

## Efficiency of application of large-scale seedling production technology for tomato in Hai Duong province

Nguyen Thi Thanh Ha, Nguyen Dinh Thieu  
Phan Thi Thanh, Nguyen Thi Sen, Bui Quang Dang,  
Hyun Jong Nae, Hong Seung Gil

### Abstract

In order to improve the quality of seedlings for commercial vegetable production in the Red River Delta, in the year 2019 - 2020, the Field Crops Research Institute studied the tomato seedling production process on industrial scale and tested the commercial tomato production model on 02 varieties of tomato, Savior and Hoang Anh 1. The results showed that, the tomato seedlings were grown on a large-scale with a mixture of substrate (30% alluvial soil + 60% coconut coir + 10% smoked rice husks, using NPK fertilizer solution 13:13:13 + TE 0.5%) had the highest rate of good seedlings reaching 96.9 - 97.2% for Hoang Anh 1 variety and 95.4 - 96.2% for Savior variety and good seedling quality; the cost of seedlings was cheaper than that of traditional seedling production by 120 - 133 VND/seedling. The efficiency of the tomato model using seedlings produced by the large-scale production gives an income of 203.76 - 242.64 million VND/ha, which is higher than of the model applying traditional seedling production by 33% - 45%.

**Keywords:** Tomato seedlings, large-scale production, economic efficiency

Ngày nhận bài: 05/9/2021  
Ngày phản biện: 24/9/2021

Người phản biện: PGS.TS. Nguyễn Thị Ngọc Huệ  
Ngày duyệt đăng: 30/9/2021

## KHẢ NĂNG ỨC CHẾ VI KHUẨN LAM (*Microcystis aeruginosa*) CỦA DỊCH TÁCH CHIẾT TỪ RƠM KHÔ

Phạm Thị Thanh<sup>1</sup>, Nguyễn Hữu Nghĩa<sup>1</sup>, Nguyễn Thị Là<sup>1</sup>,  
Nguyễn Thị Minh Nguyệt<sup>1</sup>, Phan Trọng Bình<sup>1</sup>,  
Vũ Thị Kiều Loan<sup>1</sup>, Nguyễn Thị Thanh Hiền<sup>1</sup>, Tống Trần Huy<sup>1</sup>,  
Vladimir Zlabek<sup>2</sup>, Nguyễn Văn Tuyến<sup>2</sup>, Phạm Thái Giang<sup>1</sup>

### TÓM TẮT

Nghiên cứu đánh giá khả năng kiểm soát vi khuẩn lam *M. Aeruginosa* của dịch tách chiết từ rơm tại Việt Nam nhằm thử nghiệm giải pháp xử lý ô nhiễm tảo từ nguồn vật liệu thân thiện môi trường. Hai loài nấm *Myrothecium verucaria* và *Emericella nidulans* được thử nghiệm để nâng cao hiệu quả tách chiết các hoạt chất kháng tảo từ rơm. Dịch tách chiết được thu hoạch sau các mốc thời gian 15, 30 và 60 ngày xử lý. Khả năng ức chế tảo của dịch tách chiết được thử nghiệm ở các mật độ  $10^5$  và  $10^7$  tế bào tảo/L. Thời gian kiểm soát vi khuẩn lam của dịch tách chiết được đánh giá với 13 mốc thời gian (0 giờ, 1 giờ, 3 giờ, 1 ngày, 2 ngày, 3 ngày, 4 ngày, 5 ngày, 6 ngày, 7 ngày, 8 ngày, 9 ngày và 10 ngày sau khi xử lý). Kết quả nghiên cứu cho thấy, dịch tách chiết ở nghiệm thức 60 ngày có bổ sung nấm *M. verucaria* thu được hàm lượng các hoạt chất kháng vi khuẩn lam cao nhất và có khả năng ức chế sự phát triển của vi khuẩn lam trong 6 ngày đầu thử nghiệm.

**Từ khóa:** Rơm khô, dịch tách chiết, khả năng ức chế, vi khuẩn lam (*Microcystis aeruginosa*)

### I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Tảo lam được xem là loài tảo độc hại, có nguy cơ làm suy giảm năng suất và sản lượng trong nuôi trồng thủy sản (Lee and Jones, 1991). Hiện tượng nở hoa của các loài tảo lam tác động gián tiếp đến

động vật nuôi do gây suy giảm nghiêm trọng chất lượng môi trường nước. Bên cạnh đó, chúng có thể tác động trực tiếp do có khả năng sản sinh độc tố. Nhiều báo cáo đã ghi nhận tảo lam gây độc cấp tính cho các loài cá nước ngọt như cá tráp, cá chép,

<sup>1</sup> Trung tâm Quan trắc Môi trường và Bệnh Thủy sản miền Bắc, Viện Nghiên cứu Nuôi trồng Thủy sản 1

<sup>2</sup> Faculty of Fisheries and Protection of Waters, University of south Bohemia

\* Tác giả chính: E-mail: ptgiang@ria1.org

lươn, cá rô, cá măng, cá rô đồng và cá hồi (Rodger *et al.*, 1994; Landsberg, 2002). Tảo lam độc hại cũng gây ra các tác động cấp tính hoặc mãn tính (giảm khả năng ăn) trên trai, động vật giáp xác nhỏ và động vật chân đốt (Demott, 1991; Landsberg, 2002). Vi khuẩn lam *Microcystis aeruginosa* là loài phổ biến nhất trong ngành tảo Lam. Trong các thủy vực nước ngọt, vi khuẩn lam *M. aeruginosa* thường chiếm ưu thế về mật độ ở điều kiện môi trường nước giàu chất dinh dưỡng, cường độ ánh sáng mạnh và nhiệt độ cao. Khi phát triển quá mức *M. aeruginosa* tạo thành những đám tảo lớn, tiết ra độc tố (microcystins (MC) có thể gây ra mối đe dọa trực tiếp đối với cá, giáp xác, nhuyễn thể (Aguilera *et al.*, 2018; Beck and Wu, 2021).

Kiểm soát vi khuẩn lam *M. aeruginosa* sẽ giúp cải thiện và phục hồi chất lượng nước của các thủy vực. Các giải pháp kiểm soát tảo thường gặp trong nuôi trồng thủy sản là sử dụng hóa chất hoặc biện pháp vật lý (thay nước, hút bùn...). Tuy nhiên, các giải pháp này đều có hạn chế là tốn kém và gây tổn dư hóa chất độc hại. Những năm gần đây xu hướng nghiên cứu sử dụng vật liệu sinh học, thân thiện môi trường để kiểm soát sự phát triển của tảo đã được chú ý nhiều hơn. Một số nghiên cứu đã chỉ ra rằng chiết xuất từ các cây thuộc họ lúa (lúa mạch, lúa mì và lúa gạo) có khả năng tác động đến sự phát triển của một số loài tảo (Choi *et al.*, 2008; Park *et al.*, 2009; Su *et al.*, 2014). Dịch tách chiết từ các thân cây này có chứa các hoạt chất có thể ức chế quá trình phát triển của tảo. Các chất này chủ yếu thuộc nhóm phenolic, quinones, alkaloids, axit hữu cơ, amino axit... Một số nghiên cứu đã bước đầu công bố thành phần các hoạt chất có trong dịch tách chiết như phyxybenzoic, p-coumaric, ferulic, vanillic, benzoic acid,  $\beta$ -sitosterol- $\beta$ -d-glucoside, dicyclohexanyl orizane... (Shao *et al.*, 2013; Su *et al.*, 2014). Các nghiên cứu sử dụng chất tách chiết từ phụ phẩm lúa mì, lúa mạch đã được tiến hành nhiều trên thế giới. Tuy nhiên, chỉ có một số ít nghiên cứu sử dụng cây lúa gạo để ức chế sự nở hoa của tảo. Nghiên cứu này được triển khai để đánh giá khả năng ức chế vi khuẩn lam *Microcystis aeruginosa* của dịch tách chiết từ thân cây lúa gạo nhằm mục đích phát triển chế phẩm có nguồn gốc tự nhiên, an toàn khi sử dụng.

## II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Vật liệu nghiên cứu

Vi khuẩn lam thuần *Microcystis aeruginosa* (từ nhà cung cấp UNITEX) được nhân sinh khối, và

nuôi đến mật độ  $10^5$  tế bào/lít và  $10^7$  tế bào/lít để sử dụng cho các thí nghiệm đánh giá khả năng ức chế tảo của dịch tách chiết. Hai loài nấm *Myrothecium verucaria* và *Emericella nidulans* (từ Viện Vi sinh vật và Công nghệ, Đại học Quốc Gia Hà Nội) được bổ sung để tăng hiệu quả tách chiết. Mẫu rơm khô của giống lúa Gia Lộc 105 được thu tại một thửa ruộng thuộc xã Đình Bảng, Từ Sơn, Bắc Ninh. Rơm tươi được làm sạch tạp chất sau đó đem phơi và sấy khô ở  $100^\circ\text{C}$  trong 7 ngày, dùng kéo cắt (< 2 cm), nghiền nhỏ và sử dụng để tách chiết.

### 2.2. Phương pháp nghiên cứu

#### 2.2.1. Phương pháp tách chiết các hoạt chất kháng tảo từ rơm rạ

Rơm khô được sấy ở nhiệt độ  $100^\circ\text{C}$  để loại bỏ các vi sinh vật không phù hợp trước khi tiến hành các bước tách chiết. Sau đó, rơm khô sẽ được ngâm với nước trong các thùng nhựa với tỷ lệ: 1 kg rơm khô/100 lít nước và bổ sung nấm. Nước được sử dụng trong thí nghiệm là nước máy đã được xử lý chlorine để loại bỏ nguy cơ tạp nhiễm nấm. Hai loài nấm *Myrothecium verucaria* và *Emericella nidulans* đã được chứng minh có khả năng thúc đẩy quá trình phân hủy lignin từ rơm để giải phóng các hoạt chất kháng tảo. Nấm được nuôi cấy trên môi trường agar trong đĩa petri kích thước  $90 \times 15$  mm. Sau 7 ngày nuôi, nấm được sử dụng trong các thí nghiệm tách chiết với tỉ lệ 1 đĩa petri/1 lô thí nghiệm. Thời gian thu mẫu tách chiết là sau 15 ngày, 30 ngày và 60 ngày ngâm. Tổng số 18 thùng thí nghiệm được bố trí với 6 nghiệm thức (2 loài nấm  $\times$  3 mốc thời gian), mỗi nghiệm thức được lặp lại 3 lần. Dung dịch tách chiết thu được từ 3 mẫu lặp của mỗi nghiệm thức được trộn đều thành một mẫu trước khi phân tích thành phần các hoạt chất kháng tảo.

#### 2.2.2. Phương pháp phân tích các hoạt chất kháng tảo trong dịch tách chiết

Các thành phần cơ bản của dịch tách chiết bao gồm các chất ester và phenolic: bis (2-ethylhexyl) ester, axit p-coumaric, axit salicylic, axit nonanoic, axit benzoic được phân tích tại Đại học Nam Bohemia - Cộng hòa Séc. Phương pháp phân tích được mô tả tóm tắt như sau:

5 mL dung dịch cần phân tích được đưa vào trong ống falcon 15 mL, sau đó thêm 5 mL hexan. Hỗn hợp dung dịch này được lắc bằng máy lắc Thermmo Scientific Compact Digital Mini Rotator

(SN: 17KT26108) trong 10 phút (150 vòng/phút) và được ly tâm 5.000 vòng/phút bằng máy ly tâm Heraeus Megafuge 16R Centrifuge (SN:41765550). Phần dung dịch huyền phù ở phía trên sau ly tâm được tách và làm bay hơi bằng nitrogen. Sau đó 300  $\mu$ L hexane được thêm vào phần tinh chất còn lại để tiến hành phân tích. Riêng đối với axit Nanoic, quá trình methyl hóa tổng lipid được tiến hành theo phương pháp được miêu tả bởi Appelqvist (1968).

Các hoạt chất sau đó được phân tích bởi hệ thống GC MS/MS. Dữ liệu được phân tích theo Thermo Xcalibur 3.0.63 (Thermo Fisher). Các hoạt chất được xác định dựa trên sự so sánh với thư viện NIST Mass Spectral Search Program library v 2.0 (Thermo Fisher). Xác định khối lượng dựa trên chế độ mô phỏng Q3 tập trung vào sự phân mảnh của các ion mong muốn và đường chuẩn.

### 2.2.3. Phương pháp nuôi tảo làm thí nghiệm

Vi khuẩn lam *M. aeruginosa* thuần được nuôi trong môi trường dinh dưỡng BG11 (Rippka *et al.*, 1979) ở phòng thí nghiệm, ánh sáng huỳnh quang (1.500 - 2.500 lux), điều kiện nhiệt độ  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ , chu kỳ sáng : tối (12 : 12 giờ). Trong thời gian triển khai thí nghiệm vi khuẩn lam được cung cấp dinh dưỡng 2 ngày/lần.

### 2.2.4. Phương pháp đếm mật độ tảo

Mật độ vi khuẩn lam được đếm theo phương pháp SMEWW 10200F:2017 (Baird and Bridgewater, 2017).

### 2.2.5. Phương pháp bố trí thí nghiệm

Thí nghiệm được bố trí với 13 nghiệm thức tương ứng với 13 mức thời gian xử lý (0 giờ, 1 giờ, 3 giờ, 1 ngày, 2 ngày, 3 ngày, 4 ngày, 5 ngày, 6 ngày, 7 ngày, 8 ngày, 9 ngày và 10 ngày). Vi khuẩn lam được nuôi sinh khối và thí nghiệm ở 2 mức mật độ là  $10^5$  và  $10^7$  tế bào/lít. Vi khuẩn lam được xử lý bằng dịch tách chiết từ rơm khô với nồng độ 0,01 gram rơm khô/lít,  $\text{CuSO}_4$  nồng độ 0,7 ppm (đối chứng dương), không xử lý (đối chứng âm). Mỗi nghiệm thức được lặp lại 3 lần.

### 2.2.6. Phương pháp xử lý số liệu

Số liệu được nhập, tính toán bằng phần mềm excel (phiên bản 2010) và phần mềm xử lý thống kê R (phiên bản 3.6.3) để phân tích số liệu. Hệ số tương quan Pearson (r) được sử dụng để so sánh hiệu quả ức chế tảo giữa dung dịch tách chiết từ

rơm khô,  $\text{CuSO}_4$ , và đối chứng, sai khác có ý nghĩa được xác định khi giá trị  $p \leq 0,05$ .

## 2.3. Thời gian và địa điểm nghiên cứu

Nghiên cứu được thực hiện tại Trung tâm quan trắc môi trường và bệnh thủy sản miền Bắc - Viện Nghiên cứu nuôi trồng Thủy sản 1 và Khoa Thủy sản - trường Đại học Nam Bohemia, Cộng hòa Séc từ tháng 4/2020 tới tháng 6/2021.

## III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

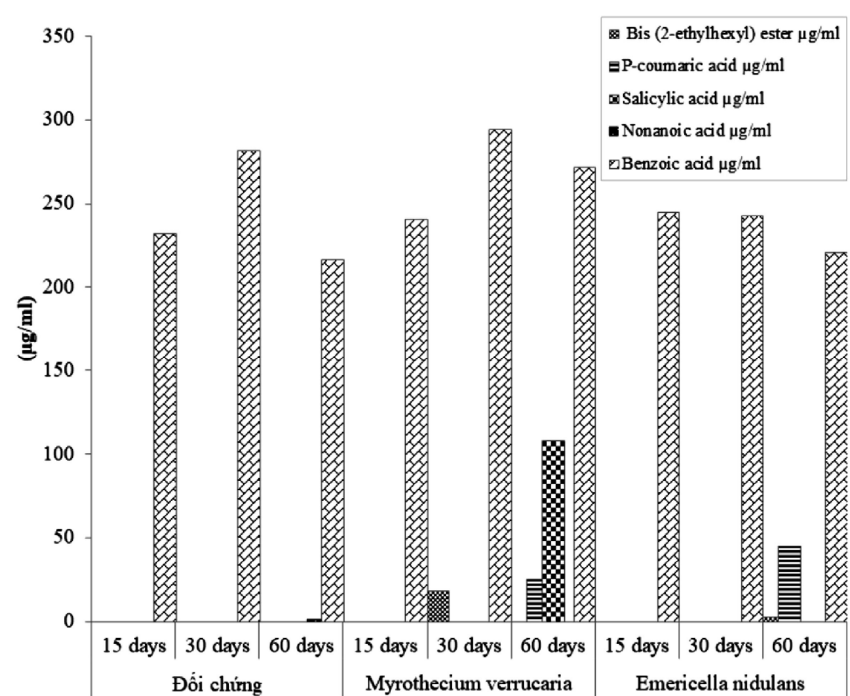
### 3.1. Thành phần hoạt chất kháng tảo

Sau khi tách chiết 15 ngày, nghiệm thức bổ sung nấm *Emericella nidulans* (*E. nidulans*) thu được hàm lượng hoạt chất kháng tảo cao hơn nghiệm thức bổ sung nấm *Myrothecium verucaria* (*M. verucaria*) 1,01 lần, cao hơn nghiệm thức đối chứng 1,05 lần. Sau thời gian tách chiết 30 và 60 ngày, nghiệm thức bổ sung nấm *M. verucaria* đều cho hàm lượng hoạt chất kháng tảo cao hơn nghiệm thức bổ sung nấm *E. nidulans* và nghiệm thức đối chứng. Sau khi tách chiết 30 ngày, nghiệm thức bổ sung nấm *M. verucaria* thu được hàm lượng hoạt chất kháng tảo cao hơn nghiệm thức bổ sung nấm *E. nidulans* 1,28 lần và cao hơn nghiệm thức đối chứng 1,10 lần. Sau thời gian tách chiết 60 ngày, nghiệm thức bổ sung nấm *M. verucaria* thu được hàm lượng hoạt chất kháng tảo cao hơn 1,85 lần so với nghiệm thức đối chứng và cao hơn 1,5 lần so với nghiệm thức bổ sung nấm *E. nidulans*.

Hoạt chất axit benzoic có hàm lượng cao nhất so với 4 hoạt chất còn lại là Bis (2-ethylhexyl) ester, axit P-coumaric, axit Salicylic và axit Nonanoic ở cả 3 nghiệm thức thí nghiệm (nghiệm thức đối chứng, nghiệm thức bổ sung nấm *M. verucaria* và nghiệm thức bổ sung nấm *E. nidulans*). Hàm lượng axit benzoic thu được sau 15, 30 và 60 có sự sai khác có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ). Nghiệm thức bổ sung nấm *M. verucaria* thu được thêm 3 hoạt chất Bis (2-ethylhexyl) ester, axit P-coumaric, axit Salicylic, nghiệm thức bổ sung nấm *E. nidulans* thu được 2 hoạt chất là Bis (2-ethylhexyl) ester, axit P-coumaric sau khi tách chiết 30 và 60 ngày, tuy nhiên hàm lượng các hoạt chất này không có sự sai khác có ý nghĩa thống kê. Các hoạt chất kháng tảo sản sinh ra trong quá trình tách chiết như axit ferulic, p-coumaric, vanillic và p-hydroxybenzoic đã được tìm thấy trong rơm lúa mạch, lúa mạch đen, lúa mì và lúa gạo. Một số tác giả đã sử dụng các

phương pháp khác nhau để tách chiết trong đó hai loại dung môi phổ biến được sử dụng là nước hoặc cồn (Börner, 1960; Rice, 1984). Tuy nhiên việc tách chiết bằng dung môi nước có thể áp dụng ở quy mô lớn hơn và giảm thiểu chi phí. Ngoài hiệu quả tác động riêng rẽ của từng hoạt chất, sự tương tác hiệp đồng giữa axit p-coumaric, axit salicylic và axit

benzoic trong dịch tách chiết từ rơm rạ giúp làm tăng hiệu quả ức chế đối với loài tảo *M. aeruginosa* (Park *et al.*, 2006). Dựa vào kết quả tách chiết, dung dịch tách chiết có bổ sung nấm *M. verucaria* sau 60 ngày được dùng để thí nghiệm khả năng ức chế sinh trưởng của vi khuẩn lam *M. aeruginosa*.



Hình 1. Nồng độ các hoạt chất thu được sau 15 ngày, 30 ngày và 60 ngày tách chiết

### 3.2. Khả năng ức chế tảo của dịch tách chiết từ rơm khô

Ở thí nghiệm mật độ tế bào *M. aeruginosa* ban đầu là  $10^5$  tế bào/lít, sau 1 giờ xử lý bằng dung dịch tách chiết từ rơm khô mật độ tế bào giảm từ  $1,03 \times 10^5$  xuống  $0,96 \times 10^5$  tế bào/lít (6,80%), sau đó mật độ tế bào tiếp tục giảm xuống  $0,47 \times 10^5$  tế bào/lít (54,37%) vào ngày thứ 6. Ở thí nghiệm mật độ tế bào *M. aeruginosa* ban đầu là  $10^7$  tế bào/lít, sau 1 giờ xử lý bằng dung dịch tách chiết từ rơm khô mật độ tế bào giảm từ  $9,93 \times 10^7$  xuống  $9,64 \times 10^7$  tế bào/lít (2,93%), tương tự thí nghiệm trước, ở thí nghiệm này mật độ tế bào cũng tiếp tục giảm xuống  $3,32 \times 10^7$  tế bào/lít (66,57%) vào ngày thứ 6. Tuy nhiên, ở cả hai thí nghiệm thức này, số lượng tế bào bắt đầu tăng lên vào ngày thứ 7 với giá trị tương ứng là  $0,52 \times 10^5$  tế bào/lít (50,48%) và  $5,32 \times 10^7$  tế bào/lít (53,37%). Kết quả nghiên cứu này cho thấy các hoạt chất trong dung dịch tách chiết từ rơm khô giảm

hiệu quả ức chế đối với *M. aeruginosa* sau 6 ngày thí nghiệm (Bảng 1). Nghiên cứu cho thấy dịch tách chiết có khả năng ức chế sự phát triển của tảo trong 6 ngày đầu thử nghiệm. Phát hiện này phù hợp với kết quả nghiên cứu của (Kang *et al.*, 2017; Park *et al.*, 2006), các nguyên liệu tự nhiên, sản phẩm từ nông nghiệp như thân cây lúa mạch, lúa gạo có khả năng ức chế sự phát triển của tảo. Theo Park và cộng tác viên (2009), dịch tách chiết từ thân cây lúa ở nồng độ 0,01 mg/lít có thể ức chế sự sinh trưởng của *M. aeruginosa* ở nồng độ  $10^5$  tế bào/lít. Sự ức chế khả năng phát triển của *M. aeruginosa* là do các hoạt chất kháng tảo hình thành trong quá trình phân hủy của thân cây lúa mạch đen, lúa mì và lúa gạo. Hiệu quả ức chế phụ thuộc vào các hoạt chất được tạo ra và biến đổi trong quá trình tách chiết. Lignin là một trong những thành phần quan trọng trong rơm. Sự phân giải lignin sản sinh các hoạt chất ức chế sự phát triển của tảo (Gibson *et al.*, 1990). Hàm lượng

lignin ở lúa mạch đen (21%) cao hơn 3 lần so với lúa gạo (7%) (Sun *et al.*, 2001), đây có thể là lí do dẫn tới hiệu quả ức chế khác nhau giữa hai loại rơm này. Nghiên cứu của Kang và cộng tác viên (2017) cho thấy, dịch tách chiết sau 5 ngày ủ có khả năng ức chế sự phát triển của tảo cao hơn so với dịch tách chiết sau 0,2 ngày, sự ức chế diễn ra mạnh mẽ hơn sau 40 - 150 ngày rơm rạ phân hủy. Nghiên cứu của Pęczuła (2013) phát hiện dịch tách chiết từ thân cây lúa mạch sau 3 tháng tách chiết làm giảm số lượng tế bào của 4 loài tảo: *Scenedesmus*, *S. quadricauda*, *S. ecornis* và *S. acumitus*. Trong khi dịch tách chiết sau 1 và 2 tháng chỉ làm giảm mật độ tế bào tảo ở 3 loài *S. quadricauda*, *S. ecornis* và *S. acumitus*. Loài tảo *S. subspicatus* có khả năng chống chịu với dịch tách chiết 1 và 2 tháng, nhưng đối với dịch tách chiết sau 3 tháng số lượng tế bào tảo giảm rõ rệt với cả 4 loài tảo. Như vậy, thời gian tách chiết ảnh hưởng đến chất lượng của dịch chiết. Nghiên cứu của (Gibson

*et al.*, 1990) cho thấy thời gian ức chế sự phát triển của tảo lam tăng lên đến 6 tháng khi sử dụng dịch chiết từ rơm lúa mạch. Tuy nhiên, trong nghiên cứu này, dịch tách chiết từ rơm khô chỉ có khả năng ức chế sự phát triển của tảo trong 6 ngày đầu.

Rất khó để so sánh kết quả của nghiên cứu hiện tại với các nghiên cứu trước đây do thiết kế thí nghiệm và nguyên liệu sử dụng để tách chiết khác nhau. Nghiên cứu của chúng tôi xác nhận bằng chứng dịch tách chiết từ thân cây lúa có khả năng ức chế sự phát triển của tảo ngay sau khi thí nghiệm 1 giờ, và tiếp tục làm giảm số lượng tế bào tảo trong 6 ngày tiếp theo. Nghiên cứu này cũng chỉ ra rằng, tảo bắt đầu phát triển trở lại từ ngày thứ 7 trở đi. Tiềm năng sử dụng dịch tách chiết từ rơm rạ để kiểm soát tảo của là tương đối rõ ràng. Do đó, cần có thêm những nghiên cứu tiếp theo để xác định được phương pháp tách chiết và xử lý tảo tối ưu.

**Bảng 1.** Biến động mật độ vi khuẩn lam trong các thí nghiệm xử lý bằng dịch tách chiết từ rơm khô

Thời gian	Mật độ tảo					
	Thí nghiệm mật độ $10^5$ tế bào/lít			Thí nghiệm mật độ $10^7$ tế bào/lít		
	Đối chứng ( $\times 10^5$ tế bào/lít)	Rơm khô ( $\times 10^5$ tế bào/lít)	$CuSO_4$ ( $\times 10^5$ tế bào/lít)	Đối chứng ( $\times 10^7$ tế bào/lít)	Rơm khô ( $\times 10^7$ tế bào/lít)	$CuSO_4$ ( $\times 10^7$ tế bào/lít)
0h	1,03 ± 0,040	1,03 ± 0,015	1,06 ± 0,043	9,75 ± 0,144	9,93 ± 0,160	9,89 ± 0,015
1h	0,98 ± 0,005	0,96 ± 0,015	0,92 ± 0,049	9,81 ± 0,131	9,64 ± 0,136	8,57 ± 0,115
3h	1,06 ± 0,058	0,95 ± 0,049	0,59 ± 0,026	10,55 ± 0,542	9,54 ± 0,409	5,73 ± 0,296
1d	1,03 ± 0,052	1,12 ± 0,058	0,31 ± 0,017	10,28 ± 0,531	9,62 ± 1,016	3,09 ± 0,159
2d	0,94 ± 0,015	0,68 ± 0,032	0,22 ± 0,015	9,95 ± 0,513	7,98 ± 0,411	2,24 ± 0,119
3d	1,18 ± 0,060	0,72 ± 0,037	0,27 ± 0,017	11,87 ± 0,609	8,11 ± 0,417	2,64 ± 0,138
4d	1,49 ± 0,078	0,44 ± 0,023	0,19 ± 0,011	14,54 ± 0,745	6,23 ± 0,319	1,96 ± 0,102
5d	1,39 ± 0,072	0,32 ± 0,017	0,17 ± 0,011	13,72 ± 0,707	2,99 ± 0,532	1,74 ± 0,09
6d	2,83 ± 0,147	0,47 ± 0,023	0,13 ± 0,005	28,78 ± 1,485	3,32 ± 0,315	1,39 ± 0,07
7d	4,21 ± 0,220	0,52 ± 0,028	0,13 ± 0,015	41,93 ± 2,164	5,32 ± 0,273	1,44 ± 0,075
8d	8,02 ± 0,411	0,55 ± 0,026	0,14 ± 0,005	57,39 ± 3,992	5,89 ± 0,783	1,49 ± 0,075
9d	14,23 ± 1,57	0,97 ± 0,049	0,13 ± 0,005	70,31 ± 4,635	6,73 ± 0,936	1,39 ± 0,07
10d	23,66 ± 2,66	1,17 ± 0,064	0,12 ± 0,005	90,85 ± 16,099	7,71 ± 0,635	1,21 ± 0,115

Ghi chú: “h” giờ; “d” ngày. Số liệu trong bảng là trung bình ± độ lệch chuẩn.

### 3.3. Khả năng ức chế tảo của $CuSO_4$

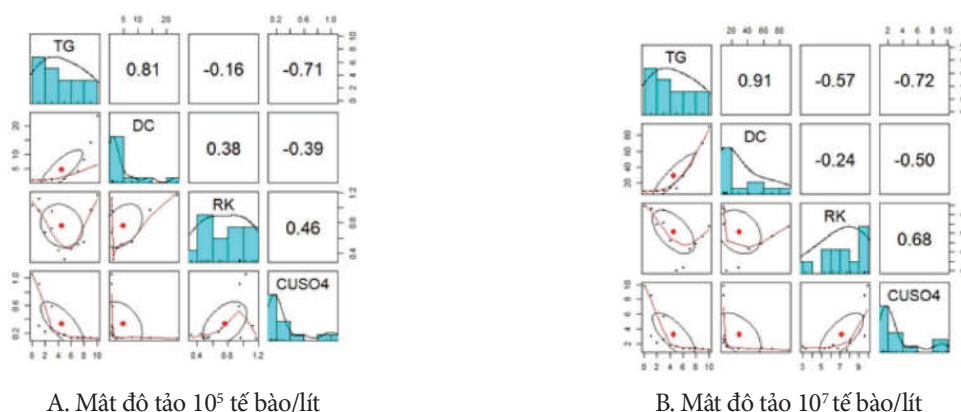
Thí nghiệm ở nồng độ  $10^5$  tế bào/lít, nghiên cứu cho thấy  $CuSO_4$  có khả năng diệt *M. aeruginosa* sau 1 giờ, tỉ lệ sống của tế bào vi khuẩn lam là 86,79%; sau 10 ngày tỉ lệ sống của vi khuẩn lam là

11,32%. Tuy nhiên, ở nghiệm thức có mật độ tế bào *M. aeruginosa* ban đầu là mật độ  $10^7$  tế bào/lít, tỷ lệ sống sau khi được xử lý bằng  $CuSO_4$  ở các mốc thời gian 1 giờ và 10 ngày đều thấp hơn so với nghiệm thức có mật độ  $10^5$  tế bào/lít với tỷ lệ sống lần lượt là 85,87% và 12,12%, tương ứng.

### 3.4. Phân tích mối tương quan giữa thời gian thí nghiệm, nhóm đối chứng, dung dịch tách chiết từ rơm khô và CuSO<sub>4</sub>

Kết quả phân tích mối tương quan giữa mật độ tế bào và thời gian xử lý của các nghiệm thức đối chứng, nghiệm thức xử lý bằng dịch tách chiết từ rơm khô (RK) và nghiệm thức xử lý bằng CuSO<sub>4</sub> cho thấy: Ở cả 2 thí nghiệm (mật độ 10<sup>5</sup> và 10<sup>7</sup> tế bào/lít) sau 10 ngày nghiên cứu, nghiệm thức đối chứng có số lượng tế bào tăng với hệ số tương quan lần lượt là

$r = 0,81$  và  $r = 0,91$ . Tuy nhiên, ở các nghiệm thức xử lý bằng CuSO<sub>4</sub>, số lượng tế bào giảm dần theo thời gian với hệ số tương quan lần lượt là  $r = -0,71$  và  $r = -0,72$ . Ở các nghiệm thức xử lý bằng dung dịch tách chiết từ rơm khô, cả hai mật độ 10<sup>5</sup> tế bào/lít và 10<sup>7</sup> tế bào/lít đều có mối tương quan nghịch (âm) với hệ số tương quan lần lượt là  $r = -0,17$  và  $r = -0,59$ . Kết quả này tương đồng với nghiên cứu của Park và cộng tác viên (2009) khi cho rằng xử lý bằng dịch tách chiết từ rơm giúp làm giảm mật độ vi khuẩn lam *M. aeruginosa* trong 10 ngày xử lý.



**Hình 3.** Mối tương quan giữa thời gian thí nghiệm, nhóm đối chứng, dung dịch tách chiết từ rơm khô và CuSO<sub>4</sub>

Ghi chú: (TG): Thời gian thí nghiệm, (DC): đối chứng, (RK) dung dịch tách chiết từ rơm khô.

Ở thí nghiệm có mật độ là 10<sup>5</sup> tế bào/lít, biến động mật độ tế bào *M. aeruginosa* ở nghiệm thức xử lý bằng dung dịch tách chiết từ rơm khô và nghiệm thức đối chứng có mối tương quan thuận (dương) ( $r = 0,38$ ). Tuy nhiên, mật độ tế bào ở nghiệm thức xử lý bằng dịch tách chiết từ rơm thấp hơn ở nghiệm thức đối chứng và sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p = 0,047$ ). Biến động mật độ tế bào *M. aeruginosa* ở nghiệm thức xử lý bằng CuSO<sub>4</sub> có mối tương quan nghịch với nghiệm thức đối chứng ( $r = -0,39$ ), mật độ tế bào có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p = 0,023$ ). Biến động mật độ tế bào ở nghiệm thức xử lý bằng dịch tách chiết từ rơm khô (RK) có mối tương quan thuận với nghiệm thức xử lý bằng CuSO<sub>4</sub> ( $r = 0,46$ ). Mật độ tế bào ở nghiệm thức xử lý bằng CuSO<sub>4</sub> thấp hơn ở nghiệm thức xử lý bằng dung dịch tách chiết từ rơm khô. Tuy nhiên, sự khác biệt này không có ý nghĩa thống kê ( $p = 0,99$ ). Ở thí nghiệm mật độ 10<sup>7</sup> tế bào/lít cả 2 nghiệm thức xử lý bằng dịch tách chiết từ rơm khô và CuSO<sub>4</sub> đều có mối tương quan nghịch với nghiệm thức đối chứng với hệ số tương quan lần lượt là  $r = -0,27$  và  $r = -0,5$ .

Mật độ tế bào ở nghiệm thức xử lý bằng dung dịch tách chiết từ rơm khô thấp hơn mật độ ở nghiệm thức đối chứng, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p = 0,0002$ ). Biến động mật độ tế bào *M. aeruginosa* ở nghiệm thức xử lý bằng dịch tách chiết từ rơm có mối tương quan thuận với nghiệm thức xử lý bằng CuSO<sub>4</sub> ( $r = 0,68$ ). Tuy nhiên mật độ tế bào *M. aeruginosa* của nghiệm thức xử lý bằng CuSO<sub>4</sub> thấp hơn nghiệm thức xử lý bằng dịch tách chiết từ rơm ( $p = 0,001$ ). Các kết quả này cho thấy việc xử lý bằng dịch tách chiết từ rơm khô không làm thay đổi được xu hướng tăng lên về mật độ tảo sau 10 ngày thí nghiệm, tuy nhiên làm giảm đáng kể mật độ tế bào *M. aeruginosa* so với thí nghiệm đối chứng. Kết quả này tương đồng với một số nghiên cứu trước đây khi cho rằng dịch tách chiết từ các cây họ lúa chỉ có thể hạn chế sự phát triển chứ không tiêu diệt hoàn toàn được tế bào tảo (Kang *et al.*, 2017; Park *et al.*, 2009; Pęczuła, 2013). Dịch tách chiết từ rơm khô có khả năng kiểm soát tảo, tuy nhiên hiệu quả tác động chưa mạnh như CuSO<sub>4</sub>. Điều này hoàn toàn dễ hiểu khi CuSO<sub>4</sub> đã được biết đến là một trong các chất diệt tảo có hiệu quả mạnh nhất, do

khả năng làm bất hoạt tế bào ngay lập tức thông qua việc ngăn cản quá trình nhận năng lượng và vận chuyển điện tử (Zhou *et al.*, 2013).

#### IV. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

##### 4.1. Kết luận

Nghiên cứu này cho thấy việc bổ sung nấm *M. Verucaria* giúp làm tăng hiệu quả tách chiết các hoạt chất kháng tảo từ rơm khô. Hàm lượng các hoạt chất kháng tảo thu được cao nhất sau 60 ngày tách chiết. Trong đó hàm lượng axit benzoic chiếm ưu thế so với các hoạt chất khác là Bis (2-ethylhexyl) ester, axit P-coumaric, axit Salicylic và axit Nonanoic. Dịch tách chiết từ rơm khô có tác dụng kiểm soát vi khuẩn lam *Microcystis aeruginosa* ngay sau 1 giờ xử lý và đạt hiệu quả cao nhất trong 6 ngày đầu của thí nghiệm. Kết quả của nghiên cứu này là tiền đề quan trọng việc sử dụng phụ phẩm nông nghiệp để kiểm soát tảo *M. aeruginosa*.

##### 4.2. Đề nghị

Cần có các nghiên cứu sâu hơn nhằm nâng cao hiệu quả tách chiết cũng như khả năng ứng dụng trong các ao nuôi thủy sản có diện tích lớn. Trong đó việc đánh giá tác động phụ của dịch tách chiết đối với động vật thủy sản và thời gian xử lý lặp lại là những thông tin quan trọng cần làm rõ để có thể áp dụng vào thực tiễn sản xuất.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Aguilera, A., Haakonsson, S., Martin, M.V., Salerno, G.L., & Echenique, R.O., 2018. Bloom-forming cyanobacteria and cyanotoxins in Argentina: A growing health and environmental concern. *Limnologica*, 69: 103-114. <https://doi.org/10.1016/j.limno.2017.10.006>
- Appelqvist, L.A., 1968. Lipids in Cruciferae. *Acta Agriculturae Scandinavica* 18: 3-21.
- Baird, R., & Bridgewater, L., 2017. *Standard methods for the examination of water and wastewater*. 23<sup>rd</sup> edition. Washington, D.C.: American Public Health Association
- Beck, S., & Wu, M., 2021. Effects of *Microcystis aeruginosa* on New Jersey. *Aquatic Benthic Macroinvertebrates*: 165-180. <https://doi.org/10.4236/aim.2021.113012>.
- Börner, H., 1960. Liberation of organic substances from higher plants and their role in the soil sickness problem. *The Botanical Review*, 26 (3): 393-424. <https://doi.org/10.1007/BF02860808>.
- Choi, K., Kim, Y., Jung, J., Kim, M.-H., Kim, C.-S., Kim, N.-H., & Park, J., 2008. Occurrences and ecological risks of roxithromycin, trimethoprim, and chloramphenicol in the Han River, Korea. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 27 (3): 711-719. <https://doi.org/10.1897/07-143.1>
- Demott, W.R., 1991. Effects of toxic cyanobacteria and purified toxins on the survival and feeding of a copepod and three species of Daphnia. *Limnology and Oceanography*: 36. doi: 10.4319/lo.1991.36.7.1346.
- Gibson, M.T., Welch, I.M., Barrett, P.R.F., & Ridge, I., 1990. Barley straw as an inhibitor of algal growth II: laboratory studies. *Journal of Applied Phycology*, 2 (3): 241-248. <https://doi.org/10.1007/BF02179781>.
- Kang, P.G., Kim, B., & Mitchell, M.J., 2017. Effects of rice and rye straw extracts on the growth of a cyanobacterium, *Microcystis aeruginosa*. *Paddy and Water Environment*, 15 (3): 617-623. <https://doi.org/10.1007/s10333-017-0580-4>.
- Landsberg J.H., 2002. The effects of harmful algal blooms on aquatic organisms. *Reviews in Fisheries Science*, 10: 113-390.
- Lee, G.F., & Jones, R.A., 1991. Effects of Eutrophication on Fisheries. *Reviews in Aquatic Sciences*, 5: 287-305.
- Park, M.-H., Chung, I.-M., Ahmad, A., Kim, B.-H., & Hwang, S.J., 2009. Growth inhibition of unicellular and colonial *Microcystis* strains (Cyanophyceae) by compounds isolated from rice (*Oryza sativa*) hulls. *Aquatic Botany*, 90 (4): 309-314. <https://doi.org/10.1016/j.aquabot.2008.11.007>
- Park, M.H., Han, M.S., Ahn, C.Y., Kim, H.S., Yoon, B.D., & Oh, H.M., 2006. Growth inhibition of bloom-forming cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* by rice straw extract. *Letters in Applied Microbiology*, 43(3): 307-312. <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2006.01951.x>
- Pęczyła, W., 2013. Influence of barley straw (*Hordeum vulgare* L.) extract on phytoplankton dominated by *Scenedesmus* species in laboratory conditions: The importance of the extraction duration. *Journal of Applied Phycology*, 25(2): 661-665. <https://doi.org/10.1007/s10811-012-9900-7>.
- Rice, E., 1984. Allelopathy. In *Academic Press*: 422 pp.
- Rippka, R., Deruelles, J., Waterbury, J., Herdman, M., & Stanier, R., 1979. Generic assignments, strain histories and properties of pure cultures of Cyanobacteria. *Microbiology*, 111 (1): 1-61.
- Rodger, H., Tumbull, T., Edwards, C., & Codd, G., 1994. Cyanobacterial (blue-green algal) bloom associated with pathology in brown trout, *Salmo trutta* L., in Loch Leven, Scotland. *Journal of Fish Diseases*, 17: 177-81.
- Su, W., Hagström, J.A., Jia, Y., Lu, Y., & Kong, F., 2014. Effects of rice straw on the cell viability, photosynthesis, and growth of *Microcystis aeruginosa*. *Chinese Journal of Oceanology and Limnology*, 32 (1):

120-129. <https://doi.org/10.1007/s00343-014-3063-0>.  
**Sun, R., Tomkinson, J., Mao, F.C., & Sun, X.F.**, 2001. Physicochemical characterization of lignins from rice straw by hydrogen peroxide treatment. *Journal of Applied Polymer Science*, 79 (4): 719-732. [https://doi.org/10.1002/1097-4628\(20010124\)79:4<719::AID-APP170>3.0.CO;2-3](https://doi.org/10.1002/1097-4628(20010124)79:4<719::AID-APP170>3.0.CO;2-3).  
**Shao J., Li R., Lepo J.E., Gu J.D.**, 2013. Potential for control

of harmful cyanobacterial blooms using biologically derived substances: problems and prospects. *Journal of Environmental Management*, 125: 149-55.

**Zhou, S., Shao, Y., Gao, N., Deng, Y., Qiao, J., Ou, H., Deng, J.**, 2013. Effects of different algaecides on the photosynthetic capacity, cell integrity and microcystin-LR release of *Microcystis aeruginosa*. *Sci Total Environ*, 463-464: 111-119.

## Inhibitory effect of dry rice straw extract on *Microcystis aeruginosa*

Pham Thi Thanh, Nguyen Huu Nghia, Nguyen Thi La,  
Nguyen Thi Minh Nguyet, Phan Trong Binh,  
Vu Thi Kieu Loan, Nguyen Thi Thanh Hien,

Tong Tran Huy, Vladimir Zlabek, Nguyen Van Tuyen, Pham Thai Giang

### Abstract

This study evaluated the inhibition effect of dry rice straw extracts on *M. aeruginosa* in Vietnam in order to test solutions for algae pollution treatment from environmentally friendly materials. Two species of fungi *Myrothecium verucaria* and *Emericella nidulans* were tested to improve the extraction efficiency of anti-algae compounds from rice straw. The extracts were collected after 15 days, 30 days and 60 days of treatment. The algae inhibitory ability of the extracts was tested at densities of  $10^5$  and  $10^7$  algae cells/L. The algae inhibition experiment was arranged with 13 treatments corresponding to 13 time points (0 hours, 1 hour, 3 hours, 1 day, 2 days, 3 days, 4 days, 5 days, 6 days, 7 days, 8 days, 9 days, 10 days after processing). The results showed that the extract after 60-day treatment with the addition of *M. verucaria* obtained the highest concentration of algaecide active ingredients and was able to inhibit the growth of *M. aeruginosa* for the first 6 days of the testing.

**Keywords:** Dry rice straw, extract solution, inhibition effect, *Microcystis aeruginosa*

Ngày nhận bài: 09/9/2021

Ngày phản biện: 20/9/2021

Người phản biện: TS. Đoàn Thị Oanh

Ngày duyệt đăng: 30/9/2021

## NGHIÊN CỨU LƯU TỒN NẤM *Colletotrichum* spp. TRONG VƯỜN TRỒNG THANH LONG

Đặng Thị Kim Uyên<sup>1</sup>, Trần Vũ Phấn<sup>2</sup>, Nguyễn Văn Hòa<sup>3</sup>

### TÓM TẮT

Nhằm hiểu rõ nguồn gốc phát sinh của bệnh thán thư gây hại thanh long, nghiên cứu về sự hiện diện nấm *Colletotrichum* trong nước mưa, nước mương, rãnh, tàn dư thực vật và mẫu đất ở độ sâu (0 - 10 cm) được tiến hành trong vườn thanh long. Kết quả ghi nhận nấm *Colletotrichum* tồn tại trong nước mưa, mương, tàn dư thực vật (mô cây chết) và trong đất thu tại vườn ở tỉnh Tiền Giang, Long An và Bình Thuận. Mật số khuẩn lạc nấm *Colletotrichum* ở thời điểm trước, giữa và cuối mùa mưa khá cao và khác biệt có ý nghĩa qua thống kê. Thu thập được 8 chủng nấm *Colletotrichum* qua đặc điểm hình thái (TL-N1, TL-Đ1, TL-N2, TL-Đ3, TL-N3, TL-D1, TL-D2, TL-Đ2). Lây nhiễm nhân tạo cho thấy chủng nấm TL-D1 và TL-D2 thu thập từ tàn dư thực vật có tỷ lệ bệnh (65%; 60%), chỉ số bệnh (7,22%; 6,67%) cao nhất và khác biệt có ý nghĩa thống kê so chủng nấm thu thập từ nước mưa, nước mương và trong đất. Các chủng nấm còn lại có tỷ lệ bệnh và chỉ số bệnh khác biệt có ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức chủng nước cất. Điều này chứng tỏ chủng nấm *Colletotrichum* thu thập được đều gây bệnh thán thư trên thanh long và có thể là nguồn phát sinh gây bệnh thán thư gây hại trên thanh long.

**Từ khóa:** Thanh long, *Colletotrichum*, lưu tồn nguồn nấm, phát sinh bệnh, mùa mưa

<sup>1</sup> Nghiên cứu sinh trường Đại học Cần Thơ

<sup>2</sup> Khoa Nông nghiệp, trường Đại học Cần Thơ

<sup>3</sup> Viện Cây ăn quả Miền Nam

\* Tác giả chính: E-mail: hoayuen28052005@gmail.com