



## NGHIÊN CỨU TẠO CHẾ PHẨM TỪ *Trichoderma* SP. KIỂM SOÁT BỆNH THÁN THƯ DO *Colletotrichum* SPP. GÂY RA TRÊN CÂY ỚT (*Capsicum frutescens*)

Trần Ngọc Hùng và Nguyễn Thị Liên Thương

Khoa Tài nguyên Môi trường, Trường Đại học Thủ Dầu Một

### Thông tin chung:

Ngày nhận: 22/12/2015

Ngày chấp nhận: 30/08/2016

### Title:

Research on production of *Trichoderma* sp. products for controlling the anthracnose disease caused by *Colletotrichum* spp. on chili (*Capsicum frutescens*)

### Từ khóa:

*Colletotrichum truncatum*, *Colletotrichum acutatum*, đối kháng nấm bệnh thán thư, *Trichoderma koningii*

### Keywords:

*Colletotrichum truncatum*, *Colletotrichum acutatum*, antagonism with anthracnose, *Trichoderma koningii*

### ABSTRACT

Every year, anthracnose is the main reason causing much damage on chilli plant (*Capsicum frutescens*). Following the trend of organic agriculture, the method of control anthracnose by *Trichoderma* is gaining much concerns from researchers. The isolation from diseased plants showed that *Colletotrichum truncatum* and *Colletotrichum acutatum* were the causes of anthracnose on chilli plants in Binh Duong province. From vegetable planting areas in Binh Duong, three strains of *Trichoderma* among 16 isolates strains (*T. koningii* T2.2, *T. koningii* T4 and *T. koningii* T5.1) had the highest ability to antagonize *Colletotrichum* spp. Also when applying the sporiferous preparation from isolated *Trichoderma* to chilli plant fields, it helped decrease 58.4 percent of the anthracnose on chilli fruits as compared to control fungicides. Results of this study indicated the possibility of applying *Trichoderma* spore preparation for treating anthracnose on chilli plants.

### TÓM TẮT

Bệnh thán thư là nguyên nhân gây thiệt hại lớn trên ớt cay (*Capsicum frutescens*) hằng năm. Trong xu hướng nông nghiệp hữu cơ, kiểm soát bệnh thán thư bằng *Trichoderma* là giải pháp đang nhận được nhiều sự quan tâm của các nhà nghiên cứu. Kết quả phân lập từ các mẫu ớt bệnh thán thư cho thấy *Colletotrichum truncatum* và *Colletotrichum acutatum* là các tác nhân gây bệnh thán thư phổ biến trên cây ớt tại Bình Dương. Trong số 16 chủng *Trichoderma* spp. phân lập được từ các khu vực trồng rau màu tại Bình Dương, ba chủng *Trichoderma* (*Trichoderma koningii* T2.2, *T. koningii* T4 và *T. koningii* T5.1) có khả năng đối kháng tốt nhất với các chủng *Colletotrichum* spp. phân lập được. Chế phẩm bào tử từ các chủng *Trichoderma* chọn lọc có khả năng hạn chế bệnh thán thư trên trái ớt cao hơn 58,4 % so với việc sử dụng các chế phẩm phòng trừ nấm khác. Kết quả nghiên cứu này cho thấy tính khả thi của việc ứng dụng chế phẩm từ bào tử nấm *Trichoderma* trong việc phòng trừ bệnh thán thư trên cây ớt.

Trích dẫn: Trần Ngọc Hùng và Nguyễn Thị Liên Thương, 2016. Nghiên cứu tạo chế phẩm từ *Trichoderma* sp. kiểm soát bệnh thán thư do *Colletotrichum* spp. gây ra trên cây ớt (*Capsicum frutescens*). Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ. 45b: 86-92.

## 1 GIỚI THIỆU

Quả ớt cay không chỉ là loại gia vị rất phổ biến trong cuộc sống hằng ngày, mà gần đây, chúng còn được sử dụng trong công nghiệp chế biến thực phẩm và dược liệu để bào chế các thuốc điều trị ngoại khoa do chứa hợp chất capsaicine trong trái. Do đó, nhu cầu và diện tích trồng ớt ở nhiều nước trên thế giới có chiều hướng gia tăng trong những năm gần đây. Diện tích trồng ớt ở Việt Nam hiện tại khoảng 5.000 ha, được trồng chủ yếu tại 18 tỉnh thành trái dài từ Bắc vào Nam. Hiện nay, do giá trị kinh tế cao, nhiều hộ đã trồng cây ớt tập trung với diện tích lớn và xen canh với các loại cây ăn trái và cây công nghiệp khác.

Cũng như nhiều loại cây trồng khác, chất lượng và sản lượng ớt bị đe dọa nghiêm trọng bởi các loại dịch bệnh như: bệnh thán thư, bệnh đốm trắng lá, bệnh héo xanh, bệnh héo rũ, bệnh thối đọt non... Nguy hiểm nhất trong số đó phải kể đến bệnh thán thư hay còn gọi là bệnh nõ trái. Bệnh thán thư do nấm *Colletotrichum* gây ra. Chủng nấm này rất đa dạng gồm nhiều loài và gây hại trên hầu hết các loại cây trồng. Trên ớt, bệnh xuất hiện trên cả thân, lá và đặc biệt là trên trái. Trên trái ớt, vết bệnh là những đốm tròn, màu nâu đến đen. Càng về sau, vết bệnh loang rộng và ăn sâu vào trong ruột trái, gây thiệt hại rất lớn cho các hộ trồng ớt khiến sản lượng có thể giảm từ 70-80% (Vũ Triệu Mân, 2007).

Việc sử dụng các loại thuốc hóa học tràn lan trong trồng trọt không chỉ gây ảnh hưởng xấu tới môi trường sống, sức khỏe của người tiêu dùng mà còn là nguyên nhân tạo ra các chủng nấm bệnh kháng thuốc. Hiện nay, việc sử dụng các chủng nấm *Trichoderma* để kiểm soát các loại nấm bệnh thực vật được xem là một biện pháp an toàn và hiệu quả. *Trichoderma* là tác nhân kiểm soát sinh học đối với nhiều loại nấm gây bệnh trên cây trồng như *Phytophthora*, *Fusarium*, *Rhizoctonia*, *Colletotrichum*... (Bankole và Adebajo, 1996; Soyong và ctv., 2005). Từ thực tế trên, chúng tôi đã thực hiện nghiên cứu: Nghiên cứu tạo chế phẩm từ *Trichoderma* sp. kiểm soát bệnh thán thư do *Colletotrichum* spp. gây ra trên cây ớt (*Capsicum frutescens*) nhằm chọn ra các chủng nấm đối kháng có thể ứng dụng cho việc phòng trừ bệnh trên cây ớt.

## 2 PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1 Phương pháp phân lập nấm bệnh

Mẫu ớt bệnh được thu tại các chợ và các nhà vườn. Khử trùng bề mặt mẫu bệnh. Cắt mẫu bệnh thành những lát nhỏ và đặt lên môi trường thạch nước cất. Ủ ở nhiệt độ phòng (30-32°C) cho tới khi

các khuẩn lạc xuất hiện. Làm thuần các mẫu nấm bệnh trên môi trường PGA. Sử dụng các chủng nấm phân lập được để gây bệnh nhân tạo và xác định chủng nấm bệnh mục tiêu dựa theo các đặc điểm hình thái đã được các tác giả trước mô tả (Lester và ctv., 2009; Damm và ctv., 2012; Hyde và ctv., 2009; Bankole và Adebajo, 1996). Giải trình tự rRNA 28S và tra cứu trên BLAST SEARCH để xác định loài *Colletotrichum*.

### 2.2 Phương pháp lây bệnh nhân tạo

Dùng kim nhọn chích vào phần thịt lên trái ớt, mỗi trái chích 3 vết gần nhau. Nấm bệnh được nuôi trên các đĩa petri chứa môi trường PDA, thu nhận bào tử và pha loãng để mật độ đạt khoảng  $10^7$  bào tử/ml. Phun dịch bào tử các chủng nấm *Colletotrichum* phân lập được lên các vết thương. Mẫu đối chứng cũng gây vết thương và phun nước vô trùng lên trên. Dùng nylon bọc các vị trí gây bệnh trên trái lại. Che bằng túi nylon, đặt trong nhà lưới tránh ánh sáng trực tiếp. Quan sát, ghi nhận các triệu chứng của bệnh và so sánh những triệu chứng này với các triệu chứng đã ghi nhận được trên đồng ruộng (Lester và ctv., 2009).

### 2.3 Phương pháp phân lập *Trichoderma*

Thu thập mẫu đất tại các khu vực nông nghiệp. Pha loãng mẫu đất bằng nước cất vô trùng trong dãy nồng độ  $10^{-1}$ ;  $10^{-2}$ ;  $10^{-3}$ . Hút 0,1 ml ở mỗi nồng độ trải đều lên các đĩa petri có chứa môi trường TSM. Ủ ở nhiệt độ phòng (30-32°C). Sau 3-4 ngày, chọn những khuẩn lạc rời, đặc trưng cho nấm *Trichoderma* cấy qua môi trường TSM (Elad và ctv., 1981; Hyde và ctv., 2009). Đặc điểm nấm *Trichoderma* dựa theo khóa phân loại của Bùi Xuân Đồng (Bùi Xuân Đồng, 2000). Các chủng nấm *Trichoderma* sau khi làm thuần được cấy vào các ống thạch nghiêng chứa môi trường PDA. Giải trình tự rRNA 28S và tra cứu trên BLAST SEARCH để xác định loài *Trichoderma*, cặp môi sử dụng là ITS1-4, 35 chu kì PCR.

### 2.4 Phương pháp xác định hiệu quả đối kháng của *Trichoderma* với nấm bệnh trên môi trường PGA

Cắt những miếng thạch có diện tích bằng nhau (0,5 x 0,5 cm) có chứa nấm bệnh và *Trichoderma* trên các đĩa giống trung gian. Đặt các khối thạch lên đĩa petri có chứa môi trường PGA để tiến hành đối kháng. Từ ngày thứ 1 đến ngày thứ 5, xác định hiệu quả đối kháng *Colletotrichum* của các chủng *Trichoderma*. Hiệu quả đối kháng được tính theo công thức:  $H = (Dđc - Dtt)/(Dđc) \times 100$  (%). Với Dđc là bán kính khuẩn lạc nấm bệnh trên đĩa đối chứng; Dtt là bán kính khuẩn lạc nấm bệnh trên đĩa thử thật (Soyong và ctv., 2005).

## 2.5 Phương pháp thử nghiệm khả năng kiểm soát *Colletotrichum* bằng chế phẩm *Trichoderma* trên cây ớt

Địa điểm: ruộng ớt tại ấp Bình Chánh, xã Khánh Bình, TX. Tân Uyên, tỉnh Bình Dương.

Chăm sóc: khoảng cách giữa các cây trong cùng một luống 0,7 m, cứ hai luống có lối đi rộng 1 m, hàng tháng bón phân NPK. Phun thuốc trừ sâu và dưỡng trái vào thời điểm bắt đầu cho trái. Giống ớt trồng trong thí nghiệm là ớt chỉ thiên siêu cay F1 SV No1 của công ty Sen Vàng Seed, cho thu hoạch trái sau 60 ngày.

Thí nghiệm gồm 4 lô, mỗi lô gồm 4 khối liền kề nhau, mỗi khối 40 cây. Thí nghiệm được tiến hành sau khi các cây ớt đã xuống giống được 1 tháng, thời gian thực hiện từ 15/3/2014 đến 15/7/2014. Chế độ nước tưới, thuốc trừ sâu, thuốc dưỡng trái, phân bón... giống nhau giữa các lô.

Lô đối chứng âm (ĐC âm): không sử dụng các chế phẩm kiểm soát nấm bệnh.

Lô đối chứng dương (ĐC dương): sử dụng kết hợp nhiều loại thuốc kiểm soát nấm bệnh có nguồn gốc sinh học (Ditacin 8SL, chứa 8% Ningnamycin, liều sử dụng 300 ml/ha) và hóa học (Ringo L 20SC, chứa 20% Metominostrobin, liều sử dụng 400 ml/ha), định kỳ sử dụng 10 ngày/lần.

Lô NT1: sử dụng kết hợp chế phẩm dạng phun xịt 10 ngày/lần và bón gốc 30 ngày/lần.

Lô NT2: sử dụng chế phẩm dạng bón gốc định kỳ 10 ngày/lần.

Cách sử dụng các loại chế phẩm:

Chế phẩm bón gốc: mật độ tối thiểu 2 x 10<sup>8</sup> bào tử/g, rải chế phẩm quanh gốc, 20g/cây (tương ứng khoảng 300 kg/ha).

Chế phẩm hòa tan: mật độ tối thiểu 2 x 10<sup>8</sup> bào tử/g, hòa tan 40 g chế phẩm vào 16 lít nước sạch, phun đều lên toàn bộ các cây của lô thí nghiệm,

lượng bào tử phun lên mỗi cây khoảng 5 x 10<sup>7</sup> bào tử (tương ứng với khoảng 7 x 10<sup>11</sup> bào tử/ha).

Sau các khoảng thời gian 2, 3 và 4 tháng, xác định tỷ lệ cây ớt bị bệnh thán thư trong mỗi lô.

## 2.6 Phương pháp xử lý số liệu

Các thí nghiệm trên quy mô phòng thí nghiệm được thực hiện lặp lại ít nhất 5 lần. Đánh giá sai số chuẩn bằng phần mềm Excel.

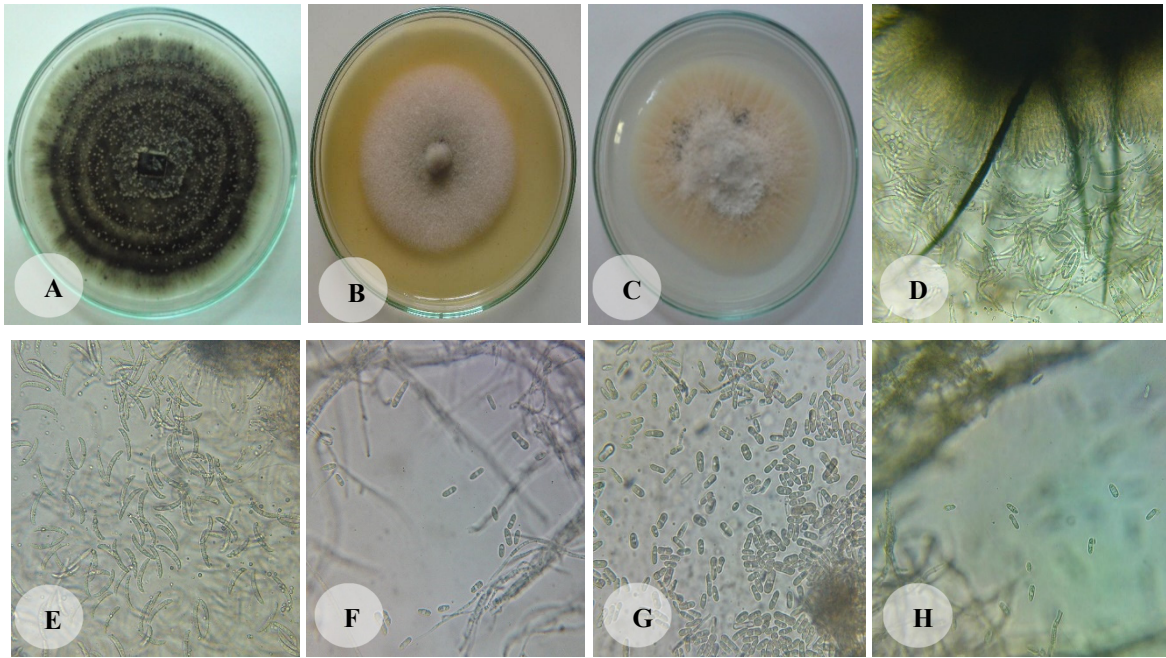
## 3 KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

### 3.1 Phân lập nấm bệnh *Colletotrichum* gây bệnh thán thư trên cây ớt

Từ 5 mẫu ớt bệnh thu nhận được từ các chợ bán lẻ và nhà vườn, chúng tôi ghi nhận triệu chứng của các mẫu bệnh và tiến hành phân lập nấm bệnh trên môi trường PGA và môi trường thạch nước cất. Kết quả phân lập được 5 chủng nấm có đặc điểm tương tự *Colletotrichum*, kí hiệu là C1, CH2, C2, C4 và C5.

Các chủng C1, CH2 và C5 phát triển nhanh, có đường kính khuẩn lạc từ 3,4 – 4,1 cm sau 3 ngày nuôi cấy. Các chủng C2 và C4 phát triển chậm, có đường kính tương ứng lần lượt là 1,2 và 2,3 cm sau 3 ngày nuôi cấy. Chủng C1 và CH2 có khuẩn lạc màu xám đậm, tơ dạng bông xốp. Từ ngày thứ 5 trở đi, bề mặt khuẩn xuất hiện những đĩa cảnh có màu đen (chủng C1) hoặc màu trắng đục (chủng CH2) tập trung các bào tử của nấm. Bào tử các chủng C1 và CH2 có dạng hình cong lưỡi liềm, không có vách ngăn, bên trong chứa nhiều giọt dầu (hình 1F, 1G, 1H). Khuẩn ty màu trắng, không có vách ngăn. Khuẩn lạc chủng C2 có màu cam nhạt, chủng C4 và C5 có màu trắng sau 3 ngày nuôi cấy. Khuẩn lạc mọc tròn đều, trong một số trường hợp, chủng C5 mọc không đều, mép khuẩn lạc lượn sóng (Hình 1A và 1B). Bào tử các chủng C2, C4 và C5 có dạng hình que dài, thuôn hai đầu, không có vách ngăn, bên trong chứa giọt dầu. Khuẩn ty màu trắng, không có vách ngăn.





**Hình 1: Khuẩn lạc và bào tử các chủng *Colletotrichum* sp. trên môi trường PDA sau 5 ngày nuôi cấy. A) Khuẩn lạc *Colletotrichum* C1; B) Khuẩn lạc *Colletotrichum* C4; C) Khuẩn lạc *Colletotrichum* C5; D) Bào tử *Colletotrichum* C1; E) Bào tử *Colletotrichum* CH2; F) Bào tử *Colletotrichum* C2; G) Bào tử *Colletotrichum* C4; H) Bào tử *Colletotrichum* C5**

Kết quả gây bệnh nhân tạo cho thấy, tất cả các chủng *Colletotrichum* sp. phân lập được đều có khả năng gây bệnh cho trái ớt. Thời gian xuất hiện triệu chứng bệnh than thư sau 1 – 4 ngày. Hầu hết vết bệnh có màu đậm ở chính giữa, xung quanh lõm xuống. Càng về sau, vết bệnh thối nhũn, bề mặt vết bệnh xuất hiện những hạt nhỏ li ti màu đen hoặc màu cam, đó là các đĩa cạnh của nấm *Colletotrichum* sp. So với triệu chứng của các mẫu bệnh trước khi phân lập, vết bệnh gây nhiễm không có sự khác biệt.

Kết quả phân tích trình tự rRNA 28S và tra cứu trên BLAST SEARCH một số chủng *Colletotrichum* phân lập được cho thấy chủng C1, C2 và CH2 thuộc loài *Colletotrichum truncatum* với mức độ tương đồng 99%. Chủng C4 thuộc loài *Colletotrichum acutatum* với mức độ tương đồng 99%.

**3.2 Phân lập *Trichoderma***

Từ 12 mẫu đất thu nhận tại các khu vực trồng rau màu trên địa bàn tỉnh Bình Dương, chúng tôi phân lập được 16 chủng *Trichoderma* spp.. Trong mỗi mẫu đất có từ 1 - 2 chủng. Nhìn chung, *Trichoderma* có mặt trong nhiều loại đất khác nhau với pH trong khoảng 6,8 – 7,5, độ ẩm 18 – 25%. Mật độ *Trichoderma* khoảng  $10^2 - 10^3$  cfu/g.

Hầu hết các chủng *Trichoderma* sp. có tốc độ

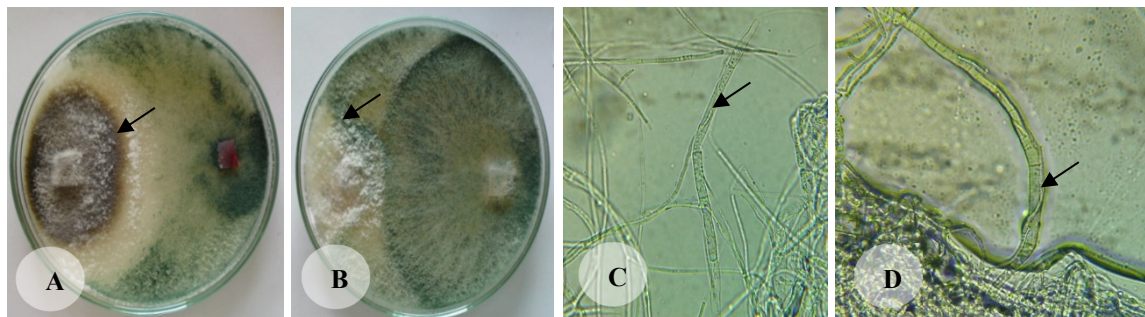
phát triển nhanh, đường kính vòng tăng trưởng đạt 8 – 10 cm sau 3 ngày nuôi cấy trên môi trường PGA. Bào tử hình thành sau 3 – 4 ngày nuôi cấy, một số chủng hình thành bào tử sau 2 ngày nuôi cấy (chủng T5.1, T6.2 và T7.1). Riêng chủng T6.1 có tốc độ lan tỏa rất nhanh nhưng bào tử chỉ hình thành sau khoảng 8 – 10 ngày nuôi cấy. Màu sắc bào tử thay đổi từ xanh nhạt (chủng T6.1 và T12) cho đến xanh oliu đậm. *Trichoderma* T3.2, T7.1, T10 và T11 làm môi trường hóa vàng khi phát triển trong khi các chủng còn lại không làm thay đổi màu của môi trường. Hầu hết các chủng có bào tử mọc dày đặc, phủ đều khắp mặt thạch. Trong khi đó, chủng T6.1 và T7.1 có bào tử mọc rải rác thành từng cụm. Quan sát ở vật kính 40X, cấu trúc cuống sinh bào tử của các chủng không có sự khác biệt đáng kể, có thể quan sát thấy rõ các thể bình đặc trưng của chi *Trichoderma* theo như mô tả của tác giả Bùi Xuân Đông. Các chủng này sau đó được giải trình tự rRNA 28S để xác định loài.

**3.3 Chọn lọc các chủng *Trichoderma* có khả năng đối kháng tốt với các chủng *Colletotrichum* trên môi trường PGA**

Từ các đĩa giống trung gian, chúng tôi cấy các chủng nấm bệnh trước từ 2 – 3 ngày, tương ứng với đường kính vòng tăng trưởng khoảng 2 cm. Cấy các chủng *Trichoderma* sp. và ghi nhận khả năng đối kháng sau 5 ngày nuôi cấy.

**Bảng 1: Hiệu quả đối kháng (%) của các chủng *Trichoderma* sp. với các chủng *Colletotrichum* sp. sau 5 ngày trên môi trường PDA.**

Chủng <i>Trichoderma</i> sp.	<i>Colletotrichum</i> C1	<i>Colletotrichum</i> C2	<i>Colletotrichum</i> CH2	<i>Colletotrichum</i> C4	<i>Colletotrichum</i> C5
T2.1	62,9 ± 8,0	75,9 ± 3,5	61,1 ± 3,9	89,8 ± 2,6	84,3 ± 3,5
T2.2	60,1 ± 4,7	100,0 ± 0	95,5 ± 4,3	100,0 ± 0	85,2 ± 4,7
T3.2	52,7 ± 2,3	87,0 ± 5,7	50,9 ± 2,6	96,3 ± 5,2	100,0 ± 0
T4	91,6 ± 6,0	100,0 ± 0	84,3 ± 2,6	100,0 ± 0	100,0 ± 0
T5.1	95,4 ± 6,1	100,0 ± 0	78,7 ± 3,5	96,3 ± 5,2	97,2 ± 3,9
T5.2	68,5 ± 1,7	98,1 ± 2,6	53,7 ± 2,6	79,6 ± 8,6	100,0 ± 0
T6.1	100,0 ± 0	75,9 ± 2,6	77,8 ± 0	100,0 ± 0	81,5 ± 2,6
T6.2	83,3 ± 12,1	100,0 ± 0	75,0 ± 6,0	75,0 ± 3,9	78,7 ± 1,3
T7.1	53,7 ± 3,4	66,7 ± 0	58,3 ± 4,5	90,7 ± 6,9	97,2 ± 3,9
T7.2	46,3 ± 0	63,9 ± 2,3	74,1 ± 3,5	65,7 ± 5,7	76,9 ± 1,3
T8.1	50,0 ± 1,7	70,4 ± 2,6	100,0 ± 0	62,0 ± 5,2	74,1 ± 1,3
T8.2	46,3 ± 1,7	100,0 ± 0	95,4 ± 6,5	77,8 ± 3,9	90,0 ± 0
T9	82,4 ± 2,9	76,9 ± 3,5	100,0 ± 0	88,9 ± 8,2	100,0 ± 0
T10	57,4 ± 1,7	74,1 ± 3,5	55,6 ± 0	64,8 ± 2,6	75,9 ± 1,3
T11	57,4 ± 3,4	75,9 ± 3,5	62,0 ± 9,2	64,8 ± 1,3	75,9 ± 3,5
T12	59,3 ± 4,5	65,7 ± 1,3	58,3 ± 2,3	65,7 ± 1,3	68,5 ± 1,3



**Hình 2: Đối kháng giữa các chủng *Trichoderma koningii* và *Colletotrichum* sp. trên môi trường PGA (vị trí mũi tên). A) *Trichoderma* T5.1 và *Colletotrichum* C1; B) *Trichoderma* T4 và *Colletotrichum* C4 ; A) Khuẩn ty *Trichoderma* T5.1 xuyên vào khuẩn ty *Colletotrichum* C1 ; D) Khuẩn ty *Trichoderma* T4 quấn chặt khuẩn ty *Colletotrichum* C4**

Tất cả các chủng *Trichoderma* phân lập được đều có khả năng đối kháng với các chủng *Colletotrichum* ở các mức độ khác nhau. Các chủng *Trichoderma* T7.1, T8.1, T10 và T11 có khả năng đối kháng *Colletotrichum* theo cơ chế cạnh tranh dinh dưỡng và không gian sống, nhờ vào tốc độ phát triển nhanh. Bên cạnh tốc độ phát triển nhanh, các chủng *Trichoderma* còn lại còn có khả năng kí sinh trên khuẩn ty nấm bệnh. Khuẩn ty *Trichoderma* áp sát và quấn chặt lấy khuẩn ty *Colletotrichum* (Hình 2D), hoặc đâm sâu vào bên trong khuẩn ty nấm bệnh (Hình 2C). Trong số 16 chủng *Trichoderma* sp. khảo sát, chủng T4 và T5.1 có khả năng đối kháng đạt hiệu quả tối đa với 4 chủng *Colletotrichum* (C1, C2, C4 và C5), chủng *Trichoderma* T2.2 đối kháng đạt hiệu quả 100% với 3 chủng *Colletotrichum* C2, CH2 và C4. Các

chủng còn lại có khả năng đối kháng tốt với 1 hoặc 2 chủng *Colletotrichum*.

Từ các kết quả thu được, chúng tôi chọn các chủng *Trichoderma* T2.2, T4 và T5.1 để tiến hành các thí nghiệm tiếp theo. Kết quả phân tích trình tự rRNA 28S và tra cứu trên BLAST SEARCH cho thấy cả 3 chủng *Trichoderma* T2.2, T4 và T5.1 đều thuộc loài *Trichoderma koningii* (*Hypocera koningii*) với mức độ tương đồng 98%.

### 3.4 Sản xuất chế phẩm bào tử *Trichoderma* trên quy mô pilot

Giống *Trichoderma* cấp 1 được cấy vào các môi trường bán rắn cấp 2, mỗi mẻ cấy có khối lượng 6 kg, canh trường phân đều lên 6 khay, độ dày canh trường từ 2 – 3 cm. Các yếu tố như thành phần và tỷ lệ nguyên liệu, lượng nước bổ sung, tỷ

lệ giống cấp 1 và thời gian nuôi cấy đã được nghiên cứu trước trên quy mô thí nghiệm.

**Thuyết minh quy trình:**

– *Chuẩn bị giống cấp 1:* Các chủng *Trichoderma* sp. được cấy riêng vào các erlen chứa 50 g canh trường bán rắn có 24% thành phần bắp, 16% mụn xơ dừa và 60% nước.

Ủ các bình tam giác ở nhiệt độ phòng (30 – 33°C) trong thời gian 5 ngày.

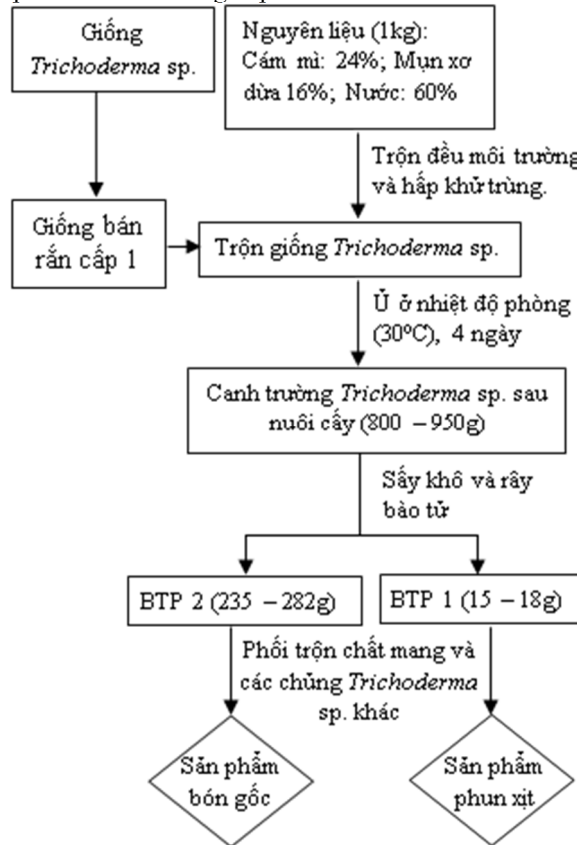
– *Chuẩn bị môi trường cấp 2:* phối trộn đều nguyên liệu bao gồm 24% cám mì, 16% mụn xơ dừa và 60% nước. Hấp khử trùng ở 121°C, 1 atm trong 30 phút. Sau thời gian khử trùng, trải đều để nhiệt độ canh trường giảm xuống còn 40 – 45°C.

– *Cấy giống:* đảo đều giống cấp 1 trong các erlen. Trộn đều giống cấp 1 vào môi trường cấp 2

sao cho mật độ giống cấp 1 đạt  $10^8$  bào tử/ g môi trường đối với chủng T2.2 và  $10^7$  bào tử/ g môi trường đối với chủng T4, T5.1. Ủ canh trường ở nhiệt độ phòng (30 – 33°C) trong khoảng thời gian 4 ngày.

– *Thu nhận môi trường nuôi cấy:* canh trường sau nuôi cấy được sấy thông gió ở 45°C cho đến khi độ ẩm canh trường còn khoảng 10%. Canh trường khô được rây qua rây có cỡ mắt lưới 75 µm. Phần qua rây là bán thành phẩm 1, gồm bào tử và các đoạn khuẩn ty ngắn. Phần không qua rây là bán thành phẩm 2.

– *Phối trộn chất mang:* các bán thành phẩm 1 và bán thành phẩm 2 được phối trộn với chất mang và các bán thành phẩm khác để tạo thành sản phẩm không tan dùng để bón gốc và sản phẩm hòa tan dùng để phun xịt.



**Hình 3: Quy trình sản xuất chế phẩm *Trichoderma* sp.**

**3.5 Thử nghiệm khả năng phòng trị bệnh thán thư trên cây ớt**

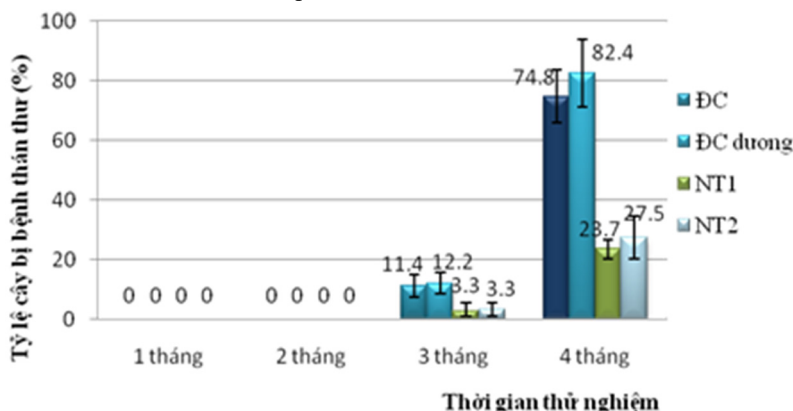
Thử nghiệm được tiến hành trên vườn ớt đã trồng được 1 tháng tại phường Bình Khánh, thị xã Tân Uyên, tỉnh Bình Dương. Kết quả thử nghiệm cho thấy tỷ lệ bệnh thán thư có chiều hướng gia tăng theo thời gian, đặc biệt là vào thời điểm cây cho trái rộ kết hợp với thời tiết mưa nhiều, ngày

nắng ít. Nhìn chung, các chế phẩm *Trichoderma* có khả năng hạn chế bệnh thán thư trên cây ớt. Sau 3 tháng sử dụng, tỷ lệ cây ớt bị bệnh thán thư ở các lô thí nghiệm có sử dụng *Trichoderma* chiếm khoảng  $3,3 \pm 2,2$  %, các lô đối chứng có số cây bệnh thán thư 11,4 – 12,2%. Đến cuối tháng thứ 4, điều kiện thời tiết mưa nhiều, ngày nắng ít, gió mạnh, độ ẩm cao và kỹ thuật thu hái đã làm bệnh thán thư bùng phát trên diện rộng. Ở lô đối chứng



số cây bị thán thư tăng lên đến  $74,8 \pm 8,8\%$ , nghiệm thức sử dụng các loại thuốc sinh học và hóa học khác có đến  $82,4 \pm 11,3\%$  số cây bị bệnh thán thư, nhiều cây nhiễm bệnh trên 100% số trái. Trong khi đó, lô thí nghiệm sử dụng chế phẩm phun xịt và kết hợp phun xịt với bón gốc có sự chênh lệch không đáng kể, tỷ lệ cây bị thán thư lần lượt là  $23,7 \pm 3,2\%$  và  $27,5 \pm 7,2\%$ . Kết quả trên

cũng phù hợp với nghiên cứu của các tác giả khác trước đây (S. A. Bankole và ctv., 1996; Soyton và ctv., 2005; Than và ctv., 2007), cho thấy các chế phẩm chứa *Trichoderma* có khả năng hạn chế đáng kể bệnh thán thư do *Colletotrichum* gây ra trên cây ớt. Phun xịt chế phẩm đều trên cây kết hợp với rải chế phẩm quanh gốc là biện pháp khả thi để hạn chế bệnh thán thư.



Hình 4: tỷ lệ cây ớt bị thán thư sau thời gian thử nghiệm

#### 4 KẾT LUẬN

Kết quả phân lập và giải trình tự rRNA 28S cho thấy *Colletotrichum truncatum* và *Colletotrichum acatatum* là tác nhân gây bệnh thán thư phổ biến trên cây ớt trồng tại Bình Dương.

Trong số 16 chủng *Trichoderma* sp. phân lập được từ các khu vực trồng rau màu tại Bình Dương, chủng *Trichoderma koningii* T2.2, T4 và T5.1 có khả năng đối kháng đạt hiệu quả 100% với 5 chủng *Colletotrichum* sp. phân lập được sau 5 ngày nuôi cấy. Trên quy mô pilot, các chủng *Trichoderma* chọn lọc cho mật độ bào tử cao nhất khi nuôi cấy trên môi trường 60% cám mì và 40% mụn xơ dừa, lượng nước bổ sung 60%, tỷ lệ giống  $10^7$  bào tử/ g canh trường đối với chủng T2.2 và  $10^6$  bào tử/ g canh trường đối với chủng T4, T5.1. Sau 4 ngày nuôi cấy, mật độ canh trường đạt  $4,2 \times 10^9$  bào tử/ g canh trường khô. Hiệu suất thu nhận bào tử đạt 6% canh trường khô.

Sau 4 tháng thử nghiệm trên đồng ruộng, chế phẩm bào tử *Trichoderma* có khả năng hạn chế bệnh thán thư trên cây ớt lên đến 58,4% so với khi sử dụng các sản phẩm phòng trị bệnh khác.

#### LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu được Quỹ nghiên cứu khoa học trường Đại học Thủ Dầu Một tài trợ.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

Bankole, A. Adebajo, 1996. Biocontrol of brown blotch of cowpea caused *Colletotrichum*

*truncatum* with *Trichoderma viride*. Department of Biological Sciences, Ogun State University, Nigeria. 15(7): 633-636.

Burgess L. W., Timothy E. Knight, Len Tesoriero and Phan Thuy Hien, 2009. Cẩm nang chuẩn đoán cây bệnh ở Việt Nam. Australian Centre for International Agricultural Research. Trang 90-91.

Bùi Xuân Đồng, Nguyễn Huy Văn, 2000. Vi nấm dung trong công nghệ sinh học, NXB Khoa học và Kỹ thuật, Trang 148 – 153.

Damm U., P. F. Cannon, J. H. C. Woudenberg, P. W. Crous, 2012. The *Colletotrichum acutatum* species complex, Stud Mycol. 1: 37-119.

Elad Y, Chet I, Henis Y, 1981. A selective medium for improving quantitative isolation of *Trichoderma* spp. from soil. Phytoparasitica 1981; 9(1): 59 –67.

Hyde K. D., Cai L., 2009. *Colletotrichum* – names in current use. Fungal Diversity, Vol. 39: 147-182.

Soyton, K., Srinon, W., Rattanacherchai, K., Kanokmedhakul, 2005. Application of antagonistic fungi to control anthracnose disease of grape. Journal of Agricultural Biotechnology. 1: 33-41.

Than, R. Jeewon, K. D. Hyde, S. Pongsupasamit, O. Mongkolporn and P. W. J. Taylor, 2007. Characterization and pathogenicity of *Colletotrichum* species associated with anthracnose on chilli (*Capsicum* spp.) in Thailand. Plant Pathology. 57(3):1365-1375.

Vũ Triệu Mân, 2007. Giáo trình bệnh cây chuyên khoa. Trường ĐH Nông nghiệp 1. Trang 49-50.