

**BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO  
ĐẠI HỌC NÔNG LÂM TP. HỒ CHÍ MINH  
BỘ MÔN CÔNG NGHỆ SINH HỌC**

\*\*\*\*\*



# **KHÓA LUẬN TỐT NGHIỆP**

**BƯỚC ĐẦU KHẢO SÁT MỐI LIÊN HỆ GIỮA SỰ HIỆN DIỆN  
*Trichoderma* VÀ CÁC YẾU TỐ CỦA ĐẤT**

**Ngành học: CÔNG NGHỆ SINH HỌC**

**Niên khóa: 2001-2005**

**Sinh viên thực hiện: NGUYỄN NGỌC PHÚC**

Thành phố Hồ Chí Minh  
Tháng 9/2005

**BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO  
ĐẠI HỌC NÔNG LÂM TP. HỒ CHÍ MINH  
BỘ MÔN CÔNG NGHỆ SINH HỌC  
\*\*\*\*\***

# **KHÓA LUẬN TỐT NGHIỆP**

**BUƯỚC ĐẦU KHẢO SÁT MỐI LIÊN HỆ GIỮA SỰ HIỆN DIỆN  
*Trichoderma* VÀ CÁC YẾU TỐ CỦA ĐẤT**

**Giáo viên hướng dẫn:  
ThS. ĐINH MINH HIỆP**

**Sinh viên thực hiện:  
NGUYỄN NGỌC PHÚC**

Thành phố Hồ Chí Minh  
Tháng 9/2005

# LỜI CẢM ƠN

Tôi xin chân thành cảm ơn các thầy cô trường Đại học Nông Lâm thành phố Hồ Chí Minh, Ban chủ nhiệm Bộ Môn Công nghệ sinh học, cùng tất cả quý thầy cô đã truyền đạt kiến thức cho tôi trong suốt quá trình học tại trường.

Tôi xin chân thành cảm ơn Thạc sĩ Đinh Minh Hiệp đã hết lòng hướng dẫn, giúp đỡ tôi trong suốt thời gian thực tập tốt nghiệp.

Tôi xin chân thành cảm ơn Ban Giám đốc công ty Gia Tường đã tạo điều kiện cho tôi thực tập tại công ty.

Tôi xin chân thành cảm ơn chị Nguyễn Thị Uyên Thảo – công ty Gia Tường đã hướng dẫn và chỉ bảo tận tình trong suốt thời gian tôi thực tập tại công ty.

Tôi xin chân thành cảm ơn toàn thể các anh chị hiện đang làm việc tại chi nhánh Bình Dương - công ty Gia Tường đã nhiệt tình giúp đỡ và truyền đạt những kiến thức quý báu trong suốt quá trình tôi thực tập tại công ty.

Xin cảm ơn gia đình cùng tất cả bạn bè đã giúp đỡ, động viên tôi trong suốt quá trình học đại học.

# TÓM TẮT

NGUYỄN NGỌC PHÚC, Đại Học Nông Lâm TP. Hồ Chí Minh. Tháng 9/2005.

“BƯỚC ĐẦU KHẢO SÁT MỐI LIÊN HỆ GIỮA SỰ HIỆN DIỆN *Trichoderma* VÀ CÁC YẾU TỐ CỦA ĐẤT”.

Giáo viên hướng dẫn:

Thạc sĩ Đinh Minh Hiệp

Đề tài được thực hiện trên đối tượng vi nấm *Trichoderma*. Chúng là giống vi nấm phân bố rộng rãi trong đất, có khả năng đối kháng với nấm gây bệnh cây trồng. Do đó, chúng tôi tiến hành phân lập *Trichoderma* từ các mẫu đất thu thập trên khu vực miền Đông Nam bộ nhằm khảo sát sự phân bố của các chủng *Trichoderma* trên khu vực này, và đánh giá khả năng đối kháng của các chủng này đối với một số loài nấm gây bệnh cây trồng.

Những kết quả đạt được:

- Phân lập được 18 chủng *Trichoderma* tự nhiên.
- Xác định sự phong phú của các chủng *Trichoderma* trong các mẫu đất khu vực Đông Nam bộ.
- Mật độ *Trichoderma* trong đất có liên hệ với các yếu tố môi trường đất: pH, độ ẩm, hàm lượng Mg, Ca, Ti trong đất.
- Các chủng *Trichoderma* Đ1, Đ2, Đ14, Đ15, Đ22, Đ25, Đ29 có khả năng đối kháng mạnh với 3 chủng nấm bệnh *Sclerotium rolfsii*, *Rhizoctonia solani*, *Phytophthora palmivora*.

# MỤC LỤC

CHƯƠNG	TRANG
Trang tựa	
Lời cảm ơn.....	i
Tóm tắt.....	ii
Mục lục .....	iii
Danh sách các hình .....	v
Danh sách các bảng .....	vi
Danh sách các biểu đồ .....	vii
1. MỞ ĐẦU .....	1
2. TỔNG QUAN TÀI LIỆU.....	2
2.1. Đặc điểm sinh học của <i>Trichoderma</i> .....	2
2.1.1. Vị trí phân loại .....	2
2.1.2. Đặc điểm hình thái .....	3
2.1.3. Đặc điểm sinh lý, sinh hoá.....	4
2.2. Khả năng kiểm soát sinh học của <i>Trichoderma</i> .....	5
2.2.1. Tương tác với nấm bệnh .....	5
2.2.2. Tương tác với cây trồng.....	8
2.3. Một số nghiên cứu ứng dụng vi nấm <i>Trichoderma</i> .....	13
2.3.1. Trong lĩnh vực bảo vệ thực vật và cải thiện năng suất cây trồng.....	13
2.3.2. Trong lĩnh vực xử lý môi trường .....	15
2.3.3. Trong các lĩnh vực khác .....	16
3. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU.....	17
3.1. Thời gian tiến hành thí nghiệm.....	17
3.2. Địa điểm thực hiện.....	17
3.3. Vật liệu.....	17
3.3.1. Môi trường phân lập <i>Trichoderma</i> .....	17
3.3.2. Môi trường thử tính đối kháng của <i>Trichoderma</i> .....	17
3.3.3. Các mẫu đất thu thập thực địa .....	17
3.3.4. Các chủng vi sinh vật sử dụng.....	18
3.4. Dụng cụ - Thiết bị.....	18

3.5. Phương pháp .....	18
3.5.1. Phương pháp khảo sát thực địa.....	18
3.5.2. Phương pháp thu thập mẫu đất .....	19
3.5.3. Phương pháp tiến hành đo giá trị pH của mẫu đất .....	20
3.5.4. Phương pháp tiến hành đo độ ẩm của mẫu đất .....	20
3.5.5. Phương pháp phân tích thành phần khoáng trong đất .....	20
3.5.6. Phương pháp chuẩn bị mẫu để phân tích vi sinh vật .....	20
3.5.7. Phương pháp phân lập và phân lập thuần khiết vi nấm <i>Trichoderma</i> .....	21
3.5.8. Phương pháp xác định số lượng nấm mốc bằng cách đếm số khuẩn lạc nấm mốc mọc trên môi PDA.....	21
3.5.9. Phương pháp thử tính đối kháng của <i>Trichoderma</i> đối với các chủng nấm gây bệnh cây trồng .....	22
3.5.10. Phương pháp xử lý số liệu .....	26
4. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN.....	27
4.1. Kết quả thu thập mẫu đất và phân lập các chủng <i>Trichoderma</i> trong đất khu vực Đông Nam bộ.....	27
4.2. Mối tương quan giữa sự hiện diện của <i>Trichoderma</i> và tính chất cơ giới của đất .....	30
4.3. Mối tương quan giữa sự hiện diện của <i>Trichoderma</i> và trạng thái sử dụng đất ...	31
4.4. Kết quả phân tích pH, độ ẩm của đất.....	33
4.5. Kết quả phân tích một số thành phần khoáng trong đất .....	37
4.6. Kết quả đối kháng các chủng <i>Trichoderma</i> với nấm gây bệnh thực vật .....	43
4.6.1. Kết quả đối kháng của <i>Trichoderma</i> đối với <i>Sclerotium rolfsii</i> .....	43
4.6.2. Kết quả đối kháng của <i>Trichoderma</i> đối với <i>Rhizoctonia solani</i> .....	44
4.6.3. Kết quả theo dõi sự đối kháng tương đối của <i>Trichoderma</i> đối với <i>Phytophthora palmivora</i> .....	45
4.6.4. Nhận xét chung .....	46
5. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ .....	48
6. TÀI LIỆU THAM KHẢO .....	49
7. PHỤ LỤC	

# DANH SÁCH CÁC HÌNH

HÌNH	TRANG
Hình 2.1. <i>Trichoderma harzianum</i> KRL-AG2 phát triển trên môi trường PDA ...	3
Hình 2.2. Khuẩn ty và cơ quan sinh bào tử của <i>Trichoderma</i> .....	3
Hình 2.3. <i>Trichoderma</i> kí sinh trên <i>Pythium</i> gây bệnh trên rễ cây họ đậu .....	6
Hình 2.4. Hệ sợi nấm <i>Trichoderma</i> kí sinh trên khuẩn ty nấm bệnh <i>Rhizoctonia solani</i> .....	6
Hình 2.5. Sự gia tăng phát triển hệ rễ với thể cạnh tranh T-22 ở vùng rễ.....	10
Hình 2.6. Sự gia tăng sản lượng trên cây ớt với hạt giống được xử lí với T-22 .....	10
Hình 2.7. Hiệu quả giữa sử dụng và không sử dụng <i>Trichoderma harzianum</i> T-22 trên rễ.....	15
Hình 3.1. Cách cây diêm thử đối kháng <i>Trichoderma</i> với nấm gây bệnh thực vật.....	23
Hình 3.2. Kết quả đối kháng tương ứng với hiệu quả “-” .....	24
Hình 3.3. Kết quả đối kháng tương ứng với hiệu quả “+” .....	24
Hình 3.4. Kết quả đối kháng tương ứng với hiệu quả “++” .....	25
Hình 3.5. Kết quả đối kháng tương ứng với hiệu quả “+++” .....	25
Hình 3.6. Kết quả đối kháng tương ứng với hiệu quả “++++” .....	26

# DANH SÁCH CÁC BẢNG

BẢNG	TRANG
Bảng 2.1. Tác dụng và hiệu quả đề kháng cho cây trồng do loài <i>Trichoderma</i> mang lại .....	11
Bảng 4.1. Sự hiện diện của <i>Trichoderma</i> trên các mẫu đất khu vực Đông Nam bộ .....	27
Bảng 4.2. Kết quả phân lập và phân lập thuần khiết các chủng <i>Trichoderma</i> từ các mẫu đất thu được.....	28
Bảng 4.3. Kết quả thu thập mẫu đất được phân tích theo thành phần cơ giới của đất.....	30
Bảng 4.4. Kết quả phân tích pH và độ ẩm các mẫu đất.....	33
Bảng 4.5. Mối liên hệ giữa mật độ <i>Trichoderma</i> trong đất và giá trị pH đất.....	34
Bảng 4.6. Mối liên hệ giữa mật độ <i>Trichoderma</i> và độ ẩm của đất.....	35
Bảng 4.7. Kết quả phân tích khoáng quan trọng trong các mẫu đất.....	37
Bảng 4.8. Ảnh hưởng của hàm lượng Mg trong đất đến sự hiện diện của <i>Trichoderma</i> ..	38
Bảng 4.9. Ảnh hưởng của hàm lượng Mg trong đất đến mật độ <i>Trichoderma</i> .....	38
Bảng 4.10. Ảnh hưởng của hàm lượng Ca trong đất đến sự hiện diện của <i>Trichoderma</i> ..	39
Bảng 4.11. Ảnh hưởng của hàm lượng Ca trong đất đến mật độ <i>Trichoderma</i> .....	39
Bảng 4.12. Ảnh hưởng của hàm lượng Fe trong đất đến sự hiện diện của <i>Trichoderma</i> ..	40
Bảng 4.13. Ảnh hưởng của hàm lượng Fe trong đất đến mật độ <i>Trichoderma</i> .....	40
Bảng 4.14. Ảnh hưởng của hàm lượng Ti trong đất đến sự hiện diện của <i>Trichoderma</i> .....	40
Bảng 4.15. Ảnh hưởng của hàm lượng Ti trong đất đến mật độ <i>Trichoderma</i> .....	41
Bảng 4.16. Kết quả đối kháng của <i>Trichoderma</i> đối với <i>Sclerotium rolfsii</i> .....	43
Bảng 4.17. Kết quả đối kháng của <i>Trichoderma</i> đối với <i>Rhizoctonia solani</i> .....	44
Bảng 4.18. Kết quả đối kháng của <i>Trichoderma</i> đối với <i>Phytophthora palmivora</i> .....	45
Bảng 4.19. Mức độ đối kháng của các chủng <i>Trichoderma</i> với các chủng nấm gây bệnh.....	46
Bảng 4.20. Các chủng <i>Trichoderma</i> đối kháng mạnh với vi nấm gây bệnh thực vật .....	46



# DANH SÁCH CÁC BIỂU ĐỒ

BIỂU ĐỒ	TRANG
Biểu đồ 4.1. Sự hiện diện <i>Trichoderma</i> trong các mẫu đất khu vực Đông Nam bộ.....	29
Biểu đồ 4.2. Sự hiện diện của <i>Trichoderma</i> trong các nhóm đất có thành phần cơ giới khác nhau.....	30
Biểu đồ 4.3. Sự hiện diện của <i>Trichoderma</i> trong các loại đất có thành phần cơ giới khác nhau.....	31
Biểu đồ 4.4. Sự hiện diện của <i>Trichoderma</i> trong các mẫu đất canh tác các loại cây trồng khác nhau.....	32
Biểu đồ 4.5. Mối liên hệ giữa sự hiện diện của <i>Trichoderma</i> và pH đất .....	34
Biểu đồ 4.6. Mối liên hệ giữa sự hiện diện <i>Trichoderma</i> và độ ẩm của đất .....	35
Biểu đồ 4.7. Mối liên hệ giữa hàm lượng của Mg, Ca với sự hiện diện của <i>Trichoderma</i> .....	42
Biểu đồ 4.8. Mức độ đối kháng của các chủng <i>Trichoderma</i> với <i>Sclerotium rolfsii</i> .....	43
Biểu đồ 4.9. Mức độ đối kháng của các chủng <i>Trichoderma</i> với <i>Rhizoctonia solani</i> ...	44
Biểu đồ 4.10. Mức độ đối kháng của các chủng <i>Trichoderma</i> với <i>Phytophthora palmivora</i> .....	45

# PHẦN 1. MỞ ĐẦU

*Trichoderma* là một loại vi nấm hoại sinh trong đất có khả năng đối kháng các loại vi nấm gây bệnh thực vật với phổ tác động rộng, không gây hại cho con người và cây trồng. Chính vì vậy, việc khai thác tiềm năng của *Trichoderma* như là một tác nhân sinh học phòng trừ bệnh hại cây trồng (bệnh khô vằn ở lúa; bệnh thối gốc cháy mù ở cam quýt, sầu riêng; bệnh thối gốc ở cây tiêu,...) là một khuynh hướng hứa hẹn đã và đang được các nước trên thế giới quan tâm.

Ở nước ta, việc sử dụng loại chế phẩm vi sinh này vẫn chưa phổ biến. Trước khi các sản phẩm này được sử dụng rộng rãi trên thị trường cần tiến hành nghiên cứu về sự phân bố các chủng *Trichoderma* ở nước ta. Thực hiện được điều này sẽ bảo tồn các chủng *Trichoderma* bản địa, đồng thời có thể sử dụng làm nguồn gen cung cấp cho các hướng nghiên cứu sâu hơn về sinh lí, sinh hóa, di truyền... Triển vọng trong tương lai gần là có thể dùng các chủng *Trichoderma* bản địa để sản xuất các chế phẩm vi sinh dùng cho việc phòng trừ bệnh hại cây trồng mà không cần nhập ngoại, góp phần xây dựng hệ thống nông nghiệp sinh thái bền vững.

Mục đích của khóa luận này là tiến hành khảo sát, đánh giá sự phân bố các chủng vi nấm *Trichoderma* trong các loại đất khác nhau thuộc khu vực miền Đông Nam bộ, đồng thời đánh giá khả năng đối kháng của các chủng *Trichoderma* phân lập được đối với các vi nấm gây bệnh cây trồng điển hình.

Các nội dung chính của khóa luận:

- Khảo sát các phân vùng đất và xác định các địa điểm cần thu thập mẫu đất.
- Tiến hành thu thập mẫu đất và các thông tin cần thiết.
- Phân lập và phân lập thuần khiết các dòng *Trichoderma*.
- Thống kê và đánh giá sự phân bố của các chủng nấm *Trichoderma* tương ứng với các loại đất được khảo sát.
- Bước đầu khảo sát khả năng đối kháng của các chủng nấm *Trichoderma* đối với một số loại nấm gây bệnh cây trồng (*Rhizoctonia solani*, *Sclerotium rolfsii*, *Phytophthora palmivora*...).

## PHẦN 2. TỔNG QUAN TÀI LIỆU

### 2.1. Đặc điểm sinh học của *Trichoderma*

#### 2.1.1. Vị trí phân loại

*Trichoderma* là một trong những nhóm vi nấm gây nhiều khó khăn cho công tác phân loại do còn nhiều đặc điểm cần thiết cho việc phân loại vẫn còn chưa được biết đầy đủ.

Persoon ex Gray (1801) phân loại *Trichoderma* như sau: [21]

Giới: Fungi

Ngành: Ascomycota

Lớp: Euascomycetes

Bộ: Hypocreales

Họ: Hypocreaceae

Giống: *Trichoderma*

Ainsworth và Sussman lại cho rằng *Trichoderma* thuộc lớp Deuteromycetes, bộ Moniliales, họ Moniliaceae [10].

Theo hai nhà khoa học Elisa Esposito và Manuela da Silva, *Trichoderma* thuộc họ Hypocreaceae, lớp Nấm túi Ascomycetes; các loài *Trichoderma* được phân thành 5 nhóm: *Trichoderma*, *Longibrachiatum*, *Saturnisporum*, *Pachybasium* và *Hypocreanum*. Trong đó, 3 nhóm *Trichoderma*, *Pachybasium*, *Longibrachiatum* có giai đoạn teleomorph (hình thái ở giai đoạn sinh sản hữu tính) là *Hypocrea*; nhóm *Hypocreanum* hiếm khi gặp dưới dạng teleomorph độc lập; nhóm *Saturnisporum* không tìm thấy hình thức teleomorph [13].

### 2.1.2. Đặc điểm hình thái

*Trichoderma* là một loài nấm bất toàn, sinh sản vô tính bằng đỉnh bào tử từ khuẩn ty [12].

Khuẩn ty của vi nấm không màu, cuống sinh bào tử phân nhánh nhiều, ở cuối nhánh phát triển thành một khối tròn mang các bào tử trần không có vách ngăn, không màu, liên kết nhau thành chùm nhỏ ở đầu cành nhờ chất nhầy. Bào tử hình cầu, hình elip hoặc hình thuôn. Khuẩn lạc nấm có màu trắng hoặc từ lục trắng đến lục, vàng xanh, lục xỉn đến lục đậm. Các chủng của *Trichoderma* có tốc độ phát triển nhanh,



**Hình 2.1.** *Trichoderma harzianum* KRL-AG2 phát triển trên môi trường PDA (Vùng màu xanh chứa bào tử) [26]



**Hình 2.2.** Khuẩn ty và cơ quan sinh bào tử của *Trichoderma*

chúng có thể đạt đường kính khuẩn lạc từ 2-9 cm sau 4 ngày nuôi cấy ở 20<sup>0</sup>C [3].

### 2.1.3. Đặc điểm sinh lý, sinh hoá

#### ✚ Môi trường sống

*Trichoderma* spp. là nhóm vi nấm phổ biến ở đất nông nghiệp, đồng cỏ, rừng, đầm muối và đất sa mạc. Hầu hết chúng là những vi sinh vật hoại sinh, nhưng chúng cũng có khả năng tấn công các loại nấm khác [16]. *Trichoderma* rất ít tìm thấy trên thực vật sống và không sống nội kí sinh với thực vật. Chúng có thể tồn tại trong tất cả các vùng khí hậu từ miền cực Bắc đến những vùng núi cao cũng như miền nhiệt đới. Tuy nhiên, có một sự tương quan giữa sự phân bố các loài và các điều kiện môi trường.

*T.polysporum* và *T.viride* có mặt ở vùng khí hậu lạnh, trong khi *T.harzianum* có ở các vùng khí hậu nóng. Điều này tương quan với nhu cầu nhiệt độ tối đa cho từng loài [16].

Các loài *Trichoderma* thường xuất hiện ở đất acid, và Gochenaur (1970) cho rằng có thể có tương quan giữa sự hiện diện của *T.viride* với đất acid trong vùng khí hậu rất

lạnh ở Peru [16]. *Trichoderma* phát triển tốt ở bất cứ pH nào nhỏ hơn 7 và có thể phát triển tốt ở đất kiềm nếu như ở đó có sự tập trung một lượng CO<sub>2</sub> và bicarbonat [19].

*Trichoderma* có thể sử dụng nhiều nguồn thức ăn khác nhau từ carbonhydrat, amino acid đến ammonia.

*Trichoderma* là vi nấm ưa độ ẩm, chúng đặc biệt chiếm ưu thế ở những nơi ẩm ướt, những khu rừng khác nhau. *T. hamatum* và *T.pseudokoningii* có thể chịu điều kiện có độ ẩm cao hơn so với những loài khác [22]. Tuy nhiên, *Trichoderma* spp. thường không chịu được độ ẩm thấp và điều này được cho là một yếu tố góp phần làm cho số lượng *Trichoderma* giảm rõ rệt trong những nơi có độ ẩm thấp, song các loài *Trichoderma* spp. khác nhau thì yêu cầu về nhiệt độ và độ ẩm cũng khác nhau [15,19].

*Trichoderma* spp. có thể được phát hiện trong đất bởi mùi hương của chúng, hương dứa (6-pentyl- $\alpha$ -pyrone dễ bay hơi) thường được tạo ra trong quá trình sinh trưởng của *Trichoderma*.

Với phương pháp pha loãng người ta ước tính *Trichoderma* có thể đạt đến 3% tổng số vi nấm hiện diện trong các loại đất rừng và 1,5% số lượng nấm trong đất đồng cỏ [16].

Turner và cộng sự (1997) chỉ ra rằng *T.longibrachiatum* và *T.citrinoviride* có nhiều sự trùng nhau về khu vực phân bố địa lí. Sự phân bố rộng khắp này có lẽ do sự phát tán hiệu quả (nhờ gió hoặc côn trùng) hoặc biểu hiện một quá trình tiến hóa rất sớm [16].

#### **Chất chuyển hóa thứ cấp và kháng sinh [16]**

*Trichoderma* spp. sản xuất nhiều loại kháng sinh. Ngày nay, danh sách của các chất trên được kéo dài thêm ra, bao gồm đa dạng các chất có hoạt tính: glioviridin (một diketopiperazin), sesquiterpenoids, trichothecenes (trichodermin), cyclic peptides, isocyanid-bao gồm các chất chuyển hóa (trichoviridin). Bên cạnh khả năng ức chế vi sinh vật khác, chắc chắn những chất chuyển hóa này liên quan đến sự tăng trưởng yếu kém của thực vật bậc cao hơn và cũng là nguyên nhân gây ra bệnh còi ở cừu thông qua hoạt động ức chế vi sinh vật phân giải cellulose trong dạ cỏ của chúng. Các chủng *Trichoderma* cũng sinh ra nhiều loại hợp chất ức chế dễ bay hơi có thể trợ giúp cho sự hình thành khuẩn lạc của chúng trong đất.

*Trichoderma* và *Gliocladium* sản xuất đa dạng chất chuyển hóa thứ cấp. Những chất này bao gồm sắc tố anthroquinon (pachybasin-[1,8-dihydroxy-3-methyl-9,10-anthraquinon]; emodin-[1,6,8-trihydroxy-3-methyl-9,10-anthraquinon]), chức năng của chúng vẫn chưa được biết, một số chất khác như benzoquinon (thermophyllin),

cardinan (avocettin); dihydrocoumarins, polyacetylen mạch nhánh (trichodermen) và dẫn xuất các acid béo (methyl-2,4,6-triene-1-carboxylat). Những chất này cũng chưa được biết rõ về hiệu quả của chúng trong sự hình thành khuẩn lạc.

## **2.2. Khả năng kiểm soát sinh học của *Trichoderma***

### **2.2.1. Tương tác với nấm bệnh [17]**

Sự tương tác đối kháng giữa *Trichoderma* và các loại nấm khác được phân loại như sau: tiết ra các chất kháng nấm bệnh (antibiosis), kí sinh lên cơ thể của nấm bệnh (mycoparasitism), cạnh tranh dinh dưỡng với nấm bệnh (competition for nutrient). Những cơ chế này không tách biệt nhau, và cơ chế đối kháng thực tế có thể là một trong những loại cơ chế này. Ví dụ, sự kiểm soát *Botrytis* trên nho bởi *Trichoderma* bao gồm cả sự cạnh tranh dinh dưỡng và sự kí sinh lên hạch nấm, cả hai cơ chế đã ngăn chặn tác nhân gây bệnh. Cả cơ chế tạo ra các chất kháng nấm và cơ chế kí sinh có thể liên quan đến sự cạnh tranh dinh dưỡng, thật ra sự sản xuất ra các chất độc được biết có ảnh hưởng đến tình trạng dinh dưỡng của môi trường tăng trưởng. Chúng có gần đây chỉ ra rằng các chất kháng sinh và các enzym thủy phân không chỉ được tạo ra đồng thời mà còn hỗ trợ nhau trong cơ chế đối kháng kí sinh.

Gần đây có giả thiết cho rằng tác nhân kiểm soát sinh học *T.harzianum* T39 làm giảm lượng enzym phân hủy pectin do *B.cinerea* tạo ra do đó làm giảm sự gây bệnh.

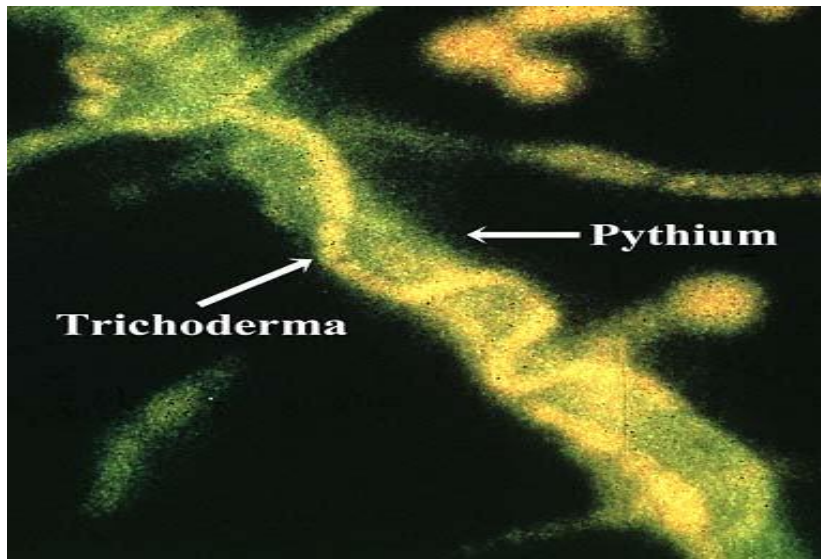
#### **✚ Cơ chế tiết ra các chất kháng nấm bệnh (antibiosis)**

Các chủng *Trichoderma* sản xuất đa dạng các chất chuyển hóa thứ cấp dễ bay hơi và không bay hơi, một vài chất loại này ức chế vi sinh vật khác mà không có sự tương tác vật lí. Chất ức chế được coi là chất kháng sinh. Chất có mùi dứa 6-n-pentyl-2H-pyran-2-one (PPT) được tìm thấy ở một số chủng *Trichoderma* phân lập được. Các chủng *Trichoderma* sản xuất nhiều loại kháng sinh khác nhau, môi trường cũng tác động vào sự sản xuất cả về chất lượng và số lượng. Hơn nữa các kháng sinh đặc hiệu tác động vào các tác nhân gây bệnh khác nhau thì khác nhau.

#### **✚ Cơ chế kí sinh (mycoparasitism)**

Theo Chet (1990) cơ chế đối kháng kí sinh gồm 4 giai đoạn : (a) sự tăng trưởng có tính chất hướng hóa, trong giai đoạn này tác nhân kích thích hóa học từ nấm đích hấp dẫn nấm đối kháng; (b) sự nhận dạng đặc hiệu, có lẽ trung gian bởi lectin trên bề mặt tế bào của cả tác nhân gây bệnh và nấm đối kháng; (c) sự tấn công và xoắn vòng của

sợi nấm *Trichoderma* xung quanh vật chủ; và (d) sự bài tiết các enzym phân giải vách tế bào chất. Hệ enzym phân giải vách tế bào bao gồm chitinases, glucanase, protease.



Hình 2.3. *Trichoderma* kí sinh trên *Pythium* gây bệnh trên rễ cây họ đậu (*Trichoderma* nhuộm màu vàng, *Pythium* nhuộm màu lục) [26]



Hình 2.4. Hệ sợi nấm *Trichoderma* kí sinh trên khuẩn ty nấm bệnh *Rhizoctonia solani*

Lockwood (1981, 1982) và Wicklow (1992) đã đưa ra khái niệm cạnh tranh khai thác và cạnh tranh cản trở vào tương tác giữa quần thể nấm. Sự cạnh tranh cản trở liên quan đến cơ chế hóa học và tập tính bởi vì sinh vật này giới hạn vì sinh vật khác tiếp xúc cơ chất và xảy ra do sự tương tác giữa hệ sợi nấm trong cùng loài hoặc khác loài.

Sự cạnh tranh khai thác xảy ra giữa 2 loài cùng khai thác một nguồn lợi nhưng khác nhau về tốc độ và hiệu quả khai thác. Trong trường hợp nguồn lợi là nguồn dinh dưỡng được xem như cạnh tranh dinh dưỡng.

- Sự cạnh tranh cho mô hoại sinh (competition for necrotic tissue)

*Botrytis* và *Sclerotinia* spp. là mầm bệnh cơ hội tấn công vào mô thực vật lão hóa hoặc chết coi đó như nguồn dinh dưỡng, từ đây tiếp tục tấn công vào những mô khỏe mạnh. Khi đã xử lí *Trichoderma*, chúng làm suy yếu, làm chậm sự hình thành khuẩn lạc của *Botrytis* vào mô thực vật. Sau đó làm giảm mức độ bệnh trên cây. *Trichoderma* đã được ứng dụng thành công trong kiểm soát *Botrytis* và *Sclerotinia* trên những loại rau cải, trái cây khác nhau, dâu, dưa chuột, ...

- Sự cạnh tranh cho chất dịch rỉ từ hạt (competition for plant exudates)

Bệnh chết nhát (Damping-off) gây bởi *Pythium ultimum* ở một số loại ngũ cốc và rau quả được xuất phát bởi sự đáp ứng nhanh chóng của mầm bệnh đối với dịch rỉ từ hạt. Túi bào tử của *Pythium* nảy mầm và xâm nhiễm vào hạt giống trong vòng vài giờ khi *Pythium* đã tràn lan trong đất. Xử lí hạt giống với *Trichoderma* làm giảm sút sự nảy mầm của túi bào tử *Pythium*, hiện tượng này được cho là sự cạnh tranh chất kích thích nảy mầm.

Sự cạnh tranh dinh dưỡng cũng được xem như cơ chế hữu hiệu nhất sử dụng bởi *T.harzianum* T-35 trong sự kiểm soát *Fusarium oxysporum* trong vùng rễ cây bông vải và dưa hấu.

- Sự cạnh tranh trên vị trí vết thương (competition on wound sites)

Một trong những thí nghiệm thành công đầu tiên của sự kiểm soát sinh học trên vết thương gây do cắt xén là sử dụng *T.viride*, áp dụng trong phun xịt hoặc dùng kéo lớn cắt, để kiểm soát mầm bệnh gây bạc lá (*Chondrostereum purpureum*). Thể *Trichoderma* đưa vào được chứng minh có khả năng mọc khuẩn lạc trên cây vừa bị cắt và ngăn ngừa sự xâm nhiễm của mầm bệnh ở rễ (*Amillaria luteobubalina*).

Sự thối thân thường theo cùng sự xâm nhiễm *Botrytis* vào vết thương bị cắt trên cây cà chua trong nhà kính; căn bệnh này rất khó kiểm soát bởi những biện pháp



canh tác. Thể *Trichoderma* được chứng minh có khả năng kiểm soát sự thối thân khi tiêm chủng trước hay cùng lúc với *Botrytis*, nhưng không có hiệu quả kiểm soát nếu được tiêm sau, như vậy có thể cho rằng sự cạnh tranh mọc khuẩn lạc trên vết thương là yếu tố xác định sự giảm bệnh.

Trong một nghiên cứu sự xâm nhiễm của *Pythium* vào rễ dưa chuột đã chỉ ra rằng mặc dù không có sự hình thành khuẩn lạc của chủng *T.harzianum* T3 trên toàn bộ rễ nhưng vẫn có sự hình thành khuẩn lạc tại vết thương. Sự cạnh tranh dinh dưỡng từ dịch rỉ vết thương của thể cạnh tranh rõ ràng là nguyên nhân làm giảm sự xâm nhiễm của *Pythium*.

### 2.2.2. Tương tác với cây trồng [18]

#### ✚ Hiệu quả của sự hình thành khuẩn lạc ở rễ đến cơ chế trao đổi chất ở lá

Một vài nghiên cứu cho thấy sự mọc khuẩn lạc ở rễ do các chủng *Trichoderma* dẫn đến sự tăng cường hoạt tính của các enzym có liên quan đến tính chống chịu của thực vật, bao gồm các peroxidase, chitinase,  $\beta$ -1,3-glucanase và lipoxxygenase. Trong cây dưa chuột, sự thêm vào *Trichoderma asperellum* T-203 đã dẫn đến sự gia tăng sản xuất phenylalanine ammonia lyase nhất thời trong cả rễ và chồi cây, nhưng trong vòng 2 ngày, tác động này sẽ giảm xuống tới mức cơ bản ở cả hai cơ quan trên.

Sự thay đổi trong cơ chế trao đổi chất của thực vật có thể dẫn đến sự tích tụ các hợp chất kháng sinh. *Trichoderma* không chỉ tạo ra các chất kháng sinh một cách trực tiếp mà chúng còn kích hoạt mạnh mẽ vào cây trồng để cây trồng tự sản xuất các hợp chất kháng sinh. Sự hình thành khuẩn lạc trên rễ bởi những loại nấm này gây biến đổi đáng kể đến bộ máy trao đổi chất của cây trồng.

Những kết quả trên cho phép chúng ta tạo một mô hình cơ chế *Trichoderma* spp. kiểm soát và làm giảm bệnh trên cây trồng. Nhiều loài như *T.virens*, *T.asperellum*, *T.atroviride* và *T.harzianum* gây sự thay đổi cơ chế trao đổi chất trên cây trồng làm tăng cường khả năng kháng lại phổ rộng các tác nhân gây bệnh là các loài vi sinh vật. Hơn thế, đáp ứng này còn có hiệu quả trên nhiều loại cây trồng (bảng 1). Khi bào tử hoặc cơ quan nhân giống khác, được thêm vào đất và tiến đến tiếp xúc với rễ thì chúng nảy mầm và tăng trưởng trên bề mặt rễ, và tối thiểu một ít nhiễm vào phía ngoài tế bào rễ. Chúng sản xuất tối thiểu 3 loại chất mà tạo ra đáp ứng bảo vệ của cây trồng, đáp ứng này ngăn chặn sự xâm nhiễm nhiều hơn nữa của mầm bệnh. Những thể tạo ra sự đáp ứng bao gồm các peptide, protein và hợp chất trọng lượng phân tử nhỏ. Trong một

vài trường hợp, sự kháng chỉ mang tính cục bộ như trường hợp của *T.virens* trên cây bông vải, còn trên hầu hết các hệ thống cây trồng-*Trichoderma* khác thì tính kháng mang tính toàn bộ.

### **Cải thiện sự tăng trưởng của rễ**

Trong cả nghiên cứu lí thuyết và ứng dụng thương mại, các chủng *Trichoderma* đều tăng cường sự phát triển của rễ trên ngô và nhiều loại cây trồng khác. Tác động này kéo dài trong cả cuộc đời của cây lâu năm và có thể được tạo nên bởi sự thêm vào một lượng nhỏ vi nấm (nhỏ hơn  $1\text{g ha}^{-1}$ ) được áp dụng như một biện pháp xử lí hạt giống. Ví dụ cây ngô được trồng trên cánh đồng từ những hạt giống được và không được xử lí với *Trichoderma*. Sau một vài tháng, khi cây trồng đã cao trên 2m các mương được đào thành các hàng và tần số mặt tiếp xúc của rễ trên khu vực các luống cày được xác định. Sự hiện diện của khuẩn lạc *Trichoderma* đã làm cho mặt tiếp xúc của rễ sâu hơn. Điều này dẫn đến tăng cường khả năng chịu hạn và có lẽ chống lại những loại đất cứng. Sự tăng trưởng của những cây này có thể được tăng cường bởi sự hiện diện của vi sinh vật có ích trên rễ khác.

Trong hầu hết các trường hợp đã đề cập ở trên thì không thể tách rời các tác động trực tiếp đến sự tăng trưởng cây trồng khỏi sự kiểm soát các mầm bệnh hoặc các vi sinh vật có hại khác ảnh hưởng xấu đến sự tăng trưởng của rễ. Sự gia tăng đồng thời cả sự phát triển của rễ và sự tăng trưởng cây trồng có lẽ gây bởi sự kiểm soát sinh học và các tác động liên hệ đến rễ do hệ vi sinh vật, và cũng gây bởi sự cải tiến trực tiếp trong sự tăng trưởng cây trồng. Hệ vi sinh vật có hại cho rễ làm giảm sự tăng trưởng trong sự thiếu vắng hoàn toàn bệnh cây. Một vi sinh vật có hại sản xuất cyanid-có lẽ tồn lưu trong nơi ở của chúng trong cuộc cạnh tranh. *Trichoderma* spp. kháng lại cyanid và tạo ra hai loại enzym khác nhau có khả năng phân hủy chúng trong vùng rễ. Do đó *Trichoderma* có thể tăng cường trực tiếp cho sự tăng trưởng của rễ, kiểm soát những vi sinh vật có hại không phải là mầm bệnh, tiêu diệt các chất chuyển hóa độc hại được tạo ra bởi vi sinh vật có hại và trực tiếp kiểm soát mầm bệnh ở rễ. Sự gia tăng tăng trưởng rễ do những nấm này cùng với sự tăng cường đồng thời tăng trưởng cây và sự đề kháng stress được thực hiện bởi một vài con đường khác nhau, có thể mỗi đáp ứng bao gồm nhiều cơ chế mà đã được miêu tả ở sự kiểm soát sinh học trên rễ và lá.



**Hình 2.5. Sự gia tăng phát triển hệ rễ với thể cạnh tranh T-22 ở vùng rễ [26]**

Ghi chú: Without T-22: không được xử lí với T-22

With T-22: đã xử lí với T-22



**Hình 2.6. Sự gia tăng sản lượng trên cây ớt với hạt giống được xử lí với T-22 [26]**

#### **🌱 Tương tác tăng cường sử dụng chất dinh dưỡng**

*Trichoderma* spp. gia tăng sự sử dụng và sự tập trung các chất dinh dưỡng (Cu, P, Fe, Mn, Na) trong rễ trong môi trường ngập nước. Sự gia tăng khả năng sử dụng này cho biết sự cải tiến các cơ chế sử dụng dinh dưỡng của cây trồng. Hơn nữa, có thể gia tăng trạng thái cân bằng dinh dưỡng khi thêm nguồn nitơ trong phân bón. Dữ liệu này cho thấy *Trichoderma* gia tăng hiệu quả sử dụng nguồn nitơ trong phân bón trên cây ngô. Và khả năng này có thể làm giảm sự ô nhiễm nitrat trong đất và bề mặt nước. Các phân tích đã cho thấy *Trichoderma* gây ra sự gia tăng sử dụng các yếu tố bao gồm As, Co, Cd, Ni, Va, Mg, Mn, Cu, Bo, Zn, Al, Na.

Tóm lại các chủng *Trichoderma* có thể hòa tan nhiều loại dinh dưỡng cho cây trồng khác nhau chẳng hạn như phosphate khó tan,  $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{4+}$ ,  $\text{Zn}^0$ , có thể không dùng được cho cây trồng từ một vài loại đất.

**Bảng 2.1. Tác dụng và hiệu quả đề kháng cho cây trồng do loài *Trichoderma* mang lại [18]**

Chủng	<i>T.virens</i> G-6, G-6-5 và G-11	<i>T.harzianum</i> T-39	<i>T.harzianum</i> T-39	<i>T.Asperellum</i> T-203	<i>T.harzianum</i> NF-9
Cây trồng	Bông vải	Cây đậu	Cà chua, hồ tiêu, thuốc lá, rau diếp, đậu	Dưa chuột	Lúa
Tác nhân gây bệnh	<i>Rhizoctonia solani</i>	<i>Colletotrichum lindemuthianum</i> ; <i>Botrytis cinerea</i>	<i>Botrytis cinerea</i>	<i>Pseudomonas syringae</i> pv. lachrymans	<i>Magnaporthe grisea</i> ; <i>Xanthomonas oryzae</i> pv.oryzae
Tác dụng	Bảo vệ tất cả các bộ phận của cây trồng, tạo ra chất độc cho nấm terpenoid phytoalexins	Bảo vệ lá khi T-39 đã xuất hiện duy nhất ở rễ	Bảo vệ lá khi T-39 đã xuất hiện duy nhất ở rễ	Bảo vệ lá khi T-203 đã xuất hiện duy nhất ở rễ, sự sản xuất các hợp chất kháng nấm trên lá	Bảo vệ lá khi NF-9 đã xuất hiện duy nhất ở rễ
Thời gian sau khi sử dụng	4 ngày	10 ngày	7 ngày	5 ngày	14 ngày
Hiệu quả	Giảm 78% bệnh, có khả năng tạo ra phytoalexins cần thiết cho hoạt động kiểm soát sinh học tối đa	Giảm 42% trong vùng thương tổn và giảm số lượng sự lan tỏa các vùng thương tổn	Giảm 25-100% hội chứng mốc xám	Lên tới 80% sự giảm bệnh trên lá, giảm 100 lần mức độ tế bào vi khuẩn gây bệnh cho lá	Giảm 34-50% bệnh

Chủng	<i>T.harzianum</i> T-22 ; <i>T.atroviride</i> P1	<i>T.harzianum</i> T-22	<i>T.harzianum</i> T-22	<i>Trichoderma</i> GT3-2	<i>T.harzianum</i>
Cây trồng	Đậu	Cà chua	Ngô	Dưa chuột	Hồ tiêu
Tác nhân gây bệnh	<i>Botrytis cinera</i> và <i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>phaseoli</i>	<i>Alternaria solani</i>	<i>Colletotrichum graminicola</i>	<i>C.orbiculare</i> , <i>P.syringae</i> pv.lachrymans	<i>Phytophthora capsici</i>
Tác dụng	Bảo vệ lá khi T-22 hoặc P1 đã xuất hiện duy nhất ở rễ, sự sản xuất các hợp chất kháng nấm trên lá	Bảo vệ lá khi T-22 đã xuất hiện duy nhất ở rễ	Bảo vệ lá khi các chủng <i>Trichoderma</i> đã xuất hiện duy nhất ở rễ	Bảo vệ lá khi các chủng <i>Trichoderma</i> đã xuất hiện duy nhất ở rễ, tạo ra sự hóa gỗ và sự sinh ra superoxid	Bảo vệ thân khi các chủng <i>Trichoderma</i> đã xuất hiện duy nhất ở rễ, tăng cường sự sản xuất phytoalexins capsidiol
Thời gian sau khi sử dụng	7-10 ngày	3 tháng	14 ngày	1 ngày	9 ngày
Hiệu quả	Giảm 69% hội chứng mốc xám ( <i>Botrytis cinerea</i> ) với T22 ; mức độ kiểm soát thấp hơn với P1. Giảm 54% hội chứng bệnh gây ra do vi khuẩn.	Giảm tới 80% hội chứng thối sớm từ sự xâm nhiễm tự nhiên	Giảm 44% kích thước thương tổn trên lá bị thương và không gây bệnh trên lá không bị thương	Bảo vệ 59% khỏi bệnh gây bởi <i>C.orbiculare</i> và 52% khỏi bệnh gây bởi <i>P.syringae</i>	Giảm gần 40% chiều dài thương tổn

## 2.3. Một số nghiên cứu ứng dụng vi nấm *Trichoderma*

### 2.3.1. Trong lĩnh vực bảo vệ thực vật và cải thiện năng suất cây trồng

#### 🚩 Bảo vệ thực vật

Một trong những nghiên cứu ứng dụng của *Trichoderma* spp. được quan tâm nhiều nhất, đó là khả năng kiểm soát sinh học cũng như khả năng đối kháng một số nấm gây bệnh ở thực vật. Các nhà nghiên cứu đã sử dụng nhiều loại *Trichoderma* spp. khác nhau để kiểm soát nhiều loại nấm gây bệnh khác nhau. Kết quả là các loài *Trichoderma* spp. kiểm soát có hiệu quả các nấm gây bệnh sau:

- *Rhizoctonia* spp.: gây mục rễ, thân và hạt,...
- *Sclerotium rolfsii*: xơ cứng ở cà chua và khoai tây.
- *Pythium* spp.: gây úng thối ở đậu, thuốc lá, cây con,...
- *Armillaria mellea*: mục rễ ở cây rừng, cao su, thông.
- *Botrytis cinerea*: mốc xám gây hồng dâu và nho.
- *Penicillium diditatum*: hồng trái ở chanh và chuối
- *Phytophthora* spp.: mục rễ, hồng trái ở ca cao.
- *Chondeostereum purpureum*: bạc lá ở đào và mận [11].

Hiện nay các chủng *Trichoderma* spp. đã được sử dụng rộng rãi trong các chế phẩm sinh học thương mại như: GlioGard – một chế phẩm với thành phần chính là *Trichoderma* spp. kiểm soát có hiệu quả các nấm gây bệnh sau:

- *Rhizoctonia* spp.: gây mục rễ, thân và hạt,...
- *Sclerotium rolfsii*: xơ cứng ở cà chua và khoai tây.
- *Pythium* spp.: gây úng thối ở đậu, thuốc lá, cây con,...
- *Armillaria mellea*: mục rễ ở cây rừng, cao su, thông.
- *Botrytis cinerea*: mốc xám gây hồng dâu và nho.
- *Penicillium diditatum*: hồng trái ở chanh và chuối
- *Phytophthora* spp.: mục rễ, hồng trái ở ca cao.

*Chondeostereum purpureum*: bạc lá ở đào và mận

Ngoài ra, ở New Zealand, người ta còn trộn nhiều chủng *Trichoderma* khác nhau để kiểm soát bệnh trên cây nho và các cây dạng quả hạch [13]. Ở Mỹ, người ta rắc bột bào tử hay phủ gel bào tử lên các hạt giống để tăng tính kháng bệnh của cây trồng hay phun bào tử lên khắp cánh đồng trước khi trồng trọt.

Trong nước, đã có nhiều công trình nghiên cứu sử dụng các chủng nấm *Trichoderma* xử lý đất trước khi gieo trồng bắp hay trộn nấm mốc với phân chuồng hoại mục trước khi bón ruộng 5-10 ngày, rồi rải trên ruộng trước khi gieo hạt có tác dụng hạn chế bệnh khô vằn hại bắp [6].

#### **Cải thiện năng suất cây trồng**

Cũng như thuốc trừ sâu, phân bón hoá học lâu ngày sẽ làm cho đất canh tác bị thoái hóa, chai sạn; các loại giun đất không phát triển được, làm hạn chế độ xốp đồng thời, độ thông khí cần thiết cho rễ cây cũng thiếu hụt. Vì vậy, các nước có nền nông nghiệp phát triển trên thế giới có xu hướng sử dụng các phân bón hữu cơ sinh học thế hệ mới – thực chất là một sự kết hợp giữa phân bón vi sinh và thuốc trừ sâu sinh học, dựa trên cơ sở đấu tranh sinh học. Các loại phân bón hữu cơ vi sinh này có các tác dụng sau:

- Phòng ngừa các nấm gây bệnh thối mốc, bệnh héo rũ, bệnh chết cỏ, bệnh nấm sương mai, bệnh đốm nâu... và hạn chế các tác hại nguy hiểm do các nấm gây mục gỗ nhờ khả năng bất hoạt enzym của các nấm gây bệnh, đồng thời bảo vệ cây trồng khỏi các côn trùng đục phá thân [8].

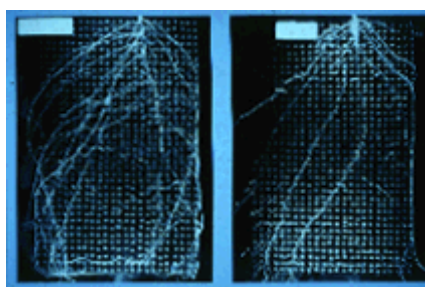
- Tăng cường tốc độ tăng trưởng của cây trồng nhờ khả năng giúp cây trồng tạo ra hệ rễ cứng cáp hơn. Gần đây, khi khảo sát các loài *Trichoderma* spp. ở các lớp đất sâu, người ta còn thấy *Trichoderma* spp. làm tăng số lượng các rễ sâu (các rễ cách mặt đất khoảng 1m). Điều này góp phần giúp cho các cây lương thực như ngô hay các loài dùng để trang trí như cỏ lát có khả năng chống chịu tốt với hạn hán [24]. Một nghiên cứu gần đây còn cho biết nếu ngô có *Trichoderma harzianum* T-22 kí sinh ở rễ thì cần lượng phân đạm ít hơn 40% so với rễ không có T-22.

- Vài loài *Trichoderma* có khả năng kích thích sự nảy mầm và sự ra hoa. Đã có nhiều công trình khoa học chứng minh rằng *Trichoderma harzianum* và *Trichoderma koningii* kích thích sự nảy mầm và tăng trưởng của cây. Đối với các hoa được trồng trong nhà kính, *Trichoderma harzianum* đẩy nhanh sự ra hoa bằng cách rút ngắn ngày ra hoa hay tăng số lượng hoa [23].

- Cải thiện cấu trúc và thành phần của đất, đẩy mạnh sự phát triển của vi sinh vật nốt sần cố định nitơ trong đất, duy trì sự cân bằng của các vi sinh vật hữu ích trong đất; bảo toàn và tăng độ phì nhiêu, dinh dưỡng cho cây trồng.

- Phân giải từ cellulose có trong phân hữu cơ và đất trồng nên tăng cường dinh dưỡng và kích thích sinh trưởng của cây.
- Tăng sức đề kháng của cây trồng, một số chủng *Trichoderma harzianum* còn có thể xâm nhập vào mô bào cây, làm tăng tính chống chịu bệnh của cây trồng.

Như vậy, các chủng nấm *Trichoderma* spp. trong các chế phẩm phân hữu cơ vi sinh không những cung cấp một nguồn phân bón an toàn, hiệu quả mà còn giúp kiểm soát các bệnh gây hại cây trồng và tạo được những ổ sinh thái phòng bệnh lâu dài trong tự nhiên.



**Hình 2.7. Hiệu quả giữa sử dụng và không sử dụng *Trichoderma harzianum* T-22 trên rễ [25]**

Ghi chú: Bên trái: rễ ngô được xử lý T-22

Bên phải: rễ ngô chưa xử lý T-22

### **2.3.2 Trong lĩnh vực xử lý môi trường [13, 20]**

*Trichoderma harzianum* có khả năng phân hủy các chất gây ô nhiễm trong đất rừng. Sự tồn tại của các hợp chất chloroguaiacols, hợp chất AOX (các hợp chất halogen thấm nước) trong chất thải của các nhà máy sản xuất bột giấy ở hồ Bonney, Đông Nam nước Úc và các sản phẩm phân giải của *Trichoderma harzianum* đã được nhà khoa học Van Leeuwen cùng các cộng sự nghiên cứu.

Chất tẩy trắng chlor của các nhà máy sử dụng sulfite hóa bột giấy được tháo ra hồ một cách gián đoạn đã làm xuất hiện các hợp chất chlorophenol trong nước và cặn bần. Hợp chất chlorophenol này rất độc. *Trichoderma harzianum* có khả năng làm giảm bớt sự tập trung của các hợp chất tự do 2,4,6-trichlorophenol; 4,5-dichloroguaiacol và cả AOX trong môi trường có chứa muối khoáng. Loài nấm này cũng có khả năng dehalogen hóa tetrachloroguaiacol tự do trong môi trường khoáng mặn.

*Trichoderma harzianum* đã chứng tỏ khả năng phân giải hiệu quả của chúng trên ciliatin, glycophosphat và amino methylphosphonic acid (3-methoxyphenyl).



*Trichoderma harzianum* 2023 (Khoa sinh lý thực vật Trường Đại học California) có thể phân giải DDT, endosulfan, pentachloronitrobenzen và pentachlorophenol. Nấm này phân giải endosulfan trong nhiều điều kiện dinh dưỡng khác nhau trong suốt quá trình sống của nó.

*Trichoderma harzianum* CCT-4790 phân giải 60% thuốc diệt cỏ Duirion trong đất trong 24 giờ, đây là một tiềm năng tốt để xử lý sinh học các hóa chất ô nhiễm trong đất và trong đầm lầy.

Một công trình nghiên cứu khác sử dụng chủng nấm mốc *Trichoderma reesei* RUT-30 để xử lý chất thải sinh hoạt đô thị, hứa hẹn một nguồn sản xuất enzym cellulase rẻ tiền, đồng thời giảm lượng rác thải. Các enzym cellulase thu được từ đây được đánh giá là tốt hơn và kinh tế hơn so với enzym cellulase được lấy từ các nguồn cơ chất cellulose tinh chế.

### **2.3.3. Trong các lĩnh vực khác**

*Trichoderma* spp. là nguồn sản xuất hiệu quả các hệ enzym cellulase ngoại bào. Các enzym này được sử dụng rất nhiều trong công nghiệp dệt, do chúng có thể làm cho vải bông mềm và trắng hơn [24].

L.Gränge và cộng sự đã biểu hiện gen  $\beta$ -xylanase (XYN2) của *Trichoderma reesei* ở *Saccharomyces cerevisiae* để bổ sung vào thức ăn của gia cầm, tăng khả năng tiêu hóa hemicellulose trong lúa mạch và các cây lương thực khác [14].

Tương tự, có rất nhiều gen được tạo dòng từ *Trichoderma* spp., mở ra một hướng đi mới trong công tác bảo vệ mùa màng, sản xuất các cây lương thực an toàn và gần gũi với thiên nhiên, tạo ra các cây chuyển gen có khả năng chống chịu bệnh tốt [24].

# PHẦN 3. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

## 3.1. Thời gian tiến hành thí nghiệm

Từ ngày 28-02-2005 đến ngày 15-07-2005

## 3.2. Địa điểm thực hiện

Phòng thí nghiệm công ty TNHH Gia Tường, chi nhánh Bình Dương

Địa chỉ: kho C2 – Lô D – Tổng kho Sóng Thần (GRAINCO)

Khu công nghiệp Sóng Thần I – Dĩ An – Bình Dương

ĐT/FAX:0650.732.625

## 3.3. Vật liệu

### 3.3.1. Môi trường phân lập *Trichoderma* (môi trường PDA)

Khoai tây	200g
Glucose	20g
Agar	20g
Ampicilin	100mg
Nước cất	1000ml

### 3.3.2. Môi trường thử tính đối kháng của *Trichoderma* (môi trường nước giá đỗ) [9]

Sucrose	30g
$\text{KH}_2\text{PO}_4$	1g
$\text{MgSO}_4$	0,5g
Pepton	2g
Nước giá đỗ	1000ml

### 3.3.3. Các mẫu đất thu thập thực địa

- Tỉnh Bà Rịa-Vũng Tàu: 3 mẫu  
VT1A, VT1B, VT2
- Tỉnh Đồng Nai: 6 mẫu  
ĐN1, ĐN2, ĐN2B, ĐN3, ĐN4, AH1
- Thành phố Hồ Chí Minh: 3 mẫu  
HCM1, HCM2, HCM3
- Tỉnh Tây Ninh: 6 mẫu  
TN1, TN2A, TN2B, TN3, TN4, TN5

- Tỉnh Bình Phước: 4 mẫu  
BP1, BP2A, BP2B, BP3
- Tỉnh Bình Dương: 4 mẫu  
BD1, BD2, BD3, BD4

### 3.3.4. Các chủng vi sinh vật sử dụng

- Các chủng *Trichoderma* tiến hành thử tính đối kháng nấm gây bệnh thực vật
  - Các chủng Đ1-Đ18 do Thạc sĩ Đinh Minh Hiệp-Sở Khoa Học Công Nghệ thành phố Hồ Chí Minh cung cấp
  - Các chủng Đ19-Đ36 được phân lập từ những mẫu đất thu thập thực địa các tỉnh miền Đông Nam bộ.
- Các chủng nấm gây bệnh cây trồng do Chi Cục Kiểm Dịch Thực Vật vùng 2 cung cấp
  - *Sclerotium rolfsii* (kí sinh trên thân cây thuốc lá)
  - *Phytophthora palmivora* (kí sinh trên cây ca cao)
  - *Rhizoctonia solani* (kí sinh trên cây tiêu)

### 3.4. Dụng cụ - Thiết bị

- Cân điện tử
- Máy lắc 150-250 vòng/phút
- Máy đo pH: máy pH 526 meter
- Máy đo độ ẩm: máy đo độ ẩm IR 200 của hãng Denver
- Autoclave
- Các dụng cụ thủy tinh thông thường dùng trong phòng thí nghiệm (erlen, ống nghiệm, petri, ...)
- Các dụng cụ lấy mẫu (xẻng, túi vải, túi giấy chống ẩm, bao polyetylen, ...)

### 3.5. Phương pháp

#### 3.5.1. Phương pháp khảo sát thực địa [1,2]

##### ▪ Nhiệm vụ

Tiến hành thu thập mẫu đất tại các địa điểm có đặc điểm địa hình, loại cây trồng, cách canh tác khác nhau.

Ở mỗi tỉnh cần thu thập từ 3 đến 6 mẫu.

### ▪ Cách tiến hành

- Tham khảo tài liệu bản đồ phân loại đất, bản đồ hành chính xác định địa điểm thu thập, đáp ứng theo các yêu cầu sau
  - Phải đặc trưng cho loại đất của vùng
  - Phải ở khu vực dễ xác định trên bản đồ hành chính, bản đồ phân loại đất.
  - Phải thuận tiện cho việc tiến hành lấy mẫu về giao thông, về lộ trình chuyên đi.
- Tiến hành thu thập mẫu đất tại các địa điểm đã được xác định.
- Phỏng vấn ngắn các nông hộ tại địa điểm thu thập mẫu đất.
- Ghi chép các thông tin liên quan đến mẫu đất.
  - Thời gian lấy mẫu
  - Địa điểm nơi lấy mẫu
  - Lớp thực bì
  - Tình hình canh tác
  - Nguồn nước tưới
  - Độ pH
  - Độ ẩm
  - Sơ đồ nơi lấy mẫu.

#### 3.5.2. Phương pháp thu thập mẫu đất [1,2,4]

Chọn một ô vuông diện tích  $1m^2$ , xác định 4 điểm ở các góc vuông của ô và tâm của ô vuông.

Dùng dao hay xẻng đã rửa sạch và lau còn để lấy mẫu đất. Đầu tiên loại bỏ lớp đất dày 2-3 cm trên cùng vì lớp đất này có thể đã bị xâm nhiễm bởi các vi sinh vật bên ngoài. Sau đó lấy những tầng nguyên vẹn theo độ sâu của lớp đất nghiên cứu. Chiều dài của tầng này bằng chiều dày lớp đất nghiên cứu. Mỗi mẫu lấy khoảng 0,3-0,5kg. Các mẫu này được trộn đều trong một túi đã khử trùng, sau đó lấy ra khoảng 1 kg cho vào túi giấy chống ẩm đã khử trùng rồi đặt vào trong 1 túi vải. Buộc túi lại rồi cho vào một bao polyetylen. Trên bao này gài nhãn có ghi rõ vùng nghiên cứu, đặc điểm của chỗ lấy mẫu (đặc điểm địa hình, thực vật, tình hình kỹ thuật canh tác) và các đặc tính của đất. Giữ mẫu trong tủ lạnh cho đến khi phân tích và xác định.

### **3.5.3. Phương pháp tiến hành đo giá trị pH của mẫu đất**

Lấy 50g đất và 50ml nước cất 2 lần cho vào một becher dung tích 500ml. Dem hỗn hợp này lắc trong 1 giờ. Sau đó để lắng, hút dịch nổi phía trên đem đo giá trị pH.

### **3.5.4. Phương pháp tiến hành đo độ ẩm của mẫu đất**

Tiến hành xác định độ ẩm của mẫu đất bằng máy IR 200 theo qui trình sau:

Lau sạch đĩa cân, đóng nắp lại, điều chỉnh độ ẩm bằng 0. Sau đó lấy 1g mẫu cho vào đĩa cân. Đóng nắp lại, chờ đọc kết quả.

### **3.5.5. Phương pháp phân tích thành phần khoáng trong đất**

Thành phần các nguyên tố khoáng hiện diện trong mẫu đất được phân tích theo phương pháp quang phổ phát xạ tại Trung Tâm Phân tích thí nghiệm thuộc Liên đoàn Bản đồ Địa chất Miền Nam.

### **3.5.6. Phương pháp chuẩn bị mẫu để phân tích vi sinh vật [4]**

Lấy đất đã trộn đều đem trải lên một miếng thủy tinh khô đã lau cồn và hơ trên ngọn lửa. Trộn đất thật kỹ bằng bay rồi trải đều ra. Dùng kẹp sắt gấp bỏ các rễ cây và các vật lạ khác. Trước khi dùng bay và kẹp sắt, phải hơ chúng trên ngọn lửa và làm nguội trong không khí. Dùng bay lấy một ít đất từ các điểm khác nhau trên tấm kính cho vào một chén sứ đã khử trùng và biết trọng lượng để cân trên cân kỹ thuật 1g mẫu trung bình của đất.

Để tách các vi sinh vật ra khỏi các hạt đất, cần phải xử lý mẫu theo một cách riêng: Chuẩn bị trước 2 erlen vô trùng dung tích 250ml. trong một bình có sẵn 100ml nước cất, bình kia để không. Lấy từ bình thứ nhất 0,4-0,8ml nước cho vào một chén sứ có đựng đất đã cân để làm cho đất có được trạng thái bột nhão. Nghiền nát trong 5 phút bằng một chày cao su vô trùng hoặc bàn tay có mang găng cao su vô trùng. Lấy nước vô trùng ở bình thứ nhất chuyển hỗn hợp đất đã nghiền nát vào bình không, phải sử dụng hết số lượng nước này. Phải nghiền đất và trút nước đất vào bình ngay gần ngọn lửa. Đặt bình có dịch huyền phù đất lên máy lắc và lắc trong 5 phút. Sau đó lấy ra để yên trong 30 giây để làm lắng các hạt lớn và ngay sau đó được dùng để chuẩn bị tiêu bản hoặc để pha loãng tiếp, khi đó ta coi dịch huyền phù đất nhận được đầu tiên này có độ pha loãng 100 lần ( $1:10^2$ ). Khi muốn phát hiện các vi sinh vật có số lượng không lớn trong cơ chất, cần chuẩn bị dịch huyền phù gốc trong 10ml nước ( $1:10$ ).

### 3.5.7. Phương pháp phân lập và phân lập thuần khiết vi nấm *Trichoderma* [5,7]

- **Nguyên tắc**

- Tách rời các tế bào vi nấm.
- Nuôi cấy trên môi trường PDA các khuẩn lạc riêng rẽ, cách biệt nhau.

- **Cách tiến hành gồm 3 bước cơ bản sau**

- Phân lập vi nấm *Trichoderma* thuần khiết trên môi trường PDA  
Hút 0,1ml dịch mẫu đã pha loãng cho vào đĩa petri có môi trường PDA.  
Dùng que gạt thủy tinh phân phối dịch mẫu trải đều khắp mặt thạch.  
Tiếp tục sử dụng que gạt này gạt mẫu cho đều khắp mặt thạch đĩa petri còn lại.  
Đặt các đĩa petri trên ở nhiệt độ phòng, sau 2-3 ngày nhận được các khuẩn lạc riêng rẽ đặc trưng của *Trichoderma*.
- Tạo ra các khuẩn lạc riêng rẽ từ quần thể vi nấm ban đầu trên môi trường PDA  
Tiến hành pha loãng mẫu đất cần phân lập (như nêu ở mục 3.5.6) để làm cho số lượng vi sinh vật ít đi. Cấy chúng trên môi trường PDA, có bổ sung chất kháng sinh để ức chế vi khuẩn.
- Kiểm tra độ tinh khiết các giống mới phân lập  
Sử dụng phương pháp kiểm tra bằng mắt nhằm quan sát sự sinh trưởng dọc theo vết cấy trên môi trường PDA. Kiểm tra độ thuần khiết của khuẩn lạc riêng rẽ.

### 3.5.8. Phương pháp xác định số lượng nấm mốc bằng cách đếm số khuẩn lạc nấm mốc mọc trên môi trường PDA [5,7]

- **Nguyên tắc**

Cấy 1 thể tích xác định huyền phù cần nghiên cứu lên môi trường đặc trưng trong đĩa petri và sau đó đếm số khuẩn lạc mọc lên sau khi ủ. Khi đó ta coi mỗi khuẩn lạc là kết quả của sự phát triển từ 1 tế bào.

- **Cách tiến hành**

Trước tiên phải ghi độ pha loãng và ngày cấy trên nắp đĩa petri.

Sử dụng dịch huyền phù (nồng độ  $10^{-2}$ ) đã chuẩn bị từ trước (ở mục 3.5.6). Pha loãng ở 2 nồng độ kế tiếp ( $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ ). Ở mỗi nồng độ, hút 0,5 ml dịch cho vào giữa mặt thạch trong đĩa petri dàn đều trên mặt thạch bằng que gạt thủy tinh vô trùng. Mỗi độ pha loãng cấy 3 petri lặp lại.

Nồng độ pha loãng là tốt nhất khi ở nồng độ này có từ 30 đến 300 khuẩn lạc.

Số lượng tế bào trong 1 g mẫu được tính bằng công thức:

$$\text{Số tế bào/g} = M \times 2 \times 10^n \times N$$

M: số khuẩn lạc trung bình trong 1 petri.

$10^n$ : độ pha loãng

N: hệ số để tính theo trọng lượng khô của mẫu.

### **3.5.9. Phương pháp thử tính đối kháng của *Trichoderma* đối với các chủng nấm gây bệnh cây trồng**

- **Nguyên tắc**

Trong quần thể vi sinh vật, các loài vi sinh vật tác động qua lại, loài này có khả năng kiểm soát và điều hòa số lượng của loài khác qua cơ chế đối kháng hay cạnh tranh.

- **Cách tiến hành**

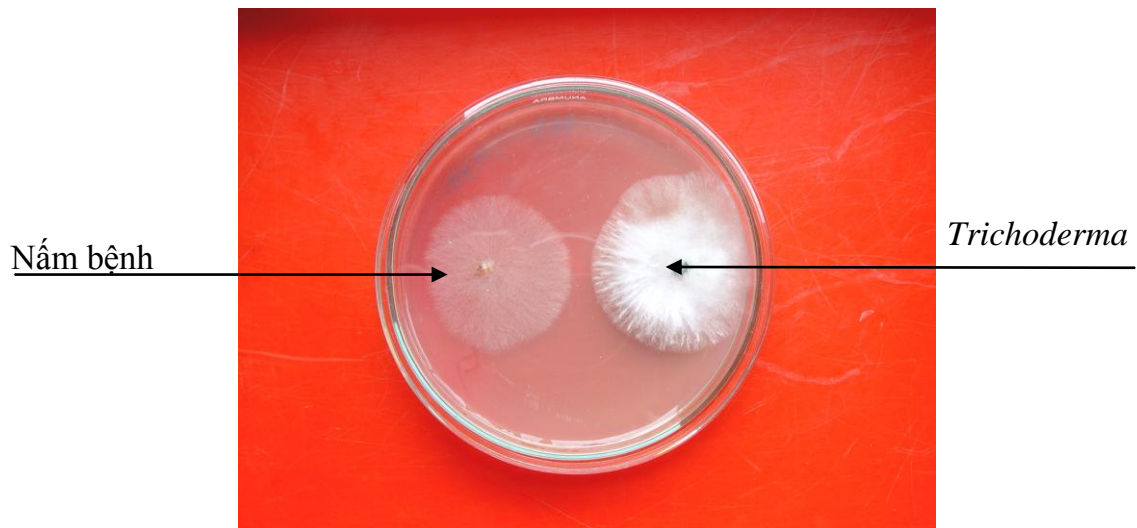
Rót môi trường nước giá đổ vào đĩa petri, để nguội và kiểm tra nhiễm tạp sau 24 giờ.

Kẻ 1 đường ở giữa petri (phần đáy).

Cấy nấm *Trichoderma* và 1 trong 3 chủng nấm bệnh (mục 3.3.4) trên 2 điểm đối xứng nhau trên đường vừa kẻ (hình 3.1).

Mỗi nghiệm thức nhắc lại 3 lần, mỗi lần nhắc lại 3 đĩa petri.

Ủ ở nhiệt độ phòng. Theo dõi tốc độ sinh trưởng và phát triển của *Trichoderma* và chủng nấm gây bệnh thực vật.



**Hình 3.1. Cách cấy điểm thử đối kháng *Trichoderma* với nấm gây bệnh thực vật**

- **Chỉ tiêu theo dõi**

Chỉ tiêu 1: theo dõi các mẫu thử đối kháng cho đến khi có ít nhất một chủng *Trichoderma* ức chế hoàn toàn nấm gây bệnh thực vật. Lúc này, so sánh khả năng đối kháng giữa các chủng *Trichoderma* đối với nấm gây bệnh.

Chỉ tiêu 2: theo dõi các mẫu thử đối kháng cho đến khi các chủng *Trichoderma* thể hiện khả năng đối kháng tối đa trong thời gian tối đa 14 ngày.

- **Quy ước về khả năng đối kháng của *Trichoderma* đối với các chủng nấm bệnh [5]**

Sau khi tiến hành thử đối kháng, theo dõi các đĩa đã cấy cho đến khi hai khuẩn lạc của *Trichoderma* và nấm bệnh tiếp xúc nhau.

Ghi nhận kết quả đối kháng theo quy ước sau:

1+: Bào tử *Trichoderma* mọc lấn sang khuẩn lạc của nấm bệnh. Hệ sợi của nấm bệnh đồng thời bị ức chế và tàn lụi dần. Hiệu quả ức chế từ 40-60% [6].

2+: Tương tự (1+), hiệu quả ức chế 60-80%.

3+: Tương tự (1+), hiệu quả ức chế 80-90%

4+: Tương tự (1+), hiệu quả ức chế >90%

-: ngoài các trường hợp trên

Công thức tính hiệu quả ức chế:  $H = (d_B - d) / d_B * 100 (\%)$

H: Hiệu quả ức chế

d: đường kính sau khi đối kháng của khuẩn lạc nấm bệnh

$d_B$ : đường kính khuẩn lạc nấm bệnh ban đầu





**Hình 3.2. Kết quả đối kháng tương ứng với hiệu quả “-”**



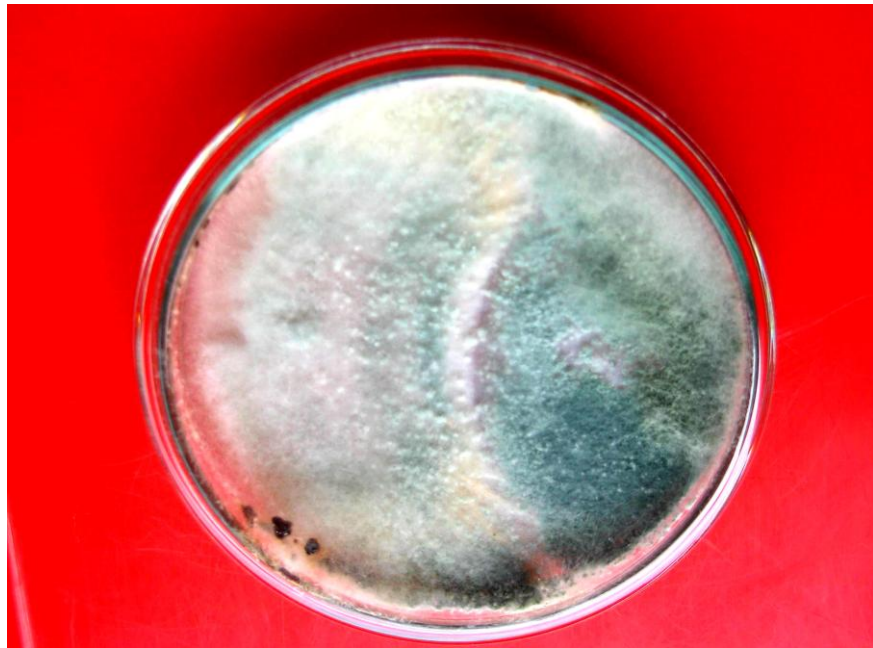
**Hình 3.3. Kết quả đối kháng tương ứng với hiệu quả “1+”**



**Hình 3.4. Kết quả đối kháng tương ứng với hiệu quả “2+”**



**Hình 3.5. Kết quả đối kháng tương ứng với hiệu quả “3+”**



**Hình 3.6. Kết quả đối kháng tương ứng với hiệu quả “4+”**

#### **3.5.10. Phương pháp xử lý số liệu**

Xử lý số liệu thống kê dựa trên phần mềm Statgraphic 7.0 để phân tích các số liệu liên quan thành phần khoáng, độ ẩm, pH của đất. Sử dụng trắc nghiệm  $\chi^2$  để phân tích mối liên hệ giữa sự hiện diện của *Trichoderma* và các yếu tố của đất.

## PHẦN 4. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

### 4.1. Kết quả thu thập mẫu đất và phân lập các chủng *Trichoderma* trong đất khu vực Đông Nam bộ

Sau khi xác định những vùng cần lấy mẫu, tiến hành thu thập mẫu đất và phân lập *Trichoderma*. Kết quả thu được tóm tắt ở bảng 4.1.

**Bảng 4.1. Sự hiện diện của *Trichoderma* trên các mẫu đất khu vực Đông Nam bộ**

Tỉnh	Đồng Nai	Bình Dương	Bình Phước	Bà Rịa-Vũng Tàu	Tây Ninh	Thành phố Hồ Chí Minh
Số mẫu	6	4	4	3	6	3
Loại đất	Đất phù sa, đất đỏ bazan	Đất đỏ bazan, đất xám, đất phù sa	Đất đỏ bazan, đất xám	Đất cát, đất đỏ bazan, đất xám	Đất phèn, đất đỏ bazan	Đất xám, đất mặn
Tổng số mẫu đất có <i>Trichoderma</i>	5	2	1	2	3	3
Tổng số mẫu đất phân lập	6	4	4	3	6	3
Tỷ lệ	83,3%	50%	25%	66,7%	50%	100%

Sau khi tiến hành phân lập và phân lập thuần khiết các chủng *Trichoderma* trên các mẫu đất, các chủng *Trichoderma* đã được kiểm tra và độ tinh khiết và kết quả được trình bày ở bảng 4.2.

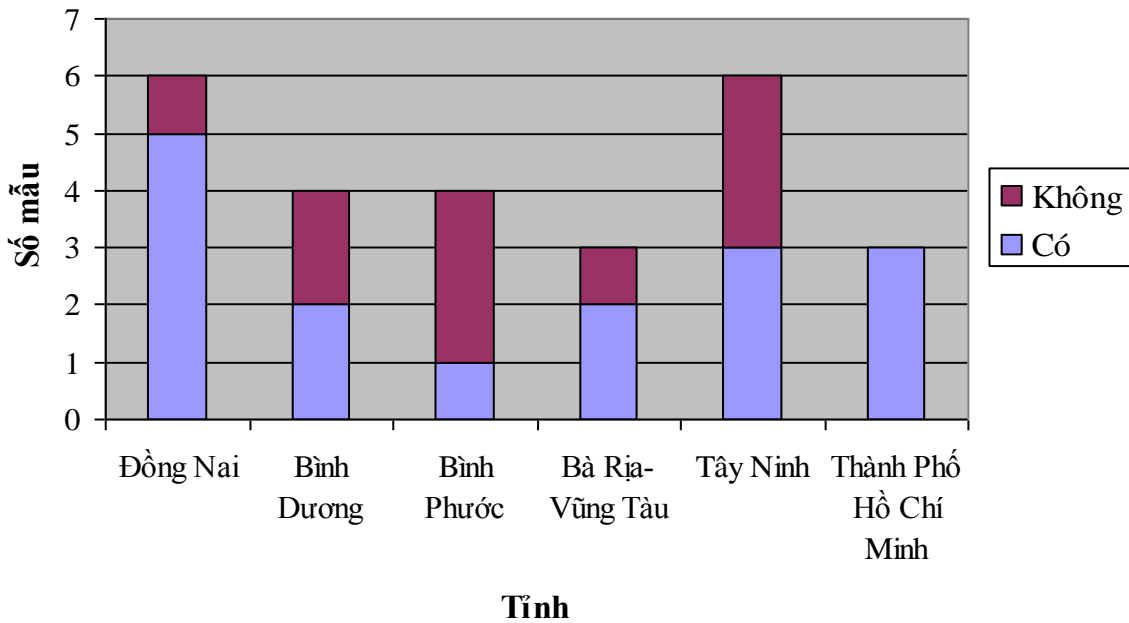
**Bảng 4.2. Kết quả phân lập và phân lập thuần khiết các chủng *Trichoderma* từ các mẫu đất thu được**

Tên chủng	Đ19	Đ20	Đ21	Đ22	Đ23	Đ24	Đ25	Đ26	Đ27
Tên mẫu đất	ĐN3	AH1	HCM1	BD4	HCM3	TN1	HCM3	ĐN1	TN4
Tên chủng	Đ28	Đ29	Đ30	Đ31	Đ32	Đ33	Đ34	Đ35	Đ36
Tên mẫu đất	ĐN2	VT1A	HCM2	BP2A	TN3	ĐN3	ĐN4	VT2	BD1

▪ **Nhận xét**

Qua bảng 4.1 và 4.2, chúng tôi nhận thấy có 18 chủng *Trichoderma* được phân lập trên 26 mẫu đất, cụ thể trong số đó có 16 mẫu đất có sự hiện diện *Trichoderma* với tỉ lệ 61,5% tổng số mẫu đất phân lập.

Mặc dù đã thu thập các mẫu đất ở các điều kiện khác nhau, tuy nhiên số mẫu đất có sự hiện diện *Trichoderma* chiếm gần 2/3 nên có thể nhận định rằng *Trichoderma* là giống vi nấm phân bố rộng rãi trong tự nhiên, thích hợp với nhiều điều kiện. Bên cạnh đó, kết quả phân lập cho thấy có trường hợp phân lập 2 chủng *Trichoderma* hiện diện trong cùng 1 mẫu đất. Điều này chứng tỏ các chủng *Trichoderma* có thể cùng tồn tại trong một khu vực địa lí. Kết quả này phù hợp với nhận định của Turner và cộng sự (mục 2.1.3).



**Biểu đồ 4.1. Sự hiện diện *Trichoderma* trong các mẫu đất khu vực Đông Nam bộ**

Ghi chú: Không: mẫu đất không có sự hiện diện của *Trichoderma*

Có: mẫu đất có sự hiện diện của *Trichoderma*

▪ **Nhận xét**

Kết quả ở biểu đồ 4.1 cho thấy số lượng mẫu đất phân lập được *Trichoderma* ở mỗi tỉnh khu vực Đông Nam bộ đều chiếm tỷ lệ trên 50% trong tổng số mẫu thu thập. Tuy nhiên ở tỉnh Bình Phước, trong 4 mẫu đất thu thập trong quá trình thực địa, chỉ có 1 mẫu có hiện diện *Trichoderma* chiếm 25%, mặt khác số lượng *Trichoderma* trong mẫu này cũng rất ít (<1%). Nhìn chung, *Trichoderma* có sự phân bố khá rộng rãi ở khu vực Đông Nam bộ. Điều này nói lên sự đa dạng của quần thể *Trichoderma* trên các mẫu đất khu vực Đông Nam Bộ, đây có thể là nguồn cung cấp các chủng *Trichoderma* có giá trị về mặt đấu tranh sinh học cũng như nghiên cứu về sinh thái đất.

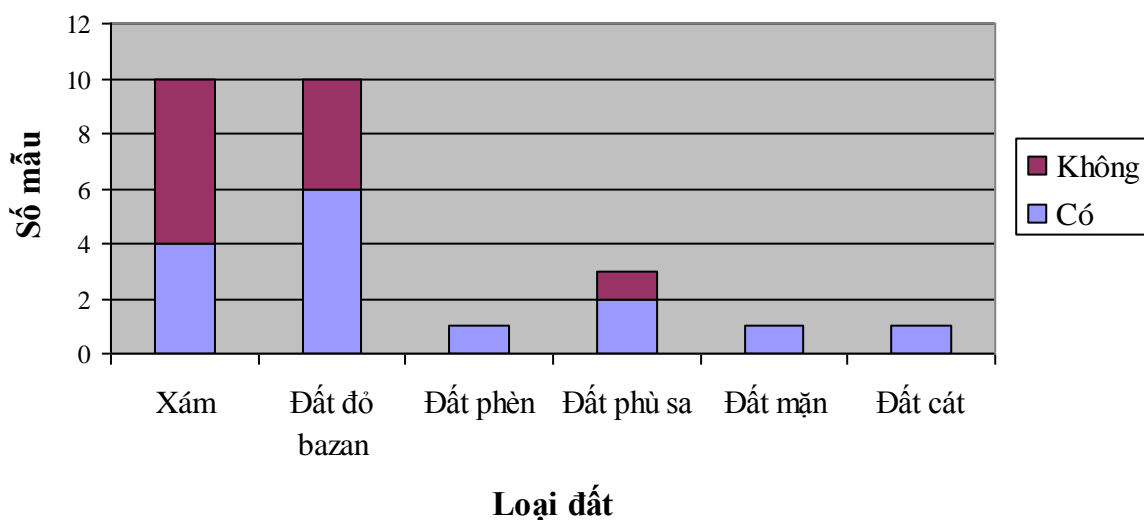
#### 4.2. Môi liên hệ giữa sự hiện diện của *Trichoderma* và thành phần cơ giới của đất

Dựa theo bản đồ phân loại đất theo thành phần cơ giới, các mẫu đất được phân loại thành các nhóm được trình bày ở bảng 4.3

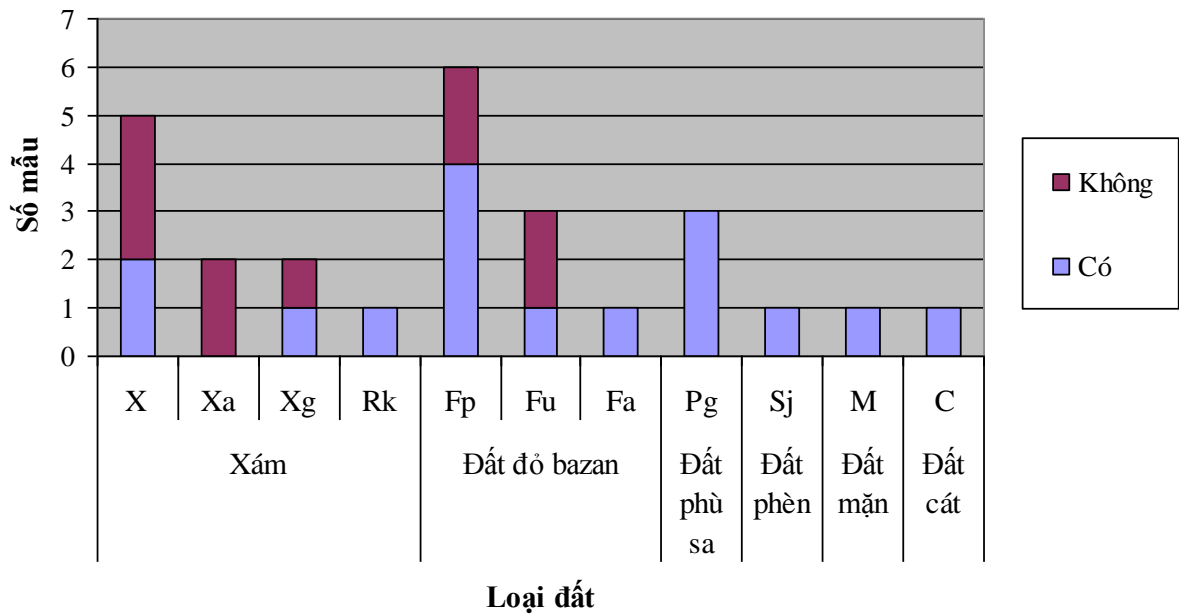
**Bảng 4.3. Kết quả thu thập mẫu đất được phân tích theo thành phần cơ giới của đất**

Nhóm đất	Xám				Đất đỏ bazan			Đất phù sa	Đất phèn	Đất mặn	Đất Cát
	X	Xa	Xg	Rk	Fp	Fu	Fa				
Mẫu đất có <i>Trichoderma</i>	HCM1 HCM2	-	TN3	VT1A	BP2A ĐN2 ĐN3 ĐN4	TN4	BD1	AH1 BD4 ĐN1	TN1	HCM3	VT2
Mẫu đất không có <i>Trichoderma</i>	BD3 BP3 TN5	TN2A TN2B	BD2	-	BP2B ĐN2B	BP1 VT1B	-	-	-	-	-

Ghi chú: (-) không có sự hiện diện của *Trichoderma*



**Biểu đồ 4.2. Sự hiện diện của *Trichoderma* trong các nhóm đất có thành phần cơ giới khác nhau**



**Biểu đồ 4.3. Sự hiện diện của *Trichoderma* trong các loại đất có thành phần cơ giới khác nhau**

▪ **Nhận xét**

Theo biểu đồ 4.2 và 4.3, chúng tôi nhận thấy *Trichoderma* có thể sinh trưởng và phát triển trên nhiều nhóm đất khác nhau, chứng tỏ sự hiện diện của *Trichoderma* không phụ thuộc vào thành phần cơ giới của đất. Chúng có khả năng thích nghi với nhiều loại môi trường đất khác nhau. Điều này một lần nữa chứng minh sự đa dạng và sự thích nghi của các chủng *Trichoderma* trong đất ở khu vực Đông Nam bộ.

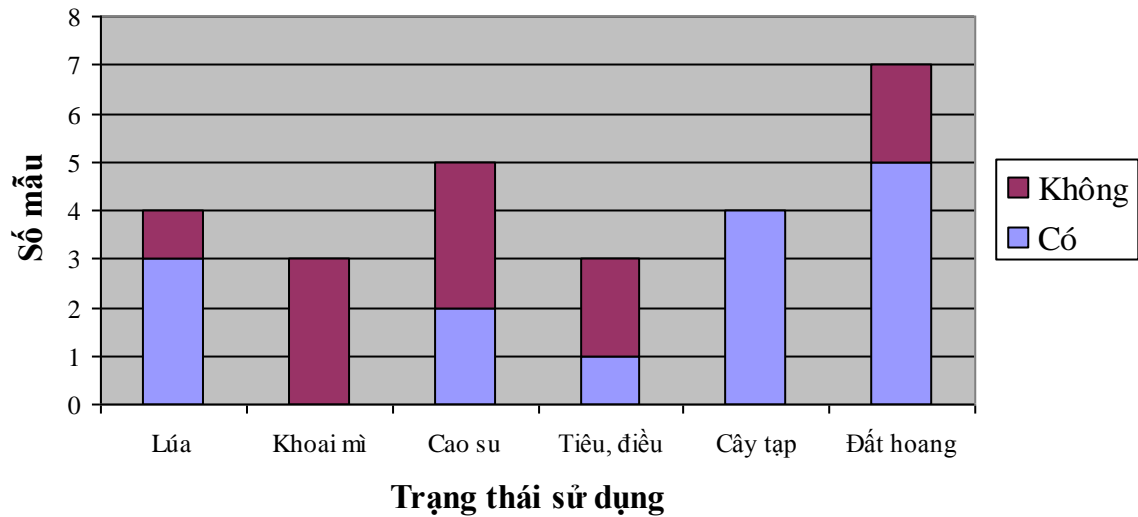
**4.3. Mối liên hệ giữa sự hiện diện của *Trichoderma* và trạng thái sử dụng đất**

Ngoài thành phần cơ giới đất, trạng thái sử dụng của đất cũng có thể ảnh hưởng đến sự hiện diện của *Trichoderma*. Các mẫu đất thu thập tại khu vực Đông Nam bộ được chia làm các nhóm như sau:

- Nhóm đất trồng lúa: 4 mẫu (TN1, ĐN1, HCM1, AH1), trong đó có 3 mẫu (TN1, HCM1 và AH1) có hiện diện *Trichoderma*.
- Nhóm đất trồng khoai mì: 3 mẫu (TN2A, TN2B, TN5), không có mẫu đất nào có sự hiện diện của *Trichoderma*.
- Nhóm đất trồng cây cao su: 5 mẫu (TN4, ĐN3, BP1, BD2, VT1B), trong đó có 2 mẫu (TN4, ĐN3) có hiện diện *Trichoderma*.
- Nhóm đất trồng tiêu, điều: 3 mẫu (BP2A, BP3, BD3), trong đó mẫu BP2A có hiện diện *Trichoderma*.



- Nhóm đất vườn cây tạp: 4 mẫu (ĐN2, ĐN4, VT1A, HCM2), tất cả các mẫu đều có *Trichoderma*.
- Nhóm đất hoang: 7 mẫu (TN3, ĐN2B, BP2B, BD1, BD4, VT2, HCM3), trong đó 5 mẫu (TN3, BD1, BD4, VT2, HCM3) có sự hiện diện của *Trichoderma*.



**Biểu đồ 4.4. Sự hiện diện của *Trichoderma* trong các mẫu đất canh tác các loại cây trồng khác nhau**

▪ **Nhận xét**

Qua biểu đồ 4.4 cho thấy hầu hết các nhóm đất đều có sự hiện diện của *Trichoderma*, riêng nhóm đất trồng khoai mì chưa xác định được sự hiện diện của chúng. Dữ liệu này bước đầu cho thấy sự phong phú *Trichoderma* trên các loại đất có các loại cây trồng khác nhau và cách canh tác khác nhau. Tuy nhiên, chúng tôi chưa xác định được mối liên hệ giữa sự hiện diện *Trichoderma* và phương thức sử dụng đất hoặc tương ứng với loại cây trồng cụ thể.

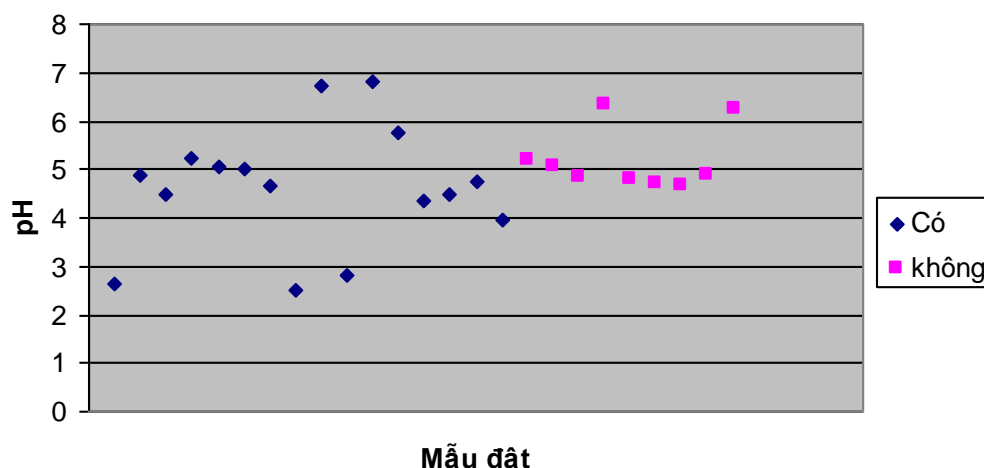
#### 4.4. Kết quả phân tích pH, độ ẩm của đất

Sau khi thu thập mẫu, chúng tôi tiến hành phân tích pH và độ ẩm của đất, kết quả được trình bày ở bảng 4.4

**Bảng 4.4. Kết quả phân tích pH và độ ẩm các mẫu đất**

Kí hiệu mẫu	pH	Độ ẩm
AH1	2,83	10,30
BD1	4,67	5,80
BD2	4,68	3,69
BD3	4,87	1,03
BD4	2,51	26,02
BP1	5,07	10,64
BP2A	5,21	3,79
BP2B	4,84	1,23
BP3	4,8	0,73
HCM1	4,35	21,71
HCM2	4,50	11,85
HCM3	4,76	53,68
ĐN1	2,62	53,16
ĐN2	4,87	0,75
ĐN2B	5,18	0,41
ĐN3	4,48	6,98
ĐN4	6,72	3,60
TN1	3,95	43,38
TN2A	6,33	1,13
TN2B	4,79	2,52
TN3	5,06	5,96
TN4	5,00	8,50
TN5	4,71	1,31
VT1A	6,83	7,20
VT1B	6,26	14,18
VT2	5,75	0,47

- **Mối liên hệ giữa sự hiện diện *Trichoderma* và độ pH**



**Biểu đồ 4.5. Mối liên hệ giữa sự hiện diện của *Trichoderma* và pH đất**

**Bảng 4.5. Mối liên hệ giữa mật độ *Trichoderma* trong đất và giá trị pH đất**

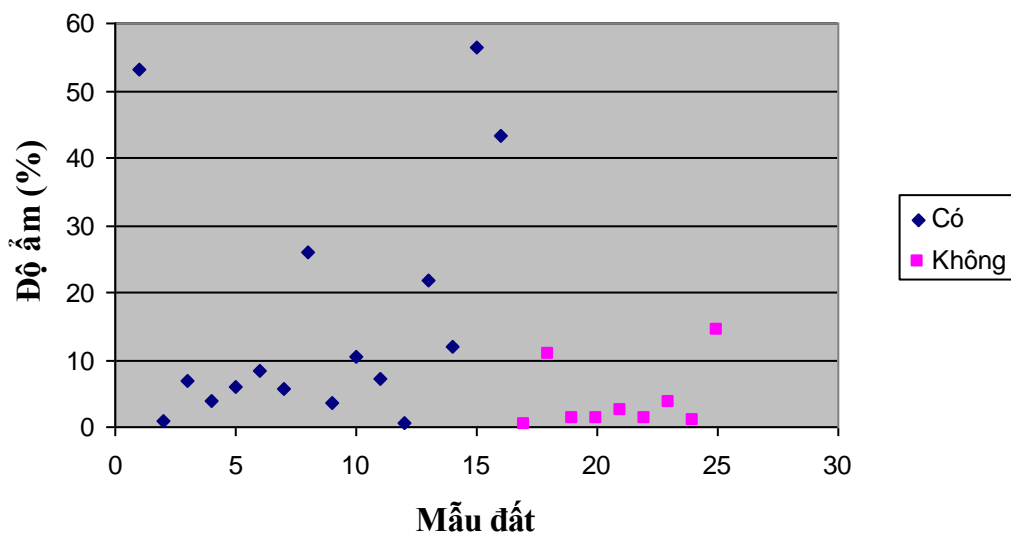
Mật độ vi nấm <i>Trichoderma</i> trong đất (so với tổng số vi nấm)	Số mẫu	Giá trị pH trung bình
<1%	15	5,26
1-5%	5	4,76
5-10%	6	3,80

▪ **Nhận xét**

Qua biểu đồ 4.5 và bảng 4.5, chúng tôi nhận thấy tất cả các mẫu đất đều có giá trị pH < 7, các mẫu đất hiện diện *Trichoderma* đều có giá trị pH dao động từ 2,51 đến 6,83. Điều này phù hợp với nhận định của Papavizas: *Trichoderma* phát triển tốt ở bất cứ pH nào nhỏ hơn 7 và có thể phát triển tốt ở đất kiềm nếu như ở đó có sự tập trung một lượng CO<sub>2</sub> và bicarbonat [19].

Tuy lượng mẫu phân tích chưa đủ nhưng đánh giá sơ bộ cho thấy không có sự khác biệt rõ rệt về giá trị pH đất giữa những mẫu đất có và không hiện diện *Trichoderma*. Điều này phần nào khẳng định giá trị pH đất không phải là yếu tố quyết định sự hiện diện của *Trichoderma*. Tuy nhiên qua bảng 4.5 chúng tôi ghi nhận có một sự liên hệ giữa mật độ *Trichoderma* và giá trị pH đất. Tương ứng với nhóm đất có giá trị pH trung bình 3,8, mật độ vi nấm *Trichoderma* trong đất đạt giá trị 5-10% so với tổng số vi nấm. Đây là điểm cần lưu ý trong quá trình canh tác, cải tạo đất nhằm tạo điều kiện thuận lợi cho sự sinh trưởng và phát triển của *Trichoderma* trong đất.

- **Mối liên hệ giữa sự hiện diện của *Trichoderma* và độ ẩm**



**Biểu đồ 4.6. Mối liên hệ giữa sự hiện diện *Trichoderma* và độ ẩm của đất**

**Bảng 4.6. Mối liên hệ giữa mật độ *Trichoderma* và độ ẩm của đất**

Mật độ <i>Trichoderma</i> trong đất	Số lượng mẫu	Độ ẩm trung bình của đất (%)
<1%	15	3,8
1-5%	5	16
5-10%	6	36

#### ▪ Nhận xét

Biểu đồ 4.6 cho thấy *Trichoderma* có thể tồn tại trong nhiều môi trường đất có độ ẩm khác nhau dao động trong khoảng từ 0,47% cho đến 56,38%. Điều này chứng tỏ *Trichoderma* có một giới hạn chịu đựng về độ ẩm rất rộng. Hầu hết những mẫu phân tích không có sự hiện diện *Trichoderma* đều có độ ẩm khá thấp dưới 3,7% và đa số những mẫu có *Trichoderma* lại có độ ẩm cao hơn 3,7%. Tuy không thể áp dụng trắc nghiệm  $\chi^2$  để phân tích mối liên hệ giữa sự hiện diện của *Trichoderma* và độ ẩm của đất do lượng mẫu phân tích chưa đủ, nhưng dựa vào biểu đồ 4.6 chúng tôi nhận thấy trong 8 mẫu đất không hiện diện *Trichoderma* có 6 mẫu (chiếm 75%) có độ ẩm dưới 3,7%. Bên cạnh đó, trong tổng số 18 mẫu có hiện diện *Trichoderma* chỉ có 3 mẫu (chiếm 16,7%) có độ ẩm dưới 3,7%. Như vậy về mặt thống kê học ghi nhận rằng sự hiện diện của *Trichoderma* có thể có mối liên hệ độ ẩm của đất. Tuy nhiên cần thu thập và phân tích số lượng mẫu nhiều hơn nữa để có thể nhận định chính xác.

Ở bảng 4.6 chúng tôi nhận thấy có sự liên hệ về mật độ của *Trichoderma* và độ ẩm của đất, độ ẩm trong đất càng cao thì mật độ *Trichoderma* càng lớn. Điều này chứng tỏ độ ẩm của đất là yếu tố quan trọng tác động trực tiếp đến quần thể *Trichoderma* trong đất.

#### 4.5. Kết quả phân tích một số thành phần khoáng trong đất

Khoáng là một thành phần cần thiết cho các hoạt động sống của vi sinh vật. Vì vậy dựa vào kết quả phân tích khoáng trong đất, chúng tôi chọn những nguyên tố khoáng có giá trị biến động nhiều trong tổng số 45 nguyên tố khoáng nhằm phân tích sự ảnh hưởng của chúng đến sự hiện diện của *Trichoderma*.

**Bảng 4.7. Kết quả phân tích một số yếu tố khoáng trong các mẫu đất**

Nguyên tố Mẫu đất	Mg	Ca	Fe	Ti	Nguyên tố Mẫu đất	Mg	Ca	Fe	Ti
AH1	2	0,2	10	0,02	M1	0,7	0,15	5	1
BD1	0,5	0,05	3	0,5	M2	1	1,5	5	0,5
BD2	0,3	0,005	10	0,5	M3	1,5	0,15	7	1
BD3	0,1	0,05	2	0,5	M5-1	0,5	0	10	3
BD4	0,7	0,1	7	0,5	M5-2	0,3	0,1	7	0,5
BP1	0,5	0,05	10	1,5	M5-3	0,7	0,1	10	3
BP2A	0,7	0,05	10	1	M6	0,5	0,3	5	0,7
BP2B	0,15	0,1	3	0,5	M7	1	0,15	5	0,7
BP3	0,2	0,05	7	0,5	TN1	1	0,1	5	0,01
ĐN3	0,5	0,1	5	0,7	TN2A	1	1,5	5	0,7
ĐN4	2	1	7	0,03	TN2B	1	1,5	3	0,7
ĐN1	1	0,15	5	0,5	TN3	0,1	0,1	2	0,7
ĐN2	0,05	0,05	2	0,5	TN4	0,5	0,1	10	1
ĐN2B	0,2	0,1	10	0,5	TN5	0,1	0,1	0,7	0,5
HCM1	0,1	0,1	0,7	0,001	VT1A	2	0,7	10	0,07
HCM2	0,5	0,1	3	0,002	VT1B	3	3	10	0,07
HCM3	2	0,15	7	0,03	VT2	0,07	0,1	0,7	0,007

Ghi chú: các mẫu M1, M2, M3, M5-1, M5-2, M5-3, M6, M7 do Thạc sĩ Đinh Minh

Hiệp cung cấp

- **Mối liên hệ giữa sự hiện diện của *Trichoderma* và các nguyên tố khoáng**
- **Ảnh hưởng của hàm lượng Mg trong đất đến sự hiện diện của *Trichoderma***

**Bảng 4.8. Ảnh hưởng của hàm lượng Mg trong đất đến sự hiện diện của *Trichoderma***

Hàm lượng Mg (%) Sự hiện diện của <i>Trichoderma</i>	$\leq 0,5$	$> 0,5$	Tổng
Có <i>Trichoderma</i>	10	11	21
Không có <i>Trichoderma</i>	8	5	13
Tổng	18	16	34
P=0,89			

**Bảng 4.9. Ảnh hưởng của hàm lượng Mg trong đất đến mật độ *Trichoderma***

Mật độ <i>Trichoderma</i>	Số mẫu	Hàm lượng Mg (%)
<1%	15	0,66
1-5%	5	0,81
5-10%	6	1,05

▪ **Nhận xét**

Ở bảng 4.8 về phương diện thống kê học do  $P > 0,5$  nên có thể kết luận không có sự phụ thuộc nhau giữa hai yếu tố hàm lượng Mg và sự hiện diện của *Trichoderma*.

Ở bảng 4.9 chúng tôi nhận thấy có sự liên hệ giữa hàm lượng Mg và mật độ *Trichoderma*. Ở khoảng giá trị hàm lượng Mg 1,05% tương ứng với giá trị mật độ *Trichoderma* 5-10%. Hàm lượng Mg trong đất là yếu tố quan trọng tác động trực tiếp đến sự phát triển của quần thể *Trichoderma* trong đất. Do đó trong quá trình canh tác đất trồng, cần chú ý hàm lượng Mg trong đất để gia tăng mật độ *Trichoderma* dùng trong đấu tranh sinh học.

➤ Ảnh hưởng của hàm lượng Ca trong đất đến sự hiện diện của *Trichoderma*

**Bảng 4.10. Ảnh hưởng của hàm lượng Ca trong đất đến sự hiện diện của *Trichoderma***

Hàm lượng Ca (%) Sự hiện diện của <i>Trichoderma</i>	$\leq 0,1$	$> 0,1$	Tổng
Có <i>Trichoderma</i>	13	8	21
Không có <i>Trichoderma</i>	8	5	13
Tổng	21	13	34
P=1			

**Bảng 4.11. Ảnh hưởng của hàm lượng Ca trong đất đến mật độ *Trichoderma***

Mật độ <i>Trichoderma</i>	Số mẫu	Hàm lượng Ca (%)
<1%	15	0,517
1-5%	5	0,535
5-10%	6	0,125

▪ **Nhận xét**

Ở bảng 4.10 về phương diện thống kê học do  $P > 0,5$  nên có thể kết luận không có sự phụ thuộc nhau giữa hai yếu tố hàm lượng Ca và sự hiện diện của *Trichoderma*.

Ở bảng 4.11 chúng tôi không nhận thấy có một sự liên hệ nào giữa mật độ *Trichoderma* và hàm lượng Ca. Phân tích này chưa cho thấy có sự phụ thuộc nào giữa sự hiện diện cũng như mật độ *Trichoderma* trong đất với hàm lượng Ca.



➤ **Ảnh hưởng của hàm lượng Fe trong đất đến sự hiện diện của *Trichoderma***

**Bảng 4.12. Ảnh hưởng của hàm lượng Fe trong đất đến sự hiện diện của *Trichoderma***

Hàm lượng Fe (%) \ Sự hiện diện của <i>Trichoderma</i>	<=6	>6	Tổng
Có <i>Trichoderma</i>	12	9	21
Không có <i>Trichoderma</i>	6	7	13
Tổng	18	16	34
P=0,94			

**Bảng 4.13. Ảnh hưởng của hàm lượng Fe trong đất đến mật độ *Trichoderma***

Mật độ <i>Trichoderma</i>	Số mẫu	Hàm lượng Fe (%)
<1%	15	4,89
1-5%	5	6
5-10%	6	5,78

▪ **Nhận xét**

Ở bảng 4.12 về phương diện thống kê học do  $P > 0,5$  nên có thể kết luận không có sự phụ thuộc nhau giữa hai yếu tố hàm lượng Fe và sự hiện diện của *Trichoderma*.

Ở bảng 4.13 chúng tôi chưa nhận thấy có sự liên hệ giữa hàm lượng Fe và mật độ *Trichoderma* trong đất.

➤ **Ảnh hưởng của hàm lượng Ti trong đất đến sự hiện diện của *Trichoderma***

**Bảng 4.14. Ảnh hưởng của hàm lượng Ti trong đất đến sự hiện diện của *Trichoderma***

Hàm lượng Ti (%) \ Sự hiện diện của <i>Trichoderma</i>	<0,7	>=0,7	Tổng
Có <i>Trichoderma</i>	14	7	21
Không có <i>Trichoderma</i>	7	6	13
Tổng	21	13	34
P=0,91			

**Bảng 4.15. Ảnh hưởng của hàm lượng Ti trong đất đến mật độ *Trichoderma***

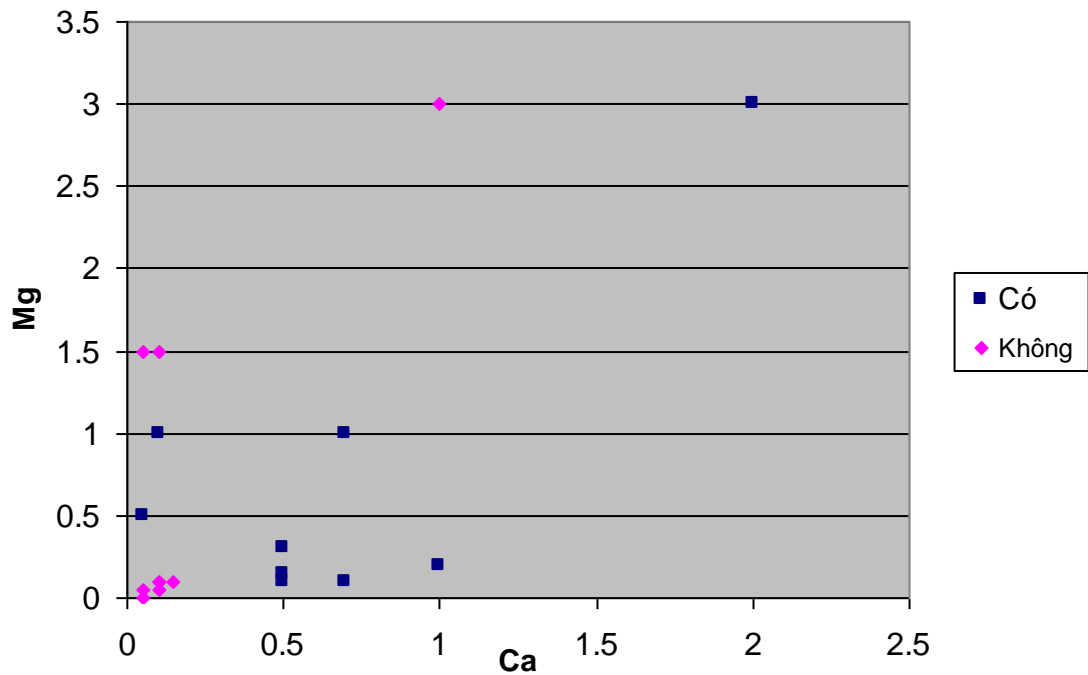
Mật độ <i>Trichoderma</i>	Số mẫu	Hàm lượng Ti (%)
<1%	15	0,55
1-5%	5	0,41
5-10%	6	0,21

▪ **Nhận xét**

Ở bảng 4.14 về phương diện thống kê học do  $P > 0,5$  nên có thể kết luận không có sự phụ thuộc nhau giữa hai yếu tố hàm lượng Ti và sự hiện diện của *Trichoderma*.

Ở bảng 4.15 nhận thấy có sự liên hệ giữa hàm lượng Ti và mật độ *Trichoderma*. Hàm lượng Ti càng cao, mật độ *Trichoderma* càng ít. Như vậy có thể hàm lượng Ti quá cao sẽ gây ức chế ngược trở lại đối với sự phát triển của quần thể *Trichoderma*. Điều này chưa được đề cập nên cần tiến hành thử nghiệm nuôi cấy *Trichoderma* trong các môi trường có bổ sung hàm lượng Ti khác nhau nhằm đánh giá tác động của hàm lượng Ti đối với sự sinh trưởng của *Trichoderma*, đồng thời thu thập thêm các mẫu đất để kết quả phân tích có độ tin cậy cao hơn.

➤ Ảnh hưởng của hàm lượng Mg và Ca trong đất đối với sự hiện diện của *Trichoderma*



Biểu đồ 4.7. Mối liên hệ giữa hàm lượng của Mg, Ca với sự hiện diện của *Trichoderma*

▪ Nhận xét

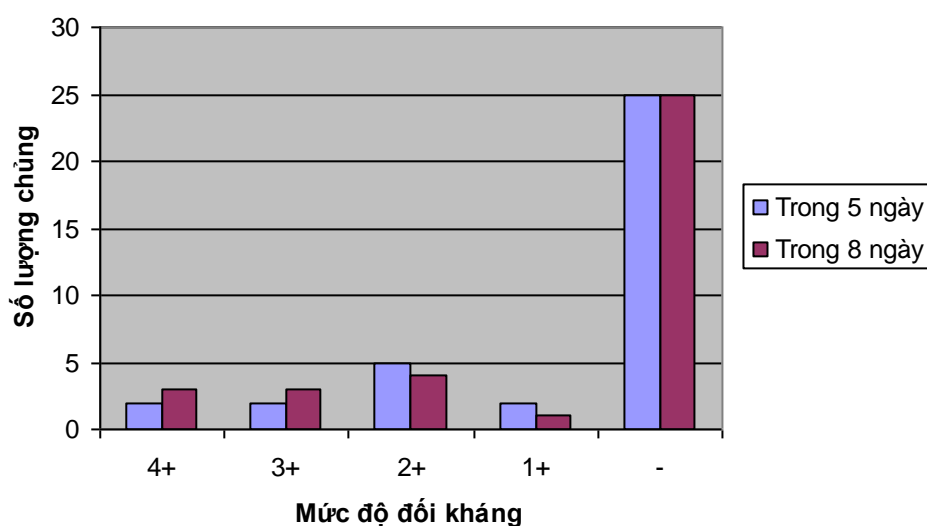
Mặc dù ở bảng 4.10, 4.11 chưa xác định được sự tác động của hàm lượng Ca đến sự hiện diện của *Trichoderma*, nhưng ở biểu đồ 4.7 chúng tôi nhận thấy *Trichoderma* không hiện diện trong đất khi hàm lượng Mg và Ca cùng thấp. Cụ thể 62,5% mẫu không có sự hiện diện *Trichoderma* có hàm lượng Mg và Ca đều nhỏ hơn 0,15%. Như vậy sự sinh trưởng và phát triển của *Trichoderma* chịu tác động tổng hợp của nhiều yếu tố, tuy nhiên trong kết quả này chỉ ghi nhận được trường hợp tác động của Ca và Mg. Do đó trong quá trình canh tác cần chú ý đến hàm lượng của Mg và Ca trong đất nhằm tạo điều kiện tốt cho *Trichoderma* phát triển.

#### 4.6. Kết quả đối kháng các chủng *Trichoderma* với nấm gây bệnh thực vật

##### 4.6.1. Kết quả đối kháng của *Trichoderma* đối với *Sclerotium rolfsii*

**Bảng 4.16. Kết quả đối kháng của *Trichoderma* đối với *Sclerotium rolfsii***

Chỉ tiêu	Kết quả đối kháng	Số lượng chủng	Tên chủng
Chỉ tiêu 1 (5 ngày)	4+	2	Đ14, Đ34
	3+	2	Đ15, Đ25
	2+	5	Đ1, Đ2, Đ12, Đ22, Đ30
	1+	2	Đ3, Đ29
	-	25	Đ4-11, Đ13, Đ16-21, Đ23, Đ24, Đ26-28, Đ31-33, Đ35, Đ36
Chỉ tiêu 2 (8 ngày)	4+	3	Đ14, Đ15, Đ34
	3+	3	Đ2, Đ25, Đ29
	2+	4	Đ1, Đ12, Đ22, Đ30
	1+	1	Đ3
	-	25	Đ4-11, Đ13, Đ16-21, Đ23, Đ24, Đ26-28, Đ31-33, Đ35, Đ36



**Biểu đồ 4.8. Mức độ đối kháng của các chủng *Trichoderma* đối với *Sclerotium rolfsii***

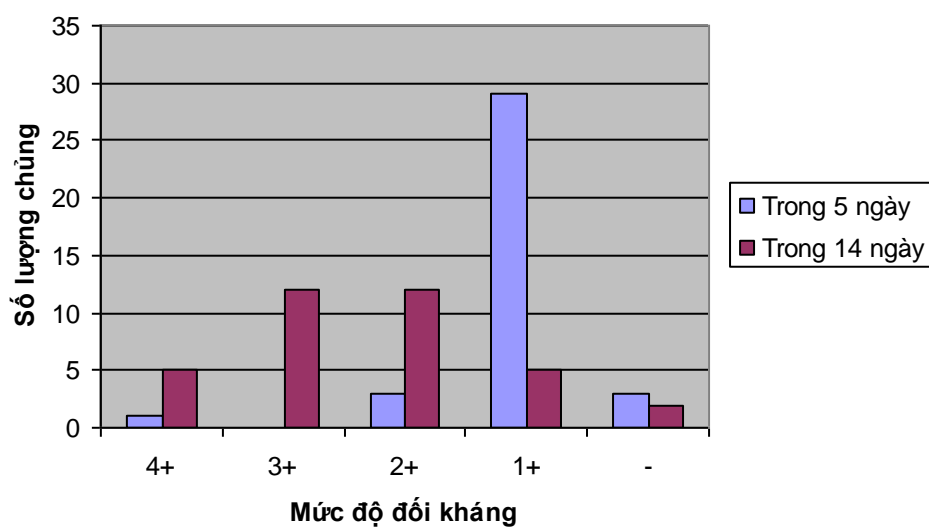
##### ▪ Nhận xét

Ở bảng 4.16, chúng tôi nhận thấy sau 5 ngày (thời điểm ghi nhận sự ức chế hoàn toàn của ít nhất một chủng *Trichoderma*) và sau 8 ngày (thời điểm ghi nhận mức độ đối kháng tối đa của các chủng *Trichoderma*), phần lớn các chủng *Trichoderma* không đối kháng. Đối với các chủng *Trichoderma* đối kháng với *Sclerotium rolfsii*, chúng tôi nhận thấy chỉ đạt mức độ trung bình (5/11 chủng đối kháng ở mức 3+ và 4+), đồng thời kết quả thử đối kháng chỉ ghi nhận một trường hợp chủng Đ29 có sự gia tăng mức độ đối kháng ở hai thời điểm (1+ tăng lên 3+).

Các chủng *Trichoderma* Đ14, Đ15, Đ34, Đ25, Đ2, Đ29 đối kháng khá mạnh với *Sclerotium rolfsii*.

**4.6.2. Kết quả theo dõi sự đối kháng của *Trichoderma* đối với *Rhizoctonia solani***  
**Bảng 4.17. Kết quả đối kháng của *Trichoderma* đối với *Rhizoctonia solani***

Chỉ tiêu	Kết quả đối kháng	Số lượng chủng	Tên chủng
Chỉ tiêu 1 (5 ngày)	4+	1	Đ1
	3+	0	Không có
	2+	3	Đ16, Đ20, Đ33
	1+	29	Đ2, Đ4-15, Đ17-19, Đ21-25, Đ27, Đ28, Đ30-32, Đ35, Đ36
	-	3	Đ3, Đ26, Đ34
Chỉ tiêu 2 (14 ngày)	4+	5	Đ1, Đ16, Đ20, Đ25, Đ30
	3+	12	Đ4, Đ7, Đ14, Đ15, Đ17-19, Đ21, Đ22, Đ24, Đ31, Đ36
	2+	12	Đ2, Đ5, Đ6, Đ8-11, Đ13, Đ23, Đ29, Đ32, Đ33
	1+	5	Đ3, Đ12, Đ27, Đ28, Đ35
	-	2	Đ26, Đ34



**Biểu đồ 4.9. Mức độ đối kháng của các chủng *Trichoderma* đối với *Rhizoctonia solani***

▪ **Nhận xét**

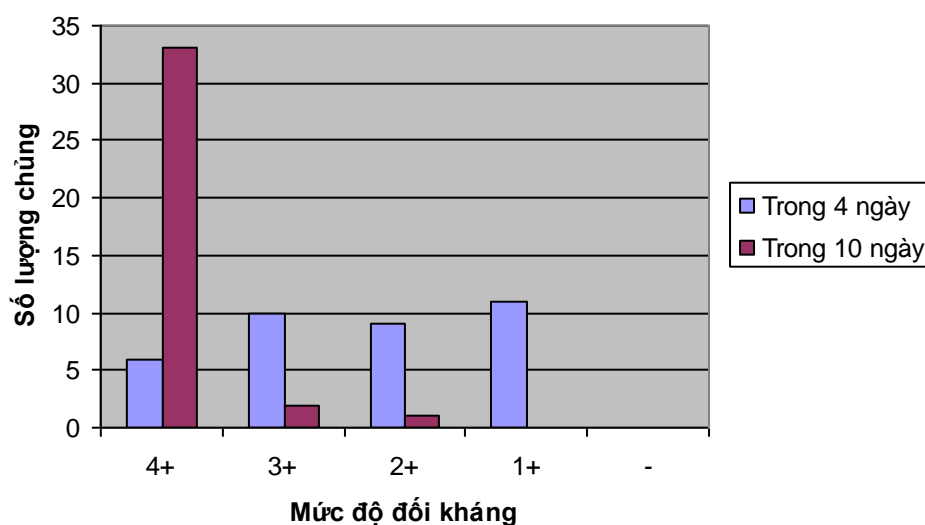
So sánh với *Sclerotium rolfii*, các chủng *Trichoderma* đối kháng với *Rhizoctonia solani* có sự gia tăng mức độ đối kháng rõ rệt giữa hai thời điểm khảo sát, cụ thể tại thời điểm 5 ngày ghi nhận 4/36 chủng đối kháng mức độ 2+, 3+, 4+ nhưng đến thời điểm 14 ngày có 29/36 chủng *Trichoderma* có mức độ đối kháng như trên.

Các chủng *Trichoderma* Đ1, Đ16, Đ20, Đ25, Đ30 đối kháng khá mạnh với *Rhizoctonia solani*.

**4.6.3. Kết quả theo dõi sự đối kháng tương đối của *Trichoderma* đối với *Phytophthora palmivora***

**Bảng 4.18. Kết quả đối kháng của *Trichoderma* đối với *Phytophthora palmivora***

Chỉ tiêu	Kết quả đối kháng	Số lượng chủng	Tên chủng
Chỉ tiêu 1 (4 ngày)	4+	6	Đ1, Đ2, Đ6, Đ18, Đ24, Đ31
	3+	10	Đ14-16, Đ23, Đ25, Đ26, Đ29, Đ30, Đ32, Đ34
	2+	9	Đ3, Đ10, Đ11, Đ13, Đ17, Đ20, Đ22, Đ27, Đ35
	1+	11	Đ4, Đ5, Đ7-9, Đ19, Đ21, Đ28, Đ33, Đ36
	-	0	Không có
Chỉ tiêu 2 (10 ngày)	4+	33	Đ1, Đ2, Đ4-20, Đ22-33, Đ35, Đ36
	3+	2	Đ21, Đ34
	2+	1	Đ3
	1+	0	Không có
	-	0	Không có



**Biểu đồ 4.10. Mức độ đối kháng của các chủng *Trichoderma* với *Phytophthora palmivora***

▪ **Nhận xét**

So với *Sclerotium rolfsii* và *Rhizoctonia solani*, mức độ đối kháng của *Trichoderma* đối với *Phytophthora palmivora* mạnh hơn hẳn. Cụ thể 100% các chủng *Trichoderma* đối kháng với *Phytophthora palmivora* tại thời điểm 4 ngày, trong đó 25 chủng có mức độ đối kháng là 2+, 3+, 4+; tại thời điểm 10 ngày số lượng chủng có mức độ đối kháng này chiếm tỉ lệ 100%.

Các chủng Đ1, Đ2, Đ6, Đ18, Đ24, Đ31 đối kháng mạnh với *Phytophthora palmivora*.

**4.6.4. Nhận xét chung**

**Bảng 4.19. Mức độ đối kháng của các chủng *Trichoderma* với các chủng nấm gây bệnh**

Chủng nấm bệnh / Mức độ Đối kháng	<i>Sclerotium rolfsii</i> (8 ngày)	<i>Rhizoctonia solani</i> (14 ngày)	<i>Phytophthora palmivora</i> (10 ngày)
4+	3	5	33
3+	3	12	2
2+	4	12	1
1+	1	5	0
-	15	2	0

**Bảng 4.20. Các chủng *Trichoderma* đối kháng mạnh với vi nấm gây bệnh thực vật**

Chủng nấm bệnh / Mức độ Đối kháng	<i>Sclerotium rolfsii</i>	<i>Rhizoctonia solani</i>	<i>Phytophthora palmivora</i>
4+	Đ14, Đ15, Đ34	Đ1, Đ16, Đ20, Đ25, Đ30	Đ1, Đ2, Đ4-20, Đ22-33, Đ35, Đ36
3+	Đ2, Đ25, Đ29	Đ4, Đ7, Đ14, Đ15, Đ17-19, Đ21, Đ22, Đ24, Đ31, Đ36	Đ21, Đ34

Ở bảng 4.19, chúng tôi nhận thấy *Trichoderma* có phổ tác động rộng. Tuy nhiên, mức độ đối kháng của *Trichoderma* phụ thuộc vào chủng *Trichoderma*, chủng nấm bệnh, thời gian. Kết quả này cho thấy mức độ đối kháng của *Trichoderma* đối với các chủng nấm gây bệnh thực vật được sắp xếp từ mạnh đến yếu như sau: *Phytophthora palmivora* > *Rhizoctonia solani* > *Sclerotium rolfsii*.

Các chủng Đ1, Đ2, Đ14, Đ15, Đ22, Đ25, Đ29 có khả năng đối kháng mạnh với 3 chủng nấm bệnh. Các chủng này có thể sử dụng làm đối tượng nghiên cứu để sản xuất các chế phẩm vi sinh dùng trong bảo vệ thực vật và trong phân bón hữu cơ vi sinh thế hệ mới.



## PHẦN 5. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

### 5.1. Kết luận

Nguồn chủng giống *Trichoderma* phân lập từ các loại đất ở khu vực Đông Nam bộ rất phong phú và đa dạng, có sự phân bố rộng rãi, các kết quả phân tích chứng tỏ sự hiện diện của các chủng *Trichoderma* không phụ thuộc vào thành phần cơ giới đất, trạng thái sử dụng đất và các điều kiện môi trường đất. Tuy nhiên, một số yếu tố môi trường đất như hàm lượng khoáng Ca, Mg, Ti và độ ẩm của đất có ảnh hưởng đến sự phát triển của quần thể *Trichoderma* trong đất.

Dựa trên kết quả thử đối kháng, các chủng *Trichoderma* có khả năng ức chế các loại nấm gây bệnh như *Sclerotium rolfsii*, *Rhizoctonia solani*, *Phytophthora palmivora*. Trong bộ chủng phân lập từ tự nhiên ta chọn được các chủng có khả năng đối kháng mạnh với cả 3 chủng nấm bệnh là Đ1, Đ2, Đ14, Đ15, Đ22, Đ25, Đ29.

### 5.2. Đề nghị

- Tiếp tục thu thập các mẫu đất để có thể phân tích rõ hơn về mối tương quan giữa sự hiện diện và phát triển của quần thể *Trichoderma* với các yếu tố môi trường đất.

- Tiếp tục thử nghiệm khả năng đối kháng của các chủng Đ1, Đ2, Đ14, Đ15, Đ22, Đ25, Đ29 với các loại nấm gây bệnh cây trồng điển hình khác như *Pythium* spp., *Armellaria mellea*, *Botrytis cinerea*...

- Định danh các chủng Đ22, Đ25, Đ29.

- Tiến hành tạo chế phẩm từ nguồn giống đã thử nghiệm *in vitro* dùng bổ sung phân phức hợp hữu cơ vi sinh hoặc dùng làm thuốc bảo vệ thực vật.

## PHẦN 6. TÀI LIỆU THAM KHẢO

### 6.1. Tài liệu tiếng Việt

1. Đào Kiều Dung, 1998. Kết quả bước đầu khảo sát sự phân bố của các dòng nấm *Trichoderma* ở Bến Tre và Tiền Giang, p.158-159.
2. Nguyễn Lâm Dũng, Phạm Thị Trân Châu, Nguyễn Thanh Hiền, Lê Đình Lương, Đoàn Xuân Mượu, Phạm Văn Ty, 1978. Một số phương pháp nghiên cứu vi sinh vật học. Tập III. Nhà xuất bản Khoa học và kỹ thuật, Hà Nội, p.164-165
3. Bùi Xuân Đồng, 1982. Nhóm nấm Hyphomycetes ở Việt Nam. Tập I. Nhà xuất bản Khoa học và kỹ thuật, Hà Nội.
4. Êgôrôv, N. X. 1983. *Thực tập vi sinh vật học* (Nguyễn Lâm Dũng dịch). Nhà Xuất bản Đại học và trung học chuyên nghiệp, Hà Nội, p.72-73.
5. Lê Duy Linh, Trần Thị Hương, Trịnh Thị Hồng, Lê Duy Thắng. *Thực tập vi sinh cơ sở*. Nhà xuất bản Đại học Quốc gia TP. Hồ Chí Minh, p.32-37, 50-52.
6. Trần Thị Thuần, Lê Minh Thi, Dương Thị Hồng, 1995. Kết quả nghiên cứu bước đầu về nấm đối kháng *Trichoderma*. *Tuyển tập Công trình nghiên cứu Bảo vệ Thực vật 1990-1995*: 202-210.
7. Trần Thanh Thủy, 1998. *Hướng dẫn thực hành vi sinh vật học*. Nhà xuất bản Giáo dục Quốc gia TP. Hồ Chí Minh, p.43-45.
8. Nguyễn Ngọc Tú và Nguyễn Đăng Diệp, 1998. Nghiên cứu qui trình sản xuất phân bón vi sinh TRICHO. *Tuyển tập các công trình nghiên cứu khoa học Viện sinh học Nhiệt đới(1993-1998)*: 153-160.
9. Nguyễn Thị Ngọc Tú và Nguyễn Cửu Hương Giang, 1998. Chế phẩm vi nấm dùng phòng trừ nấm bệnh hại cây trồng. *Tuyển tập công trình nghiên cứu Viện Sinh Học Nhiệt đới(1993-1998)*: 57-63.

### 6.2. Tài liệu nước ngoài

10. Ainsworth, G. S. and Sussman, A. S. 1968. The fungi, an advance treatise. Vol III. The fungal population. Acad press Inc, New York, USA.
11. Arie Altman, 1998. Agricultural biotechnology. Marcel Dekker. Inc- New York-Basel. HongKong, p.263-275.
12. Bertrand, K.G. and Jack, J. P. 1998. Molecular biotechnology principles and application of recombinant DNA. 2<sup>nd</sup> edition, ASM Press Washington, D. C.
13. Esposito, E. and Silva, M. D. 1998. Systematics and enviromental application of the genus *Trichoderma*, *Critical reviews in Microbiology* 24 (2): 89-98

14. La Grange et al, 1996. Expression of a *Trichoderma reesei*  $\beta$ -xylanase gene (XYN2) in *S.cerevisiae*. *Applied and enviromental. Microbiology*, p.1036-1044.
15. I. Grondona, Hermosa, R., Jejeda, M., Gomis, M. D., Mateos, P. F., Bridge, P. I., Monte, E. and Garcia-Acha, I. 1997. Physiological and biochemical characterization of *Trichoderma harzianum*, a biocontrol agent against soilborne fungal plant pathogen.
16. Harman, G. E. and Kubicek, C. P. (ed) 1998. *Trichoderma* and *Gliocladium*. Vol I. Basic biology, taxonomy and genetics. p.6-10, 64-69.
17. Harman, G. E. and Kubicek, C. P. (ed) 1998. *Trichoderma* and *Gliocladium*. Vol II. Enzymes, biological control and commercial applications, p.131-142.
18. Harman, G. E., Howell C. R., Viterbo, A., Chet, I., Lorito, M. 2004. *Trichoderma* species-opportunistic, avirulent plant symbionts. *Nature review* 2: 43-56.
19. Papavizas, 1985. *Trichoderma* and *Gliocladium*: Biology, ecology, and potential for biocontrol. *Ann. Rev. Phytopath.* 23: 23-54.
20. Sanjoy Silva, Bill B. Emore and Houston K. Huckabay, 1995. Cellulase activity of *Trichoderma reesei* (RUT-30) on munciple solid waste. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, Vol 51-52, p.145-153.

### **6.3. Dĩa chỉ websites**

21. <http://www.doctorfungus.org/thefungi/Trichoderma Species.htm>
22. <http://www.treemail.nl/eurobio/inform/tricho.htm>
23. <http://www.ozemail.com.au/~zadco/trichoderma.htm>
24. <http://www.worthing-biochem.com/default.html>
25. <http://www.nysaes.cornell.edu/ent/bcconf/talks/harman.html>
26. <http://www.nysaes.cornell.edu/ent/biocontrol/pathogens/trichoderma.html>

# PHỤ LỤC

**Bảng 7.1. Kiểm định tính độc lập giữa sự hiện diện của *Trichoderma* và hàm lượng Mg**

Chi-Square Goodness-of-Fit Test

Observed Frequency	Expected Frequency	Chi-Square
10	11.1	.113
8	6.9	.182
11	9.9	.127
5	6.1	.205

Chi-square = 0.627062 with 3 d.f.  
Sig. level = 0.89021

**Bảng 7.2. Kiểm định tính độc lập giữa sự hiện diện của *Trichoderma* và hàm lượng Ca**

Chi-Square Goodness-of-Fit Test

Observed Frequency	Expected Frequency	Chi-Square
13	13.0	.0000694
8	8.0	.0001121
8	8.0	.0001121
5	5.0	.0000000

Chi-square = 2.9355E-4 with 3 d.f.  
Sig. level = 0.999999

**Bảng 7.3. Kiểm định tính độc lập giữa sự hiện diện của *Trichoderma* và hàm lượng Fe**

Chi-Square Goodness-of-Fit Test

Observed Frequency	Expected Frequency	Chi-Square
12	11.1	.0696
9	9.9	.0784
6	6.9	.1126
7	6.1	.1265

Chi-square = 0.387115 with 3 d.f.  
Sig. level = 0.942891

**Bảng 7.4. Kiểm định tính độc lập giữa sự hiện diện của *Trichoderma* và hàm lượng Ti**

Chi-Square Goodness-of-Fit Test

Observed Frequency	Expected Frequency	Chi-Square
14	13.0	.0818
7	8.0	.1321
7	8.0	.1321
6	5.0	.2000

Chi-square = 0.546031 with 3 d.f.  
Sig. level = 0.908668