

Đỗ Văn Ngọc và Trịnh Văn Loan, 2008. *Các biến đổi hóa sinh trong quá trình chế biến và bảo quản chè*. Nhà xuất bản Nông nghiệp.

Vũ Hồng Sơn và Hà Duyên Tư, 2009. Nghiên cứu trích ly polyphenol từ chè xanh vụn. Phần 1. Các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình trích ly polyphenol. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ*, 47 (1): 81- 86.

Nguyễn Duy Thịnh, 2004. *Công nghệ sản xuất chè*. Đại học Bách Khoa, Hà Nội.

Vũ Thy Thu, Đoàn Hùng Tiến, Đỗ Thị Gấm và Giang Trung Khoa, 2001. *Các hợp chất hoá học có trong chè và một số phương pháp phân tích thông dụng trong sản xuất chè ở Việt Nam*. NXB Nông Nghiệp. Hà Nội.

Tiêu chuẩn quốc gia, TCVN 9745-1:2013, ISO 14502-1:2005. Chè- xác định các chất đặc trưng của chè

xanh và chè đen. Phần 1: Hàm lượng polyphenol tổng số trong chè - Phương pháp đo màu dùng thuốc thử Folin- Ciocalteu.

Tiêu chuẩn ngành, 10TCN 258:1996. Chè xanh và chè hương thuật ngữ và định nghĩa.

Nakachi Kel, Kazue Imai and Kenji Suga, 1997. *Epidemiological Evidence for Prevention of Cancer and Cardiovascular Disease by Drinking Green Tea*. Department of Epidemiology, Saitama Cancer, Center Research Institute: 818 Komuro, Ina, Saitama 362, Japan.

Pan T., Jankovic J., Le W., 2003. Potential iheurapeutic properties of green tea polyphenol in Parkinson's disease. *Drug aging* 20: 711-721.

Determination of extraction parameters in producing soluble powder of green tea - lotus leaves

Hoang Thi Minh Nguyet, Nguyen Thi Luu, Dinh Thi Hien

Abstract

Green tea and lotus leaves are the raw materials containing many bioactive substances that have a very good effect on human health. Soluble powder of green tea - lotus leaves is easier to use and preserve than the high form and increases the amount of active substance when compared to the tablet form. To create a soluble powder of green tea-lotus leaves with high polyphenol content, good sensory quality; the study of raw material mixing ratio and technological parameters of the extract is necessary. This study investigated the effect of the ratio of green tea leaves to lotus leaves; the extraction process on total solid content, polyphenol content, sensory attributes of the extract. The mixture of green tea leaves and lotus leaves (88:12, w/w) was extracted in water (mixture of leaves/water; 1/10) with agitation 3 times (1 min./time) at 95°C for 15 min. The results showed that the extract of green tea - lotus leaves contains 20.36% solid content, 6.40% polyphenol and 6.63% tannin content. In addition, the extract of green tea - lotus leaves was assessed to be suitable for consumer's liking. Fortification of green tea leaves with lotus leaves is an interesting process to produce a traditional tea product satisfying consumer's preference.

Keywords: Soluble powder of green tea - lotus leaf, green tea, lotus leaf, parameter

Ngày nhận bài: 9/7/2019

Ngày phản biện: 25/7/2019

Người phản biện: PGS. TS. Nguyễn Thị Thanh Thủy

Ngày duyệt đăng: 9/9/2019

NHÂN NUÔI VÀ ĐỊNH DANH CỘNG ĐỒNG NẤM RỄ (*Arbuscular mycorrhizal*) BẢN ĐỊA TRÊN CÂY ĂN QUẢ TẠI ĐỒNG BẰNG SÔNG CỬU LONG

Nguyễn Văn Hòa¹, Nguyễn Thị Kim Luyến², Đặng Thị Kim Uyên¹

TÓM TẮT

Nghiên cứu nhân nuôi cộng đồng nấm rễ (*Arbuscular mycorrhizal*) bản địa trên cây ăn quả tại Đồng bằng sông Cửu Long được thực hiện trong nhà lưới. Kết quả nhân nuôi ở thời điểm 30 ngày cho thấy ký chủ cây bắp và giá thể đất, cát, than bùn với tỉ lệ 1 : 1 : 1 là môi trường nhân nuôi cộng đồng nấm rễ đạt số lượng bào tử cao nhất (371 bào tử/50 g giá thể) và tỷ lệ bào tử xâm nhiễm nội sinh bên trong rễ bắp là 91%/1 g rễ cao hơn rất nhiều so với ký chủ cây cao lương và giá thể đất, cát với tỉ lệ 1 : 1, với số lượng bào tử (306 bào tử/50 g giá thể) và tỷ lệ bào tử xâm nhiễm nội sinh bên trong rễ cây cao lương là 77%/1 g rễ. Dựa vào khóa định danh của INVAM đã xác định được quần thể cộng đồng nấm rễ nhân nuôi có các loài *Acaulosporasc robiculata*; *Acaulospora capsicula*; *Denticutata reticulate*;

¹ Viện Cây ăn quả miền Nam; ² Đại học Nông Lâm TP Hồ Chí Minh

Glomus caledonius; *Glomus clavisorum*; *Glomus multicaule*; *Rhizophagussinuus*; *Septoglomus viscosum*. Trong đó, *Glomus multicaule* và *Acaulospora capsicula* có tỷ lệ hiện diện cao nhất, gấp 4 - 23 lần so với các loài còn lại. Nghiệm thức (B + 1Đ : 1C : 1TB) có tỷ lệ xâm nhiễm cao nhất (91%) và khác biệt rất có ý nghĩa ở mức 5% so với các nghiệm thức còn lại (CL + 1Đ : 1C : 1TB) 79%, B2 (B + 1Đ : 1C) 77%, CL2 (CL + 1Đ : 1C) 69%.

Từ khóa: *Arbuscular mycorrhizal*, VAM (*Vesicular Arbuscular mycorrhizal*), cây ăn quả

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Nấm rễ nội cộng sinh *Arbuscular mycorrhizal* (AM) có khả năng kích thích sự sinh trưởng của cây. Nấm cộng sinh tác động tích cực lên sự tăng trưởng đã được chứng minh. Một số nghiên cứu đã chứng minh tác dụng kích thích mạnh mẽ bộ rễ của AM trên tăng trưởng cây trồng trong chậu, việc ứng dụng nấm rễ AM cũng ngăn chặn tuyến trùng cũng đã được ghi nhận bởi Gerdemann (1968). Các tác động của nấm rễ trong việc giúp khắc phục những hạn chế trong việc lấy chất dinh dưỡng thực vật trong hệ thống cây trồng có thể đặc biệt cao. Để nuôi cấy nấm rễ nội cộng sinh AM, có thể sử dụng hai phương thức nuôi cấy, đó là: nuôi cấy *in vitro* và *in vivo*. Đối với nuôi cấy *in vivo*, có thể nuôi cấy trong chậu bằng đất hiện trường có chứa bào tử hay sợi nấm (Bianciotto *et al.*, 2000; Hijiri *et al.*, 2001). Còn đối với nuôi cấy *in vitro*, có thể tạo ra một số lượng lớn nấm rễ thông qua nuôi cấy mô rễ trên môi trường nuôi cấy nhân tạo (Fortin *et al.*, 2002). Đặc biệt là trong nuôi cấy mô rễ, sinh khối nấm rễ tạo ra thường không chứa tạp chất và các vi sinh vật khác nên phương pháp này được sử dụng nhiều. Trong nghiên cứu này, chúng tôi tiến hành phân lập, định danh, nhân nuôi nấm rễ *Arbuscular mycorrhizal* trên CAQ ở ĐBSCL trong điều kiện nhà lưới, cũng như khảo sát sự xâm nhiễm của chúng trong rễ cây.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Hóa chất: sucrose, acid acetic, lactic, KOH, glycerol, polyvinyl alcohol, chloral hydrate, iodine, potassium iodide, dung dịch polyvinyl-lactose-glycerol, dung dịch thuốc thử Melzer, pha dung dịch nhuộm trypan blue 0,05% bằng lactic acid glycerol- acetic acid 5% (12 : 1 : 1) và trypan blue.

$$\% \text{ xâm nhiễm} = \frac{\text{Số đoạn (1 cm) rễ có sự xâm nhiễm} \times 100\%}{\text{Tổng đoạn rễ quan sát (1 g)}}$$

2.2.2. Định danh nấm rễ *Arbuscular Mycorrhizal* được nhân nuôi bằng hình thái

Sử dụng phương pháp nhuộm màu và định danh nấm rễ. Nhỏ hai giọt dung dịch lên hai đầu của tiêu bản: 1 giọt PVLG (Polyvinyl alcohol-lactic acid-glycerol) và 1 giọt PVLG + thuốc thử Melzers.

- Giống bắp lai MX10, giống cao lương.

- Dụng cụ: Bộ rây đất ($\phi = 28$ cm) với 4 mức rây 710 μm , 300 μm , 150 μm , 38 μm (W.S. TYLER); máy ly tâm Hettich Mikro22R, vortexLabnet VX200; kính hiển vi soi nổi OLYMPUS SZX7, quang học ba mắt OLYMPUS BX51.

2.2. Phương pháp thí nghiệm

2.2.1. Nhân nuôi cộng đồng nấm rễ *Arbuscular mycorrhizal* bản địa ở điều kiện nhà lưới

- Thí nghiệm bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên gồm 4 nghiệm thức: (1) Đ1 + NR + B; (2) Đ1 + NR + CL; (3) Đ2 + NR + B; (4) Đ2 + NR + CL), mỗi nghiệm thức lặp lại 5 lần, ô cơ sở gồm 3 bầu.

+ Ký hiệu: NR-ĐBSCL (cộng đồng nấm rễ), Đ1 (1 đất : 1 cát : 1 than bùn), Đ2 (1 đất : 1 cát), B (bắp), CL (cao lương), TB (than bùn).

+ Cho đất, cát, than bùn đã thanh trùng với tỷ lệ 1 : 1 : 1 vào bầu, thêm nước để đạt ẩm độ 40%. Sau đó gieo hạt giống ngay lên trên chậu chứa hỗn hợp môi trường. Mỗi chậu gieo 4 hạt và đắp một lớp đất mỏng lên trên. Sau 5 - 7 ngày hạt đã nảy mầm ổn định, tiến hành tỉa bỏ những cây không đạt tiêu chuẩn, chỉ giữ lại mỗi chậu 2 cây. Cộng đồng bào tử nấm rễ ở mặt số... thu bằng kỹ thuật rây ướt và cho vào giữa chậu ngay khi cây giống mọc lên.

+ Thu thập bào tử *Arbuscular* theo phương pháp của Gerdeman và Nicolson (1963).

- Các chỉ tiêu theo dõi: Ở thời điểm 30 ngày sau chúng (NSC) thu mẫu rễ và đất

+ Số lượng bào tử trên 50 g đất; số bào tử thu ở các mức rây; phần trăm các loài trong tổng số bào tử quan sát; tỷ lệ xâm nhiễm trong rễ theo Lakshman (2014).

Trên mỗi giọt thuốc nhuộm đặt một bào tử của cùng một nhóm nấm rễ, để yên 5 phút cho khô. Đậy lame lên mỗi giọt dung dịch. Dùng đầu kim ấn trực tiếp lên lame ở mỗi bào tử. Các tiêu bản được quan sát dưới kính hiển vi ở độ phóng đại 400x.

Mẫu rễ sau khi loại bỏ rễ già, rễ bị hóa nâu. Các rễ non còn lại được rửa sạch dưới vòi nước, rửa lại bằng nước cất và được trích lọc bằng phương pháp rửa sạch rễ dưới vòi nước chảy, thấm khô, cân, cắt nhỏ rễ và xay nhuyễn, sau đó sử dụng phương pháp kết hợp kỹ thuật gạn và rây lọc của Cobb và kỹ thuật phễu lọc Baermann hiệu chỉnh rồi tiến hành nhuộm. Các bào tử được phân nhóm dựa theo màu sắc, hình dạng, số lớp của thành bào tử, hình dạng của cuống bào tử và tên loài được định danh theo Morton (1988) & INVAM.

Bào tử nấm rễ thu được trên giấy lọc và gấp giấy lọc cho vào đĩa petri, trữ với nhiệt độ 4 - 8°C để tiến hành đếm và quan sát hình thái bào tử (Daniels & Skipper, 1982; Đỗ Thị Xuân và ctv., 2016).

Chỉ tiêu theo dõi: Quan sát bào tử, mô tả hình dạng, kích thước, màu sắc, số lớp của thành bào tử, hình dạng cuống bào tử (nếu có) của bào tử nấm rễ nội cộng sinh.

2.2.3. Khảo sát sự xâm nhiễm của *Arbuscular Mycorrhizal* trong rễ của cây

Cân 2 g rễ sau khi xử lý nhuộm với dung dịch trypan blue 0,05% trong lactoglycerol. Các mẫu rễ sau khi nhuộm được quan sát dưới kính hiển vi

quang học ở độ phóng đại 400x (tương đương ở vật kính 40x). Phương pháp quan sát sự xâm nhiễm của nấm rễ được thực hiện theo phương pháp của Tăng Thị Chính và Bùi Văn Cường (2014). Đánh giá phần trăm sự xâm nhiễm của nấm rễ theo phương pháp của Lakshman (2014).

2.2.4. Xử lý số liệu

Số liệu được thu thập và xử lý bằng phần mềm Microsoft Excel 2010 và chương trình xử lý thống kê SAS 9.1.

2.3. Thời gian và địa điểm nghiên cứu

Nghiên cứu được thực hiện từ tháng 6/2018 đến tháng 8/2019 tại Bộ môn Bảo vệ thực vật - Viện Cây ăn quả miền Nam (BM BVTV- SOFRI), Long Định - Châu Thành - Tiền Giang.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Kết quả nhân nuôi cộng đồng nấm rễ trong điều kiện nhà lưới.

Từ bảng 1 cho thấy số lượng bào tử nấm rễ thu được trên 50 g đất trồng bắp và cao lương sau khi nhân nuôi có sự khác biệt ở 3 mức rây và tổng số bào tử thu được.

Bảng 1. Số lượng bào tử nấm rễ thu được trên 50 g đất trồng bắp và cây cao lương sau khi nhân nuôi trên các môi trường khác nhau

NT	Kí hiệu	Số lượng bào tử thu được ở các mức rây			Tổng số lượng bào tử thu được trên 50g đất khô kiệt
		300 μ m	150 μ m	38 μ m	
1	B1 (B + 1Đ : 1C : 1TB)	16 a	60 a	295 a	371 a
2	CL1 (CL + 1Đ : 1C : 1TB)	11 b	60 a	235 b	306 b
3	B2 (B + 1Đ : 1C)	11 b	59 a	196 bc	265 b
4	CL2 (CL + 1Đ : 1C)	7 b	47 b	153 c	207 c
	$F_{tính}$	9,07**	4,57*	20,85**	30,95**
	CV (%)	25,2	12,0	13,4	9,7

Ghi chú: * khác biệt có ý nghĩa ở mức 5%, ** khác biệt có ý nghĩa ở mức 1%; trong cùng một cột, những mẫu tự theo sau giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê.

Ở mức rây 300 μ m số lượng bào tử nấm rễ thu được của B1 là 16 bào tử cao nhất và khác biệt rất có ý nghĩa ở mức 5% so với các nghiệm thức còn lại.

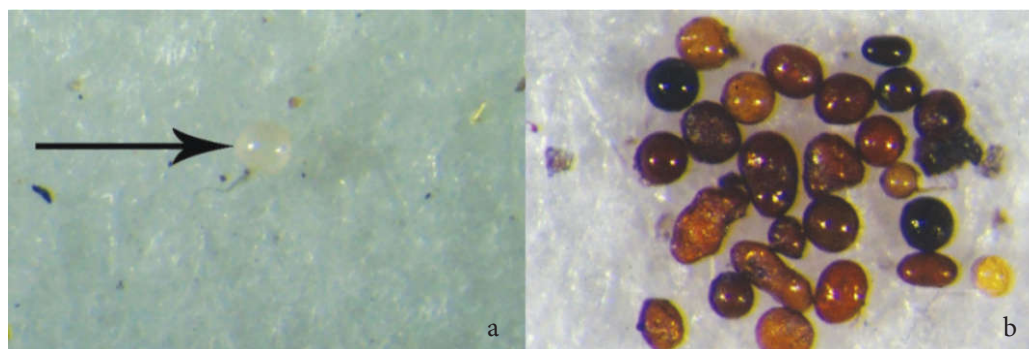
Ở mức rây 150 μ m, các nghiệm thức B1, CL1, B2 lần lượt là: 60 bào tử, 60 bào tử, 59 bào tử không có sự khác biệt ý nghĩa với nhau.

Ở mức rây 38 μ m, nghiệm thức có số bào tử cao nhất 295 bào tử là B1 khác biệt rất có ý nghĩa so với 3 nghiệm thức còn lại CL1 235 bào tử, B2 196 bào tử, CL2-153 bào tử.

Tổng số lượng bào tử thu được của nghiệm thức B1 cao nhất với 371 bào tử, CL2 thấp nhất và khác

biệt rất có ý nghĩa với CL1-306 bào tử, B2-265 bào tử.

Vậy ở thời điểm 30 ngày nhân nuôi, giống cây ký chủ là bắp kết hợp với giá thể đất, cát, than bùn với tỷ lệ 1 : 1 : 1 có số bào tử thu được ở 3 mức rây và tổng số lượng cao nhất. Hai nghiệm thức trồng cao lương với giá thể đất, cát, than bùn với tỷ lệ 1 : 1 : 1 và bắp với giá thể đất, cát với tỷ lệ 1 : 1 có tổng số bào tử thu được ở 3 mức rây tương đối bằng nhau. Kết quả này phù hợp với nghiên cứu, Trần Thị Như Hằng và cộng tác viên (2012) nấm rễ thích hợp phát triển và lưu trữ ở các giá thể có độ pH thấp như than bùn.



Hình 1. Cộng đồng nấm rễ được nhân nuôi quan sát qua kính soi nổi (a) 1 bào tử; (b) cộng đồng bào tử nấm rễ

(Nguồn: Bộ môn Bảo vệ thực vật - Viện Cây ăn quả miền Nam).

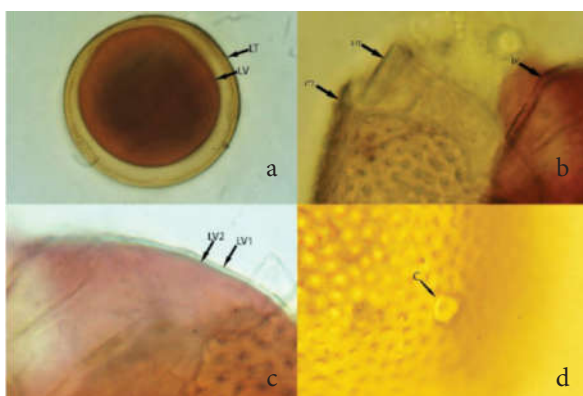
3.2. Kết quả định danh các loài nấm rễ đã được nhân nuôi bằng hình thái học

Hình thái của cộng đồng nấm rễ thu thập được và đưa vào các bào tử được định danh theo INVAM - West Virginia University.

- Loài *Acaulospora scrobiculata*: Quan sát dưới kính hiển vi bào tử có hình cầu, gấn cầu. Màu sắc: phần lớn màu trắng đục, một số ít có màu cam sáng. Kích thước trung bình: $156 \times 152 \mu\text{m}$ ($n = 20$). Thành bào tử: gồm 3 lớp LT1, LT2, và LT3 (Hình 2. a, b). Cấu tạo vách bào tử: gồm 2 lớp rõ, tách biệt LV1, LV2

(Hình 2. c). Khi nhuộm Melzer vật chất bên trong vách 2 thường hóa màu đỏ tím (Hình 2. a). Cuống cụt của bào tử C (Hình 2. d).

- Loài *Acaulospora capsicula*: Hình trứng, hình cầu, gấn cầu và một số không có hình dạng nhất định. Màu sắc: nâu cam, nâu đỏ đậm, cam đỏ. Kích thước trung bình: $142 \times 120 \mu\text{m}$ ($n = 101$). Thành bào tử gồm 3 lớp LT1, LT2, và LT3 (Hình 3. a, c). Cấu tạo vách bào tử gồm 2 lớp tách biệt: LV1, LV2 (Hình 3. c). Cuống cụt của bào tử (Hình 3. b, d).

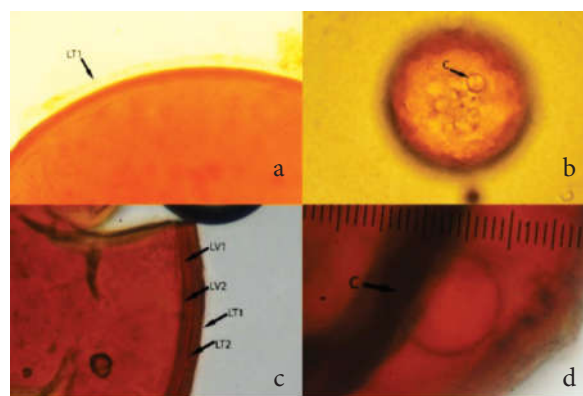


Hình 2. Bào tử loài *A. scrobiculata*

(a) hình dạng bào tử, (b) và (c) các lớp bào tử, (d) cuống cụt

(Nguồn: BM BVTV - SOFRI).

- Loài *Dentiscutata reticulata*: Hình gấn cầu, hình trứng. Màu cam tối, đen. Kích thước trung bình: $180 \times 170 \mu\text{m}$ ($n = 20$). Thành bào tử gồm 1 lớp (hình 4. a, b) và có những lằn vân hình vòng tròn (hình 4. c, d), bên trong chứa các vật chất dự trữ (Hình 4. b). Không có cuống bào tử.

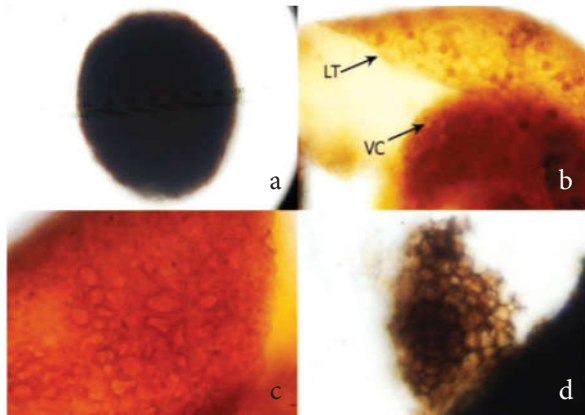


Hình 3. Bào tử loài *A. capsicula*

(a và c) các lớp bào tử (b và d) cuống cụt

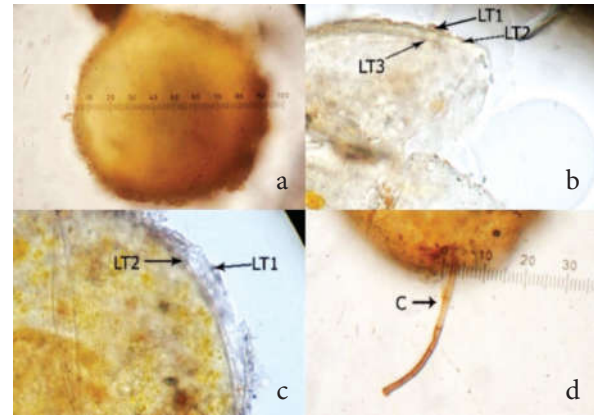
(Nguồn: BM BVTV - SOFRI).

- Loài *Glomus caledonius*: Hình gấn cầu. Màu cam tối, vàng tối. Kích thước trung bình: $193 \times 173 \mu\text{m}$ ($n = 20$). Thành bào tử gồm 3 lớp LT1, LT2, LT3 (Hình 5. b, c). Cuống bào tử (c) dài, có vách ngăn thành từng đoạn (Hình 5. d).



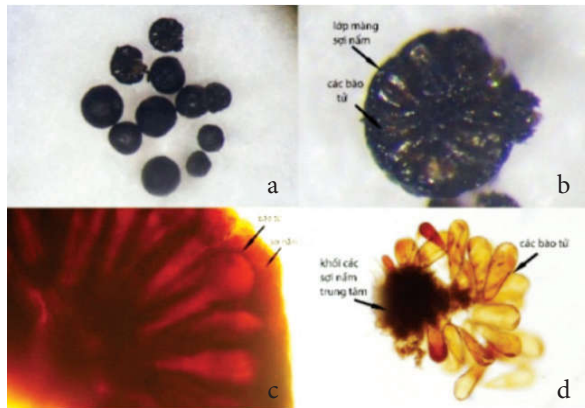
Hình 4. Loài *Dentiscutata reticulata*
a) hình dạng bào tử, b) các lớp bào tử,
c) và d) lớp ngoài bào tử

(Nguồn: BM BVTV - SOFRI).



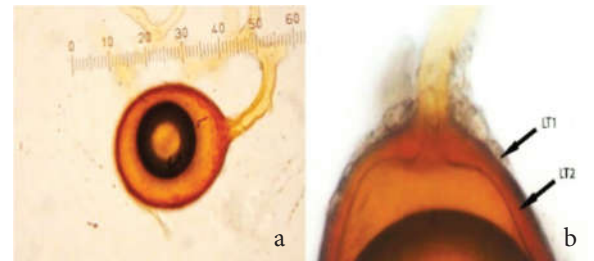
Hình 5. Loài *Glomus caledonium*
a) hình dạng bào tử, b) và c) các lớp bào tử,
d) cuộn bào tử

(Nguồn: BM BVTV - SOFRI).



Hình 6. Loài *Glomus claviforme*
a) hình dạng bào tử; b),
c) và d) các bào tử con và sợi nấm

(Nguồn: BM.BVTV - SOFRI).



Hình 7. Loài *Glomus multicaule*
a) hình dạng bào tử, b) các lớp bào tử

(Nguồn: BM BVTV - SOFRI).

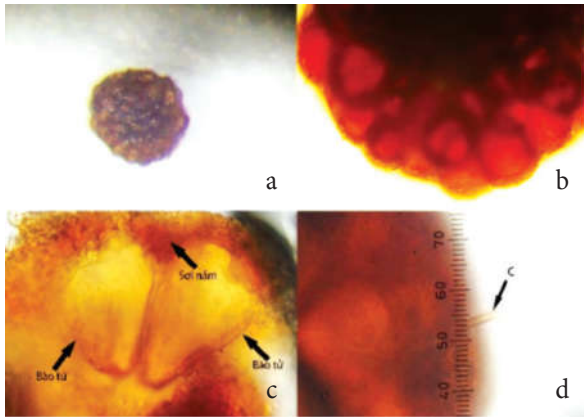
- Loài *Glomus multicaule*: Hình gần cầu, hình trứng. Màu cam nâu, cam tối. Kích thước trung bình: $97 \times 86 \mu\text{m}$ ($n = 20$). Thành bào tử gồm 2 lớp LT1, LT2 (Hình 7. b).

- Loài *Rhizophagus sinuosus* (*Sclerocystis sinuosum*): Hình gần cầu. Màu cam ngả tối. Kích thước trung bình: $402 \times 368 \mu\text{m}$ ($n = 20$). Bào tử *Rhizophagus sinuosus* là một khối bào tử con được bao bọc bởi vô số các sợi nấm. Sợi nấm này giữ cho các bào tử con tụ lại thành một khối, để xem bào tử này cần ấn nhẹ để các sợi bao bọc vỡ ra (Hình 7. b, c, d).

- Loài *Septoglosum constrictum*: Hình cầu. Màu nâu tối. Kích thước trung bình: $140 \times 133 \mu\text{m}$ ($n = 20$). Thành bào tử: gồm ít nhất 3 lớp: LT1, LT2, LT3 (Hình 8. b, c). Cuốn bào tử C (Hình 9. d).

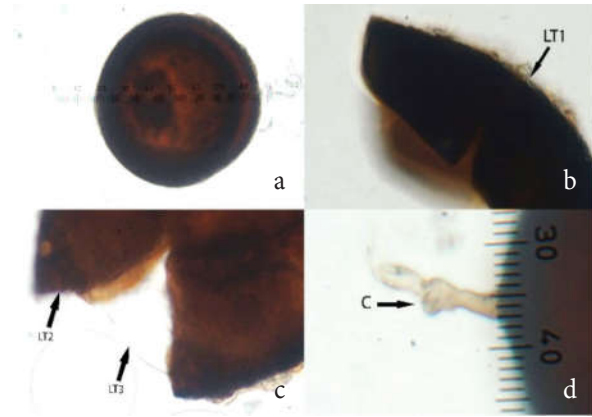
- Loài *Glomus claviforme*: Hình cầu, gần cầu. Màu đen, xám tối. Kích thước trung bình: $350 \times 360 \mu\text{m}$ ($n = 20$). Cấu tạo bào tử gồm một tập hợp nhiều bào tử nhỏ hợp thành hình cầu hoặc gần cầu được bọc bởi một lớp dày các sợi nấm (Hình 6. b, c, d).

Trong hình 10, hai loài có sự hiện diện cao nhất là *Glomus multicaule* và *Acaulospora capsicula*, thấp nhất là hai loài *Rhizophagus sinuosus*, *Septoglosum viscosum*. Tuy nhiên, ở nghiệm thức B1 có sự phân bố tương đối đồng đều giữa các loài vì vậy B1 có sự đa dạng cao hơn 3 nghiệm thức còn lại. Nghiệm thức CL2 các loài *Glomus multicaule* và *Acaulospora capsicula* loài có giá trị cao tách biệt so với các loài còn lại nên hiện diện tiêu biểu cho nghiệm thức CL2 là *Glomus multicaule* và *Acaulospora capsicum*. Vì vậy nghiệm thức có cây kí chủ là bắp và giá thể đất, cát, than bùn với tỷ lệ 1 : 1 : 1 có khả năng lưu trữ và phát triển tốt của các loài nấm rễ. Kết quả này phù hợp với nghiên cứu của Trần Thị Như Hằng và cộng tác viên (2012).



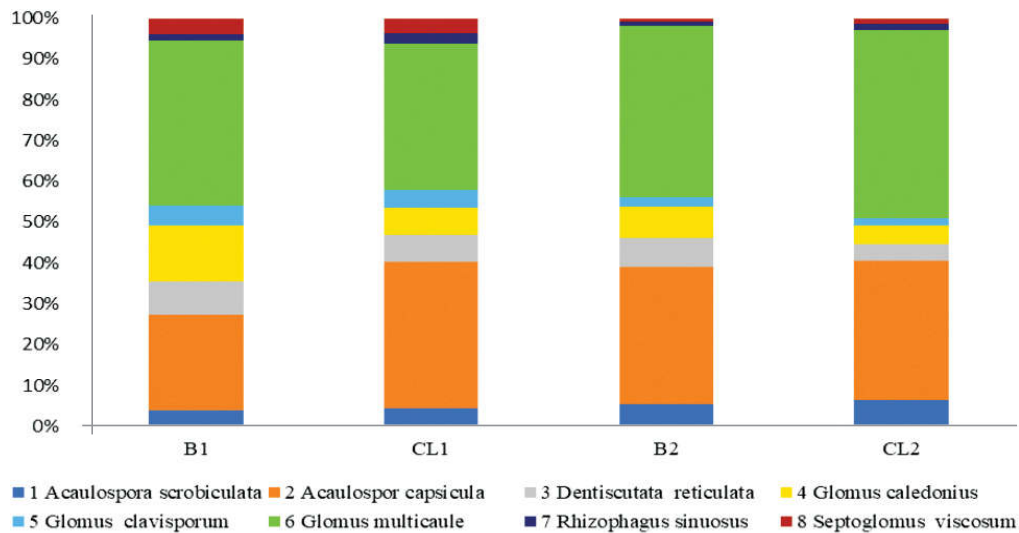
Hình 8. Loài *Rhizophagus sinuosus*
a) hình dạng bào tử; b) và c) các bào tử con và sợi nấm, d) cuộn bào tử

(Nguồn: BM BVTV - SOFRI).



Hình 9. Loài *Septoglomus constrictum*
a) hình dạng bào tử, b) và c) các lớp bào tử, d) cuộn bào tử

(Nguồn: BM BVTV - SOFRI).



Hình 10. Sự phân bố của các loài ở từng nghiệm thức

Bảng 2. Tỷ lệ phần trăm sự hiện diện các loài nấm rễ trên tổng số bào tử quan sát theo từng nghiệm thức

NT	Kí hiệu	Tỷ lệ phần trăm sự hiện diện của các loài (%)							
		<i>Acaulospora scrobiculata</i>	<i>Acaulospora capsicula</i>	<i>Denticutata reticulata</i>	<i>Glomus caledonius</i>	<i>Glomus clavisorum</i>	<i>Glomus multicaule</i>	<i>Rhizophagus sinuosus</i>	<i>Septoglomus viscosum</i>
1	B1	3,83	23,56b	8,09 a	13,75 a	4,80 a	40,43 ab	1,67	3,88 a
2	CL1	4,53	35,77 a	6,57 a	6,57 bc	4,45 a	35,85 b	2,64	3,62 a
3	B2	5,43	33,68 a	7,00 a	7,72 b	2,16 b	42,18 ab	0,98	0,85 b
4	CL2	6,38	34,14 a	4,06 b	4,55 c	1,84 b	46,03 a	1,64	1,35 b
$F_{tính}$		Ns	6,90**	9,08**	48,6**	9,98**	7,12**	ns	10,45**
CV (%)		1,6	11,5	11,0	8,0	17,7	5,5	31,7	27,1

Ghi chú: Số liệu đã được chuyển sang arcsin (x)^{1/2} trước khi xử lý thống kê, * khác biệt có ý nghĩa ở mức 5%, ** khác biệt rất có ý nghĩa ở mức 1%, các giá trị trong cùng một cột có mẫu tự theo sau giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê.

Dựa vào kết quả ở bảng 2 cho thấy, tỷ lệ xuất hiện của 2 loài *Acaulospora scrobiculata*, *Rhizophagus sinuosus* ở 4 nghiệm thức là tương tự nhau, không có khác biệt ý nghĩa thống kê cho thấy tuy có tỷ lệ hiện diện thấp nhưng đối với cả hai giống cây trồng và hai loại giá thể thì hai loài này không bị ảnh hưởng đến tỷ lệ hiện diện trong đất. Bên cạnh đó, loài *Glomus multicaulis* và loài *Acaulospora capsicula* có tỷ lệ hiện diện cao nhất gấp 4 - 23 lần so với các loài còn lại, đây cũng là hai loài tiêu biểu của chi *Glomus* và *Acaulospora*.

Kết quả bảng 3 cho thấy sau 30 ngày nhân nuôi, tỷ lệ xâm nhiễm và tần số xuất hiện các dạng xâm nhiễm trong rễ bắp và rễ cao lương đã nhân nuôi tương đối đồng đều.

Nghiệm thức B1 (B + 1Đ : 1C : 1TB) có tỷ lệ xâm nhiễm cao nhất (91%) và khác biệt rất có ý nghĩa ở mức 5% so với các nghiệm thức còn lại CL1 (CL + 1Đ : 1C : 1TB) 79%, B2 (B + 1Đ : 1C) 77%, CL2 (CL + 1Đ : 1C) 69%.

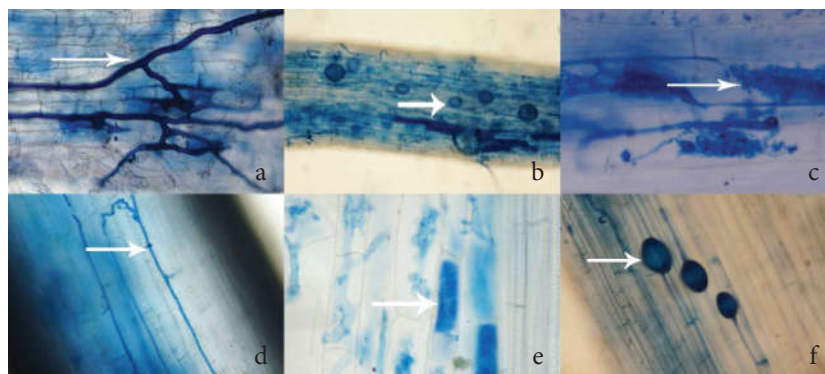
Tần số xuất hiện xâm nhiễm dạng sợi, dạng bụi và dạng túi của bốn nghiệm thức B1 (B + 1Đ : 1C : 1TB),

CL1 (CL + 1Đ : 1C : 1TB), B2 (B + 1Đ : 1C) và CL2 (CL + 1Đ : 1C) khác biệt không có ý nghĩa với nhau.

Bảng 3. Tỷ lệ phần trăm rễ có xâm nhiễm và tần số xuất hiện các dạng xâm nhiễm

NT	Kí hiệu	Tỷ lệ xuất hiện xâm nhiễm trên 1 g rễ (%)	Tần số xuất hiện các dạng xâm nhiễm trên 1 g rễ (%)		
			Dạng sợi	Dạng bụi	Dạng túi
1	B1	91,00 a	88,06	59,00	50,58
2	CL1	79,00 b	86,53	53,00	52,97
3	B2	77,00 b	83,36	51,00	51,80
4	CL2	69,00 b	83,56	47,00	52,67
	Mức ý nghĩa	8,93**	Ns	ns	ns
	CV (%)	8,2	11,3	22,6	21,7

Ghi chú: Số liệu đã được chuyển sang arcsin (x)^{1/2} trước khi xử lý thống kê, * khác biệt có ý nghĩa ở mức 5%, **: khác biệt rất có ý nghĩa ở mức 1%, các giá trị trong cùng một cột có mẫu tự theo sau giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê.



Hình 11. Các dạng xâm nhiễm trên rễ cây bắp và cao lương
a) dạng sợi (bắp), b) dạng bụi (bắp), c) dạng túi (bắp)
d) dạng sợi (cao lương), e) dạng bụi (cao lương), f) dạng túi (cao lương)

Tỷ lệ xâm nhiễm vào rễ cây kí chủ của nấm rễ ở nghiệm thức B1 (B + 1Đ : 1C : 1TB) có tỷ lệ xâm nhiễm cao và tần số xuất hiện của các dạng xâm nhiễm là tương đương nhau, kết quả này phù hợp với những nghiên cứu hình thái của Brundrett và cộng tác viên (1994); Smith & Gianinazzi - Pearson (1990). Trong giai đoạn nấm rễ bắt đầu xâm nhiễm vào rễ cây kí chủ thì sợi nấm AM tiếp xúc và phát triển dọc bề mặt rễ sau đó phân nhánh đâm xuyên qua tế bào rễ cây, hình thành nên cấu trúc dạng bụi nhằm trao đổi chất dinh dưỡng. Cấu trúc dạng túi hình thành là nơi tích lũy sản phẩm dự trữ. Vì vậy, trong khoảng thời gian 30 ngày sau chủng, xâm

nhiễm dạng sợi sẽ hình thành nhiều hơn xâm nhiễm dạng bụi và thấp nhất là xâm nhiễm dạng túi.

IV. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

4.1. Kết luận

Ký chủ bắp và giá thể đất, cát, than bùn với tỉ lệ 1 : 1 : 1 là môi trường có khả năng nhân nuôi số lượng nấm rễ cao hơn so với cao lương và giá thể đất, cát với tỉ lệ 1 : 1. Tổng số lượng bào tử thu được của nghiệm thức B1(B + 1Đ : 1C : 1TB) cao nhất với 371 bào tử, CL1(CL + 1Đ : 1C : 1TB) 306 bào tử, CL2 (CL + 1Đ : 1C) với 207 bào tử.

Định danh được các loài *Acaulosporasc robiculata*; *Acaulospora capsicula*; *Dentiscutata reticulata*; *Glomuscaledonius*; *Glomus clavisorum*; *Glomusmulticaule*; *Rhizophagussinuosus*; *Septoglomus*, trong đó *Glomus multicaule* và loài *Acaulospora capsicula* hiện diện trong cộng đồng nấm rễ được nhân nuôi.

Nghiệm thức B1 (B + 1Đ : 1C : 1TB) có tỷ lệ xâm nhiễm rễ cao nhất (91%), nghiệm thức CL1 (CL + 1Đ : 1C : 1TB) 79%, B2 (B + 1Đ : 1C) 77%, CL2 (CL + 1Đ : 1C) 69%.

4.2. Đề nghị

Sử dụng giống bắp và giá thể đất, cát, than bùn với tỉ lệ 1 : 1 : 1 để lưu trữ và nhân nuôi nguồn nấm rễ.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Tăng Thị Chính và Bùi Văn Cường, 2014. Ảnh hưởng của hàm lượng nitơ và photpho trong đất đến khả năng cộng sinh của nấm *Arbuscular mycorrhizas* trên cây ngô và hiệu quả xử lí đất ô nhiễm chì. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ*, 48(1): 73-79.

Trần Thị Như Hằng, Trần Thị Hồng Hà, Nguyễn Đình Luyện, Posta Katalin, Lê Mai Hương, 2012. Phân lập, nhân nuôi lưu giữ và định tên một số nấm rễ nội cộng sinh trên cây lúa và cà chua ở bắc việt nam. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ* 50 (4): 521-527.

Đỗ Thị Xuân, Nguyễn Phan Ngọc Tường Vi và Dương Hồ Kiều Diễm, 2016. Khảo sát sự xâm nhiễm và sự hiện diện của bào tử nấm rễ nội cộng sinh (*Arbuscular mycorrhiza*) trong mẫu rễ và đất vùng rễ của cây bắp, mè và ớt được trồng ở thành phố Cần Thơ. *Tạp chí Khoa học - Trường Đại học Cần Thơ*, 46 (Phần B : nông nghiệp, thủy sản và công nghệ sinh học): 47 -53.

Bianciotto V, Lumini E, Lamfranco L, Minerdi O, Bonfante P, Perotto S, 2000. Detection and identification of bacterial endosymbionts in arbuscular mycorrhizal fungi belonging to the family Gigasporaceae. *Appl Environ Microbiol* 46: 4503-4509.

Brundrett, M., L. Melville, and R. Peterson, 1994. *Practical methods in Mycorrhizal research*.

Daniels, B.A and H.D Skipper, 1982. Methods for the recovery and quantitative estimation of propagules from soil, In: *S chenck NC (ed) Methods and principles of mycorrhizal research*. American Phytopathology Society, St Paul, Minn, pp 29-35.

Fortin, J., G. Becard, S. Declerck, Y. Dalpe, M. St-Arnaud, A. Coughlan, and Y. Piche, 2002. *Arbuscular mycorrhiza* on root-organ cultures. *Can J Bot* 80: 1-20.

Gerdemann, J.W, 1968. *Vesicular - Arbuscular mycorrhizae* and plant growth. *Annual Review of Phytopathology* 6, pp. 397-418.

Hijri M, Kuhn G, Sanders IR, 2001. Evidence for the evolution of multiple genomes in *Arbuscular mycorrhizal* fungi. *Nature* 414: 745-748.

Lakshman, H. C, 2014. Full length article response of soilless grown *Basella alba* L. inoculated with AM fungi-A strategy for sass multiplication. *Journal of Science and Technology*, 4(1): 39-43.

Morton, J. B., 1988. Taxonomy of VA *mycorrhizal fungi*: Classification, nomenclature and Identification. *Micotaxonomy*, 32: 267-324.

Smith, S. E. and P. V. Gianinazzi, 1990. Phosphate uptake and arbuscular activity in mycorrhizal *Allium cepa* L: effects of photon irradiance and phosphate nutrition. *The Centre for Plant Root Symbioses*, 17: 177-188.

West Virginia University. Available from: <https://invam.wvu.edu/home>; accessed on 24/8/2018.

Cultivation and identification of indigenous *Arbuscular mycorrhizal* from fruit tree in the Mekong Delta region

Nguyen Van Hoa, Nguyen Thi Kim Luyen, Dang Thi Kim Uyen

Abstract

The study on cultivation of indigenous *Arbuscular mycorrhizal* from fruit tree in the Mekong Delta region was carried out in nethouse. The result showed that at 30 days after inoculation of host maize roots on medium substrate of 1 soil : 1 sand : 1 charcoal, was most suitable for its multiplication (371 spores/50 g medium) and the ratio of endospores into maize root (91%/1 g of root) was more than that on sorghum root, sand (1 : 1) (77%/1 g) (306 spores/50 g medium). Base on the classification category of INVAM, they were identified as *Acaulosporasc robiculata*; *Acaulospora capsicula*; *Dentiscutata reticulata*; *Glomuscaledonius*; *Glomus clavisorum*; *Glomusmulticaule*; *Rhizophagussinuosus*; *Septoglomus viscosum*. Of them, the *Glomus multicaule* and *Acaulospora capsicula* were more dominated, they were from 4 to 23 times than that of the rest. The treatment of (B + 1Đ : 1C : 1TB) had highest infection ratio (91%), which was highly significant difference with other treatments (CL + 1Đ : 1C : 1TB) 79%, B2 (B + 1Đ : 1C) 77%, CL2 (CL + 1Đ : 1C) 69%.

Keywords: *Arbuscular mycorrhizal*, VAM (*Vesicular Arbuscular mycorrhizal*), fruit tree

Ngày nhận bài: 21/8/2019
Ngày phản biện: 20/9/2019

Người phản biện: TS. Hà Minh Thanh
Ngày duyệt đăng: 14/10/2019

TUYỂN CHỌN CHỦNG XẠ KHUẨN KHÁNG NẤM FUSARIUM OXYSPORUM GÂY BỆNH TRÊN CHUỐI

Nguyễn Thành Trung², Trần Thị Hồng Hạnh¹, Nguyễn Thanh Huyền¹,
Trần Thị Đào¹, Phạm Lê Anh Minh¹, Trần Hữu Định¹, Vũ Duy Thái Sơn¹,
Nguyễn Thị Bích Ngọc¹, Lê Phương Anh¹, Nguyễn Xuân Cảnh¹

TÓM TẮT

Bệnh héo vàng *Fusarium* hay Panama gây ra bởi nấm *Fusarium oxysporum* đã và đang gây hại nghiêm trọng cho sản xuất chuối. Nghiên cứu này được thực hiện với mục tiêu tuyển chọn được chủng xạ khuẩn có hoạt tính kháng nấm *Fusarium oxysporum* gây bệnh trên chuối tại Việt Nam, nhằm tạo ra chế phẩm sinh học trong phòng ngừa bệnh Panama. Đã thu thập 22 mẫu chuối bị bệnh, phân lập và nghiên cứu các đặc điểm sinh học của 26 chủng nấm phân lập được từ các mẫu này. Tiến hành lây nhiễm nhân tạo cho 04 chủng nấm điển hình đã xác định được chủng nấm N1 là *Fusarium oxysporum* có khả năng gây bệnh trên chuối. Nghiên cứu cũng đã thực hiện việc sàng lọc và tuyển chọn được 04 chủng xạ khuẩn có hoạt tính kháng lại chủng nấm N1 từ 32 chủng xạ khuẩn khác nhau bằng phương pháp khuếch tán trên đĩa thạch. Trong số này chủng xạ khuẩn số 74 thể hiện hoạt tính cao nhất. Tiến hành nghiên cứu các đặc điểm hình thái, sinh hóa của chủng 74 đã xác định chủng này thuộc chi *Streptomyces*. Đồng thời cũng đã xác định được một số đặc điểm nuôi cấy phù hợp cho chủng xạ khuẩn 74 sinh chất kháng nấm cao.

Từ khóa: Bệnh Panama, chuối, *Fusarium oxysporum*, xạ khuẩn

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Chuối là một trong số các cây ăn quả quan trọng nhất ở Việt Nam với nhiều giống chuối quý như chuối bala, chuối tiêu, chuối bom, chuối ngự,... phong phú về kích cỡ và hương vị (Ngô Bích Hào, 1997). Chuối là loài cây dễ trồng, không kén đất, thích hợp với nhiều vùng sinh thái, do vậy tiềm năng phát triển cây chuối ở nước ta là rất lớn. Với ưu thế của khí hậu nhiệt đới, chuối nằm trong 14 loại hoa quả xuất khẩu chủ lực của Việt Nam, diện tích chiếm 19% tổng diện tích cây ăn trái của Việt Nam hàng năm, cho sản lượng ước tính khoảng 1,4 triệu tấn/năm, xuất khẩu sang nhiều nước trên thế giới như Trung Quốc, Hàn Quốc, Singapore và nhiều nước Đông Âu,... Sản xuất chuối ở nước ta đang gặp rất nhiều khó khăn do các bệnh gây hại ngày càng trở nên nghiêm trọng như bệnh héo rũ Panama (*Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense*), bệnh thán thư (*Coletotrichum musae*), bệnh đốm lá (black sigatoka), bệnh cháy lá (*Helminthosporium torulosum* Ash)... (Ngô Bích Hào, 1997). Bệnh Panama thường gây hại ở tất cả các giai đoạn sinh trưởng của cây nhưng mạnh nhất ở giai đoạn trưởng thành, ra hoa tạo quả làm cho cây bị héo vàng rồi chết (Pegg *et al.*, 1996; Ploetz, 2006). Triệu chứng biểu hiện bên ngoài được ghi nhận đầu tiên ở các lá phía dưới của lá cây, có màu vàng nhạt ở xung quanh mép lá, sau đó màu vàng lan dần vào phía gân chính của lá. Các lá già dần dần bị héo toàn bộ, gãy gục, rũ xuống xung quanh thân giả. Đặc điểm quan trọng đặc trưng được nhận thấy là xuất hiện mạch màu nâu đỏ ở thân củ, thân giả và cả bẹ lá trong các

cây bị bệnh (Bentley *et al.*, 1998; Moore *et al.*, 1993; Ploetz, 2015). Bệnh trên chuối làm ảnh hưởng trực tiếp đến năng suất và chất lượng của quả, gây thiệt hại nghiêm trọng về kinh tế cho người nông dân.

Để giảm thiểu tác hại do bệnh héo rũ gây ra trên chuối, nhiều biện pháp khác nhau đã được sử dụng tuy nhiên hiệu quả không được như mong muốn và gây ra một số tác động tiêu cực. Sử dụng thuốc trừ nấm hóa học chỉ tác động được vào nấm bệnh đang phát triển mà không tác động được đến bào tử nấm, đồng thời tồn dư hóa chất sẽ ảnh hưởng đến con người, môi trường và chất lượng nông sản (Ploetz, 2015). Việc tạo giống kháng bệnh trên cơ sở lai tạo chỉ góp phần tạo ra các giống kháng cho một số chủng gây bệnh nhất định, trong khi đó có rất nhiều biến chủng khác nhau của nấm (Ploetz, 2015). Trong những năm gần đây việc tạo ra cây chuối biến đổi gen có khả năng kháng nấm đã mang lại những hiệu quả tích cực, nhưng trên thực tế thì có rất nhiều quốc gia vẫn nói không với cây trồng biến đổi gen (Chen *et al.*, 2004). Chính vì lý do đó, việc tìm kiếm, sản xuất các chế phẩm nguồn gốc tự nhiên có khả năng diệt nấm vẫn đang là giải pháp tối ưu.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Các mẫu thân giả, củ và cuống lá của các cây chuối bị bệnh ở được thu thập từ các tỉnh Hà Nam, Hà Nội, Hà Giang, Hưng Yên, Thái Bình. Các chủng xạ khuẩn được lưu giữ tại Khoa Công nghệ sinh học, Học viện Nông nghiệp Việt Nam.

¹ Khoa Công nghệ sinh học, Học viện Nông nghiệp Việt Nam

² Viện Nghiên cứu và Phát triển, Đại học Duy Tân