

KHẢ NĂNG ĐỐI KHÁNG CỦA NẤM TRICHODERMA SPP. VỚI NẤM SCLEROTIUM SPP. GÂY BỆNH THỐI THÂN, LÁ TRÊN LAN MOKARA VÀ DENDROBIUM

Đỗ Lương Ngọc Châu, Nguyễn Anh Dũng
Trường Đại học Thủ Dầu Một

TÓM TẮT

Nghiên cứu đã tiến hành khảo sát khả năng đối kháng trên môi trường PGA của 8 chủng Trichoderma spp. với 2 chủng nấm Sclerotium spp. gây bệnh thối thân, thối lá trên lan Mokara và Dendrobium. Kết quả ở tất cả nghiệm thức đều cho thấy khả năng đối kháng của Trichoderma spp. với Sclerotium spp.. Đặc biệt, hai chủng Tr6 và Tr7 có khả năng đối kháng mạnh với cả hai chủng nấm bệnh NB1 và NB2 với hiệu suất đối kháng là 100% chỉ sau 7 ngày nuôi cấy.

Từ khóa: nấm, đối kháng, thối thân, thối lá, lan

1. MỞ ĐẦU

Hoa lan là loại cây ưa ẩm nên rất dễ mắc các bệnh do nấm gây ra. Một trong số đó là nấm *Sclerotium* với một số bệnh thường gặp như héo rễ, thối thân, thối lá... Việc phòng trừ những bệnh này chủ yếu dùng thuốc hóa học (phun xịt) [13][15][16]. Việc dùng thuốc hóa học lâu ngày có thể dẫn đến lờn thuốc, gây ô nhiễm môi trường. Việc tìm biện pháp sinh học có thể khống chế nấm *Sclerotium*, thay thế dần các loại thuốc diệt nấm là rất cần thiết [14][17].

Nấm *Trichoderma* với các cơ chế ký sinh, cạnh tranh dinh dưỡng và đặc biệt có khả năng sinh kháng sinh Glyotoxin được ứng dụng để bảo vệ cây trồng chống các nấm và vi khuẩn gây bệnh[4]. Bài báo này cung cấp một số thông tin về khả năng đối kháng của nấm *Trichoderma* với nấm *Sclerotium* gây bệnh trên cây lan trong điều kiện phòng thí nghiệm. Kết quả của những bài báo có thể là nguồn tham khảo trong việc ứng dụng nấm *Trichoderma* như một biện pháp sinh học trong phòng trừ bệnh do nấm *Sclerotium* gây ra trên cây lan *Mokara* và *Dendrobium*.

2. ĐỐI TƯỢNG, PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

– Tám chủng nấm *Trichoderma* spp. phân lập từ đất vườn ở tỉnh Bình Dương.

– Hai chủng nấm *Sclerotium* sp. (kí hiệu NB1) gây bệnh thối thân, lá trên lan *Mokara* và *Sclerotium* sp. (kí hiệu NB2) gây bệnh thối thân, thối lá trên lan *Dendrobium* phân lập tại Bình Dương (phòng thí nghiệm vi sinh Trường Đại học Thủ Dầu Một cung cấp).

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phân lập và định danh đến chi nấm *Trichoderma* spp.

– Phân lập nấm *Trichoderma* spp. bằng cách thu các mẫu thân, lá cành mục cùng với các mẫu đất mặt tại các vùng nông nghiệp ở tỉnh Bình Dương. Cắt, pha loãng rồi cấy mẫu lên môi trường TSM [5][7][9][10].

– Các mẫu nấm nghi ngờ là nấm *Trichoderma* được tuyển chọn và tiến hành định danh đến chi bằng phương pháp cấy khối thạch và đối chiếu với khóa phân loại

nấm thuộc chi *Trichoderma* của Bùi Xuân Đồng (2004) và Nguyễn Đức Lượng (2006) [1][2][3][6][13].

2.2.2. Khảo sát khả năng đối kháng của nấm *Trichoderma* sp. với nấm *Sclerotium* spp.

- Khảo sát khả năng đối kháng của nấm *Trichoderma* spp. với nấm *Sclerotium* spp. trên môi trường PGA bằng cách cắt những miếng thạch có diện tích bằng nhau có chứa nấm *Sclerotium* spp. và *Trichoderma* spp. trên các đĩa petri trung gian. Đặt hai khối thạch vừa cắt lên đĩa petri có chứa môi trường PGA để tiến hành quá trình đối kháng. Vị trí đặt thạch cách mép đĩa khoảng 1,5cm và 2 khối thạch phải đối xứng nhau qua tâm đĩa [12].

- Công thức tính hiệu quả ức chế:

$$H = \frac{(D_{đc} - D_{tt})}{D_{đc}} \times 100$$

Trong đó: H : hiệu quả ức chế (%);
D_{đc}: bán kính khuẩn lạc nấm bệnh trên đĩa đối chứng (cm); D_{tt} : bán kính khuẩn lạc nấm bệnh trên đĩa thử thật (cm).

Với quy ước: đối kháng cao (+++): $H \geq 60\%$; đối kháng trung bình (++) : $40\% \leq H \leq 59\%$; đối kháng yếu (+): $20\% \leq H \leq 39\%$; không đối kháng (-): $H \leq 19\%$.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Phân lập nấm *Trichoderma* spp.

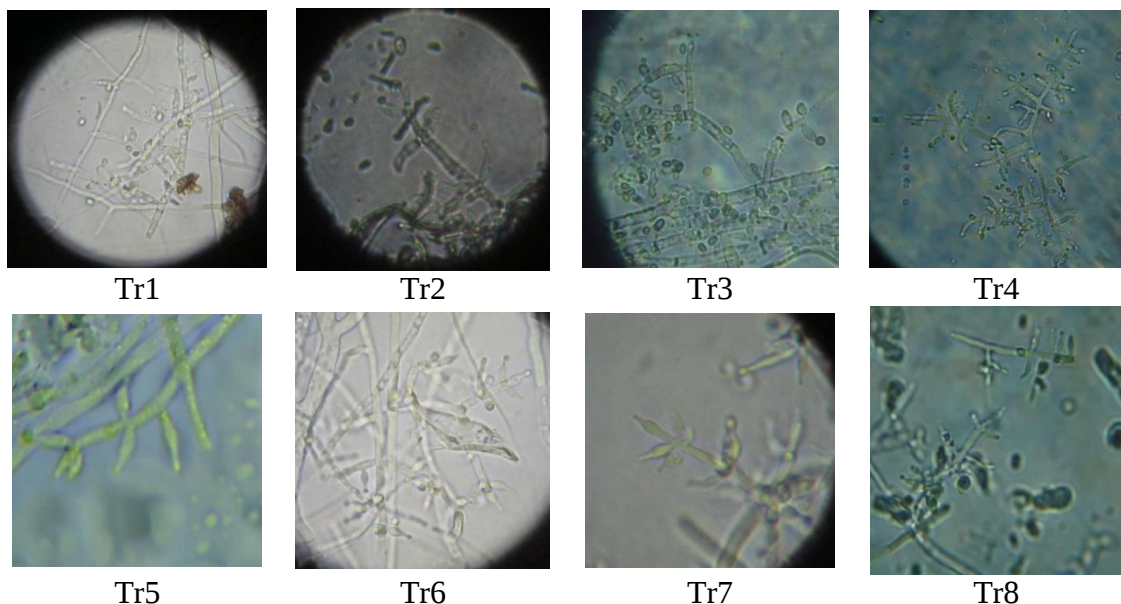
- Từ các mẫu đất, thân cây mục, lá mục... thu nhận, chúng tôi đã phân lập, quan sát các đặc điểm đại thể và vi thể, đối chiếu với khóa phân loại của Bùi Xuân Đồng (2004) và Nguyễn Đức Lượng (2006). Kết quả chúng tôi đã phân lập được 8 chủng nấm sợi có đặc điểm phân loại phù hợp với mô tả trong khóa phân loại nêu trên:

- Khuẩn lạc màu trắng đến lục, phát triển nhanh.

- Cuống sinh bào tử dài, dày hoặc dài mỏng; có hoặc không có những đoạn sợi vô sinh kéo dài ra; nhánh bên phân nhiều, ngắn và dày, mang những thể hình chai, cụm lại hoặc riêng lẻ; ngắn và mập.

- Khuẩn ty không màu.

- Bào tử liên kết thành chùm nhỏ, hình cầu, oval.



Hình 3.1. Ảnh vi thể nấm *Trichoderma* spp. phân lập ở tỉnh Bình Dương

3.2. Khảo sát khả năng đối kháng của *Trichoderma* spp. đã phân lập được với nấm *Sclerotium* spp. gây bệnh trên cây lan

Để tiến hành khảo sát khả năng đối kháng nấm bệnh của các chủng nấm *Trichoderma* spp. đã phân lập được ở trên, Chúng tôi tiến hành bố trí thí nghiệm như mục 2.2.2 trên đối tượng là 2 chủng nấm bệnh.

Sau khi bố trí thí nghiệm, chúng tôi tiến hành quan sát và ghi nhận lại bán kính khuẩn lạc nấm gây bệnh ở các nghiệm thức và tính toán hiệu suất đối kháng của nấm *Trichoderma* spp. với các đối tượng nấm bệnh tại các thời điểm 3 ngày, 5 ngày, 7 ngày.v.v...cho đến khi xuất hiện 1 nghiệm thức có hiệu suất đối kháng đạt 100% (khi nấm *Trichoderma* spp. mọc trùm lên nấm bệnh trong nghiệm thức) thì dừng quan sát.

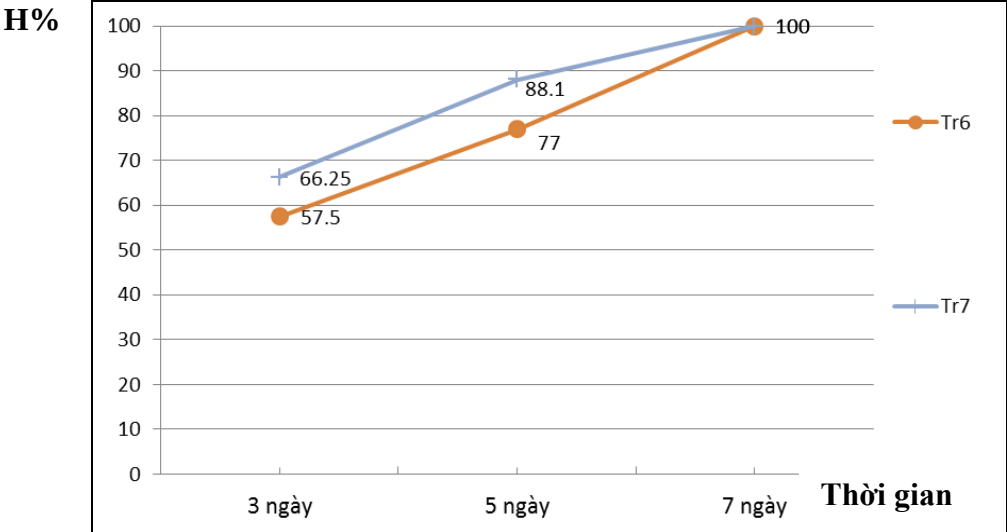
- Kết quả cho thấy các chủng Tr4, Tr5, Tr6, Tr7 cho khả năng đối kháng mạnh với cả hai chủng nấm bệnh khi hiệu suất đối kháng tăng dần theo thời gian. Đặc biệt là hai chủng Tr6 và Tr7 có khả năng đối kháng mạnh với cả hai loại nấm bệnh NB1 và NB2 khi chỉ cần 7 ngày nuôi cấy thì hiệu suất đối kháng đã đạt 100% (hình 3.4 và 3.5). Tiếp tục theo dõi các nghiệm thức

đối kháng của hai chủng này thì sau 10 ngày khuẩn lạc nấm bệnh đã hoàn toàn bị tiêu diệt và không thể mọc lại.

- Tuy nhiên, bên cạnh hai chủng Tr6 và Tr7 có khả năng đối kháng mạnh thì vẫn có những chủng như Tr1, Tr2 (thí nghiệm đối kháng NB1) hay Tr2, Tr8 (thí nghiệm đối kháng với NB2) có khả năng đối kháng yếu khi có hiệu suất đối kháng không ổn định và giảm đi đáng kể ở thời điểm 7 ngày so với hiệu suất đối kháng tại các thời điểm 3 ngày và 5 ngày. Hay ở nghiệm thức Tr1 đối kháng với nấm bệnh NB2, mặc dù khả năng đối kháng của chủng Tr1 là khá tốt khi hiệu suất đối kháng tăng dần theo thời gian đạt 60,3% sau 5 ngày nuôi cấy, nhưng tại thời điểm 7 ngày thì hiệu suất vẫn là 60,3% (bảng 3.2). Tiếp tục theo dõi thì khả năng đối kháng nấm bệnh của các chủng trên giảm dần và hầu như mất khả năng đối kháng sau 10 ngày nuôi cấy (hình 3.6 và 3.7). Nguyên nhân có thể là do các chủng này đối kháng nấm bệnh theo cơ chế chủ yếu là cạnh tranh dinh dưỡng nên phát triển nhanh trong những ngày đầu. Ngược lại nấm *Sclerotium* lại thường mọc chậm hơn trên môi trường chính vì vậy khả năng đối kháng thực sự chỉ xảy ra sau 5 – 7 ngày nuôi cấy.

Bảng 3.1. Kết quả khảo sát khả năng đối kháng của nấm *Trichoderma* spp. với nấm *Sclerotium* sp. (NB1) gây bệnh thối thân, lá trên lan Mokara.

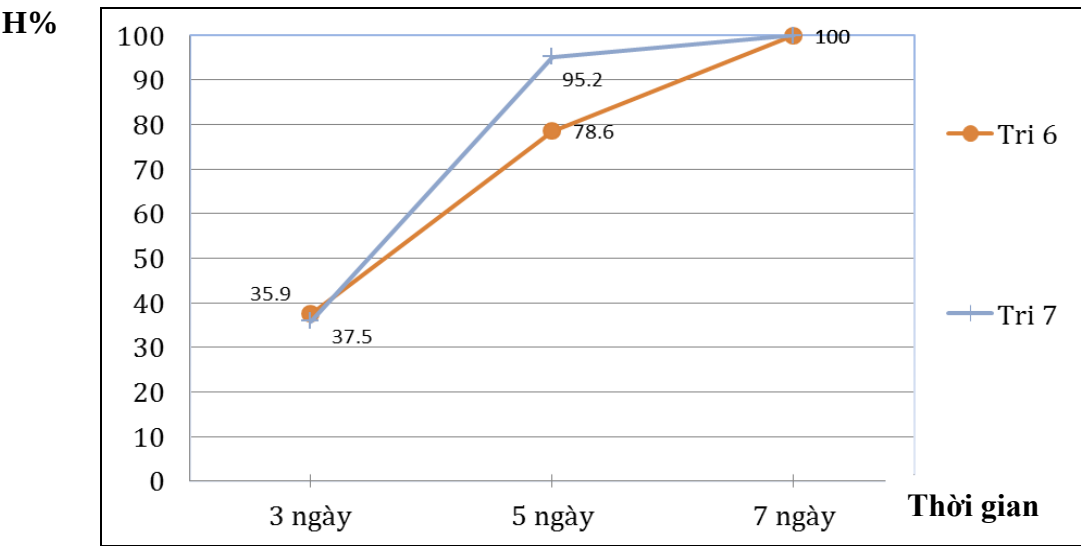
Nghiệm thức	Thời gian					
	3 ngày		5 ngày		7 ngày	
	Dtt (TB, cm)	H%	Dtt (TB, cm)	H%	Dtt (TB, cm)	H%
NT-Tr1	2,7 ± 0,1	32,5	4,5 ± 0	28,6	4,5 ± 0	28,6
NT-Tr2	1,97 ± 0,3	50,8	2,85 ± 0,5	54,8	4,5 ± 0	28,6
NT-Tr3	2,1 ± 0,3	47,5	2,2 ± 0,1	65,1	2,8 ± 0	55,6
NT-Tr4	2,6 ± 0,2	35	2,23 ± 0,1	64,6	1,7 ± 0,1	73
NT-Tr5	3,1 ± 0,1	22,5	4,6 ± 0,2	26,9	2,5 ± 0,4	60,3
NT-Tr6	1,7 ± 0	57,5	1,45 ± 0,1	77	0	100
NT-Tr7	1,35 ± 0,2	66,25	0,75 ± 0,6	88,1	0	100
NT-Tr8	1,35 ± 0,2	66,25	2,35 ± 0,1	62,7	3,7 ± 0	41,27
Đối chứng	4 cm		6.3 cm		6.3 cm	



Hình 3.2. Biểu đồ so sánh hiệu suất đối kháng của các chủng *Trichoderma* spp. với nấm *Sclerotium* sp. (NB1) trên môi trường dinh dưỡng PGA.

Bảng 3.2. Kết quả khảo sát khả năng đối kháng của nấm *Trichoderma* spp. với nấm *Sclerotium* sp. (NB2) gây bệnh thối thân, lá trên lan *Dendrobium*.

Nghiệm thức	Thời gian					
	3 ngày		5 ngày		7 ngày	
	Dtt (TB, cm)	H%	Dtt (TB, cm)	H%	Dtt (TB, cm)	H%
NT-Tr1	1,8 ± 0,1	43,8	2,5 ± 0	60,3	2,5 ± 0	60,3
NT-Tr2	1,65 ± 0,1	48,4	2,7 ± 0,56	57,1	4,5 ± 0	28,6
NT-Tr3	2,5 ± 0	21,9	3,2 ± 0	49,2	3,3 ± 0	47,6
NT-Tr4	2,17 ± 0	32,2	3 ± 0,6	52,4	1,5 ± 0,1	65,1
NT-Tr5	2,6 ± 0,2	18,8	1,5 ± 0,2	76,2	2,2 ± 0,3	76,2
NT-Tr6	2 ± 0	37,5	1,4 ± 0,1	78,6	0	100
NT-Tr7	2,1 ± 0,2	35,9	0,3 ± 0,1	95,2	0	100
NT-Tr8	1,9 ± 0,2	42,2	2,7 ± 0,2	58	4,55 ± 0,5	33,3
Đối chứng	3.2 cm		6.3 cm		6.3 cm	



Hình 3.3. Biểu đồ so sánh hiệu suất đối kháng của các chủng *Trichoderma* spp. với nấm *Sclerotium* sp. (NB2) trên môi trường dinh dưỡng PGA.



NT-Tr6



NB1 (đối chứng)



NT-Tr7

Hình 3.4. Khả năng đối kháng nấm *Sclerotium sp.* (NB1) của hai chủng Tr6, Tr7 sau 7 ngày nuôi cấy.



NT-Tr6



NB2 (đối chứng)



NT-Tr7

Hình 3.5. Khả năng đối kháng nấm *Sclerotium sp.* (NB2) của hai chủng Tr6 và Tr7 sau 7 ngày nuôi cấy.



NT-Tr1



NT-Tr2

Hình 3.6. Nấm Tr1 và Tr2 mất khả năng đối kháng nấm *Sclerotium sp.* (NB1) sau 10 ngày nuôi cấy.



NT-Tr1



NT-Tr2



NT-Tr8

Hình 3.7. Nấm Tr1, Tr2 và Tr8 mất khả năng đối kháng nấm *Sclerotium sp.* (NB2) sau 10 ngày nuôi cấy

Kết quả từ thí nghiệm trên của chúng tôi cũng phù hợp với kết quả đã được công bố trước đó của Nguyễn Ngọc Phúc khi đánh giá về khả năng đối kháng của nấm bệnh của 36 chủng *Trichoderma* spp. thì kết quả cũng cho thấy rằng khả năng đối kháng với nấm *Sclerotium rolsii* của *Trichoderma* spp. là khá yếu khi chỉ có 11 chủng là có khả năng ức chế còn 25 chủng hoàn toàn không có khả năng ức chế [8]. Hay trong công bố của Trần Thu Hà và cộng sự đã phân lập được 40 chủng nấm *Trichoderma* spp. để khảo nghiệm khả năng ức chế và đối kháng với nấm bệnh *Sclerotium rolsii*, trong đó có 11 chủng có hiệu quả ức chế cao; 26 chủng đối kháng trung bình và 3 chủng có khả năng ức chế yếu [5].

Từ kết quả trên cho thấy không phải tất cả các chủng nấm thuộc chi *Trichoderma* đều có khả năng đối kháng mạnh với nấm bệnh. Vì vậy việc sàng lọc nhằm tìm ra những chủng nấm *Trichoderma* spp. có khả

năng đối kháng mạnh với từng chủng nấm bệnh nói chung và nấm *Sclerotium* spp. nói riêng là một việc rất cần thiết.

4. KẾT LUẬN

Khảo sát khả năng đối kháng của 8 chủng nấm *Trichoderma* spp. với hai chủng nấm *Sclerotium* spp. gây bệnh trên cây lan *Mokara* và *Dendrobium* với kết quả như sau:

– Nấm *Trichoderma* spp. đối kháng với *Sclerotium* sp. (NB1): đối kháng mạnh 4 chủng (Tr4, Tr5, Tr6, Tr7); đối kháng trung bình 2 chủng (Tr3 và Tr8); 2 chủng đối kháng yếu (Tr1 và Tr2).

– Nấm *Trichoderma* spp. đối kháng với *Sclerotium* sp. (NB2): đối kháng mạnh 4 chủng (Tr4, Tr5, Tr6, Tr7); đối kháng trung bình 1 chủng (Tr3); đối kháng yếu 3 chủng (Tr1, Tr2, Tr8).

Trong số những chủng đối kháng mạnh thì hai chủng Tr6 và Tr7 cần được tiếp tục nghiên cứu để có thể phát triển và sử dụng trong thực tiễn.

ANTAGONISM OF TRICHODERMA SPP. AGAINST SCLEROTIUM SPP. OF LEAF AND STEM ROT DISEASES IN MOKARA AND DENDROBIUM ORCHIDS

Do Luong Ngoc Chau, Nguyen Anh Dung

Thu Dau Mot University

ABSTRACT

On the PGA culture medium, the research investigated the antagonism of eight Trichoderma strains spp., isolated in agricultural lands of Binh Duong province, against two strains of Sclerotium spp. of leaf and stem rot diseases in Mokara and Dendrobium orchids. The results indicated that almost Trichoderma spp. had antagonised Sclerotium spp.. Especially, Tr6 and Tr7 isolates could be highly effective against NB1 and NB2 pathogens, when their maximum antagonistic efficiency was 100% after 7 days of incubation.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Nguyễn Lâm Dũng, Phạm Văn Ty, Dương Văn Hợp, Nguyễn Liên Hoa, Đinh Thúy Hằng, Đào Thị Lương, Nguyễn Thị Hoài Hà, Lê Hoàng Yến, Nguyễn Kim Nữ Thảo, Nguyễn Văn Bắc, Hoàng Văn Vinh (2012), *Vi sinh vật học - Phần I: Thế giới vi sinh vật*, NXB Khoa học và Kỹ thuật.

- [2] Nguyễn Lâm Dũng và các tác giả (1979), *Một số phương pháp nghiên cứu vi sinh*, tập 2,3, NXB Khoa học và Kỹ thuật.
- [3] Bùi Xuân Đồng, Nguyễn Huy Văn (2000), *Vi nấm dùng trong công nghệ sinh học*, NXB Giáo dục.
- [4] Nguyễn Văn Đỉnh và cs (2007), *Giáo trình biện pháp sinh học bảo vệ thực vật*, NXB Nông Nghiệp.
- [5] Trần Thu Hà và Phạm Thị Thanh Hoài (2012), *Khả năng đối kháng của nấm Trichoderma với nấm bệnh hại cây trồng Sclerotium rolfsii trong điều kiện Invitro*, Tạp chí Khoa học Đại học Huế, tập 75A, số 6, trang 49 – 55.
- [6] Nguyễn Đức Lượng, Phan Thị Huyền, Nguyễn Ánh Tuyết (2003), *Thí nghiệm công nghệ sinh học (tập 2) – Thí nghiệm vi sinh vật học*, NXB Đại học Quốc gia TP. HCM.
- [7] Lương Đức Phẩm (2011), *Sản xuất và sử dụng chế phẩm sinh học trong nông nghiệp*, NXB Giáo dục.
- [8] Nguyễn Ngọc Phúc (2005), *Bước đầu nghiên cứu sự hiện diện của nấm Trichoderma spp. và các yếu tố của đất*, luận văn cử nhân khoa học Trường Đại học Nông Lâm TP.HCM.
- [9] Trần Thanh Thủy (1999), *Hướng dẫn thực hành vi sinh vật*, NXB Giáo dục.
- [10] Trần Linh Thuộc (2006), *Phương pháp phân tích vi sinh vật trong nước, thực phẩm và mỹ phẩm*, NXB Giáo dục.
- [11] Danielson, R. M., and Davey, C. B. (1973), *The abundance of Trichoderma propagules and the distribution of species in forest soils*.
- [12] Lester W. Burgess, Timothy E. Knight, Len Tesoriero. Phan Thuy Hien (2009), *Cẩm nang chuẩn đoán cây bệnh ở Việt Nam*, Trung tâm Nghiên cứu Nông nghiệp Quốc tế Australia.
- [13] Robert A. Samson et al (2004), *Introduction Food – Borne Fungi*, CBS, Institute of the Royal Netherlands Academy of Arts and Sciences.
- [14] <http://www.khuyennongtphcm.com/index.php?mnu=6&s=600007&id=2947>
- [15] http://hepa.gov.vn/content/tintuc_chitiet.php?catid=341&subcatid=0&newsid=354&langid=0
- [16] <http://www.hoalansadec.com/2013/12/nguyen-nhan-benh-thoi-ngon-tren-cay-lan.html#.VeSUTFe-0vk>
- [17] <http://udkhnbinhduong.vn/thanhlan/index.php?mod=news&wid=20&cpid=302&nid=2387&view=detail>
- [18].<http://vnexpress.net/tin-tuc/khoa-hoc/moi-truong/nong-duoc-cohegayonhiem-moi-truong-2394429.html>