

# TÁC ĐỘNG CỦA CÁC DINH DƯỠNG KHOÁNG N, P, K, Ca VÀ Mg LÊN SỰ PHÁT TRIỂN VÀ HÌNH THÀNH BÀO TỬ CỦA NẤM *TRICHODERMA*

Lê Phước Thạnh, Hứa Hoàng Gia Khương và Dương Minh<sup>1</sup>

## ABSTRACT

*The experiments were carried out at Department of Plant Protection, Cantho University to study the influence of mineral nutrients on the mycelium development and the sporulation of two Trichoderma strains T-BM2a and T-OM2a on PDA and PDB medium.*

*The results showed that the fungi Trichoderma spp. grew well in media supplied with ammonium sulphate (14; 28; 56 mmol) and ammonium nitrate (14; 28; 56 mmol). Besides of it, the sporulation of these strains is also formed and significant differences when Urea (14 and 28 mmol) were added to PDB medium.*

*On the other hand, potassium phosphate (4  $\mu$ mol), gypsum (1.25 mmol) and magnesium sulphate (32  $\mu$ mol) clearly influenced on the development and sporulation of Trichoderma strains T-BM2a and T-OM2a after 7 days of treating.*

**Keywords:** *ammonium, calcium, magnesium, nitrogen, phosphorus, potassium, Trichoderma, urea*

**Title:** *The influence of mineral nutrients N, P, K, Ca and Mg on the development and sporulation of Trichoderma fungi*

## TÓM TẮT

*Thí nghiệm được tiến hành tại Bộ môn Bảo vệ Thực Vật, trường Đại học Cần Thơ nhằm nghiên cứu tác động của các dinh dưỡng khoáng lên sự phát triển sinh khối và hình thành bào tử của hai chủng Trichoderma T-BM2a và T-OM2a trên môi trường PDA và PDB.*

*Sinh khối và số lượng bào tử của hai chủng Trichoderma đều tăng khi môi trường được bổ sung ammonium sulphate (14; 28; 56 mmol) và ammonium nitrate (14; 28; 56 mmol). Khả năng hình thành bào tử của nấm cũng tăng lên và khác biệt có ý nghĩa so với đối chứng khi trong môi trường PDB có sự hiện diện của urea (14 và 28 mmol).*

*Bên cạnh đó, potassium phosphate (4  $\mu$ mol), calcium sulphate (1,25 mmol) và magnesium sulphate (32  $\mu$ mol) cũng có vai trò tích cực trong sự phát triển và hình thành bào tử của hai chủng nấm Trichoderma T-BM2a và T-OM2a.*

**Từ khóa:** *ammôn, calci, đạm, kali, lân, manhê, Trichoderma, urê*

## 1 ĐẶT VẤN ĐỀ

Với diện tích 47.000 ha, chiếm 70% diện tích cam quýt cả nước, vùng trồng cam quýt của đồng bằng sông Cửu Long lại nằm trong vùng bị ảnh hưởng của lũ, dễ bị ngập úng làm hệ thống rễ cây bị tổn thương, tạo điều kiện thuận lợi cho nấm gây bệnh trong đất *Fusarium solani* tấn công và gây hại (Dương Minh *et al.*, 2003). Bên cạnh đó, việc sử dụng các loại nông dược để phòng trị bệnh thối rễ lại rất tốn kém, cho hiệu quả thấp và còn gây ô nhiễm môi trường. Do đó, việc sử dụng các tác nhân sinh học, trong đó có nấm *Trichoderma*, để phòng trừ các loại nấm bệnh trong đất là một chiến lược kinh tế và lâu dài (Dương Minh *et al.*, 2001).

<sup>1</sup> Bộ Môn Bảo Vệ Thực Vật, Khoa Nông Nghiệp & Sinh Học Ứng Dụng, Đại Học Cần Thơ

Trong quá trình sinh trưởng, ngoài việc sử dụng nhiều nguồn đạm khác nhau (ammonium, urea, nitrate, amino acid và nitrite), các loài nấm *Trichoderma* spp. còn cần nhiều loại khoáng như lân (P) (Phạm Văn Kim, 2003), kali (K), calcium (Ca) (Bilgrami & Verma, 1978) và magnesium (Phạm Văn Kim, 2003) cho quá trình sinh trưởng và phát triển của chúng. Tuy nhiên, nhu cầu dinh dưỡng của nấm thay đổi tùy theo loài. Do đó, việc khảo sát ảnh hưởng của các loại khoáng N, P, K, Ca và Mg lên sự sinh trưởng và phát triển của các chủng nấm *Trichoderma* trong điều kiện phòng thí nghiệm là tiền đề để nghiên cứu, tạo điều kiện thuận lợi giúp tăng sinh khối nấm trong môi trường nhằm nâng hiệu quả sử dụng nấm *Trichoderma* trong việc phòng trị bệnh hại cây trồng trong điều kiện ngoài đồng.

## 2 PHƯƠNG TIỆN VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Được thực hiện qua 2 thí nghiệm:

### 2.1 Thí nghiệm 1

Hai chủng nấm *Trichoderma* T-BM2a (tăng trưởng nhanh, sinh bào tử chậm) và T-OM2a (tăng trưởng chậm, sinh bào tử nhanh) được chuẩn bị trước trên môi trường PDA (Potato dextrose agar: 200 g khoai tây, 20 g dextrose, 20 g agar, 1.000 ml nước cất vừa đủ) khoảng 2-3 ngày. Mỗi khoan khuẩn ty ( $\varnothing = 5$  mm) được cấy vào giữa đĩa petri (chứa 10 ml môi trường) và để ở điều kiện nhiệt độ 23,5-29,40C, ẩm độ tương đối không khí 43-89%.

Thí nghiệm được bố trí theo thể thức thừa số hoàn toàn ngẫu nhiên, 5 lần lặp lại, gồm hai nhân tố: Nhân tố A là các dạng khoáng chứa N (dạng  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ,  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  và  $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ ; nồng độ 28; 56 và 112 mmol), hợp chất P và K ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , nồng độ  $\text{K}^+$  ở 2; 4 và 8  $\mu\text{mol}$ ), Ca ( $\text{CaSO}_4$ ; nồng độ 0,625; 1,25 và 2,5 mmol) và Mg ( $\text{MgSO}_4$ ; nồng độ 8; 16 và 32  $\mu\text{mol}$ ). Nhân tố B là hai chủng nấm *Trichoderma* T-BM2a (khả năng sinh bào tử thấp) và T-OM2a (khuẩn ty phát triển yếu). Đường kính khuẩn lạc được ghi nhận ở 2 ngày và số lượng bào tử được xác định vào 7 ngày sau khi nuôi cấy.

### 2.2 Thí nghiệm 2

Hai chủng nấm *Trichoderma* T-BM2a và T-OM2a được nuôi cấy trên môi trường PDA khoảng 7-10 ngày để thu thập bào tử. Chủng 1 ml huyền phù bào tử nấm *Trichoderma* (mật số  $2 \times 10^7$  bào tử/ml) vào bình tam giác chứa 200 ml môi trường PDB (200 g khoai tây, 20 g dextrose, nước cất vừa đủ 1.000 ml). Lắc ở tốc độ 125 vòng/phút trong 7 ngày ở nhiệt độ 27,9-30,90C, ẩm độ tương đối không khí 65-86%.

Thí nghiệm được bố trí theo thể thức thừa số hoàn toàn ngẫu nhiên, 4 lần lặp lại, gồm hai nhân tố: Nhân tố A là các khoáng chứa N (nồng độ 28; 56 và 112 mmol) ở 3 dạng:  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ,  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  và  $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$  hoặc hợp chất P và K ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , nồng độ  $\text{K}^+$  ở 2; 4 và 8  $\mu\text{mol}$ ), Ca ( $\text{CaSO}_4$ ; nồng độ 0,625; 1,25 và 2,5 mmol) và Mg ( $\text{MgSO}_4$ ; nồng độ 8; 16 và 32  $\mu\text{mol}$ ). Nhân tố B là hai chủng nấm *Trichoderma* T-BM2a và T-OM2a. Số lượng bào tử trong mỗi bình tam giác thí nghiệm được xác định bằng lamme đếm hồng cầu hiệu Malassez. Sinh khối nấm được thu qua giấy lọc (Whatman # 5) và sấy khô ở 105<sup>0</sup>C trong 8 giờ.

### 3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

#### 3.1 Tác động của N đến đường kính khuẩn lạc và mật số bào tử của hai chủng nấm *Trichoderma* T-BM2a và T-OM2a trong môi trường PDA

Khi được bổ sung đạm (N) dạng  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  và  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ , sự phát triển khuẩn lạc trên bề mặt môi trường PDA (qua đường kính khuẩn lạc) của chủng *Trichoderma* T-BM2a ở các nghiệm thức đều không khác biệt so với đối chứng (không thêm khoáng) (Bảng 1).

**Bảng 1:** Tác động của N đến đường kính khuẩn lạc (cm) của hai chủng nấm *Trichoderma* T-BM2a và T-OM2a trong môi trường PDA sau 2 ngày nuôi cấy (Bộ môn Bảo Vệ Thực Vật, 2005)

Khoáng (K)	Đường kính khuẩn lạc (cm) chủng nấm		Trung bình (khoáng)
	T-BM2a	T-OM2a	
Đối chứng	8,5 ab	6,1 a	7,3 a
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (14 mmol)	9,0 a	5,1 bc	7,0 ab
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (28 mmol)	9,0 a	4,9 bc	6,9 bc
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (56 mmol)	8,9 a	4,7 cd	6,8 c
$\text{NH}_4\text{NO}_3$ (14 mmol)	9,0 a	5,3 b	7,2 ab
$\text{NH}_4\text{NO}_3$ (28 mmol)	9,0 a	5,3 b	7,1 ab
$\text{NH}_4\text{NO}_3$ (56 mmol)	8,7 ab	4,7 cd	6,7 c
$\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ (14 mmol)	8,3 b	4,3 d	6,3 d
$\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ (28 mmol)	6,3 c	3,3 e	4,8 e
$\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ (56 mmol)	1,4 d	2,3 f	1,8 f (*)
Trung bình (chủng nấm)	7,8 A	4,6 B (**)	

CV (%) = 6,0

Ghi chú: (\*) Trong cùng một cột, đối với mỗi chủng nấm, các số liệu mang cùng mẫu tự theo sau thì không khác biệt nhau ở độ ý nghĩa 5% qua phép thử Duncan.

(\*\*) So sánh phép thử Duncan trung bình chủng nấm theo hàng (chữ in).

**Bảng 2:** Tác động của N đến mật số bào tử (logarit) của hai chủng nấm *Trichoderma* T-BM2a và T-OM2a trong môi trường PDA sau 7 ngày nuôi cấy (Bộ môn Bảo Vệ Thực Vật, 2005)

Khoáng (K)	log mật số bào tử của chủng nấm		Trung bình (khoáng)
	T-BM2a	T-OM2a	
Đối chứng	5,25 e	7,44 b	6,34 d
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (14 mmol)	7,30 ab	7,48 b	7,39 a
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (28 mmol)	7,16 b	7,56 b	7,36 a
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (56 mmol)	6,28 d	7,61 b	6,94 b
$\text{NH}_4\text{NO}_3$ (14 mmol)	7,48 a	7,48 b	7,48 a
$\text{NH}_4\text{NO}_3$ (28 mmol)	7,25 ab	7,56 b	7,41 a
$\text{NH}_4\text{NO}_3$ (56 mmol)	6,62 c	6,85 c	6,74 c
$\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ (14 mmol)	5,22 e	8,15 a	6,69 c
$\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ (28 mmol)	6,70 c	8,00 a	7,35 a
$\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ (56 mmol)	6,51 cd	7,60 b	7,05 b (*)
Trung bình (chủng nấm)	6,58 B	7,57 A (**)	

CV (%) = 2,9

Ghi chú: (\*) Trong cùng một cột, đối với mỗi chủng nấm, các số liệu mang cùng mẫu tự theo sau thì không khác biệt nhau ở độ ý nghĩa 5% qua phép thử Duncan.

(\*\*) So sánh phép thử Duncan trung bình chủng nấm theo hàng (chữ in).

Trong khi đó, việc bổ sung N cho chủng nấm T-OM2a lại có khuynh hướng làm ức chế khả năng phát triển của khuẩn lạc trên bề mặt môi trường PDA (Bảng 1).

Đối với khả năng tạo bào tử, đạm  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  và  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  (nồng độ 14; 28 và 56 mmol) hoặc  $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$  (nồng độ 28 và 56 mmol) đã có tác dụng làm gia tăng mật số bào tử (logarit số bào tử/đĩa petri) của chủng nấm T-BM2a ở 7 ngày sau khi nuôi cấy (Bảng 2).

Ngược lại, chủng T-OM2a lại tỏ ra thích N ở dạng  $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$  (nồng độ 14 và 28 mmol) hơn trong việc hình thành bào tử (Bảng 2).

### 3.2 Tác động của P, K, Ca và Mg đến đường kính khuẩn lạc và mật số bào tử của hai chủng nấm *Trichoderma* T-BM2a và T-OM2a trong môi trường PDA

Kết quả khảo sát sự phát triển của chủng nấm T-BM2a trên bề mặt môi trường PDA cho thấy các khoáng P, K, Ca và Mg không có ảnh hưởng đến tốc độ phát triển của khuẩn lạc. Ở thời điểm 2 ngày sau khi cấy, đường kính khuẩn lạc của chủng nấm này đã gần đạt đến mức tối đa (9,0 cm) ở tất cả các nghiệm thức (Bảng 3).

**Bảng 3: Tác động của P, K, Ca và Mg đến đường kính khuẩn lạc (cm) của hai chủng nấm *Trichoderma* T-BM2a và T-OM2a trong môi trường PDA sau 2 ngày nuôi cấy**  
(Bộ môn Bảo Vệ Thực Vật, 2005)

Khoáng	Đường kính khuẩn lạc (cm) chủng nấm		Trung bình (khoáng)
	T-BM2a	T-OM2a	
Đối chứng	8,5 a	6,1 a	7,3 a
$\text{KH}_2\text{PO}_4$ (2 $\mu\text{mol}$ )	8,8 a	6,1 a	7,4 a
$\text{KH}_2\text{PO}_4$ (4 $\mu\text{mol}$ )	8,8 a	5,6 abc	7,2 ab
$\text{KH}_2\text{PO}_4$ (8 $\mu\text{mol}$ )	8,2 a	4,9 c	6,6 b
$\text{CaSO}_4$ (0,625 mmol)	8,7 a	6,0 a	7,4 a
$\text{CaSO}_4$ (1,25 mmol)	8,9 a	5,5 abc	7,2 ab
$\text{CaSO}_4$ (2,50 mmol)	8,7 a	5,3 abc	7,0 ab
$\text{MgSO}_4$ (8 $\mu\text{mol}$ )	8,3 a	5,9 ab	7,1 ab
$\text{MgSO}_4$ (16 $\mu\text{mol}$ )	8,3 a	5,4 abc	6,8 ab
$\text{MgSO}_4$ (32 $\mu\text{mol}$ )	8,5 a	5,1 bc	6,8 ab (*)
Trung bình (chủng nấm)	8,6 A	5,6 B (**)	

CV (%) = 8,9

Ghi chú: (\*) Trong cùng một cột, đối với mỗi chủng nấm, các số liệu mang cùng mẫu tự theo sau thì không khác biệt nhau ở độ ý nghĩa 5% qua phép thử Duncan.

(\*\*) So sánh phép thử Duncan trung bình chủng nấm theo hàng (chữ in).

Đối với chủng T-OM2a, sự hiện diện của các khoáng chất này cũng không làm tăng đường kính khuẩn lạc sau 2 ngày nuôi cấy. Ngoài ra, việc thêm khoáng P, K (nồng độ 8  $\mu\text{mol}$ ) hoặc Mg (nồng độ 32  $\mu\text{mol}$ ) còn làm cho đường kính khuẩn lạc của chủng nấm này thấp hơn đối chứng (không thêm khoáng) (Bảng 3).

Tuy nhiên, khi được nuôi cấy trên bề mặt môi trường PDA thì sự phát triển của nấm bị hạn chế do sự giới hạn về kích thước và diện tích bề mặt của đĩa petri nên những kết quả này chỉ mang tính tham khảo cho những nghiên cứu tiếp theo.

Sự hiện diện của các khoáng chất có tác động khác nhau lên sự hình thành bào tử của từng chủng nấm. Số lượng bào tử tạo thành có thể tăng lên hoặc không khác biệt so với

đối chứng nhưng nhìn chung các khoáng P, K, Ca và Mg đều không gây bất lợi cho sự sản sinh bào tử của cả hai chủng T-BM2a và T-OM2a trong môi trường PDA.

**Bảng 4: Tác động của P, K, Ca và Mg đến mật số bào tử (logarit) của hai chủng nấm *Trichoderma* T-BM2a và T-OM2a trong môi trường PDA sau 7 ngày nuôi cấy**  
(Bộ môn Bảo Vệ Thực Vật, 2005)

Khoáng (K)	log mật số bào tử của chủng nấm		Trung bình (khoáng)
	T-BM2a	T-OM2a	
Đối chứng	5,25 d	7,44 a	6,34 d
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> (2 μmol)	5,58 c	7,39 a	6,48 cd
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> (4 μmol)	5,51 cd	7,57 a	6,54 bcd
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> (8 μmol)	5,48 cd	7,65 a	6,56 bcd
CaSO <sub>4</sub> (0,625 mmol)	5,62 bc	7,55 a	6,59 bc
CaSO <sub>4</sub> (1,25 mmol)	6,06 a	7,64 a	6,85 a
CaSO <sub>4</sub> (2,50 mmol)	5,89 ab	7,57 a	6,73 ab
MgSO <sub>4</sub> (8 μmol)	5,55 c	7,45 a	6,50 cd
MgSO <sub>4</sub> (16 μmol)	5,62 bc	7,53 a	6,58 bc
MgSO <sub>4</sub> (32 μmol)	5,90 ab	7,36 a	6,63 bc (*)
Trung bình (chủng nấm)	5,65 B	7,52 A (**)	

CV (%) = 3,3

Ghi chú: (\*) Trong cùng một cột, đối với mỗi chủng nấm, các số liệu mang cùng mẫu tự theo sau thì không khác biệt nhau ở độ ý nghĩa 5% qua phép thử Duncan.

(\*\*) So sánh phép thử Duncan trung bình chủng nấm theo hàng (chữ in).

Chủng T-BM2a đáp ứng tốt với các khoáng KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (2 μmol); CaSO<sub>4</sub> (0,625; 1,25 và 2,50 mmol), MgSO<sub>4</sub> (8; 16 và 32 mmol) và có sự gia tăng mật số bào tử sau 7 ngày nuôi cấy nhưng các khoáng này không ảnh hưởng đến khả năng sản sinh bào tử của chủng T-OM2a (khác biệt không ý nghĩa so với đối chứng) (Bảng 4).

### 3.3 Tác động của N trên sinh khối và mật số bào tử của hai chủng nấm *Trichoderma* T-BM2a và T-OM2a trong môi trường PDB

Việc cung cấp đạm vào môi trường nuôi cấy lỏng dưới dạng (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> và NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub> đã có những tác động tích cực lên sự tăng trưởng của nấm. So với chủng T-OM2a thì chủng T-BM2a đáp ứng tốt hơn với khoáng N trong môi trường PDB nhưng nhìn chung việc bổ sung (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> và NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub> (ở cả 3 nồng độ 14, 28 và 56 mmol) đã giúp cho cả hai chủng nấm này phát triển mạnh hơn (Bảng 5).

Khi đạm được đưa vào môi trường dưới dạng CO(NH<sub>2</sub>)<sub>2</sub> nấm phát triển rất chậm, lượng sinh khối thu được thấp. Ngoại trừ nghiệm thức bổ sung đạm CO(NH<sub>2</sub>)<sub>2</sub> ở nồng độ 14 mmol, các nghiệm thức còn lại trong nhóm này đều cho lượng sinh khối thấp hơn nghiệm thức đối chứng cũng như những nghiệm thức còn lại trong thí nghiệm (Bảng 5).

Dinh dưỡng đạm cũng có vai trò quan trọng trong sự hình thành bào tử nấm *Trichoderma*. Kết quả về mật số bào tử trong mỗi bình tam giác thí nghiệm sau 7 ngày nuôi cấy đã cho thấy có sự gia tăng và khác biệt giữa nghiệm thức có bổ sung đạm dạng (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> và NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub> (nồng độ 14; 28 và 56 mmol) hoặc CO(NH<sub>2</sub>)<sub>2</sub> (nồng độ 14 và 28 mmol) so với đối chứng (Bảng 6).

**Bảng 5: Tác động của N trên sinh khối khô (g/lít) của hai chủng nấm *Trichoderma* T-BM2a và T-OM2a trong môi trường PDB sau 7 ngày nuôi cấy**

(Bộ môn Bảo Vệ Thực Vật, 2006)

Khoáng (K)	Sinh khối khô (g/lít) của chủng nấm		Trung bình (khoáng)
	T-BM2a	T-OM2a	
Đối chứng	2,00 e	1,38 b	1,69 cd
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (14 mmol)	2,75 cd	3,38 a	3,06 b
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (28 mmol)	2,88 bc	3,38 a	3,13 ab
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (56 mmol)	2,88 bc	3,75 a	3,17 ab
NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub> (14 mmol)	3,38 a	3,25 a	3,31 ab
NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub> (28 mmol)	3,25 ab	3,50 a	3,36 ab
NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub> (56 mmol)	3,38 a	3,50 a	3,43 a
CO(NH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> (14 mmol)	2,25 e	0,50 c	1,38 de
CO(NH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> (28 mmol)	2,33 de	0,50 c	1,29 e
CO(NH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> (56 mmol)	0,50 f	0,50 c	0,50 f (*)
Trung bình (chủng nấm)	2,56 A	2,22 B (**)	

CV (%) = 13,3

Ghi chú: (\*) Trong cùng một cột, đối với mỗi chủng nấm, các số liệu mang cùng mẫu tự theo sau thì không khác biệt nhau ở độ ý nghĩa 5% qua phép thử Duncan.

(\*\*) So sánh phép thử Duncan trung bình chủng nấm theo hàng (chữ in).

**Bảng 6: Tác động của N đến mật số bào tử (logarit) của hai chủng nấm *Trichoderma* T-BM2a và T-OM2a trong môi trường PDB sau 7 ngày nuôi cấy**

(Bộ môn Bảo Vệ Thực Vật, 2006)

Khoáng (K)	log mật số bào tử của chủng nấm		Trung bình (khoáng)
	T-BM2a	T-OM2a	
Đối chứng	6,31 e	6,76 e	6,54 f
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (14 mmol)	7,45 abc	8,52 bc	7,98 b
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (28 mmol)	7,41 abc	8,84 a	8,12 a
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (56 mmol)	7,29 bcd	8,66 ab	7,75 c
NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub> (14 mmol)	7,51 a	8,39 c	7,95 b
NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub> (28 mmol)	7,45 abc	8,39 c	7,85 bc
NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub> (56 mmol)	7,28 cd	8,34 c	7,73 c
CO(NH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> (14 mmol)	7,46 ab	7,17 d	7,31 d
CO(NH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> (28 mmol)	7,14 d	6,84 e	6,97 e
CO(NH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> (56 mmol)	6,02 f	6,60 f	6,31 g (*)
Trung bình (chủng nấm)	7,13 B	7,78 A (**)	

CV (%) = 1,5

Ghi chú: (\*) Trong cùng một cột, đối với mỗi chủng nấm, các số liệu mang cùng mẫu tự theo sau thì không khác biệt nhau ở độ ý nghĩa 5% qua phép thử Duncan.

(\*\*) So sánh phép thử Duncan trung bình chủng nấm theo hàng (chữ in).

Việc bổ sung CO(NH<sub>2</sub>)<sub>2</sub> ở nồng độ cao (56 mmol) vào môi trường nuôi cấy đã ức chế sự phát triển và quá trình hình thành bào tử của nấm do:

- Đạm ammonium là nguồn đạm hữu dụng nhất trong nuôi cấy *Trichoderma* (Papavizas, 1985; Kubicek-Pranz, 1998). Mặc dù đạm ở dạng CO(NH<sub>2</sub>)<sub>2</sub> cũng thích hợp cho sự sinh bào tử của nấm nhưng nấm không thể sử dụng trực tiếp

dạng đạm này mà cần có một quá trình phân hủy  $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$  thành đạm ammonium dưới tác dụng của men urease (Phạm Văn Kim, 2003). Bên cạnh đó, do khả năng tiết urease yếu nên ở thời điểm 7 ngày sau khi nuôi cấy, hai chủng nấm T-BM2a và T-OM2a chưa thể sử dụng đạm urea một cách hiệu quả

- pH của môi trường nuôi cấy sau khi bổ sung khoáng  $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$  ở các nồng độ 14, 28 và 56 mmol lần lượt là 7,47; 8,11 và 8,58 đã góp phần vào việc ức chế sự phát triển và sinh bào tử của hai chủng nấm T-BM2a và T-OM2a vì theo Domsch và Gams (1980), Papavizas (1985) thì nấm *Trichoderma* phát triển tốt trong môi trường có tính acid nhẹ và sẽ bị ức chế mạnh trong môi trường trung tính hoặc kiềm.

Như vậy, trong ba dạng đạm được bổ sung vào môi trường PDB thì  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  ở nồng độ 28 mmol tỏ ra có hiệu quả nhất trong việc kích thích sự phát triển và sản sinh bào tử của cả hai chủng nấm *Trichoderma* T-BM2a và T-OM2a. Kết quả này cũng phù hợp với những nghiên cứu trước đó của Papavizas (1985), Kubicek-Pranz (1998), Jayaraj và Ramabadran (1998), Celar (2003) về dinh dưỡng đạm của nấm *Trichoderma*.

### **3.4 Tác động của P, K, Ca và Mg đến sinh khối khô và mật số bào tử của hai chủng nấm *Trichoderma* T-BM2a và T-OM2a trong môi trường PDB**

Hai chủng *Trichoderma* T-BM2a và T-OM2a thể hiện sự đáp ứng khác nhau với các dinh dưỡng khoáng P, K, Ca và Mg khi được nuôi cấy trong môi trường PDB. Ở nghiệm thức đối chứng, sinh khối của chủng *Trichoderma* T-OM2a (1,13 g/lít) thấp hơn so với sinh khối của chủng *Trichoderma* T-BM2a (1,63 g/lít) nhưng ở các nghiệm thức có bổ sung khoáng, sinh khối của chủng T-OM2a lại cao hơn hoặc tương đương với sinh khối chủng T-BM2a trong cùng điều kiện. Kết quả này cho thấy chủng *Trichoderma* T-OM2a nhạy cảm với các khoáng P, K, Ca và Mg hơn chủng T-BM2a khi được nuôi cấy trong môi trường lỏng PDB (Bảng 7).

Việc bổ sung  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  vào môi trường nuôi cấy đã làm tăng sinh khối của chủng *Trichoderma* T-OM2a cũng như số lượng bào tử tạo thành của cả hai chủng nấm T-BM2a và T-OM2a (đặc biệt ở nồng độ 4  $\mu\text{mol}$ ). So với lúc được bổ sung vào môi trường PDA thì trong môi trường PDB, bên cạnh chức năng cung cấp các ion phosphate và potassium hữu dụng cho nấm, khoáng P, K đã phát huy tốt hơn vai trò chất đệm, làm giảm ảnh hưởng của việc thay đổi pH môi trường do sự phát triển và trao đổi chất của nấm gây ra nên đã có những tác động tích cực hơn lên sự sinh trưởng của nấm (Bilgrami và Verma, 1978).

Kết quả thí nghiệm cũng cho thấy có sự khác biệt thống kê về sinh khối ở mức ý nghĩa 5% giữa các nghiệm thức có bổ sung calcium (dạng  $\text{CaSO}_4$ ) và magnesium (dạng  $\text{MgSO}_4$ ) so với nghiệm thức đối chứng (Bảng 7). Ở các nồng độ thí nghiệm, cả hai loại dinh dưỡng khoáng này đều giúp hai chủng nấm *Trichoderma* T-BM2a và T-OM2a sinh nhiều bào tử (ngoại trừ  $\text{CaSO}_4$  nồng độ 0,625 và 2,50 mmol cho hiệu quả chưa cao đối sự hình thành bào tử của chủng T-BM2a) (Bảng 8).

**Bảng 7: Tác động của P, K, Ca và Mg đến sinh khối khô (g/lít) của hai chủng nấm Trichoderma T-BM2a và T-OM2a trong môi trường PDB sau 7 ngày nuôi cấy**

(Bộ môn Bảo Vệ Thực Vật, 2006)

Khoáng (K)	Sinh khối khô (g/lít) của chủng nấm		Trung bình (khoáng)
	T-BM2a	T-OM2a	
Đối chứng	1,63 d	1,13 d	1,38 b
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> (2 µmol)	2,13 bcd	3,13 abc	2,63 a
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> (4 µmol)	2,13 bcd	3,17 abc	2,57 a
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> (8 µmol)	2,00 cd	3,50 ab	2,75 a
CaSO <sub>4</sub> (0,625 mmol)	2,50 abc	2,83 bc	2,64 a
CaSO <sub>4</sub> (1,25 mmol)	2,50 abc	2,67 c	2,57 a
CaSO <sub>4</sub> (2,50 mmol)	2,83 ab	2,83 bc	2,83 a
MgSO <sub>4</sub> (8 µmol)	2,25 a-d	3,75 a	3,00 a
MgSO <sub>4</sub> (16 µmol)	2,88 a	3,33 abc	3,07 a
MgSO <sub>4</sub> (32 µmol)	2,63 abc	2,88 bc	2,75 a (*)
Trung bình (chủng nấm)	2,33 B	2,91 A (**)	

CV (%) = 17,3

Ghi chú: (\*) Trong cùng một cột, đối với mỗi chủng nấm, các số liệu mang cùng mẫu tự theo sau thì không khác biệt nhau ở độ ý nghĩa 5% qua phép thử Duncan.

(\*\*) So sánh phép thử Duncan trung bình chủng nấm theo hàng (chữ in).

**Bảng 8: Tác động của P, K, Ca và Mg mật số bào tử (logarit) của hai chủng nấm Trichoderma T-BM2a và T-OM2a trong môi trường PDB sau 7 ngày nuôi cấy**

(Bộ môn Bảo Vệ Thực Vật, 2006)

Khoáng (K)	log mật số bào tử của chủng nấm		Trung bình (khoáng)
	T-BM2a	T-OM2a	
Đối chứng	6,30 e	6,99 f	6,65 d
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> (2 µmol)	7,40 b	8,08 e	7,74 b
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> (4 µmol)	7,72 a	8,33 abc	7,98 a
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> (8 µmol)	7,51 b	8,27 bcd	7,89 a
CaSO <sub>4</sub> (0,625 mmol)	6,35 de	8,50 a	7,27 c
CaSO <sub>4</sub> (1,25 mmol)	6,48 d	8,45 a	7,33 c
CaSO <sub>4</sub> (2,50 mmol)	6,43 de	8,25 bcd	7,34 c
MgSO <sub>4</sub> (8 µmol)	6,82 c	8,16 cde	7,49 c
MgSO <sub>4</sub> (16 µmol)	6,89 c	8,13 de	7,42 c
MgSO <sub>4</sub> (32 µmol)	6,92 c	8,41 ab	7,67 b (*)
Trung bình (chủng nấm)	6,90 B	8,13 A (**)	

CV (%) = 17,3

Ghi chú: (\*) Trong cùng một cột, đối với mỗi chủng nấm, các số liệu mang cùng mẫu tự theo sau thì không khác biệt nhau ở độ ý nghĩa 5% qua phép thử Duncan.

(\*\*) So sánh phép thử Duncan trung bình chủng nấm theo hàng (chữ in).

Như vậy, việc nuôi cấy trong môi trường lỏng ở điều kiện được lắc liên tục giúp tăng sự tiếp xúc giữa nấm và các dinh dưỡng khoáng, tạo điều kiện thích hợp cho sự phát triển của sợi nấm... đã phát huy vai trò của các khoáng N, P, K, Ca và Mg lên sự phát triển và khả năng sản sinh bào tử của cả hai chủng T-BM2a và T-OM2a rõ nét hơn so với khi nuôi cấy trong môi trường có thạch.



#### 4 KẾT LUẬN

Cả hai chủng *Trichoderma* T-BM2a và T-OM2a đều đáp ứng tốt hơn với sự hiện diện của các khoáng N, P, K, Ca và Mg khi được nuôi cấy trong môi trường PDB.

Việc cung cấp đậm dạng  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  ở nồng độ 28 mmol là tốt nhất cho sự phát triển sợi nấm và khả năng sinh bào tử của cả hai chủng *Trichoderma* T-BM2a và T-OM2a. Đạm  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  (14; 28; 56 mmol) và  $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$  (14, 28 mmol) cũng có hiệu quả trong việc kích thích sự phát triển của hai chủng nấm này.

Các dạng khoáng  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (4  $\mu\text{m}$ ),  $\text{CaSO}_4$  (1,25 mmol) và  $\text{MgSO}_4$  (32  $\mu\text{m}$ ) cũng cần thiết cho quá trình phát triển và hoạt động sinh bào tử của hai chủng nấm *Trichoderma* T-BM2a và T-OM2a.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Bilgrami, K.S., Verma, R.N., 1978. Physiology of fungi. Vikas Publishing House. Pvt LTD. 506p.
- Celar, F., 2003. Competition for ammonium and nitrate forms of nitrogen between some phytopathogenic and antagonistic soil fungi. (<http://www.elsevier.com/locate/ybcon>, search date: 2004 )
- Domsch, K.H., Gams, W., 1980. Compendium of soil fungi. Academic Press.
- Duong Minh, Do Thi Trang Nha, Pham Van Kim, 2001. The primary antagonism of local isolates of *Trichoderma* spp. on the *Fusarium solani* isolates, the causal agent of citrus root rot disease of the Mekong delta of Vietnam. Proceeding of the final Workshop of Vietnamese-Belgian IPM in Fruit Production Project (1997 - 2001).
- Dương Minh, Lê Lâm Cường, Ester Vandersmissen, Jozef Coosemans, Phạm Văn Kim, 2003. Khả năng đối kháng của các chủng nấm *Trichoderma* spp. nội địa đối với bệnh thối rễ cam quýt do nấm *Fusarium solani* tại đồng bằng sông Cửu Long. trong: Tạp chí khoa học Đại học Cần Thơ. Trang: 1- 9.
- Hứa Hoàng Gia Khương, 2005. Ảnh hưởng các dinh dưỡng khoáng N, P, K, Ca và Mg lên khả năng phát triển khuẩn lạc và sự hình thành bào tử của hai chủng *Trichoderma* T-BM2a và T-OM2a. . LVTNĐH, khoa Nông Nghiệp và Sinh Học Ứng Dụng, ĐHCT. 44p.
- Jayaraj, J., Ramabadran, R., 1998. Effect of certain nitrogenous sources on the in-vitro growth, sporulation and production of antifungal substances by *Trichoderma harzianum*. in: Journal of Mycology and Plant Pathology. 28 (1): 23-25. (Abstract).
- Kubicek-Pranz, E.M., 1998. Nutrition, cellular structure and basic metabolic pathways in *Trichoderma* and *Gliocladium*. in: *Trichoderma and Gliocladium*. Taylor & Francis Ltd. pp: 95-119.
- Papavizas, G.C., 1985. *Trichoderma* and *Gliocladium*: Biology, ecology and potential for biocontrol. Ann. Rev. Phytopathol. 23: 23-54.
- Phạm Văn Kim, 2003. Sinh lý và sinh thái của nấm. Tp Cần Thơ. NXB Đại học Cần Thơ. 114p.