

NGHIÊN CỨU CHỌN LỌC MỘT SỐ DÒNG NẤM CÓ KHẢ NĂNG KÍCH THÍCH SINH TRẦM HƯƠNG CỦA CÂY DÓ BẦU TẠI HÀ TĨNH

Nguyễn Thị Hồng Gấm, Nguyễn Hoàng Anh,
Nguyễn Anh Dũng, Nguyễn Đức Nam
Trường Đại học Lâm nghiệp

<https://doi.org/10.55250/jo.vnuf.2022.6.012-020>

TÓM TẮT

Trong nghiên cứu này, từ mẫu thân cây Dó bầu tạo Trầm hương tự nhiên thu thập tại huyện Hương Khê - tỉnh Hà Tĩnh chúng tôi đã phân lập, đánh giá và chọn lọc được 05 dòng nấm tạo chế phẩm sinh học có khả năng kích thích tạo Trầm hương hiệu quả cao. Sử dụng phương pháp định danh thông qua hình thái và chỉ thị phân tử, đã xác định được 5 loài nấm (*Penicillium crustosum*, *Aspergillus nomius*, *Trichoderma virens*, *Fusarium solani* và *Mucor racemosus*) phân lập được. Bốn công thức chế phẩm sinh học tạo ra từ việc phối trộn các dòng nấm khác nhau đều có khả năng sinh enzyme amylase, cellulase và pectinase ngoại bào. Các chế phẩm này được cấy truyền vào cây Dó bầu 10 năm tuổi tại Hương Khê - Hà Tĩnh đã cho kết quả tạo Trầm hương tốt. Trong đó, chế phẩm N1 cho kết quả tạo trầm tốt nhất với 100% tỷ lệ lỗ khoan tạo trầm trên cây với kích thước vết tạo trầm 2,2 x 36 (cm), gỗ tạo trầm có màu đen sẫm và mùi thơm ngát, ngọt, thanh mùi trầm. Kết quả của nghiên cứu này đã bước đầu ứng dụng trong công nghệ sản xuất Trầm hương theo hướng bền vững ở Việt Nam.

Từ khóa: Chế phẩm sinh học, Dó bầu, nấm, Trầm hương.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Dó bầu (*Aquilaria crassna* Pierre.) là một loài thực vật thuộc họ Trầm. Dó bầu còn có tên khác là Trầm dó, dó núi... Loài này phân bố ở Đông Nam Á và đảo New Guinea. Tại Việt Nam, cây Dó bầu mọc tự nhiên rải rác trong rừng từ Bắc vào Nam, phân bố tập trung ở các tỉnh Kon Tum, Kiên Giang, Quảng Nam, Đà Nẵng, Quảng Bình, Hà Tĩnh và đảo Phú Quốc. Trên địa bàn tỉnh Hà Tĩnh, cây Dó bầu được phân bố chủ yếu ở các huyện miền núi, như: Hương Khê, Vũ Quang, Hương Sơn, Kỳ Anh, đặc biệt phát triển mạnh ở xã Phúc Trạch. Theo kết quả thống kê, điều tra năm 2020 trong toàn tỉnh có khoảng 3 triệu cây Dó bầu, tương đương khoảng 3.000 ha (quy ra mật độ 1.000 cây/ha) trồng phân tán trong vườn hộ và có trên 9.100 hộ trồng Dó bầu, bình quân mỗi hộ trồng trên 310 cây/hộ, trong đó huyện Hương Khê có 2.360 ha (chiếm 70% diện tích Dó bầu toàn tỉnh) (Sở NN&PTNT Hà Tĩnh, 2020). Trầm hương có giá trị kinh tế rất cao trên thị trường, điều này đã làm cho cây Dó bầu trở thành loài thực vật đặc biệt được nhiều nhà khoa học và người dân chú ý, có giá trị đặc biệt về mặt nghiên cứu khoa học ở Việt Nam nói riêng và các nước trên thế giới nói chung. Có hơn 150

hợp chất đã được xác định trong gỗ Trầm hương. Trong số các hợp chất này, có 70 Sesquiterpen và khoảng 40 loại (Naef, 2011). Các hoạt chất này đều có tác dụng tốt đến sức khỏe con người. Theo Đông y, Trầm hương là vị thuốc quý hiếm, vị cay, tính ôn, có tác dụng đáng khí, nạp thận, bình can tráng nguyên dương, chữa các bệnh đau bụng, đau ngực, hen suyễn, lợi tiểu, giảm đau, trấn tĩnh, hạ sốt, thổ huyết, khó thở. Theo Tây y, Trầm hương có tính kháng sinh, tạo kháng thể mạnh (diệt khuẩn, làm lành vết thương), có tác dụng chữa một số bệnh về tim mạch (suy tim, đau ngực), bệnh về hô hấp (hen suyễn), bệnh về thần kinh (an thần, mất ngủ, giảm đau, trấn tĩnh...), bệnh về tiêu hoá (đau bụng, buồn nôn, tiêu chảy), bệnh về tiết niệu (Nguyễn Thế Nhã, 2019).

Vì vậy, để thúc đẩy nền sản xuất lâm nghiệp cũng như góp phần phát triển kinh tế của địa phương, rất cần có đề tài nghiên cứu nghiêm túc nhằm tạo ra Trầm hương chất lượng cao từ cây Dó bầu, bảo vệ và phát triển bền vững rừng cây Dó bầu tại Hà Tĩnh. Tuy nhiên, việc tạo Trầm hương tự nhiên hay bằng các biện pháp thủ công vẫn còn hạn chế. Với biện pháp cơ học, phương pháp này có ưu điểm là đơn giản, dễ thực hiện nhưng có nhược điểm là xác suất

thành công thấp (Đình Xuân Bá, 2017). Vì vậy, các phương pháp hiện đại ngày càng được phát triển như tạo chế phẩm kích thích tạo trầm là các chế phẩm sinh học và các chế phẩm hóa học. Đối với phương pháp dùng hoá chất có ưu điểm là rất hiệu quả, có thể tạo được nhiều trầm trong thời gian ngắn, nhưng nhược điểm của phương pháp này là trong sản phẩm còn dư thừa các thành phần hoá chất độc hại (Nguyễn Hồng Lam, 1996) sẽ ảnh hưởng chất lượng đến sản phẩm và không được người tiêu dùng ưa chuộng. Do đó, phương pháp mang tính khả quan nhất hiện nay là sử dụng các chủng nấm có khả năng kích thích tạo Trầm hương cây trực tiếp vào thân cây, với các ưu điểm như tỷ lệ thành công cao và không để lại lượng hoá chất độc hại tồn dư trong sản phẩm (Nguyễn Hồng Lam, 1996; Đình Xuân Bá, 2017).

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng, vật liệu, hóa chất

Đối tượng nghiên cứu: Các chủng nấm được phân lập từ các mẫu gỗ thu ở thân cây Dó bầu có Trầm hương tự nhiên ở Hà Tĩnh, Việt Nam.

Vật liệu nghiên cứu: Mẫu gỗ thân cây Dó bầu có Trầm tự nhiên thu thập tại huyện Hương Khê, tỉnh Hà Tĩnh.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Phương pháp phân lập sợi nấm

Cắt các mẫu gỗ có Trầm hương tự nhiên thành từng mảnh nhỏ với chiều dài khoảng 0,5-1,0 cm, sau đó đặt đều 3-5 mẫu lên môi trường phân lập trên đĩa petri. Tiến hành theo dõi các đĩa petri trong 2-7 ngày kể từ lúc cấy mẫu. Thực hiện cấy chuyển liên tục nhiều lần các khuẩn lạc ra môi trường PDA vô trùng (3-4 ngày/lần) để thu được dòng nấm riêng biệt và thuần khiết.

Phương pháp định danh nấm

Phương pháp định danh thông qua đặc điểm hình thái

Quan sát hình thái, màu sắc hệ sợi và bào tử của các chủng đã phân lập được bằng mắt thường và dưới kính hiển vi ở vật kính 40x, 100x. Sau đó, so sánh các mẫu đã quan sát với khóa phân loại để phân loại sơ bộ các chủng đã phân lập.

Phương pháp định danh bằng kỹ thuật sinh học phân tử

Tách chiết DNA và giải trình tự gen vùng ITS

Tách chiết DNA từ các mẫu nấm đã phân lập thuần sau 7 ngày nuôi cấy trên môi trường PDA theo phương pháp CTAB (Cetyl trimethyl ammonium bromide) của Doyle & Doyle (1987). Thực hiện phản ứng PCR với cặp mồi ITS1 (5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3') và ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') để nhân toàn bộ vùng gen ITS của các mẫu nấm. Dùng kit DNA Gel Extraction Kit (NORGEN) để tinh chiết sản phẩm PCR từ gel agarose. Sản phẩm DNA sau tinh sạch được gửi đi giải trình tự nucleotid tại Viện Công nghệ sinh học - Viện Hàn lâm Khoa học & Công nghệ Việt Nam.

Phân tích trình tự và xác định tên loài nấm

Dựa trên các trình tự thu được, tìm kiếm trên cơ sở dữ liệu trên ngân hàng gen tại NCBI. Tiến hành phân tích trình tự và phá hệ mẫu nấm và các mẫu tương đồng bằng các phần mềm BioEdit 7.0 và MEGA X.

Phương pháp xác định khả năng sinh tổng hợp enzyme ngoại bào

Bằng phương pháp đục lỗ thạch trên môi trường PDA có bổ sung 1% các nguồn cơ chất khác nhau như: pectin, carboxy methyl cellulose (CMC), tinh bột nuôi ở nhiệt độ 28°C trong 2-14 ngày. Sau 24 giờ thử bằng thuốc nhuộm Lugol 1%, chủng nấm nào có khả năng sinh enzym ngoại bào sẽ tạo vòng phân hủy trong suốt trên môi trường.

Phương pháp tạo chế phẩm vi sinh có khả năng kích thích tạo Trầm hương

Công thức phối trộn các dòng nấm

Các dòng nấm nuôi trong môi trường lỏng (gồm dịch chiết khoai tây, pepton, cao nấm men, sucrose) 72 giờ được sử dụng để phối trộn thành các công thức khác nhau.

Đánh giá khả năng sống của các dòng nấm sau khi phối trộn với nhau theo từng công thức

Các dòng nấm sau khi phối trộn thành 04 công thức chế phẩm vi sinh khác nhau được nuôi lắc ở nhiệt độ phòng trong 7 ngày. Sau đó, tiến hành phân lập lại các dòng nấm bằng môi trường PDA trên đĩa petri và cấy chuyển liên tục nhiều lần để thu được giống thuần khiết.

Xác định hoạt tính enzyme của các dịch phối trộn

Bằng phương pháp đục lỗ thạch trên đĩa môi trường thạch chứa cơ chất pectin, tinh bột, CMC tương ứng với từng loại enzyme rồi nhỏ 50µl dịch nuôi cấy chứa enzym các lỗ thạch. Sau 24 giờ thử bằng thuốc nhuộm Lugol 1%, chủng nấm nào có khả năng sinh enzym ngoại bào sẽ tạo vòng phân hủy trong suốt trên đĩa môi trường.

Xác định khả năng kích thích tạo Trầm hương trên thân cây Dó bầu của các chế phẩm sinh học

Các cây Dó bầu đã được chọn để bố trí thí nghiệm có độ tuổi 10 - 12 năm, đường kính ngang ngực đạt 13 - 15 cm. Các cây được đánh dấu và khoan những vị trí được đánh dấu. Bố trí các lỗ khoan sole nhau, mỗi mũi khoan cách nhau 50 cm theo chiều dài thân cây, các lỗ sole nhau 20 - 25 cm theo chiều ngang thân. Mũi khoan có đường kính 1,2 - 1,5 cm, và khoan sâu vào thân cây khoảng 8 - 10 cm. Tiến hành pha loãng chế phẩm sinh học với nước sạch theo tỉ lệ 1:2, dùng ống truyền dịch y tế để truyền dịch sinh học vào trong các lỗ đã khoan với thể tích 100 ml dịch đã pha/lỗ. Tốc độ truyền dịch 200

ml/h. Sau khi đã bố trí xong thí nghiệm thì tiếp tục theo dõi sự phản ứng của cây với chế phẩm vi sinh cũng như sự sinh trưởng và phát triển của cây. Lấy số liệu sau 08 tháng cây chế phẩm vi sinh vào thân cây Dó bầu, gồm: màu sắc gỗ tạo trầm, kích thước vết tạo Trầm hương và mùi hương của khói khi đốt gỗ có Trầm hương tạo thành.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

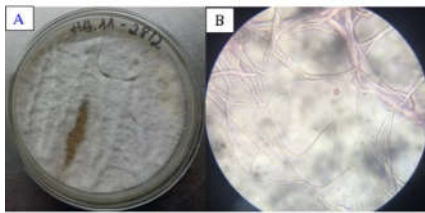
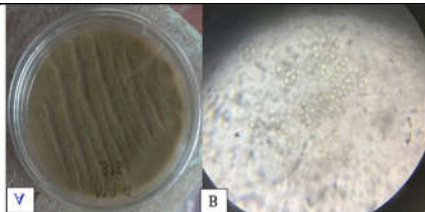
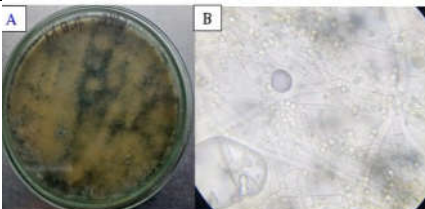
3.1. Kết quả phân lập và định danh các chủng nấm tạo Trầm hương từ cây Dó Bầu

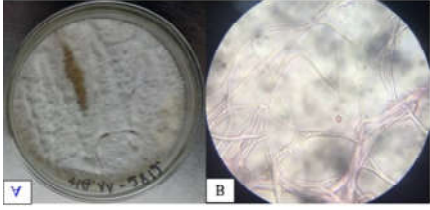
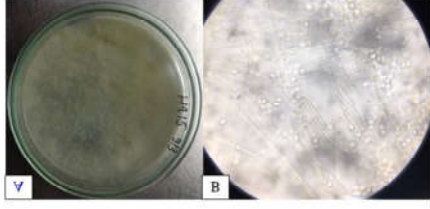
Tiến hành phân lập nấm từ những vết Trầm hương trên mẫu gỗ thân cây Dó bầu có trầm tự nhiên (tại Hương Khê - Hà Tĩnh) trên các môi trường khác nhau. Sau nhiều lần cấy chuyển liên tục để tạo được các dòng thuần riêng biệt, kết quả thu được các chủng nấm được ký hiệu là: M1.2, M4.4, M9.4, H4.11 và H4.15.

3.1.1. Kết quả sơ bộ định danh thông qua các đặc điểm hình thái nấm

Dựa vào khoá phân loại của Sharma (Sharma, O.P. (1998), so sánh các đặc điểm đã quan sát được bằng mắt thường và dưới kính hiển vi, kết luận sơ bộ các chủng nấm thể hiện thông qua bảng 1.

Bảng 1. Kết quả sơ bộ định danh thông qua các đặc điểm hình thái nấm

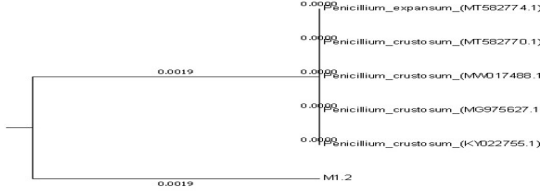
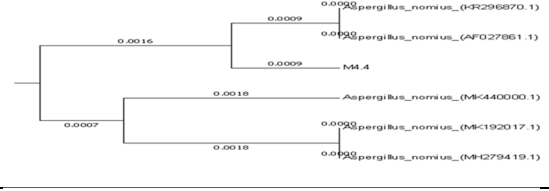
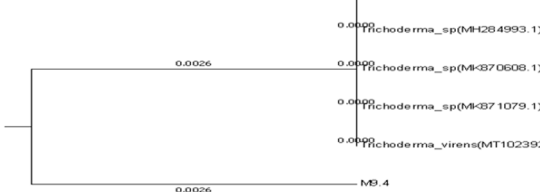
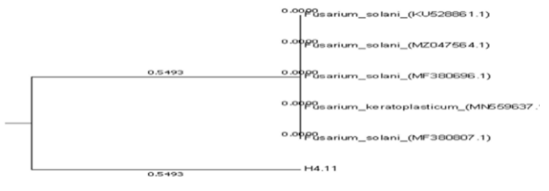
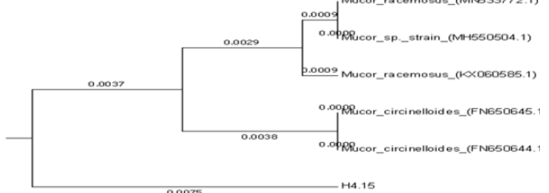
STT	Tên mẫu	Hình ảnh trên đĩa thạch và kính hiển vi	Mô tả
1	M1.2		Sợi nấm ban đầu màu trắng, sau một thời gian mọc nhiều bào tử có màu xanh lục.
2	M4.4		Sợi nấm ban đầu màu trắng, sau một thời gian mọc nhiều bào tử có màu xanh vàng.
3	M9.4		Sợi nấm ban đầu có màu trắng, sau một thời gian nuôi cấy chuyển sang màu xanh lục.

4	H4.11		Sợi nấm màu trắng, kết thành tảng như bông. Khi về già, sợi ngả nâu.
5	H4.15		Sợi nấm có màu trắng, sợi mảnh như tơ nhện.

3.1.2. Kết quả định danh các chủng nấm bằng kỹ thuật sinh học phân tử

Kết quả định danh 5 dòng nấm phân lập được nhờ chỉ thị phân tử, tổng hợp trong bảng 2.

Bảng 2. Kết quả xác định loài bằng sinh học phân tử các chủng nấm

STT	Ký hiệu chủng	Cây di truyền	Quan hệ gần gũi với loài	Mức độ tương đồng	Kết luận
1	M1.2		<i>Penicillium crustosum</i>	99,10%	M1.2 thuộc chi <i>Penicillium</i>
2	M4.4		<i>Aspergillus nomius</i>	98,58%	M4.4 thuộc chi <i>Aspergillus</i>
3	M9.4		<i>Trichoderma virens</i>	99,83%	M9.4 thuộc chi <i>Trichoderma</i>
4	H4.11		<i>Fusarium solani</i>	92,64%	H4.11 thuộc chi <i>Fusarium</i>
5	H4.15		<i>Mucor racemosus</i>	94,98%	H4.15 thuộc chi <i>Mucor</i>

Từ mẫu gỗ cây Dó bầu đã có trầm tự nhiên thu thập tại Hà Tĩnh đã tiến hành phân lập và định danh được 05 chủng nấm có ký hiệu M1.2, M4.4, M9.4, H4.11 và H4.15 thông qua hình thái và phân tích trình tự vùng gen ITS: chủng nấm M1.2 thuộc chi *Penicillium*, chủng nấm M4.4 thuộc chi *Aspergillus*, chủng nấm M9.4 thuộc chi *Trichoderma*, chủng nấm H4.11 thuộc chi *Fusarium* và chủng nấm H4.15 thuộc chi *Mucor*. Như vậy, bước đầu chúng tôi đã phân lập được các dòng nấm có khả năng kích tạo Trầm hương tương tự như với các báo cáo trước đây trên thế giới.

Rozi Mohamed và cộng sự (2013) đã phân lập từ mẫu thân cây *A. malaccensis* được các dòng nấm thuộc họ *Hypocreaceae* chiếm ưu thế nhất với 23,8%, trong khi các chi *Hypocrea* và *Trichoderma*,

Botryosphaeriaceae và *Nectriaceae* với 13,2% và 13,5% là các chi *Microdiplodia*, *Lasiodiplodia*, *Fusarium* và *Gibberella*. Họ *Pleosporace* đóng góp 6,5% gồm 4 chi *Cochliobolus*, *Curvularia*, *Alternaria*, và *Epicoocum* trong họ *Pleosporace* và họ *Trichocomaceae* với 6,2% gồm các chi *Aspergillus*, *Penicillium*, *Paecilomyces*. Khoảng 14,1% dòng nấm không xác định được. Năm 2018, S. Subasinghe và cộng sự đã phân lập được hai chủng nấm *Aspergillus niger* và *Fusarium solani* từ mẫu trầm hương tự nhiên.

3.2. Kết quả xác định hoạt tính enzyme của một số chủng nấm

Đánh giá khả năng sinh enzym ngoại bào của các chủng nấm sử dụng phương pháp đục lỗ đĩa thạch có cơ chất tương ứng của từng loại enzyme, quan sát vòng phân hủy cơ chất sau 24 giờ, kết quả thể hiện ở bảng 3.

Bảng 3. Đường kính vòng phân giải (cm) cơ chất của các chủng nấm

Cơ chất	Chủng nấm				
	M1.2	M4.4	M9.4	H4.11	H4.15
CMC	1,8 ± 0,01	1,0 ± 0,01	3,0 ± 0,02	2,1 ± 0,02	1,0 ± 0,01
Tinh bột	1,9 ± 0,05	0,9 ± 0,03	2,2 ± 0,03	1,5 ± 0,01	1,7 ± 0,02
Pectin	2,3 ± 0,04	0,8 ± 0,03	1,5 ± 0,04	1,2 ± 0,02	1,8 ± 0,01

Kết quả nghiên cứu cho thấy cả 5 chủng nấm đều có khả năng tạo vòng phân hủy cơ chất, điều này chứng tỏ chúng có khả năng sinh enzyme ngoại bào. Mỗi chủng nấm có khả năng sinh enzyme ngoại bào khác nhau, trong đó, chủng nấm M9.4 có khả năng sinh tổng hợp enzyme cellulose và enzyme amylase cao nhất với đường kính vòng phân giải lần lượt là 3,0 cm và 2,2 cm. Chủng nấm M1.2 cho khả năng sinh tổng hợp enzyme pectinase cao nhất với đường kính vòng phân giải đạt 2,3 cm. Chủng nấm H4.15 tuy cho vòng phân giải cơ chất CMC thấp nhất nhưng lại cho vòng phân giải cơ chất Pectin cao thứ hai trong 5 chủng nấm (1,8 cm). Chủng nấm M4.4 cho vòng phân giải

cả 3 loại cơ chất là thấp nhất trong 5 chủng nấm.

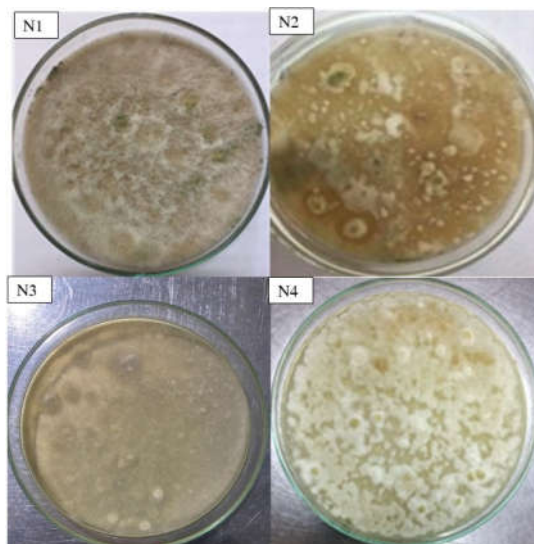
3.3. Kết quả nghiên cứu tạo chế phẩm sinh học

Các dòng nấm nuôi trong môi trường lỏng 48 giờ được sử dụng để phối trộn thành các công thức chế phẩm sinh học khác nhau. Để đánh giá khả năng sống của các dòng nấm sau khi phối trộn tạo chế phẩm sinh học, chúng tôi phân lập lại các dòng nấm từ các dịch chế phẩm sau 7 ngày nuôi lác các bình chế phẩm vi sinh. Lấy 0,5 ml dịch trong các bình chế phẩm, cấy trải trên mặt đĩa petri có môi trường PAG. Theo dõi các đĩa đã phân lập sau 7 ngày, kết quả thể hiện ở hình 1 dưới đây.

Kết quả quan sát được cho thấy: 5 dòng nấm sau khi phối trộn thành 4 công thức chế phẩm

sinh học khác nhau và để sau 7 ngày và phân lập lại đều quan sát thấy các dòng nấm ban đầu đem phối trộn tạo chế phẩm sinh học. Đã quan sát thấy có 5 dòng nấm ở công thức chế phẩm N1, có 4 dòng nấm ở công thức chế phẩm

N2 và N3, có 3 dòng nấm ở công thức chế phẩm N4 mọc trên đĩa môi trường phân lập lại. Điều này chứng tỏ các dòng nấm đều sống được cùng nhau trong các công thức chế phẩm sinh học sau 7 ngày phối trộn.



Hình 1. Kết quả phân lập ngược lại các dòng nấm từ 4 chế phẩm sinh học

Để xác định khả năng sinh enzyme ngoại bào của các chế phẩm sinh học sau khi phối trộn các dòng nấm, sử dụng phương pháp đục lỗ đĩa

thạch có cơ chất tương ứng của từng loại enzyme, kết quả thể hiện ở bảng 4.

Bảng 4. Đường kính phân giải cơ chất (cm) của các chế phẩm sinh học

Cơ chất	Ký hiệu chế phẩm sinh học			
	N1	N2	N3	N4
CMC	2,3 ± 0,12	2,1 ± 0,06	1,2 ± 0,05	1,0 ± 0,01
Tinh bột	1,8 ± 0,10	2,0 ± 0,01	1,2 ± 0,01	1,3 ± 0,01
Pectin	2,0 ± 0,01	1,0 ± 0,05	1,0 ± 0,05	1,2 ± 0,01

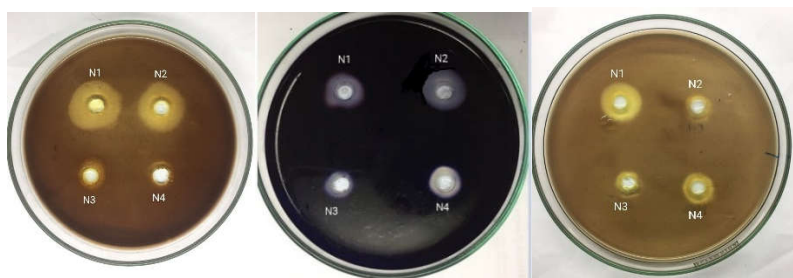
Kết quả nghiên cứu cho thấy cả 4 chế phẩm vi sinh đều có khả năng tạo vòng phân hủy cơ chất, điều này chứng tỏ chúng có khả năng sinh enzyme ngoại bào. Trong đó, khả năng sinh enzyme cellulase thể hiện bằng vòng phân giải cơ chất CMC là mạnh nhất (vòng phân giải cơ chất đạt 2,3 cm) đối với công thức chế phẩm N1 và vòng phân giải cơ chất đạt 2,1 cm đối với công thức chế phẩm N2. Khả năng sinh enzyme

pectinase cũng khá ở công thức chế phẩm N1 (vòng phân giải cơ chất đạt 2,0 cm).

Trong 4 công thức chế phẩm thử nghiệm, công thức N1 cho khả năng sinh các enzyme cao nhất: vòng phân giải cơ chất CNC của enzyme cellulase đạt 2,3 cm, vòng phân giải cơ chất pectin của enzyme pectinase đạt 2,0 cm và vòng phân giải cơ chất tinh bột của enzyme amylase đạt 1,8 cm.

Khả năng sinh các enzyme cellulase, pectinase, amylase cho thấy các dòng nấm này có khả năng tiết các enzyme ngoại bào để phá

hủy các tế bào gỗ thân cây cũng như các tế bào vỏ cây làm tổn thương thân cây Dó bầu, từ đó cây sinh tổng hợp ra Tràmm hương.



Hình 2. Khả năng sinh enzyme ngoại bào của 4 chế phẩm vi sinh trên môi trường chứa cơ chất CMC, tinh bột, pectin (từ trái qua phải)

3.4. Đánh giá khả năng kích thích tạo Tràmm hương của các chế phẩm sinh học tạo được

Sau khi đánh giá khả năng sinh enzyme ngoại bào của 4 công thức chế phẩm sinh học, chúng tôi đã tiến hành thử nghiệm khả năng kích thích tạo Tràmm hương trên cây Dó bầu của các công thức chế phẩm sinh học tại huyện Hương Khê - tỉnh Hà Tĩnh.

Sau 8 tháng cấy truyền chế phẩm sinh học vào thân cây Dó bầu, chúng tôi tiến hành kiểm tra khả năng tạo Tràmm hương tại lỗ truyền chế phẩm sinh học và khu vực lân cận lỗ truyền đó thông qua màu sắc gỗ tạo tràmm, kích thước vết tạo Tràmm hương và mùi hương của khói khi đốt gỗ có Tràmm hương tạo thành. Kết quả được tổng hợp trong bảng 5.

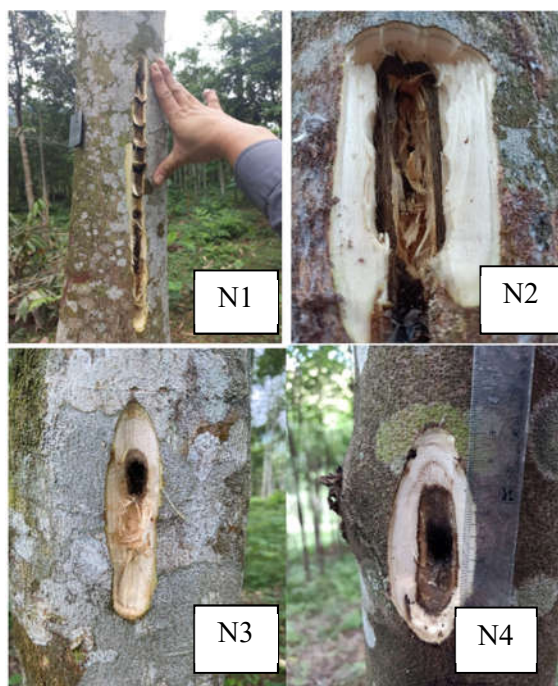
Bảng 5. Bảng đánh giá khả năng kích thích tạo Tràmm hương của các chế phẩm sinh học

Công thức chế phẩm	Tỷ lệ lỗ khoan tạo tràmm trên cây (%)	Kích thước vết tạo tràmm (cm)	Màu sắc gỗ tạo Tràmm hương	Mùi hương của khói khi đốt gỗ có Tràmm hương tạo thành
N1	100	2,2 x 36	Đen sẫm	Thơm ngát, ngọt thanh mùi tràmm
N2	100	2,1 x 14	Đen sẫm	Thơm dịu, ngọt thanh mùi tràmm
N3	66,67	0,2 x 1	Nâu nhạt	Thơm nhẹ mùi tràmm
N4	80	2,0 x 10	Đen sẫm	Thơm dịu, ngọt thanh mùi tràmm

Như vậy dựa vào bảng 5 và quan sát hình ảnh vị trí được thử nghiệm trên cây Dó bầu ta kết luận được rằng: những chủng nấm cộng sinh đã phân lập được đều có khả năng tạo tràmm trên cây Tràmm hương. Các mẫu gỗ được lấy từ các vị trí thử nghiệm lây nhiễm nấm trên cây Dó bầu ngoài tự nhiên khi đốt đều cho mùi thơm của Tràmm hương.

Trong đó, chế phẩm N1 cho tỷ lệ lỗ khoan tạo tràmm trên cây là 100%, kích thước vết tạo tràmm 2,2 x 36 (cm) với gỗ tạo tràmm có màu đen sẫm và mùi thơm ngát, ngọt thanh mùi tràmm.

Chế phẩm N2 cũng cho tỷ lệ lỗ khoan tạo tràmm trên cây là 100%, kích thước vết tạo tràmm 2,1 x 14 (cm), gỗ tạo tràmm có màu đen sẫm và có mùi thơm dịu, ngọt, thanh mùi tràmm. Chế phẩm N3 cho tỷ lệ lỗ khoan tạo tràmm trên cây thấp nhất trong 4 chế phẩm vi sinh (66,67%), kích thước vết tạo tràmm 0,2 x 1 (cm), gỗ tạo tràmm màu nâu nhạt, thơm nhẹ mùi tràmm. Chế phẩm N4 đạt 80% lỗ khoan tạo tràmm trên cây, kích thước vết tạo tràmm là 2,0 x 10 (cm), gỗ tạo tràmm có màu đen sẫm và có mùi thơm dịu, ngọt, thanh mùi tràmm.



Hình 3. Hình ảnh lỗ khoan tạo Trầm hương tại Hà Tĩnh từ các chế phẩm sinh học

4. KẾT LUẬN

Từ mẫu gỗ cây Dó bầu đã có trầm tự nhiên thu thập tại Hà Tĩnh đã tiến hành phân lập và định danh được 5 chủng nấm: M1.2, M4.4, M9.4, H4.11 và H4.15 thông qua hình thái và phân tích trình tự vùng gen ITS: chủng nấm M1.2 thuộc chi *Penecillum*, chủng nấm M4.4 thuộc chi *Aspergillus*, chủng nấm M9.4 thuộc chi *Trichoderma*, chủng nấm H4.11 thuộc chi *Fusarium* và chủng nấm H4.15 thuộc chi *Mucor*.

Cả 5 chủng nấm đều có khả năng sinh enzym ngoại bào phối trộn thành các công thức khác nhau tạo ra 4 dung dịch chế phẩm sinh học có khả năng kích thích cây Dó bầu sinh Trầm hương hiệu quả cao.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Dinh Xuan Ba, (2017). *Suggested method for evaluation of agarwood oil quality* - International Journal of Agricultural Research and Reviews: ISSN-2360-7971, Vol. 5(6): pp, 644-646.
2. Jia-Jia Tian, Xiao-Xia Gao, Wei-Min Zhang, Lei Wang and Liang-Hu Qu (2013). *Molecular identification of endophytic fungi from Aquilaria sinensis and artificial*

agarwood induced by pinholes-infusion technique. African Journal of Biotechnology, Vol. 12(21), pp. 311.

3. Muthuraj Sangareswari Nagajothi, Kalappan Thangamuthu Parthiban, Subramani Umesh Kanna, Loganathan Karthiba, Duraisamy Saravanakumar. (2016). *Fungal Microbes Associated with Agarwood Formation*. American Journal of Plant Sciences, 2016, 7, 1445-1452.

4. Naef R. (2011). *The Volatile and Semi-volatile Constituents of Agarwood, the Infected Heartwood of Aquilaria Species: A Review*. Flavour and Fragrance Journal. 26: 73-87.

5. Nguyễn Hồng Lam, (1996). *Nghiên cứu thăm dò giải pháp kỹ thuật gây tạo Trầm hương ở cây Dó trầm*. Báo cáo tổng kết đề tài nghiên cứu khoa học, Viện Khoa học Lâm nghiệp Việt Nam.

6. Nguyễn Thế Nhã, Hoàng Văn Sâm (2019). Các loài Dó trầm thuộc chi *Aquilaria* của Việt Nam. Nhà xuất bản Nông nghiệp.

7. Rozi Mohamed, Phai Lee Jong, Abd Kudus Kamziah (2013). *Fungal Inoculation Induces Agarwood in Young Aquilaria malaccensis Trees in the Nursery*. Journal of Forestry Research, Selangor, Malaysia, 2013.

8. Sharma, O.P. (1998). *Textbook of Fungi*. McGraw Hill Company, New Delhi.

9. Sở NN&PTNT Hà Tĩnh (2020). Công bố hiện trạng rừng năm 2020.

SCREENING SOME FUNGI EFFECTIVELY STIMULATE AGARWOOD PRODUCTION OF *Aquilaria crassna* IN HA TINH

Nguyen Thi Hong Gam, Nguyen Hoang Anh,
Nguyen Anh Dung, Nguyen Duc Nam
Vietnam National University of Forestry

SUMMARY

In this study, from the stem sample of *Aquilaria crassna* which created natural agarwood collected in Huong Khe district - Ha Tinh province, 05 fungi species (M1.2, M4.4, M9.4, H4.11, and H4.15) were isolated and evaluated their ability in application as a bio stimulant that should product high efficiency frankincense. The result of morphological and molecular identification showed that 5 isolated fungi were *Penecillum crustosum*, *Aspergillus nomius*, *Trichoderma virens*, *Fusarium solani* and *Mucor racemosus*, respectively. The result also indicated that all isolates were capable of producing extracellular enzymes such as amylase, cellulase and pectinase. In addition, the artificial introduction of the fungal mixtures in 10-year-old *Aquilaria crassna* plants showed stimulation of agarwood production of those plants, and the N1 mixture (including 05 strains of fungi) gave the best results with a marked size of 2.2 x 36 (cm). The results of this study have initially applied the technology of agarwood production in a sustainable way in Vietnam.

Keywords: Agarwood, *Aquilaria crassna*, biostimulant, fungi.

Ngày nhận bài : 15/8/2022
Ngày phản biện : 17/9/2022
Ngày quyết định đăng : 28/9/2022