

**BỘ GIÁO DỤC
VÀ ĐÀO TẠO**

**VIỆN HÀN LÂM KHOA HỌC
VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM**

HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ



Ngô Thùy Trâm

**NGHIÊN CỨU NĂM NGOẠI CỘNG SINH
VỚI HỆ RỄ THÔNG BA LÁ *Pinus kesiya* TẠI
TỈNH LÂM ĐỒNG**

TÓM TẮT LUẬN ÁN TIẾN SĨ SINH HỌC

Ngành: Vi sinh vật học

Mã số: 9.42.01.07

Hà Nội - Năm 2026

Công trình được hoàn thành tại: Học viện Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

Người hướng dẫn khoa học:

1. Người hướng dẫn: TS. Nguyễn Hoàng Dũng: Viện Khoa học Sự sống, Viện Hàn lâm KH và CN Việt Nam
2. Người hướng dẫn: TS. Phạm Nguyễn Đức Hoàng: Viện Công nghệ Sinh học Ứng dụng

Phản biện 1: PGS. TS. Nguyễn Đức Hoàng

Phản biện 2: PGS. TS. Nguyễn Phương Đại Nguyên

Phản biện 3: PGS. TS. Đặng Văn Sơn

Luận án được bảo vệ trước Hội đồng đánh giá luận án tiến sĩ cấp Học viện họp tại, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam vào hồi giờ, ngày tháng năm

Có thể tìm hiểu luận án tại:

1. Thư viện Học viện Khoa học và Công nghệ
2. Thư viện Quốc gia Việt Nam

MỞ ĐẦU

Nấm rễ ngoại cộng sinh (Ectomycorrhizal fungi - EMF) đóng vai trò quan trọng trong hệ sinh thái rừng, đặc biệt là với các quần thể cây thân gỗ ưu thế thuộc tầng tán và vượt tán trong các khu hệ thực vật như Thông, Dẻ, Bạch dương, Dầu... Có khoảng 6.000 loài thực vật và 20.000–25.000 loài nấm hình thành cấu trúc ECM, hỗ trợ tái sinh cây con và duy trì sự tồn tại của hệ thực vật rừng. EMF thúc đẩy quá trình hấp thụ chất dinh dưỡng và nước của cây chủ, nhờ đó nâng cao khả năng chống chịu của cây đối với hạn hán, nhiệt độ, các chất độc hữu cơ và vô cơ trong đất cũng như bảo vệ cây chủ khỏi tác động của các mầm bệnh. Ngoài ra, nhiều loài EMF còn là nguồn thực phẩm hữu ích cho con người và động vật.

Họ Thông (Pinaceae), bao gồm 11 chi và 215 loài, được xem là nhóm cây lá kim lớn nhất trên thế giới. Sự cộng sinh bắt buộc với EMF đã góp phần rất lớn giúp họ thông chiếm ưu thế và có phân bố rộng khắp ở hầu hết các khu vực có khí hậu theo mùa rõ rệt và đất nghèo chất dinh dưỡng. Tại Việt Nam, thông ba lá *Pinus kesiya* là loài chiếm ưu thế ở khu vực miền Nam Việt Nam và vùng Tây Nguyên. Đây là loài có khả năng thích nghi cao, tái sinh dễ dàng và có giá trị kinh tế không nhỏ. Nhờ vậy thông ba lá là loài cây lá kim duy nhất được sử dụng rộng rãi để trồng rừng. Trong quá trình đó, nấm ngoại cộng sinh đóng vai trò bắt buộc để nâng cao tỷ lệ tái sinh cây con cũng như tăng khả năng sống sót và phát triển sau khi đưa cây ra môi trường tự nhiên. Mặc dù vậy, hiện nay tại Việt Nam chưa có nghiên cứu nào về thành phần loài của nấm ngoại cộng sinh tại các khu hệ rừng. Do đó, đề tài “Nghiên cứu nấm ngoại cộng sinh với hệ rễ thông ba lá *Pinus kesiya* tại tỉnh Lâm Đồng” được thực hiện nhằm xây dựng một bộ dữ liệu cơ sở về thành phần các loài EMF với khu hệ thông ba lá *Pinus kesiya* tại tỉnh Lâm Đồng, Việt Nam.

Mục tiêu nghiên cứu:

Xây dựng bộ dữ liệu về thành phần loài của hệ EMF trong các giai đoạn phát triển khác nhau của thông ba lá *Pinus kesiya*. Ứng dụng kết quả nghiên cứu thu được trong công tác phục hồi rừng thông tự nhiên ở tỉnh Lâm Đồng.

Nội dung nghiên cứu:

- Khảo sát các đặc điểm của khu hệ EMF ở các giai đoạn phát triển khác nhau của cây chủ thông ba lá *P. kesiya*.
- Đánh giá ảnh hưởng của khu hệ EMF tới khả năng phát triển của cây thông con *P. kesiya* trong điều kiện *in situ*, *ex situ* và *in vitro*.
- Khảo sát sự hình thành quả thể EMF trong rừng *P. kesiya* 3 tuổi.

Những đóng góp mới của luận án:

1. Luận án là nghiên cứu đầu tiên tại Việt Nam về thành phần loài EMF trên đối tượng thông ba lá *Pinus kesiya*.
2. Đánh giá được những khác biệt về thành phần EMF ở nhiều giai đoạn phát triển khác nhau của cây thông ba lá *Pinus kesiya*.
3. Ghi nhận mới về sự xuất hiện của loài *Rhizopogon boninensis* ở Đông Nam Á, phân lập và đánh giá tiềm năng ứng dụng của loài nấm này trong việc nâng cao tỷ lệ sống và tăng trưởng của cây thông con.
4. Ghi nhận mới về chi *Nothojafnea* lần đầu xuất hiện ở Bắc bán cầu.
5. Phân loại và liệt kê một số loài nấm rễ ngoại cộng sinh ăn được ở khu vực rừng thông ba lá 3 năm tuổi, có thể được sử dụng làm tiền đề để xây dựng các kế hoạch quản lý, bảo tồn rừng bền vững song song với cải thiện thu nhập của người dân địa phương tại khu vực lân cận rừng

Chương 1. TỔNG QUAN NGHIÊN CỨU

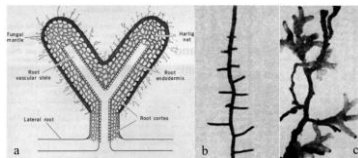
1.1 RỄ NẤM NGOẠI CỘNG SINH

1.1.1. Rễ nấm cộng sinh

Được đề xuất bởi A.B Frank vào năm 1885: “mykes = fungus” và “rhiza = root” – để mô tả các cấu trúc cộng sinh giữa nấm và rễ thực vật, bao gồm ba phần: Hệ tơ nấm bên ngoài rễ, cấu trúc tơ nấm bên trong rễ và cấu trúc rễ. Sau đó đến năm 1969, Peyronel và cs. đưa ra thuật ngữ ectomycorrhiza (rễ nấm ngoại cộng sinh - ECM) và endomycorrhiza (rễ nấm nội cộng sinh) bao gồm: Vesicular-arbuscular mycorrhiza, Arbutoid mycorrhiza, Ericoid mycorrhiza, Orchid mycorrhiza, Monotropoid mycorrhiza.

1.1.2. Rễ nấm ngoại cộng sinh (ECM)

Cấu trúc ECM được tìm thấy phổ biến ở các loài thực vật rừng thuộc các họ Thông, Liễu, Bạch dương, Dầu, ... là cấu trúc kết hợp giữa nấm và rễ thực vật thường có hình thái đặc biệt dạng phình to, chẻ đôi và không có lông hút.



Hình 1.1. Cấu trúc của một rễ nấm ngoại cộng sinh

(a) Một chóp ECM điển hình gồm mạng lưới Hartig, lớp bao và sợi nấm ngoài; (b) Hình thái rễ cây gỗ không có và (c) có ECM

1.2 NẤM RỄ NGOẠI CỘNG SINH (EMF)

1.2.1. Thành phần loài của EMF

Phần lớn EMF thuộc ngành nấm đảm (Basidiomycota) và nấm túi (Ascomycota), có phân bố rộng rãi trên toàn thế giới. EMF gồm hệ sợi nấm nằm trong đất và quả thể phát triển gần cây chủ. Quá trình hình thành quả

thể chịu ảnh hưởng bởi điều kiện môi trường, đặc điểm cây chủ và các tác động của con người như khai thác hoặc trồng rừng. Một số loài khó quan sát hoặc không tạo quả thể như *Cenococcum geophilum*.

1.2.2. Thành phần thực vật ngoại cộng sinh

Thực vật hình thành ECM chỉ chiếm tỷ lệ nhỏ trong số thực vật có mạch (dưới 5%), nhưng đóng vai trò quan trọng trong nhiều hệ sinh thái. Mỗi quan hệ cộng sinh giữa nấm và thực vật có thể mang tính bắt buộc hoặc linh động, trong đó cây con có ECM thường sinh trưởng tốt hơn cây không cộng sinh. Trong tự nhiên, một loài thực vật có thể cộng sinh với nhiều loài EMF và ngược lại, tạo nên mạng lưới cộng sinh đa dạng trong hệ sinh thái rừng.

1.2.3. Vai trò của EMF và ECM

EMF đóng vai trò quan trọng trong các hệ sinh thái trên cạn, đặc biệt là trong các hệ sinh thái rừng nghèo dinh dưỡng. Hệ sợi nấm giúp cây chủ tăng khả năng hấp thu nước và khoáng chất, cải thiện cấu trúc đất, hạn chế thất thoát dinh dưỡng và tích lũy carbon trong đất. Lớp bao của ECM giúp bảo vệ rễ khỏi tác nhân gây bệnh, trong khi mạng lưới sợi nấm kết nối nhiều cá thể thực vật, hỗ trợ trao đổi tài nguyên. Đồng thời, EMF còn là chỉ thị sinh học phản ánh chất lượng và mức độ ổn định của hệ sinh thái rừng. Ngoài ra, chúng còn hỗ trợ phục hồi và cải tạo các vùng đất bị ô nhiễm hoặc suy thoái. Nhiều loài EMF còn có giá trị kinh tế và văn hóa quan trọng như làm thức ăn cho con người và động vật, làm dược liệu, thuốc nhuộm...

1.3. SỰ CỘNG SINH CỦA EMF VỚI CÁC KHU HỆ RỪNG THÔNG (*Pinus* spp.) TRÊN THẾ GIỚI

Sự hỗ trợ của EMF là yếu tố quan trọng thúc đẩy quá trình đa dạng hóa và phân bố rộng khắp của thông, đặc biệt là trong môi trường tiên phong khắc nghiệt. Vì vậy, phần lớn hiểu biết về chức năng của EMF hiện nay đến

từ các nghiên cứu lâm nghiệp, đặc biệt trên các loài thông (*Pinus*). Nhờ khả năng thích nghi với nhiều điều kiện môi trường, thông được sử dụng rộng rãi trong phục hồi và trồng rừng. Đối với nhiều loài thuộc họ Thông, EMF là yếu tố quan trọng giúp cây hấp thu nước, dinh dưỡng, tăng khả năng sinh trưởng và chống chịu khi ra môi trường tự nhiên. Vì vậy, cây con thường được bổ sung nấm ngay từ giai đoạn cây giống trong vườn ươm.

Thành phần và độ đa dạng của EMF chịu ảnh hưởng mạnh bởi khí hậu, nhiệt độ, hoạt động lâm nghiệp và các xáo trộn tự nhiên. Nhiều nghiên cứu cho thấy biến đổi khí hậu và khai thác rừng làm thay đổi cấu trúc hệ EMF, từ đó ảnh hưởng đến khả năng tái sinh và phục hồi rừng. Do đó, nghiên cứu đa dạng nấm EMF có ý nghĩa quan trọng trong quản lý và bảo tồn bền vững các hệ sinh thái rừng thông.

1.4. NGHIÊN CỨU VỀ EMF VỚI THÔNG Ở KHU VỰC ĐÔNG NAM Á

Rừng thông tự nhiên ở Đông Nam Á gồm các loài thông *Pinus kesiya*, *P. latteri* và *P. merkusii*, cùng hai loài đặc hữu quý hiếm của Việt Nam là *P. dalatensis* và *P. krempfii*. Trong đó, *P. kesiya* phân bố rộng ở các vùng núi Đông Nam Á và được sử dụng phổ biến trong phục hồi và trồng rừng nhờ khả năng thích nghi với điều kiện khô hạn và đất nghèo dinh dưỡng.

So với các loài thông ôn đới, các nghiên cứu về sinh học và mối quan hệ giữa EMF với thông á nhiệt đới, đặc biệt là *P. kesiya*, vẫn còn hạn chế. Hiện nay chỉ có một số ít nghiên cứu trên đối tượng cây chủ này tại Ấn Độ, Thái Lan và Philippines.

Tại Việt Nam, các nghiên cứu về EMF trên thông ba lá còn ít, mặc dù loài này được ưu tiên trong các chương trình phục hồi và tái sinh rừng. Việc xác định thành phần nấm ngoại cộng sinh ưu thế ở từng khu vực và giai đoạn phát triển của cây có ý nghĩa quan trọng trong lựa chọn nguồn giống và phát triển chế phẩm sinh học nhằm nâng cao hiệu quả trồng rừng.

Chương 2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. ĐỐI TƯỢNG NGHIÊN CỨU

Đối tượng nghiên cứu của đề tài là các loài EMF có khả năng cộng sinh với hệ rễ của cây thông ba lá *P. kesiya* có phân bố tại tỉnh Lâm Đồng trong các giai đoạn: cây con 6 tháng tuổi – 3 năm tuổi – cây trưởng thành. Ngoài ra, nghiên cứu cũng tiến hành khảo sát những loài EMF có khả năng hình thành quả thể trong khu vực trồng thông 3 năm tuổi.

2.2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.2.1. Nội dung nghiên cứu

- Nội dung 1: Khảo sát thành phần loài EMF ở các giai đoạn phát triển khác nhau của thông ba lá: 6 tháng tuổi – 3 năm tuổi – cây trưởng thành.
- Nội dung 2: Đánh giá ảnh hưởng của EMF tới khả năng phát triển của cây thông con trong điều kiện *in situ*, *ex situ* và *in vitro*.
- Nội dung 3: Khảo sát sự hình thành quả thể EMF ở khu vực trồng cây thông con 3 năm tuổi.

2.2.2. Địa điểm thực hiện nghiên cứu

- Địa điểm thu mẫu đất ở nội dung 1 là rừng thông ba lá trưởng thành thuộc BQL rừng phòng hộ Đa Nhim, huyện Lạc Dương và Viện Khoa học Sự sống (Viện KHSS), thành phố Đà Lạt, tỉnh Lâm Đồng. Diện tích nghiên cứu ở 2 khu vực này là 4 ha/khu vực.
- Cây con sử dụng để trồng rừng và thực hiện nội dung 1 - 2 được gieo và chăm sóc tại vườn ươm cây con của BQL rừng phòng hộ Đa Nhim.
- Khu vực trồng rừng được bố trí trên diện tích đất trống liền kề với địa điểm thu mẫu đất cho nội dung 1. Diện tích đất trồng rừng tại khu vực này là 2 ha.

- Các thí nghiệm thu chóp ECM, định danh hình thái, sinh học phân tử ECM và quả thể EMF, trồng và chăm sóc cây con *ex situ* và *in vitro* được thực hiện tại phòng thí nghiệm thuộc Viện Sinh học Ứng dụng, TP. Hồ Chí Minh.

2.2.3. Phương pháp tiến hành nội dung 1

Hai khu vực rừng thông ba lá *P. kesiya* tại Đa Nhim và Viện KHSS, được lựa chọn nghiên cứu, trong đó khu vực Viện KHSS nằm giữa đô thị. Mỗi địa điểm nghiên cứu bố trí 1 ô mẫu diện tích 4 ha để thu mẫu đất và ECM. 100 mẫu đất ($15 \times 15 \times 10$ cm) được thu dưới tán cây thông trưởng thành dọc theo đường thu mẫu, khoảng cách tối thiểu 20 m giữa hai điểm lấy mẫu. Chóp ECM được tách khỏi đất, làm sạch và phân loại sơ bộ dưới kính hiển vi soi nổi. Mẫu dùng cho quan sát hình thái được bảo quản trong lactoglycerol, mẫu dùng cho sinh học phân tử được bảo quản trong CTAB. Phần đất còn lại được dùng để phân tích thành phần nấm trong đất nhờ kỹ thuật giải trình tự thế hệ mới (Next generation sequencing - NGS).

Các đặc điểm hình thái của chóp ECM được mô tả dựa trên cơ sở màu sắc, hình dạng, sự phân nhánh, sự hiện diện của các cấu trúc sợi nấm dạng rễ và sợi nấm bên ngoài dưới kính hiển vi soi nổi (SZM-2, Optika, Italia) theo các mô tả chi tiết của Agerer (1987-2012). Thành phần nấm trong chóp ECM được định danh bằng sinh học phân tử dựa trên vùng ITS của rDNA. DNA tổng từ chóp ECM được tách chiết theo phương pháp CTAB. Sản phẩm PCR được giải trình tự Sanger và so sánh với dữ liệu GenBank bằng công cụ BLAST. Vùng TrnC-D của lặp thể cũng được khuếch đại để xác nhận lại cây chủ *P. kesiya*. 10 mẫu đất từ 2 ô mẫu nghiên cứu được tách chiết DNA tổng số bằng kit PrimeWay Soil DNA Extraction Kit (1st Base, Malaysia). Mẫu DNA sau đó được bảo quản ở -20 °C và gửi giải trình tự NGS tại công ty 1st Base bằng phương pháp giải trình tự vùng gen chỉ thị ITS. Phản ứng khuếch

đại được thực hiện với cặp mồi ITS5F và ITS2 và giải trình tự trên hệ thống Illumina MiSeq (Illumina, Hoa Kỳ).

Hạt thông được gieo trong bầu tự hủy chứa giá thể đất được thu từ khu vực rừng thông ba lá trưởng thành nằm liền kề vườn ươm. Sau 6 tháng, cây con khỏe mạnh được đưa ra trồng tại khu vực rừng trồng với mật độ 2.200 cây/ha và chăm sóc theo quy trình kỹ thuật hiện hành. 30 bầu cây 6 tháng trong vườn ươm và 30 cây 3 năm tuổi trong rừng trồng được thu ngẫu nhiên để khảo sát. Cây sau khi thu được tách lấy toàn bộ hệ rễ ghi nhận số lượng, mô tả hình thái các chóp ECM và định danh sinh học phân tử theo phương pháp được trình bày ở trên. Các kết quả được xử lý bằng phần mềm Microsoft Excel và nền tảng phân tích Amplicon của Nova Lifetech (Singapore).

2.2.4. Phương pháp tiến hành nội dung 2

2.2.4.1. Khảo sát sự ảnh hưởng của EMF đến khả năng phát triển của cây con thông ba lá *P. kesiya* trong điều kiện in situ

Cây con thông ba lá 6 tháng sử dụng trong thí nghiệm này được thu từ vườn ươm ở mục 2.2.3. Chóp ECM được thu nhận và xử lý theo phương pháp đã trình bày ở mục 2.2.3. Ngoài ra, khả năng phát triển của cây con *P. kesiya* được đánh giá thông qua các chỉ tiêu về chiều cao cây, tỷ lệ cây con có sự cộng sinh với EMF, số chóp ECM thu được trong mỗi cây. Các kết quả, số liệu nghiên cứu được xử lý và vẽ đồ thị bằng phần mềm Microsoft Excel.

2.2.4.2. Chuẩn bị cây thông con vô trùng

Hạt thông được xử lý bề mặt bằng ethanol 70%/1 phút, tiếp theo là H₂O₂ 7%/15 phút, Hạt được rửa lại nhiều lần với nước cất vô trùng. Hạt được ủ nảy mầm trên môi trường Water agar trong 1 tuần. Những hạt đã nảy mầm không bị nhiễm tạp được chuyển sang ống nghiệm chứa môi trường

Murashige-Skoog (MS). Sau 2 tuần, những cây con phát triển tốt, không có dấu hiệu tạp nhiễm được sử dụng cho các thí nghiệm tiếp theo.

2.2.4.3. Khảo sát sự ảnh hưởng của EMF đến khả năng phát triển của cây con thông ba lá *P. kesiya* trong điều kiện ex situ

Đất trồng được thu từ khu vực rừng thông ba lá trưởng thành nằm liền kề vườn ươm của BQL rừng phòng hộ Đa Nhim. Giá thể đất được phân phối vào các ly trồng cây bằng nhựa PP (500 g đất/ly). 30 cây thông con vô trùng đã chuẩn bị ở mục 2.2.4.2. Sau đó được chuyển vào các ly trồng cây (1 cây/ly). Cây được trồng và chăm sóc trong 6 tháng (20 °C, cường độ ánh sáng trung bình 3000–5000 lux, chiếu sáng 12 giờ sáng/12 giờ tối).

Sau 6 tháng, cây con được tách khỏi đất, phần thân được đo chiều cao, phần rễ được sử dụng để thu nhận chóp ECM. Chóp ECM được định danh theo phương pháp đã trình bày ở mục 2.2.3. Khả năng phát triển của cây con *P. kesiya* được đánh giá thông qua các chỉ tiêu: chiều cao cây, tỷ lệ cây con có sự cộng sinh với EMF, số chóp ECM thu được trong mỗi cây. Các kết quả sau đó được xử lý và vẽ đồ thị bằng phần mềm Microsoft Excel.

2.2.4.4. Khảo sát sự ảnh hưởng của EMF đến khả năng phát triển của cây con thông ba lá *P. kesiya* trong điều kiện in vitro

Hạt đất nung (φ 6–8 mm) được rửa sạch, điều chỉnh pH về 5–5,5 và sấy ở 105 °C đến khối lượng không đổi. 100 g hạt và 100 mL môi trường MMN lỏng không đường (pH 5) được bổ sung vào bình nuôi cấy và khử trùng ở 121 °C/15 phút. Làm nguội 24 giờ trước khi cấy cây con vô trùng vào bình (1 cây/bình) và nuôi ổn định 4 tuần ở 25 °C, chu kỳ sáng/tối 12 giờ trước khi đồng nuôi cấy.

Chủng nấm cộng sinh được hoạt hóa trên môi trường MMN ở 25 °C trong tối. Sau 4 tuần, nấm được chuyển vào môi trường MMN lỏng trong bình Erlenmeyer (50 mL) và nuôi tiếp 3–4 tuần để tạo sinh khối.

Để thực hiện thí nghiệm đồng nuôi cấy, sinh khối nấm được chuyển vào các bình chứa cây con vô trùng theo phương pháp cải tiến của Ho. Thí nghiệm gồm 15 cây có bổ sung nấm và 15 cây đối chứng không bổ sung nấm. Các bình được bọc giấy bạc và nuôi ở 25 °C, cường độ sáng 3.000–5.000 lux, chu kỳ sáng/tối 12 giờ trong 12 tuần. Khả năng hình thành cộng sinh của EMF với rễ của cây thông ba lá được đánh giá thông qua: tỷ lệ cây con có sự cộng sinh với EMF, số chóp ECM thu được trong mỗi cây. Khả năng phát triển của cây thông ba lá con được đánh giá thông qua: chiều cao cây, chiều dài rễ, sinh khối tươi của cây, sinh khối khô của cây. Số liệu nghiên cứu được xử lý và vẽ đồ thị bằng Microsoft Excel và Statgraphics Plus 3.0.

2.2.5. Phương pháp tiến hành nội dung 3

Khu vực rừng trồng thông ba lá *P. kesiya* được thiết lập ở mục 2.2.3 là địa điểm thu mẫu của thí nghiệm. Khi rừng trồng được 3 tuổi, tiến hành thu thập toàn bộ quả thể EMF xuất hiện trong khu vực trên. Thời gian thu từ tháng 4/2022 tới tháng 5/2023. Tổng số đợt thu mẫu là 24 đợt.

Hình thái đại thể của các mẫu quả thể EMF được mô tả theo Largent và cs. bao gồm kích thước, hình dạng, màu sắc của mũ nấm, phiến nấm hoặc bề mặt sinh bào tử, cuống nấm, thịt nấm và các đặc điểm hình thái khác. Định danh sinh học phân tử dựa trên vùng trình tự ITS và LSU theo phương pháp đã trình bày ở mục 2.2.3.

Dựa trên kết quả định danh hình thái và sinh học phân tử, kết hợp so sánh với các tài liệu và dữ liệu về nấm ăn được tại Trung Quốc, Thái Lan và Việt Nam, đặc biệt trên các khu hệ thông *P. kesiya* và *P. merkusii* ở Đà Lạt, Lâm

Đồng, tiến hành ghi nhận tiềm năng sử dụng làm thực phẩm của hệ EMF trong rừng trồng *P. kesiya* 3 năm tuổi.

Chương 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. KẾT QUẢ KHẢO SÁT THÀNH PHẦN LOÀI NẤM NGOẠI CỘNG SINH Ở CÁC GIAI ĐOẠN PHÁT TRIỂN KHÁC NHAU CỦA CÂY CHỦ THÔNG BA LÁ *P. kesiya*

3.1.1. Kết quả khảo sát thành phần loài nấm ngoại cộng sinh với hệ rễ cây thông ba lá trưởng thành

3.1.1.1. Kết quả phân tích thành phần nấm trong đất thu được ở rừng thông ba lá *P. kesiya* trưởng thành

Tổng cộng có 1.700 ASV được ghi nhận. Trong đó hai ngành nấm có tỷ lệ hiện diện cao là Basidiomycota và Ascomycota, ngoài ra Mucoromycota và Mortierellomycota cũng xuất hiện với một tỷ lệ nhỏ. Basidiomycota là ngành nấm chiếm ưu thế ở cả hai khu vực, với 61,6% ở Viện Khoa học Sự sống và 52,6% ở Đa Nhim, và sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê với $p = 0,016$. Ngược lại, Ascomycota là ngành có tỷ lệ phong phú cao thứ hai, tuy nhiên sự khác biệt giữa hai khu vực không có ý nghĩa thống kê. Chỉ số đa dạng Shannon và chỉ số đồng đều Pielou's J ở khu vực rừng Đa Nhim đều cao hơn với khác biệt có ý nghĩa thống kê so với ở khu vực rừng thuộc Viện Khoa học Sự sống ($p = 0,012$).

Đối với nhóm EMF, tổng cộng có 30 chi nấm xuất hiện ở cả hai khu vực nghiên cứu. Trong đó tất cả các chi được ghi nhận đều thuộc ngành Basidiomycota. Giá trị đa Shannon cao hơn có ý nghĩa thống kê tại Đa Nhim ($p = 0,012$) cho thấy thành phần loài EMF ở khu vực này đa dạng hơn so với tại Viện Khoa học Sự sống. Trong khi đó, chỉ số Pielou's J không có khác biệt có ý nghĩa thống kê phản ánh mức độ phân bố tương đối của các loài giữa hai khu vực không thay đổi đáng kể. Có 12 chi nấm EMF gồm *Amanita*, *Astrosporina*, *Ceratobasidium*, *Cortinarius*, *Hydnum*, *Hygrocybe*, *Inocybe*, *Rhizopogon*, *Russula*, *Sebacina*, *Thelephora* và *Tomentella* xuất hiện ở cả hai

khu vực nghiên cứu, trong đó có 18 chi có tỷ lệ phong phú cao hơn tại khu vực Đa Nhim, với 12 chi khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p \leq 0,05$). Ngược lại, tại Viện Khoa học Sự sống, có 8/13 chi nấm EMF thể hiện sự khác biệt rõ rệt, có ý nghĩa về mặt thống kê so với khu vực Đa Nhim.

3.1.1.2. Kết quả phân tích thành phần nấm ngoại cộng sinh trong mẫu chóp rễ thu được ở rừng thông ba lá *P. kesiya* trưởng thành

Kết quả ghi nhận được 3 kiểu hình thái phân nhánh chính: đơn nhánh, phân nhánh đôi và dạng cụm san hô. Trong một mẫu đất, có thể thu được nhiều hơn một kiểu hình của chóp ECM. Tại khu vực Đa Nhim, 10% mẫu đất không thu được chóp ECM và 14% mẫu chứa chóp rễ già, khô không thể định danh. Tổng cộng thu được 17.324 chóp ECM với 56 kiểu hình. Mỗi mẫu có từ 1–5 kiểu hình, trong đó 50% mẫu có từ 2 kiểu trở lên. Số lượng chóp ECM dao động từ 5–331 chóp/mẫu, riêng một số mẫu có số lượng cao đột biến. Kết quả định danh được 18 chi EMF trong các mẫu chóp rễ thông, bao gồm *Amanita*, *Boletus*, *Cenococcum*, *Coltricia*, *Hydnum*, *Inocybe*, *Laccaria*, *Lactarius*, *Lactifluus*, *Macowanites*, *Pulveroboletus*, *Rhizopogon*, *Russula*, *Sebacina*, *Thelephora*, *Tomentella*, *Tylospora*, *Zangia* và 1 loài trong bộ Cantharellales. Trong đó *Lactifluus*, *Tomentella*, *Russula*, *Rhizopogon*, *Lactarius*, *Sebacina* và *Zangia*, *Cenococcum* và *Amanita* là các chi chiếm ưu thế, với *Lactifluus*, *Tomentella* là hai chi có số lượng chóp rễ thu được cao nhất, tương ứng 44,2% và 24,7%. Ngược lại *Russula* và *Tomentella* là 2 chi có độ thường gặp cao. Tại khu vực Viện Khoa học Sự sống, 10% mẫu đất không thu được chóp ECM và 10% mẫu có chóp rễ già, khô không thể định danh. Tổng cộng ghi nhận 34.096 chóp ECM với 42 kiểu hình. Mỗi mẫu có từ 1–5 kiểu hình, trong đó 52,5% mẫu đất có từ 2 kiểu trở lên. Khoảng 50% mẫu đất thu được trên 180 chóp ECM, có 2 mẫu có số chóp ECM cao bất thường. Kết quả định danh ghi nhận được 19 chi EMF: *Amanita*, *Austroboletus*, *Boletus*, *Coltriciella*, *Gomphidius*, *Hourangia*, *Inocybe*,

Lactarius, *Multifurca*, *Phylloporus*, *Pulveroboletus*, *Retiboletus*, *Rhizopogon*, *Sebacina*, *Suillus*, *Thelephora*, *Tomentella*, *Tylopilus* và *Zangia*. Trong đó, *Amanita* (35,7%) và *Lactarius* (20,7%) có số lượng chóp ECM thu được cao nhất. Tiếp theo là *Zangia*, *Rhizopogon*, *Tomentella*, *Retiboletus*, *Coltriciella*, *Pulveroboletus* và *Suillus*. Ngoài ra, *Tomentella*, *Zangia* và *Coltriciella* là các chi có độ thường gặp cao.

Có 10 chi thường gặp ở cả 2 khu vực bao gồm *Amanita*, *Boletus*, *Inocybe*, *Lactarius*, *Pulveroboletus*, *Rhizopogon*, *Sebacina*, *Thelephora*, *Tomentella* và *Zangia*. Tại Viện Khoa học Sự sống, số lượng chóp rễ nấm ngoại cộng sinh thu được cao gấp 1,97 lần so với Đa Nhim, tuy nhiên thành phần loài có sự khác biệt rõ rệt. Tại Đa Nhim, *Lactifluus* sp1 và *Tomentella* sp14 chiếm ưu thế. Trong khi đó, *Amanita* sp1, *Lactarius subbrevipes* và *Zangia* sp chiếm phần lớn ở Viện Khoa học Sự sống. Hệ số tương đồng loài giữa hai khu vực chỉ đạt 3,2%. Chỉ số đa dạng Shannon–Wiener cũng cho thấy hệ nấm ở Đa Nhim đa dạng hơn Viện Khoa học Sự sống.

Dựa trên kết quả so sánh hệ nấm EMF thu được từ chóp rễ và từ đất tại hai khu vực Đa Nhim và Viện Khoa học Sự sống, các nghiên cứu tiếp theo của đề tài sẽ được định hướng triển khai tại khu vực rừng tự nhiên Đa Nhim.

3.1.2. Kết quả khảo sát thành phần loài nấm ngoại cộng sinh với hệ rễ của cây con thông ba lá *P. kesiya* 6 tháng tuổi trong vườn ươm

100% các cây đều có sự hiện diện của chóp ECM. Tổng cộng thu được 11.499 chóp ECM từ 30 cây con, với mỗi cây có từ 1–4 kiểu hình. Trong đó, 53,33% số cây chỉ có 1 kiểu hình, trung bình 398,18 chóp ECM/cây. Các cây có từ 2 kiểu hình trở lên có số lượng chóp ECM dao động từ 21–1.016 chóp/cây, và chỉ có 1 cây xuất hiện 4 kiểu hình khác nhau.

Ở cây con trong vườn ươm, thành phần EMF kém đa dạng với 5 chi được ghi nhận gồm *Cenococcum*, *Nothojafnea*, *Rhizopogon*, *Sebacina* và

Tylospora. Trong đó, chỉ *Cenococcum* có 2 loài, các chi còn lại chỉ có 1 loài. *Nothojafnea* chiếm ưu thế với 9.766 chóp ECM (84,93%) và xuất hiện ở cả 30 mẫu nghiên cứu. *Sebacina* và *Tylospora* có tỷ lệ xuất hiện thấp nhất, chỉ ghi nhận lần lượt ở 1 và 2 mẫu với 74 và 95 chóp ECM.

3.1.3. Kết quả khảo sát thành phần loài nấm ngoại cộng sinh với hệ rễ của cây con thông ba lá *P. kesiya* 3 năm tuổi trong khu vực rừng trồng

Kết quả cho thấy tất cả các cây đều có chóp ECM, với hình thái khác biệt rõ rệt so với rễ con không nhiễm nấm. Tổng cộng ghi nhận 37.361 chóp ECM, mỗi cây có từ 1–5 kiểu hình; trong đó 43,33% số cây có 2 kiểu hình, 26,67% và 23,33% có lần lượt 1 và 3 kiểu hình, chỉ có 1 cây ghi nhận 4 kiểu và 1 cây ghi nhận 5 kiểu. Trên hệ rễ xác định được 16 chi nấm gồm *Amanita*, *Cenococcum*, *Coltricia*, *Cortinarius*, *Cyanoboletus*, *Lactarius*, *Phylloporus*, *Pulveroboletus*, *Rhizopogon*, *Russula*, *Scleroderma*, *Sebacina*, *Suillus*, *Tomentella*, *Tylopilus*, *Tylospora* và 1 mẫu thuộc bộ Cantharellales. Trong đó, *Russula* và *Tomentella* đa dạng loài nhất với lần lượt 9 và 7 loài, xuất hiện ở 14 và 13 mẫu cây, đồng thời có số lượng chóp ECM cao nhất (11.235 và 11.594 chóp). Ngược lại, *Cortinarius* chỉ ghi nhận ở 1 cây với 7 chóp ECM.

3.1.4. Kết quả so sánh về thành phần loài nấm ngoại cộng sinh với hệ rễ của cây thông ba lá *P. kesiya* giữa các giai đoạn tuổi của cây chủ

Có 70 mẫu chóp ECM tại rừng Đa Nhim, 75 mẫu tại khu vực Viện Khoa học Sự sống, 64 mẫu cây thông 3 năm tuổi và 51 mẫu cây con trong vườn ươm đã được định danh sinh học phân tử. Tổng cộng ghi nhận 32 chi và 116 loài EMF, gồm 30 chi thuộc ngành Basidiomycota và 2 chi thuộc Ascomycota là *Cenococcum* và *Nothojafnea*. Phân tích với mỗi TrnC-D xác nhận tất cả mẫu chóp ECM đều thuộc loài *P. kesiya*.

Sebacina và *Rhizopogon* xuất hiện ở cả ba giai đoạn phát triển của thông ba lá. Nhiều nghiên cứu trước đây cũng cho thấy các chi *Sebacina*,

Rhizopogon, *Cenococcum*, *Suillus* và *Tomentella* là những nhóm nấm ECM phổ biến, có phân bố rộng và phổ ký chủ lớn. Ngược lại, thành phần loài nấm giữa các giai đoạn vườn ươm, cây 3 năm tuổi và rừng trưởng thành có độ tương đồng thấp, phù hợp với nhận định đã được nhiều nghiên cứu trước đây chứng minh rằng mỗi giai đoạn tuổi cây có quần xã nấm đặc trưng riêng. Ở giai đoạn cây con 6 tháng tuổi trong vườn ươm, *Nothofagfnea* sp. chiếm ưu thế tuyệt đối với tần suất xuất hiện 100% và độ phong phú tương đối 84,93%. Hiện tượng ưu thế của một hoặc vài loài nấm trên cây con non cũng đã được ghi nhận ở nhiều nghiên cứu khác. Sau khi cây được trồng ra rừng, tỷ lệ các loài Basidiomycota tăng nhanh và thành phần loài thay đổi đáng kể. Quần xã nấm ở cây con 6 tháng và 3 năm tuổi cũng tương đồng với các nghiên cứu tại rừng mới phục hồi hoặc rừng trồng non, trong khi ở rừng trưởng thành Đa Nhim các chi *Tomentella*, *Russula*, *Lactarius*, *Amanita* cùng các loài thuộc Cantharellales và Boletales chiếm ưu thế, tương tự các ghi nhận ở rừng già. Chỉ số Shannon-Wiener cho thấy hệ EMF ở cây 3 năm tuổi và rừng trưởng thành đa dạng hơn nhiều so với cây con 6 tháng tuổi. Giá trị đồng đều thấp ở cây con 6 tháng (0,322) phản ánh sự phân bố không cân bằng giữa các loài. Nhiều nghiên cứu cũng cho thấy số lượng chi và loài EMF sinh tăng theo tuổi cây chủ. Tuy nhiên ở các khu rừng già từ 60–120 năm tuổi trở lên, sự khác biệt về quần xã nấm không còn rõ rệt. Đối với *P. kesiya*, các nghiên cứu trước đây tại Ấn Độ và Philippines ghi nhận các chi *Boletus*, *Scleroderma*, *Lactarius*, *Amanita*, *Russula*, *Suillus* và *Cenococcum* là những nhóm EMF phổ biến, đồng thời chỉ số đa dạng tăng theo tuổi rừng. Tuy nhiên tại Việt Nam, đây là nghiên cứu đầu tiên về tính đa dạng của hệ nấm ngoại cộng sinh trên thông ba lá. Kết quả thu được từ nghiên cứu cũng phù hợp với các nghiên cứu đã có trên đối tượng cây chủ này. Ngoài ra, nghiên cứu ghi nhận mới hai loài *Nothofagfnea* sp. và *Rhizopogon boninensis*. Đặc biệt, *Nothofagfnea* trước đây chỉ được ghi nhận cộng sinh với *Nothofagus* ở Chile

và Argentina, chưa từng được báo cáo trên thực vật họ Thông hay tại Bắc bán cầu. Trong khi đó, *Rhizopogon boninensis* vốn được xem là loài đặc hữu của Nhật Bản, nhưng trong nghiên cứu này đã được phát hiện ở đất từ rừng trưởng thành Đa Nhim, Việt Nam. *Rhizopogon* là chi nấm cộng sinh quan trọng đối với sự tái sinh và sinh trưởng của cây thông, thường được sử dụng để bổ sung vào đất gieo ươm cây con. Từ đó cho thấy giá trị khoa học và tiềm năng ứng dụng đáng chú ý của kết quả nghiên cứu.

3.2. KẾT QUẢ ĐÁNH GIÁ ẢNH HƯỞNG CỦA NẤM NGOẠI CỘNG SINH TỚI KHẢ NĂNG PHÁT TRIỂN CỦA CÂY THÔNG CON *P. kesiya* TRONG ĐIỀU KIỆN *in situ*, *ex situ* VÀ *in vitro*

3.2.1. Kết quả đánh giá ảnh hưởng của nấm ngoại cộng sinh tới khả năng phát triển của cây thông con *P. kesiya* trong điều kiện *in situ*

Trong điều kiện vườn ươm, tất cả cây con đều hình thành quan hệ cộng sinh với ít nhất một loài EMF, tuy nhiên số lượng chóp ECM trên mỗi cây biến động lớn. Kết quả cho thấy không có sự tương quan giữa số lượng chóp ECM và số kiểu hình chóp ECM. Nhiều cây chỉ có một kiểu hình nhưng lại ghi nhận số lượng chóp ECM rất cao, ngoại trừ một vài trường hợp đặc biệt. Điều này cho thấy sự gia tăng số lượng chi EMF không đồng nghĩa với sự gia tăng tương ứng số lượng chóp ECM, phản ánh khả năng cạnh tranh và chiếm ưu thế của một số loài nấm trong quá trình cộng sinh. Thành phần và độ phong phú của EMF không chỉ phụ thuộc vào tính đa dạng loài mà còn chịu ảnh hưởng bởi khả năng thích nghi, hiệu quả cộng sinh và mức độ tương thích sinh lý giữa nấm với cây chủ. Ngoài ra, chiều cao cây không có tương quan rõ ràng với số lượng kiểu hình hay số lượng chóp ECM. Các cây có nhiều kiểu hình đều có chiều cao thấp hơn 16 cm, có thể do sự cạnh tranh giữa các loài nấm làm giảm hiệu quả cộng sinh tổng thể và làm tăng chi phí carbon của cây chủ ở giai đoạn cây con 6 tháng tuổi. Mặc dù chưa thúc đẩy

rõ rệt sinh trưởng chiều cao, biểu hiện rõ rệt nhất về tác động của nấm EMF đối với thông con 6 tháng tuổi chính là tỷ lệ sống của cây con đạt 100% trong vườn ươm, đồng thời khả năng thích nghi và phát triển tốt sau khi đưa ra khu vực rừng trồng.

3.2.2. Kết quả đánh giá ảnh hưởng của nấm ngoại cộng sinh tới khả năng phát triển của cây thông con *P. kesiya* trong điều kiện *ex situ*

Sau 6 tháng nuôi trồng, 100% cây con ở điều kiện *ex situ* đều hình thành chóp ECM; trong đó 76,7% cây có 1 kiểu hình, 16,7% có 2 kiểu hình và 6,7% có 3 kiểu hình trên cùng hệ rễ. Tuy nhiên, tương tự thí nghiệm *in situ*, không ghi nhận sự tương quan rõ ràng giữa độ đa dạng EMF, số lượng chóp ECM và chiều cao cây. Kết quả định danh cho thấy thành phần EMF khác biệt rõ giữa hai thí nghiệm. Tổng số chóp ECM ở *in situ* cao gấp khoảng 6,7 lần *ex situ*, cho thấy mức độ cộng sinh trong tự nhiên cao hơn đáng kể. Ở *ex situ*, chi *Rhizopogon* chiếm ưu thế (86,3%) và *Cenococcum* chiếm 5%, trong khi ở *in situ* hai chi này chỉ xuất hiện với tỷ lệ 10,1% và 3,5%. Ngược lại, chi *Nothofajnea* xuất hiện đến 84,9% trong *in situ* nhưng không ghi nhận ở *ex situ*. *Rhizopogon* và *Cenococcum* xuất hiện ở cả hai thí nghiệm cho thấy khả năng cạnh tranh cao, thích nghi tốt và tiềm năng sử dụng làm nguồn gây nhiễm cho cây con trong vườn ươm. Trong khi đó, sự ưu thế của *Nothofajnea* ở *in situ* có thể liên quan đến việc xử lý vô trùng hạt.

Cây con thông ba lá dễ dàng hình thành liên kết ngoại cộng sinh khi môi trường có sẵn mầm nấm phù hợp. Mặc dù thời gian nghiên cứu 6 tháng chưa cho thấy rõ ảnh hưởng đến sinh trưởng, hệ nấm ngoại cộng sinh vẫn đóng vai trò quan trọng trong việc duy trì khả năng sống và thích nghi của cây con sau khi đưa ra rừng trồng.

3.2.3. Kết quả đánh giá ảnh hưởng của nấm ngoại cộng sinh tới khả năng phát triển của cây con thông ba lá *P. kesiya* trong điều kiện *in vitro*

Rhizopogon là một trong hai chi nấm duy nhất xuất hiện ở cả ba giai đoạn phát triển của cây thông ba lá và trong mẫu đất với tỷ lệ cao. Nhiều nghiên cứu cho thấy chi nấm này có vai trò quan trọng trong tái sinh và nâng cao tỷ lệ sống của cây thông con, do đó thường được sử dụng làm chế phẩm gây nhiễm trong vườn ươm trước khi đưa cây ra thực địa. Để đánh giá tiềm năng ứng dụng của chi nấm này tại Việt Nam, đề tài đã phân lập loài *R. boninensis* (VNM00071130) và thực hiện đồng nuôi cấy với cây thông ba lá trong điều kiện *in vitro*. Sau 12 tuần, 100% cây được gây nhiễm hình thành cấu trúc ECM, trong khi nhóm đối chứng không ghi nhận sự hình thành này.

Kết quả phân tích sinh trưởng cho thấy cây được bổ sung *R. boninensis* phát triển vượt trội so với nhóm đối chứng. Chiều cao cây tăng 1,7 lần ($14,25 \pm 1,07$ cm so với $8,46 \pm 0,80$ cm), chiều dài rễ tăng 2,9 lần ($10,08 \pm 3,44$ cm so với $3,53 \pm 0,72$ cm), đồng thời sinh khối tươi và khô cũng cao hơn rõ rệt. Mặc dù tỷ lệ sống của cả hai nhóm đều đạt 100%, sự khác biệt về sinh trưởng và tích lũy sinh khối cho thấy *Rhizopogon* có hiệu quả rõ rệt trong việc thúc đẩy sự phát triển của cây con thông ba lá. Kết quả này tương đồng với nhiều nghiên cứu trước đây trên các loài thông khác, cho thấy các loài *Rhizopogon* có khả năng xâm nhiễm hiệu quả, tồn tại bền vững trong vùng rễ và cải thiện sinh trưởng, sinh khối cũng như khả năng chống chịu hạn của cây con. Vì vậy việc bổ sung nấm rễ ngoại cộng sinh, đặc biệt là *Rhizopogon*, là hướng tiếp cận tiềm năng nhằm nâng cao chất lượng cây giống và khả năng thích nghi của rừng trồng trong điều kiện khô hạn hoặc biến đổi khí hậu.

3.3. KẾT QUẢ KHẢO SÁT SỰ HÌNH THÀNH QUẢ THỂ NẤM NGOẠI CỘNG SINH Ở KHU VỰC RỪNG TRỒNG CÂY THÔNG CON *P. kesiya* 3 NĂM TUỔI

Việc thu mẫu nấm được thực hiện từ tháng 04/2022 đến 05/2023 với 24 đợt khảo sát, khi rừng trồng được 3 năm tuổi, thu tổng cộng 103 mẫu nấm. Số lượng mẫu thu được không đồng đều giữa các tháng, tập trung nhiều vào các tháng 4, 5, 7/2022 và 5/2023, trong khi các tháng 8, 10/2022 và 2–4/2023 không ghi nhận mẫu nào. Dữ liệu thời tiết tại khu vực Đà Lạt cho thấy nhiệt độ ít biến động, trong khi lượng mưa khác biệt rõ giữa các tháng. Nấm xuất hiện chủ yếu vào mùa mưa, tuy nhiên các tháng mưa kéo dài với lượng mưa cao lại ghi nhận ít quả thể hơn. Phân nhóm sơ bộ dựa trên hình thái ngoài cho thấy các mẫu nấm có 3 kiểu hình thái ngoài chính: nấm có thụ tầng phiến, nấm có thụ tầng ống, và nấm cục. Kết quả định danh thu được 20 chi với 49 loài. Các chi thường gặp gồm *Amanita*, *Russula*, *Scleroderma*, *Zangia*, *Tylopilus*, *Laccaria* và *Pulveroboletus*. *Amanita*, *Russula* và *Laccaria* là các chi có số lượng loài nhiều nhất, *Scleroderma* chỉ ghi nhận một loài duy nhất. Một số chi như *Amanita*, *Scleroderma* và *Tylopilus* xuất hiện thường xuyên quanh năm, còn *Russula*, *Zangia* và *Pulveroboletus* chỉ xuất hiện mạnh vào một số tháng nhất định.

Trong số 49 loài nấm thu được, khoảng 31% là nấm ăn được, bao gồm một số loài thường được người dân địa phương thu hái như *Amanita sinensis*, *Cantharellus* sp., *Lactarius hatsudake*, *Russula virescens* và *Suillus bovinus*. Khoảng 28% loài có khả năng gây độc, chủ yếu thuộc các chi *Cortinarius*, *Inocybe*, *Multifurca*, *Pulveroboletus* và *Scleroderma*, trong khi 41% loài chưa xác định rõ khả năng sử dụng. Kết quả về thành phần loài, khả năng sử dụng và thời gian xuất hiện của nấm tại khu vực nghiên cứu có ý nghĩa quan trọng cho quản lý, bảo tồn rừng bền vững cũng như phát triển sinh kế cho cộng đồng địa phương.

KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

KẾT LUẬN

- Nghiên cứu đã thu thập được 100 mẫu đất từ 2 khu vực rừng trưởng thành Đa Nhim và Viện Khoa học Sự sống, phân tích thành phần nấm có trong đất thông qua kỹ thuật NGS cho thấy hệ nấm trong đất tại rừng Đa Nhim cao hơn so với ở Viện Khoa học Sự sống.
- Thu thập, mô tả và định danh thành công 70 mẫu chóp ECM ở khu vực rừng trưởng thành Đa Nhim, 75 mẫu chóp ECM ở khu vực rừng trưởng thành Viện Khoa học Sự sống, 64 mẫu chóp ECM cây thông con 3 tuổi và 51 mẫu chóp ECM cây con trong vườn ươm. Tổng cộng thu được 32 chi và 116 loài EMF, trong đó 30 chi thuộc ngành Basidiomycota và 2 chi thuộc ngành Ascomycota. Hai chi nấm *Sebacina* và *Rhizopogon* xuất hiện ở cả 3 giai đoạn phát triển của thông ba lá.
- Hệ nấm EMF ở rừng trưởng thành và cây con 3 năm tuổi đa dạng và phân bố đồng đều hơn hẳn so với ở cây con 6 tháng tuổi.
- Loài nấm *Rhizopogon boninesis* lần đầu tiên được ghi nhận ở Việt Nam và đã cho thấy khả năng tăng cường sức sống của cây con thông ba lá khi được đồng nuôi cấy trong điều kiện *in vitro*.
- Loài nấm *Nothojafnea* sp. lần đầu tiên được ghi nhận xuất hiện ở Bắc bán cầu.
- Không ghi nhận được mối tương quan rõ rệt về thành phần loài EMF và số lượng chóp ECM xuất hiện ở mỗi cá thể cây con với khả năng phát triển của thông con ba lá thông qua chỉ số chiều cao cây khi khảo sát hệ nấm EMF trong điều kiện *in situ* và *ex situ*.

- Thu thập, định danh và phân loại được 15/49 loài nấm EMF tại rừng thông ba lá ở giai đoạn 3 năm tuổi có khả năng sử dụng làm thực phẩm.

KIẾN NGHỊ

- Tăng số lượng mẫu đất cần cho nghiên cứu NGS nhằm nâng cao khả năng phát hiện các loài nấm có mức độ hiện diện thấp trong đất. Đồng thời có thể kết hợp sử dụng nhiều cặp mồi khác nhau hoặc sử dụng các cặp mồi chuyên biệt cho EMF để nâng cao độ bao phủ trong đánh giá về thành phần loài nấm nói chung và thành phần các loài EMF nói riêng.
- Tăng thời gian thử nghiệm 1 - 2 năm và sử dụng thêm các chỉ số đánh giá khả năng sinh trưởng và phát triển khác (chiều dài rễ, tỷ lệ sinh khối tươi, sinh khối khô, số lá...) để làm rõ hơn về tác động của hệ nấm rễ ngoại cộng sinh lên thông ba lá trong điều kiện *in situ* và *ex situ*.
- Tiến hành các phân tích về thành phần lý hóa của đất (pH, chất hữu cơ, N tổng số, lân, kali, độ ẩm đất, kết cấu đất (tỷ lệ sét, cát)...) để làm rõ hơn ảnh hưởng của điều kiện môi trường đến thành phần loài của nấm ngoại cộng sinh cũng như sự khác biệt giữa hai khu vực Đa Nhim và Viện Sinh học Sự sống.
- Tiếp tục mở rộng khu vực nghiên cứu và bố trí thêm các ô thu mẫu tại các rừng thông ba lá trồng từ 3–5 năm tuổi nhằm theo dõi sự hình thành quả thể và ước tính sản lượng nấm ngoại cộng sinh. Đây sẽ là cơ sở để đánh giá tiềm năng khai thác nấm ngoại cộng sinh như một nguồn lâm sản ngoài gỗ có giá trị, góp phần gia tăng thu nhập từ rừng trồng và nâng cao hiệu quả quản lý, sử dụng tài nguyên rừng theo hướng bền vững.
- Mở rộng nghiên cứu theo hướng nuôi trồng một số loài nấm ngoại cộng sinh ăn được có hương vị thơm ngon và giá trị kinh tế cao.

DANH MỤC CÁC BÀI BÁO ĐÃ XUẤT BẢN LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN ÁN

1. Ngo, T.T., Le, N.T, Dang Q.H., Nguyen, D.H., Duong, M.T.T., Ho, Q.B.T, Cai, L., Pham, H.N.D. Extended distribution of the ectomycorrhizal fungus *Rhizopogon boninensis* in tropical Asia and its verified growth-promoting effect on *Pinus kesiya*. Mycol Progress 25, 32 (2026)
2. Tram, N. T., Quyen, H. D., Nhan, L. T., Hoang, N. D. P., Phung, H. P. P., Mai, T. T. D., Quyen, B. T. H. and Dung, H. N. (2026). Using the baked clay balls for the *in vitro* model of ectomycorrhization. International Journal of Agricultural Technology xx(x): XX-XX
3. Ngo, T.T., Dang, Q.H., Le, N.T. et al. New record of ectomycorrhizal association of the genus *Nothojafnea* in the Northern Hemisphere. Mycorrhiza 36, 74 (2026)