

**BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO VIỆN HÀN LÂM KHOA HỌC
VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM**

VIỆN SINH THÁI VÀ TÀI NGUYÊN SINH VẬT



ĐỖ HOÀNG HẢI

**NGHIÊN CỨU KHU HỆ NẤM RỄ VÀ ĐÁNH GIÁ TÁC ĐỘNG
CỦA VIỆC SỬ DỤNG CHẾ PHẨM NẤM RỄ LÊN NĂNG SUẤT
VÀ CHẤT LƯỢNG CỦA CÂY THUỐC BẠCH CHỈ (*ANGELICA
DAHURICA* (FISCH. EX HOFFM.) BENTH. ET HOOK. F.)**

LUẬN VĂN THẠC SĨ KHOA HỌC

HÀ NỘI – 2015
VIỆN SINH THÁI VÀ TÀI NGUYÊN SINH VẬT



ĐỖ HOÀNG HẢI

**NGHIÊN CỨU KHU HỆ NẤM RỄ VÀ ĐÁNH GIÁ TÁC ĐỘNG
CỦA VIỆC SỬ DỤNG CHẾ PHẨM NẤM RỄ LÊN NĂNG SUẤT
VÀ CHẤT LƯỢNG CỦA CÂY THUỐC BẠCH CHỈ *ANGELICA
DAHURICA* (FISCH. EX HOFFM.) BENTH. ET HOOK. F.**

Chuyên ngành: Vi sinh vật học

Mã số: 60420103

LUẬN VĂN THẠC SĨ KHOA HỌC

HƯỚNG DẪN KHOA HỌC: TS. TRẦN THỊ NHƯ HẰNG

HÀ NỘI – 2015

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 TS. Trần Thị Như Hằng 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 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 cũng xin chân thành cảm ơn PGS.TS Lê Mai Hương 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 15 tháng 12 năm 2015

Tác giả luận văn

Đỗ Hoàng Hải

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

Đỗ Hoàng Hải

MỤC LỤC

LỜI CẢM ƠN.....	i
LỜI CAM ĐOAN.....	ii
MỤC LỤC	iii
DANH MỤC CÁC KÍ HIỆU VÀ CHỮ VIẾT TẮT.....	vii
DANH MỤC HÌNH.....	viii
DANH MỤC BẢNG, BIỂU.....	ix
MỞ ĐẦU	1
CHƯƠNG 1: TỔNG QUAN TÀI LIỆU	3
1.1. Giới thiệu về khu hệ nấm cộng sinh trong đất và rễ	3
1.2. Phân loại khu hệ nấm cộng sinh trong đất và rễ.....	4
1.2.1. Nấm rễ ngoại cộng sinh (<i>Ectomycorrhiza</i>)	4
1.2.2. Nấm rễ nội cộng sinh (<i>Endomycorrhiza</i>).....	6
1.2.3. Nấm rễ nội ngoại cộng sinh (<i>Ectoendo mycorrhiza</i>)	8
1.3. Tính chuyên hóa của khu hệ nấm cộng sinh trong đất và rễ.....	8
1.4. Vai trò của khu hệ nấm cộng sinh trong đất và rễ đối với cây chủ.....	9
1.4.1. Tăng khả năng hấp thụ P và dinh dưỡng của cây trồng.....	10
1.4.2. Hình thành chất kích thích sinh trưởng	10
1.4.3. Nâng cao sức chống chịu và thích nghi với môi trường của cây trồng	11
1.4.4. Cải thiện môi trường xung quanh cây.....	12
1.4.5. Tăng khả năng kháng bệnh của cây trồng	12
1.5. Những nghiên cứu và ứng dụng của khu hệ nấm cộng sinh trong đất và rễ	13
1.5.1. Trên thế giới	13
1.5.2. Ở Việt Nam	14
1.6. Tình hình phát triển cây dược liệu ở Việt Nam [1].....	16

1.7. Cây bạch chỉ (<i>Angelica dahurica</i> (Fisch. ex Hoffm.) Benth.et Hook. f.).....	18
1.7.1. Tên khoa học	18
1.7.2. Nguồn gốc, phân bố	18
1.7.3. Đặc điểm sinh học, sinh thái	19
1.7.4. Sản lượng cây.....	19
1.7.5. Hoạt tính sinh học (Tác dụng dược lý)	19
1.7.6. Thành phần hóa học	21
1.7.7. Hoạt chất <i>imperatorin</i>	22
CHƯƠNG 2: VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU	24
2.1. Vật liệu	24
2.1.1. Đất và rễ cây <i>Bạch chỉ</i>	24
2.1.2. Hóa chất và thiết bị thí nghiệm	24
2.1.2.1. Hóa chất.....	24
2.1.2.2. Thiết bị phòng thí nghiệm.....	24
2.1.3. Môi Trường	25
2.1.3.1. Môi trường phân lập nấm vùng rễ.....	25
2.1.3.2. Môi trường nuôi cấy, lên men và giữ giống.....	25
2.1.3.3. Môi trường thử hoạt tính enzyme	26
2.1.3.4. Môi trường đánh giá hoạt tính phân giải phot phát khó tan....	26
2.1.3.5. Môi trường đánh giá khả năng sinh IAA	26
2.2. Phương pháp nghiên cứu	26
2.2.1. Phương pháp phân lập	26
2.2.1.1. Thu thập mẫu.....	26
2.2.1.2. Phân lập các chủng nấm.....	27
2.2.2. Tuyển chọn các chủng nấm hữu hiệu để sản xuất chế phẩm thử nghiệm	27

2.2.2.1. Xác định hoạt khả năng hoà tan phosphat canxi của các chủng nấm phân lập	27
2.2.2.2. Xác định hoạt tính phân giải phot phát khó tan của các chủng nấm lựa chọn	28
2.2.2.3. Đánh giá khả năng sinh tổng hợp Indole-3-acetic acid (IAA) của các chủng nấm lựa chọn	28
2.2.2.4. Xác định khả năng đối kháng giữa các chủng nấm lựa chọn	29
2.2.3. Định danh các chủng nấm bằng sinh học phân tử.....	29
2.2.4. Xác định điều kiện nuôi cấy tối ưu của các chủng nấm đã lựa chọn	30
2.2.4.1. Xác định môi trường nuôi cấy thích hợp của các chủng nấm lựa chọn	30
2.2.4.2. Xác định khoảng pH môi trường nuôi cấy thích hợp của các chủng nấm lựa chọn	30
2.2.4.3. Xác định khoảng thời gian nuôi cấy thích hợp của các chủng nấm lựa chọn	30
2.2.5. Tạo chế phẩm quy mô phòng thí nghiệm.	31
2.2.5.1. Lên men các chủng nấm lựa chọn tạo sinh khối vi sinh vật ...	31
2.2.5.2. Quy trình phối trộn tạo chế phẩm quy mô phòng thí nghiệm.	32
2.2.6. Thử nghiệm chế phẩm trên cây bạch chỉ	32
2.2.6.1. Nghiên cứu tác động của chế phẩm đến năng suất cây bạch chỉ	32
2.2.6.2. Nghiên cứu tác động của chế phẩm đến hàm lượng chất imperatorin của rễ củ cây bạch chỉ sau khi thu hoạch	35
CHƯƠNG 3: KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN	38
3.1. Phân lập các chủng nấm	38
3.2. Tuyển chọn các chủng nấm hữu hiệu để sản xuất chế phẩm thử nghiệm	38
3.2.1. Khả năng hoà tan phosphat canxi của các chủng nấm phân lập	38

3.2.2. Xác định hoạt tính phân giải phát phát khó tan của các chủng nấm lựa chọn	39
3.2.3. Đánh giá khả năng sinh tổng hợp Indole-3-acetic acid (IAA) của các chủng nấm lựa chọn.....	40
3.2.4. Xác định khả năng đối kháng của các chủng nấm lựa chọn.....	42
3.3. Định danh các chủng nấm bằng sinh học phân tử.....	42
3.4. Xác định điều kiện nuôi cấy tối ưu của các chủng nấm lựa chọn để tạo chế phẩm.....	44
3.4.1. Ảnh hưởng của môi trường lên men.....	44
3.4.2. Ảnh hưởng của pH môi trường lên men.....	46
3.4.3. Ảnh hưởng của thời gian lên men	47
3.5. Tạo chế phẩm thử nghiệm	48
3.6. Thử nghiệm chế phẩm	49
3.6.1. Tác động của chế phẩm đến năng suất cây bạch chỉ.....	49
3.6.2. Tác động của chế phẩm đến hàm lượng chất imperatorin của rễ củ cây bạch chỉ sau khi thu hoạch.....	55
CHƯƠNG 4: KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ	63
4.1. KẾT LUẬN	63
4.2. KIẾN NGHỊ.....	64
CÁC CÔNG TRÌNH ĐÃ CÔNG BỐ LIÊN QUAN LUẬN VĂN	65
TÀI LIỆU THAM KHẢO	66
TIẾNG VIỆT	66
TIẾNG ANH.....	67
TRANG WEB.....	71
PHỤ LỤC	72

DANH MỤC CÁC KÍ HIỆU VÀ CHỮ VIẾT TẮT

STT	Viết tắt	Viết đầy đủ
1	Al	<i>Nhôm</i>
2	AM	<i>Arbuscular mycorrhiza</i>
3	CFU	<i>Colony forming unit</i>
4	ECM	<i>Ectomycorrhiza</i>
5	Fe	<i>Sắt</i>
6	IAA	<i>Indole-3-acctic acid</i>
7	N	<i>Nitơ</i>
8	P	<i>Phốt pho</i>
9	PPM	<i>Parts per million</i>
10	STT	<i>Số thứ tự</i>
11	VA	<i>Vesicular arbuscular</i>
12	VAM	<i>Vesicular arbuscular mycorrhiza</i>
13	VM	<i>Vesicular mycorrhiza</i>
14	VSV	<i>Vi sinh vật</i>
15	YHCT	<i>Y học cổ truyền</i>