

PHÂN LẬP VÀ TUYỂN CHỌN CHỦNG NẤM MỐC HÒA TAN PHOSPHATE VÔ CƠ TỪ ĐẤT RỪNG NGẬP MẶN Ở THỪA THIÊN-HUẾ

PHẠM THỊ NGỌC LAN, HOÀNG DƯƠNG THU HƯƠNG
Trường Đại học Khoa học, Đại học Huế

Rừng ngập mặn là hệ sinh thái quan trọng có năng suất sinh học cao ở vùng cửa sông ven biển nhiệt đới, có giá trị và ý nghĩa to lớn về đa dạng sinh học và có vai trò rất quan trọng đối với tự nhiên cũng như con người. Tuy nhiên, rừng ngập mặn ở nước ta đang đứng trước nguy cơ bị khai thác và tàn phá nghiêm trọng, diện tích ngày càng thu hẹp và gây ra các hậu quả nặng nề. Vì vậy, việc bảo vệ và phát triển bền vững rừng ngập mặn ở tỉnh Thừa Thiên-Huế nói riêng và cả nước nói chung là vấn đề cấp thiết và có ý nghĩa lớn về môi trường đối với vùng đầm phá ven biển.

Một trong những biện pháp để bảo tồn góp phần tạo cân bằng sinh thái đó là tách tạo được các chủng vi sinh vật có hiệu lực hòa tan phosphate mạnh để tạo thành chế phẩm lân sinh học và đưa trở lại môi trường đất, góp phần nâng cao năng suất và chất lượng cây trồng mà không gây hại đến sức khỏe của con người, động vật, thực vật và không ảnh hưởng xấu đến môi trường sinh thái [2, 3]. Trong khuôn khổ bài báo này chỉ đề cập đến nhóm nấm mốc hòa tan phosphate vô cơ trong đất rừng ngập mặn với mục đích tách được các chủng nấm mốc có khả năng hòa tan phosphate mạnh để làm cơ sở cho các nghiên cứu ứng dụng nhằm cải thiện hiệu quả công tác uơm trồng phục hồi và phát triển hệ sinh thái rừng ngập mặn.

I. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Đối tượng

Các chủng nấm mốc có khả năng hòa tan phosphate vô cơ mạnh được phân lập từ đất vùng rễ của một số loại cây sống ở khu vực rừng ngập mặn Thừa Thiên-Huế (cây chá, cây quao nước, cây tra, cây đước, cây vẹt...).

2. Phương pháp nghiên cứu

2.1. Phương pháp phân lập và đếm số lượng tế bào [4]

- Sử dụng phương pháp Koch để phân lập nấm mốc có khả năng hòa tan phosphate vô cơ khó tan trên môi trường Czapek thạch đĩa nhưng thay nguồn K_2HPO_4 bằng nguồn $Ca_3(PO_4)_2$.

- Xác định số lượng tế bào nấm mốc trong mẫu bằng phương pháp đếm gián tiếp thông qua số lượng khuẩn lạc mọc trên môi trường thạch đĩa.

2.2. Sơ tuyển chủng nấm mốc có khả năng hòa tan phosphate [1]

- Tiến hành cấy chấm nấm mốc trên môi trường Czapek thạch đĩa có bổ sung $Ca_3(PO_4)_2$, sau thời gian thích hợp dựa vào sự tạo thành khuẩn lạc để đánh giá khả năng sinh trưởng phát triển và hòa tan phosphate mạnh.

2.3. Phương pháp phân loại chủng nấm mốc

- **Quan sát hình thái:** Quan sát đại thể trên môi trường thạch đĩa. Sử dụng phương pháp làm tiêu bản phiến kính để quan sát cơ quan sinh sản [4].

- **Giải trình tự gene:** Giải trình tự gene 28S rRNA và tra cứu trên Blast search để xác định loài nấm mốc [5, 6].

2.4. Xử lý số liệu

- Thí nghiệm được lặp lại 3 lần
- Số liệu được xử lý bằng phương pháp thống kê sinh học theo chương trình Microsoft Excel 2010.

II. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

1. Phân lập và tuyển chọn các chủng nấm mốc có khả năng hòa tan phosphate vô cơ

1.1. Tìm hiểu số lượng nấm mốc hòa tan phosphate

Từ 18 mẫu đất lấy từ vùng rễ của các cây khác nhau ở rừng ngập mặn Thừa Thiên-Huế, bằng phương pháp phân lập trên môi trường Czapek thạch đĩa, kết quả về số lượng nấm mốc hòa tan phosphate được trình bày ở bảng 1.

Bảng 1

Số lượng nấm mốc hòa tan phosphate trong các mẫu đất phân lập

ST T	Kí hiệu mẫu	Địa điểm lấy mẫu	Nền đất	Thảm thực vật	pH đất	CFU/g đất khô ($\times 10^3$)
1	Đ1	Rú Chá 1-Hương Trà	Ướt	Chá	4,97	579,3
2	Đ2	Rú Chá 2-Hương Trà	Khô	Chá	5,58	672,7
3	Đ3	Rú Chá 3-Hương Trà	Khô	Quao nước	5,52	568,6
4	Đ4	Rú Chá 4-Hương Trà	Bán ngập	Quao nước	6,15	359,2
5	Đ5	Rú Chá 5-Hương Trà	Khô	Ráng	5,94	479,7
6	Đ6	Rú Chá 6-Hương Trà	Bán ngập	Đước	5,78	579,1
7	Đ7	Rú Chá 7-Hương Trà	Ướt	Đước	6,50	486,5
8	Đ8	Rú Chá 8-Hương Trà	Ướt	Ồ rô	6,00	346,6
9	Đ9	Rú Chá 9-Hương Trà	Khô	Tra	6,12	520,1
10	Đ10	Cảnh Dương 1-Phú Lộc	Bán ngập	Đước	6,34	340,7
11	Đ11	Cảnh Dương 2-Phú Lộc	Ướt	Đước	6,26	401,2
12	Đ12	Cảnh Dương 3-Phú Lộc	Ướt	Chá	5,88	584,4
13	Đ13	Cảnh Dương 4-Phú Lộc	Khô	Chá	6,37	427,4
14	Đ14	Cảnh Dương 5-Phú Lộc	Bán ngập	Ráng	6,52	516,8
15	Đ15	Cảnh Dương 6-Phú Lộc	Khô	Ráng	6,14	439,3
16	Đ16	Cảnh Dương 7-Phú Lộc	Ướt	Ráng	6,63	532,1
17	Đ17	Cảnh Dương 8-Phú Lộc	Khô	Vẹt	6,42	426,2
18	Đ18	Cảnh Dương 9-Phú Lộc	Ướt	Vẹt	6,17	332,7

Qua kết quả ở bảng 1 chúng tôi nhận thấy, số lượng nấm mốc hòa tan phosphate có sự khác biệt và dao động tùy từng vị trí thu mẫu khác nhau. Số lượng nấm mốc có khả năng hòa tan phosphate cao nhất là mẫu Đ2 được lấy từ đất khô ở vùng rễ cây chá (tại Rú Chá 2 - Hương Trà) ($672,7 \times 10^3$ CFU/g đất khô). Mẫu Đ18 được lấy từ đất ướt ở vùng rễ cây vẹt (tại Cảnh Dương 9 - Phú Lộc) có số lượng nấm mốc thấp nhất ($332,7 \times 10^3$ CFU/g đất khô).

Mặt khác, trên cùng một địa điểm giống nhau (tại Rú Chá ở Hương Trà) nhưng ở các độ ẩm khác nhau thì số lượng nấm mốc phân bố cũng không giống nhau. Cụ thể là số lượng nấm mốc ở mẫu Đ3 được lấy từ đất khô vùng rễ cây quao nước ($568,6 \times 10^3$ CFU/g đất khô) phân bố nhiều hơn so với mẫu Đ4 được lấy từ đất bán ngập ở vùng rễ cây quao nước ($359,2 \times 10^3$ CFU/g đất khô). Ngoài ra, trên cùng một loại cây trồng nhưng ở các địa điểm thu mẫu khác nhau thì số lượng nấm mốc phân bố cũng khác nhau. Cụ thể như cùng một đối tượng là cây đước trên nền

đất bán ngập nhưng ở Rú Chá-Hương Trà, số lượng nấm mốc ($579,1 \times 10^3$ CFU/g đất khô) lớn hơn nhiều so với ở Cảnh Dương-Phú Lộc ($340,7 \times 10^3$ CFU/g đất khô). Điều này ngoài nguyên nhân do tính chất ngập nước còn do nhiều yếu tố quy định như độ thoáng khí, nồng độ muối, độ dinh dưỡng và các tính chất lý hóa khác của đất...

1.2. Đánh giá sơ bộ khả năng hòa tan phosphate của các chủng nấm mốc

Bảng 2

Năng lực sinh trưởng và phát triển của các chủng nấm mốc trên môi trường thạch đĩa chứa $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$

Năng lực sinh trưởng, phát triển của nấm mốc	Kí hiệu	Đường kính khuẩn lạc (cm)	Số chủng nấm mốc	Tỉ lệ (%)
Yếu	+	1,0 - 2,0	36	21,95
Trung bình	++	2,5 - 3,5	47	28,66
Mạnh	+++	4,0 - 4,5	33	20,12
Rất mạnh	++++	5,0 - 5,8	12	7,32
Loang	-	-	36	21,95

Ghi chú: - : Không xác định

Từ 18 mẫu đất khác nhau, chúng tôi đã phân lập được 164 chủng nấm mốc có khả năng hòa tan phosphate. Qua kết quả nuôi cấy chúng tôi nhận thấy, khả năng sinh trưởng phát triển của các chủng nấm mốc trên môi trường có nguồn phosphate vô cơ khó tan là không đều. Số chủng nấm mốc sinh trưởng phát triển yếu và trung bình tương đối nhiều (21,95%-28,66%), các chủng mạnh và rất mạnh ít hơn (7,32%-20,12%). Có 36 chủng nấm mốc loang nhưng với mức độ tạo sinh khối là không lớn.

1.3. Tuyển chọn các chủng nấm mốc có khả năng hòa tan phosphate vô cơ mạnh

Trong số 164 chủng nấm mốc đã phân lập được, chúng tôi chọn ra 10 chủng có kích thước và bề dày khuẩn lạc khá lớn để tiến hành tuyển chọn chủng có hoạt lực mạnh nhất. Nuôi cấy 10 chủng nấm mốc này trong môi trường Czapek dịch thể với hàm lượng $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ bổ sung là 20 mg/ml, thu dịch lọc và xác định hàm lượng phosphate hòa tan. Đồng thời thu sinh khối để xác định khả năng sinh trưởng của các chủng nấm mốc có năng lực sinh trưởng mạnh.

Bảng 3

Khả năng sinh trưởng phát triển và hòa tan phosphate của 10 chủng nấm mốc

STT	Chủng nấm mốc	Sinh khối khô (mg/ml)	Hàm lượng PO_4^{3-} hòa tan (mg/ml)	pH dịch sau nuôi cấy
1	M33	24,28 ± 0,12	2,07 ± 0,01	6,75
2	M35	22,04 ± 0,05	1,55 ± 0,02	5,05
3	M72	26,10 ± 0,09	2,61 ± 0,04	6,68
4	M111	21,04 ± 0,24	0,65 ± 0,04	4,67
5	M120	22,60 ± 0,15	0,33 ± 0,03	4,65
6	M122	22,42 ± 0,06	0,75 ± 0,03	4,62
7	M138	23,14 ± 0,31	1,08 ± 0,08	4,75
8	M144	23,12 ± 0,18	1,36 ± 0,04	5,20
9	M147	24,16 ± 0,17	2,10 ± 0,05	4,91
10	M152	21,14 ± 0,25	1,43 ± 0,03	5,50

Qua kết quả nghiên cứu chúng tôi nhận thấy rằng, cả 10 chủng nấm mốc đều sinh trưởng phát triển tốt trên môi trường Czapek dịch thể, với hàm lượng phosphate hòa tan trong dịch lọc

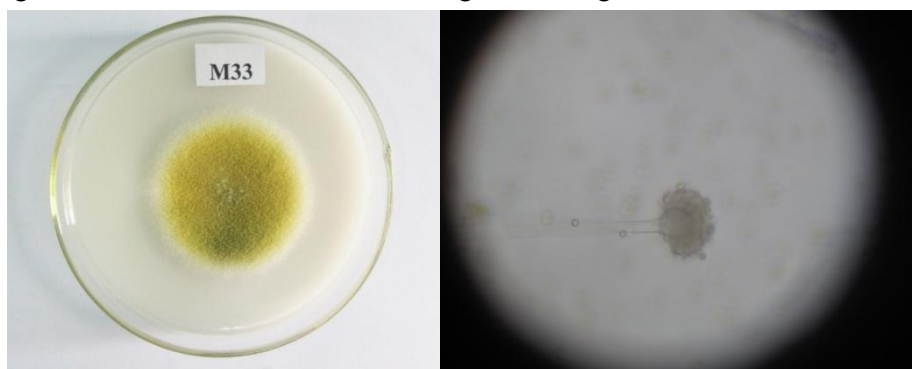
nuôi cấy đạt từ 0,33 mg/ml đến 2,61 mg/ml và sinh khối khô đạt từ 21,04 mg/ml đến 26,10 mg/ml. Trong đó có 2 chủng có khả năng hòa tan phosphate mạnh nhất đó là chủng M33 (lượng phosphate hòa tan 2,07 mg/ml, sinh khối khô đạt 24,28 mg/ml), chủng M72 (lượng phosphate hòa tan 2,61 mg/ml, sinh khối khô đạt 26,10 mg/ml) và sinh trưởng phát triển trên thạch đĩa cũng mạnh (đường kính khuẩn lạc chủng M33 đạt 5,3 cm và M72 đạt 5,8 cm). Hai chủng nấm mốc này được chọn để tiến hành các thí nghiệm tiếp theo.

2. Đặc điểm hình thái và phân loại các chủng nấm mốc M33 và M72

2.1. Chủng M33

2.1.1. Đặc điểm hình thái

Khuẩn lạc chủng M33 có dạng nhung mịn, màu xanh hơi vàng, mép màu trắng mỏng dần, hệ sợi nấm lan tỏa phóng xạ. Đường kính khuẩn lạc sau 4 ngày nuôi cấy đạt 5,3 cm, trên bề mặt không có giọt tiết, tiết sắc tố màu cam nhạt trong môi trường thạch.



Hình 1: Đặc điểm hình thái của chủng nấm mốc M33
(ảnh: Hoàng Dương Thu Hương)

Quan sát tiêu bản “phiến kính” chủng M33 sau 72 giờ nuôi cấy cho thấy, khuẩn ti có vách ngăn ngang, cuống sinh bào tử không màu, dạng thẳng, không phân nhánh, đỉnh cuống sinh bào tử có thể bình, bào tử trần hình cầu, màu xanh rêu, đỉnh đều xung quanh đỉnh cuống sinh bào tử.

2.1.2. Xác định trình tự 28S rRNA

Trình tự nucleotide đoạn gen 28S rRNA của chủng M33

Query	1	TTTGTACACACCGCCCGTCGCTACTACCGATTGAATGGCTCGGTGAGGCCTTCGGACTGG	60
Sbjct	2188	TTTGTACACACCGCCCGTCGCTACTACCGATTGAATGGCTCGGTGAGGCCTTCGGACTGG	2247
Query	61	CCCAGGAGGGTTGGCAACGACCCCCCAGGGCCGGAAAGTTGGTCAAACCCGGTCATTTAG	120
Sbjct	2248	CCCAGGAGGGTTGGCAACGACCCCCCAGGGCCGGAAAGTTGGTCAAACCCGGTCATTTAG	2307
Query	121	AGGAAGTAAAAGTCGTAACAAGGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTACCGAG	180
Sbjct	2308	AGGAAGTAAAAGTCGTAACAAGGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTACCGAG	2367
Query	181	TGTAGGGTTCCTAGCGAGCCCAACCTCCCACCCGTGTTTACTGTACCTTAGTTGCTTCGG	240
Sbjct	2368	TGTAGGGTTCCTAGCGAGCCCAACCTCCCACCCGTGTTTACTGTACCTTAGTTGCTTCGG	2427
Query	241	CGGGCCCGCCATTCATGGCCCGGGGGCTCTCAGCCCCGGGCCCGCGCCCGCCGGAGAC	300
Sbjct	2428	CGGGCCCGCCATTCATGGCCCGGGGGCTCTCAGCCCCGGGCCCGCGCCCGCCGGAGAC	2487
Query	301	ACCACGAACTCTGTCTGATCTAGTGAAGTCTGAGTTGATTGATCGCAATCAGTTAAAAC	360
Sbjct	2488	ACCACGAACTCTGTCTGATCTAGTGAAGTCTGAGTTGATTGATCGCAATCAGTTAAAAC	2547
Query	361	TTTCAACAATGGATCTCTTGGTTCGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAACT	420
Sbjct	2548	TTTCAACAATGGATCTCTTGGTTCGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAACT	2607
Query	421	AGTGTGAATTGCAGAATTCCGTGAATCATCGAGTCTTTGAACGCACATTGCGCCCCCTGG	480
Sbjct	2608	AGTGTGAATTGCAGAATTCCGTGAATCATCGAGTCTTTGAACGCACATTGCGCCCCCTGG	2667
Query	481	TATTCCGGGGGCATGCCTGTCCGAGCGTCATTGCTGCCCATCAAGCACGGCTTGTGTGT	540

Sbjct	2668	TATTCCGGGGGCATGCCTGTCCGAGCGTCATTGCTGCCCATCAAGCACGGCTTGTGTGT	2727
Query	541	TGGGTCGTCGTCCTCTCCgggggggACGGGCCCCAAAGGCAGCGGGCGCACCCGCTCC	600
Sbjct	2728	TGGGTCGTCGTCCTCTCCGGGGGGACGGGCCCCAAAGGCAGCGGGCGCACCCGCTCC	2787
Query	601	GATCCTCGAGCGTATGGGGCTTTGTACCCGCTCTGTAGGCCCGGCCGGCGCTTGCCGAA	660
Sbjct	2788	GATCCTCGAGCGTATGGGGCTTTGTACCCGCTCTGTAGGCCCGGCCGGCGCTTGCCGAA	2847
Query	661	CGCAAATCAATCTTTTCCAGGTTGACCTCGGATCAGGTAGGGATACCCGCTGAACTTAA	720
Sbjct	2848	CGCAAATCAATCTTTTCCAGGTTGACCTCGGATCAGGTAGGGATACCCGCTGAACTTAA	2907
Query	721	GCATATCAATAAGCGGAGGAAAAGAAACCAACCGGGATTGCCTCAGTAACGGCGAGTGAA	780
Sbjct	2908	GCATATCAATAAGCGGAGGAAAAGAAACCAACCGGGATTGCCTCAGTAACGGCGAGTGAA	2967
Query	781	GCGGCAAGAGCTCAAATTTGAAAGCTGGCTCCTTCGGGGTCCGCATTGTAATTTGCAGAG	840
Sbjct	2968	GCGGCAAGAGCTCAAATTTGAAAGCTGGCTCCTTCGGGGTCCGCATTGTAATTTGCAGAG	3027
Query	841	GATGCTTCGGGTGCGGCCCTGTCTAAGTGCCCTGGAACGGGCCGTCAGAGAGGGTGAGA	900
Sbjct	3028	GATGCTTCGGGTGCGGCCCTGTCTAAGTGCCCTGGAACGGGCCGTCAGAGAGGGTGAGA	3087
Query	901	ATCCCGTCTGGGATGGGGTGTCCGCGCCCGTGTGAAGCTCCTTCGACGAGTCG	953
Sbjct	3088	ATCCCGTCTGGGATGGGGTGTCCGCGCCCGTGTGAAGCTCCTTCGACGAGTCG	3140

Bảng 4

Đánh giá mức độ tương đồng trình tự đoạn gen 28S rRNA của chủng M33 với GenBank database sử dụng công cụ BLAST

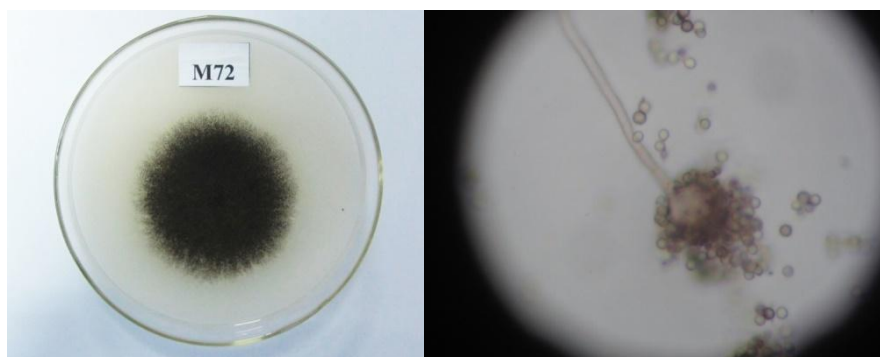
Tên loài	Tên chủng	Mã số truy cập	Độ tương đồng
<i>Aspergillus oryzae</i>	RIB40	AP007173.1	100%
<i>Aspergillus oryzae</i>	RIB40	AP007172.1	100%

Qua kết quả nghiên cứu, chúng tôi nhận thấy trình tự đoạn gen 28S rRNA của chủng M33 tương đồng 100% với trình tự đoạn gen 28S rRNA ở hai chủng *Aspergillus oryzae* RIB40, AP007173.1 và *Aspergillus oryzae* RIB40, AP007172.1. Chủng M33 được xếp vào chi *Aspergillus*, loài *Aspergillus oryzae*.

2.2. Chủng M72

2.2.1. Đặc điểm hình thái

Khuẩn lạc chủng M72 mọc dạng nhung có màu xám đen, mép mọc thành tia, hệ sợi nấm lan tỏa phóng xạ. Đường kính khuẩn lạc sau 4 ngày nuôi cấy đạt 5,8 cm, trên bề mặt không có giọt tiết và không tiết sắc tố vào môi trường.



Hình 2: Đặc điểm hình thái của chủng nấm mốc M72
(ảnh: Hoàng Dương Thu Hương)

Quan sát tiêu bản “phiên kính” chủng M72 sau 72 giờ nuôi cấy cho thấy, khuẩn ti có vách ngăn ngang, cuống sinh bào tử không màu, dạng thẳng, không phân nhánh, đỉnh cuống sinh bào tử có thể bình, bào tử trần hình cầu, màu xám đen, đỉnh đều xung quanh đỉnh cuống sinh bào tử.

2.2.2. Xác định trình tự 28S rRNA

Trình tự nucleotide đoạn gen 28S rRNA của chủng M72

Query	1	GAGGGTTGGCAACGACCCCCAGAGCCGAAAGCTGGTCAAACCCGGTCATTTAGAGGAA	60
Sbjct	1	GAGGGTTGGCAACGACCCCCAGAGCCGAAAGCTGGTCAAACCCGGTCATTTAGAGGAA	60
Query	61	GTAAAAGTCGTAACAAGGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTACCGAGTGCTG	120
Sbjct	61	GTAAAAGTCGTAACAAGGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTACCGAGTGCTG	120
Query	121	GGTCCTTCGGGGCCCAACCTCCCACCCGTGCTTACCGTACCCTGTTGCTTCGGCGGGCCC	180
Sbjct	121	GGTCCTTCGGGGCCCAACCTCCCACCCGTGCTTACCGTACCCTGTTGCTTCGGCGGGCCC	180
Query	181	GCCTTCGGGCGGCCCCGGGGCCTGCCTCCGGGACCGCGCCCGCCGGAGACCCCAATGGAAC	240
Sbjct	181	GCCTTCGGGCGGCCCCGGGGCCTGCCTCCGGGACCGCGCCCGCCGGAGACCCCAATGGAAC	240
Query	241	ACTGTCGAAAGCGTGCAGTCTGAGTTCGATTGATACCAATCAGTCAAAACTTTCAACAAT	300
Sbjct	241	ACTGTCGAAAGCGTGCAGTCTGAGTTCGATTGATACCAATCAGTCAAAACTTTCAACAAT	300
Query	301	GGATCTCTTGGTTCGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAACTAATGTGAATT	360
Sbjct	301	GGATCTCTTGGTTCGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAACTAATGTGAATT	360
Query	361	GCAGAATTCAGTGAATCATCGAGTCTTTGAACGCACATTGCGCCCCCTGGTATTCCGGGG	420
Sbjct	361	GCAGAATTCAGTGAATCATCGAGTCTTTGAACGCACATTGCGCCCCCTGGTATTCCGGGG	420
Query	421	GGCATGCCTGTCCGAGCGTCATTTCTCCCTCCAGCCCCGCTGGTTGTTGGGCCGCGCCC	480
Sbjct	421	GGCATGCCTGTCCGAGCGTCATTTCTCCCTCCAGCCCCGCTGGTTGTTGGGCCGCGCCC	480
Query	481	ccccGGGGGGCGGCCTCGAGAGAAACGGCGGCACCGTCCGGTCTCGAGCGTATGGGGCT	540
Sbjct	481	CCCCGGGGGGCGGCCTCGAGAGAAACGGCGGCACCGTCCGGTCTCGAGCGTATGGGGCT	540
Query	541	CTGTCACCCGCTCTATGGGCCCGCCGGGGCTTGCTCGACCCCAATCTTCTCAGATTG	600
Sbjct	541	CTGTCACCCGCTCTATGGGCCCGCCGGGGCTTGCTCGACCCCAATCTTCTCAGATTG	600
Query	601	ACCTCGGATCAGGTAGGATACCCGCTGAACCTTAAGCATATCAATAAGCGGAGGAAAAGA	660
Sbjct	601	ACCTCGGATCAGGTAGGATACCCGCTGAACCTTAAGCATATCAATAAGCGGAGGAAAAGA	660
Query	661	AACCAACCGGGATTGCCTCAGTAACGGCGAGTGAAGCGGCAAGAGCTCAAATTTGAAAGC	720
Sbjct	661	AACCAACCGGGATTGCCTCAGTAACGGCGAGTGAAGCGGCAAGAGCTCAAATTTGAAAGC	720
Query	721	TGGCCCCCTCCGGGGTCCGCGTTGTAATTTGAGAGGATGCTTTGGGTGCGGCCCCCGTCT	780
Sbjct	721	TGGCCCCCTCCGGGGTCCGCGTTGTAATTTGAGAGGATGCTTTGGGTGCGGCCCCCGTCT	780
Query	781	AAGTGCCCTGGAACGGGCCGTGAGAGAGGTTGAGAATCCCGTCTTGGGCGGGGTGTCCGT	840
Sbjct	781	AAGTGCCCTGGAACGGGCCGTGAGAGAGGTTGAGAATCCCGTCTTGGGCGGGGTGTCCGT	840
Query	841	GCCCGTGTAAGCTCCTTCGACGAGTCG 868	
Sbjct	841	GCCCGTGTAAGCTCCTTCGACGAGTCG 868	

Bảng 5

Đánh giá mức độ tương đồng trình tự đoạn gen 28S rRNA của chủng M72 với GenBank database sử dụng công cụ BLAST

Tên loài	Tên chủng	Mã số truy cập	Độ tương đồng
<i>Aspergillus japonicus</i>	VIT-SB1	KC128815.1	99%

Qua kết quả nghiên cứu, chúng tôi nhận thấy trình tự đoạn gen 28S rRNA của chủng M72 tương đồng 99% với trình tự đoạn gen 28S rRNA của chủng *Aspergillus japonicus* VIT-SB1, mã số truy cập KC128815.1. Chủng M72 được xếp vào chi *Aspergillus*, loài *Aspergillus japonicus*.

III. KẾT LUẬN

1. Từ 18 mẫu đất rừng ngập mặn đã phân lập được 164 chủng nấm mốc có khả năng hòa tan phosphate vô cơ. Số lượng nấm mốc trong các mẫu đất đạt $332,7 \times 10^3$ - $672,7 \times 10^3$ CFU/g đất khô. Tuyển chọn hai chủng nấm mốc có khả năng hòa tan phosphate mạnh với đường kính khuẩn lạc đạt 5,3 - 5,8 cm, hàm lượng phosphate hòa tan đạt 2,07 - 2,61 mg/ml và sinh khối khô đạt 24,28 - 26,10 mg/ml.

2. Định danh hai chủng nấm mốc là *Aspergillus oryzae* M33 và *Aspergillus japonicus* M72.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nguyễn Lâm Dũng, Phạm Thị Trân Châu, Nguyễn Thanh Hiền, Lê Đình Lương, Đoàn Xuân Mượng, Phạm Văn Ty, 1978. Một số phương pháp nghiên cứu vi sinh vật, Nxb. KHKT, Hà Nội, tập 2.
2. Gaird S. and Gaur A. C., 1991. Plant and Soil, 133(1): 141-149.
3. Kapoor K. K., 1996. Phosphate mobilization through soil microorganisms. Plant Microbe Interaction in Sustainable Agriculture, CCSHAU, Hisar and MMB, New Delhi: 46-61.
4. Phạm Thị Ngọc Lan, 2012. Giáo trình thực tập Vi sinh vật học, Nxb. Đại học Huế.
5. Sambrook, J., D. W. Russell, 2001. Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 3rd ed, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York.
6. Verschuere, L., G. Rombaut, P. Sorgeloos, W. Verstraete, 2000. Microbiology & Molecular Biology Reviews, Vol. 64: 655-671.

ISOLATION AND SELECTION OF PHOSPHATE SOLUBILIZING FUNGI FROM THE SOIL OF MANGROVE FORESTS IN THUA THIEN HUE PROVINCE

PHAM THI NGOC LAN, HOANG DUONG THU HUONG

SUMMARY

Phosphorus (P) is one of the major essential nutrients for biological growth and development of mangrove plants. Several free living and symbiotic microorganisms like phosphate solubilizing fungi play a central role in the natural phosphorus cycle and convert insoluble forms of phosphorus to an accessible form which is an important trait for the growth and survival of plants in saline habitats.

The present research results showed that the number of fungi from the root-bounding soil of mangrove forests in Thua Thien Hue at 18 different locations of Ru Cha, Huong Tra district and Canh Duong, Phu Loc district was from $332,7 \times 10^3$ - $672,7 \times 10^3$ CFU/g of dry soil. A total of 164 phosphate solubilizing fungi isolated were screened in Czapek medium for the phosphate solubilization. Two strains termed M33 and M72 with the highest ability to solubilize phosphate were selected. Based on the nucleotide sequences of 28S rRNA, two strains M33 and M72 were identified as *Aspergillus oryzae* and *Aspergillus japonicus*, respectively.