

Tạp chí

NÔNG NGHIỆP & PHÁT TRIỂN NÔNG THÔN

*Science and Technology Journal
of Agriculture & Rural Development*

MINISTRY OF AGRICULTURE AND RURAL DEVELOPMENT, VIETNAM

Tạp chí Khoa học và Công nghệ

BỘ NÔNG NGHIỆP VÀ PHÁT TRIỂN NÔNG THÔN

20

2019

TẠP CHÍ

**NÔNG NGHIỆP
& PHÁT TRIỂN NÔNG THÔN**

ISSN 1859 - 4581

NĂM THỨ MƯỜI CHÍN

**SỐ 371 NĂM 2019
XUẤT BẢN 1 THÁNG 2 KỲ**

**TỔNG BIÊN TẬP
PHẠM HÀ THÁI**
ĐT: 024.37711070

**PHÓ TỔNG BIÊN TẬP
DƯƠNG THANH HẢI**
ĐT: 024.38345457

TOÀ SOẠN - TRỊ SỰ
Số 10 Nguyễn Công Hoan
Quận Ba Đình - Hà Nội .
ĐT: 024.37711072
Fax: 024.37711073
E-mail: tapchinongnghiep@vnn.vn
Website: www.tapchikhoahocnongnghiep.vn

**VĂN PHÒNG ĐẠI DIỆN TẠP CHÍ
TẠI PHÍA NAM**
135 Pasteur
Quận 3 - TP. Hồ Chí Minh
ĐT/Fax: 028.38274089

Giấy phép số:
290/GP - BTTTT
Bộ Thông tin và Truyền thông
cấp ngày 03 tháng 6 năm 2016

Công ty TNHH In ấn Đa Sắc
Địa chỉ: Số 7, P. Xuân Phương,
Q. Nam Từ Liêm, Hà Nội

Giá: 30.000đ

**Phát hành qua mạng lưới
Bưu điện Việt Nam; mã ấn phẩm
C138; Hotline 1800.585855**

MỤC LỤC

- ❑ NGUYỄN PHẠM ANH THI, LA HOÀNG TRÚC NGÂN, TRƯƠNG THỊ BÍCH VÂN, NGUYỄN THỊ PHA. Đánh giá đa dạng di truyền của các giống lúa địa phương (*Oryza sativa* L.) bằng chỉ thị phân tử SSR 3-10
- ❑ VÕ MINH THỨ, NGUYỄN THỊ Y THANH. Hiệu quả của việc sử dụng KClO₃ và Ca (NO₃)₂ đến khả năng chịu mặn của cây lúa 11-16
- ❑ NGUYỄN HỮU ĐẾ, TRẦN KIM ĐỊNH, BÙI XUÂN MẠNH, NGUYỄN CẢNH VINH, ĐINH THỊ HƯƠNG. Đánh giá khả năng kết hợp của một số dòng ngô thuần về năng suất sinh khối 17-23
- ❑ PHẠM THỊ THANH HƯƠNG, NGUYỄN THỊ HOÀNG ANH, LÊ THỊ THANH HUYỀN, LÊ THỊ HƯƠNG. Đánh giá khả năng chịu hạn của một số giống ngô ngọt bằng phương pháp gây hạn nhân tạo trong điều kiện nhà lưới 24-28
- ❑ BÙI CÁCH TUYẾN, PHẠM ĐỨC TOÀN, NGUYỄN THỊ THU, PHẠM THỊ HỒNG PHI, LÊ CAO LƯỢNG, HUỖNH VĂN BIẾT. Bước đầu xác định nguyên nhân gây bệnh sọc đen thân trên cây hoa cúc (*Chrysanthemum* spp.) ở Lâm Đồng bằng kỹ thuật PCR 29-34
- ❑ TRỊNH THỊ KIM MỸ, NGUYỄN VĂN THIỆP, NGUYỄN HỮU LA. Khả năng cung cấp hom chè giống của hai dòng chè CNS -1.41 và CNS - 8.31 tại Phú Hộ, Phú Thọ 35-39
- ❑ LÊ THỊ MỸ HÀ, NGUYỄN QUỐC HÙNG. Ảnh hưởng của biện pháp cắt tỉa và vật liệu giữ ẩm đến năng suất và chất lượng đào Mẫu Sơn tại huyện Cao Lộc, tỉnh Lạng Sơn 40-45
- ❑ NGUYỄN VĂN VŨ, ĐẶNG THÁI DƯƠNG, TRẦN MINH ĐỨC, NGUYỄN DANH. Nghiên cứu kỹ thuật gieo ươm loài Thiên môn chùm (*Asparagus racemosus* Willd.) tại tỉnh Gia Lai 46-52
- ❑ ĐÀO HUY ĐỨC, TRẦN ĐĂNG DŨNG, NGUYỄN VĂN MẠNH, ĐỖ TRUNG BÌNH. Nghiên cứu ảnh hưởng của phân bón lá vi lượng Cu, Zn và B dạng nano cho cây thanh long giai đoạn kinh doanh tại tỉnh Bình Thuận 53-57
- ❑ PHAN QUỐC HÙNG, VŨ THỊ XUÂN HƯƠNG, NGUYỄN THẾ BÌNH. Phân lập, tuyển chọn vi khuẩn phân giải xenlulo để xử lý bã thải dong riềng thành phân hữu cơ 58-66
- ❑ NGUYỄN MINH CHÍ, DƯƠNG XUÂN TUẤN, LÊ BẢO THANH. Ảnh hưởng của một số yếu tố sinh thái đến khả năng bị sâu đục ngọn của cây lát hoa (*Chukrasia tabularis* A. Juss) tại vùng Tây Bắc và Bắc Trung bộ 67-73
- ❑ LÃ NGUYỄN KHANG, THẦN THỊ HUYỀN, LÊ SỸ DOANH, NGUYỄN THỊ MAI DƯƠNG, NGUYỄN THỊ THU HẰNG, DƯƠNG THANH HẢI. Đa dạng thành phần nấm cộng sinh với rễ cây Lim xanh (*Erythrophloeum fordii*) tại Khu Di tích lịch sử cấp Quốc gia Đền Và, thị xã Sơn Tây, thành phố Hà Nội 74-80
- ❑ TRẦN NGỌC HẢI, NGUYỄN TRỌNG GIÁP. Nghiên cứu phát triển loài sim (*Rhodomyrtus tomentosa* (Ait.) Hast) ở huyện Quảng Trạch, tỉnh Quảng Bình 81-86
- ❑ LÊ HỒNG VIỆT, TRẦN QUANG BẢO, PHẠM VĂN HƯỜNG. Vai trò của quần thể Sến mủ (*Shorea roxburghii* G. Don) trong cấu trúc của rừng kín thường xanh ẩm nhiệt đới tại khu vực Tân Phú thuộc tỉnh Đồng Nai 87-95
- ❑ TRẦN XUÂN HẢI, BÙI NGUYỄN LÂM HÀ, NGÔ NGỌC HOÀNG GIANG, VŨ VĂN NGHỊ, ĐẶNG THANH LÂM. Nhu cầu nước ở đồng bằng sông Cửu Long: Hiện trạng và dự báo đến năm 2030 và năm 2050 dưới tác động của biến đổi khí hậu 96-103
- ❑ HOÀNG VŨ QUANG, NGUYỄN TIẾN ĐỊNH, NGUYỄN VĂN BA. Giải pháp phát triển chuỗi giá trị tre, luồng tỉnh Thanh Hóa và Nghệ An 104-111
- ❑ NGUYỄN ĐẶNG GIÁNG CHÂU, TRẦN THỊ LAN ANH. Tốc độ phân hủy của thuốc trừ sâu Cypermethrin trên hành lá (*Allium fistulosum*) và cải cay (*Brassica juncea*) dưới điều kiện thực địa ở tỉnh Thừa Thiên - Huế 112-118
- ❑ NGUYỄN HỮU THUẬN, TRẦN NGỌC BÍCH, NGUYỄN PHÚC KHÁNH, HUỖNH KIM DIỆU. Khảo sát một số chỉ tiêu lý hóa vi sinh và đánh giá chất lượng nước thải tại một số cơ sở giết mổ gia súc trên địa bàn tỉnh Trà Vinh 119-123
- ❑ TRẦN TRỌNG PHƯƠNG, NGUYỄN CÔNG VÂN, NGÔ THANH SƠN, TRẦN VĂN KHẢI. Đánh giá công tác đấu giá quyền sử dụng đất tại thành phố Bắc Ninh, tỉnh Bắc Ninh 124-131
- ❑ TRẦN XUÂN BIẾN, DƯƠNG ĐĂNG KHÔI. Phát triển sản phẩm vải chín sớm Bình Khê tại thị xã Đông Triều, tỉnh Quảng Ninh 132-139
- ❑ DƯƠNG THỊ NHUNG, TRẦN THỊ THU HÀ, ĐẶNG KIM VUI, NGUYỄN XUÂN VŨ. Nghiên cứu xây dựng quy trình nhân giống cây Sói rừng (*Sarcandra glabra* (Thunb.) Nakai) bằng công nghệ nuôi cấy mô tế bào 140-149

ĐA DẠNG THÀNH PHẦN NẤM CỘNG SINH VỚI RỄ CÂY LIM XANH (*Erythrophloeum fordii*) TẠI KHU DI TÍCH LỊCH SỬ CẤP QUỐC GIA ĐỀN VÀ, THỊ XÃ SƠN TÂY, THÀNH PHỐ HÀ NỘI

Lã Nguyên Khang¹, Thân Thị Huyền², Lê Sỹ Doanh¹

Nguyễn Thị Mai Dương¹, Nguyễn Thị Thu Hằng³, Dương Thanh Hải⁴

TÓM TẮT

Đất vùng rễ của cây Lim xanh (*Erythrophloeum fordii*) tại Khu Di tích lịch sử cấp Quốc gia Đền Và có sự phân bố của nấm rễ nội cộng sinh (AMF) với mật độ bào tử AMF trung bình đạt 98,1 bào tử/10 g đất khô. Bằng phương pháp phân tích đặc điểm hình thái bào tử, đã phát hiện được 6 chi, 19 loài AMF tạo bào tử trong đất vùng rễ Lim xanh, trong đó 4 chi AMF là *Glomus*, *Acaulospora*, *Gigaspora* và *Scutellospora* có tần suất xuất hiện cao. Bào tử AMF phân lập từ đất vùng rễ cây Lim xanh khi nuôi cấy trong dịch chiết đất có tỷ lệ nảy mầm đạt 61,5%. Tỷ lệ lây nhiễm của AMF trong rễ Lim xanh là 51,8%. Bên cạnh các cấu trúc của AMF, trong rễ khỏe của cây Lim xanh còn có sự hiện diện phổ biến của nấm *Fusarium* sp. và *Penicillium* sp. Số lượng nấm tổng số trung bình trong đất vùng rễ cây Lim xanh phân bố tại Khu Di tích lịch sử cấp Quốc gia Đền Và là $2,97 \times 10^6$ (CFU/g).

Từ khóa: Đền Và, Lim xanh, nấm rễ nội cộng sinh.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Vì nấm đóng vai trò quan trọng trong quá trình phát triển của thực vật. Trong số các vi nấm cộng sinh với rễ thực vật, nấm rễ nội cộng sinh (Arbuscular Mycorrhizal Fungi - AMF) có khả năng làm gia tăng sự hấp thu các hợp chất vô cơ (phospho, nito), tăng tiết chất kích thích sinh trưởng ở thực vật nên được ứng dụng rộng rãi trong canh tác cây nông - lâm nghiệp. Sự phân bố của các chi AMF trong rễ, đất vùng rễ thay đổi phụ thuộc loài cây, khí hậu và vị trí địa lý [9]. Do vậy, tùy thuộc vào loại cây chủ được định hướng ứng dụng AMF để thúc đẩy sinh trưởng, việc phân lập AMF phân bố phổ biến trong rễ và đất trồng cây chủ để ứng dụng sản xuất phân bón vi sinh chứa bào tử của AMF thích hợp với loại cây chủ và vùng đất trồng cây chủ là cần thiết và có ý nghĩa.

Lim xanh (*Erythrophloeum fordii*) là cây gỗ lớn, thân thẳng, tròn, gốc có bạnh nhỏ, vỏ màu nâu, cành non màu xanh lục, là thực vật rừng thuộc Danh cấp, quý, hiếm nhóm IIA (thực vật rừng hạn chế khai

thác, sử dụng vì mục đích thương mại) theo quy định của Nghị định 06/2019/NĐ-CP ngày 22 tháng 01 năm 2019 của Chính phủ [3]. Quần thể Lim xanh cổ thụ tại Khu Di tích lịch sử cấp Quốc gia Đền Và có giá trị lớn về mặt văn hóa, lịch sử. Lim xanh là loài cây gỗ quý hiếm nhưng sinh trưởng chậm, hiện trên thế giới cũng như ở Việt Nam chưa có nghiên cứu về thành phần nấm rễ nội cộng sinh và ứng dụng nấm trong thúc đẩy sinh trưởng của cây Lim xanh. Do vậy, để tạo cơ sở khoa học đề xuất giải pháp bảo tồn và phát triển quần thể Lim xanh, đã tiến hành nghiên cứu xác định đa dạng thành phần nấm rễ nội cộng sinh (AMF) và các chi vi nấm sống cộng sinh/ký sinh, phân bố ưu thế ở vùng rễ cây Lim xanh tại Khu Di tích lịch sử cấp Quốc gia Đền Và. Kết quả của nghiên cứu được sử dụng để định hướng ứng dụng AMF trong thúc đẩy sinh trưởng, gia tăng sức đề kháng và gây trồng cây Lim xanh tại Khu Di tích lịch sử cấp Quốc gia Đền Và.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Các mẫu rễ và đất vùng rễ của 15 cây Lim xanh cổ thụ phân bố ở 15 vị trí khác nhau tại Khu Di tích lịch sử cấp Quốc gia Đền Và, thị xã Sơn Tây, thành phố Hà Nội. Các mẫu rễ và đất vùng rễ được thu thập ở độ sâu 20 cm so với mặt đất, thời gian thu thập:

¹ Viện Sinh thái Rừng và Môi trường, Trường Đại học Lâm nghiệp

² Trường Đại học Nông Lâm Bắc Giang

³ Viện Công nghệ Sinh học Lâm nghiệp, Trường Đại học Lâm nghiệp

⁴ Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển nông thôn

Tháng 3 - tháng 6 năm 2018. Trước khi lấy mẫu loại bỏ lớp đất bề mặt, dùng dao vô trùng cắt các đoạn rễ có chiều dài 10 - 15 cm và thu thập 500 g đất xung quanh rễ. Mẫu rễ được rửa sạch đất, với mẫu sử dụng trong thí nghiệm xác định sự có mặt của AMF trong rễ được cố định trong dung dịch FAA [1] trong 1 giờ. Mẫu đất được làm khô ở nhiệt độ phòng, sau đó bảo quản trong tủ 4°C trong quá trình thực hiện thí nghiệm.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phân lập bào tử AMF từ đất và định danh AMF dựa vào phân tích đặc điểm hình thái bào tử

Bào tử của AMF phân bố trong các mẫu đất (10 g đất khô/ 1 mẫu) xung quanh rễ Lim xanh được phân lập bằng kỹ thuật sàng ướt qua rây có kích thước lỗ 750 μ m, 250 μ m, 100 μ m và 50 μ m (thu nhận bào tử có kích thước khác nhau) kết hợp với ly tâm trong dung dịch sucrose 50% (tác dụng làm bào tử AMF trương nước và nổi trên bề mặt dung dịch, sau khi li tâm loại tạp chất sẽ thu được bào tử AMF đã được làm sạch) theo phương pháp của Gerdeman và Nicolson (1963) [5]. Quan sát bào tử AMF dưới kính hiển vi để xác định: Số lượng bào tử; hình dạng, kích thước bào tử; bề mặt và cấu trúc vách bào tử; màu sắc của bào tử [theo INVAM – bảng màu chuẩn với 4 nhân tố CMYB (Cyan/Magenta/Yellow/Black)]. Tiến hành nhuộm màu bào tử đã phân lập với thuốc thử Melzer [5] và phân loại AMF đến chi, loài (dựa vào đặc điểm hình thái bào tử) theo các khóa phân loại của Brundrett (2004), Shenck và Perez (1990) và dựa vào INVAM [1, 6, 11].

2.2.2. Xác định tỷ lệ nảy mầm của bào tử AMF

Tương ứng với mỗi mẫu đất vùng rễ Lim xanh, phân lập 10 - 20 bào tử AMF đại diện cho các chi nấm chiếm ưu thế trong từng mẫu đất, ngâm bào tử trong dịch chiết đất, nuôi ở nhiệt độ 25°C trong điều kiện tối. Sau 20 ngày, xác định tỷ lệ nảy mầm của bào tử.

2.2.3. Xác định tỷ lệ rễ nhiễm AMF

Các mẫu rễ được cắt thành mảnh nhỏ kích thước 1 cm, số lượng 30 mảnh/1 mẫu rễ. Rễ được ngâm trong dung dịch KOH 10% ở 90°C trong 2 giờ, rửa bằng nước vô trùng và trung hòa kiềm với dung dịch HCl 5N trong 5 phút. Tiếp theo, rễ được rửa nhiều lần bằng nước cất vô trùng và nhuộm bằng dung dịch trypan blue 0,05% trong lactoglycerol hoặc dung dịch fuchsin acid 0,01%. Quan sát các mẫu rễ dưới kính hiển vi để phát hiện các cấu trúc của AMF trong rễ

và xác định tỷ lệ rễ nhiễm AMF (hay nấm AM) theo công thức:

$$\text{Tỷ lệ rễ nhiễm nấm AM}(\%) = \frac{\text{Số mẫu nhiễm AM}}{\text{Tổng số mẫu quan sát}} \times 100$$

2.2.4. Phân lập nấm phân bố ở vùng rễ của cây Lim xanh

Nấm phân bố ở vùng rễ Lim xanh được phân lập bằng phương pháp cắt mẫu thành các mảnh nhỏ (kích thước 0,5 cm x 0,5 cm), cấy lên môi trường PDA (Potato Dextrose Agar) và môi trường Crapek agar bổ sung tetracycline 25 mg/L, nuôi cấy ở 28°C. Tiến hành tách và tinh sạch các chủng nấm mọc tạo hệ sợi từ mẫu cấy và phân loại nấm theo phương pháp của Nagmani và cộng sự (2006) [8].

2.2.5. Xác định tổng số tế bào nấm trong đất ở vùng rễ

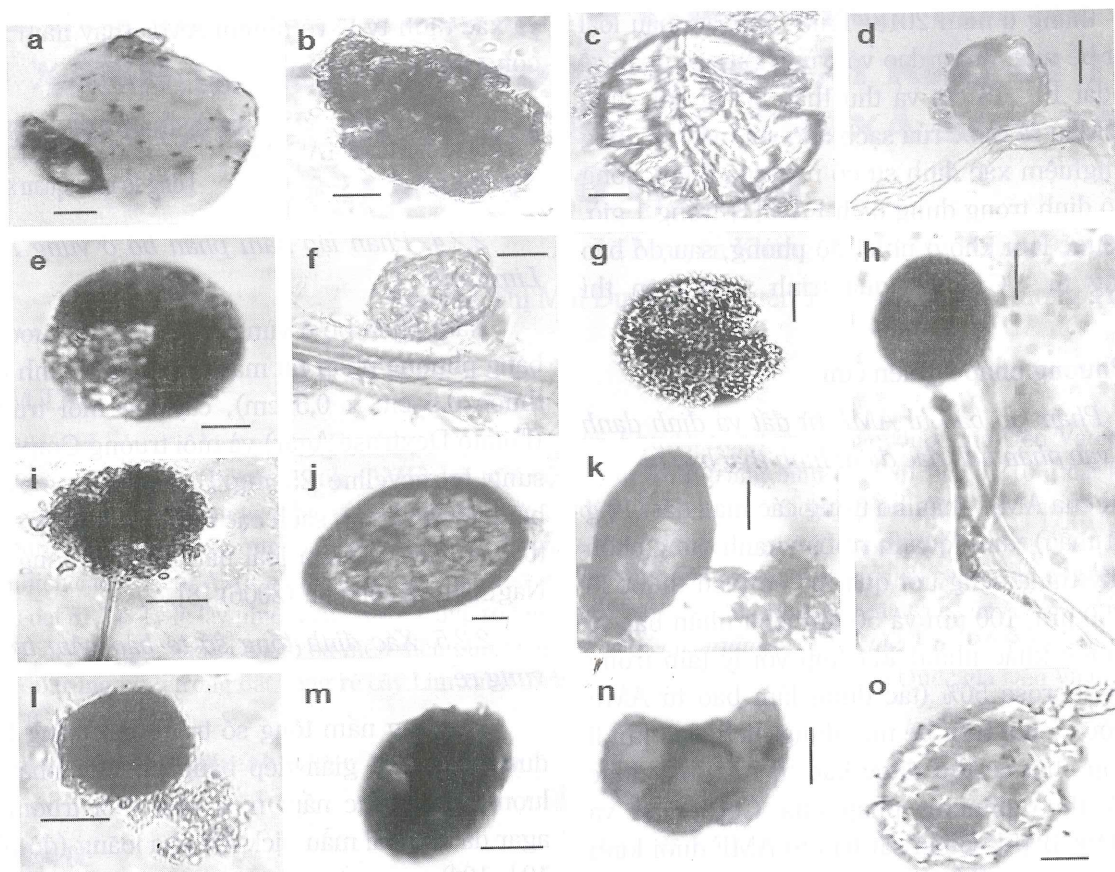
Số lượng nấm tổng số trong đất trồng Lim xanh được xác định gián tiếp bằng phương pháp đếm số lượng khuẩn lạc nấm mọc trên môi trường Crapek agar đã cấy trải mẫu dịch đất pha loãng (độ pha loãng 10^{-1} - 10^{-4}).

2.2.6. Xử lý số liệu: Số liệu thu thập được xử lý phần mềm Excel.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Đa dạng nấm rễ nội cộng sinh trong đất vùng rễ cây Lim xanh

Các bào tử AMF từ 15 mẫu đất trồng Lim xanh đã được phân lập và xác định số lượng bào tử tổng số. Bằng phương pháp phân loại AMF dựa vào phân tích đặc điểm hình thái, đã nhận diện được 21 loài AMF tạo bào tử phân bố trong đất vùng rễ cây Lim xanh tại Khu Di tích lịch sử cấp Quốc gia Đền Và, trong đó có 19 loài đã được định danh thuộc 6 chi AMF gồm: *Glomus intraradices*, *G. ambisporum*, *G. palsihalos*, *G. macrocarpus*, *Acaulospora mellea*, *A. bireticulata*, *A. fennica*, *A. koskei*, *Acaulospora* sp. 1, *Acaulospora* sp. 2, *Acaulospora* sp. 3, *Gigaspora gigantea*, *Gigaspora albida*, *Gigaspora* sp. 1, *Scutellospora* sp. 1, *Scutellospora* sp. 2, *Centraspora pellucida*, *Septoglomus constrictum*, *Septoglomus deserticola* và 2 loài chưa được định danh. Trong đất vùng rễ Lim xanh, có 4 chi AMF chiếm ưu thế là *Glomus*, *Acaulospora*, *Scutellospora* và *Gigaspora*. Một số hình ảnh về hình thái bào tử AMF trong đất vùng rễ cây Lim xanh được trình bày ở hình 1.



Hình 1. Hình thái một số bào tử AMF phân lập từ đất vùng rễ cây Lim xanh tại Khu Di tích lịch sử cấp Quốc gia Đền Và

Một số bào tử AMF thuộc chi *Acaulospora* (a, b, c, d, e, f); *Glomus* (g, h, i); *Scutellospora* (j, k); *Gigaspora* (l, m); bào tử AMF chưa được định danh (n, o); thanh tỷ lệ = 30 μ m.

Trong số các chi AMF đã được nhận dạng thông qua phân tích hình thái bào tử, chi *Glomus* và chi *Acaulospora* được phát hiện trong 15/15 mẫu đất phân tích. Chi *Glomus* có bào tử hình cầu, gần cầu; bề mặt có màu vàng nâu, màu nâu hoặc màu nâu tối; thành bào tử có hai lớp; bào tử có cuống dài; kích thước bào tử 80 - 160 μ m. Chi *Acaulospora* hình cầu, gần cầu hoặc hình bầu dục; màu trắng, không màu hoặc màu nâu vàng, nâu tối; thành bào tử có ba lớp; bào tử có cuống ngắn; kích thước bào tử 70 - 240 μ m. Bào tử của chi *Gigaspora* và *Scutellospora* được phát hiện ở 10/15 và 8/15 mẫu đất phân tích (tương ứng) với mật độ thấp hơn so với hai chi *Glomus* và *Acaulospora*.

Kết quả nghiên cứu về AMF trong các mẫu đất vùng rễ Lim xanh chỉ ra *Glomus*, *Acaulospora*, *Gigaspora* và *Scutellospora* là các chi có tần suất xuất hiện cao nhất, phù hợp với nhiều nghiên cứu: Theo Brundrett và cộng sự (1984), *Glomus*, *Acaulospora*, *Scutellospora* và *Gigaspora* là các chi nấm rễ cộng sinh phổ biến ở nhiều loài thực vật [2]. Ở Việt Nam, Nguyễn Thị Kim Liên và cộng sự (2012) phát hiện sự

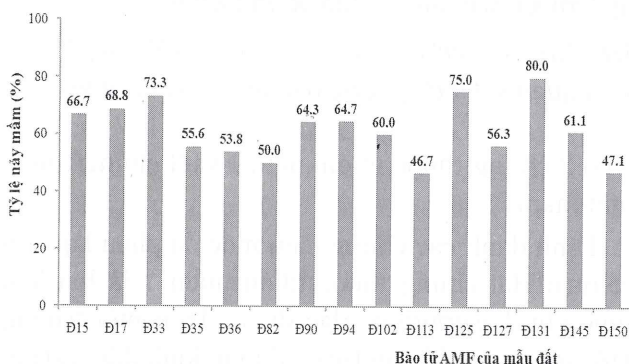
có mặt của 6 chi AMF là *Acaulospora*, *Entrophospora*, *Glomus*, *Sclerocystis*, *Glomites* và *Gigaspora* trong đất trồng cam [7]. Lê Thị Hoàng Yến và cộng sự (2017) nghiên cứu phân lập AMF từ các mẫu đất trồng ngô đã khẳng định ba chi *Acaulospora*, *Gigaspora* và *Glomus* có tần suất xuất hiện cao nhất [14].

Số lượng bào tử AMF ở 15 mẫu đất vùng rễ Lim xanh thu thập từ các vị trí khác nhau trong khoảng thời gian từ tháng 3 đến tháng 6 (2018) đạt thấp nhất 74 bào tử/10 g đất khô, cao nhất 132 bào tử/10 g đất khô, trung bình là 98,1 bào tử/10g đất khô. Với mật độ bào tử AMF trung bình là 98,1 bào tử/10 g đất khô, đất trồng Lim xanh có số lượng bào tử AMF đạt mức độ trung bình khi so sánh với mật độ bào tử ở các khu vực trồng các loại cây khác. Ví dụ: Sasvári và cộng sự (2012) công bố số lượng bào tử AMF trong đất vùng rễ của một số loài cây trồng ở Việt Nam như sau: Đất vùng rễ cây khoai tây và cây lạc chứa trên 113 bào tử/10 g đất khô, đất vùng rễ cây bông có trung bình 71,2 bào tử/10 g đất khô [10]. Theo

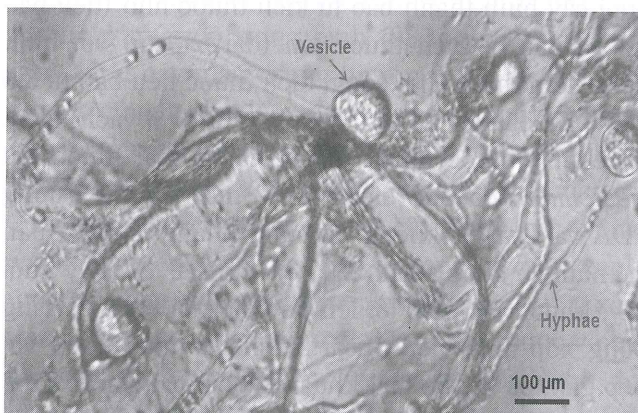
Souzaa và cộng sự (2016), đất vùng rễ của một loài cây thuộc họ đậu (*Mimosa tenuiflora*) ở Brasil có mật độ bào tử AMF trung bình 166 bào tử/ 10 g đất khô [12].

3.2. Xác định tỷ lệ nảy mầm của bào tử AMF phân lập trong đất vùng rễ cây Lim xanh

Các bào tử AMF được nuôi trong dung dịch chiết đất ở nhiệt độ phòng. Sau 20 ngày, quan sát hình thái bào tử dưới kính hiển vi để xác định tỷ lệ nảy mầm của bào tử nấm rễ. Kết quả xác định tỷ lệ nảy mầm của AMF trong 15 mẫu đất vùng rễ Lim xanh (Hình 2) cho thấy: Bào tử AMF cộng sinh với rễ Lim xanh có tỷ lệ nảy mầm đạt 46,7 - 80,0%, trung bình 61,5%. Quá trình nảy mầm của bào tử AMF bắt đầu khi thành bào tử nứt ra và sợi nấm được tạo thành. Sau đó, hệ sợi tiếp tục kéo dài tạo mạng lưới hệ sợi (hyphae) và cấu trúc dạng túi (vesicle) (Hình 3).



Hình 2. Tỷ lệ nảy mầm của bào tử AMF đã phân lập từ các mẫu đất vùng rễ cây Lim xanh

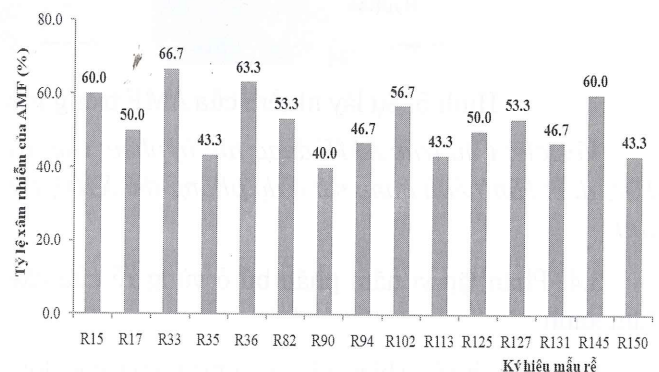


Hình 3. Sự phát triển hệ sợi của AMF phân lập từ đất quanh rễ cây Lim xanh trong dịch chiết đất

3.3. Xác định mật độ của AMF trong rễ cây Lim xanh

Nấm rễ nội cộng sinh khi lây nhiễm vào rễ sẽ tạo cấu trúc dạng sợi (hyphae), dạng túi (vesicle) và

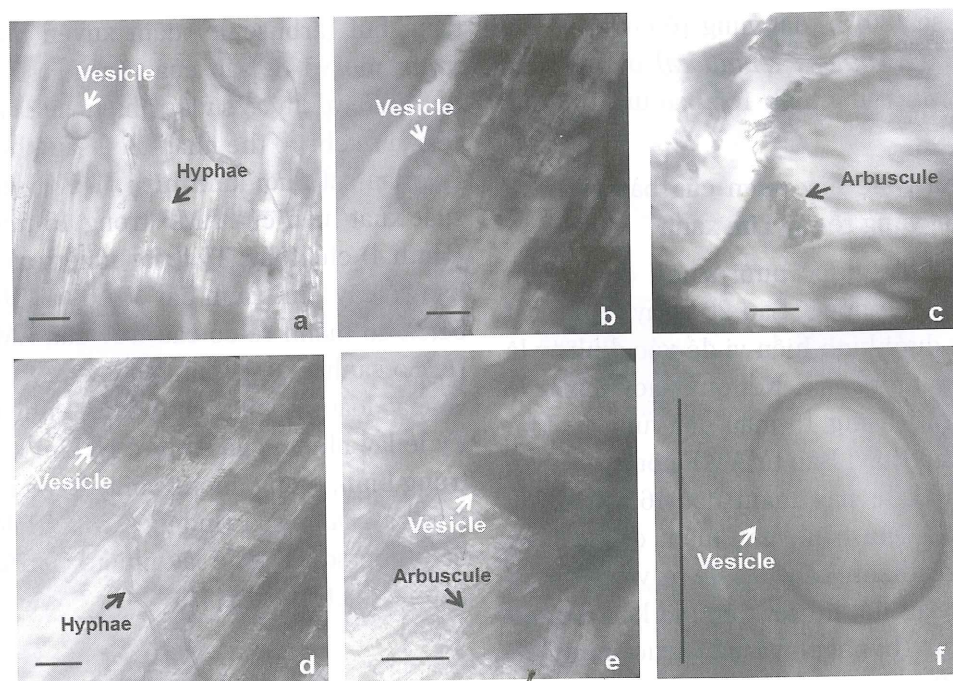
dạng bụi (arbuscule) đâm xuyên hoặc nằm len lỏi trong mô và tế bào của các mẫu rễ. Các cấu trúc được tạo ra khi có sự lây nhiễm của nấm trong mô và tế bào rễ chỉ có thể nhận diện sau khi nhuộm màu rễ và quan sát dưới kính hiển vi. Kết quả xác định tần suất xuất hiện của AMF trong 15 mẫu rễ Lim xanh (Hình 4) cho thấy: Tỷ lệ lây nhiễm của AMF trong tế bào rễ cây Lim xanh đạt 40,0 - 66,7%, trung bình là 51,8% số mảnh rễ có cấu trúc của AMF tạo ra trong rễ. So sánh tỷ lệ lây nhiễm của AMF ở rễ Lim xanh với các loài cây khác có AMF lây nhiễm cho kết quả: Tỷ lệ lây nhiễm của AMF ở rễ Lim xanh đạt kết quả trung bình, tương đương với tỷ lệ lây nhiễm của AMF ở rễ cây Dương xỉ (Indonesia) là 54,44% [13], nhưng thấp hơn so với tỷ lệ lây nhiễm của AMF ở cây Sâm (Ấn Độ) là trên 80% [4].



Hình 4. Tỷ lệ lây nhiễm của AMF trong rễ cây Lim xanh

Một số hình ảnh thu nhận trong quá trình nghiên cứu được thể hiện ở hình 5 chỉ rõ sự có mặt của AMF trong các mô và tế bào rễ thể hiện ở các cấu trúc là: Dạng sợi, dạng túi và dạng bụi.

Các kết quả phân tích về AMF trong rễ và đất vùng rễ cây Lim xanh tại Khu Di tích lịch sử cấp Quốc gia Đền Và chỉ ra sự có mặt của bào tử AMF trong đất vùng rễ và sự lây nhiễm của các cấu trúc AMF trong rễ của cây Lim xanh với mật độ đạt mức trung bình và bào tử AMF có tỷ lệ nảy mầm khá cao. Do vậy, để chăm sóc các cây Lim xanh cổ thụ và gây trồng cây Lim xanh con, việc phân lập, nhân giống các chi AMF thích hợp cộng sinh và phát triển tạo mật độ cao trong rễ Lim xanh như chi *Glomus* và *Acaulospora* là rất có ý nghĩa. Bào tử AMF với khả năng nảy mầm cao khi bón trở lại cho cây Lim xanh cổ thụ sẽ tăng cường mật độ AMF trong đất trồng Lim xanh và khi lây nhiễm vào hạt Lim xanh sẽ kích thích hạt nảy mầm, tạo cây con có tỷ lệ lây nhiễm cao của AMF.



Hình 5. Sự lây nhiễm của AMF trong mô rễ cây Lim xanh quan sát dưới kính hiển vi

Vesicle: Cấu trúc AMF dạng túi; hyphae: Cấu trúc AMF dạng sợi; arbuscule: Cấu trúc AMF dạng bụi. a, b, c, d, e: Hình ảnh quan sát ở độ phóng đại X100; f: Hình ảnh quan sát ở độ phóng đại X400; thanh tỷ lệ = 100 μ m

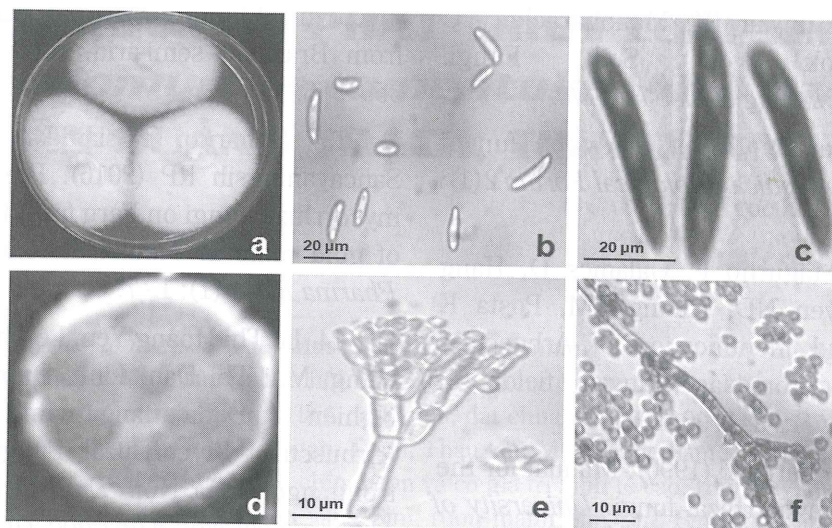
3.4. Phân lập vi nấm phân bố ở vùng rễ của cây Lim xanh

Hệ nấm ở rễ (rhizosphere fungi) của các loài thực vật ngoài nấm rễ nội cộng sinh (lây nhiễm sâu vào tế bào và mô rễ, cộng sinh và thúc đẩy sinh trưởng của thực vật), còn có nấm ngoại cộng sinh (phân bố trên bề mặt vỏ rễ, giữa vỏ rễ và lõi rễ), nấm ký sinh...

Các mảnh rễ Lim xanh khi cấy lên môi trường PDA và Crapek agar bổ sung tetracycline 25 mg/L đã tạo cấu trúc nấm mốc mọc lan từ mẫu rễ ra ngoài môi trường xung quanh mẫu. Dựa vào màu sắc hệ sợi, màu sắc bào tử và sắc tố tiết ra môi trường nuôi cấy của các loại nấm mốc mọc trên môi trường dinh dưỡng để nhận dạng, phân lập và tinh sạch chủng nấm. Kết quả nhận dạng các chi nấm mốc lan từ mẫu rễ cho phép phân loại các dạng cấu trúc nấm thành nhóm. Trong đó, có hai nhóm nấm xuất hiện ở 15/15 mẫu rễ được lựa chọn để tinh sạch và định danh gồm: Nhóm nấm 1 có hệ sợi màu trắng như bông, sau 3 - 5 ngày nuôi cấy tiết sắc tố vàng sậm hoặc vàng nâu vào môi trường; nhóm nấm 2 có đặc điểm khuẩn lạc mọc lồi lên bề mặt môi trường, viền ngoài là hệ sợi có màu trắng, giữa màu xanh. Từ hai nhóm nấm, đã tinh sạch được 5 chủng nấm, trong

đó có 2 chủng thuộc nhóm nấm 1 và 3 chủng thuộc nhóm nấm 2.

Định danh các chủng nấm mốc đã phân lập cho kết quả: Hai chủng thuộc nhóm nấm 1 là hai loài thuộc chi *Fusarium* có đặc điểm: Trên môi trường PDA và Crapek, khuẩn lạc có đường kính 2,5 - 4,0 cm sau 72 giờ nuôi cấy, mặt phải màu trắng, dạng tơ bông mịn, mặt trái màu trắng vàng. Sau 7 - 10 ngày nuôi cấy hình thành bào tử kích thước nhỏ (tiểu bào tử) và bào tử kích thước lớn (đại bào tử) với hình dạng liềm thẳng, hơi cong, kích thước tiểu bào tử 3,5 - 5,0 μ m x 12,0 - 33 μ m, giữa bào tử có 3 vách ngăn. Ba chủng thuộc nhóm nấm 2 là ba loài thuộc chi *Penicillium* có đặc điểm: Trên môi trường PDA và Crapek không bổ sung kháng sinh, khuẩn lạc nấm có đường kính 2,0 - 3,0 cm sau 10 ngày nuôi cấy, khuẩn lạc mọc lồi lên bề mặt môi trường, dạng bông xốp mịn, viền ngoài khuẩn lạc màu trắng và nếp gấp tỏa tia, bề mặt khuẩn lạc có màu xanh. Trên bề mặt khuẩn lạc vùng gần tâm có sợi khí sinh màu vàng, mặt trái khuẩn lạc có màu nâu ánh cam. Khi quan sát cơ quan sinh bào tử và bào tử của nấm dưới kính hiển vi cho thấy cuống sinh bào tử có vách ngăn, tạo thể bình gồm 2 - 5 chiếc có hình cổ chôn, kích thước thể bình 5 - 10 x 2,5 μ m. Bào tử hình cầu, kích thước 2 - 3,5 μ m (Hình 6).



Hình 6. *Fusarium* và *Penicillium* là hai chi nấm hiện diện phổ biến ở rễ cây Lim xanh

Khuẩn lạc (a), bào tử kích thước nhỏ (b) và bào tử kích thước lớn (c) của *Fusarium* sp. phân lập từ rễ Lim xanh. Khuẩn lạc (d), cơ quan sinh bào tử (e) và bào tử (f) của *Penicillium* sp. phân lập từ rễ Lim xanh.

3.5. Xác định tổng số tế bào nấm trong đất vùng rễ cây Lim xanh

Nấm tổng số trong đất vùng rễ Lim xanh bao gồm các loại nấm đất, nấm cộng sinh và nấm ký sinh ở cây Lim xanh. Mật độ nấm trong 1 gam đất của 15 mẫu phân tích dao động trong khoảng $7,8 \times 10^5$ đến $6,2 \times 10^6$ (CFU/g). Mật độ nấm trung bình trong đất vùng rễ cây Lim xanh tại Khu Di tích lịch sử cấp Quốc gia Đền Và là $2,97 \times 10^6$ (CFU/g).

4. KẾT LUẬN

Đất vùng rễ cây Lim xanh phân bố tại Khu Di tích lịch sử cấp Quốc gia Đền Và có bào tử AMF với mật độ ở mức độ trung bình (98,1 bào tử/10 g đất khô), tỷ lệ nảy mầm trung bình của bào tử là 61,5%. Nghiên cứu đã phát hiện được sự có mặt của 6 chi, 19 loài AMF trong đất vùng rễ Lim xanh, với mật độ cao nhất là bào tử của 4 chi AMF: *Glomus*, *Acaulospora*, *Gigaspora* và *Scutellospora*. Rễ cây Lim xanh có tần suất xuất hiện AMF là 51,8%. Trong rễ Lim xanh, ngoài sự cộng sinh phổ biến của AMF còn có sự xâm nhiễm của hệ vi nấm với mật độ ưu thế thuộc về hai chi nấm là *Penicillium* và *Fusarium*. Bên cạnh đó, mức độ đa dạng của hệ nấm trong đất vùng rễ Lim xanh còn thể hiện ở số lượng tế bào nấm tổng số trong đất trung bình đạt $2,97 \times 10^6$ (CFU/g).

Các kết quả nghiên cứu về đa dạng hệ nấm phân bố trong rễ và trong đất vùng rễ Lim xanh sẽ được sử dụng để đề xuất giải pháp bảo vệ và gây trồng cây Lim xanh tại Khu Di tích lịch sử cấp Quốc gia Đền Và.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Brundrett MC (2004). Diversity and classification of mycorrhizal associations. *Biol. Rev.* 79: 473-495.
2. Brundrett MC, Piche Y, Peterson RL (1984). A new method for observing the morphology of vesicular arbuscular mycorrhizae, *Can. J. Bot.* 62: 2128 - 2134.
3. Chính phủ (2019). Nghị định 06/2019/NĐ-CP ngày 22 tháng 01 năm 2019 về quản lý thực vật rừng, động vật rừng nguy cấp, quý, hiếm và thực thi công ước về buôn bán quốc tế các loài động vật, thực vật hoang dã nguy cấp.
4. Chahar S (2017). Study of biodiversity of Arbuscular Mycorrhizal Fungi (AMF) in the rhizosphere of *Withania somnifera* (L.). *Bioscience Discovery* 8(3): 397-401.
5. Gerdermann JW, Nicolson TH (1963). Spores of mycorrhizal endogone species extracted from soil by wet sieving and decanting. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 46: 235-244.
6. Invam (2003). Internatinal culture colection of arbuscular and vesicular mycorrhizal fungi. <http://Invam.caf.wvu.edu/myc-info/Taxonomy/classification.htm>.
7. Nguyễn Thị Kim Liên, Lê Thị Thủy, Nguyễn Viết Hiệp, Nguyễn Huy Hoàng (2012). Nghiên cứu đa dạng hệ nấm cộng sinh Arbuscular Mycorrhiza trong đất và rễ cam tại Quỳ Hợp, Nghệ An. *Tạp chí Sinh học* 34 (4): 441 - 445.

8. Nagmani A, Kunwar IK, Manoharachary C (2006). Handbook of Soil Fungi. I.K. International Publishing House Pvt. Ltd.
9. Sagar A, Kaur R (2010). Study on fungal associates of *Aesculus indica*. *Biological Forum* 2(1): 49-52.
10. Sasvári Z, Magurno F, Galanics D, Hang TTN, Ha TTH, Luyen ND, Huong LM, Posta K (2012). Isolation and identification of Arbuscular Mycorrhizal Fungi from agricultural fields of Vietnam. *Am. J. Plant Sci* 3: 1796-1801.
11. Schenck NC, Perez Y (1990). Manual for the identification of VA mycorrhizal fungi. *University of Florida, Florida*.
12. Souzaa TAFD, Rodriguez-Echeverriab S, Andrade LAD, Freitas H (2016). Arbuscular mycorrhizal fungi in *Mimosa tenuiflora* (Willd.) Poir from Brazilian semi-arid. *Braz J Microbiol* 47(2): 359-366.
13. Suharno, Kasiamdari RS, Soetarto ES, Sancayaningsih RP (2016). Presence of arbuscular mycorrhizal fungi on Fern from tailing deposition area of gold mine in Timika, Indonesia. *Int. J. Life Sci. Pharma Res* 4 (1): 1 - 7.
14. Lê Thị Hoàng Yến, Lê Thị Lệ Quyên, Lưu Thị Dung, Mai Thị Đàm Linh, Dương Văn Hợp (2017). Nghiên cứu đa dạng nấm rễ nội cộng sinh (Arbuscular Mycorrhizal Fungi) phân lập từ đất trồng ngô ở Hà Nội. *Tạp chí Khoa học - Đại học Quốc gia Hà Nội: Khoa học Tự nhiên và Công nghệ* 33 (2S): 312 - 318.

THE DIVERSITY OF FUNGAL COMPOSITION ASSOCIATED WITH THE RHIZOSPHERE OF *Erythrophleum fordii* AT THE NATIONAL HISTORICAL AREA DEN VA, SON TAY, HA NOI

La Nguyen Khang, Than Thi Huyen, Le Sy Doanh

Nguyen Thi Mai Duong, Nguyen Thi Thu Hang, Duong Thanh Hai

Summary

The rhizosphere soil of the *Erythrophleum fordii* at the National historical area Va Temple has the presence of AMF spores with an average spore density of 98.1 spores/10 g of dry soil. On the basis of morphological characteristics, AMF spores were identified as belonging to 6 genera with 19 species. In particular, the genera *Glomus*, *Acaulospora*, *Gigaspora* and *Scutellospora* are the most dominant in the soil samples analyzed. The rate of germination of AMF spores in soil extract is 61.5%. There were 51.8% of AMF infection at the rhizosphere of *Erythrophleum fordii*. Besides, the study also identified *Fusarium* sp. and *Penicillium* sp. are two genera of fungi that are common in the rhizosphere of *Erythrophleum fordii*. The total fungal density in the rhizosphere soil of the *Erythrophleum fordii* is distributed in the National historical area Va Temple averaged 2.97×10^6 (CFU/g).

Keywords: *Va Temple*, *Arbuscular Mycorrhizal Fungi*, *Erythrophleum fordii*.

Người phản biện: GS.TS. Phạm Quang Thu

Ngày nhận bài: 16/8/2019

Ngày thông qua phản biện: 18/9/2019

Ngày duyệt đăng: 25/9/2019