³)	TCVN 8314 (ASTM D4052)	≤860	825,0
4	Thành phần cắt phân đoạn:			
	Nhiệt độ cắt tại 50% thể tích	TCVN 2698 (ASTM D86)	≤280	253,7
	Nhiệt độ cắt tại 95% thể tích		≤360	307,9
5	Độ nhớt động học (cSt)			
	Ở 20°C	TCVN 3171 (ASTM D445)	3-6	3,291
	Ở 40°C		2-4,5	2,292
6	Nhiệt độ chớp cháy cốc kín (°C)	TCVN 2693 (ASTM D93)	≥62	74,0
7	Điểm vẩn đục (°C)	TCVN 7990 (ASTM D2500)	≤-5	-11
8	Điểm đông đặc (°C)	TCVN 3753 (ASTM D97)	≤-10	-12
9	Nhiệt độ giới hạn lọc (°C)	ASTM D6371	≤-5	-11
10	Lưu huỳnh tổng (mg/kg)	TCVN 7760 (ASTM D5453)	≤2000	82
11	Hàm lượng tro (% khối lượng)	TCVN 2690 (ASTM D482)	≤0,01	< 0,01
12	Cặn carbon của 10% cặn chung cắt (% khối lượng)	TCVN 7865 (ASTM D4530)	≤0,2	< 0,1
13	Hàm lượng tạp chất cơ học (% khối lượng)	TCVN 2706 (ASTM D6217)	≤0,005	< 0,001
14	Hàm lượng nước (mg/l)	TCVN 3182 (ASTM D6304)	≤200	74
15	Độ bôi trơn: đường kính vết xước ở 60°C (µm)	TCVN 7758 (ASTM D6079)	≤460	400
16	Độ acid (mg KOH/100 ml)	TCVN 6325 (ASTM D664)	≤5	3,1
17	Ăn mòn mảnh đồng ở 50°C (3 giờ)	TCVN 2694 (ASTM D130)	≤1	1a
18	Lưu huỳnh mercaptan (% khối lượng)	TCVN 2685 (ASTM D3227)	≤0,01	< 0,0003
19	Hàm lượng nhựa thực tế (mg/100 ml)	TCVN 6593 (ASTM D381)	≤40	2,5

4. Kết luận

Bài báo trình bày kết quả nghiên cứu thương mại hóa nhiên liệu đặc chủng DO L-62 dùng cho các loại tàu ngầm, tàu chiến... theo yêu cầu kỹ thuật TCVN/QS 1754:2014. Dựa trên cơ sở phân tích sự ảnh hưởng của tính chất nguồn nguyên liệu và chế độ/thông số vận hành của phân xưởng CDU đến chất lượng của sản phẩm, nhóm tác giả đã đề xuất các giải pháp cải tiến công nghệ tối ưu như vận hành CDU ở chế độ tối đa xăng, tối đa kerosene; đồng thời xử lý một phần LGO tại phân xưởng LCO-HDT và bổ sung thêm phụ gia cải thiện độ bôi trơn trong trường hợp Nhà máy Lọc dầu Dung Quất chế biến dầu thô có chỉ số acid cao. Việc áp dụng sáng tạo các giải pháp này giúp Nhà máy Lọc dầu Dung Quất sản xuất thương mại thành công sản phẩm mới DO L-62 có chất lượng vượt trội so với nhiên liệu DO 0,05S truyền thống. Trong giai đoạn 2022-2024, BSR đã cung cấp cho Bộ Quốc phòng khoảng 70.000 m³ nhiên liệu DO L-62, phục vụ công tác huấn luyện, sẵn sàng chiến đấu, giúp Việt Nam tự chủ nguồn cung nhiên liệu cho quốc phòng - an ninh, thay thế nguồn nhiên liệu nhập khẩu dễ bị gián đoạn trước ảnh hưởng của các xung đột địa chính trị trên thế giới. Đây là bước tiến cụ thể trong việc triển khai chủ trương của Đảng và Nhà nước về phát triển khoa học, công nghệ và đổi mới sáng tạo, làm chủ công nghệ, phát triển bền vững ngành công nghiệp lọc hóa dầu của Việt Nam.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Ministry of Science and Technology (2013), *Standard TCVN 5689:2013 Diesel Fuel Oils (DO) - Specifications*.
- [2] Ministry of Defense (2014), *Circular No. 127/2014/TT-BQP dated September 23, 2014 Promulgating Standard TCVN/QS 1754:2014, Diesel Fuel (DO) L-62 - Specifications and Test Methods* (in Vietnamese).
- [3] Ministry of Science and Technology (2024), *Standard TCVN 5689:2024 Diesel Fuel Oils (DO) - Specifications and Test Methods*.
- [4] Petrovietnam (2010), *Operating Manual Unit CDU (011)*, 38pp (in Vietnamese).
- [5] Petrovietnam (2008), *Operating manual LCO Hydrotreater Unit (024)*, 18pp (in Vietnamese).

Thực trạng sản xuất cây dược liệu Hoài Sơn (*Dioscorea persimilis* Prain et Burk) trên địa bàn tỉnh Thái Nguyên

Nguyễn Minh Tuấn¹, Nguyễn Hữu Thọ^{1,2*}, Lê Quang Ứng¹

¹Trường Đại học Nông Lâm, Đại học Thái Nguyên, phường Quyết Thắng, tỉnh Thái Nguyên, Việt Nam

²Đại học Thái Nguyên, phường Phan Đình Phùng, tỉnh Thái Nguyên, Việt Nam

Ngày nhận bài 13/12/2024; ngày chuyển phản biện 15/12/2024; ngày nhận phản biện 13/1/2025; ngày chấp nhận đăng 20/1/2025

Tóm tắt:

Nghiên cứu được tiến hành tại tỉnh Thái Nguyên vào năm 2023 với sự tham gia phỏng vấn của các nông hộ, lãnh đạo địa phương, nhằm đánh giá thực trạng và đưa ra giải pháp phát triển sản xuất cây dược liệu Hoài Sơn tại Thái Nguyên. Sử dụng phương pháp phỏng vấn với sự tham gia của người dân để thu thập số liệu. Kết quả cho thấy, 85% ý kiến cho rằng củ Hoài Sơn dùng để làm thực phẩm, 75% người dân biết được củ Hoài Sơn có giá trị về dược liệu. Về kỹ thuật canh tác, chủ yếu sử dụng phân chuồng hoai mục (60%), sử dụng vật liệu tre, nứa làm giàn cho cây chiếm tỷ lệ cao nhất (60%). Bên cạnh đó, 85% ý kiến cho rằng, củ Hoài Sơn được dùng để nhân giống, 70% cho rằng thời vụ trồng vào tháng 2; 55% biết được củ Hoài Sơn thu vào tháng 2 và mua bán không có thỏa thuận trước (50%) với thị trường tiêu thụ chủ yếu là ở chợ (55%). Bảo quản củ Hoài Sơn chủ yếu là vùi trong cát ẩm (15%). Khó khăn trong phát triển sản xuất cây Hoài Sơn chủ yếu là về giống và hỗ trợ kỹ thuật (40%), nguồn vốn và thị trường tiêu thụ (35%). Qua đó cho thấy, phát triển liên kết tiêu thụ sản phẩm, hỗ trợ giống, hỗ trợ kỹ thuật là những giải pháp quan trọng để phát triển sản xuất dược liệu Hoài Sơn tại Thái Nguyên.

Từ khóa: dược liệu, Hoài Sơn, sản xuất, Thái Nguyên, thị trường.

Chỉ số phân loại: 3.4, 3.5

The current status of production of Hoai Son medicinal plant (*Dioscorea persimilis* Prain et Burk) in Thai Nguyen province

Minh Tuan Nguyen¹, Huu Tho Nguyen^{1,2*}, Quang Ung Le¹

¹Department of Agronomy, University of Agriculture and Forestry, Thai Nguyen University, Quyet Thang Ward, Thai Nguyen Province, Vietnam

²Thai Nguyen University, Phan Dinh Phung Ward, Thai Nguyen Province, Vietnam

Received 13 December 2024; revised 13 January 2025; accepted 20 January 2025

Abstract:

The study was conducted in Thai Nguyen province in 2023 with the participation of local farmers and government leaders to evaluate the current situation and propose solutions for developing the production of Hoai Son (*Dioscorea persimilis* Prain et Burk) medicinal plant in Thai Nguyen province. The interview method with the participation of local people was used to collect primary data. The results showed that 85% of respondents said that Hoai Son tubers are used as food, and 75% were aware that Hoai Son has medicinal value. Regarding cultivation techniques, composted manure is mainly used (60%), bamboo and rattan materials to make trellis get the highest value (60%). Moreover, 85% of respondents stated that Hoai Son tubers are used for propagation, 70% said that the planting season is February, 55% knew that Hoai Son tubers are harvested in February and are traded without prior agreement (50%) with the main consumption in markets (55%). For storage, Hoai Son tubers are mainly preserved by burying them in moist sand (15%). The main difficulties in developing Hoai Son production are mainly related to seed sources and technical support (40%), followed by capital as well as market access (35%). From the results, it is recommended that promoting market linkages, providing varieties as well as enhancing technical support are key solutions for developing Hoai Son production in Thai Nguyen province.

Keywords: *Dioscorea persimilis* Prain et Burk, market, medicinal plant, production, Thai Nguyen.

Classification numbers: 3.4, 3.5

*Tác giả liên hệ: Email: nguyenuutho@tnu.edu.vn

1. Đặt vấn đề

Cây dược liệu Hoài Sơn (*Dioscorea persimilis* Prain et Burk) thuộc dạng cây dây leo, có từ 1 đến 2 rễ củ trên cây. Rễ củ Hoài Sơn có dạng hình trụ hơi dẹt, mặt ngoài có màu xám nâu bên trong có màu trắng, rễ củ dài 0,3 đến 1,0 m, đường kính từ 1,0 đến 10,0 cm với đặc điểm ăn sâu xuống đất [1, 2]. Ở Việt Nam, cây dược liệu Hoài Sơn được đánh giá là cây trồng với mục đích phát triển vùng nguyên liệu làm dược liệu quy mô hàng hóa [3]. Các nghiên cứu khác khi nghiên cứu về thành phần dinh dưỡng và giá trị dược liệu trong củ dược liệu Hoài Sơn tươi cho rằng, củ Hoài Sơn vừa có tác dụng làm nguồn cung cấp thực phẩm bởi giá trị dinh dưỡng cao (6,75% protid, chứa 63,25% tinh bột), đồng thời cũng được xem là vị thuốc quý dùng để bồi bổ sức khỏe, chữa bệnh suy nhược cơ thể, chóng mặt, hoa mắt, bệnh tiểu đường do củ dược liệu Hoài Sơn có chứa mucin, cholin, men maltose, allantoin, saponin có nhân sterol [4-7].

Thái Nguyên có điều kiện khí hậu thổ nhưỡng thích hợp để phát triển sản xuất cây dược liệu Hoài Sơn theo chuỗi giá trị sản phẩm. Thực tế cho thấy, sản xuất cây dược liệu còn gặp nhiều khó khăn như về thị trường đầu ra, về nguồn vốn, về kỹ thuật canh tác..., đặc biệt có rất ít thông tin về kết quả nghiên cứu cây dược liệu Hoài Sơn tại Thái Nguyên. Xuất phát từ các vấn đề khó khăn trên thì việc đánh giá thực trạng sản xuất và đề xuất giải pháp phát triển cây dược liệu Hoài Sơn là cần thiết. Đồng thời góp phần phát huy tiềm năng thể mạnh của địa phương trên cơ sở khai thác các lợi thế về điều kiện tự nhiên, kinh tế xã hội và thị trường góp phần phát triển bền vững sản xuất nông nghiệp, nâng cao thu nhập cho người dân.

2. Phương pháp nghiên cứu

2.1. Địa bàn nghiên cứu

Nghiên cứu được tiến hành tại tỉnh Thái Nguyên (trước sáp nhập). Nghiên cứu lựa chọn địa điểm trên đánh giá thực trạng, do đây là những nơi có người dân biết về cây dược liệu Hoài Sơn, đồng thời cũng là nơi có khí hậu, thổ nhưỡng thích hợp cho canh tác cây dược liệu Hoài Sơn.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Phương pháp thu thập số liệu: Sử dụng phương pháp điều tra có sự tham gia trực tiếp của người dân đã được sử dụng để thu thập những thông tin liên quan gồm: tình hình sản xuất, kỹ thuật canh tác, tình hình tiêu thụ, tiềm năng phát triển cây dược liệu Hoài Sơn tại huyện Định Hóa, Đại Từ, Phú Lương, Đồng Hỷ, tỉnh Thái Nguyên (trước sáp nhập).

Thời gian thu thập: Từ tháng 10/2023 đến tháng 12/2023.

Phương pháp chọn mẫu: Đối tượng được phỏng vấn, thu thập thông tin là 80 người (20 người/xã x 4 xã) gồm 18 người nông dân biết về cây dược liệu trong đó gồm cả cây Hoài Sơn và 2 đại diện lãnh đạo chính quyền địa phương tại nơi thu thập thông tin.

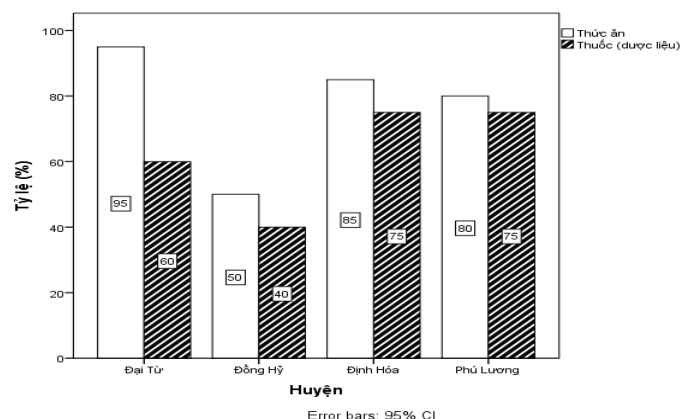
Xử lý số liệu: Số liệu được xử lý trên Excel, sử dụng phần mềm SPSS 20 để vẽ đồ thị và sử dụng sai số chuẩn ở mức tin cậy 95% để đánh giá kết quả nghiên cứu.

3. Kết quả và bàn luận

3.1. Mục đích sử dụng cây dược liệu Hoài Sơn tại Thái Nguyên

Hình 1 cho thấy, củ dược liệu Hoài Sơn được sử dụng để làm thực phẩm, trong đó chiếm tỷ lệ cao nhất là huyện Đại Từ với 95% ý kiến người được phỏng vấn, tiếp đến là huyện Định Hóa, Phú Lương và Đồng Hỷ với giá trị lần

lượt là 85, 80 và 50%. Ngoài mục đích sử dụng làm thực phẩm, củ dược liệu Hoài Sơn còn được sử dụng để làm thuốc (dược liệu) với 75% ý kiến người được phỏng vấn ở huyện Định Hóa và Phú Lương, tiếp đến là huyện Đại Từ và Đồng Hỷ với các giá trị lần lượt là 60 và 40% (hình 1).

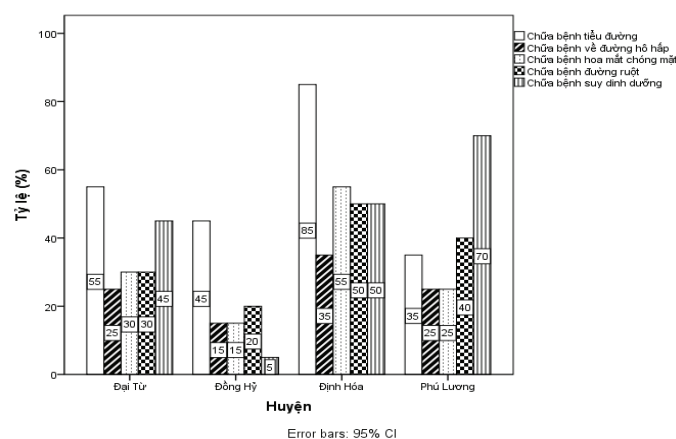


Hình 1. Mục đích sử dụng cây dược liệu Hoài Sơn tại Thái Nguyên. Nguồn: n=80; số liệu điều tra năm 2023.

Có thể cho thấy, cây dược liệu Hoài Sơn trên địa bàn tỉnh Thái Nguyên được sử dụng với mục đích chính là làm thực phẩm và làm thuốc (dược liệu). Trong đó, sử dụng làm thực phẩm được người dân biết đến nhiều hơn so với làm thuốc (dược liệu), điều này được lý giải vì đây là loại cây người dân thường khai thác củ trong tự nhiên để chế biến các món ăn từ củ dược liệu Hoài Sơn như bánh Hoài Sơn, Hoài Sơn hấp, chè Hoài Sơn và canh Hoài Sơn. Kết quả này phù hợp với nghiên cứu của M.T. Nguyen và cs (2022) [8] khi nghiên cứu cây dược liệu Hoài Sơn tại huyện Nguyên Bình, tỉnh Cao Bằng (trước sáp nhập) đã chỉ ra rằng, củ Hoài Sơn được sử dụng làm thức ăn ở dạng củ tươi và làm dược liệu.

3.2. Tác dụng của cây dược liệu Hoài Sơn

Qua điều tra cho thấy, cây dược liệu Hoài Sơn có nhiều tác dụng trong y học, có thể dùng để hỗ trợ điều trị bệnh tiểu đường, bệnh về đường hô hấp, bệnh hoa mắt, chóng mặt, bệnh về đường ruột, bệnh suy dinh dưỡng và bệnh thận, trong đó ý kiến của người được phỏng vấn về sử dụng củ dược liệu Hoài Sơn để hỗ trợ điều trị những loại bệnh nói trên cao nhất được ghi nhận ở huyện Định Hóa với giá trị lần lượt là 85, 35, 55, 50 và 50% (hình 2). Các huyện còn lại gồm Đại Từ, Phú Lương và Đồng Hỷ cũng đều cho rằng củ dược liệu Hoài Sơn có tác dụng hỗ trợ điều trị các bệnh trên nhưng với tỷ lệ y



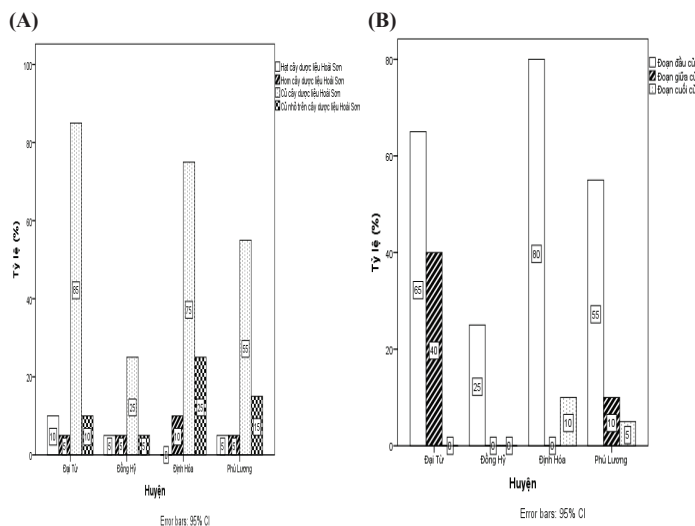
Hình 2. Công dụng dược liệu của cây Hoài Sơn. Nguồn: n=80; số liệu điều tra năm 2023.

kiến thấp hơn, ngoại trừ huyện Đồng Hỷ không có ý kiến về sử dụng củ Hoài Sơn để hỗ trợ điều trị bệnh thận. Kết quả này phù hợp với nghiên cứu của M.T. Nguyen và cs (2022) [8] là cây dược liệu Hoài Sơn có tác dụng hỗ trợ điều trị bệnh, đặc biệt là hỗ trợ điều trị bệnh tiểu đường khi nghiên cứu về thực trạng sản xuất dược liệu Hoài Sơn tại huyện Nguyên Bình, tỉnh Cao Bằng.

3.3. Thực trạng sản xuất cây dược liệu Hoài Sơn

3.3.1. Nhân giống cây dược liệu Hoài Sơn

Theo M.T. Nguyen và cs (2022) [8], vật liệu thích hợp cho nhân giống là đầu củ và củ nhỏ trên cây dược liệu Hoài Sơn. Hình 3A cho thấy, nguồn vật liệu nhân giống cây dược liệu Hoài Sơn gồm hạt, hom cây, củ và củ nhỏ trên cây Hoài Sơn. Trong đó, ý kiến cho rằng vật liệu nhân giống từ củ cây dược liệu Hoài Sơn chiếm tỷ lệ cao nhất với giá trị lần lượt là 85% (huyện Đại Từ), 75% (huyện Định Hóa), 55% (huyện Phú Lương) và 25% (huyện Đồng Hỷ).

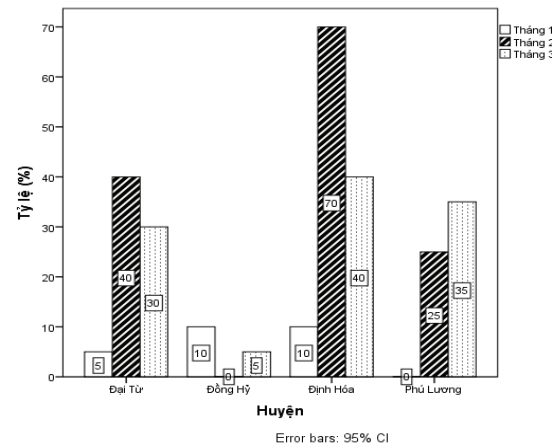


Hình 3. Tình hình nhân giống cây dược liệu Hoài Sơn tại Thái Nguyên. (A) Nguồn vật liệu nhân giống; (B) Bộ phận dùng để nhân giống. Nguồn: n=80; số liệu điều tra năm 2023.

Từ kết quả trên, nhóm nghiên cứu tiếp tục đánh giá bộ phận nhân giống từ củ, qua nghiên cứu cho thấy, các bộ phận của củ dược liệu Hoài Sơn từ đầu củ, thân củ và đuôi củ đều có thể sử dụng để nhân giống. Trong đó, ý kiến nhân giống bằng đầu củ chiếm tỷ lệ cao nhất với giá trị là 80% tại huyện Định Hóa, tiếp đến là huyện Đại Từ, Phú Lương, Đồng Hỷ với các giá trị lần lượt là 65, 55 và 25% (hình 3B). Kết quả này phù hợp với nghiên cứu của M.T. Nguyen và cs (2019) [9] khi nghiên cứu nhân giống cây dược liệu Hoài Sơn từ củ tại Lào Cai (trước sáp nhập) cho rằng, có thể sử dụng hom đầu củ và hom giữa củ làm vật liệu nhân giống, đặc biệt sử dụng hom đầu củ và giữa củ đem lại hiệu quả cao hơn trong nhân giống cây dược liệu Hoài Sơn so với đoạn đuôi củ.

3.3.2. Thời vụ trồng cây dược liệu Hoài Sơn

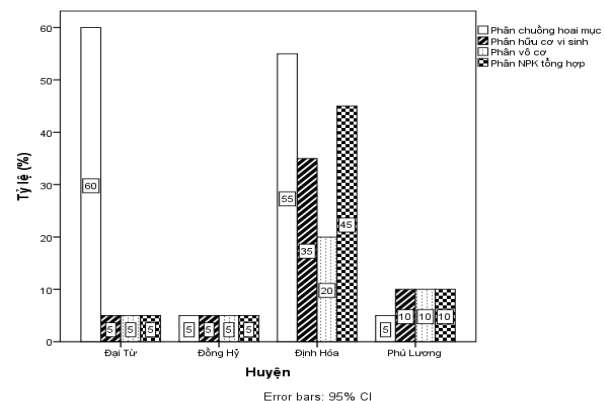
M.T. Nguyen và cs (2022) [8] khi nghiên cứu đánh giá về thời vụ trồng cây dược liệu Hoài Sơn tại huyện Nguyên Bình, tỉnh Cao Bằng cho rằng, thời vụ trồng củ dược liệu Hoài Sơn có thể được trồng từ tháng 1 đến tháng 4 hằng năm. Hình 4 cho thấy, thời vụ trồng thích hợp cho cây dược liệu Hoài Sơn tại Thái Nguyên vào tháng 2, kết quả này được ghi nhận ở tất cả các điểm điều tra đánh giá, ngoại trừ huyện Đồng Hỷ với tỷ lệ về ý kiến của người trả lời phỏng vấn là 70% tại huyện Định Hóa, 40% tại huyện Đại Từ và 25% tại huyện Phú Lương (hình 4). Nghiên cứu này đồng quan điểm với kết quả nghiên cứu của M.T. Nguyen và cs (2022) [8].



Hình 4. Thời vụ trồng cây dược liệu Hoài Sơn tại Thái Nguyên. Nguồn: n=80; số liệu điều tra năm 2023.

3.3.3. Phân bón cho cây dược liệu Hoài Sơn

Nghiên cứu về phân bón cho cây dược liệu Hoài Sơn được trình bày ở hình 5, qua đó cho thấy, phân chuồng hoai mục và phân hữu cơ vi sinh được sử dụng để bón lót. Sử dụng phân chuồng hoai mục cho cây dược liệu Hoài Sơn được ghi nhận ở tất cả các điểm điều tra, chiếm tỷ lệ ý kiến trả lời phỏng vấn cao nhất là huyện Đại Từ và Định Hóa với giá trị lần lượt là 60% và 55%, trong khi đó huyện Phú Lương và Đồng Hỷ đều cho ý kiến rất thấp chỉ là 5%. Phân hữu cơ vi sinh cũng được ghi nhận ở tất cả các điểm điều tra, ý kiến trả lời phỏng vấn cao nhất là huyện Định Hóa với giá trị là 35% và cao hơn so với các huyện còn lại. Phân vô cơ, phân NPK, chủ yếu được sử dụng để bón thúc, qua nghiên cứu cho thấy, các điểm điều tra đánh giá đều ghi nhận việc sử dụng những loại phân nói trên trong canh tác cây dược liệu Hoài Sơn, trong đó ý kiến trả lời chiếm tỷ lệ cao nhất được ghi nhận ở huyện Định Hóa với các giá trị lần lượt là 20 và 45%, cao hơn so với các huyện còn lại (hình 5).

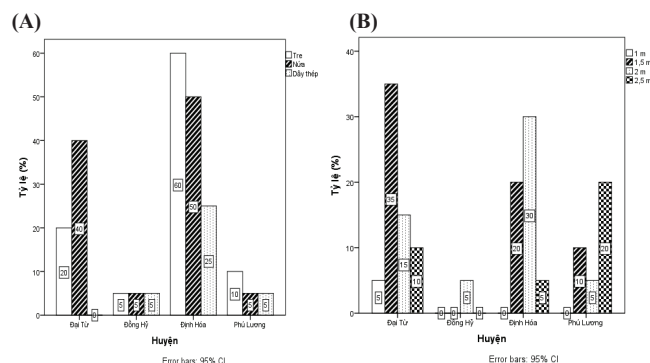


Hình 5. Phân bón cho cây dược liệu Hoài Sơn tại Thái Nguyên. Nguồn: n=80; số liệu điều tra năm 2023.

3.3.4. Kỹ thuật làm giàn cho cây dược liệu Hoài Sơn

Sử dụng vật liệu tre, nứa để làm giàn chiếm tỷ lệ ý kiến trả lời phỏng vấn cao nhất, kết quả được ghi nhận ở huyện Định Hóa với giá trị là 60 và 50%, tiếp đến là huyện Đại Từ, Phú Lương và Đồng Hỷ. Làm giàn cho cây dược liệu Hoài Sơn chủ yếu sử dụng loại vật liệu tre, nứa có thể được lý giải bởi đây là những loại vật liệu sẵn có tại địa phương nên người dân chủ động được vật liệu làm giàn, đồng thời cũng phù hợp với tập quán canh tác của người dân thường sử dụng tre, nứa để làm giàn cho cây thân leo. Kết quả này phù

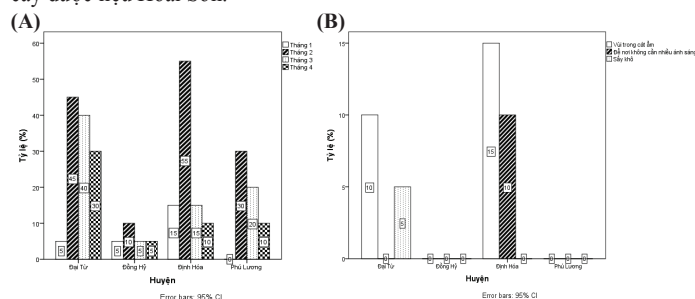
hợp với nghiên cứu của N.T.N. Hue và cs (2005) [3]. Bên cạnh đó, ngoại trừ huyện Đại Từ, các huyện còn lại đều cho rằng có thể sử dụng dây thép để làm giàn cho cây Hoài Sơn, nhưng chiếm tỷ lệ ý kiến thấp hơn so với sử dụng nguyên liệu tre, nứa để làm giàn (hình 6A). Đánh giá về độ cao của giàn, kết quả nghiên cứu cho thấy, độ cao làm giàn thích hợp cho cây dược liệu Hoài Sơn là 2,0 m chiếm tỷ lệ ý kiến trả lời phỏng vấn cao nhất với các giá trị là 30% tại huyện Định Hóa, 15% tại huyện Đại Từ và 5% tại huyện Phú Lương và Đồng Hỷ (hình 6B).



Hình 6. Kỹ thuật làm giàn cho cây dược liệu Hoài Sơn tại Thái Nguyên. (A) Vật liệu làm giàn; (B) Độ cao giàn. Nguồn: n=80; số liệu điều tra năm 2023.

3.3.5. Thu hoạch và bảo quản dược liệu Hoài Sơn

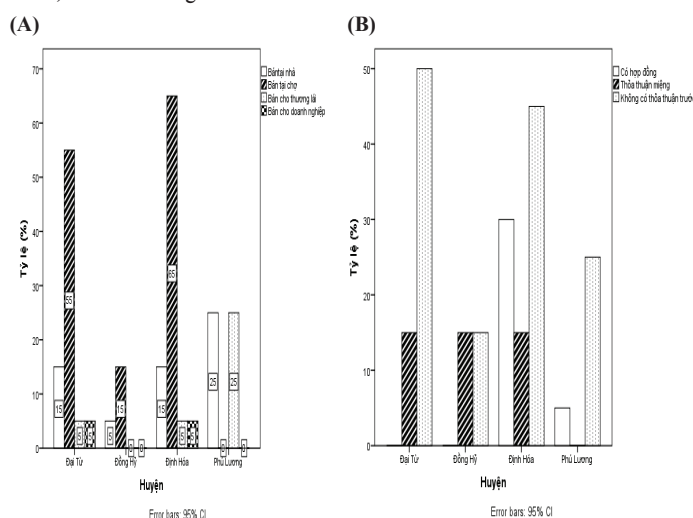
Theo M.T. Nguyen và cs (2022) [8], thu hoạch củ dược liệu Hoài Sơn vào tháng 2 cho chất lượng củ tốt nhất do thời điểm này cây đã rụng lá và chưa lên mầm nên trong củ có hàm lượng dinh dưỡng cao nhất. Hình 7A cho thấy, cây dược liệu Hoài Sơn có thời điểm thu hoạch từ tháng 1 đến tháng 4 hằng năm. Trong đó, thời điểm thu hoạch vào tháng 2 chiếm tỷ lệ ý kiến trả lời phỏng vấn cao nhất được ghi nhận ở huyện Định Hóa với giá trị là 55%, tiếp đến là huyện Đại Từ, Phú Lương và Đồng Hỷ, kết quả này phù hợp với nghiên cứu của M.T. Nguyen và cs (2022) [8]. Từ kết quả thu hoạch củ, nhóm nghiên cứu tiếp tục đánh giá về kỹ thuật bảo quản củ sau thu hoạch, kết quả được trình bày ở hình 7B. Củ dược liệu Hoài Sơn sau thu hoạch được bảo quản bằng cách vùi trong cát ẩm, để nơi không cần nhiều ánh sáng, sấy khô. Trong đó, kỹ thuật vùi trong cát ẩm chỉ được ghi nhận tại huyện Định Hóa và Đại Từ với ý kiến trả lời phỏng vấn lần lượt là 15 và 10%, kỹ thuật để nơi không cần nhiều ánh sáng được ghi nhận tại huyện Định Hóa (10%), kỹ thuật sấy khô chỉ được ghi nhận tại huyện Đại Từ (5%). Qua đó cho thấy, các ý kiến về kỹ thuật bảo quản củ dược liệu Hoài Sơn sau thu hoạch chiếm tỷ lệ rất thấp, dao động trong khoảng 5-15%, đây cũng là một trong những khó khăn về công nghệ sau thu hoạch, cần có những nghiên cứu để nâng cao công nghệ sau thu hoạch cho cây dược liệu Hoài Sơn.



Hình 7. Thu hoạch và bảo quản dược liệu Hoài Sơn tại Thái Nguyên. (A) Thời điểm thu hoạch; (B) Kỹ thuật bảo quản. Nguồn: n=80; số liệu điều tra năm 2023.

3.4. Tình hình tiêu thụ dược liệu Hoài Sơn

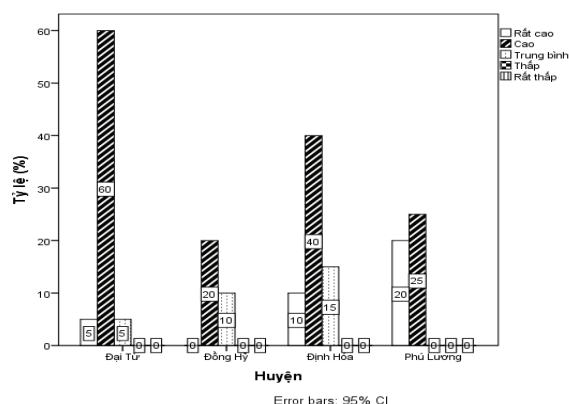
Hình 8A cho thấy, hình thức bán củ dược liệu Hoài Sơn của người dân địa phương chủ yếu là bán tại chợ, trong đó chiếm tỷ lệ ý kiến trả lời phỏng vấn cao nhất là huyện Định Hóa với 65%, tiếp đến là huyện Đại Từ và Đồng Hỷ với giá trị lần lượt là 55 và 15%. Riêng huyện Phú Lương người dân ở đây không bán củ dược liệu Hoài Sơn tại chợ, củ dược liệu Hoài Sơn chủ yếu được người dân bán tại nhà với ý kiến trả lời phỏng vấn cao nhất (25%) so với các điểm điều tra đánh giá. Từ kết quả nghiên cứu trên, nhóm nghiên cứu tiếp tục đánh giá về hình thức hợp đồng trong mua bán củ Hoài Sơn của người dân địa phương. Kết quả cho thấy, hình thức mua bán không có thỏa thuận trước được ghi nhận ở tất cả các điểm điều tra đánh giá, trong đó chiếm tỷ lệ cao nhất là huyện Đại Từ với 50% ý kiến trả lời phỏng vấn, tiếp đến là huyện Định Hóa, Phú Lương, Đồng Hỷ với giá trị lần lượt là 45, 25 và 15% (hình 8B). Kết quả này đồng quan điểm với nghiên cứu của M.T. Nguyen và cs (2022) [8] khi nghiên cứu về thị trường tiêu thụ cây dược liệu Hoài Sơn tại huyện Nguyên Bình, tỉnh Cao Bằng.



Hình 8. Tình hình tiêu thụ dược liệu Hoài Sơn tại Thái Nguyên. (A) Hình thức tiêu thụ; (B) Hình thức liên kết. Nguồn: n=80; số liệu điều tra năm 2023.

3.5. Tiềm năng phát triển cây dược liệu Hoài Sơn

Theo M.T. Nguyen và cs (2022) [8], khi nghiên cứu về tiềm năng phát triển cây dược liệu Hoài Sơn tại huyện Nguyên Bình, tỉnh Cao Bằng đã chỉ ra rằng, trồng cây dược liệu Hoài Sơn cho hiệu quả kinh tế cao hơn so với cây

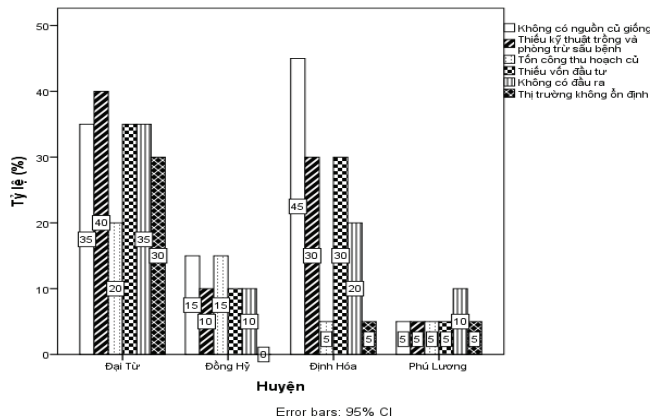


Hình 9. Nhu cầu thị trường về dược liệu Hoài Sơn tại Thái Nguyên. Nguồn: n=80; số liệu điều tra năm 2023.

trồng đang cạnh tranh phổ biến tại địa phương như lúa, ngô bởi nhu cầu về củ dược liệu Hoài Sơn trên thị trường rất cao. Hình 9 cho thấy, tại các điểm điều tra đều cho rằng nhu cầu thị trường về sản phẩm củ dược liệu Hoài Sơn từ cao đến rất cao. Trong đó, ý kiến trả lời phỏng vấn cho rằng nhu cầu thị trường củ dược liệu Hoài Sơn ở mức độ cao chiếm tỷ lệ cao nhất ở huyện Đại Từ với 60%, tiếp đến là huyện Định Hóa với 40%. Cả hai huyện Đồng Hỷ và Phú Lương cũng cho rằng, nhu cầu sử dụng dược liệu Hoài Sơn trên thị trường là cao, nhưng chiếm tỷ lệ ý kiến trả lời phỏng vấn thấp hơn so với huyện Đại Từ và Định Hóa. Kết quả này phù hợp với nghiên cứu của M.T. Nguyen và cs (2022) [8].

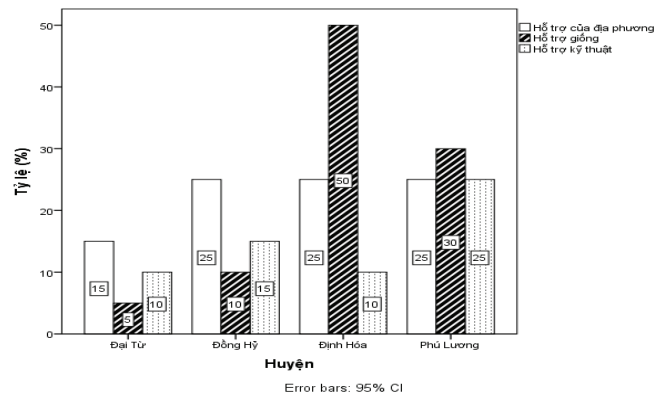
3.6. Khó khăn và giải pháp phát triển cây dược liệu Hoài Sơn

Kết quả nghiên cứu cho thấy, có nhiều khó khăn trong phát triển cây dược liệu Hoài Sơn trên địa bàn tỉnh Thái Nguyên được xếp theo thứ tự ưu tiên như sau: 1) Khó khăn về giống chiếm tỷ lệ cao nhất ở huyện Định Hóa (45%), tiếp đến là huyện Đại Từ với 35% ý kiến người trả lời phỏng vấn; 2) Khó khăn về kỹ thuật canh tác và phòng trừ sâu bệnh chiếm tỷ lệ cao nhất ở huyện Đại Từ (40%), tiếp đến là huyện Định Hóa với 30% ý kiến người trả lời phỏng vấn. Hai huyện còn lại cũng đều có ý kiến cho rằng, có sự khó khăn về giống và kỹ thuật canh tác nhưng chiếm tỷ lệ thấp hơn; 3) Khó khăn về nguồn vốn và thị trường tiêu thụ, trong đó ý kiến cho rằng khó khăn về nguồn vốn và thị trường tiêu thụ chiếm tỷ lệ cao nhất ở huyện Đại Từ với giá trị đều là 35%, tiếp đến là huyện Định Hóa với giá trị lần lượt là 30 và 20% (hình 10).



Hình 10. Khó khăn trong sản xuất cây dược liệu Hoài Sơn tại Thái Nguyên. Nguồn: n=80; số liệu điều tra năm 2023.

Hình 11 cho thấy, giải pháp để phát triển sản xuất cây dược liệu Hoài Sơn gồm sự hỗ trợ từ chính quyền địa phương, hỗ trợ về giống và hỗ trợ về kỹ thuật được xếp theo thứ tự ưu tiên như sau: 1) Giải pháp hỗ trợ về giống chiếm tỷ lệ ý kiến trả lời phỏng vấn cao nhất, kết quả được ghi nhận ở huyện Định Hóa với giá trị là 50%, tiếp đến là huyện Phú Lương, Đại Từ, Đồng Hỷ với giá trị lần lượt là 30, 10 và 5%; 2) Giải pháp về hỗ trợ kỹ thuật được ghi nhận ở tất cả các điểm điều tra đánh giá, trong đó huyện Phú Lương chiếm tỷ lệ cao nhất (25%) về ý kiến người tham gia trả lời phỏng vấn, tiếp đến là huyện Đồng Hỷ, Định Hóa, Đại Từ với giá trị lần lượt là 15, 10 và 10%; 3) Giải pháp hỗ trợ của chính quyền địa phương cũng được ghi nhận ở tất cả các điểm điều tra đánh giá, trong đó huyện Định Hóa, Đại Từ, Đồng Hỷ đều chiếm tỷ lệ cao về ý kiến người trả lời phỏng vấn và đều chiếm tỷ lệ 25%, còn huyện Đại Từ chỉ chiếm tỷ lệ 15%.



Hình 11. Giải pháp phát triển sản xuất cây dược liệu Hoài Sơn tại Thái Nguyên. Nguồn: n=80; số liệu điều tra năm 2023.

4. Kết luận

Từ kết quả nghiên cứu cho thấy, cây Hoài Sơn chủ yếu được sử dụng làm thực phẩm và dược liệu. Phân bón sử dụng chủ yếu phân chuồng hoai mục trong bón lót, phân vô cơ trong bón thúc, giân cây được sử dụng các vật liệu có sẵn tại địa phương. Người dân gặp khó khăn về giống, kỹ thuật và nguồn vốn, thị trường tiêu thụ để phát triển sản xuất cây dược liệu Hoài Sơn. Hình thức mua bán đơn giản chủ yếu là thỏa thuận miệng. Cây Hoài Sơn có nhu cầu thị trường cao và có tiềm năng nhân rộng diện tích. Hỗ trợ giống, kỹ thuật canh tác và hỗ trợ của chính quyền địa phương là những giải pháp cần thiết để phát triển sản xuất dược liệu Hoài Sơn tại Thái Nguyên.

Tài liệu tham khảo

- [1] D.M. Hodeba, M.M. Abang, R. Asiedu (2003), "Harnessing modern biotechnology for tropical tuber crop improvement: Yam (*Dioscorea* spp.) molecular breeding", *African Journal of Biotechnology*, **2**(12), pp.478-485, DOI: 10.5897/AJB2003.000-1097.
- [2] A. Kuttalamadathil, A. Nemorin, V. Lebot, et al. (2013), "Meiosis and sexual fertility of autotetraploid clones of greater yam *Dioscorea alata* L.", *Genetic Resources and Crop Evolution*, **60**(3), pp.819-823, DOI: 10.1007/s10722-013-9973-4.
- [3] N.T.N. Hue, D.T. Loc (2005), *Book of Root Crops and Intensive Farming Techniques*, Social Labor Publishing House, pp.79-95 (in Vietnamese).
- [4] L.T. Do (2004), *Vietnamese Medicinal Plants and Medicinal Herbs*, Hanoi Medical Publishing House (in Vietnamese).
- [5] T. Chang, H.M. Chen, S.Y. Yin, et al. (2013), "Specific *Dioscorea* phytoextracts enhance potency of TCL-loaded DC-based cancer vaccines", *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*, **2013**, pp.1-13, DOI: 10.1155/2013/932040.
- [6] B. He, J. Jiang, J. Mo, et al. (2002), "Study on the quality of Rhizome of *Dioscorea persimilis*", *Journal of Chinese Medicinal Materials*, **25**(4), pp.233-237.
- [7] D.T. Sang, K. Ogata, N. Mizoue (2012), "Use of edible forest plants among indigenous ethnic minorities in Cat Tien biosphere reserve, Vietnam", *Asian Journal of Biodiversity*, **3**(1), pp.23-49, DOI: 10.7828/ajob.v3i1.82.
- [8] M.T. Nguyen, V.H. Nguyen (2022), "Current status of the production of Hoai Son medicinal plants in Cao Bang", *TNU Journal of Science and Technology*, **227**(1), pp.167-174, DOI: 10.34238/tnu-jst.3943 (in Vietnamese).
- [9] M.T. Nguyen, M.T. Ha, H.T. Nguyen, et al. (2019), "Effects of tuber materials on propagation ability of mountain yam in Bao Thang district, Lao Cai province", *Science and Technology Journal of Agriculture & Rural Development*, pp.52-56 (in Vietnamese).

Tổng quan dược lý mạng trong nghiên cứu thuốc y học cổ truyền

Châu Văn Hảo¹, Sanghun Lee^{2,3}, Trần Nhật Minh^{1,2*}

¹Khoa Y học Cổ truyền, Trường Đại học Y - Dược, Đại học Huế, 6 Ngô Quyền, phường Thuận Hóa, TP Huế, Việt Nam

²Phòng Dữ liệu Y học cổ truyền Hàn Quốc, Viện Y học Phương Đông Hàn Quốc, 1672 Yuseong-daero, thị trấn Yuseong-ro, TP Daejeon, Hàn Quốc

³Khoa học Y học hội tụ cổ truyền Hàn Quốc, Đại học Khoa học và Công nghệ (UST), 217 Gajeong-ro, thị trấn Yuseong-gu, TP Daejeon, Hàn Quốc

Ngày nhận bài 1/4/2024; ngày gửi phản biện 3/4/2024; ngày nhận phản biện 6/5/2024; ngày chấp nhận đăng 10/5/2024

Tóm tắt:

Thuốc y học cổ truyền (YHCT) có vai trò quan trọng trong điều trị bệnh, tuy nhiên, việc hiểu được cơ chế của thuốc YHCT một cách toàn diện vẫn luôn là thách thức bởi tính chất đa hợp chất, đa tác động của nó. Dược lý mạng là một môn khoa học dựa trên công nghệ tin sinh học và dược lý học hiện đại, giúp chuyển đổi mô hình “một thuốc - một mục tiêu” sang “đa thuốc - đa mục tiêu”, cung cấp giải pháp để giải thích cơ chế đa tác động của thuốc YHCT. Bài tổng quan giới thiệu các khái niệm, phương pháp, cơ sở dữ liệu và ứng dụng của dược lý mạng trong nghiên cứu thuốc YHCT. Đây là cách tiếp cận mới để khám phá cơ chế của thuốc YHCT một cách có hệ thống, thông qua mạng lưới tương tác giữa các protein mục tiêu của thuốc với các gen của bệnh lý. Đồng thời, góp phần giải thích các khái niệm của YHCT dưới góc nhìn của sinh học hệ thống. Mặc dù dược lý mạng đang thu hút sự quan tâm trên thế giới, tuy nhiên việc tìm kiếm tài liệu tương tự bằng tiếng Việt vẫn gặp nhiều khó khăn. Bài báo là một trong những tài liệu tổng quan về dược lý mạng đầu tiên bằng tiếng Việt, đóng góp vào việc phát triển hướng nghiên cứu mới trong việc hiểu rõ cơ chế của thuốc YHCT trong điều trị các bệnh lý.

Từ khóa: dược lý mạng, sinh học hệ thống, thuốc y học cổ truyền.

Chỉ số phân loại: 3.4, 3.5

Overview of network pharmacology in traditional medicinal material research

Hao Van Chau¹, Sanghun Lee^{2,3}, Minh Nhat Tran^{1,2*}

¹Faculty of Traditional Medicine, University of Medicine and Pharmacy, Hue University, 6 Ngo Quyen Street, Thuan Hoa Ward, Hue City, Vietnam

²Korean Medicine Data Division, Korea Institute of Oriental Medicine, 1672 Yuseong-daero, Yuseong-ro, Daejeon, Republic of Korea

³Korean Convergence Medical Science, University of Science and Technology, 217 Gajeong-ro, Yuseong-gu, Daejeon, Republic of Korea

Received 1 April 2024; revised 6 May 2024; accepted 10 May 2024

Abstract:

Traditional medicinal material (TMM) plays an important role in disease treatment, however, comprehensively understanding the mechanism of TMM remains a persistent challenge for researchers due to its multi-compound and multi-action characteristics. Network pharmacology, a discipline rooted in bioinformatics technology and modern pharmacology, has facilitated a shift from the “one drug - one target” model to a “multi-drug - multi-target” model, which offers a solution to elucidate the multi-action mechanisms of TMM. This review article introduces concepts, methodologies, databases, and applications of network pharmacology in TMM research. Network pharmacology represents a novel approach to systematically explore the mechanisms of action of TMM by elucidating the interaction network between herbal target proteins and disease genes. Simultaneously, it aids in elucidating concepts of TMM from a systems biological perspective. While research and literature on network pharmacology have garnered increasing global attention, locating similar documents in Vietnamese poses a challenge. As one of the first overview documents on network pharmacology written in Vietnamese, the article contributes to promoting a novel research direction in unraveling the mechanisms of TMM in treating various diseases.

Keywords: network pharmacology, system biology, traditional medicinal material.

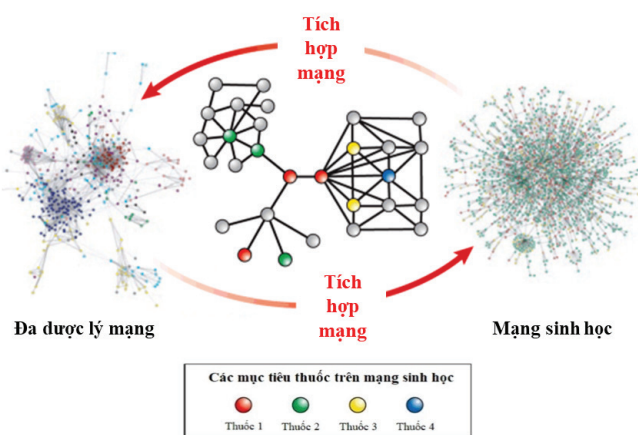
Classification numbers: 3.4, 3.5

*Tác giả liên hệ: Email: tnminh@huemed-univ.edu.vn

1. Đặt vấn đề

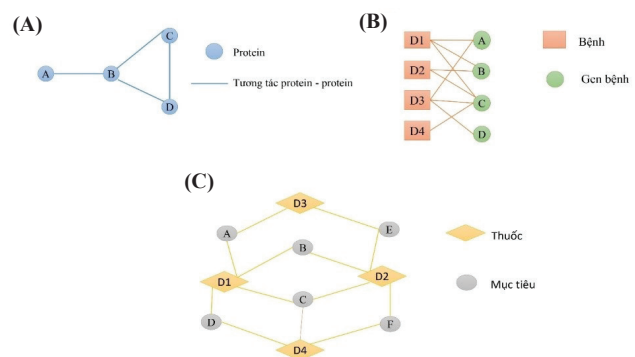
Quá trình nghiên cứu, hình thành và phát triển thuốc là một quá trình lâu dài, tốn kém cũng như gặp rất nhiều rủi ro với tỷ lệ thất bại là khoảng 90%. Đã có những báo cáo cho thấy, để cho ra đời một loại thuốc mới đạt tiêu chuẩn cần phải mất khoảng 10 đến 15 năm, với chi phí trung bình từ 1 đến 2 tỷ USD [1, 2]. Trong quá trình này, cách tiếp cận theo mô hình nghiên cứu cổ điển “một thuốc - một mục tiêu - một bệnh” là rất phổ biến, giúp đơn giản hóa việc sàng lọc các hợp chất, giảm tác dụng không mong muốn cũng như thuận tiện hơn trong việc đăng ký thuốc mới. Tuy vậy, mô hình trên đã bộc lộ những hạn chế, bởi thực tế cho thấy một thuốc có thể tác động lên nhiều mục tiêu và một mục tiêu cũng có thể chịu ảnh hưởng của nhiều loại thuốc khác nhau [3]. Mặt khác, bệnh tật thường có cơ chế bệnh sinh phức tạp, chịu ảnh hưởng bởi nhiều quá trình sinh học đa dạng làm cho cách tiếp cận dựa trên mô hình này trở nên hạn chế và chưa hiệu quả [4].

Sinh học hệ thống là một xu hướng nghiên cứu hiện nay, tập trung vào các tương tác phức tạp trong các hệ thống sinh học từ góc độ tổng thể, thay vì những thay đổi của các phân tử đơn lẻ. Dựa trên cách tiếp cận này, dược lý mạng đã lần đầu tiên được đề xuất bởi A.L. Hopkins (2007) [5], với nhiều khi hứa hẹn giúp chuyển đổi mô hình “một thuốc - một mục tiêu” sang “đa thuốc - đa mục tiêu”, nhằm tối ưu hóa chi phí phát triển thuốc (hình 1) [6]. Đây là một phương pháp nghiên cứu liên ngành, phát triển dựa trên sinh học hệ thống, dược lý và khoa học máy tính [7]. Mô hình dược lý mạng bao gồm một mạng tin sinh học thể hiện nhiều gen bệnh và protein mục tiêu thuốc được liên kết với nhau, từ đó minh họa các tương tác thuốc - bệnh và hướng dẫn phát triển, cũng như ứng dụng các loại thuốc mới. Dược lý mạng cung cấp giải pháp thuận tiện và có hệ thống để khám phá các cơ chế phức tạp trong điều trị bệnh bằng thuốc thông qua việc xác định các mục tiêu cốt lõi, nhằm tìm hiểu tác dụng và tương tác của thuốc với nhiều mục tiêu khác nhau. Ngoài ra, dược lý mạng cũng tích hợp và trích xuất các con đường truyền tín hiệu có thể xảy ra của thuốc trong vấn đề điều trị, dự phòng bệnh tật, cũng như góp phần cải thiện và nâng cao hiệu quả điều trị của thuốc [8].



Hình 1. Dược lý mạng. Một quan điểm lấy mạng làm trung tâm về hoạt động của thuốc, được xây dựng bằng cách ánh xạ các mạng lưới thuốc - mục tiêu (phải) vào các mạng sinh học (trái). Mạng ở giữa là một phần của mạng sinh học, trong đó các nút (là các protein) được nhắm mục tiêu bởi cùng loại thuốc được thể hiện bằng cùng một màu. Hiệu quả và độc tính của thuốc có thể được giải thích bằng cách phân tích các nút cụ thể [5].

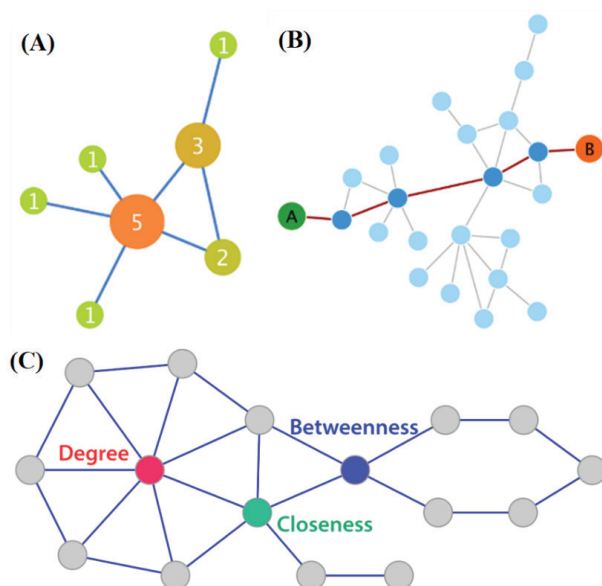
Cấu trúc của dược lý mạng được xây dựng trên nền tảng của các mô hình mạng sinh học khác nhau, trong đó các thuốc, hợp chất, gen, protein, kiểu hình hoặc bệnh tật được xem như các nút và mối liên kết giữa chúng được thể hiện dưới dạng các cạnh. Các mối liên kết này đại diện cho các quá trình sinh hóa như tổng hợp cấu trúc, truyền tín hiệu, tương tác, hoặc phosphoryl hóa. Trong các mô hình mạng sinh học thường gặp, mạng tương tác protein - protein (protein - protein interaction - PPI) đóng vai trò then chốt trong hầu hết các quá trình sinh học, ảnh hưởng đến sự tăng trưởng, phát triển và góp phần tạo ra nguyên nhân của nhiều bệnh khác nhau [9]. Trong mạng PPI, các protein được mô tả dưới dạng các nút, và tương tác của chúng được biểu thị bằng các cạnh vô hướng. PPI phục vụ nhiều mục đích, từ dự đoán chức năng, phân tích tiến hóa đến hỗ trợ phát triển thuốc để cải thiện quản lý bệnh [10]. Hơn nữa, việc khám phá PPI đã làm sáng tỏ các cơ chế tiềm ẩn của các bệnh như tình trạng thoái hóa thần kinh, rối loạn di truyền, ung thư và tiểu đường (hình 2A) [11, 12]. Mạng bệnh - gen là cũng một phần quan trọng của mạng sinh học, làm đơn giản hóa sự tương tác phức tạp giữa các bệnh với các gen liên quan. Trong mạng lưới này, các nút đại diện cho các bệnh lý hoặc gen tương ứng, trong khi các cạnh biểu thị mối liên hệ giữa chúng (hình 2B). Mạng lưới này đã chứng minh được tầm quan trọng của nó đối với các nhà nghiên cứu, cho phép họ tận dụng được nhiều phương pháp đa dạng để hiểu được hệ thống cơ bản của bệnh tật. Đối với mạng tương tác thuốc - mục tiêu, các nút là các thuốc hoặc protein mục tiêu tiềm năng của chúng, các cạnh là sự liên hệ giữa chúng (hình 2C). Mạng lưới này là chìa khóa để tìm ra gen (mã hóa các protein) chịu ảnh hưởng của các loại thuốc đã được phê duyệt và có sẵn trên thị trường, hoặc được dự đoán thông qua các công cụ dựa trên máy tính. Thông tin về dự đoán tương tác thuốc - mục tiêu là một bước quan trọng trong quá trình khám phá hoặc tái định vị thuốc, nhằm xác định các loại thuốc mới giả định hoặc mục tiêu mới cho các loại thuốc hiện có, có ưu thế về tiết kiệm chi phí và thời gian hơn so với các phương pháp thử nghiệm sinh hóa hoặc *in vivo* để xác định các tương tác thuốc - mục tiêu mới. Nhìn chung, việc tích hợp các mạng sinh học này có thể tạo ra một mạng dược lý tổng quát “thuốc - protein/gen - bệnh”, từ góc độ của mạng lưới, có khả năng mô tả sự phức tạp giữa các hệ thống sinh học, thuốc và bệnh tật.



Hình 2. (A) Mạng tương tác protein - protein, (B) Mạng bệnh - gen, (C) Mạng thuốc - protein mục tiêu.

Mạng sinh học sở hữu các đặc tính cho phép trích xuất thông tin có ý nghĩa từ sự phức tạp của chúng. Các thuộc tính tô pô của mạng đóng vai trò là công cụ quan trọng để xác định các cấu trúc nhỏ trong mạng, chúng bao gồm bậc (degree), con đường ngắn nhất (shortest path) và trung tâm

(centralities). Bậc của một nút là một thuộc tính tô pô cơ bản, biểu thị số cạnh được kết nối với nút đó. Nó đóng vai trò then chốt trong việc định hình các đặc điểm khác, chẳng hạn như tính trung tâm của nút (hình 3A). Con đường ngắn nhất là đường đi hiệu quả nhất giữa hai nút, được xác định bằng tổng số cạnh tối thiểu giữa hai nút (hình 3B). Trong khi đó, tính trung tâm giúp định lượng tầm quan trọng của một nút hoặc cạnh về khả năng kết nối mạng và luồng thông tin (hình 3C). Các nút có tính trung tâm cao được gọi là các hub, được coi là rất quan trọng vì sự vắng mặt của chúng có thể làm gián đoạn liên kết và cô lập các nút khác, có khả năng cản trở chức năng mạng [13]. Ví dụ như trong mạng lưới tương tác protein - protein, một nút trung tâm thường đóng vai trò quan trọng trong việc bảo tồn cấu trúc tổng thể của mạng, cũng như bảo tồn hoạt động của tế bào [14].



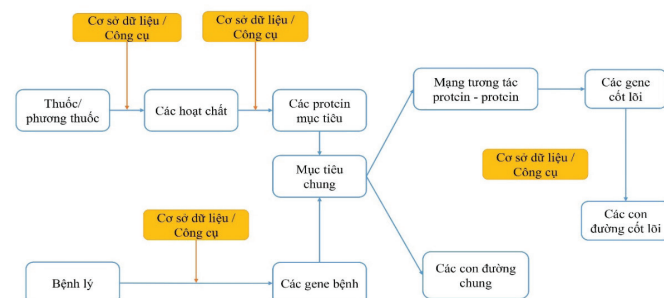
Hình 3. Thuộc tính tô pô của mạng. (A) Bậc (degree) của mạng, bậc của mỗi nút được biểu thị và phản ánh qua kích thước và màu sắc của nó; (B) Con đường ngắn nhất giữa nút A và B là năm cạnh; (C) Tính trung tâm của mạng, nút màu đỏ biểu thị mức độ bậc trung tâm (degree centrality) cao nhất, là một trong các hub của mạng.

2. Phương pháp dược lý mạng trong nghiên cứu thuốc y học cổ truyền

Y học cổ truyền (YHCT) là nền y học có lịch sử hàng nghìn năm nay, thông qua kinh nghiệm và thực tiễn lâm sàng, nó đã hình thành nên một hệ thống y học toàn diện và độc đáo. Điều trị bằng thuốc YHCT là một đặc điểm nổi bật của phương pháp điều trị dựa trên “Chứng”, nhấn mạnh quan niệm chỉnh thể trong lý luận YHCT. Tuy nhiên, việc nghiên cứu cơ chế sinh học ở cấp độ phân tử vẫn đang còn là một thách thức lớn đối với thuốc YHCT. Sự phát triển của khoa học công nghệ tiên tiến, đặc biệt là các ngành hóa học, sinh học phân tử đã cung cấp nhiều phương tiện để mô tả và xác định các hoạt chất cũng như mục tiêu sinh học của các loại thuốc. Mặc dù đã có những thành công trong việc chiết xuất hoạt chất và xác định mục tiêu sinh học của chúng, nhưng sự hiểu biết về cách kết hợp các thành phần này trong một loại thuốc hay một công thức thuốc YHCT, cũng như vai trò của chúng đối với các bệnh phức tạp vẫn là chưa rõ ràng [6]. Điều này là do một công thức thuốc YHCT thường được tạo thành từ các vị thuốc đơn lẻ, được phối ngũ theo nguyên tắc “Quân, Thần, Tả, Sứ” [15]. Hơn nữa, trong thành phần của một vị thuốc lại chứa rất nhiều các hoạt chất [16] và một hợp chất lại nhắm mục tiêu lên nhiều loại protein khác nhau [17]. Do đó, để trực quan hóa và lý giải các mối quan hệ này một cách rõ ràng, việc cần thiết là phải xây dựng được một mạng dược

lý tổng quát. Nghiên cứu của S. Li và cs (2013) [6] về “Dược lý mạng YHCT” đã giúp mở ra một lĩnh vực nghiên cứu mới về sự kết hợp giữa nền tảng lý luận YHCT với các phương pháp tiên tiến trong nghiên cứu tin sinh học hiện đại. Điều trị YHCT là một mô hình đa hợp chất, đa mục tiêu và đa tác động, trong khi dược lý mạng là một phương pháp sinh học có hệ thống để phân tích các tác dụng dược lý đa mục tiêu và đa con đường. Do đó, mạng lưới dược lý đã trở thành một chiến lược chung để nghiên cứu các cơ chế điều trị của YHCT, được chứng minh là hữu ích trong việc giải mã cơ sở khoa học của YHCT [18].

Phương pháp nghiên cứu về dược lý mạng bao gồm các bước cụ thể như xây dựng mạng, phân tích mạng và xác thực mạng. Để xây dựng các mạng lưới, các mục tiêu của thuốc và bệnh lý cần phải được thu thập để xác lập mục tiêu chung giữa chúng. Đối với việc tìm kiếm các protein mục tiêu của thuốc, chúng ta thu thập các hoạt chất của nó bằng cách truy cập vào các cơ sở dữ liệu (CSDL) hoặc công cụ tìm kiếm. Sau khi thu được các hoạt chất, các công cụ dự đoán được sử dụng để thu được các protein mục tiêu tiềm năng. Tương tự đối với bệnh tật, các gen mục tiêu được thu thập dựa trên các CSDL về bệnh. Các protein mục tiêu của thuốc được ánh xạ đến các gen mục tiêu bệnh để xác lập danh sách các mục tiêu chung của thuốc và bệnh tật để xây dựng các mạng sinh học. Sau đó, các mạng được phân tích về mặt cấu trúc, chức năng. Những con đường sinh học (pathway) của các mục tiêu chung sẽ được phân tích để khám phá các cơ chế sinh học về tác động của thuốc lên các bệnh khác nhau. Mặt khác, các protein cốt lõi cũng như con đường tiềm năng giữa thuốc và bệnh sẽ được tìm hiểu thông qua phân tích mạng lưới tương tác protein - protein. Cuối cùng, các mạng lưới sẽ được xác nhận thông qua docking phân tử (molecular docking) hay các thí nghiệm *in vitro*, *in vivo* (hình 4) [19].



Hình 4. Quá trình cơ bản của nghiên cứu dược lý mạng trong thuốc y học cổ truyền [19].

2.1. Xây dựng mạng

Xây dựng mạng dược lý trong nghiên cứu YHCT thường bao gồm các bước như sàng lọc các hợp chất, xác lập danh sách mục tiêu tiềm năng và trực quan hóa mạng.

2.1.1. Sàng lọc các hợp chất hóa học

Các vị thuốc hay bài thuốc YHCT có hiệu quả tốt trong việc điều trị bệnh, đặc biệt là đối với các bệnh lý đa gen phức tạp. Các hợp chất hóa học chính đại diện cho thuốc YHCT tổng thể thường được thu thập và sàng lọc thông qua dữ liệu thực nghiệm hoặc các CSDL. Dữ liệu thực nghiệm thường được lấy thông qua phân tích sắc ký lỏng với hệ thống HPLC hoặc UPLC ghép với đầu dò MS (LC-MS/MS) hay sắc ký khí ghép khối phổ (GC-MS) đi kèm với các dữ liệu của ngân hàng phổ chuẩn. Trong khi sàng lọc thông qua các CSDL thường sử dụng các chỉ số liên quan dược động học như phân tích hấp phụ, phân phối, chuyển hóa và bài tiết (ADME) [20]. Phương pháp thường hay được sử dụng là tìm kiếm CSDL, chẳng hạn như TCMSP [21], BATMAN-TCM [22], TCMID [23], SwissADME [24].

2.1.2. Xác lập danh sách mục tiêu tiềm năng

Khi các hợp chất hóa học được xác định, các protein mục tiêu của chúng sẽ được thu thập hoặc dự đoán, các protein này là các nút quan trọng trong được lý mạng. Trong khi một số CSDL cung cấp các liên kết hợp chất - mục tiêu đã được xác thực thông qua thực nghiệm như HIT [25]; các nền tảng khác thường sử dụng một số thuật toán để dự đoán các mục tiêu tiềm năng của hợp chất. Ví dụ như PharmMapper cung cấp dự đoán tương tác hợp chất - mục tiêu dựa vào kỹ thuật pharmacophore để sàng lọc thông lượng cao [26], trong khi SwissTargetPrediction [27] và BATMAN-TCM [22] dự đoán các mục tiêu tiềm năng dựa trên các tương tác thuốc - mục tiêu đã biết đến.

Để tìm hiểu các cơ chế điều chỉnh của thuốc trên các bệnh cụ thể, các gen mục tiêu của bệnh cũng được thu thập. Các CSDL như DisGeNET [28], HPO [29] và Genecards [30] cung cấp các chú thích toàn diện và đáng tin cậy để đi sâu vào các gen liên quan đến bệnh tật và cơ chế bệnh sinh của các rối loạn khác nhau.

Từ đây, một danh sách mục tiêu chung tiềm năng được thiết lập, bằng cách ánh xạ các protein mục tiêu của thuốc và gen mục tiêu của bệnh được thiết lập. Các mục tiêu chung này chính là đầu mối để thông qua đó giải thích cơ chế của thuốc trong điều trị các bệnh tật khác nhau.

2.1.3. Trục quan hóa mạng

Đây là quá trình trục quan các mạng sinh học dựa trên các dữ liệu đã được thu thập, các nút mạng có thể là các thuốc, hợp chất, protein hay gen và các cạnh đại diện cho các kết nối giữa chúng. Có rất nhiều trang web và phần mềm nguồn mở để đạt được trục quan hóa mạng sinh học phức tạp. Các mạng sinh học khác nhau có thể thu được thông qua công nghệ trục quan hóa, chẳng hạn như mạng mục tiêu - hợp chất, mạng gen - bệnh, mạng PPI.

2.2. Phân tích mạng

Mạng lưới sinh học cung cấp cho chúng ta nhiều thông tin. Làm thế nào để trích xuất thông tin quan trọng từ các mạng là điểm chính của nghiên cứu thuốc YHCT. Phân tích mạng nhằm mục đích tìm ra các mục tiêu quan trọng, các hợp chất có hoạt tính sinh học và các con đường trao đổi chất chính.

2.2.1. Phân tích cấu trúc

Phân tích cấu trúc mạng là phân tích các tập liên kết mạng. Bằng cách phân tích các thuộc tính tập cơ bản của mạng sinh học, chúng ta có thể tìm thấy một số nút chính trong mạng thông qua mức độ liên kết của nút đó với các nút khác trong mạng lưới, chúng có thể là các hợp chất, các mục tiêu hoặc các gen quan trọng. Hầu hết các phần mềm trục quan đều cung cấp bộ công cụ để thực hiện phân tích cấu trúc liên kết mạng như Cytoscape, Gephi và Pajek [31].

2.2.2. Phân tích chức năng

Người ta đã phát hiện ra rằng, các mạng lưới sinh học có tính năng mô-đun và nhiều hợp chất có hiệu quả điều trị thông qua tác động lên nhiều protein, chứ không phải một protein. Thông qua phân tích cấu trúc liên kết, một số mạng con có chức năng và cấu trúc liên kết cụ thể trong các mạng phức tạp được khám phá. Mô-đun hóa mạng làm cho mạng chính trở nên có thứ bậc và mô-đun, đồng thời làm nổi bật các nhóm nút quan trọng một cách nhanh chóng.

Việc xác định các nhóm nút quan trọng cho phép các phân tích tiếp theo như làm giàu con đường (pathway) GO hoặc KEGG để làm sáng tỏ các thuộc tính chức năng của các cụm gen/protein này. Cách tiếp cận này đặc biệt hữu ích trong việc xác định các mục tiêu liên quan đến các con đường then chốt, có ảnh hưởng vượt trội đến các kiểu hình sinh học liên quan. Nhiều công cụ có sẵn để phân tích làm giàu, bao gồm DAVID [32] và GSEA [33].

2.3. Xác minh mạng

Điều quan trọng là xác nhận tính hợp lý của kết quả dự đoán bằng phân tích mạng sinh học. Xác minh ảo và xác minh thử nghiệm là những phương pháp phổ biến. Xác minh ảo là tính toán các tham số mạng thông qua chức năng, thuật toán hoặc mạng tái cấu trúc cụ thể trong các điều kiện hạn chế, giúp hiểu mối quan hệ tương tác mạng bằng cách tối ưu hóa các mục tiêu. Docking phân tử là một trong các phương pháp xác minh ảo. M.N. Tran và cs (2022a) [34] đã nghiên cứu cơ chế của Nhân sâm (*Panax ginseng*) trong điều trị đái tháo đường tuýp 2, sau đó đã tiến hành xác nhận bằng docking phân tử rằng, các mục tiêu cốt lõi được dự đoán ái lực gắn kết cao với các hợp chất. Các xác nhận thông qua thử nghiệm như *in vitro* và *in vivo* thường cung cấp các giá trị bằng chứng vững chắc hơn trong nghiên cứu được lý mạng. J.Y. Choi và cs (2024) [35] đã nghiên cứu cơ chế của Đại hoàng trong chống động kinh, sau đó tiến hành xác nhận *in vivo* trên mô hình gây động kinh ở chuột bằng trimethyltin, với kết quả rằng Đại hoàng có khả năng điều chỉnh các cơn động kinh và thoải hóa thần kinh do trimethyltin gây ra.

3. Các cơ sở dữ liệu y học cổ truyền phổ biến trong nghiên cứu được lý mạng

Nghiên cứu dược lý mạng trong YHCT bao gồm nhiều yếu tố liên quan đến thuốc, các mục tiêu, các con đường sinh học, các hội chứng và bệnh lý trong y học. Nhiều chuyên gia đã phát triển CSDL liên quan đến dược lý mạng, tích hợp thông tin liên quan trong lĩnh vực y học và cung cấp cơ sở cho nghiên cứu về dược lý mạng. Các CSDL này được chia thành nhiều loại, bao gồm CSDL về thuốc/hợp chất, CSDL về bệnh tật và CSDL về gen/protein. Những CSDL này là các kho tài nguyên quý giá trong tìm hiểu cơ chế của YHCT (bảng 1).

Bảng 1. Các cơ sở dữ liệu được sử dụng phổ biến trong nghiên cứu dược lý mạng.

Tên cơ sở dữ liệu	Tên đầy đủ	Số lượng phương thuốc (PT), vị thuốc (VT), hợp chất (HC), mục tiêu (MT), bệnh tật (BT)	Mô tả
TCM Database @Taiwan - C.Y.C. Chen (2011) [36]	-	PT: 0, VT: 453, HC: 24.033, MT: 0, BT: 0	Dữ liệu thu được trích xuất từ sách và xuất bản khoa học của Trung Quốc, là CSDL về YHCT phi thương mại lớn nhất thế giới tại thời điểm ra mắt.
TCMSP - J. Ru và cs (2014) [21]	Traditional Chinese medicine systems pharmacology database and analysis platform	PT: 0, VT: 499, HC: 29.384, MT: 3.311, BT: 837	Cung cấp khả năng sàng lọc hoạt chất bằng các thuộc tính liên quan đến dược động học (ADME), với kết quả được hiển thị ở cấp độ mạng.
TM-MC - S.K. Kim và cs (2015) [37]	Medicinal materials and chemical compounds in Northeast Asian traditional medicine	PT: 0, VT: 635, HC: 34.057, MT: 0, BT: 0	Cung cấp dữ liệu về dược liệu và các hợp chất hóa học của chúng có nguồn gốc từ các bài báo về sắc ký.
TCMID - L. Huang và cs (2018) [23]	Traditional Chinese Medicine Integrated Database	PT: 46.292, VT: 8.159, HC: 43.413, MT: 12.419, BT: 4.633	Khởi pho của các mẫu thuốc đã được thêm vào để minh họa sự khác biệt về chất lượng thuốc từ các nguồn khác nhau và để phân biệt dược liệu chuẩn.
SymMap - Y. Wu và cs (2018) [38]	Symptom mapping	PT: 0, VT: 499, HC: 19.595, MT: 4.302, BT: 5.235	Mối liên hệ của các triệu chứng YHCT với các loại thảo mộc và các triệu chứng y học hiện đại đã được ánh xạ thủ công bởi các chuyên gia YHCT.
HERB - S.S. Fang và cs (2021) [39]	High-throughput experiment- and reference-guided database	PT: 0, VT: 7.263, HC: 49.258, MT: 12.933, BT: 28.212	Cung cấp bộ dữ liệu phiên mã cho các loại thuốc và các thành phần của nó, cho phép ánh xạ tới các loại thuốc hiện đại với thông tin có sẵn trong CMap. Cung cấp dữ liệu được tuyển chọn cẩn thận về các mục tiêu và bệnh tật được trích từ các tài liệu gần đây.
HIT - D. Yan và cs (2022) [25]	Herbal Ingredients' Targets	PT: 0, VT: 1.250, HC: 1.237, MT: 2.208, BT: 0	Tập trung vào việc thiết lập mối liên hệ giữa các thành phần thuốc riêng lẻ với các mục tiêu protein cụ thể mà chúng tác động, dựa trên kết quả thực nghiệm.
BATMAN-TCM - X. Kong và cs (2024) [22]	Bioinformatics Analysis Tool for Molecular mechanism of Traditional Chinese Medicine	PT: 54.832, VT: 8.404, HC: 39.171, MT: 9.927, BT: 5.128/1.504	Cung cấp thuật toán để dự đoán mục tiêu của bài thuốc, vị thuốc và hợp chất bằng hệ thống chấm điểm độ tin cậy thống nhất để xếp hạng các mục tiêu được dự đoán.

4. Ứng dụng dược lý mạng trong nghiên cứu thuốc y học cổ truyền

4.1. Nghiên cứu cơ chế, xác định mục tiêu, hoạt chất sinh học, tác dụng hiệp đồng của thuốc y học cổ truyền

Các hợp chất hóa học phức tạp có trong vị thuốc hoặc bài thuốc với cơ chế chưa rõ ràng đã hạn chế rất nhiều sự phát triển của thuốc YHCT. Dược lý mạng đã cung cấp một cơ hội giúp chuyển đổi chiến lược nghiên cứu thuốc YHCT từ dựa trên kinh nghiệm sang dựa trên bằng chứng. Việc phát hiện ra các mục tiêu mới, hay hoạt chất sinh học đã trở thành trọng tâm trong nghiên cứu công thức thuốc YHCT. Dược lý mạng là một công nghệ tiên tiến dựa trên máy tính hỗ trợ thuật toán và xây dựng các mô hình ảo để đạt được dự đoán đa mục tiêu, phù hợp cho việc phát hiện các mục tiêu phức tạp của thuốc YHCT. M.N. Tran và cs (2022a) [34] đã xác định được 22 hoạt chất, cùng với 5 mục tiêu cốt lõi, có liên quan đến việc phát huy tác dụng chống đái tháo đường của nhân sâm bằng cách điều chỉnh tình trạng kháng insulin, PI3K/Akt, HIF-1, đường truyền tín hiệu Ras, Rap1, prolactin, canxi và FoxO.

Trong thực hành lâm sàng, các vị thuốc hiếm khi được sử dụng riêng lẻ mà thường kết hợp để tạo ra tác dụng hiệp đồng. Dược lý mạng đã được ứng dụng để khám phá cơ chế hiệp đồng của các cặp thuốc hay các bài thuốc trong điều trị các bệnh khác nhau. Chẳng hạn như tính hiệp đồng của cặp Hoàng kỳ - Đan sâm trong điều trị bệnh mạch vành [40], cặp Xuyên khung - Xích thược trong cơ chế hình thành mạch [41], hay bài tiêu dao tán trong chống trầm cảm [42]. Nghiên cứu của M.N. Tran và cs (2024) [43] đã đề xuất phương pháp so sánh các mạng lưới sinh học, nhằm làm nổi bật tác dụng hiệp đồng của cặp thảo dược Nhân sâm và Hoàng kỳ trong điều trị chứng mệt mỏi liên quan đến ung thư. Kết quả nghiên cứu cho thấy, sự kết hợp này tăng cường tương tác protein trong mạng PPI và điều chỉnh nhiều con đường tín hiệu hơn so với việc sử dụng các thảo dược đơn lẻ. Ngoài ra, các thí nghiệm *in vitro* cũng đã được tiến hành, khẳng định rằng, sự kết hợp giữa Nhân sâm và Hoàng kỳ có khả năng điều chỉnh đường truyền tín hiệu HIF-1 α một cách có ý nghĩa.

4.2. Đánh giá độc tính

Một số báo cáo lâm sàng cho biết, mặc dù có đóng góp lớn trong điều trị các bệnh lý phức tạp nhưng các thành phần thuốc YHCT vẫn có những nguy cơ tiềm ẩn. Vì vậy, việc nghiên cứu độc tính của thuốc YHCT ngày càng được quan tâm. Phương pháp đánh giá độc tính truyền thống nghiên cứu sự thay đổi của các dấu ấn sinh học bằng cách phát hiện các chỉ số sinh hóa của sinh vật [44]. Tuy nhiên, độc tính tiềm ẩn và độc tính mạn tính có thể không được phản ánh ngay lập tức trên cơ thể, điều này có thể khiến ta bỏ qua nguy cơ tiềm ẩn của các thành phần thuốc YHCT. Mạng lưới độc tính được hình thành dựa trên sự hiểu biết và phân tích mạng tương tác “độc tính - tác dụng phụ - gen - mục tiêu - thuốc” để suy đoán và ước tính độc tính cũng như tác dụng phụ của thuốc. Dược học mạng có thể phá vỡ những hạn chế của phương pháp truyền thống để tìm ra độc chất và cơ chế gây độc một cách nhanh chóng. Độc tính chủ yếu bắt nguồn từ các độc chất của chính thuốc YHCT, hoặc có thể do cùng một mục tiêu của nhiều hợp chất gây ra sự rối loạn mạng lưới sinh học theo quan điểm dược lý mạng. Do đó, đặc tính đa mục tiêu của công thức thuốc YHCT hứa hẹn làm giảm các phản ứng bất lợi hơn so với thuốc - mục tiêu đơn lẻ. Z.Y. Li và cs (2015) [45] đã nghiên cứu cơ chế tương tác hiệu quả - độc

tính của Tứ nghịch thang thông qua dược lý mạng. Họ đã tìm thấy 5 gen liên quan đến độc tính thần kinh, độc tính trên tim và chức năng chống suy tim bằng cách xây dựng mạng lưới hiệu quả - độc tính, cung cấp bằng chứng cho nghiên cứu sâu hơn và giảm nhẹ độc tính.

4.3. Giải thích các khái niệm y học cổ truyền

Các khái niệm của YHCT thường được xem là trừu tượng dưới góc nhìn của Y học hiện đại. Một trong những ví dụ điển hình là Khí, đó là một khái niệm cơ bản và vô cùng quan trọng của YHCT. Tuy nhiên, việc nghiên cứu Khí và thuốc bổ Khí đặt ra một số thách thức bởi vì Khí là một khái niệm vô hình, gây khó khăn cho việc đo lường hoặc định nghĩa. Ngoài ra, bản chất đa tác động của các loại thảo mộc, với nhiều hợp chất hoạt tính và tác dụng hiệp đồng tiềm năng, đòi hỏi phải có nghiên cứu toàn diện để hiểu đầy đủ cơ chế của chúng. Bằng cách đề xuất một công thức để tìm ra các hợp chất đặc trưng, là những hợp chất thường gặp ở nhóm thuốc bổ khí nhưng lại hiếm gặp ở các nhóm thuốc khác, M.N. Tran và cs (2022b) [46] đã khám phá được chức năng đặc trưng của nhóm thuốc này, qua đó tiết lộ phần nào các đặc tính của Khí trong cơ thể. Mười ba hợp chất đặc trưng, chủ yếu bao gồm axit amin và vitamin, đã được xác định từ 8 vị thuốc bổ khí, chúng tham gia chuyển hóa năng lượng và cải thiện hội chứng thiếu hụt Khí. Ngoài ra, các triệu chứng thiếu hụt Khí gần giống với các triệu chứng xảy ra do sự thiếu hụt các hợp chất này. Kết quả trên đã phản ánh các đặc điểm của tác dụng bổ Khí truyền thống, với góc nhìn của sinh học hệ thống một cách phù hợp.

Một khái niệm khác thường được cân nhắc khi sử dụng thuốc YHCT là các cơ quan mục tiêu, hay cụ thể hơn là tính quy kinh của thuốc, nó đề cập đến tác dụng trị liệu của thuốc có tác động chọn lọc đến các cơ quan hoặc kinh mạch cụ thể. Trong khi các nghiên cứu dược lý mạng tạo ra nhiều danh sách gen liên quan đến thuốc, việc hiểu tác dụng của chúng đối với sinh vật ở cấp độ mô và cơ quan vẫn còn nhiều thách thức. M.N. Tran và cs (2023) [47] đã đề xuất hai phương pháp phân tích danh sách gen của Ngưu tất (*Radix Achyranthis bidentatae*) để dự đoán các cơ quan mục tiêu của vị thuốc này dựa trên phân tích làm giàu và phân tích biểu hiện gen. Nghiên cứu đã chỉ ra rằng, các mục tiêu của Ngưu tất liên quan đến máu toàn phần, các thành phần máu, tủy xương, mô bạch huyết, gan, thận, xương khớp và chủ yếu tập trung vào phần dưới cơ thể. Điều này làm nổi bật sự tương đồng giữa các vị trí cơ quan đích được dự đoán, thông qua phương pháp tin sinh học và những cơ quan tác động, quy kinh của Ngưu tất trong YHCT.

5. Kết luận

Dược lý mạng là một ngành khoa học đóng vai trò như một chiếc cầu nối giữa YHCT với y học hiện đại, giúp đơn giản hóa quá trình khám phá và phát triển thuốc nhờ vào sự phát triển của khoa học công nghệ hiện đại về mạng lưới tin sinh học, sử dụng các cơ sở dữ liệu, các công cụ, các nguồn tài nguyên sẵn có và luôn được cập nhật liên quan đến thuốc YHCT cũng như bệnh tật. Điều này đã giúp các nhà nghiên cứu có thể khai phá, tìm kiếm những con đường có liên quan đến tác động của thuốc YHCT với bệnh tật, đồng thời, góp phần tìm hiểu cơ chế tác dụng của thuốc YHCT và chứng minh được sự phù hợp cũng như góp phần nâng cao giá trị của tinh hoa lý luận YHCT trong điều trị bệnh. Đây là một phương pháp đầy hứa hẹn cho những nghiên cứu về thuốc YHCT trong tương lai.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] I.V. Hinkson, B. Madej, E.A. Stahlberg (2020), "Accelerating therapeutics for opportunities in medicine: A paradigm shift in drug discovery", *Front. Pharmacol.*, **11**, DOI: 10.3389/fphar.2020.00770.
- [2] D. Sun, W. Gao, H. Hu, et al. (2022), "Why 90% of clinical drug development fails and how to improve it?", *Acta Pharm. Sin. B*, **12(7)**, pp.3049-3062, DOI: 10.1016/j.apsb.2022.02.002.
- [3] M.A. Yildirim, K.I. Goh, M.E. Cusick, et al. (2007), "Drug-target network", *Nat. Biotechnol.*, **25(10)**, pp.1119-1126, DOI: 10.1038/nbt1338.
- [4] X.H. Makhoba, C. Viegas, R.A. Mosa, et al. (2020), "Potential impact of the multi-target drug approach in the treatment of some complex diseases", *Drug Des. Devel. Ther.*, **14**, pp.3235-3249, DOI: 10.2147/DDDT.S257494.
- [5] A.L. Hopkins (2007), "Network pharmacology", *Nature Biotechnology*, **25(10)**, pp.1110-1111, DOI: 10.1038/nbt1007-1110.
- [6] S. Li, B. Zhang (2013), "Traditional Chinese medicine network pharmacology: Theory, methodology and application", *Chin. J. Nat. Med.*, **11(2)**, pp.110-120, DOI: 10.1016/S1875-5364(13)60037-0.
- [7] W. Zhang (2016), "Network chemistry, network toxicology, network informatics, and network behavioristics: A scientific outline", *Network Biology*, **6(1)**, pp.37-39.
- [8] J. Zhao, C. Mo, W. Shi, et al. (2021), "Network pharmacology combined with bioinformatics to investigate the mechanisms and molecular targets of *Astragalus Radix*-*Panax Notoginseng* herb pair on treating diabetic nephropathy", *Evid. Based Complement Alternat. Med.*, DOI: 10.1155/2021/9980981.
- [9] K. Waiho, N.A. Aleng, M.T.M. Iryani, et al. (2021), "Protein-protein interaction network: An emerging tool for understanding fish disease in aquaculture", *Reviews in Aquaculture*, **13(1)**, pp.156-177, DOI: 10.1111/raq.12468.
- [10] W. Yan, D. Zhang, C. Shen, et al. (2018), "Recent advances on the network models in target-based drug discovery", *Current Topics in Medicinal Chemistry*, **18(13)**, pp.1031-1043, DOI: 10.2174/1568026618666180719152258.
- [11] Z. Li, A.A. Ivanov, R. Su, et al. (2017), "The OncoPPi network of cancer-focused protein-protein interactions to inform biological insights and therapeutic strategies", *Nature Communications*, **8(1)**, DOI: 10.1038/ncomms14356.
- [12] Q.P. Li, S. Wang, J.Y. Gou (2017), "A split ubiquitin system to reveal topology and released peptides of membrane proteins", *BMC Biotechnology*, **17(1)**, DOI: 10.1186/s12896-017-0391-0.
- [13] E. Almaas (2007), "Biological impacts and context of network theory", *Journal of Experimental Biology*, **210(9)**, pp.1548-1558, DOI: 10.1242/jeb.003731.
- [14] H.S. Walter, S.I. Ahmed (2021), "Targeted therapies in cancer", *Surgery (Oxford)*, **39(4)**, pp.202-207, DOI: 10.1016/j.mpsur.2021.01.010.
- [15] C. Li, W.W. Jia, J.L. Yang, et al. (2022), "Multi-compound and drug-combination pharmacokinetic research on Chinese herbal medicines", *Acta Pharmacol. Sin.*, **43(12)**, pp.3080-3095, DOI: 10.1038/s41401-022-00983-7.
- [16] F. Long, H. Yang, Y. Xu, et al. (2015), "A strategy for the identification of combinatorial bioactive compounds contributing to the holistic effect of herbal medicines", *Sci. Rep.*, **5**, DOI: 10.1038/srep12361.
- [17] N. Vaou, E. Stavropoulou, C.C. Voudarou, et al. (2022), "Interactions between medical plant-derived bioactive compounds: Focus on antimicrobial combination effects", *Antibiotics (Basel)*, **11(8)**, DOI: 10.3390/antibiotics11081014.
- [18] L. Li, L. Yang, L. Yang, et al. (2023), "Network pharmacology: A bright guiding light on the way to explore the personalized precise medication of traditional Chinese medicine", *Chinese Medicine*, **18(1)**, DOI: 10.1186/s13020-023-00853-2.
- [19] M.N. Tran (2024), *Exploring The Unique Function, Molecular Mechanism, and Synergistic Effect of Qi-Investigating Herbal Group Using The Biological Network Approach*, in *Korean Convergence Medical Science*, Doctoral Thesis University of Science and Technology: Korea.
- [20] S. Sun, Y. Wang, A. Wu, et al. (2019), "Influence factors of the pharmacokinetics of herbal resourced compounds in clinical practice", *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, DOI: 10.1155/2019/1983780.
- [21] J. Ru, P. Li, J. Wang, et al. (2014), "TCMSP: A database of systems pharmacology for drug discovery from herbal medicines", *Journal of Cheminformatics*, **6**, DOI: 10.1186/1758-2946-6-13.
- [22] X. Kong, C. Liu, Z. Zhang, et al. (2024), "BATMAN-TCM 2.0: An enhanced integrative database for known and predicted interactions between traditional Chinese medicine ingredients and target proteins", *Nucleic Acids Research*, **52(D1)**, pp.D1110-D1120, DOI: 10.1093/nar/gkad926.
- [23] L. Huang, D. Xie, Y. Yu, et al. (2018), "TCMID 2.0: A comprehensive resource for TCM", *Nucleic Acids Research*, **46(D1)**, pp.D1117-D1120, DOI: 10.1093/nar/gkx1028.
- [24] A. Daina, O. Michielin, V. Zoete (2017), "SwissADME: A free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules", *Scientific Reports*, **7(1)**, DOI: 10.1038/srep42717.
- [25] D. Yan, G. Zheng, C. Wang, et al. (2022), "HIT 2.0: An enhanced platform for herbal ingredients' targets", *Nucleic Acids Research*, **50(D1)**, pp.D1238-D1243, DOI: 10.1093/nar/gkab1011.
- [26] X. Wang, Y. Shen, S. Wang, et al. (2017), "PharmMapper 2017 update: A web server for potential drug target identification with a comprehensive target pharmacophore database", *Nucleic Acids Research*, **45(W1)**, pp.W356-W360, DOI: 10.1093/nar/gkx374.
- [27] A. Daina, O. Michielin, V. Zoete (2019), "SwissTargetPrediction: Updated data and new features for efficient prediction of protein targets of small molecules", *Nucleic Acids Research*, **47(W1)**, pp.W357-W364, DOI: 10.1093/nar/gkz382.
- [28] J. Piñero, J.M.R. Anguita, J.S. Pitarich, et al. (2020), "The DisGeNET knowledge platform for disease genomics: 2019 update", *Nucleic Acids Research*, **48(D1)**, pp.D845-D855, DOI: 10.1093/nar/gkz1021.
- [29] S. Köhler, L. Carmody, N. Vasilevsky, et al. (2018), "Expansion of the human phenotype ontology (HPO) knowledge base and resources", *Nucleic Acids Research*, **47(D1)**, pp.D1018-D1027, DOI: 10.1093/nar/gky1105.
- [30] M. Safran, N. Rosen, M. Twik, et al. (2021), "The GeneCards suite", *Practical Guide to Life Science Databases*, Springer, pp.27-56, DOI: 10.1007/978-981-16-5812-9_2.
- [31] X. Zhou, N. Wang, X. Zhai (2021), "Common network pharmacology software", *Network Pharmacology*, Springer, pp.127-173, DOI: 10.1007/978-981-16-0753-0_4.
- [32] B.T. Sherman, M. Hao, J. Qiu, et al. (2022), "DAVID: A web server for functional enrichment analysis and functional annotation of gene lists (2021 update)", *Nucleic Acids Research*, **50(W1)**, pp.W216-W221, DOI: 10.1093/nar/gkac194.
- [33] A. Subramanian, P. Tamayo, V.K. Mootha, et al. (2005), "Gene set enrichment analysis: A knowledge-based approach for interpreting genome-wide expression profiles", *Proceedings of The National Academy of Sciences*, **102(43)**, pp.15545-15550, DOI: 10.1073/pnas.0506580102.
- [34] M.N. Tran, S. Lee (2022a), "The molecular mechanisms of *Panax ginseng* in treating type 2 diabetes mellitus: Network pharmacology analysis and molecular docking validation", *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, DOI: 10.1155/2022/3082109.
- [35] J.Y. Choi, S. Kang, M.N. Tran, et al. (2024), "Antiepileptic and neuroprotective effects of rheum tanguticum root extract on trimethyltin-induced epilepsy and neurodegeneration: *In vivo* and *in silico* analyses", *Journal of Integrative Neuroscience*, **23(6)**, DOI: 10.13083/j.jin2306122.
- [36] C.Y.C. Chen (2011), "TCM Database@Taiwan: The world's largest traditional Chinese medicine database for drug screening *in silico*", *PLOS ONE*, **6(1)**, DOI: 10.1371/journal.pone.0015939.
- [37] S.K. Kim, S.J. Nam, H. Jang, et al. (2015), "TM-MC: A database of medicinal materials and chemical compounds in Northeast Asian traditional medicine", *BMC Complementary and Alternative Medicine*, **15(1)**, DOI: 10.1186/s12906-015-0758-5.
- [38] Y. Wu, F. Zhang, K. Yang, et al. (2018), "SymMap: An integrative database of traditional Chinese medicine enhanced by symptom mapping", *Nucleic Acids Research*, **47(D1)**, pp.D1110-D1117, DOI: 10.1093/nar/gky1021.
- [39] S.S. Fang, L. Dong, L. Liu, et al. (2021), "HERB: A high-throughput experiment- and reference-guided database of traditional Chinese medicine", *Nucleic Acids Research*, **49(D1)**, pp.D1197-D1206, DOI: 10.1093/nar/gkaa1063.
- [40] Y. Zhang, J. Wang, Y.M. Liu, et al. (2021), "The synergistic effects of *Astragalus mongholicus* and *Salvia miltiorrhiza* on coronary heart disease identified by network pharmacology and experiment", *Drug Design, Development and Therapy*, **15**, pp.4053-4069, DOI: 10.2147/DDDT.S326024.
- [41] Y. Wang, G. Guo, B.R. Yang, et al. (2017), "Synergistic effects of Chuanxiong-Chishao herb-pair on promoting angiogenesis at network pharmacological and pharmacodynamic levels", *Chinese Journal of Integrative Medicine*, **23(9)**, pp.654-662, DOI: 10.1007/s11655-017-2408-x.
- [42] X.J. Liu, Y.Z. Wang, F.X. Wei, et al. (2021), "The synergistic anti-depression effects of different efficacy groups of Xiaoyaosan as demonstrated by the integration of network pharmacology and serum metabolomics", *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, **197**, DOI: 10.1016/j.jpba.2021.113949.
- [43] M.N. Tran, N.S. Kim, S. Lee (2024), "Biological network comparison identifies a novel synergistic mechanism of Ginseng Radix-Astragalus Radix herb pair in cancer-related fatigue", *Journal of Ethnopharmacology*, **333**, DOI: 10.1016/j.jep.2024.118447.
- [44] E. Madorran, A. Stożer, S. Bevc, et al. (2020), "In vitro toxicity model: Upgrades to bridge the gap between preclinical and clinical research", *Biomolecules and Biomedicine*, **20(2)**, pp.157-168, DOI: 10.17305/bjbm.2019.4378.
- [45] Z.Y. Li, H.J. Bao, S.F. Zhang, et al. (2015), "Study on intersection and regulation mechanism of "efficacy-toxicity network" of aconite in combination environment of Sini decoction", *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi*, **40(4)**, pp.733-738 (in Chinese).
- [46] M.N. Tran, S. Kim, Q.H.N. Nguyen, et al. (2022b), "Molecular mechanisms underlying Qi-investigating effects in traditional medicine: Network pharmacology-based study on the unique functions of Qi-investigating herb group", *Plants*, **11(19)**, DOI: 10.3390/plants11192470.
- [47] M.N. Tran, S.J. Baek, H.J. Jun, et al. (2023), "Identifying target organ location of Radix Achyranthis Bidentatae: A bioinformatics approach on active compounds and genes", *Frontiers in Pharmacology*, **14**, DOI: 10.3389/fphar.2023.1187896.

Hiện trạng canh tác và thành phần cỏ dại trong các vườn sầu riêng tại huyện Cái Bè, tỉnh Tiền Giang

Hồ Lệ Thi*, Nguyễn Gia Huy, Trần Anh Khoa

Khoa Bảo vệ Thực vật, Trường Nông nghiệp, Trường Đại học Cần Thơ, phường Ninh Kiều, TP Cần Thơ, Việt Nam

Ngày nhận bài 2/11/2024; ngày chuyển phản biện 5/11/2024; ngày nhận phản biện 30/11/2024; ngày chấp nhận đăng 6/12/2024

Tóm tắt:

Nghiên cứu khảo sát quản lý cỏ dại trong vườn sầu riêng tại huyện Cái Bè, tỉnh Tiền Giang (trước sáp nhập) nhằm đánh giá chỉ số sinh học, phân bố cỏ dại và các yếu tố ảnh hưởng đến hiệu quả canh tác. Mẫu cỏ dại được thu thập từ các khu vực khảo sát, phân tích đặc điểm sinh học thành phần cỏ dại, chỉ số đa dạng sinh học và đánh giá độ che phủ. Kết quả cho thấy, diện tích trồng lớn và kỹ thuật canh tác có vai trò quan trọng trong quản lý, nhưng phụ thuộc vào nước tự nhiên và hạn chế kinh nghiệm bón phân vẫn là thách thức. Có 12 loài cỏ dại được ghi nhận, trong đó cỏ chỉ và cỏ lá gừng phổ biến nhất với mật độ $24,00 \pm 0,71$ và $20,00 \pm 0,75$ cây/m². Chỉ số Shannon-Wiener (H') cho thấy đa dạng sinh học cao ở các xã An Hữu, An Thái Trung và Thien Trung. Độ che phủ cỏ dại không đồng đều, trong đó các xã An Cư và An Thái Trung có mật độ cao hơn, còn các xã Hậu Mỹ Trinh và Hòa Khánh có sự phân bố đồng đều hơn. Xã An Thái Đông cho thấy sự thống trị của một số loài cụ thể. Cần áp dụng các biện pháp quản lý cỏ dại đồng đều trên diện rộng, thay vì tập trung vào các điểm cụ thể, nhằm đảm bảo hiệu quả lâu dài, bền vững và xem xét các loài cỏ tiềm năng để làm thức ăn chăn nuôi.

Từ khóa: cỏ dại, đa dạng sinh học, độ che phủ, quản lý cỏ dại, sầu riêng.

Chỉ số phân loại: 4.1, 4.7

Current cultivation practices and weed composition in durian orchards in Cai Be district, Tien Giang province

Le Thi Ho*, Gia Huy Nguyen, Anh Khoa Tran

Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Can Tho University, Ninh Kieu Ward, Can Tho City, Vietnam

Received 2 November 2024; revised 30 November 2024; accepted 6 December 2024

Abstract:

This study investigates weed management in durian orchards in Cai Be district, Tien Giang province (prior to the administrative merger), aiming to assess biological indices, weed distribution, and factors affecting cultivation efficiency. Weed samples were collected from surveyed areas, and biological characteristics of weed species composition, biodiversity indices, and weed coverage were analysed. The results indicate that large planting areas and cultivation techniques play crucial roles in management, but dependence on natural water sources and limited fertilisation experience remain challenges. A total of 12 weed species were recorded, with *Axonopus compressus* and *Commelina communis* being the most prevalent, with densities of 24.00 ± 0.71 and 20.00 ± 0.75 plants/m², respectively. The Shannon-Wiener index (H') revealed high biodiversity in An Huu, An Thai Trung, and Thien Trung communes. Weed coverage was uneven, with higher densities in An Cu and An Thai Trung communes, while Hau My Trinh and Hoa Khanh communes exhibited more uniform distribution. An Thai Dong commune showed dominance by specific species. It is essential to implement uniform weed management measures across wide areas rather than focusing on specific points to ensure long-term and sustainable effectiveness, and to consider potential weed species for use as livestock feed.

Keywords: biodiversity, cover density, durian, weed management, weeds.

Classification numbers: 4.1, 4.7

*Tác giả liên hệ: Email: hlthi@ctu.edu.vn

1. Đặt vấn đề

Cỏ dại được định nghĩa là những loài thực vật không mong muốn trong một môi trường cụ thể, có khả năng gây thiệt hại đáng kể cho nông nghiệp cả về mặt kinh tế và môi trường. Các nghiên cứu cho thấy, cỏ dại chịu trách nhiệm gây ra sự sụt giảm năng suất toàn cầu lên đến 10% mỗi năm [1]. Cơ chế cạnh tranh của cỏ dại chủ yếu nằm ở việc tranh giành các nguồn tài nguyên thiết yếu như chất dinh dưỡng, nước và ánh sáng với cây trồng. Thông qua allelopathy - quá trình sản sinh các hợp chất hóa học thứ cấp như protein độc hại, terpenoid, glycoside, alkaloid và polyphenol - cỏ dại có khả năng ức chế sự phát triển của các loài thực vật khác [2]. Biến đổi khí hậu đang tạo điều kiện thuận lợi cho sự phát triển của các loài cỏ dại nguy hại, làm gia tăng cả về số lượng lẫn mức độ ảnh hưởng của chúng trong hệ sinh thái [3].

Mặc dù cỏ dại thường được coi là yếu tố gây hại, một số xu hướng nghiên cứu gần đây đã khuyến khích việc tận dụng cỏ dại một cách bền vững, nhằm mang lại những lợi ích lâu dài thay vì tiêu diệt chúng hoàn toàn [4]. Lớp phủ thảm thực vật cỏ dại trong các vườn cây ăn quả có thể giúp gia tăng tính đa dạng sinh học của hệ sinh thái, tạo điều kiện cho các sinh vật có lợi phát triển, cũng như cải thiện độ phì nhiêu của đất thông qua việc cung cấp nơi cư trú và nguồn thức ăn cho các loài sinh vật có ích [5]. Ngoài ra, thảm thực vật cỏ dại còn giúp giảm thiểu xói mòn, tăng hàm lượng mùn và tích lũy chất hữu cơ trong đất, từ đó cải thiện độ phì nhiêu và khả năng phục hồi của đất [6].

Tuy nhiên, theo khảo sát tại các vườn sầu riêng huyện Cái Bè, tỉnh Tiền Giang (năm 2023) cho thấy, quản lý cỏ dại chưa được quan tâm đúng mức. Diện tích sầu riêng toàn huyện đạt >9.500 ha (tăng gấp 6,7 lần so với năm 2018), tập trung chủ yếu ở 14 xã, trong đó 50% diện tích đang cho trái với năng suất bình quân 20-25 tấn/ha [7]. Sự mở rộng nhanh chóng này chủ yếu do chuyển đổi từ cây ăn trái kém hiệu quả và đất lúa sang trồng sầu riêng Monthong Ri 6 - loại cây mang lại giá trị kinh tế cao [7]. Dù vậy, hầu hết các biện pháp quản lý cỏ dại tại khu vực này vẫn còn hạn chế và chưa mang tính dài hạn, chủ yếu dựa vào các phương pháp truyền thống như cắt cỏ, sử dụng thuốc trừ cỏ hoặc trồng cây phủ đất. Các phương pháp này không chỉ ảnh hưởng trực tiếp đến thành phần cỏ dại mà còn tiềm ẩn nguy cơ làm giảm độ bền vững của hệ sinh thái nông nghiệp, từ đó tác động tiêu cực đến sự sinh trưởng và năng suất của cây trồng.

Nghiên cứu này được tiến hành với các mục tiêu chính như: điều tra hiện trạng cạnh tranh và quản lý cỏ dại của nông dân; xác định thành phần và đặc điểm sinh học của các loài cỏ dại hiện diện trong vườn sầu riêng và đánh giá hiệu quả của các biện pháp quản lý cỏ dại hiện tại, từ đó cung cấp cơ sở khoa học cho nghiên cứu các biện pháp quản lý cỏ dại bền vững trong sản xuất sầu riêng.

2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Vật liệu

Nghiên cứu được thực hiện tại các nông hộ trồng sầu riêng thuộc huyện Cái Bè, tỉnh Tiền Giang, trong khoảng thời gian từ tháng 9/2022 đến tháng 6/2023. Quy mô nghiên cứu bao gồm 60 hộ nông dân.

Vật liệu nghiên cứu gồm: phiếu điều tra nông dân, điều tra thực địa và khung đếm cỏ.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Điều tra thực địa và phân loại cỏ dại

Điều tra nông dân: Phương pháp PRA (Participatory rural appraisal) đã được sử dụng để tiến hành điều tra và phỏng vấn trực tiếp các nông dân địa phương về tình hình quản lý cỏ dại và kỹ thuật canh tác tại các vườn sầu riêng [8].

Điều tra thực địa: Sử dụng phương pháp khung lưới (Quadrat method) và tuyến đo (Transect method) để đánh giá thành phần cỏ dại trong vườn sầu riêng tại huyện Cái Bè, tỉnh Tiền Giang. Kích thước khung lưới được chọn là 1 m². Mỗi vườn cây được bố trí 5 điểm mẫu khung lưới một cách ngẫu nhiên, hoặc theo tuyến đo có chiều dài 50-100 m theo chiều dài hoặc chiều rộng của vườn, các điểm mẫu được bố trí cách nhau 10-20 m. Chỉ tiêu theo dõi: số lượng loài cỏ dại, mật độ cá thể, tần suất xuất hiện của từng loài. Có 10 xã trong huyện Cái Bè được chọn, gồm An Cư, An Hữu, An Thái Đông, An Thái Trung, Hậu Mỹ, Phú Hậu, Mỹ Trinh, Hậu Thành, Hòa Khánh, Mỹ Đức và Tây Thiện Trung. Trong đó, 5 xã đầu tiên được chọn 5 vườn đại diện và 5 xã sau chọn 4 vườn đại diện. Sử dụng phương pháp này để đảm bảo thu thập dữ liệu chính xác và xác định các biện pháp quản lý cỏ dại bền vững.

Phân loại cỏ dại: Các loài cỏ dại thu thập được phân loại và xác định tên khoa học dựa trên các tài liệu chuyên ngành về thực vật học về cỏ dại [9]. Phân loại chi tiết dựa vào đặc điểm hình thái lá, thân, hoa và quả, kết hợp với sự tham chiếu tới các nghiên cứu trước đây [10, 11].

2.2.2. Đánh giá đặc điểm sinh học quần xã cỏ dại

Các công thức đánh giá quần xã cỏ dại tại tỉnh Tiền Giang [12-14] gồm: (1) Mật độ trung bình (D_i): D_i (cá thể/m²) = $SY_i/(SA_i \cdot N)$; (2) Mật độ tương đối (Relative density - RD): RD_i (%) = $Q_i/T \cdot 100$; (3) Tần suất hiện diện (FO): FO_i (%) = $SZ_i/N \cdot 100$; (4) Tần suất tương đối (Relative frequency - RF): RF_i (%) = $F_i / \text{Total of } F_i$; (5) Giá trị ưu thế (Dominant value index - DVI hay PV): $PV = (RD_i + RF_i) \div 2$.

2.2.3. Đánh giá sự đa dạng về thành phần cỏ dại giữa các khu vực

Sự đa dạng về thành phần cỏ dại giữa các khu vực dựa theo các công thức sau [12, 13]:

(1) Tỷ lệ phủ (Coverage rate - CR): Phần trăm (%) diện tích bề mặt của ô mẫu được bao phủ bởi một loài nhất định; (2) Chỉ số đa dạng Margalef (DMg): Đo lường sự phong phú loài và nhạy cảm với kỹ thuật thu mẫu: $DMg = (S-1) \div \ln N$; (3) Chỉ số đa dạng Shannon-Wiener (H'): Đánh giá cả sự phong phú và đồng đều, nhạy cảm vừa phải với kích thước mẫu: $H' = -\sum_{i=1}^n p_i \times (\ln p_i)$ và $H'_{\max} = -\sum_{i=1}^n \frac{1}{S} \times (\ln \frac{1}{S}) = \ln S$; (4) Chỉ số đồng đều (J') thể hiện tính đồng đều của một quần xã cỏ dại: $J' = \frac{H'}{H'_{\max}} = \frac{H'}{\ln S}$; (5) Chỉ số ưu thế Simpson (λ): Phản ánh sự thống trị trong cộng đồng nhưng không đánh giá sự phong phú: $\lambda = \sum_{i=1}^n (p_i)^2$.

trong đó: D_i là mật độ trung bình (cá thể/m²); RD_i là mật độ tương đối (%); F_i là tần suất hiện diện (%); RF_i là tần suất tương đối (%); SY_i là số lượng cá thể loài thứ i (cá thể); SA_i là diện tích bao phủ tính toán (cm²); N là tổng số mẫu điều tra, SZ_i là tổng số mẫu điều tra có loài thứ i ; Q_i là số lượng loài thứ i (cá thể); T là tổng số lượng loài khảo sát (cá thể); C_r là độ phủ của loài thứ i (%); K là tổng độ phủ của các loài ghi nhận.

2.2.4. Phân tích số liệu thống kê

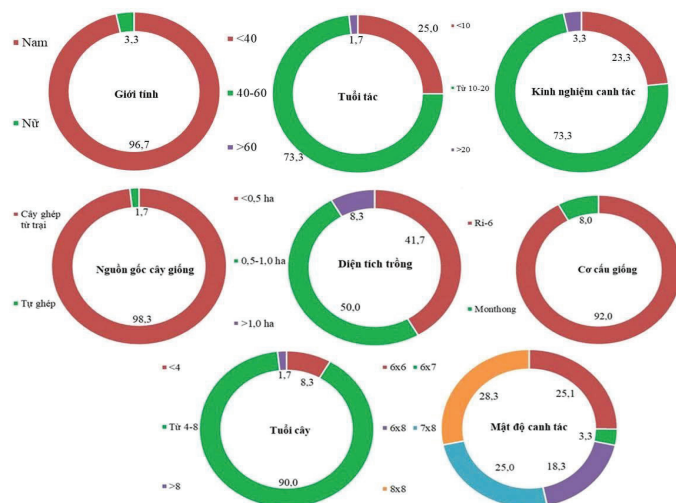
Số liệu mật độ và biểu đồ được xử lý bằng phần mềm Microsoft Excel 2016 và phân tích số liệu thống kê được thực hiện qua phần mềm SPSS 22.0.

3. Kết quả và bàn luận

3.1. Hiện trạng, đặc điểm canh tác và biện pháp quản lý cỏ dại của nông dân tại huyện Cái Bè, tỉnh Tiền Giang

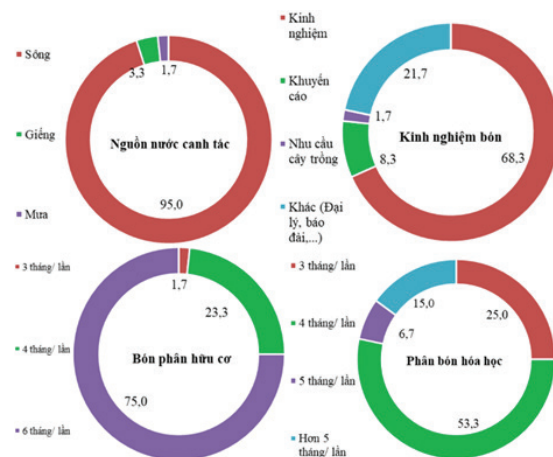
Kết quả điều tra cho thấy, nam giới chiếm ưu thế trong canh tác sầu riêng với tỷ lệ 96,7%, trong khi nữ giới chỉ chiếm 3,3%. Sự khác biệt lớn về giới tính này có thể do tính chất lao động nặng nhọc và vai trò truyền thống trong sản xuất nông nghiệp tại địa phương. Về độ tuổi, nhóm từ 40 đến 60 tuổi chiếm tỷ lệ cao nhất (73,3%), cho thấy đây là nhóm lao động chính trong canh tác. Nhóm này tuy có kinh nghiệm, nhưng khả năng tiếp thu các phương pháp canh tác mới có thể bị hạn chế do độ tuổi. Nhóm nông dân dưới 40 tuổi chỉ chiếm 25%, điều này cảnh báo về sự thiếu hụt thế hệ kế thừa trong nông nghiệp, điều có thể ảnh hưởng đến sự đổi mới và phát triển bền vững trong tương lai. Đặc biệt, nhóm trên 60 tuổi chiếm tỷ lệ rất nhỏ (1,7%), cho thấy số lượng nông dân cao tuổi còn lại không đáng kể. Về kinh nghiệm canh tác, phần lớn nông dân có 10-20 năm kinh nghiệm, chiếm 73,3%; dưới 10 năm chiếm 23,3%, nhóm có kinh nghiệm trên 20 năm chỉ chiếm 3,3%. Kết quả này cho thấy tầm quan trọng của việc đào tạo và hướng dẫn nông dân, đặc biệt là nhóm trẻ, nhằm đảm bảo sự phát triển bền vững của ngành canh tác sầu riêng, qua đó thúc đẩy việc chuyển giao công nghệ và phương pháp quản lý hiệu quả hơn.

Có 50% số hộ có diện tích trồng sầu riêng trên 1,0 ha, trong khi 41,7% diện tích nằm trong khoảng 0,5-1,0 ha và chỉ 8,3% hộ canh tác trên diện tích dưới 0,5 ha. Điều này cho thấy, phần lớn diện tích trồng sầu riêng thuộc quy mô vừa và lớn, phù hợp với định hướng canh tác quy mô thương mại. Tuy nhiên, diện tích nhỏ hơn 0,5 ha vẫn chiếm một phần, nhấn mạnh sự tồn tại của các hộ canh tác nhỏ lẻ. Giống sầu riêng Ri-6 chiếm ưu thế tuyệt đối với 92,0%, trong khi giống Monthong chỉ chiếm 8,0%. Có 90,0% số cây có tuổi 4-8 năm, 8,3% cây trên 8 năm, chỉ 1,7% cây dưới 4 năm tuổi. Mật độ trồng sầu riêng phổ biến nhất là 8x8 m (28,3%), tiếp theo là 6x6 m (25,1%) và 7x8 m (25,0%). Các mật độ khác như 7x7 và 6x7 chỉ chiếm tỷ lệ nhỏ (hình 1).



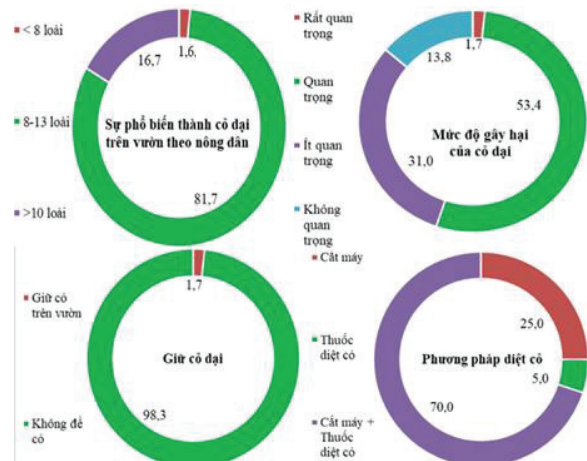
Hình 1. Cấu trúc và đặc điểm chính của vườn cây sầu riêng.

95% nước canh tác đến từ mưa, 3,3% đến từ giếng, 1,7% đến từ sông, điều này cho thấy nguồn nước canh tác chủ yếu phụ thuộc vào mưa tự nhiên. Có 68,3% các hộ canh tác dựa trên kinh nghiệm cá nhân khi bón phân, 21,7% dựa theo khuyến cáo, 8,3% tuân thủ theo nhu cầu của cây trồng và chỉ 1,7% dựa trên các khuyến nghị từ đại lý hoặc các cơ quan bên ngoài. Phần lớn các nông dân dựa vào kinh nghiệm bản thân để quyết định cách bón phân. Bón phân hữu cơ: 75,0% các hộ canh tác bón 3 tháng/lần, 23,3% bón 4 tháng/lần, chỉ 1,7% bón nhiều hơn 4 tháng/lần. Bón phân hóa học: 53,3% các hộ canh tác bón 4 tháng/lần, 25,0% bón 3 tháng/lần, 6,7% bón 5 tháng/lần và 15,0% bón nhiều hơn 5 tháng/lần. Việc sử dụng phân hóa học có tần suất bón không đồng đều, phần lớn các hộ tuân thủ lịch bón 4 tháng/lần, nhưng có một số nhóm bón ít hơn, có thể do lo ngại về tác động của phân hóa học lên đất và cây trồng (hình 2).



Hình 2. Tần suất và phương pháp sử dụng phân bón trong canh tác.

Theo đánh giá của nông dân, số lượng loài cỏ dại phổ biến trong vườn sầu riêng thường dao động 8-13 loài, chiếm 81,7% tổng số vườn. Các vườn có ít hơn 8 loài cỏ dại chỉ chiếm 1,6%, trong khi số vườn có hơn 13 loài cỏ dại chiếm 16,7%. Về mức độ gây hại của cỏ dại, nông dân phân loại thành 4 cấp độ: 53,4% đánh giá là rất quan trọng, 31,0% cho rằng quan trọng, 13,8% xem là ít quan trọng, chỉ 1,7% coi là không quan trọng. Hiện tại, 98,3% các vườn sầu riêng không giữ cỏ, phương pháp diệt cỏ phổ biến nhất là kết hợp giữa cắt máy và sử dụng thuốc trừ cỏ.



Hình 3. Đặc điểm quản lý cỏ dại trong vườn sầu riêng.

chiếm 70,0%. Mặc dù hệ thống canh tác hiện tại có tiềm năng phát triển mạnh mẽ nhờ vào diện tích trồng lớn, khả năng tự chủ kỹ thuật và việc sử dụng phân bón hợp lý, nhưng vẫn còn phụ thuộc nhiều vào nguồn nước tự nhiên và kinh nghiệm bón phân. Việc thiếu đa dạng hóa trong các biện pháp quản lý cỏ dại có thể dẫn đến rủi ro đáng kể (hình 3).

Nhìn chung, việc quản lý cỏ dại thiếu bền vững, đặc biệt là cây che phủ và hạt cỏ trong đất, có thể gây tác động tiêu cực. Để đảm bảo tính bền vững và tăng năng suất lâu dài, cần áp dụng các phương pháp khoa học kỹ thuật tiên tiến hơn, cải thiện hệ thống tưới tiêu, đa dạng hóa giống cây trồng và tăng cường kiến thức về quản lý cỏ dại bền vững.

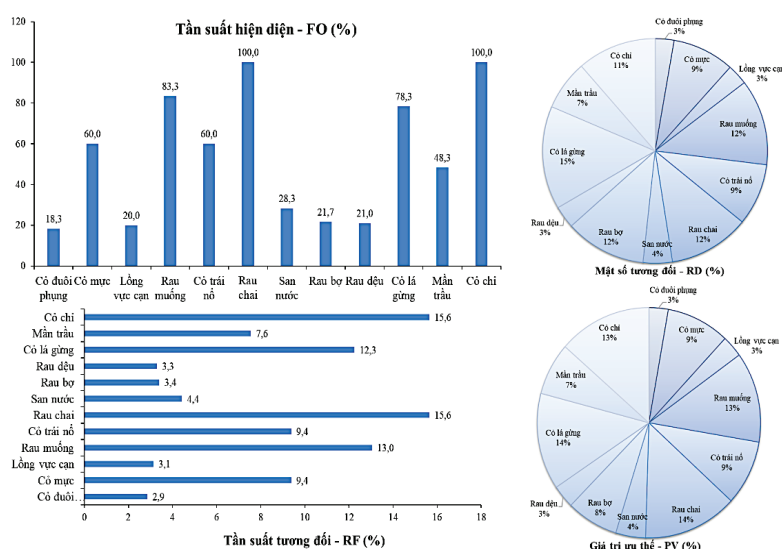
3.2. Thành phần và đặc điểm sinh học cỏ dại tại huyện Cái Bè, tỉnh Tiền Giang

Thành phần cỏ dại trong vườn cây sầu riêng ghi nhận có 12 loài thuộc 7 họ. Trong đó, các loài phổ biến nhất bao gồm cỏ chi (*Cynodon dactylon*), cỏ lá gừng (*Axonopus compressus*), rau muống (*Ipomoea aquatica*), trái nỏ (*Ruellia tuberosa*), rau trai (*Commelina communis*) và rau dệu (*Alternanthera sessilis*), với mật độ dao động 18-24 cây/m². Điều này cho thấy, việc làm cỏ cần được chú trọng ngay từ giai đoạn đầu, đặc biệt là trong mùa mưa. Việc vệ sinh đồng ruộng và dọn sạch cỏ dại trước mùa mưa, cũng như duy trì việc làm cỏ đầu mùa khô, là rất quan trọng. Kết hợp việc làm cỏ với bón phân thường mang lại hiệu quả cao. Với sự đa dạng của các loài cỏ dại, việc lựa chọn thuốc trừ cỏ hóa học cần được cân nhắc kỹ lưỡng để phù hợp với từng khu vực cụ thể. Trong số thành phần loài cỏ dại thuộc họ Hòa thảo (Poaceae) chiếm 50%, với cỏ chi và cỏ lá gừng có mật độ cao là 24,00±0,71 và 20,00±0,75 cây/m². Tuy nhiên, các loài cỏ lá rộng khác cũng có mật độ cao, cần phải có biện pháp quản lý cụ thể hơn để đảm bảo hiệu quả (bảng 1). Do đó, việc quản lý cỏ dại trong vườn cây sầu riêng đòi hỏi sự chú trọng từ giai đoạn đầu và liên tục, với sự kết hợp hợp lý giữa các biện pháp cơ học và hóa học. Để đạt được kết quả tốt nhất, cần thực hiện vệ sinh đồng ruộng trước mùa mưa, duy trì làm cỏ thường xuyên và lựa chọn phương pháp kiểm soát cỏ dại phù hợp với từng loài cụ thể.

Bảng 1. Thành phần và mật độ cỏ dại trong vườn sầu riêng tại huyện Cái Bè, tỉnh Tiền Giang.

TT	Tên Việt Nam	Tên khoa học	Họ thực vật	Mật số hiện diện (cây/m ²)
1	Đuôi phụng	<i>Leptochloa chinensis</i>		5,50±0,18
2	Lông vực cạn	<i>Echinochloa colona</i>		14,4±0,62
3	San nước	<i>Paspalum distichum</i>	Hòa thảo (Poaceae)	6,86±0,29
4	Cỏ lá gừng	<i>Axonopus compressus</i>		20,00±0,75
5	Mần trâu	<i>Eleusine indica</i>		14,40±0,64
6	Cỏ chi	<i>Cynodon dactylon</i>		24,00±0,71
7	Cỏ mực	<i>Eclipta prostrata</i>	Họ Cúc (Asteraceae)	11,33±0,60
8	Rau muống	<i>Ipomoea aquatica</i>	Bìm bìm (Convolvulaceae)	18,80±0,73
9	Cỏ trái nỏ	<i>Ruellia tuberosa</i>	Ô rô (Acanthaceae)	18,72±0,70
10	Rau trai/chai	<i>Commelina communis</i>	Thài lài (Commelinaceae)	18,80±0,41
11	Rau bọ	<i>Marsilea quadrifolia</i>	Rau bọ (Marsileaceae)	13,11±0,21
12	Rau dệu	<i>Alternanthera sessilis</i>	Họ Dền (Amaranthaceae)	18,20±0,20

Trong cùng một cột, các giá trị có một hoặc nhiều ký tự theo sau khác nhau thì khác biệt thống kê thông qua phép thử Kruskal-Wallis.



Hình 4. Phân bố và đặc điểm sinh học của các loài cỏ dại trong vườn sầu riêng tại huyện Cái Bè, tỉnh Tiền Giang. Tần suất hiện diện (Presence frequency - FO%), mật số tương đối (Relative density - RD%), tần suất tương đối (RF%) và giá trị ưu thế (Importance value - PV%) của các loài cỏ dại được xác định bằng cách thu thập mẫu từ nhiều khu vực khảo sát trong vườn cây sầu riêng và phân tích để đánh giá mức độ phân bố và sự chiếm ưu thế của từng loài.

Kết quả khảo sát cho thấy, sự phân bố của các loài cỏ dại trong khu vực nghiên cứu rất đa dạng về tần suất hiện diện. Trong đó, rau trai (*Commelina communis*) và cỏ chi (*Cynodon dactylon*) xuất hiện ở 100% các khu vực khảo sát, chứng tỏ chúng là những loài cỏ dại phổ biến và chiếm ưu thế nhất trong quần xã cỏ. Tiếp theo, rau muống (*Ipomoea aquatica*) có tần suất hiện diện đạt 83,3% và cỏ lá gừng (*Axonopus compressus*) với 78,3%. Cỏ mực (*Eclipta prostrata*) và cỏ trái nỏ (*Ruellia tuberosa*) có mặt tại 60% các khu vực khảo sát, cho thấy chúng cũng là những loài phổ biến nhưng kém hơn so với các loài trên. Những loài cỏ dại còn lại xuất hiện với tần suất thấp và rải rác, cho thấy chúng đóng vai trò thứ yếu trong quần xã cỏ (hình 4).

Phân tích tần suất tương đối (RF%) cho thấy, sự phân bố của các loài cỏ dại khá đồng đều, nhiều loài không chiếm ưu thế rõ rệt. Điều này dẫn đến sự cạnh tranh mạnh mẽ giữa các loài cỏ dại và cho thấy một xu hướng phân bố không tập trung, không có một loài nào chiếm ưu thế vượt trội trong khu vực khảo sát. Chỉ số mật số tương đối (RD%) và giá trị ưu thế (PV%) cũng cho thấy rằng, sự hiện diện của các loài cỏ dại là tương đối thấp, không có loài nào chiếm ưu thế rõ rệt trong quần xã cỏ. Sự phân bố đồng đều này có thể làm giảm mức độ cạnh tranh giữa các loài cỏ dại, nhưng đồng thời cũng cho thấy, quần xã cỏ không có sự tập trung của một loài cỏ dại chiếm ưu thế (hình 4).

Chỉ số đa dạng Margalef (DMg) không cho thấy sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các khu vực, điều này chỉ ra rằng, mức độ phong phú về loài cỏ dại là tương đối đồng đều ở tất cả các khu vực khảo sát, với số lượng loài không có sự chênh lệch rõ rệt giữa các khu vực. Ngược lại, chỉ số đa dạng Shannon-Wiener (H') cho thấy sự khác biệt rõ rệt giữa các khu vực. Các khu vực như An Hữu, An Thái Trung, Hậu Mỹ Trinh, Hòa Khánh, và Thiện Trung có chỉ số H' cao hơn, cho thấy những khu vực này không chỉ có sự phong phú loài cao hơn mà còn phân bố các loài đồng đều hơn so với các khu vực khác, phản ánh sự đa dạng sinh học phong phú và sự đồng đều trong cấu trúc quần xã (bảng 2).

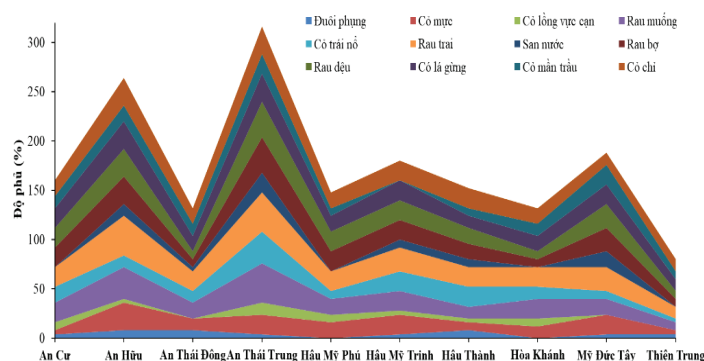
Bảng 2. Các chỉ số đánh giá đa dạng sinh học của quần xã cỏ dại trong vườn sầu riêng tại huyện Cái Bè, tỉnh Tiền Giang.

Khu vực	DMg	H' (Log10)	J'	λ
An Cư	2,71	1,79 ^b	1,13 ^b	0,89 ^{bc}
An Hữu	2,63	2,14 ^a	1,64 ^{ab}	0,27 ^d
An Thái Đông	2,86	1,80 ^b	1,14 ^b	1,49 ^a
An Thái Trung	2,52	2,33 ^a	1,98 ^a	0,25 ^d
Hậu Mỹ Phú	2,49	2,14 ^a	1,77 ^{ab}	0,29 ^d
Hậu Mỹ Trinh	2,63	2,29 ^a	1,98 ^a	0,27 ^d
Hậu Thành	3,02	1,85 ^b	1,18 ^b	1,03 ^b
Hòa Khánh	2,57	2,29 ^a	2,06 ^a	0,35 ^d
Mỹ Đức Tây	2,60	1,80 ^b	1,15 ^b	0,74 ^c
Thiện Trung	3,00	2,45 ^a	2,39 ^a	0,35 ^d
Mức ý nghĩa	ns	**	*	*

Trong cùng một cột, các giá trị có một hoặc nhiều ký tự theo sau khác nhau thì khác biệt có ý nghĩa thống kê thông qua phép thử Duncan. **: Khác biệt ở mức ý nghĩa 1%; *: Khác biệt ở mức ý nghĩa 5%; ns: Không khác biệt.

Chỉ số đồng đều (J') cũng cho thấy, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các khu vực khảo sát. Khu vực Thiện Trung đặc biệt nổi bật với chỉ số J' cao nhất, cho thấy sự phân bố các loài cỏ dại tại khu vực này là đồng đều hơn so với các khu vực khác. Chỉ số ưu thế Simpson (λ) chỉ ra sự khác biệt có ý nghĩa thống kê trong mức độ thống trị của các loài giữa các khu vực khảo sát. Khu vực An Thái Đông có chỉ số λ cao nhất, cho thấy một hoặc một số loài cỏ dại chiếm ưu thế rõ rệt hơn so với các khu vực khác. Kết quả phân tích chỉ ra rằng, các khu vực khảo sát có sự khác biệt rõ rệt về mức độ phong phú, đồng đều và sự thống trị của các loài cỏ dại. Những khu vực như An Thái Trung, Hậu Mỹ Trinh, Hòa Khánh và Thiện Trung thể hiện sự đa dạng và phân bố loài đồng đều cao hơn, trong khi khu vực An Thái Đông đặc biệt nổi bật với sự thống trị rõ rệt của một số loài cỏ dại (bảng 2).

Phân tích độ che phủ (hình 5) cho thấy, không có loài nào chiếm ưu thế rõ rệt và độ phủ đều giữa các khu vực gợi ý về việc áp dụng chiến lược quản lý đồng đều cho tất cả các loài cỏ dại trong khu vực khảo sát, song song đó cũng có thể thấy hai xã An Hữu và An Thái Trung có mật độ che phủ cao hơn các khu vực còn lại.

**Hình 5. Độ che phủ của cỏ dại ở các khu vực đánh giá trong vườn sầu riêng tại huyện Cái Bè, tỉnh Tiền Giang.**

Kết quả nghiên cứu cho thấy, có 12 loài cỏ dại hiện diện trong các vườn sầu riêng, trong đó cỏ lá gừng (*Axonopus compressus*) và cỏ chi (*Cynodon dactylon*) là phổ biến nhất với mật độ lần lượt là 20 và 24 cây/m². Các loài này cũng được ghi nhận phổ biến trong nghiên cứu về cây ăn trái khác như sự phổ biến của *Cynodon dactylon* trong các vườn xoài ở Ấn Độ [10]. Tương tự, sự hiện diện của các loài cỏ dại như

Cirsium arvense và *Taraxacum officinale* trong các vườn táo ở châu Âu, phản ánh sự phổ biến của đa dạng các loài cỏ dại này trong canh tác cây ăn trái toàn cầu [11].

Tại Việt Nam, lớp phủ đất (mulch) có tác động tích cực đối với nhiệt độ đất, độ ẩm, sự xâm nhiễm cỏ dại và năng suất đậu phộng ở miền Bắc Việt Nam. Việc sử dụng lớp phủ hữu cơ giúp giảm nhiệt độ đất và duy trì độ ẩm đất tốt hơn so với khu vực không sử dụng lớp phủ trong canh tác đậu phộng. Như vậy, việc áp dụng các phương pháp quản lý tích hợp, bao gồm làm cỏ cơ học, sử dụng thuốc trừ cỏ phù hợp và xem xét các loài cỏ dại tiềm năng như cỏ ruzi sẽ giúp nâng cao hiệu quả quản lý cỏ dại trong các vườn sầu riêng. Điều này không chỉ giúp cải thiện sự đồng đều trong quản lý cỏ dại mà còn bảo vệ sức khỏe cây trồng và tăng cường tính bền vững của hệ thống canh tác.

4. Kết luận

Huyện Cái Bè, tỉnh Tiền Giang là vùng trồng sầu riêng lớn với kỹ thuật canh tác và sử dụng phân bón hợp lý, mang lại hiệu quả kinh tế cao. Tuy nhiên, hoạt động sản xuất vẫn đối mặt với một số thách thức như phụ thuộc vào nguồn nước tự nhiên, hạn chế kinh nghiệm bón phân, và quản lý cỏ dại chưa bền vững. Cỏ chi và cỏ lá gừng là hai loài phổ biến, chiếm mật độ cao (24,00±0,71 và 20,00±0,75 cây/m²), trong khi các loài khác xuất hiện rải rác. Các khu vực như An Thái Đông có sự thống trị của một vài loài cỏ, trong khi các vùng khác như An Thái Trung và Hậu Mỹ Trinh ghi nhận sự phân bố cỏ dại đồng đều hơn.

Để nâng cao hiệu quả, cần áp dụng biện pháp quản lý cỏ dại đồng bộ (quản lý ngang), sử dụng cây che phủ phù hợp để cải thiện đất và hạn chế cỏ dại, tối ưu kỹ thuật bón phân và tìm giải pháp thay thế nguồn nước tưới, hướng đến canh tác sầu riêng bền vững.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] E.C. Oerke (2006), "Crop losses to pests", *The Journal of Agricultural Science*, **144**(1), pp.31-43, DOI: 10.1017/S0021859605005708.
- [2] J.B. Harborne (1993), "Advances in chemical ecology", *Natural Product Reports*, **10**(4), pp.327-348, DOI: 10.1039/NP9931000327.
- [3] F. Su, Y. Wei, F. Wang, et al. (2019), "Sensitivity of plant species to warming and altered precipitation dominates the community productivity in a semiarid grassland on the Loess Plateau", *Ecology and Evolution*, **9**(13), pp.7628-7638, DOI: 10.1002/ece3.5312.
- [4] N. Chandrasena (2014), "Living with weeds - A new paradigm?", *Indian Journal of Weed Science*, **46**(1), pp.96-110.
- [5] M.J. Mía, F. Massetani, G. Murri, et al. (2020), "Integrated weed management in high density fruit orchards", *Agronomy*, **10**(10), DOI: 10.3390/agronomy10101492.
- [6] M.A. Rodrigues, M. Arrobas (2020), "Cover cropping for increasing fruit production and farming sustainability", *Fruit Crops*, pp.279-295, DOI: 10.1016/B978-0-12-818732-6.00020-4.
- [7] People's Committee of Tien Giang province (2023), "Cai Be focuses on sustainable development of durian trees", *Tiengiang.gov.vn*, <https://tiengiang.gov.vn/chi-tiet-tin/cai-be-tap-trung-phat-trien-ben-vung-cay-sau-rieng/55424808>, accessed 15 April 2023 (in Vietnamese).
- [8] N.D. Can, V. Nico (2009), *PRA-Participatory Rural Appraisal*, Ho Chi Minh City Agriculture Publishing House, 72pp (in Vietnamese).
- [9] J.K. Suk, W.K. Yong, D.V. Chin, et al. (2000), *Common Weeds in Vietnam*, Ho Chi Minh City Agriculture Publishing House, 120pp (in Vietnamese).
- [10] R. Singh, S. Rana (2016), *Weed Management of Orchards*, Department of Agronomy, CSK Himachal Pradesh Krishi Vishvavidyalaya, India, DOI: 10.13140/RG.2.2.15197.51683.
- [11] D. Šikuljak, A. Andelković, S. Janković, et al. (2022), "Weeds in apple orchards and their control", *Biljni Lekar*, **50**(6), pp.601-612, DOI: 10.5937/BiljLek2206601S.
- [12] R. Nkoa, M.D. Owen, C.J. Swanton (2015), "Weed abundance, distribution, diversity, and community analyses", *Weed Science*, **63**(SP1), pp.64-90, DOI: 10.1614/WS-D-13.00075.1.
- [13] I.S. Travlos, N. Cheimona, I. Roussis, et al. (2018), "Weed-species abundance and diversity indices in relation to tillage systems and fertilization", *Frontiers in Environmental Science*, **6**, DOI: 10.3389/fenvs.2018.00011.
- [14] T.V. Phen, L.V. Xiem (2007), "The effectiveness of cover crops in weed control and providing livestock feed in orchards", *Can Tho University Journal of Science*, **8**, pp.115-124 (in Vietnamese).

Đặc điểm tài nguyên đất sản xuất nông nghiệp tại Đồng Tháp

Trương Xuân Cường*, Ngô Thanh Lộc*, Nguyễn Thành Long

Viện Thổ nhưỡng Nông hóa, phường Đông Ngạc, Hà Nội, Việt Nam

Ngày nhận bài 3/6/2024; ngày chuyển phản biện 6/6/2024; ngày nhận phản biện 21/6/2024; ngày chấp nhận đăng 27/6/2024

Tóm tắt:

Nghiên cứu được thực hiện để đánh giá đặc điểm các loại đất trên địa bàn tỉnh Đồng Tháp (trước sáp nhập). Để thực hiện, nghiên cứu đã sử dụng phương pháp điều tra, khảo sát thực địa, thu thập mẫu đất, phân tích mẫu đất, thống kê, so sánh, đánh giá, xử lý số liệu. Áp dụng Hệ phân loại đất Việt Nam đã xác định được trên 255.155,78 ha đất sản xuất nông nghiệp tỉnh Đồng Tháp có 8 nhóm đất chính, 16 loại đất, 34 loại đất phụ, trong đó: Nhóm đất phù sa chiếm diện tích lớn nhất với 141.624,04 ha, tiếp đến lần lượt là nhóm đất phèn (74.253,02 ha), đất xám bạc màu (15.848,51 ha), đất nhân tác (15.439,24 ha), đất gley (5.065,70 ha), đất có tầng đá ong non (2.299,66 ha), đất than bùn (463,85 ha) và đất cát (161,76 ha). Mỗi nhóm đất, loại đất có các đặc điểm lý, hóa học khác nhau và có mối liên quan chặt chẽ với mẫu chất hình thành đất. Kết quả nghiên cứu góp phần cung cấp cơ sở dữ liệu về đất đai, phục vụ tái cơ cấu nông nghiệp tỉnh.

Từ khóa: đất nông nghiệp, loại đất, nhóm đất, tái cơ cấu, tỉnh Đồng Tháp.

Chỉ số phân loại: 4.1, 4.7

Characteristics of agricultural land resources in Dong Thap province

Xuan Cuong Truong*, Thanh Loc Ngo*, Thanh Long Nguyen

Soils and Fertilisers Institute, Dong Ngac Ward, Hanoi, Vietnam

Received 3 June 2024; revised 21 June 2024; accepted 27 June 2024

Abstract:

The purpose of this study was to evaluate the characteristics of soil types in Dong Thap province (prior to the administrative merger). The study employed several methods including investigation, field surveys, sampling, sample analysis, statistics, comparison, evaluation, and data processing. According to the Vietnam Soil Classification System, a total of 255,155.78 hectares of agricultural land in Dong Thap province were identified to comprise 8 main soil groups, 16 soil types, and 34 soil sub-types. Among these, the fluvisols group covers the largest area with 141,624.04 hectares, followed by thionic fluvisols group (74,253.02 hectares), acrisols group (15,848.51 hectares), anthrosols group (15,439.24 hectares), gleysols group (5,065.70 hectares), plinthosols group (2,299.66 hectares), histosols group (463.85 hectares) and arenosols group (161.76 hectares). The physical and chemical properties of each soil group and soil type are closely tied to soil formation substances. The research results contribute to providing a land database to support agricultural restructuring in Dong Thap province.

Keywords: agricultural land, Dong Thap province, restructuring, soil group, soil types.

Classification numbers: 4.1, 4.7

*Tác giả liên hệ: Email: cuongsolgen@yahoo.com.vn, ngothanhloc1988@gmail.com

1. Đặt vấn đề

Đồng Tháp là một tỉnh có vị trí ở đầu nguồn sông Tiền với diện tích tự nhiên (DTTN) 338.227,9 ha, trong đó đất nông nghiệp chiếm 81,9% [1]. Là tỉnh nông nghiệp, thuộc vùng nông nghiệp trọng điểm của khu vực Đồng bằng sông Cửu Long, có điều kiện thuận lợi để hình thành các vùng chuyên canh lớn, tạo ra các vùng sản xuất hàng hóa tập trung chất lượng cao. Trải qua hơn 40 năm khai thác và sử dụng, cho đến nay các kết quả nghiên cứu về đất đã cũ, không đáp ứng được yêu cầu thực tế sản xuất. Các kết quả nghiên cứu về cơ sở dữ liệu đất đai trước đây của tỉnh đều được thực hiện ở cấp tỉnh, cấp vùng, chủ yếu phục vụ công tác quản lý đất đai, ít có ý nghĩa trong sản xuất nông nghiệp. Chính vì vậy, để phục vụ sản xuất nông nghiệp, đặc biệt trong tái cơ cấu ngành nông nghiệp tỉnh Đồng Tháp, việc xây dựng được bộ cơ sở dữ liệu đất đai đầy đủ và chi tiết là vô cùng cần thiết. Kết quả nghiên cứu góp phần cung cấp cơ sở dữ liệu về đất đai, phục vụ tái cơ cấu nông nghiệp tỉnh Đồng Tháp.

2. Nội dung và phương pháp nghiên cứu

2.1. Nội dung

Nghiên cứu được thực hiện trên diện tích 255.155,78 ha đất sản xuất nông nghiệp (đất trồng lúa, đất trồng cây hàng năm khác và đất trồng cây lâu năm) tỉnh Đồng Tháp. Thu thập được 150 mẫu đất chính có lấy mẫu phân tích, 16.700 mẫu đất phụ (mẫu đất chính không lấy mẫu phân tích và mẫu đất thăm dò) và 10.000 mẫu nông hóa (mẫu đất tầng mặt).

2.2. Phương pháp phân tích

Điều tra, chỉnh lý Bản đồ thổ nhưỡng tỉnh Đồng Tháp tỷ lệ 1/50.000 theo TCVN 9487:2012 về quy trình điều tra, lập bản đồ đất tỷ lệ trung bình và lớn.

Phân loại đất: Áp dụng Hệ phân loại đất Việt Nam dựa trên sự kết hợp giữa đặc điểm phát sinh và các số liệu phân tích định lượng dựa trên kết quả nghiên cứu của đề tài Xây dựng hệ phân loại đất Việt Nam áp dụng cho việc lập bản đồ đất tỷ lệ trung bình và lớn do Viện Thổ nhưỡng Nông hóa thực hiện năm 2005.

Mẫu đất được phân tích đất theo TCVN, gồm các chỉ tiêu:

+ 600 mẫu đất thổ nhưỡng (150 mẫu đất chính có lấy mẫu phân tích x 4 tầng đất): dung trọng, tỷ trọng, độ ẩm, pH_{KCl} , thành phần cấp hạt (4 cấp), Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Carbon hữu cơ tổng số (OC%), N, P_2O_5 và K_2O tổng số, P_2O_5 và K_2O dễ tiêu; CEC đất, độ chua trao đổi (Al^{3+} , H^+ trao đổi), lưu huỳnh hòa tan, tổng số muối tan.

+ 10.000 mẫu nông hóa: thành phần cấp hạt, pH, OC và N tổng số, P_2O_5 và K_2O dễ tiêu, CEC đất.

Trên cơ sở số liệu phân tích mẫu đất, tiến hành thống kê, tổng hợp phân tích, so sánh để đánh giá tính chất các loại đất bằng phần mềm Microsoft Excel.

3. Kết quả và bàn luận

Căn cứ vào các biểu hiện về hình thái phẫu diện và các số liệu phân tích tính chất lý, hóa học, đã xây dựng được bảng phân loại đất và chủ dẫn bản đồ đất tỉnh Đồng Tháp tỷ lệ 1/50.000 với 8 nhóm đất chính, 16 loại đất, 34 loại đất phụ (bảng 1).

Bảng 1. Các loại đất chính của tỉnh Đồng Tháp.

Ký hiệu	Tên đất		Diện tích	
	Việt Nam	FAO-UNESCO-WRB	Ha	Tỷ lệ (%)
ĐC	I. Nhóm đất cát	Arenosols	161,76	0,06
ĐCvs	1.1. Đất cát ven sông	Haplic Arenosols	161,76	0,06
PH	II. Nhóm đất phèn	Thionic Fluvisols	74.253,02	29,10
PHtt	2.2. Đất phèn tiềm tàng	Protothionic Fluvisols	49.544,47	19,42
PHhd	2.3. Đất phèn hoạt động	Orthithionic Fluvisols	24.708,55	9,68
PS	III. Nhóm đất phù sa	Fluvisols	141.624,04	55,50
PSgl	3.4. Đất phù sa gây	Gleyic Fluvisols	23.725,98	9,30
PSbd	3.5. Đất phù sa có tầng biến đổi	Cambic Fluvisols	20.176,15	7,91
PSch	3.6. Đất phù sa chua	Dystric Fluvisols	76.859,54	30,12
PSic	3.7. Đất phù sa trung tính ít chua	Eutric Fluvisols	20.862,37	8,18
GL	IV. Nhóm đất gley	Gleysols	5.065,70	1,99
GLph	4.8. Đất gley phèn	Protothionic Gleysols	3.170,71	1,24
GLnb	4.9. Đất gley có độ no bazơ thấp	Vetic Gleysols	1.894,99	0,74
TB	V. Nhóm đất than bùn	Histosols	463,85	0,18
TBph	5.10. Đất than bùn phèn	Thinoic Histosol	463,85	0,18
ĐO	VI. Nhóm đất có tầng đá ong non	Plinthosols	2.299,66	0,90
ĐObt	6.11. Đất có tầng đá ong non, có tầng bạc trắng	Albic Plinthosols	449,23	0,18
ĐOnb	6.12. Đất có tầng đá ong non, có độ no bazơ thấp	Vetic Plinthosols	1.850,43	0,73
ĐX	VII. Nhóm đất xám bạc màu	Acrisols	15.848,51	6,21
ĐXbm	7.13. Đất xám bạc màu	Haplic Acrisols	8.455,51	3,31
ĐXdo	7.14. Đất xám có tầng đá ong non	Plinthic Acrisols	6.741,07	2,64
ĐXnb	7.15. Đất xám có độ no bazơ rất thấp	Vetic Acrisols	651,93	0,26
NH	VIII. Nhóm đất nhân tác	Anthrosols	15.439,24	6,05
NHct	8.16. Đất bị ảnh hưởng do canh tác	Aric Anthrosols	15.439,24	6,05
	Diện tích đất điều tra		255.155,78	100,00
	Diện tích đất tự nhiên		338.227,90	

3.1. Nhóm đất cát

Nhóm đất cát chia thành 1 loại đất và 1 loại đất phụ có diện tích 161,76 ha, chiếm 0,05% DTTN. Phân bố ở huyện Hồng Ngự và TP Sa Đéc (trước sáp nhập), trên địa hình cao và khá bằng phẳng dọc theo sông Tiền. Đất hơi chặt, dung trọng ở mức trung bình. Đất có thành phần cơ giới nhẹ, chủ yếu là cát mịn. Đất chua nhẹ, pH_{KCl} 5,1-5,4. Hàm lượng carbon hữu cơ, đạm tổng số tầng mặt ở mức trung bình (1,1-1,8% OC, 0,10-0,17% N) và giảm dần theo chiều sâu phẫu diện. Lân, kali tổng số và kali dễ tiêu đều ở mức nghèo, riêng

lân dễ tiêu ở mức trung bình. Dung tích hấp thu ở mức thấp (8,1-8,9 meq/100 g đất) [2]. Nhìn chung, độ phì nhiêu đất tầng mặt ở mức trung bình và hiện đang trồng chủ yếu rau màu và cây ăn quả.

3.2. Nhóm đất phèn

Nhóm đất phèn được chia thành 2 loại đất và 5 loại đất phụ có diện tích 74.253,02 ha, chiếm 21,95% DTTN, phân bố từ địa hình thấp, trũng đến vùn. Đây là loại đất được hình thành phát triển trên các trầm tích đầm lầy - biển và sông - biển, có đặc điểm bồi tụ chậm, vật liệu trầm tích chứa nhiều hữu cơ và chất sinh phèn [1]. Hiện nay, loại đất này chủ yếu đang được canh tác lúa 2-3 vụ/năm và các loại cây hằng năm.

3.2.1. Đất phèn tiềm tàng

Có diện tích 49.544,47 ha, chiếm 14,67% DTTN, phân bố ở tất cả các huyện/thành phố trước sáp nhập. Đất giàu hữu cơ và rất chua, pH_{KCl} 3,67-4,46, đặc biệt ở tầng sinh phèn. Đất có thành phần cơ giới từ trung bình đến nặng. Hàm lượng carbon hữu cơ và đạm tổng số tầng mặt cao (2,57-4,04% OC, 0,19-0,27% N). Lân tổng số và lân, kali dễ tiêu từ nghèo đến trung bình (0,06-0,10% P_2O_5 , 4,16-9,27 mg P_2O_5 /100 g đất, 8,80-15,53 mg K_2O /100 g đất). Kali tổng số trung bình (1,26-1,83% K_2O). Dung tích hấp thu từ trung bình đến cao (17,01-20,52 meq/100 g đất) [2]. Nhìn chung, độ phì nhiêu tầng mặt từ trung bình đến cao, nhưng bị hạn chế về độ chua, gầy và phèn.

3.2.2. Đất phèn hoạt động

Có diện tích 24.708,55 ha, chiếm 7,31% DTTN, phân bố trên toàn tỉnh, ngoại trừ huyện Hồng Ngự và TP Hồng Ngự. Đất giàu hữu cơ, có thành phần cơ giới nặng, pH_{KCl} 3,6-4,9 từ chua vừa đến rất chua và tăng dần theo chiều sâu phẫu diện. Hàm lượng carbon hữu cơ và đạm tổng số cao (2,37-3,79% OC, 0,15-0,36% N). Lân, kali tổng số và dễ tiêu biến động mạnh từ nghèo đến giàu (0,02-0,11% P_2O_5 và 2,12-15,72 mg P_2O_5 /100 g đất, 0,81-2,08% K_2O , 6,80-15,24 mg K_2O /100 g đất). Dung tích hấp thu từ trung bình đến cao (17,3-23,7 meq/100 g đất) [2]. Nhìn chung, độ phì nhiêu tầng mặt từ trung bình đến cao, nhưng bị hạn chế về độ chua và gầy, phèn theo chiều sâu phẫu diện.

3.3. Nhóm đất phù sa

Nhóm đất phù sa được chia thành 4 loại đất và 13 loại đất phụ và là nhóm đất có diện tích lớn nhất với 141.624,04 ha, chiếm 41,87% DTTN, phân bố chủ yếu ở các cù lao và dọc ven sông Tiền, sông Hậu trên nhiều dạng địa hình từ vùn thấp đến cao, được hình thành từ các trầm tích trẻ Aluvi, có nguồn gốc sông - đầm lầy không chứa vật liệu sinh phèn [3]. Nhìn chung, các loại đất trong nhóm đất phù sa đã được canh tác từ lâu, chủ yếu là trồng lúa 2-3 vụ, lúa - màu/năm, các loại cây rau màu hằng năm và cây ăn quả.

3.3.1. Đất phù sa gầy

Có diện tích 23.725,98 ha, chiếm 7,01% DTTN. Phân bố ở 8/12 huyện/thành phố trước sáp nhập. Đất có thành phần cơ giới nặng và tăng dần theo chiều sâu phẫu diện, đặc biệt ở tầng gầy. Tầng mặt đạt yêu cầu với tầng canh tác, đất có độ chua từ chua vừa đến rất chua, pH_{KCl} 3,8-4,8, đặc biệt ở tầng gầy. Hàm lượng carbon hữu cơ tổng số cao (2,02-3,64% OC). Đạm, kali tổng số từ trung bình đến cao (0,12-0,26% N, 1,14-2,64% K_2O). Lân tổng số và lân, kali dễ tiêu biến động mạnh từ nghèo đến giàu (0,04-0,14% P_2O_5 và 1,19-15,21 mg P_2O_5 /100 g đất, 5,5-26,27 mg K_2O /100 g đất). Dung tích hấp thu trung bình (16,1-19,5 meq/100 g đất) [2]. Nhìn chung, độ phì nhiêu đất tầng mặt từ trung bình đến cao, nhưng bị hạn chế về độ chua và gầy theo chiều sâu phẫu diện.

3.3.2. Đất phù sa có tầng biến đổi

Có diện tích 20.176,15 ha, chiếm 5,97% DTTN. Phân bố hầu hết các huyện/thành phố, trừ huyện Tân Hồng, trên địa hình vùn, vùn cao. Đất có thành phần cơ giới nặng và tăng dần ở các tầng dưới. Tầng đất mặt đạt yêu cầu với tầng canh tác, độ chua từ rất chua đến gần trung tính, pH_{KCl} 3,6-5,8 và giảm dần ở các tầng dưới. Hàm lượng carbon hữu cơ, đạm tổng số cao (2,27-4,40% OC, 0,20-0,40% N). Lân, kali tổng số ở mức trung bình đến giàu (0,07-0,19% P_2O_5 , 1,28-2,15% K_2O). Lân dễ tiêu nghèo (1,9-6,52 mg P_2O_5 /100 g đất). Kali dễ tiêu biến động mạnh, từ nghèo đến giàu (8,33-22,23 mg K_2O /100 g đất). Dung tích hấp thu trung bình (14,40-19,40 meq/100 g đất) [2]. Nhìn chung, độ phì nhiêu đất tầng mặt ở mức trung bình đến cao.

3.3.3. Đất phù sa chua

Là loại đất có diện tích lớn nhất với 76.859,54 ha, chiếm 22,72% DTTN. Phân bố ở tất cả 12 huyện/thành phố. Đất có thành phần cơ giới từ trung bình đến nặng. Tầng đất mặt hơi chặt, có độ chua từ rất chua đến chua vừa, pH_{KCl} 4,22-4,97 và ở các tầng dưới chủ yếu ở mức rất chua. Hàm lượng carbon hữu cơ, đạm tổng số cao (2,50-4,22% OC, 0,19-0,31% N). Lân tổng số và lân dễ tiêu nghèo đến trung bình (0,07-0,13% P_2O_5 và 4,35-14,34 mg P_2O_5 /100 g đất). Kali tổng số trung bình (1,26-2,00% K_2O) và kali dễ tiêu từ nghèo đến trung bình (9,48-18,14 mg K_2O /100 g đất). Dung tích hấp thu từ trung bình đến cao (16,68-20,53 meq/100 g đất) [2]. Nhìn chung, loại đất này có độ phì nhiêu tầng mặt ở mức trung bình đến cao.

3.3.4. Đất phù sa trung tính ít chua

Có diện tích 20.862,37 ha, chiếm 6,17% DTTN. Phân bố ở hầu hết các huyện/thành phố, trên dạng địa hình từ vùn đến cao dọc theo sông Tiền và sông Hậu. Đất có thành phần cơ giới từ trung bình đến nặng, khá đồng nhất. Đất có độ chua từ chua nhẹ đến trung tính, pH_{KCl} 5,3-6,7, các tầng dưới chủ yếu ở mức trung tính. Hàm lượng carbon hữu cơ, đạm tổng số trung bình đến cao (1,75-3,22% OC, 0,12-0,22% N). Lân tổng số và lân dễ tiêu biến động mạnh, từ nghèo đến giàu (0,02-0,15% P_2O_5 và 2,53-13,22 mg P_2O_5 /100 g đất). Kali tổng số trung bình đến giàu (1,13-2,13% K_2O) và kali dễ tiêu từ nghèo đến trung bình

(8,57-19,52 mg K_2O /100 g đất). Dung tích hấp thu từ trung bình (16,02-18,67 meq/100 g đất) [2]. Đây là loại đất tốt nhất, hàm lượng dinh dưỡng khá cao, độ phì nhiêu đất tầng mặt ở mức trung bình đến cao, phù hợp với nhiều loại cây trồng.

3.4. Nhóm đất gley

Nhóm đất gley được chia thành 2 loại đất và 3 loại đất phụ, có diện tích 5.065,70 ha, chiếm 1,50% DTTN. Đây là loại đất hình thành trên trầm tích phù sa, ít được bồi đắp phù sa trong thời gian dài trên địa hình thấp, trũng [4]. Hướng sử dụng thích hợp đối với loại đất này là trồng 2-3 vụ lúa/năm hoặc 2 vụ lúa +1 vụ màu/năm.

3.4.1. Đất gley phèn

Có diện tích 3.170,71 ha, chiếm 0,94% DTTN. Phân bố ở huyện Lấp Vò, Lai Vung và Cao Lãnh, chủ yếu ở các vùng thấp, trũng. Đất có thành phần cơ giới nặng. Tầng mặt có độ chua từ rất chua đến chua vừa, pH_{KCl} 3,9-4,7 và tăng dần theo chiều sâu phẫu diện, đặc biệt ở tầng có vật liệu sinh phèn. Hàm lượng carbon hữu cơ, đạm tổng số trung bình đến cao (1,8-4,0% OC, 0,13-0,25% N). Lân tổng số và lân dễ tiêu nghèo (0,02-0,06% P_2O_5 và 2,21-3,09 mg P_2O_5 /100 g đất). Kali tổng số trung bình đến giàu (1,82-2,49% K_2O) và kali dễ tiêu từ nghèo đến trung bình (7,57-12,14 mg K_2O /100 g đất). Dung tích hấp thu trung bình (15,80-18,63 meq/100 g đất) [2]. Nhìn chung, độ phì nhiêu tầng mặt từ trung bình đến cao, nhưng bị hạn chế về độ chua và gley, phèn theo chiều sâu phẫu diện.

3.4.2. Đất gley có độ no bazơ thấp

Có diện tích 1.894,99 ha, chiếm 0,56% DTTN. Phân bố ở huyện Lấp Vò, Lai Vung, Cao Lãnh, TP Cao Lãnh. Đất có thành phần cơ giới thịt nặng. Tầng mặt, có độ chua từ rất chua đến chua nhẹ, pH_{KCl} 4,2-5,2, càng ở các tầng dưới đất càng chua. Hàm lượng carbon hữu cơ, đạm tổng số cao (4,02-4,62% OC, 0,26-0,34% N). Lân tổng số và lân dễ tiêu nghèo (0,06-0,07% P_2O_5 và 4,21-4,52 mg P_2O_5 /100 g đất). Kali tổng số từ trung bình đến giàu (1,49-2,14% K_2O) và kali dễ tiêu trung bình (16,32-17,45 mg K_2O /100 g đất). Dung tích hấp thu trung bình (15,80-17,54 meq/100 g đất) [2]. Nhìn chung, độ phì nhiêu đất tầng mặt từ trung bình đến cao, nhưng bị hạn chế về độ chua và gley.

3.5. Nhóm đất than bùn

Nhóm đất than bùn được chia thành 1 loại đất và 1 loại đất phụ, diện tích 463,85 ha, chiếm 0,14% DTTN. Đây là nhóm đất có diện tích rất ít, phân bố duy nhất ở huyện Tam Nông, nằm giữa vùng đất phèn tiềm tàng, phân bố trên địa hình vùn. Đất có thành phần cơ giới chủ yếu là sét và limon. Độ chua trong đất ở mức rất chua, pH_{KCl} <4,5. Hàm lượng carbon hữu cơ, đạm tổng số tầng mặt giàu (3,48-4,83% OC và 0,22-0,31% N) và tăng dần theo chiều sâu phẫu diện. Hàm lượng lân tổng số và lân dễ tiêu ở mức nghèo (0,04-0,07% P_2O_5 và 3,56-6,52 mg P_2O_5 /100 g đất). Hàm lượng kali tổng số và kali dễ tiêu ở mức nghèo (0,39-0,87% K_2O và 5,42-6,84 mg K_2O /100 g đất).

Dung tích hấp thu trong đất ở mức trung bình đến giàu (18,65-21,75 meq/100 g đất) [2]. Nhìn chung, đất than bùn có lượng hữu cơ trong đất cao, rất chua, phèn... Một phần diện tích loại đất này còn bỏ hoang hoặc trồng tràm, một phần đang canh tác lúa 1 vụ.

3.6. Nhóm đất có tầng đá ong non

Nhóm đất có tầng đá ong non được chia thành 2 loại đất và 4 loại đất phụ, diện tích 2.299,66 ha, chiếm 0,68% DTTN. Đây là loại đất được hình thành trên mẫu chất phù sa cổ, có địa hình cao hoặc vùn cao. Nhìn chung, hàm lượng dinh dưỡng trong các loại đất này nghèo [5], nhất là lân và kali, do đó cần bón phân để tăng độ phì khi canh tác. Hướng sử dụng thích hợp đối với loại đất này là trồng các loại cây công nghiệp ngắn ngày hoặc cây hoa màu như: lạc, khoai lang, ngô, sắn, đậu nành...

3.6.1. Đất có tầng đá ong non, có tầng bạc trắng

Có diện tích 499,23 ha, chiếm 0,13% DTTN, phân bố ở huyện Tân Hồng. Đất có thành phần cơ giới từ trung bình đến nặng, tỷ lệ sét tăng theo chiều sâu phẫu diện. Đối với tầng mặt, đất rất chua, pH_{KCl} <4,5. Hàm lượng carbon hữu cơ, đạm tổng số trung bình đến giàu (1,65-3,24% OC, 0,12-0,20% N). Lân tổng số và dễ tiêu nghèo [5] (0,05-0,07% P_2O_5 và 3,54-5,21 mg P_2O_5 /100 g đất). Kali tổng số và dễ tiêu trung bình (1,27-1,95% K_2O và 5,92-8,44 mg K_2O /100 g đất), ở các tầng dưới hàm lượng các chất dinh dưỡng phần lớn ở mức nghèo. Dung tích hấp thu từ trung bình đến khá (17,84-20,95 meq/100 g đất) [2]. Độ phì nhiêu đất tầng mặt ở mức trung bình đến thấp.

3.6.2. Đất có tầng đá ong non, có độ no bazơ thấp

Có diện tích 1.850,43 ha, chiếm 0,55% DTTN. Phân bố chủ yếu trên dạng địa vùn cao và cao của huyện Tân Hồng, Thanh Bình, Lấp Vò, Lai Vung. Đất có thành phần cơ giới thịt nặng, tỷ lệ sét tăng theo chiều sâu phẫu diện. Tầng mặt rất chua, pH_{KCl} <4,5. Hàm lượng carbon hữu cơ, đạm tổng số từ trung bình đến giàu (1,83-2,86% OC, 0,14-0,22% N). Lân tổng số nghèo (0,05-0,09% P_2O_5) và lân dễ tiêu nghèo đến trung bình (6,24-11,62 mg P_2O_5 /100 g đất). Kali tổng số trung bình (1,13-1,65% K_2O) và kali dễ tiêu nghèo (6,72-9,54 mg K_2O /100 g đất). Dung tích hấp thu trung bình (16,21-18,75 meq/100 g đất) [2]. Độ phì nhiêu đất tầng mặt ở mức trung bình đến thấp.

3.7. Nhóm đất xám bạc màu

Nhóm đất này được chia thành 3 loại đất và 6 loại đất phụ có diện tích 15.848,51 ha, chiếm 4,69% DTTN. Đây là loại đất được hình thành trên mẫu chất phù sa cổ, có địa hình cao hoặc vùn cao, là nhóm đất hình thành đặc trưng trong điều kiện nhiệt đới ẩm, nên đất có thành phần cơ giới khá đa dạng, nghèo dinh dưỡng, giữ nước kém [5] nên đã dẫn đến sự giảm sút nhanh chóng độ phì của đất. Hướng sử dụng thích hợp đối với loại đất này là trồng các loại cây công nghiệp ngắn ngày hoặc cây hoa màu như: lạc, khoai lang, ngô, sắn, đậu nành...

3.7.1. Đất xám bạc màu

Có diện tích 8.455,51 ha, chiếm 2,50% DTTN, phân bố ở huyện Tân Hồng. Đất có thành phần cơ giới thịt nhẹ. Tầng đất mặt chua đến chua nhẹ, pH_{KCl} 4,7-5,2. Hàm lượng carbon hữu cơ, đạm tổng số trung bình (1,35-1,71% OC, 0,10-0,12% N). Lân tổng số nghèo (0,05-0,08% P_2O_5) và lân dễ tiêu nghèo đến trung bình (3,20-12,17 mg P_2O_5 /100 g đất). Kali tổng số nghèo đến trung bình (0,62-1,39% K_2O) và kali dễ tiêu từ trung bình đến giàu (11,57-29,22 mg K_2O /100 g đất), ở các tầng dưới hàm lượng các chất dinh dưỡng phần lớn ở mức nghèo. Dung tích hấp thu trung bình (11,6-14,8 meq/100 g đất) [2]. Độ phì nhiêu đất tầng mặt trung bình đến thấp.

3.7.2. Đất xám có tầng đá ong non

Có diện tích 6.741,07 ha, chiếm 1,99% DTTN. Phân bố ở các huyện Cao Lãnh, Tháp Mười, Thanh Bình, Tam Nông và Tân Hồng. Đất có thành phần cơ giới thịt nhẹ. Đất tầng mặt từ chua đến chua nhẹ, pH_{KCl} 4,6-5,3, ở các tầng dưới đất chua hơn. Hàm lượng carbon hữu cơ tổng số trung bình đến giàu (1,73-2,10% OC). Đạm tổng số ở mức giàu (0,16-0,18% N). Lân tổng số nghèo (0,04-0,05% P_2O_5) và lân dễ tiêu trung bình (10,82-13,57 mg P_2O_5 /100 g đất). Kali tổng số nghèo (0,54-0,89% K_2O) và kali dễ tiêu từ trung bình đến giàu (13,62-21,24 mg K_2O /100 g đất), ở các tầng dưới hàm lượng các chất dinh dưỡng phần lớn ở mức nghèo. Dung tích hấp thu trong đất ở mức trung bình (12,53-15,68 meq/100 g đất) [2]. Độ phì nhiêu đất tầng mặt trung bình.

3.7.3. Đất xám có độ no bazơ rất thấp

Có diện tích 651,93 ha, chiếm 0,19% DTTN, phân bố ở huyện Tân Hồng. Đất có thành phần cơ giới thịt nhẹ. Tầng mặt, đất chua đến chua nhẹ, pH_{KCl} 4,8-5,3. Hàm lượng carbon hữu cơ, đạm tổng số trung bình (1,48-1,80% OC, 0,10-0,12% N). Lân tổng số nghèo (0,04-0,06% P_2O_5) và lân dễ tiêu trung bình (10,11-12,87 mg P_2O_5 /100 g đất). Kali tổng số nghèo (0,72-0,95% K_2O) nhưng kali dễ tiêu giàu (23,45-28,70 mg K_2O /100 g đất), hàm lượng dinh dưỡng trong các tầng dưới phần lớn ở mức nghèo. Dung tích hấp thu trung bình (12,92-16,89 meq/100 g đất) [2]. Nhìn chung, độ phì nhiêu đất tầng mặt ở mức trung bình.

3.8. Nhóm đất nhân tác

Nhóm đất nhân tác được chia thành 1 loại đất và 1 loại đất phụ, diện tích 15.439,24 ha, chiếm 4,56% DTTN, phân bố ở tất cả các huyện/thành phố. Đất lên líp là đất bị biến đổi sâu sắc hoặc bị chôn vùi do các hoạt động của con người, như do sự di chuyển, đào đắp, xáo trộn mạnh mẽ ở lớp đất mặt [5, 6]. Đất có thành phần cơ giới thịt nặng. Đất tầng mặt từ rất chua đến chua nhẹ, pH_{KCl} 3,9-5,3. Hàm lượng carbon hữu cơ, đạm tổng số từ thấp đến trung bình (0,84-1,78% OC, 0,07-0,12% N). Lân tổng số nghèo (0,06-0,09% P_2O_5) và lân dễ tiêu từ nghèo đến trung bình (2,22-13,76 mg P_2O_5 /100 g đất). Kali tổng số từ trung bình đến giàu (1,51-2,15% K_2O) và kali dễ tiêu từ nghèo đến trung bình (7,74-13,16 mg K_2O /100 g đất). Dung tích hấp thu trung

bình (14,62-18,02 meq/100 g đất) [2]. Nhìn chung, hầu hết các chỉ tiêu lý hóa học của đất nhân tác biến động bất quy luật, do được lên líp từ các loại đất khác nhau, như đất phèn, đất gầy... Hiện nay, đất nhân tác được canh tác chủ yếu là các loại cây ăn quả như xoài, mít, sầu riêng, nhãn...

4. Kết luận

Tài nguyên đất sản xuất nông nghiệp tỉnh Đồng Tháp được chia thành 8 nhóm đất chính, 16 loại đất, 34 loại đất phụ. Trong 8 nhóm đất chính thì nhóm đất phù sa chiếm diện tích lớn nhất với 141.624,04 ha, tiếp đến lần lượt là nhóm đất phèn 74.253,02 ha, nhóm đất xám bạc màu 15.848,51 ha, nhóm đất nhân tác 15.439,24 ha, nhóm đất gầy 5.065,70 ha, nhóm đất có tầng đá ong non 2.299,66 ha, nhóm đất than bùn 463,85 ha và nhóm đất cát 161,76 ha.

Về tính chất, đất hơi chặt, hầu hết diện tích có thành phần cơ giới nặng, tỷ lệ sét cao và có chiều hướng tích tụ sét theo chiều sâu phẫu diện. Độ chua trong đất ở mức rất chua đến chua nhẹ, chủ yếu ở mức rất chua. Dung tích hấp thu trong đất hầu hết ở mức trung bình. Hàm lượng carbon hữu cơ, đạm tổng số ở mức trung bình đến cao, chủ yếu ở mức cao. Hàm lượng lân và kali tổng số và dễ tiêu biến động mạnh, chủ yếu ở mức nghèo đến trung bình. Nhìn chung, phần lớn diện tích có độ phì nhiêu đất tầng mặt ở mức trung bình đến cao, nhưng tỷ lệ các chất dinh dưỡng trong đất bị mất cân đối.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này là một phần kết quả thuộc đề tài độc lập cấp quốc gia “Xây dựng cơ sở dữ liệu đất đai phục vụ tái cơ cấu sản xuất nông nghiệp tỉnh Đồng Tháp” do Viện Thổ nhưỡng Nông hóa chủ trì, ThS. Trương Xuân Cường chủ nhiệm. Tập thể tác giả xin trân trọng cảm ơn Bộ Khoa học và Công nghệ, Ủy ban nhân dân, Sở Khoa học và Công nghệ tỉnh Đồng Tháp, Viện Thổ nhưỡng Nông hóa đã hỗ trợ thực hiện nghiên cứu này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Dong Thap Statistics Office (2023), *Dong Thap Province Statistical Yearbook 2022*, Statistical Publishing House (in Vietnamese).
- [2] Ministry of Agriculture and Rural Development (2009), *Land Use Handbook*, 3, 7, p.13, p.17 (in Vietnamese).
- [3] Sub-National Institute of Agricultural Planning and Projection (2003), *Explanatory Report on The Soil Map of Dong Thap Province* (in Vietnamese).
- [4] Soils and Fertilizers Institute - Department of Science, Technology and Product Quality (2001), *Basic Information on Major Soil Types of Vietnam*, World Publishing House, p.44, p.51, p.56, p.76 (in Vietnamese).
- [5] Vietnam Society of Soil Science (2000), *Soils of Vietnam*, Agriculture Publishing House, p.11, p.19, p.41 (in Vietnamese).
- [6] Soils and Fertilizers Institute (2005), *Final Report of The Project on Developing a Soil Classification System for Vietnam Applicable to Medium- and Large-scale Soil Mapping* (in Vietnamese).

QUY ĐỊNH VỀ BÀI BÁO ĐĂNG TẢI TRÊN TẠP CHÍ

Yêu cầu chung

Bài báo gửi đăng trên Tạp chí phải là bài báo nguyên thủy (chưa được công bố trước đó). Tác giả không được gửi đăng bài báo trên các tạp chí khác cho đến khi có quyết định xét duyệt của Ban Biên tập.

Bài báo dài không quá 10 trang (bao gồm cả bảng biểu, ghi chú, tài liệu tham khảo và phụ lục); font chữ: Times New Roman; cỡ chữ 13; khổ giấy A4, lề trên 2 cm, lề dưới 2 cm, lề trái 3 cm, lề phải 2 cm.

Bài báo gửi qua Hệ thống gửi bài trực tuyến tại địa chỉ https://b.vjst.vn/index.php/ban_b/about/submissions hoặc có thể gửi trực tiếp đến Tạp chí (Phòng 507, số 113 Trần Duy Hưng, phường Trung Hòa, quận Cầu Giấy, Hà Nội, Việt Nam) hoặc qua hòm thư điện tử: khoahocvacongnghevietnam@most.gov.vn.

Cấu trúc của các loại bài báo khác nhau có thể thay đổi tùy theo loại hình nghiên cứu và nội dung của bài báo. Sau đây là chi tiết các thành phần chính của bài báo.

Tên bài báo

- Tên bài báo được viết bằng tiếng Việt và tiếng Anh, trên trang đầu của bài báo, in đậm, không gạch chân hay viết nghiêng.
- Tên bài báo phải ngắn gọn, rõ ràng và phù hợp với nội dung bài báo.
- Phía dưới tên bài báo là tên tác giả không viết chức danh và học hàm, học vị. Nếu có nhiều tác giả làm việc ở các cơ quan khác nhau thì tên tác giả được đánh số ^(1,2,...) ở phía trên. Dấu hoa thị (*) chỉ tác giả liên hệ, được viết ở cuối trang đầu tiên của bài báo.
- Khí liệt kê cơ quan công tác của tác giả, cần nêu rõ tên cơ quan và địa chỉ cơ quan (số nhà, tên đường, phường, quận, thành phố, quốc gia) bằng tiếng Việt và tiếng Anh.

Tóm tắt

Tóm tắt bằng tiếng Việt và tiếng Anh (khoảng 160-250 từ). Nêu được mục đích, phương pháp nghiên cứu chính, kết quả nghiên cứu và kết luận chủ yếu. Từ khóa bằng cả tiếng Việt và tiếng Anh theo thứ tự alphabet (ít nhất 3 từ khóa). Chỉ số phân loại (theo hướng dẫn).

1. Đặt vấn đề/Dẫn nhập/Mở đầu

Định nghĩa vấn đề; tóm lược vấn đề nghiên cứu đã được công bố trong và ngoài nước, nêu mục tiêu nghiên cứu và giải thích sự lựa chọn đề tài và mục tiêu nghiên cứu để thấy được tính thời sự, tính khoa học và sự cần thiết của vấn đề nghiên cứu.

2. Đối tượng/Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

Đối tượng nghiên cứu cần trình bày tiêu chuẩn lựa chọn, đặc điểm đối tượng nghiên cứu. Phương pháp nghiên cứu cần nêu rõ cách tiếp cận nghiên cứu, loại hình nghiên cứu, phương pháp đo lường, công thức tính cỡ mẫu, phương pháp xử lý số liệu, mô tả kỹ các kỹ thuật tiến hành trong nghiên cứu; các quan điểm, lập luận, ý kiến tranh luận, các dẫn chứng...

3. Kết quả

Trình bày đầy đủ, khách quan các kết quả thu được sau nghiên cứu, các kết quả này phải phục vụ cho mục tiêu nghiên cứu. Các số liệu phải chính xác và khớp với nhau.

Phần kết quả nghiên cứu chỉ trình bày các kết quả nghiên cứu của đề tài, không giải thích, so sánh và bàn luận.

4. Bàn luận (phần này có thể gộp với phần kết quả)

Chủ yếu bàn luận các vấn đề liên quan đến mục tiêu đề tài. Nhận xét, đánh giá một cách khách quan các kết quả nghiên cứu, có so sánh với các tác giả khác để khẳng định hoặc phủ định những hiểu biết đã có, qua đó nêu được những điểm mới và đóng góp của đề tài. Dự báo hướng nghiên cứu tiếp và khả năng ứng dụng các kết quả nghiên cứu vào thực tiễn.

5. Kết luận

Nêu kết quả nghiên cứu chủ yếu của đề tài có tính khái quát liên quan đến mục tiêu nghiên cứu, đề xuất các vấn đề tiếp tục nghiên cứu.

LỜI CẢM ƠN (nếu có)

Tác giả cảm ơn các tổ chức/cá nhân đã tài trợ kinh phí hoặc hỗ trợ cho nghiên cứu.

Phụ lục (nếu có)

Đăng tải bảng số liệu, thông tin để hỗ trợ thêm cho nội dung bài báo.

Chú thích và tài liệu tham khảo

Chú thích được đánh số theo thứ tự xuất hiện ^(1,2,3,...) và được trình bày ngay ở cuối trang viết (footnote). Các tài liệu tham khảo được đánh số theo thứ tự xuất hiện để chỉ dẫn chúng được trích dẫn ở đâu trong bài báo. Số thứ tự được đánh trong ngoặc vuông, ví dụ: [3] với một hoặc [2, 5, 7-9] với nhiều số chỉ dẫn.

Lưu ý:

- Đối với trích dẫn trong bài báo: tài liệu tham khảo có nhiều hơn một tác giả chỉ để tên tác giả đầu tiên và cộng sự, viết tắt là cs, ví dụ: T.V. Nguyen và cs (năm xuất bản) [thứ tự trong danh mục tài liệu tham khảo].
- Đối với danh mục tài liệu tham khảo cuối bài: tài liệu tham khảo bằng tiếng Anh, các tài liệu không phải tiếng Anh cần được dịch sang tiếng Anh và chú thích ở cuối câu, ví dụ: (in Vietnamese), (in French)...
- Tài liệu tham khảo là các đường link cần bổ sung ngày truy cập.

Tác giả (Năm xuất bản), "Tên tài liệu được trích dẫn", *Tên nguồn*, **tập(số)**, trang/số trang/trang đầu-trang cuối (nếu có), số DOI (nếu có), URL (nếu có), ngày truy cập (ghi rõ ngôn ngữ nào nếu không phải tài liệu bằng tiếng Anh).

Tác giả: là tác giả/các tác giả của tài liệu được tham khảo, trích dẫn: liệt kê đầy đủ tên tác giả (chữ viết tắt đưa lên trước) với những tài liệu tham khảo có ≤3 tác giả; liệt kê 3 tác giả đầu tiên và theo sau là "et al." khi có từ 4 tác giả trở lên.

Năm xuất bản: năm xuất bản của tài liệu được tham khảo, trích dẫn.

Tên tài liệu được trích dẫn: là tên bài báo, chương/phần sách... (chỉ viết hoa chữ cái đầu, trừ tên riêng và sau dấu hai chấm), viết trong ngoặc kép.

Tên nguồn có thể là tên tạp chí, tên sách, hay tên tài liệu gốc của tài liệu được trích dẫn (phần này được *in nghiêng*), viết hoa chữ cái đầu tiên của mỗi từ chính.

Tập(số): dành cho nguồn trích là tạp chí, sách hoặc các xuất bản phẩm khác (phần này **in đậm**).

Trang/số trang/trang đầu cuối phần ảnh nơi cư trú của tài liệu được trích dẫn trong tài liệu nguồn.

Nếu có ≥2 tài liệu tham khảo do cùng tác giả đầu tiên và cùng năm công bố, thì các tài liệu tham khảo này cần được đánh dấu a, b... sau năm xuất bản (ví dụ: 1986a, 1986b...).

Nếu có một số tài liệu tham khảo có cùng 1 bài báo được trích dẫn có số trang khác nhau thì cần trích dẫn thêm số trang, ví dụ: A. Amber (1982, p.39).

Chi tiết vui lòng xem thêm tại: https://b.vjst.vn/index.php/ban_b/quy-dinh-bai-viet.

Các yêu cầu khác

- Bài viết không đạt yêu cầu, Toà soạn không trả lại bản thảo.
- Bài viết chỉ được đăng khi phản biện nhận xét về chất lượng bài báo đồng ý cho đăng.
- Bản quyền: tác giả đồng ý trao bản quyền bài viết (bao gồm cả phần tóm tắt) cho Ban Biên tập Tạp chí.

Quy định này áp dụng từ năm 2022 trở đi.

PHÂN LOẠI LĨNH VỰC KHOA HỌC

1. Khoa học tự nhiên

- 1.1. Toán học và thống kê
- 1.2. Khoa học máy tính và thông tin
- 1.3. Vật lý
- 1.4. Hóa học
- 1.5. Khoa học trái đất và môi trường
- 1.6. Khoa học sự sống
- 1.7. Khoa học nano
- 1.8. Khoa học tính toán
- 1.9. Các lĩnh vực khác của khoa học tự nhiên

2. Khoa học kỹ thuật và công nghệ

- 2.1. Kỹ thuật dân dụng; kỹ thuật kiến trúc; kỹ thuật xây dựng; kỹ thuật kết cấu và đô thị; kỹ thuật giao thông vận tải; kỹ thuật thủy lợi; kỹ thuật địa chất công trình
- 2.2. Kỹ thuật điện, kỹ thuật điện tử, kỹ thuật thông tin
- 2.3. Kỹ thuật cơ khí, chế tạo máy
- 2.4. Kỹ thuật hóa học
- 2.5. Kỹ thuật vật liệu và luyện kim
- 2.6. Kỹ thuật y học
- 2.7. Kỹ thuật môi trường
- 2.8. Công nghệ sinh học công nghiệp
- 2.9. Công nghệ nano
- 2.10. Kỹ thuật thực phẩm và đồ uống
- 2.11. Các lĩnh vực khác của khoa học kỹ thuật và công nghệ

3. Khoa học y - dược

- 3.1. Y học cơ sở
- 3.2. Y học lâm sàng
- 3.3. Y học dự phòng
- 3.4. Dược học
- 3.5. Các lĩnh vực khác của khoa học y - dược

4. Khoa học nông nghiệp

- 4.1. Trồng trọt
- 4.2. Chăn nuôi
- 4.3. Thú y
- 4.4. Lâm nghiệp
- 4.5. Thủy sản
- 4.6. Công nghệ sinh học trong nông nghiệp, thủy sản
- 4.7. Các lĩnh vực khác của khoa học nông nghiệp

5. Khoa học xã hội và nhân văn

- 5.1. Tâm lý học
- 5.2. Kinh tế và kinh doanh
- 5.3. Khoa học giáo dục
- 5.4. Xã hội học
- 5.5. Pháp luật
- 5.6. Khoa học chính trị
- 5.7. Địa lý kinh tế và xã hội
- 5.8. Thông tin đại chúng và truyền thông
- 5.9. Lịch sử và khảo cổ học
- 5.10. Ngôn ngữ học và văn học
- 5.11. Triết học, đạo đức và tôn giáo
- 5.12. Nghiên cứu về khu vực và quốc tế
- 5.13. Các lĩnh vực khác của khoa học xã hội và nhân văn

Nhân dòng và phân tích trình tự gen mã hoá dị nguyên Der f 1 từ mạt bụi nhà *Dermatophagoides farinae* trong *Escherichia coli*.

Trần Thị Quỳnh Trang, Vũ Mai Phương, Nguyễn Thị Linh Chi, Nguyễn Thị Phương Liên, Nguyễn Quang Huy, Nguyễn Thị Anh Đào, Nguyễn Duy Hà, Nguyễn Quỳnh Uyên, Hoàng Văn Vinh

Xác định một số đặc tính sinh học và đánh giá khả năng sinh miễn dịch của hai chủng parvovirus phân lập tại Việt Nam.

Trịnh Thị Thu Hằng, Vũ Khắc Minh Dương, Đỗ Văn Tấn, Phạm Trung Hiếu, Vũ Khắc Hùng

Vai trò của nano molybdenum trioxide thay thế natri molybdate dehydrat trong môi trường nuôi cấy lên khả năng sinh trưởng và phát triển của cây hoa Cúc nuôi cấy *in vitro*.

Phan Lê Hà Nguyễn, Dương Tấn Nhựt, Nguyễn Thị Thanh Thúy, Nguyễn Thị Như Mai, Hoàng Thanh Tùng, Hoàng Đức Khải, Đỗ Mạnh Cường, Vũ Quốc Luận, Hoàng Thị Như Phương, Nguyễn Hoài Châu, Ngô Quốc Bưu

Đánh giá sự khác biệt kiểu hình và thông số di truyền trên các giống/dòng lúa màu để cải thiện chất lượng hạt gạo chức năng.

Huỳnh Như Điền, Huỳnh Kỳ, Nguyễn Lộc Hiền, Phạm Thị Bé Tư, Chung Trương Quốc Khang, Châu Thanh Nhã

Bước đầu phân lập và tuyển chọn vi khuẩn cổ ưa mặn tiềm năng sinh cellulase, chitinase, xylanase và hyaluronidase.

Cao Thị Thúy Hằng, Nguyễn Thị Thuận, Võ Thị Diệu Trang, Phan Thị Thủy Trang, Đinh Thành Trung, Trần Nguyễn Hà Vỹ, Hoàng Hồng Hạnh, Phạm Đức Thịnh, Huỳnh Hoàng Như Khánh

Xây dựng quy trình knockout gen *keap1a* bằng kỹ thuật CRISPR-Cas9 trên cá ngựa vằn (*Danio rerio*) tại Việt Nam.

Nguyễn Thành Vũ, Trần Ngọc Uyên, Bùi Thị Thu Vân, Lê Lưu Phương Hạnh, Nguyễn Hoàng Thụy Vỹ

Thử nghiệm thuật toán tìm đường đi tối ưu cho hệ thống robot di động vận chuyển hàng trong kho tự động.

Nguyễn Chính Kiên, Nguyễn Thị Hồng Hạnh, Trương Xuân Hùng

Ảnh hưởng của phụ gia S^{2-} lên đặc trưng điện hóa của vật liệu tổ hợp Fe_3O_4/C .

Lê Quang Phong, Nguyễn Văn Hợp, Trịnh Tuấn Anh, Vũ Mạnh Thuận, Doãn Hà Thắng, Bùi Thị Hằng

Nghiên cứu sản xuất nhiên liệu đặc chủng diesel DO L-62 tại Nhà máy Lọc dầu Dung Quất phục vụ cho quốc phòng - an ninh.

Lê Mạnh Hùng, Bùi Minh Tiến, Lê Xuân Huyền, Bùi Ngọc Dương, Nguyễn Văn Hội, Khương Lê Thành, Nguyễn Việt Thắng, Mai Tuấn Đạt

Thực trạng sản xuất cây dược liệu đặc chủng *Dioscorea persimilis* Prain et Burk) trên địa bàn tỉnh Thái Nguyên.

Nguyễn Minh Tuấn, Nguyễn Hữu Thọ, Lê Quang Ứng

Tổng quan dược lý mạng trong nghiên cứu thuốc y học cổ truyền.

Châu Văn Hào, Sanghun Lee, Trần Nhật Minh

Hiện trạng canh tác và thành phần cỏ dại trong các vườn sầu riêng tại huyện Cái Bè, tỉnh Tiền Giang.

Hồ Lệ Thi, Nguyễn Gia Huy, Trần Anh Khoa

Đặc điểm tài nguyên đất sản xuất nông nghiệp tại Đồng Tháp.

Trương Xuân Cường, Ngô Thanh Lộc, Nguyễn Thành Long

1 Cloning and analysis of the antigen-coding gene Der f 1 from house dust mite *Dermatophagoides farinae* in *Escherichia coli*.

Thi Quynh Trang Tran, Mai Phuong Vu, Thi Linh Chi Nguyen, Thi Phuong Lien Nguyen, Quang Huy Nguyen, Thi Anh Dao Nguyen, Duy Ha Nguyen, Quynh Uyen Nguyen, Van Vinh Hoang

6 Determination of some biological characteristics and evaluation of immunogenicity of two parvovirus isolates in Vietnam.

Thi Thu Hang Trinh, Khắc Minh Duong Vu, Van Tan Do, Trung Hieu Pham, Khắc Hung Vu

12 The role of molybdenum trioxide nanoparticles replacing sodium molybdate dehydrate in the culture medium on the growth and development of *in vitro* cultured *Chrysanthemum*.

Nguyen Phan Le Ha, Tan Nhut Duong, Thi Thanh Thuy Nguyen, Thi Nhu Mai Nguyen, Thanh Tung Hoang, Dac Khai Hoang, Manh Cuong Do, Quoc Luan Vu, Thi Nhu Phuong Hoang, Hoai Chau Nguyen, Quoc Bui Ngo

19 Evaluation of phenotypic variation and genetic parameters in coloured rice varieties/lines to improve functional grain quality.

Nhu Dien Huynh, Ky Huynh, Loc Hien Nguyen, Thi Be Tu Pham, Truong Quoc Khang Chung, Thanh Nha Chau

26 Preliminary isolation and screening of halophilic archaea with potential to produce cellulase, chitinase, xylanase, and hyaluronidase enzymes.

Thi Thuy Hang Cao, Thi Thuan Nguyen, Thi Dieu Trang Vo, Thi Thuy Trang Phan, Thanh Trung Dinh, Nguyen Ha Vy Tran, Hong Hanh Hoang, Duc Thinh Pham, Hoang Nhu Khanh Huynh

31 Establishment of a CRISPR-Cas9-mediated *keap1a* knockout protocol in zebrafish (*Danio rerio*) for implementation in Vietnam.

Thanh Vu Nguyen, Ngoc Uyen Tran, Thi Thu Van Bui, Luu Phuong Hanh Le, Hoang Thuy Vy Nguyen

39 Experimenting with algorithms to find optimal paths for a mobile robot system transporting goods in an automated warehouse.

Chinh Kien Nguyen, Thi Hong Hanh Nguyen, Xuan Hung Truong

47 Effect of S^{2-} additives on electrochemical properties of Fe_3O_4/C composite materials.

Quang Phong Le, Van Hop Nguyen, Tuan Anh Trinh, Manh Thuan Vu, Ha Thang Doan, Thi Hang Bui

52 Research on production of special diesel fuel DO L-62 at Dung Quat Refinery for national defense and security.

Manh Hung Le, Minh Tien Bui, Xuan Huyen Le, Ngoc Duong Bui, Van Hoi Nguyen, Le Thanh Khuong, Viet Thang Nguyen, Tuan Dat Mai

60 The current status of production of Hoai Son medicinal plant (*Dioscorea persimilis* Prain et Burk) in Thai Nguyen province.

Minh Tuan Nguyen, Huu Tho Nguyen, Quang Ung Le

65 Overview of network pharmacology in traditional medicinal material research.

Hao Van Chau, Sanghun Lee, Minh Nhat Tran

71 Current cultivation practices and weed composition in durian orchards in Cai Be district, Tien Giang province.

Le Thi Ho, Gia Huy Nguyen, Anh Khoa Tran

76 Characteristics of agricultural land resources in Dong Thap province.

Xuan Cuong Truong, Thanh Loc Ngo, Thanh Long Nguyen