

PHÂN LẬP MỘT SỐ CHỦNG NẤM HẠI GỖ VÀ XÁC ĐỊNH KHẢ NĂNG KHÁNG NẤM CỦA GỖ KEO LAI (*Acacia mangium* x *Acacia auriculiformis*) BIẾN TÍNH

Vũ Kim Dung¹, Chu Thị Thùy Dung¹, Trần Đức Hạnh¹, Vũ Mạnh Tường¹,
Phạm Văn Chương¹, Lê Ngọc Phước¹, Nguyễn Trọng Kiên¹

¹Trường Đại học Lâm nghiệp

TÓM TẮT

Gỗ được xem là một trong những mặt hàng xuất khẩu chủ lực của Việt Nam, tuy nhiên các sản phẩm gỗ từ gỗ tự nhiên thường bị các tác nhân sinh học tấn công, đặc biệt là nấm làm giảm độ bền, khối lượng và làm biến màu gỗ dẫn đến làm giảm giá trị của gỗ. Do đó, gỗ biến tính được sản xuất nhằm tăng độ bền của gỗ. Từ các mẫu gỗ mục đã phân lập được chủng nấm mục nâu M1 và 5 chủng nấm mục trắng L1-5, trong đó chủng L4 đã được định tên là loài *Pleurotus ostreatus* L4. Các chủng nấm mục trắng L4, nấm mục nâu M1 và nấm biến màu *Aspergillus niger* LN02 đã được sử dụng để kiểm tra khả năng kháng nấm của gỗ keo lai biến tính bằng nano ZnO₂ và biến tính nhiệt-cơ. Với thời gian ngâm tẩm gỗ keo lai với hạt nano ZnO₂ nồng độ 1 g/l trong thời gian 1 - 5 giờ, gỗ được biến tính bằng phương pháp ngâm tẩm áp lực (8 bar) với hạt nano ZnO₂ trong thời gian 5 giờ cho kết quả kháng nấm tốt nhất đối với cả ba loại nấm (tỷ lệ khối lượng hao hụt 0,93 - 1,2%, không bị biến màu gỗ). Gỗ Keo lai biến tính nhiệt-cơ ở 180°C trong 221 phút, tỷ suất nén 50% cho kết quả kháng nấm mục trắng và nấm biến màu cao nhất (tỷ lệ khối lượng hao hụt 3,88%, gỗ bị biến màu độ 1), trong khi mẫu gỗ biến tính ở 140°C trong 120 phút, tỷ suất nén 40% có khả năng kháng nấm cao nhất đối với nấm mục nâu (tỷ lệ khối lượng hao hụt 1,7%) sau 4 tuần.

Từ khóa: Gỗ biến tính, keo lai, nấm biến màu, nấm hại gỗ, nấm mục nâu, nấm mục trắng.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Gỗ tự nhiên và gỗ rừng trồng thường bị các tác nhân sinh học tấn công, đặc biệt là nấm làm giảm độ bền của gỗ (Carolina và cộng sự, 2010; Bhat và cộng sự, 2005). Các loại nấm mục, nấm biến màu và nấm mốc gây ra những thiệt hại đáng kể về giá trị kinh tế cho gỗ và các sản phẩm từ gỗ trong quá trình sử dụng. Nấm mục có khả năng phá hủy vách tế bào nghiêm trọng và làm giảm khối lượng cũng như cường độ cơ học của gỗ. Trong khi đó, nấm biến màu và nấm mốc phát triển bằng cách sử dụng hợp chất hữu cơ dự trữ trong gỗ, chúng không gây ảnh hưởng hoặc ảnh hưởng không đáng kể đến tính chất cơ lý của gỗ, chỉ làm biến màu bề mặt gỗ làm giảm chất lượng gỗ (Haygreen và Bowyer, 2003). Như vậy, nấm mục nâu phân hủy carbonhydrat còn nấm mục trắng phân hủy cả carbonhydrat và lignin trong gỗ (Tsoumis, 1991) làm cho chất lượng gỗ bị suy giảm. Hiện nay, các nhà khoa học đã sử dụng nhiều phương pháp khác nhau để biến tính gỗ như: nhiệt, ngâm tẩm hóa chất, phủ mặt gỗ bằng hợp chất vô cơ nano (Evren và cộng sự, 2016; Oleksandr và cộng sự, 2009) tạo ra nhiều sản phẩm gỗ biến tính. Gỗ sau khi xử lý được tiến hành đánh giá các chỉ số cơ - lý và độ bền sinh học.

Ở Việt Nam, Keo và Bạch đàn là loại cây lâm nghiệp rất phổ biến, chiếm gần 70% diện

tích rừng trồng. Bên cạnh đó, biến tính gỗ bằng nano và biến tính nhiệt là hai phương pháp biến tính gỗ được sử dụng phổ biến nhất để nâng cao cường độ cơ học cũng như khả năng kháng nấm gây hại gỗ. Do đó, việc phân lập, nghiên cứu các đặc tính của một số chủng nấm hại gỗ và đánh giá mức độ gây hại của một số chủng nấm gây tác động lớn đến vật liệu gỗ biến tính trước khi sử dụng là vấn đề cấp thiết.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu

2.1.1. Mẫu nấm

Các sợi tơ nấm và quả thể nấm lớn trên các đoạn gỗ mục được thu thập từ rừng núi Luôt - Trường Đại học Lâm nghiệp. Chủng nấm *Aspergillus niger* LN02 cung cấp bởi Viện Công nghệ Sinh học Lâm nghiệp.

2.1.2. Mẫu gỗ

Mẫu gỗ keo lai biến tính bằng nano ZnO₂: các mẫu gỗ có kích thước 5,0 x 2,0 x 0,5 cm (dọc thớ x xuyên tâm x tiếp tuyến) được xử lý bằng phương pháp ngâm tẩm áp lực (8 bar) với dung dịch nano ZnO₂ nồng độ 1 g/l trong thời gian 1 giờ, 3 giờ và 5 giờ.

Mẫu gỗ keo biến tính nhiệt-cơ: Các mẫu gỗ có kích thước trung bình 3 x 2 x 2 cm (dọc thớ x xuyên tâm x tiếp tuyến) được xử lý theo thiết kế thí nghiệm bằng quy hoạch thực nghiệm theo Design-Expert 8.0 với các tham số quá trình nén ép như sau: tỷ suất nén 30 - 50%,

nhệt độ ép 140 - 180°C, thời gian ép 60 - 180 phút và độ ẩm $30 \pm 5\%$, kí hiệu từ K1-K20, như bảng 1.

Bảng 1. Thông số quá trình nén ép của các mẫu gỗ keo biến tính nhiệt-cơ

Kí hiệu	Tỷ suất nén (%)	Nhiệt độ (°C)	Thời gian (phút)
K1	40	160	120
K2	40	160	120
K3	30	140	180
K4	30	180	60
K5	40	160	120
K6	50	180	221
K7	40	140	120
K8	40	194	120
K9	50	180	180
K10	40	180	120
K11	40	160	19
K12	30	160	120
K13	23	160	120
K14	57	180	180
K15	40	160	120
K16	50	180	60
K17	50	140	60
K18	30	140	60
K19	40	160	120
K20	40	160	221

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp phân lập và sàng lọc

Các mẫu nấm được thu thập từ thân cây gỗ mục và được giữ trong các túi nilon vô trùng, ghi tên mẫu, ngày lấy mẫu, đánh số thứ tự và vị trí lấy mẫu, phân lập theo phương pháp của Nguyễn Khởi Nghĩa (2017). Tiếp theo, để sàng lọc các chủng nấm mục nâu và nấm mục trắng tiến hành tách khuẩn lạc của các chủng nấm phân lập được cấy lên môi trường PDA bổ sung 0,5% acid tanic, nuôi cấy ở 28°C trong 4 - 5 ngày. Tách khuẩn lạc nấm ra đĩa petri chứa môi trường PDA vô trùng, cấy chuyển nhiều lần để được giống thuần khiết (Trịnh Thu Thủy và cộng sự, 2015).

2.2.2. Phương pháp nghiên cứu đặc tính sinh học

Nghiên cứu khả năng sinh enzyme ngoại bào bằng phương pháp lỗ thạch trên môi trường thạch chứa cơ chất (CMC, tinh bột, acid tanic) tương ứng. Khả năng phát triển của các chủng nấm ở pH khác nhau được nghiên cứu trên môi trường PDA, với pH = 4 - 9 và khảo sát môi trường thích hợp cho các chủng nấm được tiến hành trên môi trường: Hansen, PDA,

GauseI, Czapek, Sabouroud, YEA. Nuôi cấy ở nhiệt độ 28°C sau 5 - 7 ngày, quan sát và đo đường kính khuẩn lạc nấm.

2.2.3. Phương pháp định tên nấm bằng kỹ thuật sinh học phân tử

DNA tổng số nấm được tách chiết sau đó vùng gen 28S-rDNA được khuếch đại bằng phản ứng PCR từ DNA tổng số với trình tự môi:

F: 5'-CTTGGTCATTTAGAGGAAGTAA-3'

R: 5'-CAGGAGACTTGTACACGGTCCAG-3'

Sản phẩm của phản ứng PCR được phân tích trình tự trên máy đọc trình tự ABI PRISM 3100 Avant Genetic Analyzer, xử lý bằng phần mềm BioEdit. Từ kết quả giải trình tự, so sánh trình tự thu được với ngân hàng gen để xác định loài của mẫu nấm. Mức độ tương đồng của trình tự gen vùng ITS-rDNA của các chủng nấm được so sánh với các trình tự trên NCBI.

2.3.4. Phương pháp xác định khả năng kháng nấm của gỗ keo lai biến tính

Khả năng kháng nấm của gỗ keo lai biến tính được xác định dựa theo tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 11356: 2016 – Thuốc bảo quản

gỗ, xác định hiệu lực chống nấm gây biến màu gỗ; TCVN 10753: 2015 - Thuốc bảo quản gỗ, phương pháp xác định hiệu lực với nấm hại gỗ; Tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 16483.21 về gỗ - phương pháp lấy mẫu để xác định tính chất cơ lí của gỗ sau quá trình công nghệ và tiêu chuẩn ngành về thử hiệu lực bảo quản với nấm, mối. Phương pháp khử trùng mẫu gỗ: được tiến hành theo TCVN 10753: 2015 và TCVN 11356: 2016.

2.3.5. Phương pháp thu thập và xử lý số liệu

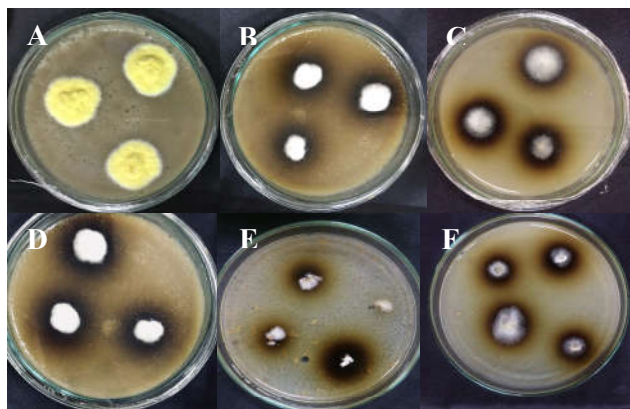
Thí nghiệm được bố trí với ba lần lặp, số liệu được thu thập, xử lí bằng phần mềm Excel

và SPSS version 22.0.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Kết quả phân lập một số chủng nấm hại gỗ

Từ 10 mẫu gỗ mục thu thập từ rừng núi Luốt đã phân lập được 6 chủng nấm có quả thể, hình thái hệ sợi khác nhau. Tiến hành sàng lọc trên môi trường PDA bổ sung 0,5% acid tanic, nuôi cấy ở 28°C trong 5 ngày đã phân loại được 01 chủng nấm mục nâu, ký hiệu M1 và 05 chủng nấm mục trắng, ký hiệu L1-5, như hình 1.



Hình 1. Khuẩn lạc nấm trên môi trường PDA bổ sung 0,5% acid tanic
A: nấm mục nâu M1; B, C, D, E, F: nấm mục trắng L1, L2, L3, L4, L5

Trịnh Thu Thủy và cộng sự (2015) cũng đã công bố kết quả sàng lọc chủng nấm mốc có khả năng phân hủy lignin trên môi trường PDA (bổ sung 0,5% acid tanic), nuôi cấy ở 28°C trong 6 - 8 ngày. Trong số 37 chủng phân lập được có 12 chủng nấm làm vùng xung quanh khuẩn lạc chuyển sang màu nâu đen. Các chủng này được cho là có khả năng sinh tổng hợp hệ enzyme ligninase vì khi các enzyme này được tổng hợp sẽ oxy hóa acid tanic làm xuất hiện các vùng thẫm màu xung quanh khuẩn lạc.

3.1.1. Kết quả nghiên cứu đặc tính sinh học

Mỗi chủng nấm khác nhau sẽ thích hợp với các loại môi trường nuôi cấy nhất định. Trên môi trường PDA, chủng M1, L1, L4 cho đường kính khuẩn lạc lớn nhất lần lượt là 1,6 cm; 1,5 cm và 2,7 cm. Trên môi trường YEA, chủng L2 và L5 cho đường kính khuẩn lạc lớn nhất là 1,63 cm và 1 cm, môi trường Hansen cho đường kính khuẩn lạc lớn nhất của chủng L3 là 1,13 cm (bảng 2) sau 5 ngày.

Khi thay đổi pH 4 - 9, các chủng nấm có đường kính khuẩn lạc lớn nhất ở pH = 6 - 7,

môi trường có pH = 4 hoặc pH = 9 cho đường kính khuẩn lạc nấm nhỏ nhất. Trong đó, chủng nấm M1 và L4 có đường kính khuẩn lạc lớn nhất lần lượt bằng 2,45 cm và 3,63 cm sau 5 ngày nuôi cấy (bảng 3). Như vậy, điều kiện pH thích hợp nhất cho các chủng nấm phát triển là pH = 6 - 7. Xoo - Sik Jo và cộng sự (2010) cũng cho rằng pH thích hợp cho sự phát triển của nấm mục trắng *Coriolus versicolor* là pH = 6 - 7 (kích thước lần lượt 7,63 cm và 7,67 cm sau 7 ngày nuôi cấy).

Khả năng sinh enzyme ngoại bào của các chủng nấm mục được biểu hiện qua vòng phân hủy cơ chất ở bảng 4 cho thấy cả 6 chủng nấm mục có khả năng sinh enzyme ngoại bào cellulase và amylase; 05 chủng L1-5 có khả năng sinh enzyme ligninase. Trong đó chủng nấm M1 và L4 có khả năng sinh enzym cao nhất, đường kính vòng phân hủy cơ chất tinh bột, CMC của chủng M1 và L4 lần lượt là 1,2 cm và 1,4 cm; 1,4 cm và 1,5 cm; đường kính vòng phân hủy cơ chất acid tanic của chủng L4 là 1,2 cm.

Bảng 2. Đường kính khuẩn lạc nấm trên các môi trường

Tên chủng nấm	Đường kính khuẩn lạc (cm)					
	Sabouroud	Hansnen	PDA	Czapek	Gause I	YEA
M1	0,70±0,02	0,60±0,01	1,60±0,05	0,80±0,01	0,70±0,03	1,30±0,06
L1	0,40±0,02	0,70±0,03	1,50±0,04	0,50±0,02	0,60±0,02	1,20±0,05
L2	0,99±0,02	0,58±0,01	1,01±0,04	1,57±0,04	1,20±0,03	1,63±0,07
L3	0,83±0,02	1,13±0,03	1,00±0,04	0,76±0,02	1,01±0,03	1,08±0,04
L4	1,50±0,05	1,70±0,04	2,70±0,12	0,67±0,01	1,13±0,05	2,60±0,13

Bảng 3. Đường kính khuẩn lạc nấm trên các pH khác nhau

Tên chủng nấm	Đường kính khuẩn lạc (cm)					
	pH 4	pH 5	pH 6	pH 7	pH 8	pH 9
M1	0,40±0,01	0,70±0,03	1,60±0,07	2,45±0,09	1,30±0,04	0,80±0,04
L1	0,50±0,02	0,50±0,01	1,10±0,04	1,50±0,07	0,90±0,02	0,70±0,01
L2	1,37±0,02	1,93±0,06	1,41±0,07	1,63±0,05	1,60±0,04	1,30±0,03
L3	1,27±0,05	1,50±0,04	1,90±0,06	2,17±0,07	0,70±0,2	0,59±0,02
L4	2,03±0,10	2,27±0,11	3,63±0,14	2,97±0,12	2,42±0,08	1,70±0,05
L5	1,20±0,05	1,40±0,06	2,30±0,12	2,50±0,07	1,90±0,08	1,75±0,08

Bảng 4. Đường kính vòng phân giải cơ chất (cm) của các chủng nấm

Cơ chất	Chủng nấm					
	M1	L1	L2	L3	L4	L5
CMC	1,40±0,03	0,80±0,01	1,20±0,04	0,90±0,03	1,50±0,04	0,70±0,01
Tinh bột	1,20±0,04	1,00±0,02	0,50±0,01	0,80±0,03	1,30±0,02	0,90±0,02
Acid tanic	0	0,30±0,01	0,40±0,01	0,50±0,01	1,20±0,02	0,40±0,01

Kết quả này cũng phù hợp với công bố về nghiên cứu của Mahmood và cộng sự (2016) về phân lập nấm mục nâu cho thấy các chủng nấm mục nâu phân lập được có khả năng tiết các enzyme ngoại bào bao gồm: cellulase, amylase, glucoamylase, oxidase, lipase, pectinase. Hai trong số chủng nấm mục nâu thu thập được thuộc chi *Daedalea* và chi *Coniophora*.

Chủng nấm L4 có hoạt tính sinh enzyme ngoại bào cao nhất, do đó được lựa chọn để định tên bằng sinh học phân tử và đánh giá khả năng kháng nấm của gỗ keo biến tính.

3.1.2. Kết quả định tên nấm

Mẫu nấm L4 đã tinh sạch được định tên theo phương pháp sinh học phân tử bằng kỹ thuật PCR khuếch đại vùng gen 28S-rDNA bằng cặp mồi đặc hiệu. Kết quả thu được trình

tự hoàn chỉnh vùng gen 28S-rDNA của chủng L4 (hình 2).

Trình tự gen vùng 28S-rDNA của chủng nấm L4 có kích thước là 780bp. So sánh trình tự gen đã nhận được trong nghiên cứu với trình tự gen tương ứng trên Ngân hàng GenBank cho thấy: vùng gen 28S-rDNA của chủng nấm L4 có độ tương đồng 100% so với gen 28S-rDNA tương ứng của chủng *Pleurotus ostreatus* (mã số LC149608.1), độ tương đồng là 99% so với chủng *Pleurotus sp. 'Florida'* (mã số FJ608594).

Căn cứ vào đặc điểm hình thái, đặc điểm sinh hóa và trình tự gen, chủng L4 được định tên là *Pleurotus ostreatus* L4, xếp theo bậc phân loại sinh vật từ liên giới *Eukaryota*, giới *Fungi*, ngành *Basidiomycota*, lớp *Agaricomycetes*, bộ *Agaricales*, họ *Pleurotaceae* đến chi *Pleurotus*.

TCTCTAGATTACAACCTCGGATGGCCAAAGACCACCAGATTTTAAATTTGAGCTTTTCCC
 GCTTCACTCGCAGTTACTAGGGGAATCCTTGTAGTTTCTTTTCCCTCCGCTTATTGATAT
 GCTTAAGTTCAGCGGGTAGTCTACCTGATTTGAGGTCAAATTTGTCAAATTTGCCTTGC
 GGACGATTAGAGAGCTGGACTCTATTCATGCGTGTCTATTGATGAGTGATAATTATCACA
 TCATGCGCAGAGGCAATGAGAAGTCTGCTAATGCATTAAAGAGGAGCCGACCTGTCA
 AGGCCAGCAGCCCCCAACAATCCAACATCACAATTGGAAAGAAAACCAAAGTGAGTTT
 GAGAATTTAATGACTCAAACAGGCATGCCCTCGGAATACCAAGGGGCGCAAGGTG
 CGTTCAAAGATTCGATGATTCACTGAATTCTGCAATTCACATTACTTATCGCATTTTCGT
 GCGTTCTTCATCGATGCGAGAGCCAAGAGATCCGTTGTTGAAAGTTGATTATGGTTTA
 AAGGCACAAGGCCATTAAATGACATTCGTAGACATACATTTGGGGTGTGTAAGTAAA
 TAGACTGCGTAGTCACACCGAGACGTTTAAATCCCAGCAACCAAGTCTGACGACTTGA
 GAGACGACTTACAGATCTATCAAAAGTTCACAGGTGGTTGAAAGACTAGTGAAGCGT
 GCACATGCCCTAGAGGCCAGCAACAACCTCCATAGTGAATTCATTAATGATCCTCCCG
 AGGTTACCTACGAAA

Hình 2. Trình tự hoàn chỉnh vùng gen 28S-rDNA

Kalmis và cộng sự (2008) cũng đã công bố kết quả nghiên cứu đề tài phân lập nấm từ gỗ mục có khả năng loại màu thuốc nhuộm. Hai chủng nấm mục trắng phân lập được có khả năng loại màu thuốc nhuộm ở nồng độ cao (1000mg/l) đã được định danh là loài *Pleurotus ostreatus* MCC07 và *Pleurotus ostreatus* MCC20.

3.2. Kết quả xác định khả năng kháng nấm của hai loại gỗ keo lai biến tính

3.2.1. Kết quả xác định khả năng kháng nấm của gỗ keo lai biến tính nano

Khả năng kháng nấm mục trắng *Pleurotus ostreatus* L4 và nấm mục nâu M1 của gỗ keo lai biến tính bằng hạt nano ZnO₂ (nồng độ 1g/l) được thử nghiệm trên 03 mẫu gỗ biến

tính và 01 mẫu đối chứng. Kết quả ở bảng 5 cho thấy mẫu gỗ keo lai biến tính bằng nano ZnO₂ xử lí trong thời gian 1 - 5 giờ đều cho kết quả kháng nấm mục trắng và nâu cao hơn so với mẫu đối chứng. Sau 4 tuần thử nghiệm, mẫu gỗ biến tính trong 5 giờ có tỉ lệ phần trăm khối lượng gỗ hao hụt thấp nhất (0,93% và 1,2%), trong khi mẫu gỗ đối chứng có tỉ lệ khối lượng gỗ hao hụt 5,1 - 5,4%. Như vậy phương pháp biến tính gỗ keo lai bằng hạt nano ZnO₂ với nồng độ 1 g/l trong thời gian 5 giờ cho kết quả kháng nấm mục trắng *Pleurotus ostreatus* L4 và nấm mục nâu M1 tốt nhất, tỉ lệ phần trăm khối lượng gỗ bị hao hụt giảm 4,5 - 5,5 lần so với mẫu đối chứng.

Bảng 5. Kết quả thử nghiệm khả năng kháng nấm của gỗ Keo lai biến tính nano

Tên mẫu	Nấm mục trắng <i>Pleurotus ostreatus</i> L4		Nấm mục nâu M1		Nấm biến màu <i>Aspergillus niger</i> LN02	
	Tỉ lệ khối lượng hao hụt sau cấy nấm (H %)	Khả năng chống nấm sau 4 tuần	Tỉ lệ khối lượng gỗ hao hụt sau cấy nấm (H %)	Khả năng chống nấm sau 4 tuần	Diện tích biến màu (%)	Độ biến màu
5h	0,93±0,04	Tốt	1,20±0,03	Tốt	0	0
3h	1,37±0,03	Tốt	1,90±0,02	Tốt	0,50±0,02	1
1h	1,48±0,01	Tốt	2,58±0,03	Tốt	2,30±0,01	1
DC0	5,10±0,04	Khá	5,40±0,01	Khá	36,12±0,2	4

Ghi chú: 0 < H ≤ 5 (Tốt), 5 < H ≤ 10 (Khá), 10 < H ≤ 20 (Trung bình), H > 20 (Kém) (TCVN 10753: 2015)
 0 - không bị biến màu; 1 - tỉ lệ biến màu < 5%; 2 - tỉ lệ biến màu từ 5 - 10%; 3 - tỉ lệ biến màu từ 10 - 0%;
 4 - tỉ lệ biến màu từ 20 - 50%; 5 - tỉ lệ biến màu > 50% (TCVN 11356:2016).

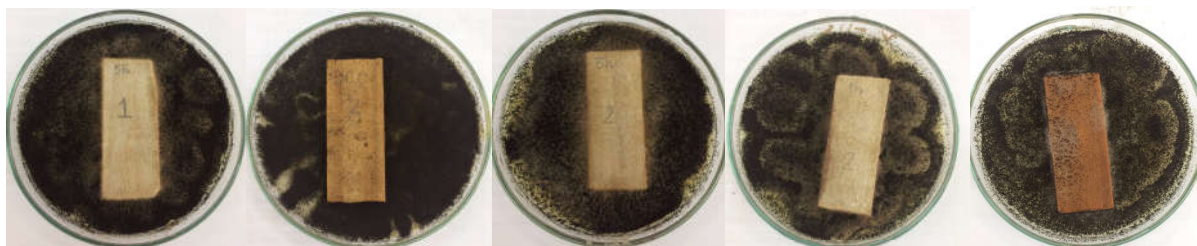
Miklós Bak và cộng sự (2018) nghiên cứu về hiệu quả kháng nấm của gỗ thông và gỗ sồi biến tính bằng 5 loại hạt nano khác nhau bao

gồm: kẽm oxit, kẽm-borat, bạc, đồng và đồng-borat đối với nấm mục nâu *Coniophora puteana* và nấm mục trắng *Coriolus versicolor*.

Kết quả nghiên cứu được công bố cho thấy hạt nano ZnO₂ cho khả năng kháng nấm cao nhất đối với cả hai loại nấm ngay cả ở nồng độ thấp nhất là 1% trong 4 giờ, khối lượng gỗ hao hụt chỉ từ 0,2 đến dưới 10% trong khi mẫu gỗ biến tính bằng hạt kẽm borat và đồng borat lại cho kết quả kháng nấm kém nhất.

Với thử nghiệm trên nấm biến màu *Aspergillus niger* LN02, kết quả nghiên cứu ở bảng 5 và hình 3 cũng cho thấy hiệu quả kháng

nấm biến màu của gỗ Keo lai biến tính được cải thiện rõ rệt sau 4 tuần thử nghiệm. Mẫu gỗ đối chứng bị biến màu độ 4 với diện tích biến màu lên đến 36,12%. Mẫu 1 giờ và 3 giờ biến màu cấp độ 1 trong khi mẫu 5 giờ không bị biến màu sau 4 tuần thử nghiệm. Kết quả trên cho thấy khả năng kháng nấm của gỗ Keo lai biến tính bằng phương pháp ngâm với dung dịch nano ZnO₂ nồng độ 1 g/l cho hiệu quả cao nhất khi biến tính gỗ trong thời gian 5 giờ.



Hình 3. Mẫu gỗ phủ nano trên môi trường chứa nấm *A. niger* LN02

Nghiên cứu của Trịnh Hiền Mai (2013) về khả năng kháng nấm biến màu của gỗ Beech biến tính đã cho kết quả khả năng kháng nấm cao nhất ở gỗ biến tính có chứa 5 - 20% trọng lượng khô của hóa chất biến tính. Theo đó, khả năng kháng nấm của gỗ biến tính bằng dung dịch nano hoặc hóa chất được giải thích do trong quá trình xử lý gỗ với áp suất cao, các vật liệu biến tính len lỏi vào và lấp đầy các lỗ hổng trong cấu trúc của gỗ do đó ảnh hưởng đến sự ăn lan của sợi nấm vào bên trong các cấu trúc gỗ, ức chế sự sinh trưởng của nấm, nhờ đó nâng cao hiệu quả kháng nấm.

3.2.2. Kết quả xác định khả năng kháng nấm của gỗ Keo lai biến tính nhiệt

Kết quả bảng 6 cho thấy tỷ lệ khối lượng gỗ

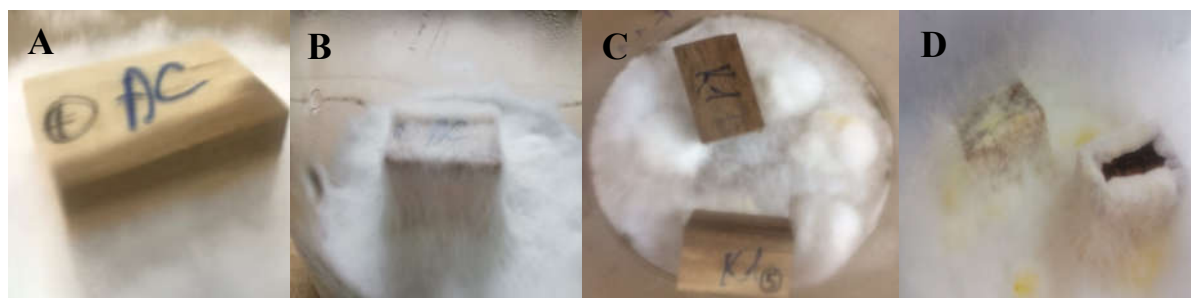
hao hụt của các mẫu gỗ được xử lý bằng phương pháp biến tính nhiệt đều thấp hơn so với đối chứng (hình 4), chứng tỏ chúng có khả năng kháng nấm mục trắng và nâu. Sau 4 tuần thử nghiệm với nấm mục trắng *Pleurotus ostreatus* L4 các mẫu gỗ K2, K6, K13, K14, K19, K20 đều cho khả năng kháng nấm tốt, tỉ lệ phần trăm khối lượng hao hụt của các mẫu gỗ từ 3,88 - 4,69%, thấp hơn nhiều so với mẫu đối chứng (10,82%). Trong đó mẫu gỗ K6 có tỉ lệ khối lượng gỗ hao hụt thấp nhất là 3,88% giảm 2,8 lần so với đối chứng. Như vậy mẫu gỗ K6 được xử lý ở 180°C trong 221 phút, tỷ suất nén 50% cho kết quả kháng nấm mục trắng cao nhất.

Bảng 6. Kết quả thử nghiệm khả năng kháng nấm của gỗ Keo lai biến tính nhiệt

Tên mẫu	Nấm mục trắng <i>Pleurotus ostreatus</i> L4		Nấm mục nâu M1		Nấm biến màu <i>Aspergillus niger</i> LN02	
	Tỷ lệ khối lượng gỗ hao hụt TB sau 4 tuần (%)	Khả năng chống nấm sau 4 tuần	Tỷ lệ khối lượng gỗ hao hụt TB sau 4 tuần (%)	Khả năng kháng nấm sau 4 tuần	Tỷ lệ biến màu TB sau 4 tuần (%)	Độ biến màu sau 4 tuần
K1	5,18±0,01	Khá	1,7±0,06	Tốt	8,33±0,20	2
K2	4,41±0,04	Tốt	6,06±0,05	Khá	20,74±0,06	4
K3	5,15±0,09	Khá	6,23±0,28	Khá	9,50±0,15	2
K4	6,13±0,03	Khá	5,58±0,10	Khá	22,18±0,14	4
K5	5,57±0,07	Khá	5,33±0,11	Khá	4,16±0,10	1
K6	3,88±0,13	Tốt	2,69±0,04	Tốt	1,11±0,05	1
K7	8,71±0,19	Khá	6,86±0,33	Khá	4,19±0,01	1

Tên mẫu	Nấm mục trắng <i>Pleurotus ostreatus</i> L4		Nấm mục nâu M1		Nấm biến màu <i>Aspergillus niger</i> LN02	
	Tỉ lệ khối lượng gỗ hao hụt TB sau 4 tuần (%)	Khả năng chống nấm sau 4 tuần	Tỉ lệ khối lượng gỗ hao hụt TB sau 4 tuần (%)	Khả năng kháng nấm sau 4 tuần	Tỉ lệ biến màu TB sau 4 tuần (%)	Độ biến màu sau 4 tuần
K8	5,47±0,05	Khá	2,07±0,01	Tốt	3,69±0,06	1
K9	6,18±0,03	Khá	4,23±0,01	Tốt	5,89±0,05	2
K10	4,47±0,07	Tốt	4,84±0,02	Tốt	6,61±0,18	2
K11	7,37±0,10	Khá	1,61±0,05	Tốt	4,40±0,17	1
K12	5,65±0,09	Khá	5,32±0,06	Khá	14,06±0,06	3
K13	4,79±0,14	Tốt	2,50±0,08	Tốt	15,94±0,04	3
K14	4,68±0,05	Tốt	2,61±0,10	Tốt	20,46±0,4	4
K15	7,63±0,04	Khá	6,23±0,01	Khá	9,93±0,07	2
K16	6,79±0,10	Khá	6,17±0,05	Khá	1,43±0,02	1
K17	7,00±0,04	Khá	1,83±0,02	Tốt	1,22±0,15	1
K18	6,27±0,06	Khá	6,22±0,12	Khá	30,74±0,08	4
K19	4,69±0,04	Tốt	5,22±0,09	Khá	14,27±0,06	3
K20	4,26±0,01	Tốt	5,74±0,09	Khá	6,71±0,06	2
DC	10,82±0,04	Trung bình	11,23±0,03	Trung Bình	42,10±0,03	4

Ghi chú: $0 < H \leq 5$ (Tốt), $5 < H \leq 10$ (Khá), $10 < H \leq 20$ (Trung bình), $H > 20$ (Kém) (TCVN 10753: 2015)
 0 - không bị biến màu; 1 - tỉ lệ biến màu < 5%; 2 - tỉ lệ biến màu từ 5 - 10%; 3 - tỉ lệ biến màu từ 10 - 20%;
 4 - tỉ lệ biến màu từ 20 - 50%; 5 - tỉ lệ biến màu > 50% (TCVN 11356:2016).



Hình 4. Các mẫu gỗ trên môi trường chứa nấm mục trắng *Pleurotus ostreatus* L4
 A, B: mẫu đối chứng ban đầu và sau 4 tuần; C, D: mẫu gỗ K1 ban đầu và sau 4 tuần

Với nấm mục nâu M1 sau 4 tuần thử nghiệm, các mẫu gỗ K1, K6, K8, K9, K10, K11, K13, K14 và K17 cho khả năng kháng nấm được đánh giá là tốt. Trong đó mẫu gỗ K1 có tỉ lệ phần trăm khối lượng gỗ hao hụt trong 4 tuần thấp nhất (1,7%), giảm 6,6 lần so với đối chứng; mẫu gỗ K7 tỉ lệ phần trăm khối lượng gỗ hao hụt cao nhất (6,86%), giảm 1,6 lần so với đối chứng. Kết quả trên cho thấy khả năng kháng nấm mục nâu M1 của gỗ keo lai biến tính nhiệt có hiệu quả cao nhất khi biến tính ở 160°C trong thời gian 120 phút, tỷ suất

nén 40%.

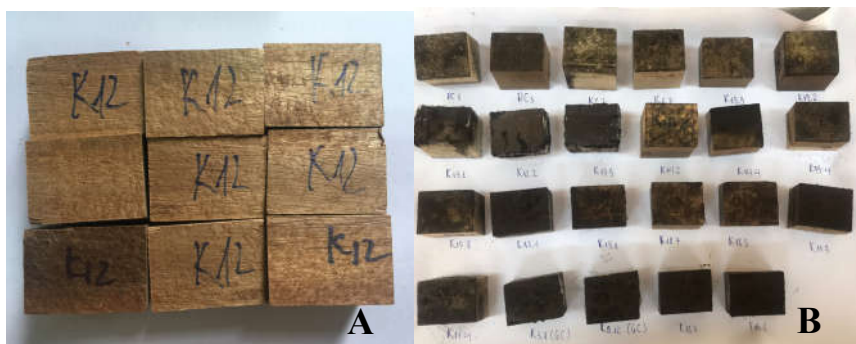
Ayata và cộng sự (2017) cũng đã nghiên cứu độ bền sinh học của gỗ thông và gỗ sồi biến tính nhiệt trên đối tượng nấm mục nâu *Coniophora puteana* và nấm mục trắng *Pleurotus ostreatus* thu được kết quả đối với gỗ sồi, xử lý nhiệt ở 212°C trong 2 giờ cho tỉ lệ hao hụt khối lượng do nấm ở mức dưới 5% và đối với gỗ thông là dưới 7%.

Với nấm biến màu *Aspergillus niger* LN02, kết quả nghiên cứu cho thấy phương pháp biến tính nhiệt gỗ keo lai với các chế độ xử lý khác

nhau làm tăng khả năng kháng nấm biến màu so với mẫu đối chứng (hình 5). Mẫu gỗ kí hiệu K6 được xử lí ở 180°C trong 221 phút, tỷ suất nén 50% cho kết quả kháng nấm biến màu cao nhất, tỉ lệ biến màu sau 4 tuần là 1,11%; giảm 38 lần so với đối chứng trong khi mẫu gỗ K7 được xử lí ở 140°C trong 120 phút, tỷ suất nén 40% cho kết quả kháng nấm biến màu thấp nhất, tỉ lệ biến màu sau 4 tuần là 4,19%; giảm 10 lần so với đối chứng.

Nghiên cứu của Muhamad và cộng sự (2016) về độ bền sinh học trên gỗ Sồi biến tính nhiệt cho kết quả gỗ Sồi biến tính nhiệt ở

200°C trong 2 giờ cho khả năng kháng nấm cao nhất với tỉ lệ biến màu gỗ nhỏ hơn 3% đối với *Aspergillus niger* và nhỏ hơn 2% đối với nấm *Penicillium chrysogenum*. Kết quả này cũng phù hợp với kết quả nghiên cứu đã công bố của Tạ Phương Hoa (2012) về khả năng kháng nấm biến màu *Aspergillus niger* của gỗ Trám trắng biến tính bởi DMDHEU được cải thiện rõ rệt so với đối chứng. Gỗ biến tính DMDHEU ở nồng độ 30%, 35% và 40% có khả năng kháng nấm cao nhất nhưng không hoàn toàn ngăn chặn được sự xâm nhập và phá hoại của loài này.



Hình 5. Các mẫu gỗ biến tính nhiệt ban đầu (A) và sau 4 tuần thử nghiệm với nấm biến màu *Aspergillus niger* LN02 (B)

4. KẾT LUẬN

Từ 10 mẫu gỗ mục thu thập ở rừng núi Luôt, Trường Đại học Lâm nghiệp đã phân lập được 6 chủng nấm hại gỗ, bao gồm 5 chủng nấm mục trắng L1 - 5 và một chủng nấm mục nâu M1. Các chủng nấm phát triển tốt nhất trên môi trường PDA và YEA, với pH từ 6 - 7, có khả năng sinh cellulase và amylase (đường kính vòng phân hủy cơ chất tinh bột, CMC và axit tanic lần lượt 0,5 - 1,2 cm; 0,7 - 1,5 cm; 0,3 - 1,2 cm). Dựa trên cơ sở các đặc tính sinh học và phân tích trình tự vùng gen 28S - rDNA, cũng như kết quả so sánh trên Ngân hàng GenBank, chủng nấm mục trắng L4 được định danh là loài *Pleurotus ostreatus* L4.

Bài báo đã đánh giá khả năng kháng nấm của gỗ Keo biến tính bằng nano và biến tính nhiệt-cơ trên ba đối tượng nấm mục trắng, nấm mục nâu và nấm biến màu. Kết quả nghiên cứu cho thấy cả hai phương pháp biến tính gỗ đều làm cải thiện khả năng kháng nấm. Trong đó, gỗ được biến tính bằng phương pháp ngâm tẩm áp lực (8 bar) với hạt nano ZnO₂ nồng độ 1 g/l trong thời gian 5 giờ cho kết quả kháng nấm tốt nhất đối với cả ba loại nấm mục. Gỗ Keo lai biến tính nhiệt ở 180°C trong 221 phút, tỷ suất

nén 50% cho kết quả kháng nấm mục trắng và nấm biến màu cao nhất trong khi mẫu gỗ biến tính ở 140°C trong 120 phút, tỷ suất nén 40% có khả năng kháng nấm cao nhất đối với nấm mục nâu.

Lời cảm ơn

Tác giả trân trọng cảm ơn Bộ Nông nghiệp và PTNT, Trường Đại học Lâm nghiệp đã giúp đỡ về pháp lý và kinh phí thực hiện đề tài: “Nghiên cứu công nghệ biến tính và bảo quản gỗ rừng trồng nâng cao độ bền cơ học, độ ổn định kích thước của gỗ đáp ứng yêu cầu nguyên liệu sản xuất đồ mộc, ván sàn chất lượng cao”. Cảm ơn Viện Công nghiệp gỗ, Viện Công nghệ sinh học Lâm nghiệp thuộc Trường Đại học Lâm nghiệp; Công ty Cổ phần BWG, Mai Châu, Hoà Bình; Công ty Cổ phần Lâm nghiệp Tháng 5, Nghệ An đã giúp đỡ về cơ sở vật chất, thiết bị thí nghiệm cho việc triển khai nghiên cứu này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Tạ Thị Phương Hoa (2012). Độ bền sinh học của gỗ trám trắng (*Canarium album* Lour. Raeuschii) xử lý DMDHEU. *Tạp chí Nông nghiệp và phát triển nông thôn*, 2: 80 – 88.
2. Trịnh Hiền Mai (2013). Khả năng kháng nấm của ván mỏng gỗ Beech biến tính với các hợp chất có chứa N-methylol melamin. *Tạp chí Khoa học và công nghệ Lâm nghiệp*, 4: 67-75.
3. Nguyễn Khởi Nghĩa (2017). Phân lập và tuyên chọn một số dòng nấm từ gỗ mục có khả năng loại màu thuốc nhuộm ở Đông bằng sông Cửu Long. *Tạp chí Khoa học trường Đại học Cần Thơ*, 53: 79 - 87.

4. Trịnh Thu Thủy, Nguyễn Văn Giang, Nguyễn Ngọc Băng, Phạm Thu Trang (2015). Phân lập và tuyển chọn các chủng nấm mốc sinh tổng hợp enzym laccase từ gỗ mục. *Tạp chí Khoa học và Phát triển*, 13(7): 1173-1178
5. Ayata U., Akcay C., Esteves B. (2017). Determination of decay resistance against *Pleurotus ostreatus* and *Coniophora puteana* fungus of heat-treated scotch pine, oak and beech wood species. *Maderas Ciencia y tecnologia*, 19 (3): 309-316.
6. Bak M. and Németh R. (2018). Effect of different nanoparticle treatments on the decay resistance of wood. *Bioresources*, 13 (4): 7886-7899.
7. Bhat K.M., Thulasidas P.K., Maria Florence E.J. (2005). Wood durability of home- garden teak against brown- rot and white- rot fungi. *Trees* 19: 654–660.
8. Carolina L.P., Sabrina P., Benedetto P., Jean-Paul C., Nathalie B., Claudio R., Beatriz O.S. (2010). Durability of five native Argentine wood species of the genera *Prosopis* and *Acacia* decayed by rot fungi and its relationship with extractive content. *Biodegradation*, 21: 753–760.
9. Evren T., Nami K., Nural Y., Lauri R., Tsuyoshi Y. (2016). Role of various nano-particles in prevention of fungal decay, mold growth and termite attack in wood, and their effect on weathering properties and water repellency. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 107: 77 – 87.
10. Haygreen J.G and Bowyer J.L (2003). Forest products and wood science – an introduction. *IOWA state university press*.
11. Kalmis E., Azbar N., Kalyoncu F. (2008). Evaluation of two wild types of *Pleurotus ostreatus* (MCC07 and MCC20) isolated from nature for their ability to decolorize Benazol Black ZN textile dye in comparison to some commercial types of white rot fungi: *Pleurotus ostreatus*, *Pleurotus djamor*, and *Pleurotus citrinopileatus*. *Can J microbiol*, 54 (5): 3666-3670.
12. Mahmood T, Asad M.J., Asgher M., Gulfranz M., Ahmed D., Anwar P. and Zaman (2016), Isolation of Indigenous Brown Rot Fungi from rotten wood from selected areas of Pakistan. *Sciencedomain international* 10 (4): 29724.
13. Muhamad X. and Tomak E.D. (2016). Determination of decay resistance against various fungi of heat-treated Oak and Acacia. *International Symposium on New Horizons in Forestry*, 37 (5): 99-106.
14. Skyba O., Niemz P. and Francis W.M.R. (2009). Resistance of thermo-hygro-mechanically (THM) densified wood to degradation by white rot fungi. *Holzforschung*, 63: 639–646.
15. Tsoumis G. (1991). Science and technology of wood- structure, properties, utilization. Chapman and Hall, New York.
16. Xoo – Sik Jo, Min – Jin Kang, Seong – Yong Choi, Young – Bok Yoo, Soon – Ja Seok and Hee – Young Jung (2010). Culture conditions for mycelial growth of *Coriolus versicolor*. *Mycobiology*, 38 (3): 195-202.

ISOLATION OF SOME STRAINS WOOD DECAYING FUNGI AND DETERMINATION OF AGAINST THE ROTTING FUNGI ABILITY OF ACACIA WOOD DENATURED

**Vu Kim Dung¹, Chu Thi Thuy Dung¹, Tran Duc Hanh¹, Vu Manh Tuong¹,
Pham Van Chuong¹, Le Ngoc Phuoc¹, Nguyen Trong Kien¹**
¹*Vietnam National University of Forestry*

SUMMARY

Wood is considered one of the major export products of Vietnam, but natural wood is usually attacked by biological agents, especially by fungi, which decreases the durability, mass and color changes of wood thus decreased the value of wood. Therefore, modification for wood is produced to increase the durability of wood. From the samples of decays wood were isolated the brown-rot fungi strain M1 and five white-rot fungus strains L1-5, in which the L4 strain was identified *Pleurotus ostreatus* L4. The strains of white-rot fungi L4, brown-rot fungi M1 and soft-rot fungi *Aspergillus niger* LN02 were used to test against the rotting fungi ability of Acacia woods, which were modified by ZnO₂ and thermo-mechanical modification. With time of treated Acacia woods with ZnO₂ nanoparticles concentration of 1g/l in 1-5 hours, the wood is modified by vacuum-pressure (8 bar) with ZnO₂ nanoparticles for 5 hours, which is demonstrated good resistance against for all of three fungi (mass loss ratio of 0.93 - 1.2%, non-color change). The Acacia woods modified at 180°C for 221 minutes has the highest against ability white-rot fungi and blue stain fungi (mass loss ratio of 3.88%, level 1 color-change), while wood samples were modified at 140°C for 120 minutes has the highest against ability for brown-rot fungi (mass loss ratio of 1.7%).

Keywords: Acacia hybrid (*Acacia mangium x Acacia auriculiformis*), Blue-stain fungi, brown-rot fungi, white-rot fungi, wood fungus, wood modification.

Ngày nhận bài : 20/5/2019

Ngày phản biện : 09/8/2019

Ngày quyết định đăng : 16/8/2019