

Nghiên cứu đa dạng nấm rễ nội cộng sinh (Arbuscular Mycorrhizal Fungi) phân lập từ đất trồng ngô ở Hà Nội

Lê Thị Hoàng Yên¹, Lê Thị Lệ Quyên¹, Lưu Thị Dung^{2,*},
Mai Thị Đàm Linh², Dương Văn Hợp¹

¹Viện Vi sinh vật và Công nghệ Sinh học, ĐHQGHN, 144 Xuân Thủy, Hà Nội, Việt Nam

²Khoa Sinh học, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, ĐHQGHN,
334 Nguyễn Trãi, Thanh Xuân, Hà Nội, Việt Nam

Nhận ngày 16 tháng 8 năm 2017

Chỉnh sửa ngày 20 tháng 9 năm 2017; Chấp nhận đăng ngày 10 tháng 10 năm 2017

Tóm tắt: Từ 15 mẫu đất thu thập từ rễ cây ngô ở Thường Tín, Hà Nội, chúng tôi đã phân lập được 576 bào tử nấm rễ nội cộng sinh (AMF). Dựa vào phân tích hình thái học, chúng được chia vào 8 chi, 15 loài, đó là: *Acaulospora* (3 loài): *Acaulospora capsicula*, *Acaulospora mellea*, *Acaulospora rehmi*; *Cetraspora* (1 loài): *Cetraspora pellucid*; *Dentiscutata* (2 loài): *Dentiscutata nigra*, *Dentiscutata reticulate*; *Gigaspora* (4 loài): *Gigaspora albida*, *Gigaspora decipiens*, *Gigaspora gigantea*, *Gigaspora margarita*; *Glomus* (2 loài): *Glomus ambisporum*, *Glomus multicaule*; *Racocetra* (1 loài): *Racocetra gregaria*; *Rhizophagus* (1 loài): *Rhizophagus clarus*; *Septoglomus* (1 loài): *Septoglomus deserticola*. Trong số đó, *Dentiscutata*, *Racocetra*, *Rhizophagus* và *Septoglomus* lần đầu tiên được công bố ở Việt Nam. *Acaulospora*, *Dentiscutata*, *Gigaspora* và *Glomus* là những chi chiếm ưu thế, *Gigaspora decipiens*, *Gigaspora gigantea* và *Glomus multicaule* là những loài chiếm ưu thế. Mật độ bào tử (SD) từ 9,5- 102 bào tử/100g đất (trung bình là 38,4 bào tử/100g đất), mật độ loài 1-7 loài/mẫu (trung bình là 3,3 loài/mẫu).

Từ khóa: Nấm rễ nội cộng sinh, phân tích hình thái, rễ cây ngô.

1. Mở đầu

Nấm rễ (Mycorrhizas) (AMF) là một hình thức cộng sinh giữa nấm có lợi trong đất và rễ của thực vật bậc cao. Đây là quần hợp nấm - thực vật được biết nhiều nhất và đóng vai trò quan trọng trong quá trình phát triển của thực vật cũng như hệ sinh thái. AMF được phát hiện từ ít nhất 400 triệu năm trước, chúng có vai trò

rất quan trọng đối với sự phát triển và sinh sản của cả thực vật và nấm. AMF được xem là thành phần vi sinh vật chủ yếu tồn tại ở rễ và đất của cây trồng, chúng được tìm thấy ở hầu hết các sinh cảnh trên toàn thế giới và khoảng 90% các loài thực vật [1]. Đây là mối quan hệ “Hội sinh”, trong đó cả vật chủ và nấm đều có lợi cho sự sống của nhau. Trong khi nấm nhận được các sản phẩm quang hợp từ thực vật bằng cách sống cố định trong rễ của chúng và phát triển mạng lưới hệ sợi nấm trong vùng bầu rễ để tạo thuận lợi cho việc hấp thụ các chất dinh dưỡng và cung cấp các chất có lợi khác cho vật

* Tác giả liên hệ. ĐT.: 84-977522973.

Email: dungluu.hus@gmail.com

<https://doi.org/10.25073/2588-1140/vnunst.4606>

chủ, cạnh tranh với các vi khuẩn trong đất khác, đồng thời giúp thực vật tăng khả năng lấy nước và chất dinh dưỡng như photpho, lưu huỳnh, nitơ và các vi chất dinh dưỡng từ các sợi nấm tạo ra ngoài vùng rễ. Do đó, AMF là những sinh vật kí sinh không thể hoàn thành vòng đời của chúng mà không có nguồn cung cấp cacbon từ vật chủ, chúng không thể phát triển trên đĩa thạch. Người ta tin rằng sự cộng sinh của nấm AMF có lợi cho sự phát triển của cây trồng và bảo vệ thực vật [2]. Ngô là thực phẩm chủ lực của Việt Nam, sau lúa, tuy nhiên vẫn còn rất ít nghiên cứu về sự đa dạng nấm trong đất trồng ngô ở Việt Nam cũng như vai trò của nó trong việc phát triển cây trồng. Trong nghiên cứu này, chúng tôi đã phân lập endomycorrhizae bằng sàng ướt và phương pháp tách bào tử đơn độc từ 15 mẫu đất trồng ngô ở Hà Nội và nghiên cứu tính đa dạng sinh học của chúng dựa vào quan sát hình thái [3].

2. Nguyên vật liệu và phương pháp

2.1. Nguyên vật liệu

- *Mẫu phân lập*: 15 mẫu đất xung quanh rễ cây ngô được lấy ở Thường Tín - Hà Nội, với vị trí (20°31'N-21°17' N và 105°17' E- 106°00), diện tích rộng 2,193 km², lượng mưa trung bình hàng năm: 1,900 mm, nhiệt độ trung bình hàng năm: 23,3°C, mùa hè 36-37°C, có khi lên tới 41°C, mùa đông có khi xuống tới 3°C, độ ẩm tương đối: 70-85%.

- *Môi trường phân lập*: Nước máy, nước cất khử trùng, môi trường MSR [3].

2.2. Phương pháp

- *Lấy mẫu đất*: loại bỏ 3cm lớp đất bề mặt xung quanh gốc cây ngô, sau đó lấy khoảng 500g đất xung quanh mẫu tới độ sâu khoảng 20cm.

- *Phân lập nấm AMF*: bằng phương pháp sàng ướt qua màng lọc có các kích thước khác nhau: 500, 350, 150 và 50 μm kết hợp với các thang nồng độ đường 30-50% [4] kết hợp với phương pháp tách bào tử đơn độc [5].

- *Phân loại AMF dựa vào hình thái*: Bào tử sau khi phân lập được chia thành các nhóm tương đối đồng đều nhau dựa vào hình thái bề mặt. Sau đó chọn những bào tử đại diện, nhuộm bằng thuốc thử của Melzer [2, 3]; quan sát dưới kính hiển vi màu sắc, kích thước, bề mặt và cấu trúc vách bào tử, đối chiếu với các mô tả và hình ảnh của INVAM để xác định tên loài [6].

- *Phương pháp phân tích số liệu thống kê* [7]

Tần suất xuất hiện của chi/loài được tính theo công thức:

$$\text{TSXH\%} = (\text{số lượng mẫu xuất hiện chi/loài nấm nghiên cứu} / \text{tổng số mẫu nghiên cứu}) \times 100\%.$$

Chi/ loài nấm có tần suất xuất hiện lớn hơn 10% được gọi là loài ưu thế

Mật độ bào tử: Số lượng bào tử/100g đất phân lập.

Mật độ loài: Số lượng loài bắt gặp trong mỗi mẫu phân lập.

3. Kết quả và thảo luận

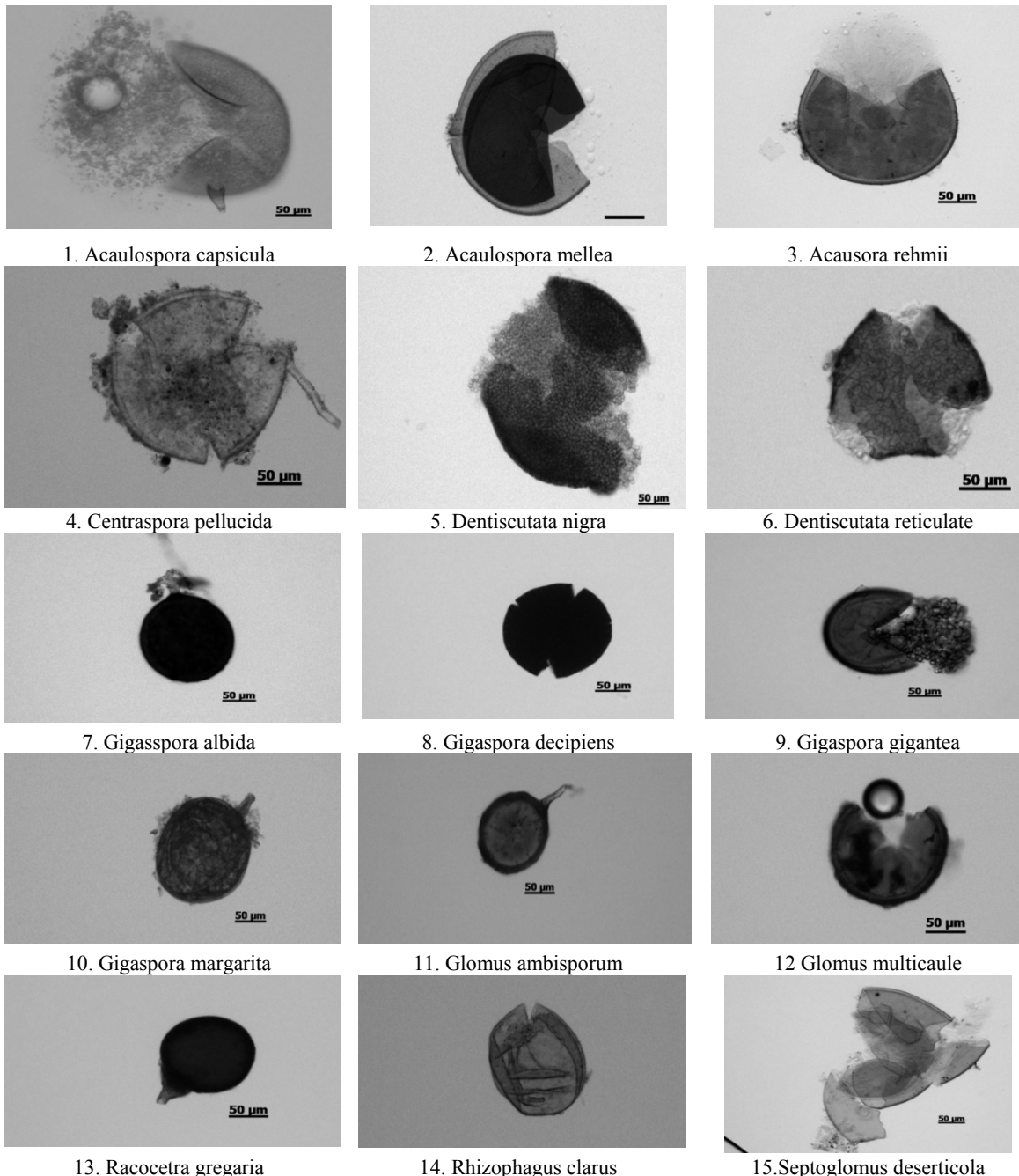
3.1. Đa dạng số loài nấm rễ nội cộng sinh AMF trên đất trồng ngô Hà Nội

Từ 15 mẫu đất lấy từ rễ và gốc cây ngô thu thập ở đất Thường Tín - Hà Nội, bằng phương pháp sàng ướt kết hợp với phân lập bào tử đơn độc, chúng tôi đã phân lập được 576 bào tử AMF. Sau đó bằng phương pháp phân tích hình thái, chúng tôi phân loại chúng vào 8 chi, 15 loài, kết quả được thể hiện trên hình 1.

Chi tiết phân loại các loài nấm này như sau: So sánh với các nghiên cứu trước, chúng tôi nhận thấy rằng đa dạng nấm rễ nội cộng sinh trên rễ cây ngô cao hơn so với một số loại cây lương thực khác (lúa, cà chua) ở Việt Nam. Chẳng hạn năm 2012 Trần Thị Như Hằng và cộng sự đã nghiên cứu đa dạng AMF trên rễ cây lúa và cây cà chua, các tác giả đã phát hiện được 5 chi: *Scutellospora*, *Glomus*, *Acaulospora*, *Gigaspora*, và *Entrophospora* [8]. Hay trong một nghiên cứu về đa dạng AMF trên rễ cây cam ở Quỳnh Hợp, Nghệ An, từ 60 mẫu đất, các tác giả cũng chỉ phát hiện được 6 chi: *Acaulospora*, *Entrophospora*, *Glomus*,

Sclerocystis, *Glomites* and *Gigaspora*), 16 loài [9]. Tuy nhiên so với cá nghiên cứu khác trên thế giới thì sự đa dạng này không phải là trường hợp ngoại lệ: Zhang và cs 2003 đã tìm được 47 loài AMF từ đất khô hạn hay Wang và cộng sự

(2008) đã tìm được 33 loài AMF từ đất ngập mặn, Zhao và cộng sự (2003) tìm được 5 chi, 27 loài AMF từ rừng mưa nhiệt đới Xishangbanna,...



Hình 1. Đa dạng các loài AMF phân lập từ đất trồng ngô Hà Nội.

3.2. Tần suất xuất hiện của AMF trong đất trồng ngô Hà Nội

Đa dạng các loài AMF trong đất trồng ngô Hà Nội được chia vào 8 chi, 15 loài, chi tiết như sau: *Acaulospora* (3 loài): *Acaulospora capsicula*, *Acaulospora mellea*, *Acaulospora rehmi*; *Cetraspora* (1 loài): *Cetraspora pellucid*; *Dentiscutata* (2 loài): *Dentiscutata nigra*, *Dentiscutata reticulata*; *Gigaspora* (4 loài): *Gigaspora albida*, *Gigaspora decipiens*, *Gigaspora gigantea*, *Gigaspora margarita*; *Glomus* (2 loài): *Glomus ambisporum*, *Glomus multicaule*; *Racocetra* (1 loài): *Racocetra gregaria*; *Rhizophagus* (1 loài): *Rhizophagus clarus*; *Septoglomus* (1 loài): *Septoglomus deserticola*. Tần suất xuất

hiện của các chi theo thứ tự lần lượt là: 13,40 %; 6,19 %, 15,46 %; 40,42 %; 13,40 %; 2,06 %; 4,12 % và 7,21 %, (bảng 1). Trong số đó, *Dentiscutata*, *Racocetra*, *Rhizophagus* và *Septoglomus* lần đầu tiên công bố tại Việt Nam. *Acaulospora*, *Dentiscutata*, *Gigaspora* and *Glomus* là những chi chiếm ưu thế và *Gigaspora decipiens*, *Gigaspora gigantea* và *Glomus multicaule* là những loài chiếm ưu thế (bảng 1). Kết quả này khá tương đồng so với các nghiên cứu trước đó của Trần Thị Như Hằng và cộng sự (2012) và Nguyễn Thị Kim Liên và cộng sự (2012) cho rằng *Acaulospora*, *Gigaspora* và *Glomus* là những loài AMF chiếm ưu thế trong đất trồng cà chua, mía và cam ở Việt Nam.

Bảng 1. Phân loại nấm rễ nội cộng sinh và tần suất xuất hiện của chúng

STT	Tên loài	Số lần xuất hiện	Tần suất xuất hiện (%)
	<i>Acaulospora</i>	13	13,40
1	<i>Acaulosporacapsicula</i>	5	5,15
2	<i>Acaulosporamellea</i>	6	6,19
3	<i>Acaulosporarehmi</i>	2	2,06
	<i>Cetraspora</i>	6	6,19
4	<i>Cetrasporapellucida</i>	6	6,19
	<i>Dentiscutata</i>	15	15,46
5	<i>Dentiscutatanigra</i>	6	6,18
6	<i>Dentiscutatareticulata</i>	9	9,28
	<i>Gigaspora</i>	39	40,20
7	<i>Gigasporaalbida</i>	3	3,09
8	<i>Gigasporadecipiens</i>	20	20,61
9	<i>Gigasporagigantea</i>	13	13,40
10	<i>Gigasporamargarita</i>	3	3,10
	<i>Glomus</i>	13	13,40
11	<i>Glomus ambisporum</i>	2	2,06
12	<i>Glomus multicaule</i>	11	11,34
	<i>Racocetra</i>	2	2,06
13	<i>Racocetragregaria</i>	2	2,06
	<i>Rhizophagus</i>	4	4,12
14	<i>Rhizophagusclarus</i>	4	4,12
	<i>Septoglomus</i>	7	7,21
15	<i>Septoglomus deserticola</i>	7	7,21
Tổng số: AMF = 15 loài		97	100

Trong một số các nghiên cứu trước, người ta cho rằng các loài nấm AMF thuộc chi *Acaulospora* và *Glomus* thường xuất hiện với tần suất cao hơn so với các loài *Gigaspora* bởi

vì chúng có kích thước bào tử nhỏ hơn bào tử của *Gigaspora*. Vì vậy chúng cần thời gian để sinh trưởng, phát triển, tái tạo vòng đời nhanh hơn các loài *Gigaspora* [2, 10]. Tuy nhiên trong

nghiên cứu này của chúng tôi, ngoài *Acaulospora* và *Glomus* thì *Gigaspora* và *Dentiscutata* cũng là các chi chiếm ưu thế. Phải chăng do 2 chi này có vách bào tử dày, khả năng chống chịu môi trường khô hạn tốt nên chúng có thể tồn tại, sinh trưởng và phát triển ở các khu hệ rễ cây ngô là loài cây lương thực chịu hạn tương đối tốt và hầu như không cần đến việc bổ sung nước trong quá trình chăm bón.

3.3. Mật độ bào tử và mật độ loài AMF trong đất trồng ngô Hà Nội

Trong nghiên cứu này, chúng tôi đã lựa chọn các mẫu đất trồng ngô có tính chất đất khác nhau để nghiên cứu, gồm 2 mẫu đất cứng, 3 mẫu đất xốp, 1 đất cát khô, 4 đất cát ướt, 5 đất sét khô. Từ 15 mẫu đất này, chúng tôi đã phân lập được 576 bào tử AMF, kết quả được trình bày trong Bảng 2.

Bảng 2. Khả năng phân bố của AMF trong đất (mật độ bào tử (SD) và mật độ loài (SR))

STT	Mẫu	Đặc điểm đất	Loài AMF xuất hiện (Tương đồng với hình 1)	SD	SR
1	HN1	Đất cứng	1 5	10,5	1
2	HN2	Đất cứng	2 9	9,5	2
3	HN3	Đất xốp	2 4 7 11	20	4
4	HN4	Đất xốp	1 4 6 10	24	4
5	HN5	Đất xốp	1 3 4 6	32	4
6	HN6	Đất cát khô	8 11 12 14 15	77	5
7	HN7	Đất cát ướt	2 6 13 15	86	4
8	HN8	Đất cát ướt	1 5 6 8 9 10 15	102	7
9	HN9	Đất cát ướt	1 6 8 9 14	90	5
10	HN10	Đất cát ướt	2 4 5 13	87,5	4
11	HN11	Đất sét khô	2 7 12	27	3
12	HN12	Đất sét khô	5 8 15	31	3
13	HN13	Đất sét khô	14 15	29	2
14	HN14	Đất sét khô	4 12 15	31	3
15	HN15	Đất sét khô	8 15	27	2

Sự phân bố về mật độ bào tử (SD) và mật độ loài (RS) của 15 loài AMF trong 15 mẫu đất trồng ngô Hà Nội thể hiện trong bảng 2 cho thấy mật độ bào tử AMF trên mỗi mẫu từ 9,5-102 bào tử/100g đất (trung bình là 38,4 bào tử/100g). Mật độ loài cũng thay đổi từ 1-7 loài/mẫu (trung bình là 3,3 loài). So với một số nghiên cứu khác ở Việt Nam thì mật độ bào tử trong các mẫu đất trồng ngô Hà Nội thấp hơn mật độ bào tử trong đất trồng lúa, cà chua, cam ở Hà Nội và Nghệ An; SD trung bình/100g đất cà chua là 173 bào tử AMF và trong đất trồng lúa là 181 bào tử AMF [8]. Con số này cũng thấp hơn kết quả nghiên cứu khác trên thế giới, chẳng hạn Zhao và cộng sự (2003) nghiên cứu sự đa dạng của AMF trong rừng mưa nhiệt đới của Xishuangbanna, Tây Nam Trung Quốc có mật độ bào tử SD trung bình là 675 và mật độ

loài trung bình là SR là 4,4 loài/mẫu nghiên cứu. Kết quả cũng cho thấy có sự tương quan giữa mật độ bào tử và số lượng loài xuất hiện trong cùng một mẫu. Các mẫu có số lượng bào tử nhiều thì đồng thời số lượng loài nấm ở mẫu đất đó cũng lớn. Điều đáng lưu ý ở đây là số lượng bào tử cũng như số lượng loài xuất hiện ở các mẫu đất cát lớn hơn trên các loại đất khác. Ví dụ, mẫu đất cát khô HN6, SD và SR lần lượt là 77 và 5; mẫu đất cát ướt HN7, SD và SR lần lượt là 86 và 4; và đáng chú ý là ở mẫu đất cát ướt HN8, SD và SR lần lượt là 102 và 7. Các nghiên cứu trước đây đã chỉ ra rằng có rất nhiều yếu tố có thể ảnh hưởng đến mật độ bào tử và sự phong phú của loài trong một khu hệ nấm rễ, chẳng hạn như tính thời vụ, các yếu tố hình thái, sự phụ thuộc vào cây chủ, tuổi cây chủ, khả năng hình thành bào tử của AMF, và sự

phân bố bào tử nấm AMF trong đất, mật độ bào tử nấm AMF liên kết với các cây khác nhau ở các địa điểm khác nhau [7, 10-12].

Lời cảm ơn

Nghiên cứu được hỗ trợ kinh phí từ đề tài QG. 16.35 của Đại học Quốc gia Hà Nội.

Tài liệu tham khảo

- [1] Walker C, Current concepts in the taxonomy of the *Endogonaceae*, Proceedings of the 7th NACOM. IFAS, University of Florida, Gainesville, Fla, 1987.
- [2] Morton, J.B. and Benny, G.L., Revised classification of arbuscular mycorrhizal fungi (zygomycetes), a new order *Glomales*, two new suborders *Glomineae* and *Gigasporinae* and two new families *Acaulosporaceae* and *Gigasporaceae* with an emendation of *Glomaceae*, Mycotaxon 37(1990) 471.
- [3] Morton, J.B., Taxonomy of VA mycorrhizal fungi: classification, nomenclature, and identification. Mycotaxon 37 (1988) 267.
- [4] Gerdemann J. W. and T. H. Nicolson T. H., Spores of mycorrhizal Endogone species extracted from soil by wet-sieving and decanting, Trans. Br. Mycol. Soc. 46 (1963) 235.
- [5] Choi, Y.W., Hyde, K.D. and Ho, W.H., Single spore isolation of fungi, Fungal Diversity, 3 (1999) 29.
- [6] <http://invam.caf.wvu.edu>.
- [7] Zhao, Z.W., Wang, G.H. and Yang, L., Biodiversity of arbuscular mycorrhizal fungi in tropical rain forests of Xishuangbanna, southwest China, Fungal Diversity 13 (2003) 233.
- [8] Trần Thị Như Hằng, Trần Thị Hồng Hà, Nguyễn Đình Luyện, Posta Katalin, Lê Mai Hương, 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) (2012) 521.
- [9] Nguyễn Thị Kim Liên, Lê Thị Thùy, Nguyễn Việt Hiệp, Nguyễn Huy Hoàng, Nghiên cứu đa dạng hệ nấm cộng sinh arbuscular mycorrhiza trong đất và rễ cam tại Quỳnh Hợp, Nghệ An, Tạp chí sinh học, 34(4) (2012) 441.
- [10] Wang YY, Vestberg M, Walker C, Hurme T, Zhang XP, Lindström K., Diversity and infectivity of arbuscular mycorrhizal fungi in agricultural soils of the Sichuan Province of mainland China, Mycorrhiza 18 (2008) 68.
- [11] Bever JD, Morton JB, Antonovics J, Schultz PA, Host-dependent sporulation and species diversity of arbuscular mycorrhiza fungi in a mown grassland, J Ecol 84 (1996) 71.
- [12] Guadarrama P. and Alvarez-Sanchez F.J., Abundance of arbuscular mycorrhizal fungi spores in different environments in a tropical rain forest, Veracruz, Mexico, Mycorrhiza 8 (1999) 267.

Diversity of Arbuscular Mycorrhizal Fungi Isolated from Maize Cultivated Soil in Hanoi

Le Thi Hoang Yen¹, Le Thi Le Quyen¹, Luu Thi Dung²,
Mai Thi Dam Linh² Duong Van Hop¹

¹VNU Institute of Microbiology and Biotechnology, 144 Xuan Thuy, Hanoi, Vietnam

²Faculty of Biology, VNU University of Science, 334 Nguyen Trai, Thanh Xuan, Hanoi, Vietnam

Abstract: A total of 576 AMF spores were isolated from 15 maize cultivated soil samples collected in Hanoi. The spores were analyzed under a microscope at 200 × magnifications and divided in groups in relation to morphological characteristics including shape, size, colour, wall structures. As a results, there are 8 genera with 15 species of AMF were characterized: *Acaulospora* (3 species):

Acaulospora capsicula, *Acaulospora mellea*, *Acaulospora rehmi*; *Cetraspora* (1 species): *Cetraspora pellucid*; *Dentiscutata* (2 species): *Dentiscutata nigra*, *Dentiscutata reticulate*; *Gigaspora* (4 species): *Gigaspora albida*, *Gigaspora decipiens*, *Gigaspora gigantea*, *Gigaspora margarita*; *Glomus* (2 species): *Glomus ambisporum*, *Glomus multicaule*; *Racocetra* (1 species): *Racocetra gregaria*; *Rhizophagus* (1 species): *Rhizophagus clarus*; *Septoglomus* (2 species): *Septoglomus constrictum*, *Septoglomus deserticola*. Among them, 4 genera: *Dentiscutata*, *Racocetra*, *Rhizophagus* and *Septoglomus* were the first time reported in Vietnam. *Acaulospora*, *Dentiscutata*, *Gigaspora* and *Glomus* were the dominant genera, and while *Gigaspora decipiens*, *Gigaspora gigantean* and *Glomus multicaule* were the dominant species in maize cultivated soil in Hanoi. Fungal spore density ranged from 9.5 to 102 per 100 g dry soil (mean = 38.4) and species richness ranged from 1-7 (mean = 3.3).

Keywords: Arbuscular mycorrhizal, maize root, morphological analysis.