

VIỆN HÀN LÂM KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM  
VIỆN SINH THÁI VÀ TÀI NGUYÊN SINH VẬT

\*\*\*\*\*



BÙI ANH VĂN

**BƯỚC ĐẦU NGHIÊN CỨU ĐA DẠNG KHU HỆ  
NĂM VÙNG RỄ CÂY NGHỆ VÀNG (*CURCUMA LONGA* L.)  
VÀ KHẢO SÁT MỘT SỐ YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG**

**LUẬN VĂN THẠC SĨ KHOA HỌC**

**Hà Nội - 2018**

VIỆN HÀN LÂM KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM  
VIỆN SINH THÁI VÀ TÀI NGUYÊN SINH VẬT

\*\*\*\*\* \*\*



**BÙI ANH VĂN**

**BƯỚC ĐẦU NGHIÊN CỨU ĐA DẠNG KHU HỆ  
NĂM VÙNG RỄ CÂY NGHỆ VÀNG (*CURCUMA LONGA L.*)  
VÀ KHẢO SÁT MỘT SỐ YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG**

Chuyên ngành: Sinh học thực nghiệm  
Mã số: 8420114

**LUẬN VĂN THẠC SĨ KHOA HỌC**

**HƯỚNG DẪN KHOA HỌC: PGS.TS LÊ MAI HƯƠNG**

**Hà Nội - 2018**

## LỜI CẢM ƠN

Trong suốt quá trình học tập, nghiên cứu và hoàn thành luận văn, tôi đã nhận được nhiều sự giúp đỡ của các thầy cô, các anh chị và gia đình.

Với tất cả tấm lòng chân thành, tôi xin bày tỏ lòng biết ơn sâu sắc tới PGS.TS Lê Mai Hương người đã tận tình giúp đỡ, chỉ bảo, hướng dẫn tôi thực hiện nghiên cứu, góp ý và sửa chữa để tôi hoàn thiện luận văn này.

Tôi xin được bày tỏ lòng biết ơn đến đề tài “Nghiên cứu metagenome của vi sinh vật đất vùng rẫy một số cây trồng ở Việt Nam: cây thuốc có củ (cây nghệ), cây công nghiệp (cà phê) nhằm tăng năng suất và chất lượng cây trồng” MS: ĐTĐLCN.14/4 thuộc chương trình Hợp tác Nghiên cứu Việt Nam – Hà Lan, do PGS.TS Lê Mai Hương chủ nhiệm đã cho tôi cơ hội được thực hiện nghiên cứu của mình.

Tôi xin chân thành cảm ơn các Thầy, Cô giáo của Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật, Trường Đại Học Thái Nguyên đã tận tình truyền đạt cho tôi kiến thức trong suốt 2 năm học tập, là nền tảng cho tôi trong quá trình nghiên cứu luận văn, là hành trang quý báu theo tôi trong suốt cuộc đời.

Tôi xin chân thành cảm ơn Ths. Nguyễn Đình Luyện, Ths. Hoàng Kim Chi và tập thể cán bộ công tác tại phòng Sinh học thực nghiệm - Viện Hoá học các Hợp chất thiên nhiên đã giúp đỡ tôi trong quá trình hoàn thành luận văn.

Tôi xin bày tỏ lòng biết ơn sâu sắc nhất đến gia đình thân yêu của tôi, những người đã luôn ở bên tôi, ủng hộ động viên và là chỗ dựa vững chắc để tôi yên tâm học tập hoàn thành khóa học này.

Cuối cùng tôi xin kính chúc quý Thầy, Cô, Anh, Chị và gia đình dồi dào sức khỏe, thành công trong sự nghiệp!

***Tôi xin chân thành cảm ơn!***

***Hà Nội, ngày 18 tháng 10 năm 2018***

**Tác giả luận văn**

## **LỜI CAM ĐOAN**

Tôi xin cam đoan rằng số liệu và kết quả nghiên cứu trong luận văn này là hoàn toàn trung thực, chưa hề sử dụng cho bảo vệ một học vị nào. Mọi sự giúp đỡ cho hoàn thành luận văn đều đã được cảm ơn. Các thông tin, tài liệu trình bày trong luận văn này đã được ghi rõ nguồn gốc./.

**Tác giả luận văn**

## MỤC LỤC

LỜI CẢM ƠN .....	i
LỜI CAM ĐOAN .....	ii
MỤC LỤC.....	iii
DANH MỤC KÝ HIỆU VIẾT TẮT.....	v
DANH MỤC HÌNH ẢNH .....	vi
DANH MỤC BẢNG.....	vii
DANH MỤC BIỂU ĐỒ .....	viii
MỞ ĐẦU.....	1
CHƯƠNG I : TỔNG QUAN VẤN ĐỀ NGHIÊN CỨU .....	3
1.1. Cây Nghệ vàng( <i>Curcuma longa</i> L.) .....	3
1.1.1. Đặc điểm thực vật.....	3
1.1.2. Thành phần hóa học.....	4
1.2. Đại cương khu hệ nấm vùng rễ.....	5
1.2.1. Nấm rễ nội cộng sinh (Endomycorrhizae).....	5
1.2.2. Nấm ngoại cộng sinh (Ectomycorrhizae) .....	6
1.2.3. Nấm rễ nội ngoại cộng sinh (Ectoendo mycorrhiza).....	7
1.2.4. Một số loại nấm rễ khác.....	8
1.2.5. Sự hình thành nấm cộng sinh vùng rễ.....	8
1.2.6. Tính chuyên hóa của khu hệ nấm cộng sinh vùng rễ.....	10
1.3. Vai trò khu hệ nấm vùng rễ .....	11
1.4. Nấm vùng rễ trên cây thuốc .....	15
1.5. Một số yếu tố tác động đến khu hệ nấm vùng rễ.....	15
1.5.1. Ảnh hưởng của các yếu tố lý học.....	15
1.5.2. Sự tương quan giữa các nhóm vi sinh vật với khu hệ nấm vùng rễ.....	17
1.6. Một số nghiên cứu về khu hệ nấm vùng rễ.....	17
1.6.1. Trên thế giới.....	17
1.6.2. Việt Nam.....	21
1.7. Công nghệ metagenomics trong nghiên cứu các khu hệ vi sinh vật.....	23
1.7.1. Giới thiệu về công nghệ metagenomics.....	23
1.7.2. Công nghệ metagenomics trong nghiên cứu khu hệ vi sinh vật đất.....	24
CHƯƠNG II : NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP.....	26

2.1. NGUYÊN LIỆU.....	26
2.1.1. Mẫu nghiên cứu .....	26
2.1.3. Hóa chất .....	26
2.1.4. Thiết bị thí nghiệm.....	26
2.1.5. Môi trường.....	26
2.2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU .....	27
2.2.1. Phương pháp thu thập mẫu .....	27
2.2.2. Phân lập bào tử AM .....	28
2.2.3. Phân lập chủng nấm vùng rễ .....	28
2.2.4. Bố trí thí nghiệm ảnh hưởng của hàm lượng nitơ đến khu hệ AM.....	29
2.2.5. Hoạt tính sinh enzyme ngoại bào.....	29
2.2.6. Tách chiết DNA tổng số .....	29
2.2.7. Kỹ thuật PCR.....	30
2.2.8. Phương pháp Tách dòng gen thông qua vector pBT .....	31
2.2.9. Đọc và phân tích trình tự .....	32
CHƯƠNG III : KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN.....	34
3.1. Phân lập bào tử nấm rễ nội cộng sinh .....	34
3.2. Ảnh hưởng của thời gian thu mẫu đến khu hệ nấm AM vùng rễ <i>Curcuma longa</i> L.....	35
3.3. Ảnh hưởng của hàm lượng nitơ đến khu hệ AM.....	38
3.4. Phân lập các chủng nấm vùng rễ khác .....	42
3.4.1. Phân lập mẫu rễ.....	42
3.4.2. Phân lập mẫu đất vùng rễ.....	43
3.5. Khả năng sinh enzyme ngoại bào.....	45
CHƯƠNG IV : KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ.....	49
4.1. Kết Luận.....	49
4.2. Kiến nghị.....	49
TÀI LIỆU THAM KHẢO .....	50
PHỤ LỤC.....	56

## DANH MỤC KÝ HIỆU VIẾT TẮT

STT	Từ viết tắt	Viết đầy đủ
1	AM	Endomycorrhizae
2	EM	Ectomycorrhizae
3	AEM	Nấm rễ nội cộng sinh không có màng ngăn
4	SEM	Nấm rễ nội cộng sinh có màng ngăn

## DANH MỤC HÌNH ẢNH

Hình 1. 1: Cây nghệ vàng trồng tại Hưng Yên [48].....	3
Hình 1. 2: Nấm rễ nội cộng sinh [47] .....	6
Hình 1. 3: Nấm rễ ngoại cộng sinh [46].....	7
Hình 3. 1: Bào tử AM phân lập từ các mẫu đất N1t và N11t .....	35
Hình 3. 2: Khả năng sinh enzyme ngoại bào .....	47



## DANH MỤC BẢNG

Bảng 2. 1: Trình tự môi sử dụng cho định danh các chủng nấm .....	30
Bảng 2. 2: Trình tự môi cho định danh các chủng nấm AM.....	31
Bảng 3. 1: Số lượng bào tử AM tổng số trong 100g đất phân lập .....	34
Bảng 3. 2: Số lượng và thành phần nấm AM trong các mẫu đất vùng rẫy ở khoảng thời gian khác nhau. ....	35
Bảng 3. 3: Số lượng và thành phần nấm AM trong các mẫu đất vùng rẫy ở điều kiện nitơ khác nhau. ....	40
Bảng 3. 4: Đặc điểm các chủng nấm phân lập từ rẫy cây nghệ .....	44
Bảng 3. 5: Đặc điểm các chủng nấm phân lập từ đất vùng rẫy cây nghệ .....	46
Bảng 3. 6: Khả năng sinh enzyme ngoại bào của các chủng nấm phân lập	47

## DANH MỤC BIỂU ĐỒ

Biểu đồ 3. 1: Tổng số loài và chi nấm AM có trong các mẫu đất .....	37
Biểu đồ 3. 2: Tổng số loài và chi nấm AM có trong các mẫu đất vùng rễ ở điều kiện bón nitơ khác nhau .....	41
Biểu đồ 3. 3: Khả năng sinh enzyme ngoại bào của các chủng nấm phân lập...	47