THÀNH PHẦN NẤM PHÂN GIẢI CELLULOSE TRONG RỪNG THÔNG MÃ VĨ VÀ THÔNG NHỰA

Lê Thành Công[1], Vũ Văn Định[2], Phạm Văn Nhật[2],
Nguyễn Thị Loan[2], Trần Nhật Tân[2], Phạm Quang Thu[2]

TÓM TẮT

Cháy rừng thường xuyên xảy ra và để lại hậu quả vô cùng nghiêm trọng. Trong giai đoạn 2014 -2019, có 1.868 vụ cháy đã xảy ra tại Việt Nam và đã phá hủy khoảng 8.499 ha rừng. Việt Nam có khoảng 400.000 ha rừng thông, chủ yếu là Thông nhựa, Thông mã vĩ và Thông ba lá. Rừng trồng các loài thông thường xuyên xảy ra cháy, khi bị cháy rất khó dập do vật liệu cháy có nhựa và lượng vật liệu cháy dưới tán rừng thông rất nhiều. Việc tuyển chọn các loài nấm có khả năng phân giải cellulose để làm chế phẩm phân hủy vật liệu cháy dưới tán rừng thông vừa giúp giảm lượng vật liệu cháy đồng thời tăng lượng mùn cho đất là một hướng đi tiềm năng và sẽ góp phần tích cực trong hoạt động phát triển rừng ở Việt Nam. Kết quả nghiên cứu đã phân lập thành công 42 chủng nấm từ đất và lá mục thu ở rừng Thông nhựa và Thông mã vĩ tại 5 địa phương gồm: Cao Bằng, Lạng Sơn, Quảng Ninh, Thanh Hóa và Hà Nội. Trong đó đã xác định 24 chủng có khả năng phân giải cellulose mạnh và rất mạnh, chúng thuộc 22 loài, 11 chi. 17 chủng mạnh nhất thuộc 15 loài gồm: *Aspergillus chrysellus*, *A. flavus*, *Cladophialophora immunda*, *Fomitopsis* sp.1, *Fomitopsis* sp.2, *Paecilomyces formosus*, *Penicillium adametzii*, *Pe. austrosinicum*, *Pe. sclerotiorum*, *Pe. singorense*, *Pe. yezoense*, *Talaromyces pinophilus*, *Talaromyces* sp., *Trichoderma citrinoviride* và *Umbelopsis angularis*.

Từ khóa: *Cháy rừng, nấm phân giải cellulose, rừng thông, vật liệu cháy.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cháy rừng gây thiệt hại rất lớn về kinh tế và môi trường cho các nước trên thế giới nói chung và Việt Nam nói riêng. Ở nước ta, do đặc thù về địa hình và tập quán canh tác, săn bắt thú rừng của người dân đã gây ra 90.917 vụ cháy trong giai đoạn 2003 - 2016 (Vadrevu *et al.*, 2019). Do đó rất cần có các giải pháp quản lý lửa rừng một cách hiệu quả.

Một trong những nguyên nhân quan trọng gây cháy rừng là do vật liệu dưới tán rừng tích tụ quá nhiều, việc giảm thiểu vật liệu cháy dưới tán rừng bằng cách sử dụng nấm phân giải cellulose đang được quan tâm ứng dụng và được coi là một giải pháp hiệu quả và ít tốn kém (Doerr và Santín, 2016; Krishna và Mohan, 2017). Nguồn vật liệu có chứa lượng lớn lignocellulose như mùn, lá rụng, cành mục… là nguồn vật liệu cần được xử lý để chống cháy rừng (Hart *et al.,* 2002). Các loài vi sinh vật có các enzyme giúp thúc đẩy quá trình phân giải cellulose đã được ghi nhận như *Aspergillus* spp. (Mahmoud *et al.,* 2016), *Penicillium* spp. (Krogh *et al.,* 2004), *Rhodotorula glutinis* (Pi e*t al.,* 2018), *Trichoderma harzianum*, *T. koningii*, *T. longibrachiatum* và *T. viride* (Strakowska *et al.*, 2014). Một số loài vi sinh vật đã được sử dụng để xử lý rác thải sau khai thác rừng như *Pycnoporus sanguineus*, *Dacryopinax spathularia*, *Schizophyllum commune*, *Polyporus* sp. và *Trametes* sp. (Djarwanto và Tachibana, 2009). *Trichoderma* và *Aspergillus* phân lập từ mùn cưa, đất và gỗ mục đã được xác định có khả năng phân giải cao, đạt từ 40,8 - 42,6% (Ja'afaru, 2013). Các loài nấm phân giải cellulose thuộc bốn chi *Penicillium*, *Aspergillus*, *Paecilomyces* và *Thielaviopsis* đã được phân lập từ lá mục của loài *Salacca zalacca*, trong đó nấm *Aspergillums flavus*, *Penicillium* sp. và *Thielaviopsis ethacetica* có khả năng phân giải rất mạnh (Sari *et al.,* 2017). *Peniophora incarnate* và *Sarocladium strictum* đã được phân lập từ rừng trồng các loài *Larix gmelinii*, *Juglans mandshurica* và *Fraxinus mandshurica*, chúng đều có khả năng phân giải vật liệu cháy rất mạnh (Sun *et al.*, 2020). *Aspergillums flavus*, *Penicillium* sp. và *Thielaviopsis ethacetica* phân lập từ lá mục cây Salacca cũng có khả năng phân giải cellulose rất mạnh (Sari *et al.,* 2017). Ngoài ra, các loài nấm rễ (Mycorrhizal) cũng có vai trò quan trọng trong quá trình phân hủy vật liệu hữu cơ (Liu *et al.,* 2017).

[1] Cơ quan Đảng ủy Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn
[2] Trung tâm Nghiên cứu Bảo vệ rừng, Viện Khoa học Lâm nghiệp Việt Nam

Các loài *Trichoderma* spp., *Cladosporium herbarum*, *Aspergillus fumigatus*, *Alternaria* sp. và *Penicillium* sp. có khả năng phân hủy vật liệu cháy dưới tán rừng hỗn giao thông và sau sau rất mạnh (Song *et al.,* 2010). *Marasmius androsaceus* và *Mycena epipterygia* có thể phân hủy 69% lá thông *P. sylvestris* sau 3 tháng (Boberg *et al.,* 2011). Mười hai loài vi sinh vật phân giải cellulose đã được phân lập từ lá mục của thông *P. sylvestris*, trong đó mạnh nhất là loài *Verticicladium trifidum* (Koukol và Baldrian, 2012). Tuy nhiên, đến nay chưa có nghiên cứu tuyển chọn vi sinh vật phân giải cellulose từ rừng thông ở Việt Nam. Bài báo này trình bày kết quả phân lập, thành phần loài nấm phân giải cellulose trong rừng Thông mã vĩ và Thông nhựa tại Việt Nam.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

25 mẫu đất và 25 mẫu lá mục thông thu tại rừng Thông mã vĩ và Thông nhựa ở giai đoạn 10-25 năm tuổi tại năm địa điểm gồm Trùng Khánh, Cao Bằng; Lộc Bình, Lạng Sơn; Hoành Bồ, Quảng Ninh; Sóc Sơn, Hà Nội; Tĩnh Gia, Thanh Hóa. Mẫu đất được thu ở độ sâu 1 - 5 cm, mẫu lá mục được thu ở lớp lá sát bề mặt đất, lá đang biểu hiện bị phân hủy 100 g/mẫu. Các mẫu đất và mẫu lá mục được bảo quản riêng rẽ trong túi nilon chuyên dụng.

Các mẫu nấm phân lập từ các mẫu đất và mẫu lá mục đã thu dưới tán rừng Thông mã vĩ và Thông nhựa.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp phân lập nấm từ đất

Sử dụng phương pháp pha loãng, trong đó dùng 1 g đất pha loãng trong 9 ml nước cất. Tiến hành pha loãng ở các mức 10^{-3}, 10^{-4} và 10^{-5}. Lấy 30 µl dung dịch đã pha loãng ở từng mức để phân tán đều trên hộp lồng có chứa môi trường PDA có bổ sung 0,01% Chloramphenicol. Các hộp lồng được đặt trong tủ định ôn ở 25°C, sau 2 - 3 ngày tiến hành tách và thuần khiết các chủng nấm.

2.2.2. Phương pháp phân lập nấm từ lá mục

Mẫu bệnh được rửa sạch bề mặt, khử trùng bằng cồn 70%, sau đó ngâm trong natri hypoclorit 2,5% trong hai phút và sau đó rửa lại 3 lần trong nước cất đã khử trùng trong một phút làm khô bằng giấy thấm vô trùng. Cắt mẫu bệnh thành những mảnh nhỏ. Các mô lá mục được cắt bằng dao đã khử trùng bằng ngọn lửa trong 30 giây. Các mẫu lá mục sau khi cắt nhỏ được đặt trên hộp lồng có chứa môi trường PDA có bổ sung 0,01% Chloramphenicol. Các hộp lồng được đặt trong tủ định ôn ở 25°C, sau 2 - 3 ngày tiến hành tách và thuần khiết các chủng nấm.

2.2.3. Phương pháp đánh giá khả năng phân giải cellulose của các chủng nấm

Xác định khả năng gây mục ruột trong phòng thí nghiệm bằng phương pháp định lượng về khả năng phân giải cellulose của các chủng nấm trong phòng thí nghiệm.

Sử dụng môi trường CMC (Carboxymethylcellulose agar) 1% có chứa 0,65% (w/v) $NaNO_3$, 0,65% (w/v) K_2HPO_4, 0,03% (w/v) Yeast extract, 0,65% (w/v) KCl, 0,3% (w/v) $MgSO_4$, 0,065% (w/v) glucose, 1,7% (w/v) agar và 0,1% (v/v) triton X-100 và công gô đỏ (1% công gô đỏ trong pha trong nước cất) và lắc ở tốc độ 50 vòng/phút trong 15 phút. Cấy mẫu nấm và để ở tủ định ôn 28°C sau 7 ngày. Tiến hành đo đường kính (D, mm) vòng phân giải cellulose để xác định khả năng phân giải cellulose của các chủng nấm (Teather và Wood, 1982).

Căn cứ vào đường kính vòng phân giải (D) để xác định khả năng phân giải cellulose của các chủng nấm bước đầu xác định tính gây bệnh trong phòng thí nghiệm, cách tính như sau:

D < 1 mm: Không phân giải.

1 mm ≤ D < 5 mm: Phân giải yếu.

5 mm ≤ D < 10 mm: Phân giải trung bình.

10 mm ≤ D < 20 mm: Phân giải mạnh.

D ≥ 20 mm: Phân giải rất mạnh.

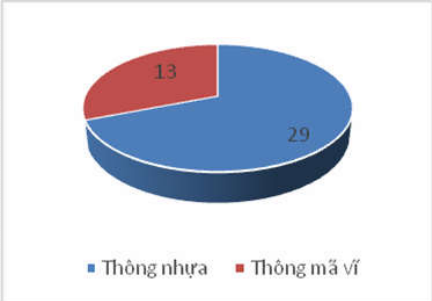
2.2.4. Phương pháp giám định mẫu: Sử dụng phương pháp Glassmilk để tách DNA của các chủng nấm (Glen *et al.,* 2002). Bộ đệm phiên mã bên trong DNA của ribosome (rDNA ITS) 1 và 2, bao gồm vị trí 5,8S và một phần của vùng 18S và 28S của rDNA nhân được khuếch đại bằng cách sử dụng cặp mồi ITS1-F (5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3') và ITS4-R (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') (White *et al.,* 1990). Hỗn hợp chạy PCR bao gồm 12,5 µL GoTaq®Green Master Mix 2X (Công ty Promega, Madison, Wisconsin, Hoa Kỳ), 0,5 µL mỗi mồi, 9,5 µL H_2O PCR và 2 µL DNA, trên thiết bị C1000 TouchTM Thermal Cycler (Bio - Rad, Mỹ). Các thông số khuếch đại là biến tính ban đầu ở 95°C trong 3 phút,

tiếp theo là 35 chu kỳ biến tính ở 94°C trong 30 giây, ủ ở 55°C trong 30 giây và kéo dài ở 72°C trong 30 giây, với thời gian kéo dài cuối cùng ở 72°C trong 7 phút trên PTC 225 Peltier Thermal Cycler. Mỗi bộ phản ứng PCR bao gồm đối chứng dương tính (DNA phân lập từ nấm) và âm tính (không có DNA khuôn mẫu), sự khuếch đại được kiểm tra bằng điện di trên gel agarose. Sau đó sản phẩm PCR được gửi sang Viện Công nghệ Sinh học Việt Nam để giải trình tự. Kết quả được so sánh với cơ sở dữ liệu của GenBank thông qua giao diện tìm kiếm BLAST nucleotide-nucleotide đặt tại National Center for Biotechnology Information, Bethesda, Mỹ. Các chuỗi liên quan được chuyển tải về sau đó xử lý bằng phần mềm BioEdit (Hall, 1999).

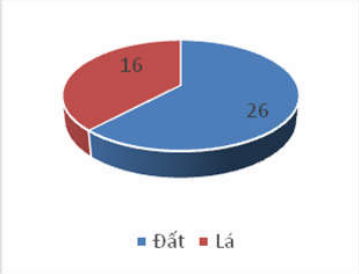
3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Kết quả phân lập nấm

Từ 25 mẫu đất và 25 mẫu lá mục thu từ rừng Thông mã vĩ và Thông nhựa đã phân lập được 42 chủng nấm, trong đó 13 chủng từ rừng Thông mã vĩ và 29 chủng từ rừng Thông nhựa. Kết quả tổng hợp cũng cho thấy có 26 chủng được phân lập từ đất và 16 chủng phân lập từ lá mục. Các mẫu nấm đều được thuần khiết, nhân sinh khối để phục vụ cho các thí nghiệm khả năng phân giải và giám định.



Hình 1. Số lượng chủng nấm phân lập từ rừng Thông nhựa và Thông mã vĩ



Hình 2. Số lượng chủng nấm phân lập từ đất và từ lá mục

3.2. Khả năng phân giải cellulose của các chủng nấm

Có sự sai khác rõ về khả năng phân giải cellulose của các chủng nấm (Fpr < 0,001). Kết quả đánh giá khả năng phân giải cellulose của 42 chủng nấm được tổng hợp trong bảng 1.

Bảng 1. Khả năng phân giải cellulose của các chủng nấm sau 7 ngày trên môi trường nhân tạo

Chủng	Cây chủ	Mẫu	Địa điểm thu mẫu	Đường kính vòng phân giải (mm)	Khả năng phân giải
CBN1	*P. massoniana*	Đất	Cao Bằng	24,82^{o}	Rất mạnh
CB2	*P. massoniana*	Lá mục	Cao Bằng	1,07^{b}	Yếu
CBN3	*P. massoniana*	Lá mục	Cao Bằng	5,03^{f}	Trung bình
CBN5	*P. massoniana*	Lá mục	Cao Bằng	1,17^{bc}	Yếu
HB1	*P. merkusii*	Đất	Quảng Ninh	16,80^{l}	Mạnh
HBN2.1	*P. merkusii*	Đất	Quảng Ninh	11,13^{j}	Mạnh
HBN2.2	*P. merkusii*	Đất	Quảng Ninh	6,20^{g}	Trung bình
HB3	*P. merkusii*	Đất	Quảng Ninh	9,18^{i}	Trung bình
HBN4.5	*P. merkusii*	Đất	Quảng Ninh	46,12^{y}	Rất mạnh
HBN5.2	*P. merkusii*	Đất	Quảng Ninh	3,12^{e}	Yếu
HBN7.1	*P. merkusii*	Lá mục	Quảng Ninh	20,97^{n}	Rất mạnh
HBN7.2	*P. merkusii*	Lá mục	Quảng Ninh	7,33^{h}	Trung bình
HBN8.1	*P. merkusii*	Lá mục	Quảng Ninh	37,88^{v}	Rất mạnh
LB2	*P. massoniana*	Đất	Lạng Sơn	9,35^{i}	Trung bình
LBN2.3	*P. massoniana*	Đất	Lạng Sơn	36,05^{u}	Rất mạnh

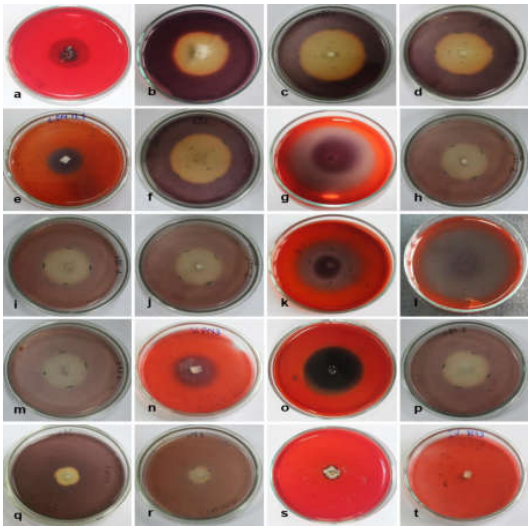
Chủng	Cây chủ	Mẫu	Địa điểm thu mẫu	Đường kính vòng phân giải (mm)	Khả năng phân giải
LB11	*P. massoniana*	Lá mục	Lạng Sơn	5,03^{f}	Trung bình
LBN6.1	*P. massoniana*	Đất	Lạng Sơn	6,23^{g}	Trung bình
LBN6.3	*P. massoniana*	Đất	Lạng Sơn	1,13^{bc}	Yếu
LB7	*P. massoniana*	Đất	Lạng Sơn	28,93^{q}	Rất mạnh
LBN7.3	*P. massoniana*	Đất	Lạng Sơn	18,03^{m}	Mạnh
LB8	*P. massoniana*	Lá mục	Lạng Sơn	35,85^{u}	Rất mạnh
LBN8.1	*P. massoniana*	Lá mục	Lạng Sơn	43,15^{x}	Rất mạnh
SSN2.1	*P. merkusii*	Đất	Hà Nội	34,25st	Rất mạnh
SSN5.2	*P. merkusii*	Đất	Hà Nội	4,32^{f}	Yếu
SSN5.3	*P. merkusii*	Đất	Hà Nội	41,18^{w}	Rất mạnh
SS7	*P. merkusii*	Đất	Hà Nội	30,03^{r}	Rất mạnh
SSN7.2	*P. merkusii*	Đất	Hà Nội	18,92^{m}	Mạnh
SS8	*P. merkusii*	Lá mục	Hà Nội	4,33^{f}	Yếu
SSN9	*P. merkusii*	Đất	Hà Nội	36,05^{u}	Rất mạnh
SS10	*P. merkusii*	Lá mục	Hà Nội	9,33^{i}	Trung bình
SSHN10	*P. merkusii*	Đất	Hà Nội	50,68^{z}	Rất mạnh
SS11	*P. merkusii*	Lá mục	Hà Nội	8,19^{h}	Trung bình
SSN17	*P. merkusii*	Đất	Hà Nội	34,05^{s}	Rất mạnh
THN4.1	*P. merkusii*	Đất	Thanh Hóa	29,95^{r}	Rất mạnh
THN4.2	*P. merkusii*	Đất	Thanh Hóa	14,30^{k}	Mạnh
THN5.2	*P. merkusii*	Đất	Thanh Hóa	2,25^{de}	Yếu
THN6.1	*P. merkusii*	Đất	Thanh Hóa	36,05^{u}	Rất mạnh
TH7	*P. merkusii*	Lá mục	Thanh Hóa	2,10^{cd}	Yếu
THN7.1	*P. merkusii*	Đất	Thanh Hóa	35,10^{tu}	Rất mạnh
THN7.3	*P. merkusii*	Đất	Thanh Hóa	17,05^{l}	Mạnh
THN8.1	*P. merkusii*	Lá mục	Thanh Hóa	5,12^{f}	Trung bình
THN9.1	*P. merkusii*	Lá mục	Thanh Hóa	14,23^{k}	Mạnh
Đối chứng				0,00^{a}	Không
Lsd				0,94	
Fpr				<0,001	

Ghi chú: Các giá trị trong cùng cột với các ký tự giống nhau không có sai khác thống kê với P = 0,05 khi so sánh bằng tiêu chuẩn Dunncan.

Dựa vào đường kính vòng phân giải đã tổng hợp trong bảng 1, khả năng phân giải cellulose của 42 chủng nấm được chia thành 4 nhóm gồm: phân giải rất mạnh (17 chủng), phân giải mạnh (7 chủng), phân giải trung bình (10 chủng) và phân giải yếu (8 chủng). 17 chủng có khả năng phân giải mạnh nhất có đường kính vòng phân giải 20,97 - 50,68 mm. 4 chủng mạnh nhất có đường kính vòng phân giải trên 41 mm gồm HBN4.5, LBN8.1, SSN5.3, SSHN10 (Hình 3 c, f, k, l). Những chủng này rất có tiềm năng để phát triển chế phẩm sinh học phân hủy vật liệu cháy trong tương lai.

Hầu hết các chủng có khả năng phân giải cellulose mạnh được phân lập từ đất (6/7), chỉ có 1 chủng THN9.1 phân lập từ lá mục. Trong số 17 chủng có khả năng phân giải cellulose rất mạnh có 4 chủng (HBN7.1, HBN8.1, LB8, LBN8.1) phân lập từ lá mục và 13 chủng phân lập từ đất gồm: CBN1,

HBN4.5, LBN2.3, LB7, SSN2.1, SSN5.3, SS7, SSN9, SSHN10, SSN17, THN4.1, THN6.1 và THN7.1.



Hình 3. Vòng phân giải cellulose của các chủng nấm: *a. CBN1; b. SSN2.1; c. HBN4.5; d. LBN8.1; e. HBN7.1; f. HBN8.1; g. LBN2.3; h. LB7; i. LB8; j. SS7; k. SSN5.3; l. SSHN10; m. SSN17; n. THN4.1; o. THN6.1; p. THN7.1; q. THN9.1; r. HB1; s. HBN2.2; t. control*

3.3. Kết quả giám định

Kết quả giải trình tự gene và so sánh với các trình tự tham chiếu cho thấy 24 chủng nấm có hiệu lực phân giải mạnh và rất mạnh thuộc 22 loài, 11 chi trong đó có 18 loài thuộc ngành nấm nang, 3 loài thuộc ngành nấm Đảm và 1 loài thuộc ngành nấm Tiếp hợp (Bảng 2).

Kết quả nghiên cứu, đã xác định được các loài nấm thuộc các chi và loài như sau: *Aspergillus* (4 loài: *A. candidus*, *A. chrysellus*, *A. flavus, A. versicolor*), *Cladosporium* (2 loài: *C. halotolerans*, *C. colocasiae*), *Cladophialophora* (1 loài: *Cl. immunda*), *Fomitopsis* (2 loài: *Fomitopsis* sp.1., *Fomitopsis* sp.2), *Paecilomyces* (1 loài: *Pa. formosus*), *Penicillium* (6 loài: *Pe. adametzii*, *Pe. austrosinicum*, *Pe. mariae-crucis*, *Pe. sclerotiorum*, *Pe. singorense*, *Pe. yezoense*), *Pyrenochaeta* (1 loài: *Pyrenochaeta* sp.), *Talaromyces* (2 loài: *Ta. pinophilus*, *Talaromyces* sp.), *Trichaptum* (1 loài: *Trichaptum byssogenum*), *Trichoderma* (1 loài: *Trichoderma citrinoviride*) và *Umbelopsis* (1 loài: *U. angularis*).

Bảng 2. Kết quả giám định các chủng nấm

Chủng	Tên khoa học	Mã Genbank	Mã Genbank tham chiếu
HBN2.1	*Aspergillus candidus*	MW504691	MK998671.1
THN4.1	*Aspergillus chrysellus*	MW504692	KP068689.1
THN6.1	*Aspergillus flavus*	MW504689	KJ175418.1
THN9.1	*Aspergillus versicolor*	MW504690	KJ175416.1
LBN7.3	*Cladosporium colocasiae*	MW504667	NR152267
THN4.2	*Cladosporium halotolerans*	MW504666	MT626047
HBN7.1	*Cladophialophora immunda*	MW504670	NR111283
LBN2.3	*Fomitopsis* sp.1	MW504671	KJ654542
SSHN10	*Fomitopsis* sp.2	MW504672	KJ654542
LB8	*Pacilomyces formosus*	MW504684	FJ011547.1
THN7.1	*Penicillium adametzii*	MW504693	NR103661
SSN17	*Penicillium austrosinicum*	MW504700	NR153274
SSN2.1	*Penicillium austrosinicum*	MW504696	KY086220.1
SSN7.2	*Penicillium mariae-crucis*	MW504694	MH861584
SSN5.3	*Penicillium sclerotiorum*	MW504697	KY086222.1
LB7	*Penicillium singorense*	MW504695	NR158827
SSN9	*Penicillium yezoense*	MW504701	DQ132815
THN7.3	*Pyrenochaeta* sp.	MW504688	EU750693.1
HBN4.5	*Talaromyces pinophilus*	MW504702	MT093464
HBN8.1	*Talaromyces pinophilus*	MW504703	MT093464
CBN1	*Talaromyces* sp.	MW504704	KT385771

HB1	*Trichaptum byssogenum*	MW504680	MF381013.1
LBN8.1	*Trichoderma citrinoviride*	MW504685	KC009820.1
SS7	*Umbelopsis angularis*	MW504686	EU113211.1

Đã xác định được 17 chủng nấm có khả năng phân giải cellulose rất mạnh thuộc 15 loài, trong đó 4 chủng mạnh nhất thuộc 4 loài gồm *Talaromyces pinophilus* (HBN4.5), *Trichoderma citrinoviride* (LBN8.1), *Penicillium sclerotiorum* (SSN5.3) và *Fomitopsis* sp.2 (SSHN10).

Các loài nấm thuộc chi *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Penicillium*, *Paecilomyces*, *Trichoderma* cũng đã được phân lập và xác định có khả năng phân giải cellulose rất mạnh khi thử với vật liệu cháy dưới tán rừng cây lá kim và lá rộng (Krogh *et al.,* 2004; Mahmoud *et al.,* 2016; Sari *et al.,* 2017; Song *et al.,* 2010; Strakowska *et al.*, 2014).

4. KẾT LUẬN

Dựa vào khả năng phân giải cellulose đã xác định được 24 chủng có khả năng phân giải mạnh và rất mạnh trong số 42 chủng nấm đã phân lập được.

Tổng số 22 loài nấm có khả năng phân giải cellulose mạnh và rất mạnh có 18 loài nấm thuộc ngành nấm Nang Ascomycota, nấm bất toàn *sensu lato*; 3 loài nấm thuộc ngành nấm Đảm Basidiomycota và 1 loài thuộc ngành nấm Tiếp hợp Zygomycota.

Trong số 17 chủng có hiệu lực phân giải cellulose rất mạnh, đã xác định được 4 chủng an toàn sinh học, thích hợp để sản xuất chế phẩm phân hủy vật liệu cháy gồm: *Talaromyces pinophilus* (HBN4.5), *Trichoderma citrinoviride* (LBN8.1), *Penicillium sclerotiorum* (SSN5.3) và *Fomitopsis* sp.2 (SSHN10).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Boberg JB, Ihrmark K, Lindahl BD (2011). Decomposing capacity of fungi commonly detected in *Pinus sylvestris* needle litter. Fungal Ecology 4: 110 - 114.

2. Djarwanto, Tachibana S (2009). Screening of fungi capable of degrading lignocellulose from plantation forests. Pakistan journal of biological sciences: PJBS 12: 669 - 675.

3. Doerr SH, Santín C (2016). Global trends in wildfire and its impacts: perceptions versus realities in a changing world. Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences 371: 20150345.

4. Glen M, Tommerup I, Bougher N, O'Brien P (2002). Are Sebacinaceae common and widespread ectomycorrhizal associates of *Eucalyptus* species in Australian forests? Mycorrhiza 12:243-247.

5. Hall TA (1999). *BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT.* Paper presented at the Nucleic acids symposium series.

6. Hart TD, De Leij FAAM, Kinsey G, Kelley J, Lynch JM (2002). Strategies for the isolation of cellulolytic fungi for composting of wheat straw. World Journal of Microbiology and Biotechnology 18: 471 - 480.

7. Ja'afaru MI (2013). Screening of fungi isolated from environmental samples for xylanase and cellulase production. International Scholarly Research Notices 2013: 1 - 7.

8. Koukol O, Baldrian P (2012). Intergeneric variability in enzyme production of microfungi from pine litter. Soil Biology Biochemistry 49: 1 - 3.

9. Krishna MP, Mohan M (2017). Litter decomposition in forest ecosystems: a review. Energy, Ecology Environment 2: 236 - 249.

10. Krogh KBR, Mørkeberg A, Jørgensen H, Frisvad JC, Olsson L (2004). *Screening genus Penicillium for producers of cellulolytic and xylanolytic enzymes.* Paper presented at the Proceedings of the Twenty - Fifth Symposium on Biotechnology for Fuels and Chemicals Held May 4 – 7, 2003, in Breckenridge, CO.

11. Liu X, Feng F, He X, Song F (2017). The effect of ectomycorrhizal fungi on litter decomposition and phosphorus availability to *Pinus koraiensis*. Int. J. Agric. Biol 19: 1019 - 1024.

12. Mahmoud MA, Al-Othman MR, Abd-El-Aziz ARM, Metwaly HA, Mohamed HAJGMR (2016). Expression of genes encoding cellulolytic enzymes in some *Aspergillus* species. Gen Mol Res 15: 15048913.

13. Pi H-W, Anandharaj M, Kao Y-Y, Lin Y-J, Chang J-J, Li W-H (2018). Engineering the

oleaginous red yeast *Rhodotorula glutinis* for simultaneous β-carotene and cellulase production. Scientific Reports 8: 1 - 10.

14. Sari SLA, Setyaningsih R, Wibowo NFA (2017). Isolation and screening of cellulolytic fungi from *Salacca zalacca* leaf litter. Biodiversitas Journal of Biological Diversity 18: 1282 - 1288.

15. Song F, Tian X, Fan X, He X (2010). Decomposing ability of filamentous fungi on litter is involved in a subtropical mixed forest. Mycologia 102: 20 - 26.

16. Strakowska J, Błaszczyk L, Chełkowski J (2014). The significance of cellulolytic enzymes produced by *Trichoderma* in opportunistic lifestyle of this fungus. J Basic Microbiol 54: 1 - 12.

17. Sun S, Weng Y, Di X, Liu Z, Yang G (2020). Screening of cellulose-degrading fungi in forest litter and fungal effects on litter decomposition. BioResources 15: 2937 - 2946.

18. Teather RM, Wood PJ (1982). Use of Congo red-polysaccharide interactions in enumeration and characterization of cellulolytic bacteria from the bovine rumen. Applied Environmental Microbiology 43: 777 - 780.

19. Vadrevu KP, Lasko K, Giglio L, Schroeder W, Biswas S, Justice C (2019). Trends in vegetation fires in south and southeast Asian countries. Scientific Reports 9: 1 - 13.

20. White TJ, Bruns T, Lee S, Taylor JW (1990). Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: Innis MA, Gelfand DH, Sninsky JJ and White TJ (eds) PCR protocols: a guide to methods and applications, San Diego, CA: Academic Press, 18: 315-322.

CELLULOLYTIC FUNGI ISOLATED IN *Pinus massoniana* AND *P. merkusii* PLANTATIONS

Le Thanh Cong, Vu Van Dinh, Pham Van Nhat, Nguyen Thi Loan, Tran Nhat Tan, Pham Quang Thu

Summary

Forest fire is one of the most frequent natural disasters and have very serious consequences. From 2014 to 2019, there were 1,868 forest fires in Vietnam, devastating 8,499 ha. Pine plantations are often burnt, when the fire spreads quickly, it is difficult to extinguish because pine plantations have a lot of burning materials, difficult to decompose, in burning materials containing resin so it is very easy to catch fire. There are approximately 400,000 ha of pine plantations in Vietnam, mainly *Pinus massoniana, P. merkusii* and *P. kesyia*. Isolating and screening cellulolytic fungi to help decompose burning material under pine plantation into organic humus, improving soil fertility and limiting the possibility of forest fires are one direction potential and great contribution to the prevention of forest fires in Vietnam. Fourty two fungal strains were isolated from soil and leaf litter in *P. massoniana* and *P. merkusii* plantations in Quang Ninh, Thanh Hoa, Lang Son, Cao Bang province and Ha Noi city. In which, 24 strains had strong and very strong cellulolytic activities, they belong to 22 species, 11 generas. The 17 strongest strains were belong to 15 species including: *Aspergillus chrysellus*, *A. flavus*, *Cladophialophora immunda*, *Fomitopsis* sp.1, *Fomitopsis* sp.2, *Paecilomyces formosus*, *Penicillium adametzii*, *Pe. austrosinicum*, *Pe. sclerotiorum*, *Pe. singorense*, *Pe. yezoense*, *Talaromyces pinophilus*, *Talaromyces* sp., *Trichoderma citrinoviride* và *Umbelopsis angularis*.

Keywords: *Cellulolytic fungi, burning materials, forest fire, pine plantation.*

Người phản biện: GS.TSKH. Trịnh Tam Kiệt
Ngày nhận bài: 11/12/2020
Ngày thông qua phản biện: 12/01/2021
Ngày duyệt đăng: 19/01/2021