

## PHÂN LẬP VÀ NGHIÊN CỨU ĐẶC ĐIỂM SINH HỌC CỦA NẤM *Talaromyces* spp. CÓ KHẢ NĂNG PHÂN GIẢI KALI KHÓ TAN

Đặng Thị Thanh Tâm, Nguyễn Thị Thu, Vũ Hiền Anh, Phạm Hồng Hiền, Nguyễn Xuân Cảnh\*

<sup>1</sup>Khoa Công nghệ sinh học, Học viện Nông nghiệp Việt Nam

<sup>2</sup>Ban Khoa học và Hợp tác quốc tế, Viện Khoa học Nông nghiệp Việt Nam

\*Tác giả liên hệ: nxcanh@vnua.edu.vn

Ngày nhận bài: 15.08.2023

Ngày chấp nhận đăng: 25.12.2023

### TÓM TẮT

Nghiên cứu nhằm mục đích phân lập và xác định được một số đặc điểm sinh học của nấm *Talaromyces* spp. có khả năng phân giải kali khó tan. Từ 10 mẫu đất thu thập ở Hà Nội và Thái Bình đã phân lập được 05 chủng nấm có đặc điểm hình thái tương đồng với chi *Talaromyces*. Bằng phương pháp nuôi cấy trên môi trường Aleksandrov chọn lọc đã xác định được ba chủng NM1, NM2 và TB có khả năng phân giải kali. Dựa vào đặc điểm hình thái và kết quả phân tích trình tự gene vùng ITS, các chủng NM1, NM2 và TB được xác định có mối quan hệ di truyền gần gũi với loài *Talaromyces funiculosus*. Kết quả nghiên cứu về ảnh hưởng của thời gian, pH đến khả năng phân giải kali của ba chủng nấm cho thấy, ở ngày nuôi cấy thứ 5 chỉ số hoà tan kali (SI) cao nhất trong khoảng từ 2,26-2,33 và tại pH 6 chỉ số SI cao nhất trong khoảng từ 2,22-2,56. Ngoài ra, kết quả nghiên cứu còn chỉ ra rằng cả ba chủng nấm NM1, NM2 và TB đều có khả năng phân giải phosphate khó tan và sinh tổng hợp siderophores.

Từ khóa: Nấm, *Talaromyces*, phân giải kali.

### Isolation and characterization of *Talaromyces* spp. capable of dissolving insoluble potassium

### ABSTRACT

This study aimed to isolate and characterize some specific biological traits of *Talaromyces* spp. Capable of dissolving insoluble potassium. Five fungal strains with morphological features resembling *Talaromyces* were isolated from 10 soil samples collected in Ha Noi and Thai Binh provinces. Using selective Aleksandrov medium, three strains NM1, NM2, and TB were identified as having the capability to decompose insoluble potassium. Based on the morphological characteristics and the sequence analysis of the ITS region, the strains NM1, NM2 and TB were determined to be closely related to *Talaromyces funiculosus* species. Study on the effects of time and pH on the potassium solubilization ability of three fungal strains showed that the solubility index (SI) was highest on the fifth day of culture ranging from 2.26-2.33 and the SI was the highest at pH 6, ranging from 2.22-2.56. Additionally, the results also showed that all three fungal strains NM1, NM2, and TB had the ability to solubilize insoluble phosphate and synthesize siderophores.

Keywords: *Talaromyces funiculosus*, potassium solubilization.

### 1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Các loài thuộc chi nấm *Talaromyces* (họ Trichocomaceae) phân bố rộng và phổ biến trong tự nhiên. Các nghiên cứu trên thế giới đã chứng minh nhiều loài nấm thuộc chi *Talaromyces* có giá trị ứng dụng trong ngành nông nghiệp với nhiều đặc tính sinh học quan trọng. Nấm

*T. funiculosus* và *T. pinophilus* được coi là những vi sinh vật quan trọng trong phân giải tàn dư thực vật nhờ khả năng sản sinh nhiều loại enzyme ngoại bào như cellulase, xylanase và endoglucanase (Yilmaz & cs., 2014; Syrchin & cs., 2023). Nhiều chủng nấm *Talaromyces* được ghi nhận có khả năng đối kháng với các tác nhân gây bệnh ở thực vật, kích thích sinh

trường cây trồng, sinh siderophores cố định sắt (Yilmaz & cs., 2014; Sahu & cs., 2019; Patel & cs., 2021). Các chủng như *T. funiculosus*, *T. pinophilus* được báo cáo về khả năng phân giải kali và phosphate khó tan, giúp tăng cường sự hấp thu khoáng chất ở cây trồng (Kanase & cs., 2015; Patel & cs., 2021; Sembiring & Sabrina, 2022).

Kali là nguyên tố khoáng đa lượng có vai trò quan trọng trong chuyển hóa năng lượng và vận chuyển chất dinh dưỡng ở thực vật thông qua các chức năng hoạt hóa hệ enzyme, cân bằng nội bào, đóng mở khí khổng. Với vai trò xúc tiến quá trình quang hợp, tổng hợp đường, tinh bột và vận chuyển đến cơ quan dự trữ, kali là dinh dưỡng đặc biệt cần thiết ở cây lấy hạt, cây ăn quả, cây ăn củ trong giai đoạn tiền thu hoạch (Dương Công Bằng & cs., 2020). Sự thiếu hụt kali có thể gây ra hiện tượng thân, rễ cây kém phát triển, củ quả còi cọc, năng suất cây trồng suy giảm (Parmar & Sindhu, 2013; Giang & cs., 2022). Tuy là một khoáng chất có hàm lượng cao trong đất, phần lớn kali, chiếm từ trên 90 đến 99% kali tổng số, tồn tại trong trạng thái khó tan, bị kìm giữ trong thành phần cấu trúc của đá mẹ hoặc các lớp khoáng sét (Parmar & Sindhu, 2013). Lượng ion  $K^+$  hòa tan mà thực vật có thể tiếp cận và hấp thụ chỉ chiếm tỉ lệ rất thấp trong môi trường đất. Quá trình chuyển hóa kali từ phân tử hợp chất rắn trở thành dạng ion hòa tan diễn ra một cách rất chậm chạp trong tự nhiên, gần như không đáng kể so với chiều hướng ngược lại, khi mà ở đó một lượng lớn ion  $K^+$  được cây trồng hấp thụ qua các mùa vụ và phần còn lại dễ dàng bị rửa trôi bởi nước mưa hoặc nước tưới. Mâu thuẫn này khiến tình trạng thiếu hụt kali diễn ra phổ biến ở cây trồng trên toàn thế giới, gây ảnh hưởng nghiêm trọng tới phẩm chất và sản lượng (Mouhamad & cs., 2016). Để giải quyết tình trạng thiếu hụt kali, các loại phân bón hóa học (NPK, MOP, SOP, NOP...) được sử dụng như một biện pháp nhanh chóng và phổ biến. Tuy nhiên, giải pháp này tốn kém về kinh tế cũng như tiềm ẩn nhiều hệ quả xấu cho môi trường, gây ra ô nhiễm đất, nước và sự mất cân bằng sinh học.

Một biện pháp khác dựa trên cơ chế sinh học để giải quyết tình trạng thiếu hụt kali của cây

trồng một cách bền vững và thân thiện với môi trường đó là bổ sung vào trong đất các vi sinh vật có khả năng phân giải kali khó tan, ví dụ nhóm vi khuẩn KSB (Potassium - Solubilizing Bacteria) (Etesami & cs., 2017) và *Burkholderia* sp. C1.1 (Giang & cs., 2020). Nấm phân giải kali, mặc dù đóng vai trò quan trọng không kém đối với vùng rễ cây trồng nhưng chưa được nghiên cứu và đánh giá một cách đầy đủ (Velázquez & cs., 2016). Một số chủng nấm phân giải kali đã được công bố trên thế giới có thể kể đến như: *Penicillium*, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus niger*, *Torulaspora globosa*, *Fomitopsis meliae*, *Gongronella hydei*, *Talaromyces pinophilus* (Velázquez & cs., 2016; Kasana & cs., 2017; Sembiring & Sabrina, 2022). Đặc biệt, *Talaromyces pinophilus* KJ3 là chủng có khả năng phân giải kali cao nhất trong số 10 chủng vi sinh vật được khảo sát trong nghiên cứu của Sembiring & Sabrina (2022). Kết quả này gợi mở tiềm năng ứng dụng hoạt tính phân giải kali của các loài nấm thuộc chi *Talaromyces*.

Vì vậy, nghiên cứu này được tiến hành nhằm phân lập, tuyển chọn các chủng nấm *Talaromyces* có khả năng phân giải kali tại Hà Nội và Thái Bình. Kết quả của nghiên cứu nhằm phục vụ mục đích góp phần xây dựng nền nông nghiệp hữu cơ bền vững. Đây cũng là một trong số ít các nghiên cứu mới về nấm phân giải kali tại Việt Nam.

## 2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Vật liệu

Các chủng nấm được phân lập từ các mẫu đất trồng ngô và lúa thu thập tại huyện Gia Lâm, thành phố Hà Nội (7 mẫu) và huyện Quỳnh Phụ, tỉnh Thái Bình (3 mẫu).

### 2.2. Phương pháp nghiên cứu

#### 2.2.1. Phân lập các chủng nấm có khả năng phân giải kali

Mẫu đất được thu thập theo từng gốc cây trồng. Quanh gốc cây, lấy 25g đất ở mỗi độ sâu, từ 0-5cm, 5-10cm, 10-15cm và 15-20cm. Trộn lẫn lượng đất ở các độ sâu khác nhau của cùng một gốc cây tạo thành một mẫu đất. Mẫu đất

được đựng trong túi PE, ký hiệu tên mẫu, thông tin mẫu, bảo quản ở 4°C và đưa về phòng thí nghiệm để tiến hành phân lập.

Các mẫu đất được phơi khô ở nhiệt độ phòng và nghiền nhỏ. Với mỗi mẫu, cân 10g đất cho vào bình tam giác chứa 90ml nước cất vô trùng và lắc với tốc độ 160 vòng/phút trong 60 phút để thu được dung dịch pha loãng nồng độ  $10^{-1}$ . Sử dụng nước cất vô trùng để pha loãng liên tiếp đến các nồng độ từ  $10^{-2}$  đến  $10^{-5}$ . Hút 50 $\mu$ l dung dịch đất ở các nồng độ  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$  và  $10^{-5}$  để cấy trải trên môi trường PDA có bổ sung chất kháng khuẩn Streptomycin (100 mg/l). Các đĩa phân lập được ủ ở nhiệt độ 30°C trong 7 ngày. Các khuẩn lạc nấm có hình dạng cuống sinh bào tử phù hợp với chi *Talaromyces* theo mô tả của Yilmaz & cs. (2014) được lựa chọn để làm thuần. Sau đó, các chủng nấm được sàng lọc khả năng phân giải kali bằng cách nuôi cấy trên môi trường Aleksandrov (0,5% glucose; 0,05% magnesium sulfate heptahydrate; 0,0005% iron chloride; 0,01% calcium carbonate; 0,2% calcium phosphate; 0,2% potassium aluminum silicate; 1,8% agar) ở 30°C trong 5 ngày (Kasana & cs., 2017). Những chủng nấm xuất hiện vòng sáng phân giải kali trên môi trường Aleksandrov được lựa chọn cho các nghiên cứu tiếp theo.

### 2.2.2. Định danh nấm

So sánh hình thái: Dựa vào các hình thái bào tử và cuống sinh bào tử của nấm *Talaromyces* theo mô tả của Yilmaz & cs. (2014). Các chủng nấm có đặc điểm hình thái giống chi *Talaromyces* được lựa chọn ở bước phân lập và làm thuần.

So sánh trình tự gene vùng ITS: DNA tổng số được tách chiết theo phương pháp Masoomi-Aladizgeh & cs. (2019) có cải tiến, sau đó được sử dụng để tiến hành phản ứng PCR khuếch đại trình tự gene vùng ITS với cặp mồi ITS1 (5'-TCC GTAGGTGAACCTGCGG-3') và ITS4 (5'-TCCTC CGCTTATTGATATGC-3'). Sản phẩm PCR được đọc trình tự tại Công ty 1stBASE Pte Ltd. Kết quả giải trình tự được xử lý bằng phần mềm BioEdit. So sánh các trình tự DNA thu được với các trình tự nucleotide đã công bố trên GenBank của NCBI bằng công cụ BLAST. Phần mềm

MEGA-11 được sử dụng để xây dựng cây phát sinh chủng loại với giá trị bootstrap là 1.000 lần.

### 2.2.3. Đánh giá khả năng phân giải kali

Đánh giá khả năng phân giải kali theo phương pháp của Kasana & cs. (2017). Các chủng nấm được nuôi cấy trên môi trường Aleksandrov, ủ ở nhiệt độ 30°C và quan sát sự hình thành của vòng sáng phân giải bao quanh tản nấm. Chỉ số hòa tan SI được xác định từ ngày 01 đến ngày 10 theo công thức (Premono & cs., 1996):

Chỉ số hòa tan (SI) = (Đường kính khuẩn lạc + Đường kính vòng sáng)/Đường kính khuẩn lạc

### 2.2.4. Đánh giá ảnh hưởng của pH đến khả năng phân giải kali

Ảnh hưởng của pH đến khả năng hòa tan kali được đánh giá theo phương pháp của Kasana & cs. (2017). Các chủng nấm được nuôi cấy trên môi trường Aleksandrov ở các mức pH = 5, 6, 7, 8 và 9; ủ tại nhiệt độ 30°C và tiến hành đánh giá chỉ số hòa tan kali SI sau 5 ngày nuôi cấy.

### 2.2.5. Đánh giá khả năng phân giải phosphate và sinh siderophores

Khả năng phân giải phosphate khó tan được xác định bằng cách nuôi cấy trên môi trường NBRIP chứa  $Ca_3(PO_4)_2$  (Babana, 2013). Chỉ số hòa tan SI được xác định từ ngày 01 đến ngày 10 theo công thức của Premono & cs. (1996).

Khả năng sinh tổng hợp siderophores được khảo sát theo phương pháp của Schwyn & Neilands (1987). Khối thạch chứa tản nấm được đặt lên trên môi trường Chrome azurol S (CAS). Sau 14 ngày nuôi cấy tại 30°C, sự xuất hiện vòng sáng xung quanh tản nấm chứng tỏ chủng nấm có khả năng sinh siderophores.

### 2.2.6. Xử lý số liệu

Vẽ biểu đồ, xử lý số liệu sơ bộ bằng phần mềm Microsoft Excel 2013. Kết quả thí nghiệm được thể hiện là giá trị trung bình  $\pm$  độ lệch chuẩn (SD) của 3 lần lặp lại ngẫu nhiên. Sử dụng phần mềm Sirichai Statistics 7.0 để xử lý thống kê số liệu. Sự khác biệt giữa các nghiệm thức được xác định bằng cách sử dụng phân tích phương sai một chiều (ANOVA) với độ tin cậy

P <0,05, phần mềm thống kê GraphPad Prism 9.3.1.471 và Microsoft Excel 2013.

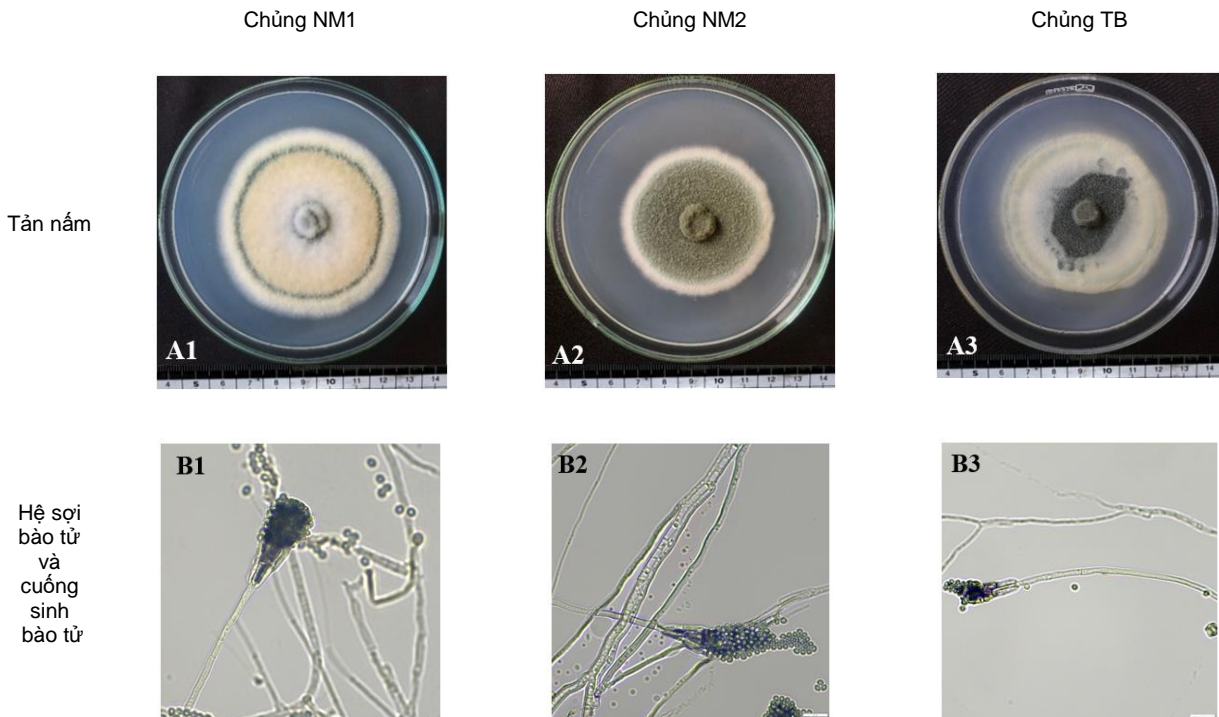
### 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

#### 3.1. Phân lập và định danh nấm *Talaromyces* spp. có khả năng phân giải kali khó tan

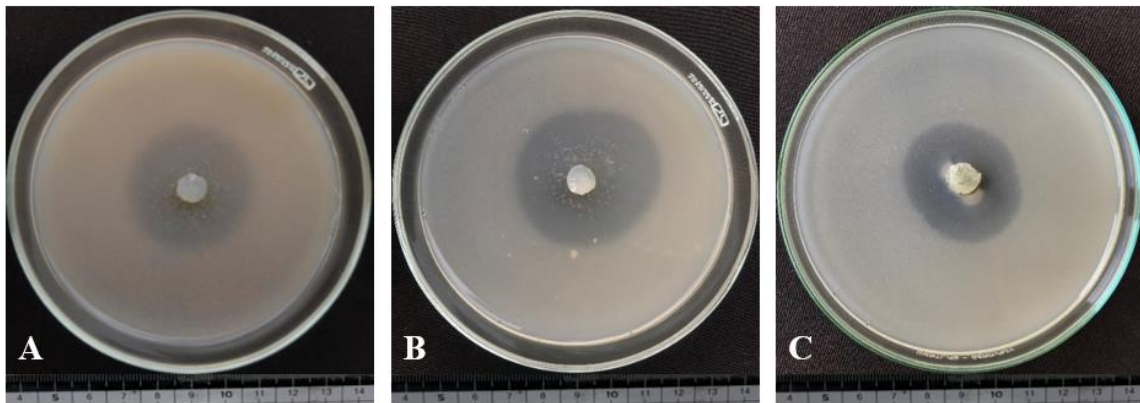
Từ 10 mẫu đất tại khu vực Hà Nội và Thái Bình, nghiên cứu đã phân lập được 05 chủng nấm có hình thái bào tử và cuống sinh bào tử phù hợp với mô tả của Yilmaz & cs. (2014) về chi nấm *Talaromyces*. Các chủng nấm tiếp tục được sàng lọc về khả năng phân giải kali khó tan trên môi trường Aleksandrov. Kết quả thu được 03 chủng NM1, NM2 và TB có khả năng phân giải kali (Hình 1 và 2).

Hiện nay, ITS (Internal transcribed spacer) được coi là vùng gen phổ biến nhất giống như “barcode” để xác định mối quan hệ di truyền và tiến hóa ở nhiều loài thực vật và nấm. Kết quả điện di sản phẩm PCR khuếch đại vùng gene ITS của 03 chủng NM1, NM2 và TB cho thấy các vạch băng có kích thước tương đối đồng nhất,

nằm trong khoảng 500bp (Hình 3), phù hợp với kích thước trung bình của vùng gene ITS ở nấm (Nilsson & cs., 2015). Sử dụng công cụ BLAST để so sánh mức độ tương đồng trình tự gene vùng ITS của các chủng nghiên cứu với trình tự nucleotide trên GenBank, kết quả cho thấy các chủng NM1, NM2 và TB có mối quan hệ di truyền gần gũi với nhiều chủng nấm thuộc chi *Talaromyces*. Từ những trình tự gene có độ tương đồng cao với 03 chủng nghiên cứu, sử dụng phần mềm MEGA-11 để xây dựng cây phát sinh chủng loại, kết quả cho thấy các chủng nấm NM1, NM2 và TB có cùng nhánh phát sinh với 02 chủng *Talaromyces funiculosus* 128DEC/93DEC, có giá trị bootstrap đạt được là 88 (Hình 4). Mức độ tương đồng của các chủng nấm NM1, NM2 và TB với chủng *Talaromyces funiculosus* 128DEC lần lượt là 91,28%; 91,59% và 93,37%. Mức độ tương đồng của các chủng nấm NM1, NM2 và TB với chủng *Talaromyces funiculosus* 93DEC lần lượt là 90,33%; 90,67% và 92,38%. Như vậy, trên cơ sở so sánh đặc điểm hình thái và phân tích sinh học phân tử, bước đầu đã xác định được 03 chủng nấm NM1, NM2 và TB có khả năng phân giải kali thuộc chi *Talaromyces*.



Hình 1. Đặc điểm hình thái của chủng NM1 (A1, B1), chủng NM2 (A2, B2) và chủng TB (A3, B3) sau 7 ngày nuôi cấy trên môi trường PDA



**Hình 2. Khả năng phân giải kali của chủng NM1 (A), chủng NM2 (B) và chủng TB (C) sau 5 ngày nuôi cấy trên môi trường Aleksandrov**

### **3.2. Đánh giá khả năng phân giải kali của các chủng nấm**

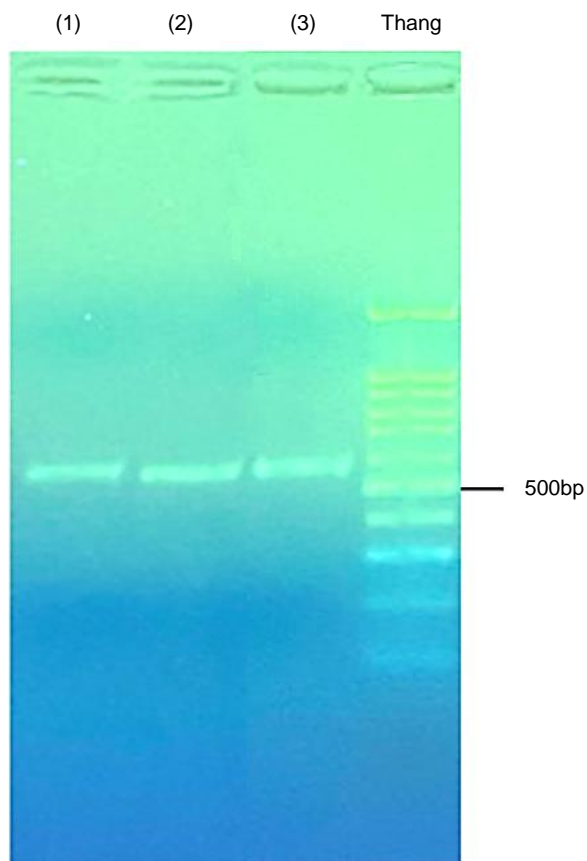
#### **3.2.1. Xác định chỉ số hòa tan kali của các chủng nấm**

Trên cơ sở khả năng phân giải kali ở thí nghiệm sàng lọc, nghiên cứu tiếp tục đánh giá về khả năng phân giải kali của ba chủng nấm NM1, NM2 và TB thông qua phân tích chỉ số hòa tan SI được xác định từ ngày 1 đến ngày thứ 10 (Bảng 1). Trong đó, giá trị SI càng cao chứng tỏ khả năng phân giải kali trên một đơn vị đường kính khuẩn lạc càng lớn. Ở ngày đầu tiên, vì sinh vật đang trong giai đoạn thích nghi với môi trường nên các hoạt động trao đổi chất chưa được thể hiện rõ rệt, vòng sáng phân giải kali chưa xuất hiện, các giá trị SI đều bằng 1. Hoạt tính phân giải kali của các chủng bắt đầu quan sát được từ ngày thứ 2 và đạt mức cao nhất tại ngày nuôi cấy thứ 5 với chỉ số SI của các chủng khá tương đương nhau, nằm trong khoảng 2,26 đến 2,33. Kết quả này cao hơn so với chỉ số hòa tan kali của nấm *Fomitopsis meliae* RCKF7 và *Aspergillus tubingensis* RCKF5 trong nghiên cứu của Kasana & cs. (2017). Cụ thể, chỉ số hòa tan kali SI của các chủng RCKF5 và RCKF7 nằm trong khoảng 2,06 đến 2,15. Từ ngày thứ 5 đến ngày 10, tuy vòng sáng phân giải kali vẫn xuất hiện nhưng giá trị SI có xu hướng giảm dần, nguyên nhân có thể do các chủng nấm đã thích nghi tốt với môi trường nuôi cấy dẫn đến kích thước tản nấm

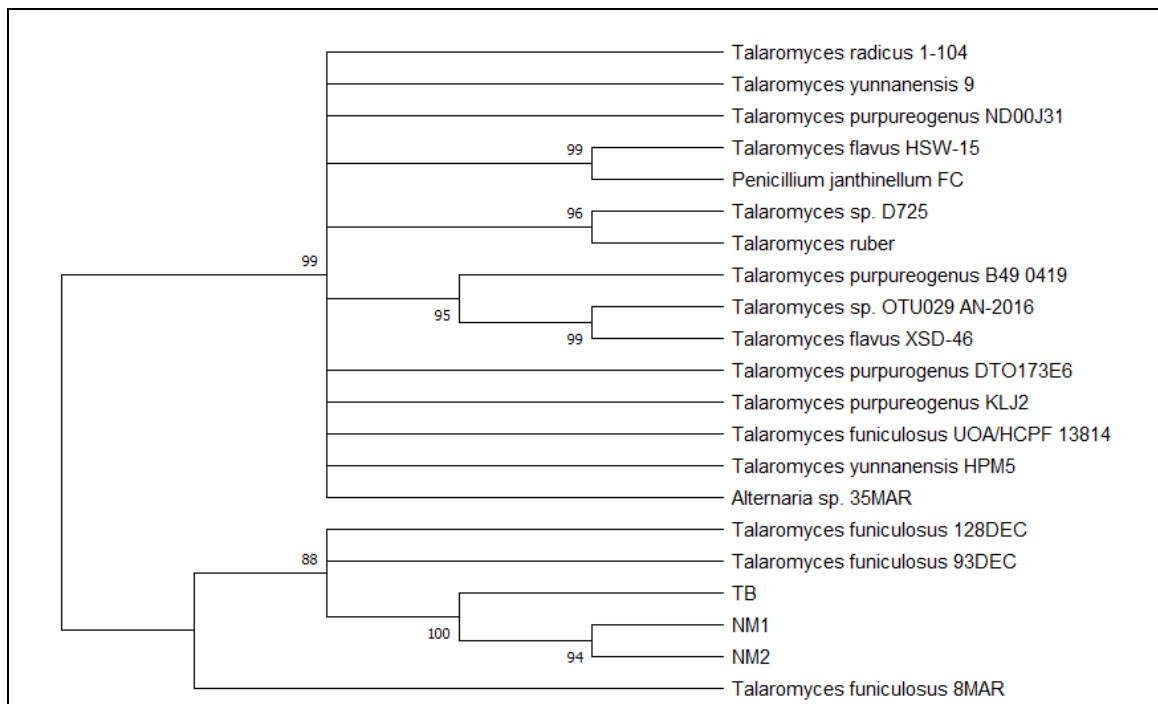
tăng nhanh hơn so với tốc độ tăng của vòng phân giải. Ngày nuôi cấy thứ 5 được xác định là thời điểm vòng sáng phân giải kali của các chủng nấm được thể hiện rõ rệt nhất, đây là một thông tin có ý nghĩa tham khảo với các nghiên cứu cùng đề tài sau này.

#### **3.2.2 Ảnh hưởng của pH tới khả năng phân giải kali**

pH là một yếu tố quan trọng ảnh hưởng tới khả năng thích nghi và ứng dụng của chủng vi sinh vật ở những môi trường tự nhiên đa dạng khác nhau, ví dụ điều kiện đất chua hoặc đất kiềm. Sau 5 ngày nuôi cấy, kết quả cho thấy cả ba chủng nấm NM1, NM2 và TB đều sinh trưởng tốt và thể hiện rõ rệt khả năng phân giải kali ở dải nồng độ pH rộng từ 5 đến 9. Mức pH 6 đến 7 được coi là tối ưu với các chủng nấm tuyển chọn, tương ứng với các giá trị SI cao nhất trong khoảng từ 2,22 đến 2,56 (Hình 5). Theo công bố của Kasana & cs. (2017), khả năng phân giải kali của nấm *Fomitopsis meliae* RCKF7 cũng tối ưu ở mức pH bằng 6 với giá trị SI bằng 2,15. Như vậy, các chủng nấm NM1, NM2 và TB có cùng mức pH tối ưu với *Fomitopsis meliae* RCKF7 và có khả năng phân giải kali tốt hơn *Fomitopsis meliae* RCKF7. Độ pH trong khoảng 6 đến 7 cũng chính là mức phù hợp cho sự phát triển của nhiều loại cây trồng như khoai tây, ngô, lúa mì, yến mạch, củ cải đường và một số cây họ đậu (Mccauley & cs., 2009).



**Hình 3. Kết quả điện di sản phẩm PCR khuếch đại vùng gene ITS của các chủng NM1 (3), NM2 (1) và TB (2) với cặp mồi ITS1/ ITS4**

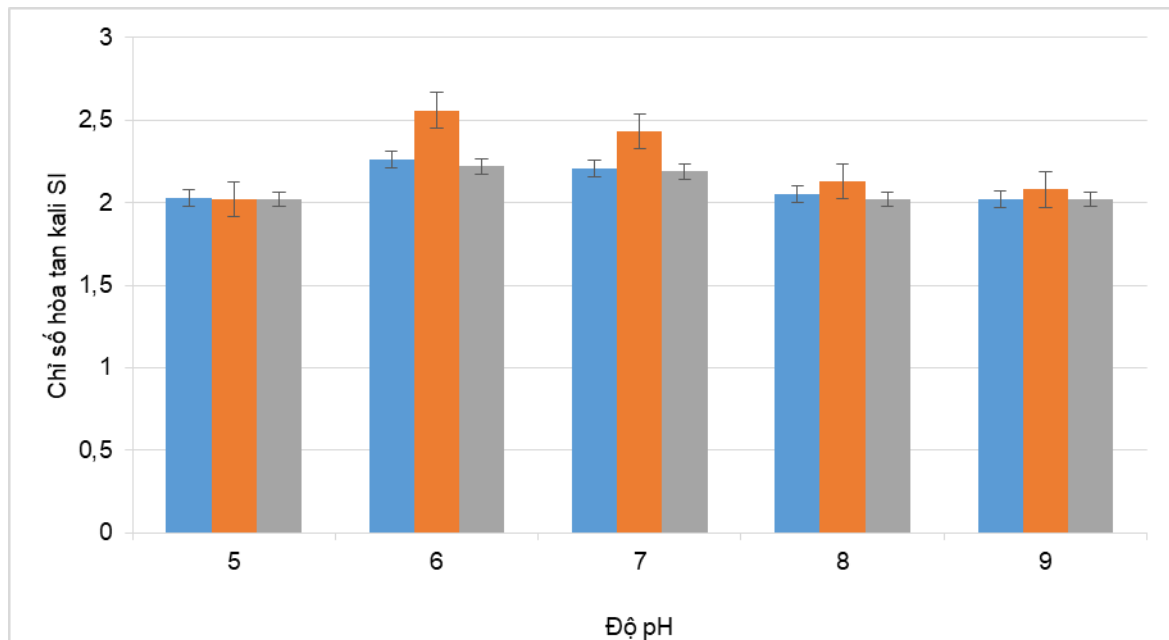


**Hình 4. Cây phát sinh chủng loại các chủng nấm NM1, NM2 và TB**

**Bảng 1. Chỉ số hòa tan kali (SI) của các chủng nấm NM1, NM2 và TB**

Ngày	Chủng nấm		
	NM1	NM2	TB
1	1,00 ± 0,00 <sup>a</sup>	1,00 ± 0,00 <sup>a</sup>	1,00 ± 0,00 <sup>a</sup>
2	2,21 ± 0,06 <sup>b</sup>	2,20 ± 0,02 <sup>bc</sup>	2,17 ± 0,04 <sup>bd</sup>
3	2,22 ± 0,05 <sup>b</sup>	2,24 ± 0,02 <sup>bc</sup>	2,18 ± 0,02 <sup>b</sup>
4	2,23 ± 0,07 <sup>b</sup>	2,26 ± 0,02 <sup>b</sup>	2,20 ± 0,12 <sup>bc</sup>
5	2,33 ± 0,02 <sup>c</sup>	2,26 ± 0,04 <sup>b</sup>	2,29 ± 0,05 <sup>c</sup>
6	2,19 ± 0,02 <sup>bd</sup>	2,19 ± 0,08 <sup>c</sup>	2,20 ± 0,10 <sup>bc</sup>
7	2,14 ± 0,02 <sup>de</sup>	2,10 ± 0,02 <sup>d</sup>	2,17 ± 0,01 <sup>bd</sup>
8	2,10 ± 0,03 <sup>e</sup>	2,08 ± 0,03 <sup>d</sup>	2,15 ± 0,03 <sup>bd</sup>
9	2,08 ± 0,04 <sup>e</sup>	2,06 ± 0,04 <sup>de</sup>	2,10 ± 0,03 <sup>bd</sup>
10	2,08 ± 0,01 <sup>e</sup>	2,01 ± 0,02 <sup>e</sup>	2,08 ± 0,02 <sup>d</sup>

Ghi chú: Số liệu thể hiện là giá trị trung bình ± độ lệch chuẩn (SD) của ba lần lặp lại ngẫu nhiên. Các giá trị trong cùng một cột có mẫu tự theo sau khác nhau biểu thị sự sai khác có ý nghĩa ở mức  $P < 0,05$ .



**Hình 5. Chỉ số hòa tan kali theo độ pH sau 5 ngày nuôi cấy**

### 3.3. Đánh giá khả năng phân giải phosphate và sinh siderophores

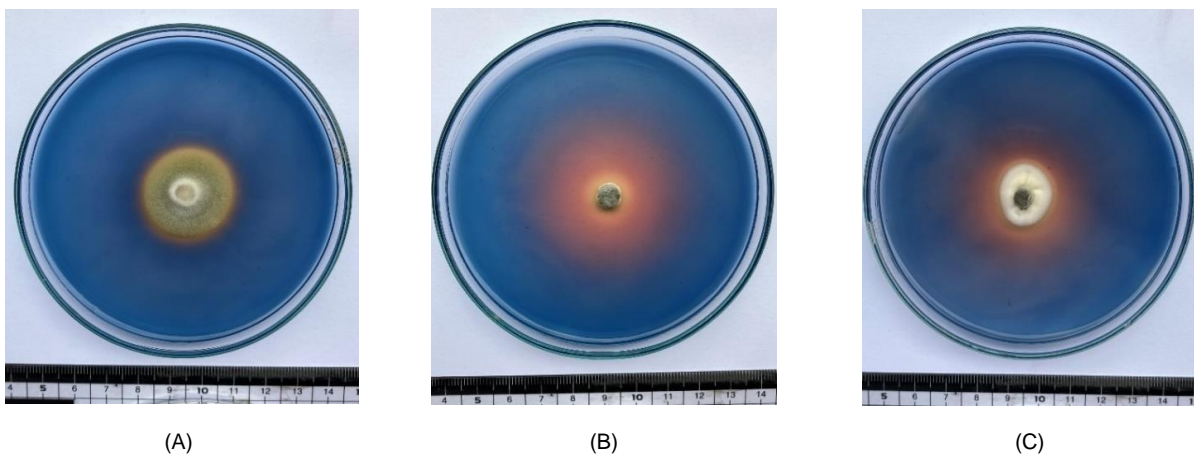
Bên cạnh tình trạng thiếu hụt kali, cây trồng cũng thường xuyên đối mặt với trạng thái thiếu phosphate và sắt bởi những khoáng chất này tồn tại chủ yếu ở các dạng hợp chất khó hòa tan trong đất (Ahmed & Holmström, 2014; Kanse & cs., 2015). Với mục đích tuyển chọn các tác nhân sinh học có khả năng cải tạo đất trồng một cách hiệu quả và toàn diện, nghiên cứu tiếp

tục phân tích khả năng phân giải phosphate và cố định sắt của các chủng nấm NM1, NM2 và TB, từ đó có thể đánh giá một cách đầy đủ hơn tiềm năng ứng dụng của các chủng nấm này đối với cây trồng.

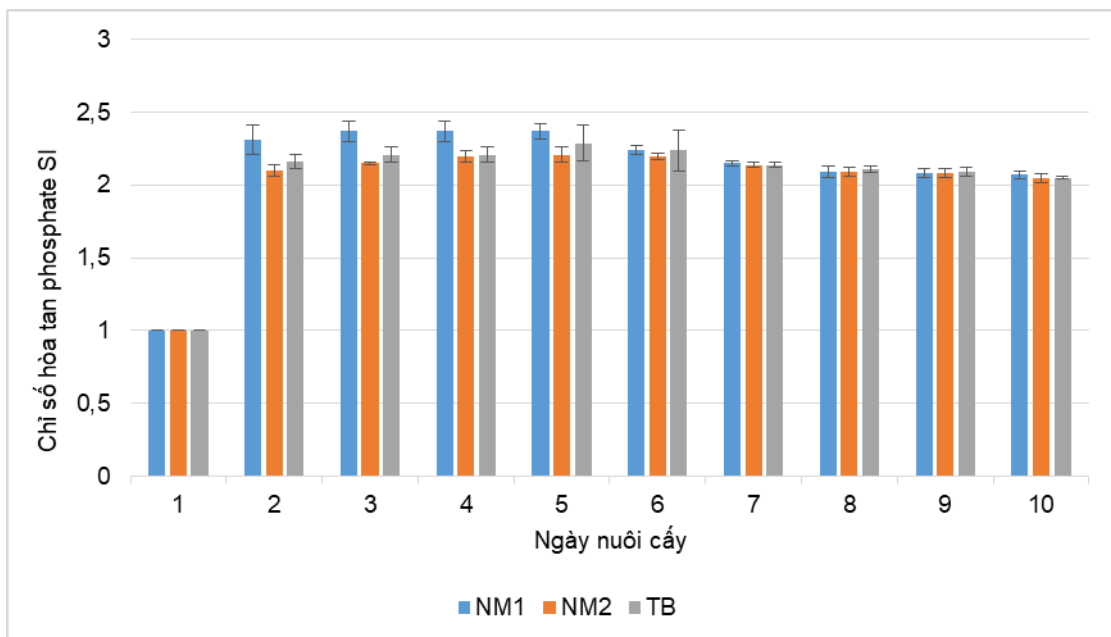
Siderophores là những phân tử kích thước nhỏ có ái lực mạnh với sắt, được vi khuẩn và nấm tiết ra môi trường để trở thành dạng trung gian giúp tế bào hấp thụ sắt một cách dễ dàng hơn. Nhờ sự xuất hiện của siderophores do vi

sinh vật tiết ra mà hàm lượng Fe (III) hòa tan trong đất tăng lên. Kết quả là toàn thể quần xã bao gồm vi sinh vật vùng rễ và các loài thực vật đều thuận lợi hơn trong việc tiếp cận và hấp thu vi chất này. Siderophores được chia thành nhiều loại dựa vào cấu trúc hóa học, trong đó siderophores do nấm sản sinh chủ yếu thuộc nhóm hydroxamates (Ahmed & Holmström, 2014). Để khảo sát khả năng sinh tổng hợp siderophores, các chủng nấm NM1, NM2 và TB được nuôi cấy trên môi trường CAS. Sau 14 ngày, cả ba chủng NM1, NM2, TB đều xuất hiện

vòng sáng xung quanh tản nấm với đường kính vòng sáng lần lượt là  $0,27 \pm 0,06$ ;  $4,19 \pm 0,78$ ;  $1,37 \pm 0,25$  (cm). Kết quả này đã xác định được cả ba nấm nghiên cứu đều có khả năng sinh siderophores (Hình 6). Vòng sáng của chủng NM2 rõ nét và có đường kính lớn nhất, thể hiện khả năng sinh siderophores tốt nhất trong số 03 chủng nấm được khảo sát. Trên thế giới, một số nghiên cứu đã công bố về nấm *Talaromyces* có khả năng sinh siderophores, như *Talaromyces trachyspermus* (Sahu & cs., 2019) hoặc *Talaromyces pinophilus* M13 (Patel & cs., 2021).



**Hình 6.** Khả năng sinh tổng hợp siderophores của chủng NM1 (A), chủng NM2 (B), chủng TB (C) sau 14 ngày nuôi cấy trên môi trường CAS



**Hình 7.** Chỉ số phân giải phosphate của 03 chủng nấm NM1, NM2 và TB



Phosphate là nhân tố đa lượng đóng vai trò thiết yếu cho sự sinh trưởng, phát triển của cây trồng. Giống như kali, phosphate trong đất thường tồn tại ở trạng thái không tan khiến cây trồng gặp nhiều khó khăn để sử dụng và cần đến sự hỗ trợ của các nhóm vi sinh vật có khả năng phân giải (Kanase & cs., 2015). Khả năng phân giải phosphate của các chủng nấm được xác định bằng chỉ số hòa tan SI trong 10 ngày nuôi cấy (Hình 7). Theo đó, các vòng sáng phân giải phosphate xuất hiện từ ngày thứ 2 và các giá trị SI đạt mức cao nhất ở ngày thứ 5. Chủng NM1 có khả năng phân giải phosphate cao hơn so với hai chủng nấm còn lại với SI ngày thứ 5 =  $2,37 \pm 0,05$ . NM1 cũng chính là chủng nấm có chỉ số hòa tan kali cao nhất ở ngày nuôi cấy thứ 5.

#### 4. KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã phân lập được 03 chủng nấm NM1, NM2 và TB có đặc điểm hình thái giống với chi *Talaromyces*. Kết quả phân tích trình tự gene vùng ITS cho thấy các chủng NM1, NM2 và TB có mối quan hệ di truyền gần gũi với loài *Talaromyces funiculosus*. Chủng NM1 có khả năng phân giải kali và phosphate tốt nhất với chỉ số SI lần lượt là  $2,33 \pm 0,02$  và  $2,37 \pm 0,07$ . Chủng NM2 có khả năng sinh tổng hợp siderophores tốt nhất với đường kính vòng sáng là  $4,19 \pm 0,78$ . Đây là công bố đầu tiên về khả năng phân giải kali, phosphate và sinh tổng hợp siderophores của các chủng nấm thuộc chi *Talaromyces* tại Việt Nam. Cần tiếp tục các nghiên cứu sâu hơn để có thể ứng dụng các chủng nấm có khả năng phân giải kali khó tan trong sản xuất chế phẩm sinh học phục vụ nông nghiệp.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

Ahmed E. & Holmström S.J. (2014). Siderophores in environmental research: roles and applications. *Microbial biotechnology*. 7(3): 196-208.

Babana AH. (2013). Characterization of rock phosphate-solubilizing microorganisms isolated from wheat (*Triticum aestivum* L.) rhizosphere in Mali. *Journal of Microbiology and Microbial Research*. 1(1): 1-6.

Dương Công Bằng, Hoàng Thị Thái Hòa & Nguyễn Kim Chi (2020). Ảnh hưởng của liều lượng kali và lưu huỳnh đến cây cà phê chè giai đoạn kinh doanh trên đất bazan tại tỉnh Lâm Đồng. *Tạp chí Khoa học Đại học Huế: Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn*. 129(3B): 19-30.

Etesami H., Emami S. & Alikhani H.A. (2017). Potassium solubilizing bacteria (KSB): Mechanisms, promotion of plant growth, and future prospects - A review. *Journal of soil science and plant nutrition*. 17(4): 897-911.

Giang N.V., Hoài T.T., Trang V.M., Trung K.H., Xuan T.D., Duong V.X., Huyen P.K., Diep V.T.N., Trung N.T., Khanh T.D., Thu P.T.L. (2020). Isolation and characterization of potassium solubilizing bacteria in some Vietnamese soil samples. *International Journal on Emerging Technologies*. 11(3): 639-642.

Giang N.V., Quan, N T., Nhung N.T., Linh T.T.D., Minh T. H. A., Trung D. T., Thuy T.T.D., Tran N. P. B., Trung K. H., Khanh T. D. (2022). Evaluation of the IAA-producing ability of some endophytic bacteria isolated from *Panax pseudoginseng* roots. *Journal of Agriculture and Rural Development*. 3(2):2-10.

Kanase O.S., Whitelaw-Weckert M., Kadam T.A. & Bhosale H.J. (2015). Phosphate solubilization by stress-tolerant soil fungus *Talaromyces funiculosus* SLS8 isolated from the Neem rhizosphere. *Annals of Microbiology*. 65(1): 85-93.

Kasana R.C., Panwar N.R., Burman U., Pandey C.B. & Kumar P. (2017). Isolation and identification of two potassium solubilizing fungi from arid soil. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*. 6(3): 1752-1762.

Masoomi-Aladizgeh F., Jabbari L., Nekouei R.K. & Aalami A. (2019). A simple and rapid system for DNA and RNA isolation from diverse plants using handmade kit. *Protocol Exchange*.

Mccauley A., Jones C. & Jacobsen J. (2009). Soil pH and organic matter. *Nutrient management module*. 8(2): 1-12.

Mouhamad R., Alsaede A. & Iqbal M. (2016). Behavior of potassium in soil: a mini review. *Chemistry International*. 2(1): 58-69.

Nilsson R.H., Tedersoo L., Ryberg M., Kristiansson E., Hartmann M., Unterseher M., Porter T.M., Bengtsson-Palme J., Walker D. M., De Sousa F., Gamper H.A., Larsson E., Larsson K.H., Kõljalg U., Edgar R.C. & Abarenkov K. (2015). A Comprehensive, Automatically Updated Fungal ITS Sequence Dataset for Reference-Based Chimera Control in Environmental Sequencing Efforts. *Microbes Environ*. 30(2): 145-50.

- Parmar P. & Sindhu S. (2013). Potassium solubilization by rhizosphere bacteria: influence of nutritional and environmental conditions. *J Microbiol Res.* 3(1): 25-31.
- Patel D., Patel A., Patel M. & Goswami D. (2021). *Talaromyces pinophilus* strain M13: a portrayal of novel groundbreaking fungal strain for phytointensification. *Environmental Science and Pollution Research.* 28(7): 8758-8769.
- Premono M.E., Moawad A. & Vlek P. (1996). Effect of phosphate-solubilizing *Pseudomonas putida* on the growth of maize and its survival in the rhizosphere. *Indonesian Journal of Crop Science.* 11: 13-23.
- Sahu S., Prakash A. & Shende K. (2019). *Talaromyces trachyspermus*, an endophyte from *Withania somnifera* with plant growth promoting attributes. *Environmental Sustainability.* 2(1): 13-21.
- Schwyn B. & Neilands J. (1987). Siderophores from agronomically important species of the *Rhizobiaceae*. *Comments on Agricultural and Food Chemistry.* 1(2): 95-114.
- Sembiring M. & Sabrina T. (2022). Diversity of potassium solubilizing microbes on andisol soil affected by the eruption of Mount Sinabung, North Sumatra, Indonesia. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity.* 23(4): 1759-1764.
- Syrchin S., Yurieva O., Pavlychenko A. & Kurchenko I. (2023). Statistics-Based Optimization of Cellulase and Xylanase Production by the Endophytic Fungus *Talaromyces Funiculosus* using Agricultural Waste Materials. *Mikrobiolohichnyi Zhurnal.* 85(1): 12-25.
- Velázquez E., Silva L.R., Ramírez-Bahena M.-H. & Peix A. (2016). Diversity of Potassium-Solubilizing Microorganisms and Their Interactions with Plants. *Potassium Solubilizing Microorganisms for Sustainable Agriculture.* Springer India New Delhi: 99-110.
- Yilmaz N., Visagie C. M., Houbraken J., Frisvad J.C. & Samson R.A. (2014). Polyphasic taxonomy of the genus *Talaromyces*. *Studies in Mycology.* 78: 175-341.