

PHÂN LẬP VÀ TUYỂN CHỌN CÁC CHỦNG NẤM RỄ NỘI SINH TĂNG KHẢ NĂNG CHỊU PHÈN MẶN CỦA CÂY LÚA (*Oryza sativa* L.) TRỒNG TẠI HUYỆN GIANG THÀNH, TỈNH KIÊN GIANG

Nguyễn Văn Lệ¹, Thạch Thị Bảo Ngọc¹, Trần Hoàng Siêu¹

TÓM TẮT

Nấm rễ nội sinh (AMF) có khả năng tồn tại và tạo dòng bên trong rễ cây lúa giúp tăng khả năng chống chịu trong điều kiện ngập nước. Từ 14 mẫu đất vùng rễ lúa tại huyện Giang Thành tuyển chọn được 8 chủng AMF (L01, L02, L03, L04, L05, L06, L07, L08) giúp tăng khả năng chống chịu phèn mặn trên giống lúa OM5451 trong môi trường Yoshida có bổ sung NaCl 6‰ và FeCl₂ 250 ppm. Trong điều kiện nhà lưới, tuyển chọn được 2 chủng là L03 và L08 thuộc 2 chi là *Acaulospora* sp. và *Gigaspora* sp. có tiềm năng giúp tăng khả năng chống chịu phèn mặn trên giống lúa OM5451. Tỷ lệ xâm nhiễm của nấm rễ nội sinh ở rễ lúa chiếm 20 - 50% trong điều kiện canh tác ngập nước, có mối tương quan nghịch với hàm lượng lân dễ tiêu trong đất (8,58 - 30,80 mg/100 g). Cấu trúc xâm nhiễm của AMF vào trong rễ lúa gồm dạng sợi nấm, túi (Vesicular) và chùm (Arbuscular) trong đó dạng sợi nấm và thể chùm (Arbuscules) chiếm ưu thế còn thể túi bóng (Vesicules) không được ghi nhận hoặc rất ít. Định danh dựa trên hình thái bào tử nấm rễ cho thấy, các chủng nấm AMF phân lập thuộc 3 chi là *Acaulospora* sp., *Gigaspora* sp. và *Septoglomus* sp. trong đất canh tác lúa nhiễm phèn mặn. Tỷ lệ tái xâm nhiễm đạt từ cao đến rất cao 66,67% - 100% trong môi trường Yoshida với NaCl 6‰ và FeCl₂ 250 ppm. Cây kí chủ ảnh hưởng đến tỷ lệ xâm nhiễm của AMF, trong đó chi *Septoglomus* sp. phù hợp với giống DT8 và 2 chi *Acaulospora* sp., *Gigaspora* sp. thích nghi với giống OM5451.

Từ khóa: Nấm rễ nội sinh, AMF, huyện Giang Thành, chống chịu phèn mặn, cây lúa.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Canh tác lúa ở đồng bằng sông Cửu Long (ĐBSCL) có vai trò quan trọng trong đảm bảo an ninh lương thực, đóng góp hơn 50% tổng sản lượng lúa gạo quốc gia và trên 90% lượng xuất khẩu (Viện Quy hoạch và Thiết kế nông nghiệp, 2014). Tuy nhiên, trước ảnh hưởng nặng nề của biến đổi khí hậu toàn cầu đã tác động tiêu cực đến năng suất lúa và tình hình kinh tế - xã hội.

Theo Trần Văn Mão (2014), trong khoảng 100.000 loài vi nấm đã được phát hiện và mô tả trong đất, trong đó tập trung ở tầng đất canh tác thì nấm rễ nội sinh (Arbuscular Mycorrhiza Fungi - AMF) thuộc ngành nấm Glomeromycota là một loài vi nấm có lợi, chúng hình thành mối quan hệ cộng sinh với hơn 80% loài thực vật bậc cao (Panneerselvam *et al.*, 2017). Trong mối quan hệ cộng sinh, AMF giúp cây hấp thụ N, P, K, Ca, S, Fe, Cu, Mn, Zn từ đất và chuyển các chất dinh dưỡng này đến cây chủ (Panneerselvam *et al.*, 2017). AMF giúp cây tăng cường khả năng chống chịu với điều kiện bất lợi của môi trường như: hạn, mặn (Parvin *et al.*, 2019), tiết ra

các chất kích thích sinh trưởng như auxin, gibberellic, cytokinin giúp cây tăng trưởng nhanh và các chất kháng sinh giúp cây chủ chống lại các mầm bệnh từ đất (Smith và Read, 2008).

Các nghiên cứu trước đây về mối quan hệ cộng sinh của AMF với loài thực vật trên cạn như bắp, ớt, cam, chè (Võ Thị Tú Trinh và Dương Minh, 2017; Lê Thị Thủy, 2012) cho thấy khả năng xâm nhiễm của AMF cao và tạo dòng ở pH thấp 3,6 - 5,8 đồng thời giúp tăng năng suất cây trồng nhưng hệ thống canh tác lúa ngập nước lại gây bất lợi cho sự phát triển của nhóm nấm rễ sống hiếu khí. Tuy nhiên, nghiên cứu của Wang *et al.* (2010) tại Trung Quốc và Watanarojanaporn (2013) cho rằng AMF vẫn có khả năng tồn tại và tạo dòng được do liên kết với các mô khí (aerenchyma) ở rễ lúa nhưng mật độ và đa dạng loài còn hạn chế chủ yếu là chi *Glomus* và *Acaulospora* (Trần Thị Như Hằng và *ctv.*, 2012). Huyện Giang Thành có địa hình vùng trũng nhiễm phèn và mặn xâm nhập làm giảm năng suất lúa. Do đó, nghiên cứu này được thực hiện nhằm phân lập và tuyển chọn các chủng nấm rễ nội sinh bản địa có tiềm năng tăng cường khả năng chịu phèn mặn của cây lúa được trồng tại địa phương.

¹ Trường Đại học Kiên Giang
Email: nvle@vnkgu.edu.vn

² Trường Đại học Cần Thơ

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Thu mẫu vật

Địa điểm nghiên cứu là đất nền canh tác lúa hai vụ, nhiễm phèn sắt và mặn tại ba xã Phú Lợi, Vĩnh Phú và Tân Khánh Hòa thuộc huyện Giang Thành vào tháng 9/2018. Thu 14 mẫu đất và rễ lúa (đường kính 20 - 25 cm, độ sâu 0 - 20 cm) thời kỳ thu hoạch

(90 ngày sau cấy - NSC). Mỗi ruộng thu 3 điểm và trữ trong túi ni lông, kí hiệu (Địa điểm - Số thứ tự - Giống lúa) và chuyển về phòng thí nghiệm phơi khô tự nhiên trong 2 tuần. Mẫu được trữ ở 4°C trong quá trình phân tích.

Bảng 1. Danh sách các mẫu đất và rễ lúa tại huyện Giang Thành

STT	Kí hiệu	Tên giống lúa	STT	Kí hiệu	Tên giống lúa
1	TKH-01-OM5451	OM5451	8	PL-10-IR50404	IR50404
2	VP-02-TV39	TV39	9	VP-11-ĐT8	ĐT8
3	TKH-03-OM5451	OM5451	10	TKH-12-OM5451	OM5451
4	PL-04-OM5451	OM5451	11	TKH-13-OM5451	OM5451
5	PL-07-OM5451	OM5451	12	TKH-14-ĐT8	ĐT8
6	VP-08-IR50404	IR50404	13	VP-15-IR50404	IR50404
7	TKH-09-OM5451	OM5451	14	VP-16-OM5451	OM5451

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp khảo sát sự xâm nhiễm của nấm rễ nội sinh bên trong rễ lúa

Cân 1 g mẫu rễ lúa và cắt thành các đoạn dài 1 cm cho vào các beaker 50 mL, rửa sạch nhiều lần với dung dịch KOH 2,5% và nước cất khử trùng hai lần để loại bỏ đất, các chất lẫn. Đặt các beaker trên đĩa của microwave, thiết lập thời gian xử lý là 60s ở mức năng lượng High. Tẩy sạch tổ rễ lúa với dung dịch alkaline hydrogen peroxide (NH₄OH 3 mL, H₂O 495 mL, H₂O₂ 2 mL) và thiết lập microwave ở mức năng lượng High cho đến khi mất màu rễ. Rửa lại mẫu ba lần với nước cất khử trùng, sau đó acid hóa các mẫu rễ với 15 mL acid acetic 5% để giảm độ pH xuống 2,5 hoặc thấp hơn ở nhiệt độ phòng và để qua đêm (16 tiếng). Nhuộm mẫu rễ với dung dịch Trypan blue 0,05% kết hợp microwave thiết lập ở mức năng lượng High trong 60s. Loại bỏ các thuốc nhuộm dư thừa ở các mẫu rễ với dung dịch gồm acid lactic - glycerol - acid acetic 5% theo tỉ lệ 12:1:1 (v-v-v) (Yolande D. và Sylvie M. S, 2013). Đặt mẫu lên lam kính có chứa 1 - 2 giọt polyvinyl lactic acid glycerol (PVLG) (Omar *et al.*, 1979), quan sát dưới kính hiển vi quang học ở độ phóng đại 400X.

Chỉ tiêu theo dõi: Mô tả hình dạng và xác định tỷ lệ xâm nhiễm theo phương pháp line insect (Fortin *et al.*, 2002).

$$\text{Tỷ lệ xâm nhiễm} = \frac{\text{Số đoạn rễ có sự xâm nhiễm}}{\text{Tổng số đoạn rễ quan sát}} \times 100\%$$

Đánh giá mức độ xâm nhiễm theo thang tiêu chuẩn của Zangaro *et al.* (2002): Rất cao (> 80%), cao (60 - 79%), trung bình (40 - 59%), thấp (20 - 39%), rất thấp (1 - 19%).

2.2.2. Phương pháp phân lập bào tử nấm rễ từ đất vùng rễ lúa

Mẫu đất vùng rễ sau khi hong khô tự nhiên 2 tuần, loại bỏ chất lẫn và cho qua rây có cỡ lỗ 2 mm được dùng để phân lập bào tử nấm rễ. Bào tử nấm rễ được phân lập theo phương pháp rây ẩm và kết hợp ly tâm gradient sucrose 50% (Daniels và Skipper, 1982). Cân 100 g mẫu đất đã sàng qua rây 2 mm, cho vào beaker 250 mL, thêm nước cất đến vạch định mức. Để yên trong 30 phút tạo dịch huyền phù. Chuyển phần dịch sang bình tam giác 500 mL, lắc trong 15 phút, tốc độ 150 vòng/phút. Cho phần dịch qua các rây sàng lần lượt với đường kính lỗ 450 μm và lỗ 74 μm. Dùng bình tia chứa nước cất tia đều 3 - 5 lần lên bề mặt từng cỡ rây sàng. Lật ngược rây 74 μm, tia đều để chuyển bào tử ra khỏi mặt sàng. Hút phần dịch cho vào ống ly tâm 25 mL, bổ sung lượng nước cất tương đương, ly tâm 2.000 vòng/phút, thu phần dịch ở đáy ống. Bổ sung sucrose 50%, lắc nhẹ, sau đó ly tâm 2.000 vòng/phút trong 10 phút, thu phần dịch phía trên. Hút phần dịch cho qua giấy lọc Whatman 0,45 μm, bào tử trữ ở 4°C trong đĩa petri chứa nước cất. Các tiêu bản được quan sát dưới kính hiển vi ở độ phóng đại 400X sau khi mẫu cố định để yên 24 giờ.

Phân loại sơ bộ bào tử nấm rễ đến cấp độ chi dựa trên các tiêu chí của INVAM

(<https://invam.wvu.edu/>): hình dạng, kích thước, cấu trúc thành tế bào, cuống bào tử (nếu có), phản ứng với thuốc thử Melzer.

2.2.3. Phương pháp khảo sát khả năng xâm nhiễm của nấm rễ nội sinh bên trong rễ lúa giai đoạn nảy mầm trong phòng thí nghiệm

Các giống lúa đã thanh lọc được trong môi trường Yoshida và khay đất là OM5451 và ĐT8 được gieo trong đĩa petri có lót giấy ẩm, ủ ở nhiệt độ phòng đến khi rễ dài khoảng 2 - 3 cm. Sau đó, chúng bào tử nấm rễ đã phân lập với mật số 5 bào tử tương ứng ở mỗi đĩa petri có chứa 5 hạt giống đã nảy mầm. Cây mạ con được trồng trong môi trường dinh dưỡng Yoshida, sau 2 - 3 ngày thì bổ sung thêm NaCl 6‰ và FeCl₂ 250 ppm, pH = 5. Độ pH trong dung dịch dinh dưỡng được điều chỉnh mỗi ngày bằng HCl 1N hoặc NaOH 1N, môi trường thay mới 5 ngày/lần và bổ sung nước cất khử trùng khi dung dịch cạn.

Chỉ tiêu theo dõi: Sau 1 tuần thí nghiệm, các mẫu rễ được nhuộm với dung dịch Trypan blue 0,05% để xác định tỷ lệ xâm nhiễm theo phương pháp Line

insect (Fortin *et al.*, 2002) và đánh giá mức độ xâm nhiễm theo thang tiêu chuẩn của Zangaro *et al.* (2002).

2.2.4. Khảo sát sự ảnh hưởng của nấm rễ nội sinh ở giai đoạn nảy mầm đến khả năng chịu phèn mặn trên cây lúa trong phòng thí nghiệm.

Các giống lúa đã thanh lọc được trong môi trường Yoshida và khay đất được gieo trong đĩa petri có lót giấy ẩm, ủ ở nhiệt độ phòng đến khi rễ dài khoảng 2 - 3 cm. Sau đó, chúng bào tử nấm rễ với mật số 5 bào tử ở mỗi đĩa petri, chứa 5 hạt giống đã nảy mầm. Bổ sung môi trường dinh dưỡng Yoshida NaCl 6‰ và FeCl₂ 250 ppm, điều chỉnh pH = 5, môi trường thay mới 5 ngày/lần. Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên với 18 nghiệm thức, 3 lần lặp lại. Trong đó, nghiệm thức đối chứng không chủng nấm rễ.

Chỉ tiêu theo dõi: Chỉ tiêu sinh trưởng gồm chiều cao cây, chiều dài rễ. Thời gian thí nghiệm là 2 tuần, thời gian thu thập số liệu là ngày thứ 7 và 14.

Bảng 2. Các nghiệm thức chọn lọc chủng nấm rễ nội sinh trong phòng thí nghiệm

STT	NT	Thành phần nghiệm thức	STT	NT	Thành phần nghiệm thức
1	NT1	Giống OM5451 (ĐC)	10	NT10	Chủng L08 + Giống OM5451
2	NT2	Giống ĐT8 (ĐC)	11	NT11	Chủng L01 + Giống ĐT8
3	NT3	Chủng L01 + Giống OM5451	12	NT12	Chủng L02 + Giống ĐT8
4	NT4	Chủng L02 + Giống OM5451	13	NT13	Chủng L03 + Giống ĐT8
5	NT5	Chủng L03 + Giống OM5451	14	NT14	Chủng L04 + Giống ĐT8
6	NT6	Chủng L04 + Giống OM5451	15	NT15	Chủng L05 + Giống ĐT8
7	NT7	Chủng L05 + Giống OM5451	16	NT16	Chủng L06 + Giống ĐT8
8	NT8	Chủng L06 + Giống OM5451	17	NT17	Chủng L07 + Giống ĐT8
9	NT9	Chủng L07 + Giống OM5451	18	NT18	Chủng L08 + Giống ĐT8

Ghi chú: (NT) - nghiệm thức, (L01) - chủng 1, (L02) - chủng 2, (L03) - chủng 3, (L04) - chủng 4, (L05) - chủng 5, (L06) - chủng 6, (L07) - chủng 7, (L08) - chủng 8.

2.2.5. Khảo sát sự ảnh hưởng của nấm rễ nội sinh ở giai đoạn nảy mầm đến khả năng chịu phèn mặn trên cây lúa trong nhà lưới

Hạt giống (OM5451) ngâm ủ cho đến khi rễ dài 2 - 3 cm thì gieo vào các chậu nhựa chứa đất ruộng (mỗi chậu 3 kg đất), gieo 5 cây/chậu. Chủng 15 bào tử/chậu đất, điều chỉnh và giữ cho nước ngập 2 cm trong suốt thời gian thí nghiệm. Thí nghiệm bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên với 9 nghiệm thức, 3 lần lặp lại. Trong đó, nghiệm thức đối chứng không chủng bào tử nấm rễ.

- NT1: Đất + Giống OM5451 (ĐC).
- NT2: Đất + Chủng L01 + Giống OM5451.
- NT3: Đất + Chủng L02 + Giống OM5451.
- NT4: Đất + Chủng L03 + Giống OM5451.
- NT5: Đất + Chủng L04 + Giống OM5451.
- NT6: Đất + Chủng L05 + Giống OM5451.
- NT7: Đất + Chủng L06 + Giống OM5451.
- NT8: Đất + Chủng L07 + Giống OM5451.
- NT9: Đất + Chủng L08 + Giống OM5451.

Bảng 3. Thành phần lý hóa đất thí nghiệm trong nhà lưới

Sa cấu đất (%)			pH _{H2O} (1:5)	EC* (mS/cm)	Tọa độ	
Cát	Thịt	Sét			X	Y
51,72	34,48	13,79	2,17±0,23	4,57±3,77	10°31'29.0"N	104°35'38.9"E

Ghi chú: (*) tỷ lệ 1:5, Sa cấu đất = thành phần cơ giới đất.

Bảng 4. Cách bón phân và thời điểm bón phân thí nghiệm

Đợt bón	Ngày sau cấy	Tỷ lệ	Cách bón
Bón thúc 1	+ 7	30% N + 50% P ₂ O ₅	Rải đều lên bề mặt đất
Bón thúc 2	+ 18	40% N + 50% P ₂ O ₅	Rải đều lên bề mặt đất
Bón thúc 3	+ 40	30% N + 50% K ₂ O	Rải đều lên bề mặt đất

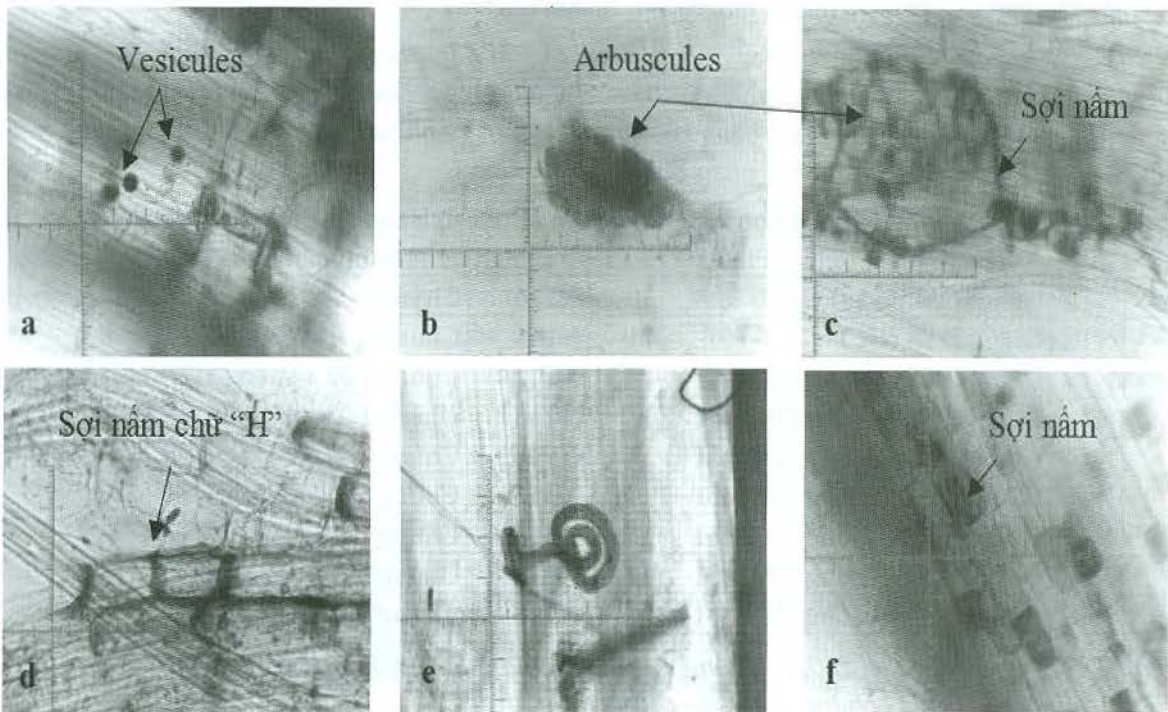
Ghi chú: (+) sau khi trồng.

Chỉ tiêu theo dõi: Sử dụng phân bón vô cơ có công thức 80N – 80P₂O₅ – 50K₂O cho giống OM5451 được khuyến cáo bởi Viện Khoa học Nông nghiệp Việt Nam (VAAS).

Chiều cao cây (cm), chiều dài rễ (cm) được thu thập vào các ngày thứ 7 và 14.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Sự xâm nhiễm của nấm rễ nội sinh rễ lúa



Hình 1. Hình dạng cấu trúc xâm nhiễm AMF bên trong rễ lúa (độ phóng đại 400X)

Ghi chú: a – dạng Vesicles, b, c – dạng Arbuscules, d – sợi nấm chữ “H”, e, f – nấm cuộn.

Kết quả khảo sát cho thấy hầu hết các mẫu rễ lúa cho thấy tỉ lệ xâm nhiễm của AMF dao động trong khoảng 20-50% (Bảng 5) và cao hơn so với nghiên cứu của Mohammad & Hiroshi (1995) tại Nhật Bản với tỷ lệ xâm nhiễm là 2 - 12%. Tỷ lệ xâm nhiễm tương quan nghịch với hàm lượng lân dễ tiêu trong đất. Hàm lượng lân dễ tiêu càng thấp thì tỉ lệ tạo dòng của AMF có xu hướng tăng. Cấu trúc xâm nhiễm của AMF trong tế bào rễ gồm các dạng sợi nấm và thể chùm (Arbuscules) chiếm ưu thế, trong

khi đó thể túi bóng (Vesicles) không được ghi nhận hoặc rất ít ở mẫu PL-07-OM5451 và TKH-09-OM5451. Một số nghiên cứu cho rằng thể Arbuscules là điểm chung của hầu hết các chi nhưng không phải tất cả AMF đều hình thành thể Vesicles (Lê Thị Thủy, 2012). Theo Parniske (2008) dạng Arbuscules xuất hiện không đồng đều ở các mẫu trong nghiên cứu này do những cấu trúc của chúng bị suy thoái nhanh theo thời gian.

Sợi nấm chữ “H” phát triển hệ sợi nấm giữa khoảng gian bào về hai hướng, khi nhuộm thì sợi nấm bắt màu sẫm với Tryphan blue. Sợi nấm cuộn là một dạng cấu trúc đặc biệt và hiếm xuất hiện có vai trò quan trọng trong chuyển hóa dinh dưỡng trong đất thành dạng mà cây trồng hấp thu được. Dạng

Vesicules có hình cầu hoặc tròn tập trung chủ yếu ở tế bào biểu bì rễ trong khi đó dạng Arbuscules xuất hiện đơn lẻ hoặc thành chùm, các bào tử nấm lúc chưa trưởng thành thì tập trung ở nhu mô của rễ và ở khu vực biểu bì khi bào tử già.

Bảng 5. Hình dạng và tỉ lệ xâm nhiễm của AMF bên trong rễ lúa

Mẫu	Cấu trúc xâm nhiễm AMF			P _{đề tiêu} (mg/100 g)	Tỉ lệ xâm nhiễm (%)	Mức độ xâm nhiễm
	Sợi nấm	Dạng Vesicules	Dạng Arbuscules			
PL-07-OM5451	+	+	+++	8,58	50,0	Trung bình
TKH-09-OM5451	+++	+	++	12,12	40,0	Trung bình
TKH-14-ĐT8	+	-	-	15,80	20,0	Thấp
VP-16-OM5451	+++	-	-	21,13	20,0	Thấp
TKH-01-OM5451	+	+++	-	23,53	30,0	Thấp
TKH-12-OM5451	+	-	+++	30,80	20,0	Thấp

Ghi chú: (+) Xuất hiện mức độ thấp, (++) Xuất hiện mức độ trung bình, (+++) Xuất hiện mức độ cao, (-) Chưa phát hiện

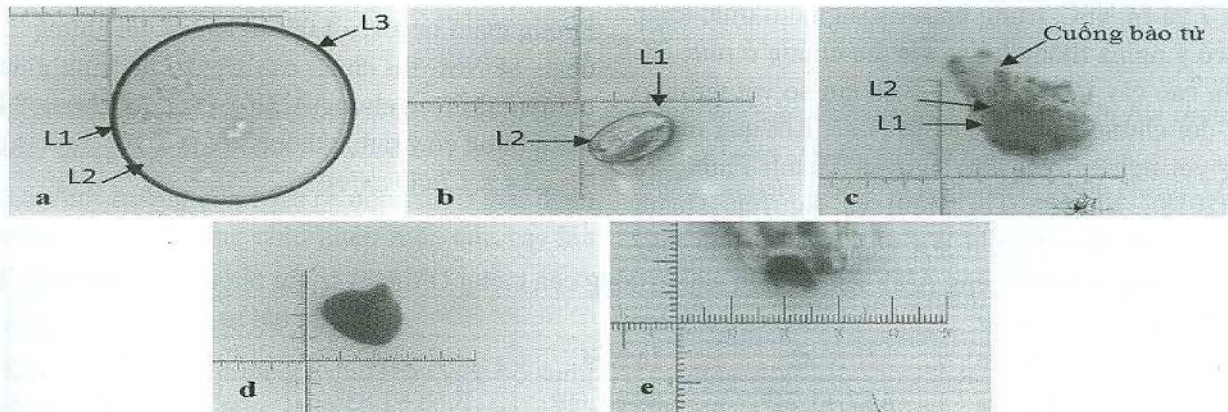
3.2. Phân lập bào tử nấm rễ từ đất vùng rễ lúa

Kết quả phân lập bào tử nấm rễ từ các mẫu đất cho thấy có sự hiện diện của 8 chủng gồm L01, L02, L03, L04, L05, L06, L07, L08 thuộc 3 chi là *Acaulospora* sp., *Gigaspora* sp. và *Septoglosum* sp. dựa trên phương pháp mô tả hình thái bào tử nấm rễ.

Chi *Acaulospora* sp.: Bào tử hình cầu, kích thước 70 - 100 μm, màu vàng nhạt (CYM=20/60/80), không có cuống bào tử. Thành tế bào gồm 3 lớp: L1 - độ dày 0,3- 0,5 μm, bề mặt nhẵn, mịn, nguyên vẹn do bào tử còn non, lúc già thành tế bào vỡ phồng thích các bào tử. L2 - độ dày 1,2 - 1,6 μm, phản ứng với Melzer bắt màu nâu đỏ đậm hơn so với nhuộm bằng PVLG. L3 - độ dày 0,5 - 1 μm, không phản ứng với Melzer, màu vàng nhạt.

Chi *Gigaspora* sp.: Bào tử hình cầu méo, kích thước khoảng 15 - 20 μm, màu vàng nhạt (CYM=60/70/80), không có cuống bào tử. Thành tế bào gồm 2 lớp: L1 - bề mặt nhẵn, mịn, bắt màu vàng sáng khi nhuộm với PVLG và màu nâu nhạt khi nhuộm với Melzer. L2 - độ dày 1,2 - 1,4 μm và tăng dần phụ thuộc vào mức độ trưởng thành của bào tử, bắt màu nâu nhạt khi nhuộm với PVLG và màu đỏ tím đậm trong thuốc thử Melzer.

Chi *Septoglosum* sp.: Bào tử hình dạng bất quy tắc, kích thước khoảng 40 - 50 μm, (CYM = 20/80/60), có cuống bào tử. Thành tế bào gồm 2 lớp: L1 - kích thước 2 - 4 μm, không phản ứng với thuốc nhuộm Melzer. L2 - kích thước 5 - 9 μm, bắt màu nâu đỏ khi phản ứng với thuốc thử Melzer.



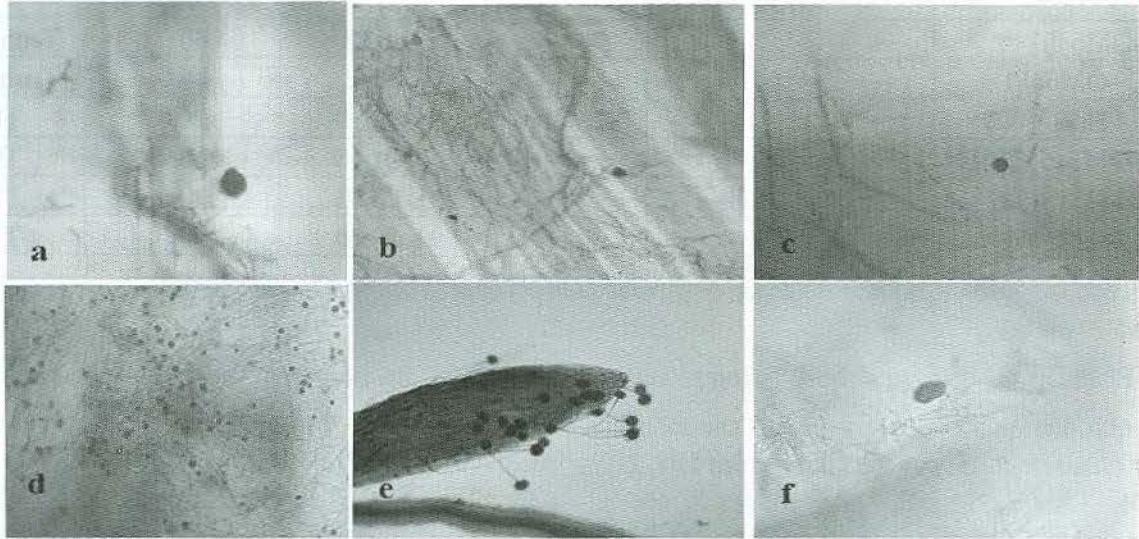
Hình 2. Hình thái bào tử các chi AMF trong đất trồng lúa (độ phóng đại 400X)

Ghi chú: a, b - chi *Acaulospora* sp., c - chi *Septoglosum* sp., d, e - chi *Gigaspora* sp.

3.3. Khả năng xâm nhiễm của nấm rễ nội sinh rễ lúa giai đoạn nảy mầm trong phòng thí nghiệm

Kết quả nhuộm rễ các nghiệm thức được chủng bào tử nấm rễ sau 1 tuần tái xâm nhiễm trong môi trường Yoshida chứa NaCl 6‰ và FeCl₂ 250 ppm cho thấy khả năng xâm nhiễm của AMF từ cao đến rất cao nhưng có sự khác biệt ở hai giống lúa. Chi *Septogloimus* sp., với giống lúa ĐT8 (100%) cao hơn so với *Acaulospora* sp. (66,67%) và *Gigaspora* sp.

(75%). Trong khi đó, giống OM5451 có tỉ lệ xâm nhiễm đạt 100% ở hai chi *Acaulospora* sp. và *Gigaspora* sp. nhưng chi *Septogloimus* sp. (80%) thấp hơn. Các chi có khả năng chống chịu và tạo dòng tốt ở điều kiện phèn mặn NaCl 6‰ và FeCl₂ 250 ppm, cây kí chủ ảnh hưởng đến tỉ lệ xâm nhiễm của AMF trong đó giống *Septogloimus* sp. phù hợp với giống ĐT8 và hai chi *Acaulospora* sp., *Gigaspora* sp. thích nghi với giống lúa OM5451



Hình 3. Hình dạng xâm nhiễm AMF rễ lúa giai đoạn nảy mầm (độ phóng đại 400X)

Ghi chú: a - *Gigaspora* sp., + OM5451, b - *Septogloimus* sp., + ĐT8, c - *Acaulospora* sp., + ĐT8, d - *Gigaspora* sp., + ĐT8, e - *Septogloimus* sp., + OM5451, f - *Acaulospora* sp., + OM5451.

3.4. Ảnh hưởng của nấm rễ nội sinh ở giai đoạn nảy mầm đến khả năng chịu phèn mặn của cây lúa trong phòng thí nghiệm

3.4.1. Chiều cao cây

Kết quả phân tích thống kê (Bảng 6) cho thấy chiều cao cây ở các nghiệm thức có chủng nấm rễ cao hơn so với đối chứng 1 (giống OM5451) giai đoạn 7 và 14 NSC, trung bình các nghiệm thức khác biệt có ý nghĩa thống kê so với đối chứng ở mức 5%. Chiều cao cây tăng từ 0,66 - 2,53 cm so với nghiệm thức đối chứng 1 giai đoạn 14 NSC. Kết quả tương đồng với nghiên cứu của Nguyễn Thanh Phong và ctv (2018), Nguyễn Thị Minh và Nguyễn Thanh Nhân (2016), Qiang-Shen Wu et al. (2011) cho thấy

AMF giúp tăng chiều cao cây bắp, cỏ mần trầu và cam ba lá ở giai đoạn nảy mầm.

Ngược lại, chiều cao cây trung bình ở các nghiệm thức có chủng AMF giai đoạn nảy mầm thấp hơn so với đối chứng 2 (giống ĐT8) ở giai đoạn 7 NSC (Bảng 7) với sự khác biệt thống kê ở mức 5%, riêng nghiệm thức có chủng L02 không khác biệt so với đối chứng 2. Chiều cao cây trung bình có chiều hướng giảm từ 0,41 - 4,05 cm so với đối chứng 2. Giai đoạn 14 NSC thì chiều cao cây trung bình giữa các nghiệm thức có chủng AMF so với đối chứng 2 khác biệt không có ý nghĩa thống kê.

3.4.2. Chiều dài rễ

Bảng 6. Ảnh hưởng AMF lên chỉ tiêu sinh trưởng của giống OM5451 trong phòng thí nghiệm

Nghiệm thức	Chủng nấm rễ	Chiều cao cây (cm)		Chiều dài rễ (cm)	
		7 NSC	14 NSC	7 NSC	14 NSC
ĐC1	Không	5,57 ± 1,71 ^b	7,58 ± 1,69 ^b	3,53 ± 1,83 ^b	5,13 ± 1,74 ^b
NT1	L01	8,23 ± 1,82 ^a	9,93 ± 1,66 ^a	5,21 ± 1,10 ^{ab}	7,07 ± 1,79 ^a
NT2	L02	7,58 ± 2,54 ^{ab}	8,40 ± 2,95 ^{ab}	4,92 ± 1,10 ^{ab}	5,77 ± 1,32 ^{ab}

NT3	L03	7,75±1,56 ^{ab}	8,24±1,61 ^{ab}	5,75±1,51 ^a	7,04±1,26 ^a
NT4	L04	7,13±1,34 ^{ab}	7,81±1,42 ^{ab}	5,48±1,24 ^a	6,40±1,20 ^{ab}
NT5	L05	8,28±1,47 ^a	8,73±1,95 ^{ab}	5,80±1,27 ^a	6,85±1,30 ^a
NT6	L06	6,70±2,58 ^{ab}	8,51±2,16 ^{ab}	5,04±2,39 ^{ab}	6,04±1,40 ^{ab}
NT7	L07	8,13±1,59 ^a	9,14±0,98 ^{ab}	5,63±1,34 ^a	6,51±1,54 ^{ab}
NT8	L08	8,17±2,31 ^a	10,11±2,85 ^a	5,30±1,50 ^a	6,64±1,69 ^{ab}
CV (%)		27,46	24,40	31,20	24,52
F		3,31*	2,77*	3,07*	2,72*
p		0,00	0,01	0,00	0,01

Ghi chú: Số liệu có các chữ cái theo sau trong cùng một cột cho thấy sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) qua phép thử Tukey; *: khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức 5%.

Các nghiệm thức có chùng AMF ở giai đoạn này mầm giúp tăng chiều cao cây và chiều dài rễ trên giống lúa OM5451 so với đối chứng trong môi trường dinh dưỡng Yoshida có bổ sung NaCl 6‰ và 250 ppm FeCl₂. Tuy nhiên, ở giống ĐT8 thì các nghiệm thức có chùng AMF lại làm giảm chiều cao và chiều dài so với đối chứng trong cùng điều kiện thí nghiệm. Điều này cho thấy AMF có ảnh hưởng không hiệu quả lên

khả năng chống chịu phèn mặn của giống lúa ĐT8. Nguyên nhân có thể là do giống lúa ĐT8 không phải là vật chủ của các chùng AMF được phân lập, dẫn đến sự không tương thích trong mối quan hệ cộng sinh từ đó cây lúa tăng cường đáp ứng lại các phản ứng để phục hồi và ngăn cản sự xâm nhiễm của AMF, làm mất cân bằng hệ thống phòng thủ của thực vật (Allen *et al.*, 1989).

Bảng 7. Ảnh hưởng AMF lên chỉ tiêu sinh trưởng của giống ĐT8 trong phòng thí nghiệm

Nghiệm thức	Chùng nấm rễ	Chiều cao cây (cm)		Chiều dài rễ (cm)	
		7 NSC	14 NSC	7 NSC	14 NSC
ĐC2	Không	9,68±2,43 ^a	13,01±2,39 ^a	4,80±1,55 ^a	5,97±1,22 ^a
NT1	L01	7,35±2,52 ^{ab}	10,95±4,30 ^a	3,29±0,84 ^{ab}	4,15±1,37 ^b
NT2	L02	9,27±2,10 ^a	11,77±3,68 ^a	3,83±0,92 ^{ab}	4,73±1,50 ^{ab}
NT3	L03	6,43±2,91 ^{ab}	10,99±2,99 ^a	2,65±1,09 ^b	4,51±1,53 ^{ab}
NT4	L04	7,49±2,58 ^{ab}	11,92±2,21 ^a	3,15±1,68 ^b	5,19±1,05 ^{ab}
NT5	L05	5,63±2,13 ^b	10,04±4,36 ^a	2,58±1,35 ^b	3,92±1,44 ^b
NT6	L06	7,17±4,22 ^{ab}	9,25±4,10 ^a	2,82±1,34 ^b	3,71±1,53 ^b
NT7	L07	6,89±3,49 ^{ab}	9,61±3,98 ^a	3,49±1,99 ^{ab}	5,04±2,34 ^{ab}
NT8	L08	7,67±2,88 ^{ab}	9,74±3,93 ^a	3,93±0,73 ^{ab}	5,14±1,79 ^{ab}
CV (%)		40,18	33,91	42,62	35,06
F		2,79*	1,69 ^{ns}	4,15**	2,81*
p		0,01	0,11	0,00	0,01

Ghi chú: Số liệu có các chữ cái theo sau trong cùng một cột cho thấy sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) qua phép thử Tukey; *: khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức 5%, ns: không khác biệt.

3.5. Ảnh hưởng của nấm rễ nội sinh ở giai đoạn này mầm đến khả năng chịu phèn mặn của cây lúa trong nhà lưới

3.5.1. Chiều cao cây

Kết quả trình bày ở bảng 8 cho thấy việc bổ sung các chùng AMF giúp tăng chiều cao cây trên giống lúa OM5451 trong điều kiện nhà lưới. Giai đoạn 7 NSC, các nghiệm thức có chùng AMF giúp tăng

chiều cao cây trong đó nghiệm thức có chùng L03 và L08 có chiều cao cây tăng lần lượt là 2,28 cm và 3,18 cm so với nghiệm thức đối chứng, khác biệt thống kê ở mức 5%. Tương tự, giai đoạn 14 NSC thì nghiệm thức có chùng L03 có chiều cao cây tăng 2,14 cm và L08 tăng 1,99 cm, khác biệt thống kê so với nghiệm thức đối chứng không chùng AMF.

3.5.2. Chiều dài rễ

Các nghiệm thức chủng AMF có ảnh hưởng đến sự tăng chiều dài rễ trên giống lúa OM5451 (Bảng 8). Trong đó, nghiệm thức có chủng L03 và L08 giúp tăng chiều cao cây so với nghiệm thức đối chứng ở giai đoạn 7 và 14 NSC. Nghiệm thức có chủng L03, chiều cao cây tăng 1,69 cm và nghiệm thức có chủng L08 tăng 1,56 cm, khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức 5% so với nghiệm thức đối chứng giai đoạn 7 NSC. Giai đoạn 14 NSC, nghiệm thức có chủng L03 và L08 giúp tăng chiều cao cây tương ứng là 3,28 cm và 5,62 cm, khác biệt thống kê ở mức 0,1% so với nghiệm thức đối chứng.

Kết quả cho thấy sự ảnh hưởng khác nhau giữa các nghiệm thức có chủng AMF trên giống lúa OM5451 trong cùng điều kiện môi trường. Chủng

L03 và L08 có tiềm năng tạo dòng và hỗ trợ tăng trưởng chiều cao cây và chiều dài rễ ở điều kiện nhà lưới trong khi các nghiệm thức có chủng AMF khác xu hướng phát triển thấp hơn so với nghiệm thức đối chứng. Nguyên nhân có thể do ở giai đoạn mầm và mạ thì khả năng tồn tại và tạo dòng của AMF bị hạn chế bởi cây lúa trồng trong điều kiện ngập nước nên thiếu hụt oxy trong khi đó mô khí của cây lúa chưa phát triển hoàn toàn dẫn đến mô khí không cung cấp đủ lượng oxy dự trữ cho AMF tồn tại (Smith và Read, 2008; Watanarajanaporn, 2013; Vallino *et al.*, 2014; Wang *et al.*, 2015). Kết quả tuyển chọn được 2 chủng là L03 và L08 tăng khả năng chống chịu phèn mặn trên giống lúa OM5451 trong điều kiện nhà lưới.

Bảng 8. Ảnh hưởng AMF lên chỉ tiêu sinh trưởng của giống OM5451

Nghiệm thức	Chủng nấm rễ	Chiều cao cây (cm)		Chiều dài rễ (cm)	
		7 NSC	14 NSC	7 NSC	14 NSC
NT1	Không	15,90 \pm 2,63 ^{abc}	18,47 \pm 2,39 ^{ab}	5,25 \pm 0,95 ^{ab}	5,77 \pm 1,48 ^{bc}
NT2	L01	13,39 \pm 3,61 ^c	15,51 \pm 3,95 ^b	5,79 \pm 2,17 ^{ab}	7,68 \pm 2,24 ^{bc}
NT3	L02	14,63 \pm 4,87 ^{abc}	18,47 \pm 4,75 ^{ab}	5,75 \pm 2,59 ^{ab}	8,88 \pm 2,96 ^{ab}
NT4	L03	18,18 \pm 3,62 ^{ab}	20,61 \pm 3,99 ^a	6,94 \pm 1,35 ^a	9,05 \pm 3,91 ^{ab}
NT5	L04	15,17 \pm 4,40 ^{abc}	17,96 \pm 3,21 ^{ab}	5,15 \pm 1,33 ^{ab}	5,31 \pm 1,89 ^c
NT6	L05	14,84 \pm 3,70 ^{abc}	17,41 \pm 3,94 ^{ab}	4,32 \pm 1,58 ^b	6,00 \pm 2,41 ^{bc}
NT7	L06	14,35 \pm 4,10 ^{bc}	16,29 \pm 4,36 ^{ab}	5,27 \pm 1,80 ^{ab}	5,92 \pm 1,89 ^{bc}
NT8	L07	16,41 \pm 3,44 ^{abc}	18,96 \pm 2,82 ^{ab}	5,32 \pm 1,78 ^{ab}	7,57 \pm 2,02 ^{bc}
NT9	L08	19,08 \pm 3,44 ^a	20,46 \pm 3,70 ^a	6,81 \pm 1,96 ^a	11,39 \pm 4,44 ^a
Trung bình		15,74 \pm 4,06	18,28 \pm 3,96	5,61 \pm 1,90	7,53 \pm 3,26
CV (%)		25,77	21,66	33,87	43,31
F		3,16*	2,83*	2,82*	6,48***
p		0,00	0,01	0,01	0,00

Ghi chú: Số liệu có các chữ cái theo sau trong cùng một cột cho thấy sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) qua phép thử Tukey; (*): khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức 5%, (***): khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức 0,1%; ĐC - đối chứng, NT - nghiệm thức.

4. KẾT LUẬN

Tỉ lệ xâm nhiễm của nấm rễ nội sinh ở rễ lúa chiếm 20 - 50% trong điều kiện canh tác ngập nước, có mối tương quan nghịch với hàm lượng lân dễ tiêu trong đất (8,58 - 30,80 mg/100 g). Cấu trúc xâm nhiễm của AMF vào trong rễ lúa gồm dạng sợi nấm, túi (Vesicular) và chùm (Arbuscular) trong đó dạng sợi nấm và thể chùm (Arbuscules) chiếm ưu thế còn thể túi bóng (Vesicules) không được ghi nhận hoặc rất ít. Định danh dựa trên hình thái bào tử nấm rễ cho thấy các chủng nấm AMF phân lập thuộc 3 chi là

Acaulospora sp., *Gigaspora* sp. và *Septoglomus* sp. trong đất canh tác lúa nhiễm phèn mặn. Tỉ lệ xâm nhiễm đạt từ cao đến rất cao 66,67% - 100% trong môi trường Yoshida với NaCl 6‰ và FeCl₂ 250 ppm. Cây kí chủ ảnh hưởng đến tỉ lệ xâm nhiễm của AMF, trong đó chi *Septoglomus* sp. phù hợp với giống DT8 và 2 chi *Acaulospora* sp., *Gigaspora* sp. thích nghi với giống OM5451. Tuyển chọn được 8 chủng AMF (L01, L02, L03, L04, L05, L06, L07, L08) tăng khả năng chống chịu phèn mặn trên giống lúa OM5451 trong môi trường Yoshida có bổ sung NaCl 6‰ và

FeCl₂ 250 ppm. Trong điều kiện nhà lưới, tuyển chọn được 2 chủng L03 và L08 thuộc 2 chi *Acaulospora* sp. và *Gigaspora* sp. có tiềm năng giúp tăng khả năng chống chịu phèn mặn trên giống lúa OM5451.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Allen, M. F., Allen E. B. & Friese, C. F., 1989. Responses of the non-mycotrophic plant *Salsola kali* to invasion by vesicular - arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytol*, 111 : 45-49.

2. Daniels B. A. & Skipper H. D., 1982. Methods for the recovery and quantitative estimation of propagules from soil. In: Schneck ND (ed). *Methods and principles of mycorrhizal Research*. Minnesota, American Phytopathological Society.

3. Fortin J. A., Becard G., Deleck S., Dalpé Y., St-Arnaud M., Coughlan A. P. & Piche Y., 2002. *Arbuscular mycorrhizal* on root-organ cultures, NRC Research Press. *Can. J. Bot*, 80 (1): 1 -20.

4. International Rice Research Institute (IRRI), 2002. *Standard Evaluation System for Rice (SES)*. Phillipines, LosBanos, IRRI.

5. Lê Thị Thủy, 2012. Nghiên cứu hệ nấm cộng sinh *Arbuscular Mycorrhiza*, trong đất và rễ cam tại Quý Hợp - Nghệ An. Luận văn thạc sĩ công nghệ sinh học. Đại học Thái Nguyên.

6. Mohammad Z. S. & Hiroshi H., 1995. Effect of Indigenous *Arbuscular Mycorrhizal* Fungi in Paddy Fields on Rice Growth and N, P, K Nutrition under Different Water Regimes. *Soil Sci Plant Nutr*, 41 (3): 505 - 514.

7. Nguyễn Thanh Phong, Nguyễn Thị Quyên, Trần Hoàng Ý, Khả Lê Khánh Toàn và Đỗ Thị Xuân, 2018. Khảo sát khả năng hỗ trợ sinh trưởng của cộng đồng nấm rễ trên cây bắp trong điều kiện nhà lưới. *Tạp chí Khoa học - Trường Đại học Cần Thơ*, 54 (4B): 91 - 99.

8. Nguyễn Thị Minh và Nguyễn Thanh Nhân, 2016. Tuyển chọn giống *Arbuscular mycorrhizae* và *Rhizobium* dùng để sản xuất vật liệu sinh học nhằm tái tạo thảm thực vật làm tiêu cảnh khuôn viên. *Tạp chí Khoa học Nông nghiệp Việt Nam*, 14: 1238 - 1247.

9. Parniske M, 2008. Arbuscular mycorrhiza: The mother of plant root endosymbioses. *Nat Rev Microbiol*, 6 (10): 763 - 775.

10. Qiang - Shen Wu, Ying - Ning Zou, Xin - Hua He & Peng Luo, 2011. *Arbuscular mycorrhizal* fungi can alter some root characters and physiological status in trifoliate orange (*Poncirus trifoliata* L. Raf.) seedlings. *Plant Growth Regul*, 65: 273 - 278.

11. Smith, S. E. & Read, D. J., 2008. *Mycorrhizal Symbiosis*. Third eds. Academic Press: San Diego, California, USA.

12. Trần Thị Như Hằng, Trần Thị Hồng Hà, Nguyễn Đình Luyện, Posta K và 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.

13. Võ Thị Tú Trinh và Dương Minh, 2017. Sự phân bố và xâm nhiễm của nấm rễ nội sinh (Vesicular Arbuscular Mycorrhiza - VAM) trong mẫu rễ và đất trồng bắp tại một số tỉnh đồng bằng sông Cửu Long. *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*, 53b: 105 - 111.

14. Wang Y. T., Qiu Q., Yang Z. Y., Hu Z. J., Tam N. F. Y. & Xin G. R., 2010. Arbuscular mycorrhizal fungi in two mangroves in South China. *Plant Soil*, 331: 181 - 191.

15. Watanarojanaporn N, Boonkerd N, Tittabutr P, Longtonglang A, Young J. P. W. & Teaumroong N, 2013. Effect of rice cultivation systems on indigenous arbuscular mycorrhizal community structure. *Microb Environ*, 28 (3): 316 - 324.

16. Yolande D. & Sylvie M. S., 2013. Microwave - assisted technology for the clearing and staining of arbuscular mycorrhizal fungi in roots. *Mycorrhiza*, 23: 333 - 340.

17. Zangaro W., Nisizaki S. M. A. & Domingos J. C. B., Nakano E. M., 2002. Arbuscular mycorrhizal in native woody species of Tibagi River Basin. *Paraná Cerene*, 8: 77 - 87.

ISOLATION AND SELECTION THE INDIGENOUS ARBUSCULAR MYCORRHIZAL FUNGI
FOR SALINE AND ALKALINE TOLERANT ENHANCEMENT OF RICE (*Oryza sativa* L.)
CUTTIVATED IN GIANG THANH DISTRICT, KIEN GIANG PROVINCE

Nguyen Van Le¹, Thach Thi Bao Ngoc², Tran Hoang Sieu¹

¹Kien Giang University

Email: nvle@vnkgu.edu.vn

²Can Tho University

Summary

Arbuscular Mycorrhizal Fungi (AMF) have the capacity to survive and colony for enhancing the tolerant levels and rice production in a flooded condition. 8 strains of AMF were isolated and selected (L01, L02, L03, L04, L05, L06, L07, L08) from 14 rhizosphere soil samples (taken from Giang Thanh district) to increase salinity - alkalinity tolerance of OM5451 rice variety in Yoshida media with addition of 6‰ NaCl and 250 ppm FeCl₂. 2 strains L03 and L08 were selected from two genera *Acaulospora* sp. and *Gigaspora* sp. to increase salinity - alkalinity tolerance of OM5451 rice variety under the greenhouse condition. The results show that inoculation rates reached at 20 - 50%, in range, which was classified from low to medium and has a negative correlation with available phosphorus (8.58 - 30.80 mg/100g). There are three types structures infection: mycelia, vesicular and arbuscular. Morphologic identification published 3 genera: *Acaulospora* sp., *Gigaspora* sp., *Septoglomus* sp.. Re-inoculated rate occupied with 66.67% - 100% in Yoshida and NaCl 6‰ and FeCl₂ 250 ppm solution. There were 8 strains that increasing the height of shoots 0.66 - 2.53 cm and the length of roots 0.64 - 1.94 cm, in range, statistically significant difference compared to control 1 (OM5451) in laboratory. There were 2 strains continuously increased the height of shoots and the length of roots in greenhouse condition: strain L03 (2.14 cm; 1.59 cm) and strain L08 (1.99 cm; 1.56 cm), significantly different compared to control (OM5451). This study reported that 2 strains L03 and L08 could enhance the saline-alkaline resistant ability on OM5451 variety.

Keywords: *Endomycorrhiza*, AMF, isolation, Giang Thanh district, saline - alkaline resistance, rice.

Người phản biện: PGS.TS. Lê Như Kiều

Ngày nhận bài: 28/4/2020

Ngày thông qua phản biện: 29/5/2020

Ngày duyệt đăng: 5/6/2020