

NGHIÊN CỨU SẢN XUẤT CHẾ PHẨM TRICÔ - VTN PHÒNG TRỪ BỆNH DO NẤM *Phytophthora* TRÊN CÂY TIÊU TẠI TÂY NGUYÊN

Trần Kim Loang¹, Lê Đình Đôn² và CS.*

SUMMARY

Study on Tricô - VTN production to control *Phytophthora* diseases on black pepper in Western Highlands

154 *Trichoderma* isolates were collected from roots and soil of cocoa, black pepper, durian plantations and smallholders in Western Highlands to select *Phytophthora* antagonists. Five *Trichoderma* isolates belonging to 2 species *T. virens* and *T. asperellum* named as T2, T18, T26, T39 and T56 were selected. They are able to antagonise well to 3 pathogenic strains of *P. palmivora* and 1 pathogenic strain of *P. capsici* in Western Highlands.

Tricô - VTN is a *Trichoderma* product made from these selected *Trichoderma* isolates. The trials were carried out in screen house and in the fields for testing the effect of Tricô - VTN in *Phytophthora* disease management on black pepper. Four months after treating Tricô - VTN at concentrations of 0,3% and 0,4% in screen house, the percentage of *Phytophthora* infected trees and died trees is significantly lower than that of control and other treatments. The effect is more than 80%. In the field, the application of Tricô - VTN with 10 - 15g/tree can reduce the increase and spread of *Phytophthora* diseases on black pepper plantations in Cukuin, EaH'Leo district (Daklak province) and Chu Se district (Gia Lai province).

I. ĐẶT VẤN ĐỀ¹

Với lợi thế về đất đai và khí hậu, Tây Nguyên là vùng có thể phát triển nhiều loại cây công nghiệp và cây ăn quả có giá trị kinh tế cao như cà phê, ca cao, hồ tiêu, sầu riêng. Tuy nhiên, ngoại trừ cây cà phê thì đây cũng là các cây rất mẫn cảm với bệnh do nấm *Phytophthora*. Nông dân tại đây có tập quán đầu tư, thâm canh cao; Lượng phân bón vô cơ và hóa chất bảo vệ thực vật hàng năm được sử dụng tại Tây Nguyên phải tính đến hàng trăm nghìn tấn. Trong khi đó, việc áp dụng các kỹ thuật tiến bộ về công nghệ sinh học cũng như công nghệ vi sinh trong trồng trọt tại đây còn rất nhiều hạn chế, nông dân chưa có thói quen sử dụng các chế phẩm sinh học. Trong những năm gần đây, tại Việt Nam đã có một số công trình nghiên cứu thành công trong sử dụng nấm đối kháng *Trichoderma* để phòng trừ một số bệnh hại cây trồng. Tuy nhiên, các loài nấm đối kháng nói chung và nấm *Trichoderma* nói riêng

chỉ phát huy được hiệu quả phòng trừ bệnh trong một số điều kiện môi trường nhất định. Vì vậy, ứng dụng công nghệ vi sinh để sản xuất các chế phẩm sinh học từ các loài *Trichoderma* bản địa có khả năng đối kháng cao với các loài nấm gây bệnh tại Tây Nguyên là hướng đi đúng đắn để thúc đẩy phát triển kinh tế - xã hội khu vực nông thôn miền núi theo hướng công nghiệp hóa, hiện đại hóa đồng thời bảo vệ được môi trường và sức khỏe con người.

II. NỘI DUNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Thu thập và chọn lọc các chủng nấm *Trichoderma* có khả năng đối kháng cao với nấm *Phytophthora* gây hại cây tiêu, ca cao và sầu riêng tại Tây Nguyên

- Các mẫu đất và rễ của cây tiêu, ca cao và sầu riêng được thu thập tại các vùng trồng chính ở tỉnh Đắk Lắk, Đắk Nông và Gia Lai. Nấm *Trichoderma* được phân lập trên môi trường PDA và PRBA, tách thuần trên môi trường PDA (Samuels, 2004).

- Định tính hoạt độ enzym chitinase, β - glucanase và cellulase của các isolate *Trichoderma*

¹ Khoa Khọc kỹ thuật Nông lâm nghiệp Tây Nguyên.

² Trường Đại học Nông lâm Tp. Hồ Chí Minh.

* Ngô Thị Xuân Thịnh¹, Nguyễn Thị Tiến Sỹ¹.

đã thu thập bằng phương pháp đo đường kính vòng phân giải trên môi trường cảm ứng tổng hợp của các enzym cần định tính (theo phương pháp của El - Katatny và cộng sự, 2001).

- Đánh giá khả năng đối kháng nấm *Phytophthora* của các isolate *Trichoderma* trên môi trường PDA theo phương pháp của Bradshaw - Smith và cộng sự (1991).

- Định danh các isolate *Trichoderma* đã chọn lọc bằng hình thái theo khóa phân loại của Samuels (2004) và bằng kỹ thuật sinh học phân tử. Kết quả giải trình tự được xử lý bằng phần mềm Clustal X, so sánh với dữ liệu của NCBI và đăng ký trên Ngân hàng Gen thế giới.

2. Nghiên cứu sản xuất chế phẩm Tricô - VTN

Áp dụng phương pháp nhân sinh khối nấm *Trichoderma* của Papavizas và cộng sự (1984) để nhân sinh khối cấp 1 trên môi trường lỏng. Nguồn nấm sau khi nhân sinh khối cấp 1 được sử dụng trong các thí nghiệm nghiên cứu sản xuất chế phẩm Tricô - VTN. Gồm các thí nghiệm: Nghiên cứu thành phần cơ chất của môi trường nhân sinh khối; Nghiên cứu tỷ lệ phối trộn cơ chất của môi trường nhân sinh khối; Nghiên cứu phương pháp bảo quản sản phẩm đã nhân sinh khối.

3. Đánh giá hiệu lực phòng trừ nấm *Phytophthora* của chế phẩm Tricô - VTN

3.1. Thí nghiệm thăm dò liều lượng xử lý chế phẩm Tricô - VTN phòng trừ bệnh do nấm *Phytophthora* trên cây tiêu trong nhà lưới

Thí nghiệm được bố trí theo khối đầy đủ ngẫu nhiên, gồm 6 công thức, mỗi công thức 5 cây, lặp lại 5 lần. 4 công thức tưới Tricô - VTN với nồng độ 0,1; 0,2; 0,3 và 0,4%; 1 công thức đối chứng lây bệnh, không xử lý Tricô - VTN và 1 công thức đối chứng không lây bệnh, không xử lý Tricô - VTN.

Chế phẩm Tricô - VTN được trộn vào đất (với lượng 1 g chế phẩm/cây) cùng với phân chuồng trước khi trồng cây (theo tỷ lệ 1 phân chuồng : 3 đất). Trước khi lây bệnh 1 tuần và sau khi lây bệnh tưới bổ sung chế phẩm Tricô - VTN

theo các nồng độ thí nghiệm. Các công thức được lây bệnh nhân tạo bằng phương pháp lây thạch nấm vào đất và phun bào tử động lên lá (Drenth và Sendall, 2004) khi cây có 2 - 3 lá. Lây phối hợp 2 loài nấm *Phytophthora palmivora* và *P. capsici*.

Hiệu lực thuốc được tính theo công thức Abbott.

3.2. Thí nghiệm thăm dò liều lượng xử lý chế phẩm Tricô - VTN phòng trừ bệnh do nấm *Phytophthora* trên vườn tiêu đang cho quả.

Thí nghiệm thực hiện tại xã EaBHok, huyện Cư Kuin, tỉnh Đắk Lắk trên vườn tiêu trồng năm 2003, trụ muông đen, khoảng cách 3 m × 3 m. Thí nghiệm được bố trí theo khối đầy đủ ngẫu nhiên, gồm 6 công thức, nhắc lại 3 lần. Gồm 3 công thức tưới Tricô - VTN vào gốc tiêu với lượng 5, 10, 15 g/2 lít nước, 1 công thức tưới 5 g Tricô - VTN/2 lít nước + bón bổ sung 5 kg phân bò/gốc/năm, 1 công thức bón phân bò (10 kg/cây/năm) và 1 công thức đối chứng (không bón phân bò và Tricô - VTN).

Chế phẩm Tricô - VTN được xử lý 4 lần/năm từ đầu mùa mưa, 2 tháng một lần.

3.3. Thử nghiệm đánh giá hiệu lực phòng trừ bệnh do nấm *Phytophthora* của chế phẩm *Trichoderma* trên cây tiêu trong giai đoạn kinh doanh

Thử nghiệm được thực hiện trên 2 vườn tiêu kinh doanh trồng năm 2001 và 2002 tại xã EaH'Leo, huyện EaH'Leo, tỉnh Đắk Lắk và xã IaBlang, huyện Chư Sê, tỉnh Gia Lai. Mỗi thử nghiệm gồm 4 công thức, mỗi công thức 0,1 ha, không nhắc lại.

CT1: Tưới 10 g chế phẩm *Trichoderma*/2 lít nước/cây vào đất

CT2: Tưới 5 g chế phẩm *Trichoderma*/2 lít nước/cây vào đất + 5 kg phân bò

CT3: Bón phân bò (10 kg/cây/năm)

CT4: Đối chứng (không bón phân bò, không xử lý *Trichoderma*)

Chế phẩm Tricô - VTN được xử lý 4 lần/năm từ đầu mùa mưa, 2 tháng một lần.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

1. Thu thập và chọn lọc các chủng nấm *Trichoderma* có khả năng đối kháng cao với nấm *Phytophthora* và *Fusarium* gây hại cây tiêu, ca cao và sầu riêng tại Tây Nguyên

Trong 2 năm 2006 và 2007, đề tài đã phân lập được 154 isolate *Trichoderma* tại các vùng trồng ca cao, tiêu và sầu riêng của 3 tỉnh Đắk Lắk, Đắk Nông và Gia Lai. Trong số đó có 114 isolate được thu thập trên cây tiêu, chiếm khoảng 74% tổng số isolate đã thu thập.

Sau khi đánh giá định tính hoạt độ enzym chitinase, β - glucanase và cellulase của 154

isolate *Trichoderma* đã phân lập, chúng tôi sơ bộ chọn lọc được 21 isolate *Trichoderma* có hoạt độ enzym chitinase, β - glucanase, cellulase cao hơn các isolate khác. Sau đó 21 isolate này đã được đánh giá khả năng đối kháng với nấm *Phytophthora* trong phòng thí nghiệm và chọn được 5 isolate có khả năng đối kháng cao là: T2, T18, T26, T39 và T56.

Kết quả định danh bằng kỹ thuật sinh học phân tử đã xác định được 2 loài *Trichoderma* trong 5 isolate *Trichoderma* đã chọn lọc trên là: *Trichoderma virens* và *Trichoderma asperellum*.

Bảng 1. Kết quả định danh bằng kỹ thuật sinh học phân tử

TT	Ký hiệu mẫu	Tên loài	Bộ phận phân lập	Cây trồng	Địa điểm thu thập	Mã số đăng ký trên Ngân hàng Gen thế giới
1	T2	<i>T. virens</i>	Lá	Tiêu	Mang Yang (Gia Lai)	FJ884745
2	T18	<i>T. asperellum</i>	Lá	Ca cao	TP. BMT (Đắk Lắk)	FJ884746
3	T26	<i>T. virens</i>	Quả	Ca cao	TP. BMT (Đắk Lắk)	FJ884747
4	T39	<i>T. virens</i>	Rễ	Tiêu	Cư M'Gar (Đắk Lắk)	FJ884748
5	T56	<i>T. virens</i>	Rễ	Tiêu	Cư M'Gar (Đắk Lắk)	FJ884749

2. Nghiên cứu sản xuất chế phẩm Tricô - VTN

Kết quả nghiên cứu đã xác định thóc và cám bắp là hai môi trường nhân sinh khối cho mật số bào tử nấm *Trichoderma* trên 10^9 bào tử/g sản

phẩm. Sản phẩm khi không bổ sung phụ gia có thể bảo quản được 12 tháng trong điều kiện nhiệt độ 20 - 25⁰C. Từ các kết quả này đề tài đã xây dựng quy trình sản xuất chế phẩm Tricô - VTN.

3. Đánh giá hiệu lực phòng trừ nấm *Phytophthora* của chế phẩm Tricô - VTN

3.1. Thăm dò liều lượng xử lý chế phẩm Tricô - VTN phòng trừ bệnh do nấm *Phytophthora* trên cây tiêu trong nhà lưới

Bảng 2. Hiệu lực phòng trừ bệnh do nấm *Phytophthora* của chế phẩm Tricô - VTN trên cây tiêu trong nhà lưới sau 4 tháng lây bệnh (%)

TT	Công thức	Cây bệnh		Cây chết	
		Tỷ lệ	Hiệu lực	Tỷ lệ	Hiệu lực
1	Lây bệnh, xử lý 0,1%	44 b	35,29	40 b	37,50
2	Lây bệnh, xử lý 0,2%	32 b	52,94	32 bc	50,00
3	Lây bệnh, xử lý 0,3%	12 c	82,35	12 d	81,25
4	Lây bệnh, xử lý 0,4%	12 c	82,35	12 d	81,25
5	Lây bệnh, không xử lý	68 a		64 a	
6	Không lây bệnh, không xử lý	16 c		16 cd	

Kết quả trong bảng 2 cho thấy, sau 4 tháng lây bệnh, các công thức xử lý Tricô - VTN ở nồng độ 0,3% và 0,4% có tỷ lệ cây bệnh và cây chết thấp nhất và sai khác có ý nghĩa thống kê với các công thức khác. Tỷ lệ cây chết của các

công thức 1 và 2 thấp hơn có ý nghĩa so với công thức 5 nhưng vẫn rất cao (trên 30%). Sau 4 tháng lây bệnh, hiệu lực của chế phẩm Tricô - VTN khi xử lý trong nhà lưới ở nồng độ 0,3% và 0,4% đạt trên 80%.

3.2. Thăm dò liều lượng và đánh giá hiệu lực phòng bệnh do nấm *Phytophthora* trên cây tiêu của chế phẩm Tricô - VTN trên đồng ruộng

Bảng 3. Chỉ số bệnh do nấm *Phytophthora* trước và sau khi xử lý chế phẩm Tricô - VTN tại huyện EaH'Leo và Chư Sê (%)

TT	Công thức	EaH'Leo				Chư Sê			
		TXL	SXL 6 T	SXL 12 T	SXL 18 T	TXL	SXL 6 T	SXL 12 T	SXL 18 T
1	10 g Tricô - VTN gốc/lần	0,60	2,68	2,68	2,53	1,11	4,17	4,31	5,83
2	5 g Tricô - VTN/gốc/lần + 5 kg phân bò/gốc/năm	0,15	1,49	1,49	1,49	2,64	2,92	4,31	5,42
3	10 kg phân bò/gốc/năm	0,00	0,00	1,49	1,93	1,81	5,42	5,97	7,78
4	Đối chứng	0,15	2,68	3,57	3,57	1,67	2,92	9,72	16,67

Sau 18 tháng thí nghiệm, tỷ lệ bệnh, chỉ số bệnh và tỷ lệ dây tiêu chết do nấm *Phytophthora* của công thức đối chứng đều tăng trên 3%. Trong khi đó, ở các công thức xử lý Tricô - VTN và phân hữu cơ các chỉ tiêu này không tăng hoặc tăng rất ít. Công thức có mức độ bệnh tăng cao nhất trong các công thức xử lý là công thức xử lý 5 g Tricô - VTN/gốc/lần (chỉ số bệnh tăng 0,92% và tỷ lệ dây chết tăng 1,23%).

Tại cả 2 điểm thử nghiệm, kết quả đều cho thấy xử lý chế phẩm Tricô - VTN kết hợp với phân hữu cơ đã góp phần làm tăng hiệu lực phòng bệnh của chế phẩm.

IV. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

1. Kết luận

- Đã chọn lọc được 5 mẫu nấm *Trichoderma* có hoạt tính enzym chitinase, β - glucanase cao và khả năng đối kháng cao với nấm *P. capsici* và *P. palmivora* gây hại cây tiêu, ca cao và sắn riêng tại Tây Nguyên gồm 2 loài *T. virens* và *T. asperellum*.

- Đã xây dựng được quy trình sản xuất chế phẩm Tricô - VTN với thóc và cám bắp là hai môi trường nhân sinh khối cho mật số bào tử nấm *Trichoderma* trên 10^9 bào tử/g sản phẩm.

- Xử lý Tricô - VTN với nồng độ 0,3 - 0,4% mỗi tháng một lần, hạn chế được sự phát triển và gây hại của bệnh do nấm *Phytophthora* trên cây tiêu và cây ca cao trong vườn ươm. Trên đồng ruộng, xử lý chế phẩm Tricô - VTN với lượng 10 - 15 g/gốc, 4 lần từ đầu mùa mưa, cách nhau 2 tháng kết hợp với bón phân hữu cơ, phân bón lá, vệ sinh đồng ruộng và tiêu thoát có thể hạn chế sự phát triển và lây lan của bệnh do nấm *Phytophthora* gây hại trên cây tiêu.

2. Đề nghị

- Tiếp tục nghiên cứu hoàn thiện quy trình sản xuất chế phẩm Tricô - VTN.
- Sản xuất thử chế phẩm Tricô - VTN với quy mô lớn.
- Tiếp tục chọn lọc các chủng *Trichoderma* có khả năng đối kháng cao với các loài nấm gây hại chính trên nhiều loại cây trồng tại Tây Nguyên.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Drenth A., Sendall B., (2004), "Isolation of *Phytophthora* from infected plant tissue and soil, and principles of species identification", Diversity and management of *Phytophthora* in Southeast Asia, Canberra, Australia, pp. 94 - 102.

El - katarly M. H., Gudelj M., Robra K.H., Elnaghy M.A., Gübitz G.M., (2001), Characterization of a chitinase and an endo - β - 1,3 - glucanase from *Trichoderma harzianum* Rifai T24 involved in control of the phytopathogen *Sclerotium rolfsii*, Appl Microbiol biotechnol 56 (1 - 2), p.137 - 143.

Nguyễn Thân (2004), Chọn lọc và nhân sinh khối nấm *Trichoderma* đối kháng với nấm *Phytophthora* gây hại cây trồng, Luận văn Thạc sĩ, Trường Đại học Nông Lâm TP. Hồ Chí Minh, 97 trang.

Trần Thị Thuần (1998), Hiệu quả đối kháng của nấm *Trichoderma* với nấm gây bệnh hại cây trồng, Tạp chí Bảo vệ thực vật, số 4, trang 35 - 38.

Đào Đức Thức, Lê Lương Tê (1999), "Một số kết quả nghiên cứu về nấm đối kháng *Trichoderma*", Tạp chí Bảo vệ thực vật, Viện Bảo vệ thực vật, Cục Bảo vệ thực vật, (4), tr. 23 - 27.

Nguyễn Văn Tuất, Lê Văn Thuyết (2001), Sản xuất chế biến và sử dụng thuốc bảo vệ thực vật thảo mộc và sinh học, NXB. Nông nghiệp.

Samuels G.J., (2004), *Trichoderma* a guide to identification and biology, USA, 40 pages.