

## **Chương 1**

### **MỞ ĐẦU**

#### **1.1 Đặt vấn đề**

Trong những năm gần đây, nền nông nghiệp Việt Nam có những bước tiến vượt bậc, ngoài việc đáp ứng nhu cầu lương thực - thực phẩm trong nước, sản lượng nhiều loại nông sản xuất khẩu của Việt Nam được xếp vào hàng đầu thế giới. Tuy nhiên, chất lượng và hiệu quả của việc sản xuất nông sản hàng hóa ở nước ta còn nhiều hạn chế so với các nước trong khu vực. Để khắc phục vấn đề này, chúng ta cần quan tâm đến việc xây dựng nền nông nghiệp theo hướng sinh thái bền vững, tăng nhanh số lượng và nâng cao chất lượng nông sản hàng hóa. Theo đó, công tác giống cây trồng và bảo vệ thực vật đóng vai trò rất quan trọng.

Công tác phòng trừ sâu bệnh hại cây trồng hiện nay được áp dụng bằng nhiều biện pháp. Trong đó, biện pháp hóa học vẫn được xem là hữu hiệu nhất. Một vài hoá chất trừ sâu có tính chọn lọc cao, ít độc hại cho môi trường đã được sử dụng, nhưng những hóa chất này thường quá đắt chỉ để sử dụng cho phạm vi nông trại nhỏ. Tuy vậy biện pháp phòng trừ sâu bệnh hại bằng thuốc hóa học ô ạt như hiện nay đã thể hiện rõ những mặt trái của nó như làm cho côn trùng trở nên kháng thuốc, đặc biệt là gây ô nhiễm môi trường một cách nghiêm trọng.

Trước tình hình đó, biện pháp phòng trừ sâu bệnh hại bằng sinh học đã được nhiều nhà khoa học quan tâm và nghiên cứu. Nhiều tác nhân ký sinh, đáng chú ý là một số loại nấm, chúng có thể đối kháng trên một số bệnh hại gây ra tổn thất cho cây trồng. Đồng thời, không những ngăn chặn được một số bệnh hại trên cánh đồng, những chế phẩm nấm kháng không ảnh hưởng đến những loài thiên địch bản xứ trong tự nhiên như động vật ăn thịt, ký sinh và côn trùng có ích. Sự

bảo tồn các loài thiên địch tự nhiên này là chìa khoá vững chắc để phòng trừ sâu bệnh hại trên cây trồng một cách an toàn và hiệu quả. Các kết quả đã đạt được của việc phòng trừ nấm gây bệnh bằng phương pháp sinh học cho thấy tính hiệu quả lớn của nó, nấm gây bệnh không kháng thuốc, không gây ô nhiễm môi trường.

Hiện nay, phòng trừ dịch hại cây trồng bằng biện pháp sinh học được đẩy mạnh nghiên cứu ở nhiều nước, được coi như là một lĩnh vực quan trọng. Phòng trừ bằng sinh học đối với bệnh hại chủ yếu là khai thác và sử dụng khả năng đối kháng của một số loại nấm đối với các loại nấm gây hại cây trồng. Nhiều công trình nghiên cứu về nấm *Trichoderma* và sản xuất chế phẩm để hạn chế những nấm gây hại cho cây trồng như nấm *Rhizoctonia*, *Sclerotium*, *Fusarium*, *Pythium*, *Verticillium* và *Botrytis* gây bệnh trên lúa, ngô, và một số cây trồng khác đã thu được những kết quả rất khả quan. Tuy nhiên, nấm đối kháng là một tác nhân sinh học, nó có những điều kiện sống nhất định và chỉ phát huy được hiệu quả phòng trừ bệnh ở những điều kiện nhất định. Trong khi đó, thường do khả năng thích nghi với môi trường sống, các tác nhân gây bệnh phát triển mạnh mẽ, số lượng cá thể tăng nhanh, khả năng chống chịu tốt, lấn lướt các tác nhân đối kháng làm cho tính đối kháng mất cân bằng và kết quả là bệnh bộc phát trên cây trồng. Để khắc phục điều này, việc chọn lọc, nhân nhanh số lượng, tăng cường sức sống cho tác nhân đối kháng và đưa lại trong môi trường tự nhiên là hết sức cần thiết.

Xuất phát từ những vấn đề trên, chúng tôi dự kiến thực hiện đề tài:

“Chọn lọc và nhân sinh khối nấm *Trichoderma* đối kháng với nấm gây hại cây trồng”

## **1.2 Mục tiêu và mục đích của đề tài**

### **1.2.1. Mục tiêu**

- Chọn lọc và nhân sinh khối nấm *Trichodema* đối kháng cao với một số loại nấm gây bệnh cây trồng.

#### 1.2.2. Mục đích

- Sử dụng các dòng nấm đối kháng thuộc giống *Trichodema* sau khi chọn lọc được như biện pháp sinh học để phòng trừ một vài tác nhân gây hại trên cây trồng nông nghiệp.

### **1.3 Nội dung và đối tượng nghiên cứu**

#### 1.3.1 Nội dung

- Thu thập và phân lập các dòng nấm *Trichodema*.
- Đánh giá tính đối kháng của các dòng nấm *Trichodema* với một số nấm gây hại cây trồng trong đất trên môi trường chọn lọc.
- Xây dựng phương pháp nhân sinh khối *Trichodema*.
- Đánh giá khả năng phòng trừ bệnh của nấm *Trichodema* được lựa chọn trên một số loại cây trồng trong nhà lưới và ngoài đồng ruộng.

#### 1.3.2 Đối tượng

- Các dòng nấm đối kháng thuộc nhóm *Trichodema*.
- Cây trồng: Hồ tiêu và sầu riêng.

## Chương 2

# TỔNG QUAN

### 2.1 Tiềm năng sử dụng *Trichodema* trong phòng trừ sinh học

#### 2.1.1 Vai trò của quần thể nấm *Trichodema* trong đất

*Trichodema* có khả năng tái tạo lại quần thể, đây là một hiện tượng phòng trừ sinh học vẫn còn là câu hỏi. Theo Bliss (1959), công bố *Trichodema* có khả năng thiết lập quần thể và tái hoạt động rất nhanh trên đất đã được xử lý khử trùng xông hơi bằng carbon disulfide để diệt nấm *Armillaria mellea* trên cây cam, quýt, nhưng không công bố bằng chứng quần thể nấm *Trichodema* phòng chống bệnh. Ohr và cộng tác viên (1973), cung cấp bằng chứng thuyết phục nhất quần thể *Trichodema* trong đất có khả năng phòng trừ nấm *Armillaria mellea* trên đất đã được xử lý xông hơi bằng methyl bromide. *Trichodema* kháng methyl bromide hơn *A. mellea*, vì *A. mellea* sản xuất ra ít chất kháng (Ohr và cộng tác viên, 1975).

Thêm vào những bằng chứng về vai trò quần thể *Trichodema* trong đất trong vấn đề phòng trừ sinh học là thêm sulfur vào đất để duy trì độ pH dưới 3,9 nhằm phòng trừ bệnh thối rễ và thối ngọn dưa ở Úc. Cách phòng trừ này đã làm giảm túi bào tử của nấm *Phytophthora* và làm tăng tính ưa acid của *T. viride*. (Cook và Baker, 1983). Khả năng hoạt động phòng trừ sinh học của *Trichodema* ở các thể tiềm sinh và sợi nấm được công bố không chỉ trong phòng thí nghiệm (Ayers, 1981 ; Cook và Baker, 1982) mà còn trong đất (Hubbard và cộng tác viên, 1983). *Trichodema* có khả năng khuếch tán chất độc của các nấm trong phòng thí nghiệm kể cả các chất hữu cơ trong đất cũng như khả năng kéo dài phòng trừ sinh học của *Trichodema*.

Ngoài ra, khả năng thứ hai của nấm *Trichodema* là kháng nấm. *T. hamatum* có rất nhiều trong đất hữu cơ tại vườn ươm ở Colombia có khả năng ngăn chặn nấm *R. solani* (Chet và Baker, 1980 ; 1981) và *T. hazianum* có nhiều khi phân lập

từ đất tại Mexico có khả năng ngăn chặn nhiều loại nấm đất (Lumsden, 1977). Dưới nhiệt độ và tia phóng xạ gamma không thể diệt được nấm *R. solani*, ngược lại trên môi trường *T. hazianum* diệt được nấm này (Nelson và cộng tác viên, 1983), đây là vai trò chính của *Trichodema* trong việc phòng trừ sinh học.

Khả năng ngăn cản của đất đến những loại nấm bệnh cây trong đất, đặc biệt là *R. solani*, *Pythium* spp., có liên quan đến nấm *Trichodema*, đã được công bố rộng rãi và là vấn đề được nghiên cứu trong nhiều năm nay. Các tài liệu Baker (1974 ; 1980) của Barnett và cộng tác viên (1974), của Cook và Baker (1983) đều công bố khả năng này của *Trichodema*.

### **2.1.2 Khả năng làm tăng hoặc giảm tính kháng của *Trichodema* trong đất**

Đây là vấn đề hấp dẫn được nhiều chuyên gia nghiên cứu trong những năm gần đây. Phòng trừ sinh học bằng cách thêm một số lượng lớn bào tử *T. hazianum* cùng môi trường nuôi trồng vào đất được Well và cộng tác viên (1962) thử nghiệm. Các nhà nghiên cứu này lần đầu công bố sử dụng một số lượng lớn *Trichodema* nuôi trồng trên môi trường rắn ra thử ngoài đồng kiểm soát nấm *Sclerotium rolfsii* trên cà chua. Barckman và Rodriguez Kabana (1975) nuôi trồng *T. hazianum* bằng phương pháp thương mại hóa, là các hạt nhỏ không hòa tan được gắn với mật đường và rải các hạt này bằng tay dọc theo các hàng đậu phộng với lượng 112 – 140kg/ha sau 70- 100 ngày trồng. Với lượng 140 kg/ha *T. hazianum* có tác dụng phòng chống *S. rolfsii* và tăng năng suất lên trong khoảng 3 năm .

Trong các giống *Trichodema* có *T. hazianum* nuôi trồng trên môi trường rắn có tác dụng chống được các bệnh thối trắng trên hành (*Sclerotium cepivorum*) ở Ai Cập (Abd-El và cộng tác viên, 1982) và ở Mỹ (Papavizas và Lewis, 1982) ; bệnh trên dưa leo và bệnh trên cây bông do *Verticillium dahliae* ở Liên Xô

(Fedrorinchik và cộng tác viên, 1975) ; bệnh chết rạp cây con do *Rhizoctonia* và bệnh tàn rụi (*S.rolfsii*) trên nhiều cây trồng ở Israel (Chet và cộng tác viên, 1982; Elad và cộng tác viên, 1982) và bệnh thối trái trên dưa leo (Kommedahi và Windels, 1981). Hiệu quả PTSH của nấm nuôi trồng trên môi trường rắn phụ thuộc vào nhiệt độ, loại môi trường nuôi trồng và thời điểm cấy nấm vào đất (Elad và cộng tác viên, 1980), tỉ lệ cấy *Trichodema* vào giá thể (Elad và cộng tác viên, 1980 ; Hadar và cộng tác viên, 1979) và mật độ của nấm gây bệnh trong đất.

Những vấn đề phức tạp khác liên quan đến khả năng chống bệnh của *Trichodema* cũng được nghiên cứu. Kelley (1976), công bố *T.harzianum* được cấy vào đất sét với mục đích phòng trừ bệnh chết rạp cây con trên dưa. Ông ta nhận thấy rằng khả năng kháng bệnh của nấm này phụ thuộc vào dư lượng dinh dưỡng trong đất, đặc biệt trong đất ẩm bệnh chết rạp phát triển rất cao. Khi cấy *T.harzianum* dạng viên hữu cơ vào môi trường nhiều dinh dưỡng, làm tăng quần thể *Pythium*, hậu quả là phát triển bệnh trong vườn dưa leo (Moody và Gindrat, 1977). Bệnh chết rạp xảy ra khi thêm *Trichodema* dạng viên vào lúc trước khi gieo hạt dưa leo.

### **2.1.3 Khả năng làm tăng bào tử nấm *Trichodema* trong đất**

Với các bào tử phân sinh trần, phương pháp xử lý bằng khử trùng xông hơi hay hơi nước trên đất có làm tăng số lượng bào tử trong đất. Thí nghiệm phòng trừ bệnh *Fusarium* trên cây hoa cúc đã được ghi nhận gần đây khi thêm vào đất dung dịch loài *T. viride* kháng thuốc Benomyl. Sử dụng nồng độ  $10^4$  bào tử/cm<sup>2</sup> dòng nấm này trộn vào đất sau khi đã được khử trùng bằng hơi nước (82<sup>0</sup>C trong 2 giờ), số bào tử của dòng nấm này tăng rất nhanh, nấm gây bệnh cây không xâm nhập lại vào đất.

Các nghiên cứu gần đây (Beagle, 1984 ; Papavizas và Lewis, 1983) chỉ ra rằng sản phẩm của phương pháp lên men như là dạng bột, bùn than hoặc dạng viên và cấy vào đất không chỉ tăng nhanh số lượng kích thích mà còn ngăn cản bệnh hiệu quả hơn là dùng bào tử trần. Dạng viên sản phẩm lên men của *T.hamatum*, *T.harzianum*, *T.viride*, và *T. virens* có khả năng làm giảm khả năng sống sót và sinh trưởng của *R.solani* trong đất và bệnh thối trái trên cà chua (Papavizas và Lewis, 1984). Cách sử dụng phương pháp lên men chắc chắn có ảnh hưởng đến thời gian sống của bào tử, khả năng sống sót và nhân sinh khối trong đất và tiềm năng PTSH. Dù vậy phương pháp lên men sẽ được sử dụng và cải tiến nhiều trong tương lai cho việc sử dụng nấm kháng PTSH.

#### **2.1.4 Vai trò của nấm *Trichodema* trong việc xử lý hạt giống**

Kommedahl và Windels (Kommedahi, 1981) có nhiều ghi nhận về khả năng kháng bệnh phòng trừ sinh học trên cây bị bệnh. Mặc dù có nhiều loài nấm *Trichodema* có khả năng dùng vào PTSH nhưng chưa có một sản phẩm thương mại nào được đăng ký tại Mỹ (Papavizas và Lewis, 1981). Có nhiều lý do, một trong những lý do này là cần một số lượng lớn nguyên liệu PTSH trên một diện tích đất thí nghiệm lớn (Hadar và cộng tác viên, 1984: Harman và cộng tác viên, 1980). Sử dụng *Trichodema* vào việc xử lý hạt giống có liên quan đến khả năng xâm nhập của *Trichodema* vào trong đất, phương pháp này đòi hỏi một số lượng bào tử lớn để áp dụng. Tuy nhiên, đây là một phương pháp rất có ý nghĩa trong việc phòng trừ nấm gây bệnh ở giai đoạn hạt đến giai đoạn cây con. Khả năng PTSH của nấm *T. hamatum* với bệnh chết rạp cây con do nấm *R.solani* và *Pythium* spp. có hiệu quả trên hạt giống đậu Hòa Lan và củ cải đường (Harman và cộng tác viên, 1980). Dòng nấm *T.harzianum* xử lý qua tia tử ngoại (Papavizas và Lewis 1982) và *T. viride* có hiệu quả trong PTSH (Papavizas và Lewis, 1981). Hạt đậu nành được xử lý *T. pseudokoningii* và hạt giống bắp được xử lý

*T.hazianum* có hiệu quả làm ngăn chặn nguồn bệnh và làm tăng năng suất trong việc phòng trừ nấm *Rhizoctonia* trên cánh đồng nhiễm nấm này và có hiệu quả khi dùng nấm *T. harzianum* xử lý hạt bông phòng trừ nấm *R.solani* tại Israel.

Hiệu quả thành công trong việc dùng *Trichodema* xử lý hạt giống bị ảnh hưởng từ nhiều yếu tố phân lập (Papavizas và Lewis, 1981): tuổi của hạt giống gieo trồng (Kommedahi và Windels, 1981), nhiệt độ của đất và tái hoạt động của đất (Harman và cộng tác viên, 1981), loại đất và vi sinh vật hiện diện trong đất (Hadar và cộng tác viên, 1984), dinh dưỡng trong quá trình cấy nấm (Harman và cộng tác viên, 1981), mật độ nấm khi cấy vào đất (Nelson, 1975), tiềm năng bệnh gây hại cây trong đất, và tuổi của cây trồng (Kommedahi và Windels, 1981).

*Trichodema* có hiệu quả nhất trong việc phòng trừ bệnh chết rạp cây con, khả năng tạo sinh khối trong đất và hệ rễ ngăn cản bệnh gây hại cây bằng cách cạnh tranh, ký sinh trên nấm hoặc kháng sinh học. Ngoài ra chúng còn gây ảnh hưởng mạnh đến vi khuẩn (Hadar và cộng tác viên, 1984) và các loại nấm khác trong đất.

## **2.2 Đặc điểm của nấm *Trichodema***

### **2.2.1 Hình thái, sự sinh trưởng và sự hình thành bào tử của *Trichodema***

- Đặc điểm hình thái: *Trichodema* là một loài nấm đất, phát triển tốt trên các loại đất giàu dinh dưỡng hoặc trên tàn dư thực vật. Đặc điểm hình thái của nấm này là cành bào tử không màu, sợi nấm không màu, có vách ngăn, có khả năng phân nhánh nhiều và cho lượng bào tử rất lớn. Bào tử thường có màu xanh, đơn bào hình trứng, tròn, elip hoặc hình oval tùy theo từng loài. Bào tử đính ở đỉnh của cành.

- Sự sinh trưởng của *Trichodema*: là một loại nấm hoại sinh trong đất nên *Trichodema* có khả năng sử dụng nguồn hỗn hợp carbon và nitrogen. Nguồn cacbon và năng lượng *Trichodema* sử dụng được là Monosaceharides và



Disaccharides, cùng với hỗn hợp Polysaccgarides, puriness, pyrinidines, acide amin, tanmins và caechins cô đọng; Aldehydes và acide hữu cơ. Đặc biệt là acide béo (E.B.Nelson, G.E. Harman), methanol methylamine, formate và NH<sub>3</sub> là nguồn đạm bắt buộc phải có trong môi trường nuôi trồng *Trichodema*. Những nguồn nitrogen nào cũng hỗ trợ cho môi trường có nhiều dinh dưỡng. Muối, các nguồn sulfur và các hỗn hợp như vitamin cũng có ảnh hưởng lớn đến khả năng sinh trưởng của *Trichodema*. Nhưng muối sodium chloride sẽ làm giảm sự sinh trưởng và phát triển của một số loài *Trichodema*. Do đó trong môi trường nuôi trồng không được có mặt của muối này. Nồng độ CO<sub>2</sub> trong môi trường nuôi trồng cũng ảnh hưởng đến sự sinh trưởng của nấm đối kháng trong đất. Tuy nhiên ảnh hưởng của CO<sub>2</sub> đến khả năng sinh trưởng và sản xuất của *Trichodema* phụ thuộc vào nồng độ pH của môi trường đất. CO<sub>2</sub> nồng độ 10% không ảnh hưởng đến tốc độ sinh trưởng của *Trichodema*. Tốc độ mọc nhanh của *Trichodema* ở nồng độ CO<sub>2</sub> cao trong môi trường kiềm, có thể giải thích tại sao *Trichodema* thường sống trong môi trường đất phèn, ẩm ướt, ít hiện diện trên đất kiềm. Vì thế CO<sub>2</sub> có ảnh hưởng đến sinh trưởng của *Trichodema* tại độ pH có giá trị cao.

- Sự hình thành bào tử trên môi trường: Phần lớn các loài *Trichodema* có cảm quang, dễ nảy mầm ở nhiều điều kiện môi trường tự nhiên và nhân tạo dưới điều kiện tối sáng lẫn lộn, hay bào tử có thể xuất hiện trong điều kiện sáng. Môi trường agar trong khoảng 20-30 giây ánh sáng 85 Lux làm tăng hiệu quả nảy mầm. Thể bào tử phialoconidio cảm ứng với ánh sáng nhất sẽ xuất hiện nhiều dưới ánh sáng ban ngày chỉ trong khoảng 3 phút hoặc gần tia cực tím (bước sóng 366nm) trong khoảng 10 – 30 giây. Các tác giả đã công bố *Trichodema* không hình thành bào tử ở bước sóng dưới 254nm hoặc trên 1.100nm và hình thành bào tử nhiều nhất ở bước sóng 380nm đến 440nm. Các bào tử cảm quang hạn chế phát triển dưới ảnh hưởng của các hóa chất. Các hỗn hợp như azaguanine, 5-fluorouracil, actinomycin D, Cycloheximide, phenethyl alcohol và ethidium

bromide ngăn cản sự hình thành các hậu mô bào tử, đây là 1 cấu trúc đặc biệt của cơ thể rất quan trọng trong hình thái học, làm tăng tiềm năng trong phòng trừ sinh học. *T. hamatum*, *T. hazianum*, *T. viride* và *T. virens* ở trong cả môi trường lỏng và rắn có acide thích hợp cho bào tử nảy mầm hơn là môi trường trung tính.

### **2.2.2 Sinh thái học của *Trichodema***

Sinh thái học cho biết sự phân bố của *Trichodema* trong điều kiện cơ học của bào tử nấm *Trichodema* trong đất.

- Đất kháng nấm: Đất tự nhiên có khả năng kháng nấm và khả năng này sẽ mất dần. Điều này có liên quan đến sự xuất hiện và mật độ phân bố cơ học của *Trichodema*. Bào tử phân sinh của *Trichodema* có khả năng kháng nấm cao và liên quan đến hiện tượng giảm khả năng kháng nấm trong đất. Độ nhạy của đất kháng nấm được công bố trên đất trung tính, đất kiềm chua và đất acide. Các bào tử phân sinh kháng nấm nhiều hơn hậu mô bào tử, sợi nấm ít kháng nấm hơn bào tử phân sinh.

- Thiết lập quần thể và hiện tượng nảy mầm trong đất: Vi sinh vật trong đất không và hoạt động phụ thuộc vào nhiều loại chất nền trong đất, có nhiều phương pháp xác định khác nhau. Trong nhiều trường hợp cho thấy vấn đề này không thích hợp với *Trichodema* và tăng lên nhiều trong nhiều loại đất khác nhau. Khi cấy sợi nấm non (chưa có bào tử) vào đất đều liên quan mật thiết với tình trạng thành phần môi trường đất. Bào tử sinh sôi nảy nở (mật độ  $10^0$ ) và thiết lập quần thể cân bằng trong đất (mật độ duy trì cân bằng trong đất từ 9 – 36 tuần sau khi cấy nấm vào đất). Điều này phụ thuộc vào tuổi nấm và như vậy có liên quan đến thành phần thức ăn, và việc hình thành quần thể sợi nấm *Trichodema* từ thành phần nuôi trồng không liên quan đến loại đất. Viên Alginate chứa bào tử phân sinh được sản xuất bằng phương pháp lên men tạo quần thể bào tử ít hơn so với phương pháp nhân sinh khối bằng đất (chủ yếu là hậu mô bào tử). Thêm vào

đó, việc lên men đất được thêm vào đất chất Pyrax khô giúp làm tăng quần thể từ  $5.10^3$  lên  $6-7.10^6$  bào tử / gram đất.

- Thiết lập quần thể tại vùng rễ cây: *Trichodema* đã được phân lập từ rễ cây và có khả năng dùng vào việc phòng trừ sinh học tại vùng rễ cây bị bệnh. Hiệu quả của *Trichodema* không chỉ xử lý hạt mà còn tiếp tục thiết lập quần thể dưới vùng rễ cây sau khi xử lý hạt. *Trichodema* xử lý hạt phát triển nhanh xung quanh hệ rễ tạo các bào tử ngăn cản bệnh xâm nhiễm cây trồng. Nếu *Trichodema* được cấy vào đất với tác dụng chống bệnh cho cây bắt buộc phải cấy dọc theo bề mặt rễ nhưng cách xa lá mầm. *Trichodema* có khả năng diệt trừ bệnh thối rễ, hạt và bệnh chết cây con. Những nghiên cứu gần đây cho thấy *T.hazzianum* không thiết lập quần thể xung quanh hệ rễ cây họ đậu và cây đậu Hòa Lan con. Quan sát bào tử trên vùng rễ cây gồm rễ, vỏ, hạt bị thối và lá mầm, số lượng bào tử trên mỗi gram đất xung quanh hệ rễ luôn luôn ít. W.L.Chao, G.E. Harma và E.B.Nelson trên số liệu không công bố, cho rằng bào tử của *Trichodema* ít thiết lập quần thể hay ít di chuyển vào vùng rễ cây. Với *T. hazzianum* vài bào tử được tìm thấy cách xung quanh hệ rễ cây 10cm, trên cây được xử lý hạt. Ngược lại, số lượng bào tử tìm thấy nhiều trên là mầm đậu Hòa Lan bị thối và vỏ hạt giống kể cả mẫu bệnh xung quanh rễ.

Có nhiều giải thích về việc số lượng bào tử *Trichodema* tăng hoặc giảm trong đất và *Trichodema* không có khả năng thiết lập quần thể ở vùng rễ cây, do có nhiều lý do bao gồm: thiếu dinh dưỡng, hiện diện chất độc trong rễ cây hay hiện diện của chất kháng hoặc sự hiện diện của vi sinh vật đối lập với *Trichodema* (W.L. Chao, G.E. Hazman, E.B. Nelson trên số liệu không công bố) tại vùng rễ hay mức độ rễ của cây. Ví dụ: *Pseudomonas* đối lập với tác nhân phòng trừ sinh học nhưng khi có hiện diện của chất sắt trong vùng rễ của cây hay *Pseudomonas* sản xuất chất độc chuyển đổi gây ảnh hưởng đến bào tử của *Trichodema*.

### 2.2.3 Khả năng đối kháng của nấm *Trichodema*

Nấm đối kháng là những thành viên phổ biến của hệ vi sinh vật đất (Pomsch và cộng tác viên 1920). Chúng thường tiết ra các men, kháng sinh gây độc cho nấm gây bệnh hoặc nấm kháng cạnh tranh điều kiện sống với nấm gây bệnh. Sự phân biệt của chúng phụ thuộc vào vùng địa lý, loại đất, điều kiện khí hậu, và thảm thực vật ở từng khu vực. Nấm đối kháng có thể kìm hãm sự sinh trưởng, phát triển của nấm gây bệnh, giúp cây hồi phục, sinh trưởng và phát triển, một số loài nấm đối kháng đã được tìm thấy: *Penicillium axalicum*, *P. frequetans*, *P. Vermiculata*, *P. nigricans*, *P. chregsogetum* là đối kháng của nấm *pythium*spp, *phizoctotia solani*, *Sclerotium Cepivorum*, *Verticillium alboatrum* (Martin và cộng tác viên 1995). Nấm *Aspergillus niger* đối kháng với nấm *Fusaium sokeni*, *Rhizoctonia solani*, *Aeteraria alternata*. Nấm *Aureobasidium*, *pollulans* và *Kikuchii* là đối kháng của nấm *Diaporthe phaseolorum var. sojage* (Egurazdova et al, 1979).

Đối với nấm *Trichodema*, cũng là một trong những loại nấm có khả năng ức chế một số nấm gây bệnh khác như: *Sclerotium rolfsii*, *phytophthora*, *Fusarium Pythium*, *Rhizoctonia* gây bệnh trên nhiều loài cây trồng: Cây họ đậu, cây ăn trái, hòa thảo, cây công nghiệp và cây hoa kiểng.

### 2.2.4 Cơ chế đối kháng của nấm *Trichodema*

Sự đối kháng của nấm *Trichodema* thông qua nhiều cơ chế. Vào năm 1932 Weinding đã mô tả hiện tượng nấm *Trichodema* ký sinh nấm gây bệnh và đặt tên cho hiện tượng đó là "Giao thoa sợi nấm" (Cnyder, 1976). Hiện tượng giao thoa gồm ba giai đoạn như sau: (1) Sợi nấm *Trichodema* vây quanh sợi nấm gây bệnh. (2) Sau sự vây quanh, sợi nấm *Trichodema* thắt chặt lấy các sợi nấm gây bệnh cây. (3) Cuối cùng là sợi nấm *Trichodema* đâm xuyên làm thủng lớp tế bào của nấm gây bệnh, dẫn đến sự gây bệnh làm cho chất nguyên sinh trong nấm gây

bệnh bị phân hủy và dẫn đến nấm bệnh chết. Sau này quan sát dưới kính hiển vi, hiện tượng ký sinh của nấm *Trichodema* được mô tả như sau: Tại những điểm nấm *Trichodema* tiếp xúc với nấm gây bệnh đã làm cho nấm gây bệnh teo lại và chết (Dubey, 1995; Rousscu và cộng tác viên, 1996). Ngược lại ở những điểm không có sự tiếp xúc của nấm *Trichodema* với nấm gây bệnh vẫn chết thì các nhà nghiên cứu cho là tác động của chất kháng sinh từ nấm *Trichodema* sinh ra gây độc cho nấm gây bệnh (Agrowcal và cộng tác viên, 1979; Michrina và cộng tác viên 1996).

### 2.2.5 Các sản phẩm trao đổi của nấm *Trichodema*

Weidling là tác giả đầu tiên công bố sản phẩm được trao đổi của *Trichodema*. Weidling và Emerson đã phân lập được chất kết tinh từ chất trao đổi hữu cơ rất độc khi pha loãng nhiều lần khi dùng. *Trichodema* chống *R.solani*. Chất này tên thông thường: Gliotoxin chất độc thứ 2 do Brian và Mc Gowan công bố là *viridin* sản xuất từ *T. viride*. Webster và Lomas ghi nhận là hai chất kháng sinh này đều hiện diện trên môi trường được lọc từ *T. viride* sau đó Weidling cô lập ra sản phẩm *gliotoxin*, Brian và Mc Gowan cô lập *viridin*. Dennis và Webstre ghi nhận *Trichodema* spp. có sản phẩm kháng, khác với *gliotoxin* và *viridin*, sản phẩm đó là chất kháng sinh, có thể hòa tan được *trichlorofore* tên thông thường là *T.viride* và *T. polysporum* và 1 chất kháng *peptied* từ *T. hazianum*.

Ngoài chất độc là chất trao đổi và kháng sinh ra, *Trichodema* còn có thể tiết ra nhiều enzym khác như *exo* và *endoglucanases*, *cellobiase* và *chitinase* có khả năng phân hủy thành tế bào của nấm gây bệnh.

Nấm *Trichodema* cũng như một số nấm mốc khác như *Gliocladium*, *Calvatia* cho lượng enzym *chitinase* cao, *chitinase* có nhiều chức năng, một trong những chức năng chính là khả năng phân hủy *chitinase* là thành phần chất dính

cấu tạo vách tế bào nấm, yếu tố rất quan trọng trong hoạt động ký sinh nhằm đối kháng lại các loài nấm gây bệnh thực vật, bảng 2.1 cho thấy các thành phần cấu tạo của thành tế bào ở nấm.

Chitine có cấu tạo và chức năng giống Cellulose, trong thiên nhiên Chitine là thành phần hữu cơ chiếm thứ hai sau Cellulose về số lượng, Chitine có thể thay thế một phần hay toàn bộ Cellulose trong thành tế bào của một số loài thực vật.

Chitine là chất rắn vô định hình, nó không tan trong nước và hầu hết các acide cũng như kiềm, alcohol và các dung môi hữu cơ khác. Chitine có thể bị phân hủy bởi acide vô cơ mạnh (HCL đậm đặc, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> đậm đặc) hoặc bằng enzym sinh vật. Quá trình thủy phân sẽ cắt các liên kết  $\beta$  - 1,4glycoside cho ra *olisaccharide*.

Trong quá trình ký sinh trên nấm bệnh, *Trichodema* có thể tiết ra các loại enzym để phân hủy thành tế bào của nấm gây bệnh.

**Bảng 2.1** Cấu tạo của thành tế bào ở các nhóm nấm chủ yếu

Nhóm phân loại	Tên khoa học	Cấu tạo chính của thành tế bào
Nấm nhầy	<i>Myxomyces</i>	Cellulose
	<i>Plasmodiophora</i>	Chitin
Nấm noãn	<i>Oomycetes</i>	Cellulose - Glucan
Nấm cổ	<i>Hyphochtridiomycetes</i>	Cellulose - Glucan
	<i>Chytridiomycetes</i>	Chitin - Glucan
Nấm tiếp hợp	<i>Zygomycetes</i>	Chitin – Chitosan
Nấm nang	<i>Ascomycetes</i>	
Nấm đảm	<i>Basidiomycetes</i>	Chitin – Glucan
Nấm bất toàn	<i>Deuteromycetes</i>	
Ngoại lệ	<i>Saccharomycetes</i>	Glucan – Mannan

Ngoài ra, 3 loại enzym ngoại bào khác sinh sản ra từ nấm *Trichodema* đã được tách chiết, tinh sạch cũng có hoạt tính phân hủy Chitine. Các enzym đó là: *N-acetylglucosamidase*, *Chitosesidase* và *Endochitinase*.

### **2.3. Tình hình bệnh hại trên tiêu và sầu riêng**

#### **2.3.1 Bệnh hại trên tiêu**

Thành phần bệnh hại trên tiêu rất đa dạng và phong phú, chúng làm cho cây suy yếu, héo vàng hoặc làm cây chết rất nhanh, phổ biến ở tất cả các vùng tiêu nguyên liệu trên thế giới như Malaysia, Indonesia, Ấn Độ, Brazil, Srilauka, Thailand và Việt Nam.

Trong các bệnh hại trên cây tiêu: Thán thư (*Collectotrichum gleoeposrioides*); Đen lá (*Lasiondiplodia theo bromce*); Đốm lá (*Rosellina sp*); khô vằn (*Rhizoctonia solani*); Bệnh chết nhanh dây tiêu (*Phytophthora parasitica*); Bệnh tiêu điên (MLO) và bệnh do tuyến trùng gây ra. Trong đó bệnh chết nhanh dây tiêu thật sự là một tai hại cho nhà vườn. Bệnh xuất hiện và lây lan rất nhanh, thường làm tiêu chết hàng loạt gây mất trắng hoặc giảm năng suất trầm trọng. Theo kết quả nghiên cứu của bộ môn Bảo Vệ Thực Vật, Viện Kỹ Thuật Khoa Học Nông Lâm Nghiệp Tây Nguyên năm 1999 thì bệnh này xuất hiện với tỷ lệ rất thấp (0,11% ở Gia Lai), chưa được coi là bệnh nguy hiểm cho cây tiêu ở vùng Tây Nguyên nhưng đến năm 2000 –2001 bệnh đã gây thành dịch ở một số vùng EaHLeo, Easup, Cư M'gar thuộc tỉnh Đăklăk. Ở tỉnh Gia Lai, vùng bị hại nặng là Măng Yang (Tạp chí thông tin khoa học kỹ thuật Nông Lâm Nghiệp, Số 1/2001). Từ khi cây tiêu rũ lá vàng và rụng hàng loạt chỉ trong vòng 5 – 7 ngày. Cả vườn tiêu có thể bị hại trong vòng vài tuần hay vài tháng. Khi thấy triệu chứng héo dây thì bộ rễ đã bị nấm tấn công trước từ 1 – 2 tháng, do đó bệnh

này rất khó phòng trị. Trong vườn có khoảng 5 – 7% cây chết thì phần lớn các cây khác đã bị nấm tấn công.

Thực tại, các vườn tiêu chuyên canh ở Bình Phước, Bà Rịa – Vũng Tàu, Đồng Nai hiện đang bị bệnh này tàn phá dữ dội, có vườn hầu như bị chết hoàn toàn, gây mất trắng.

Bệnh này hại hầu hết các bộ phận của cây tiêu: thân, lá, rễ, cổ rễ và trái. Bộ rễ và phần thân ngầm bị nấm tấn công thối đen, vỏ bong ra khỏi rễ, phần dây trên mặt đất bị héo, lá chuyển qua màu vàng và rụng hàng loạt trong vòng 7 –14 ngày, để lại cành trơ trụi, sau đó toàn dây bị héo đen và chết. Vào mùa mưa bệnh xuất hiện ở những lá dưới. Những vòng nâu đen, tập trung ở đầu lá, các đốm lớn dần, có màu nâu sậm và rất dễ rụng. Khi bệnh tấn công vào dây, thân, lá bị bệnh và rụng, cùng lúc đó lóng cũng rụng.

Biện pháp phòng trị bệnh chết nhanh dây tiêu, hiện nay rất khó trị nên chưa có biện pháp nào ngăn cản được. Đối với bệnh này, công tác phòng bệnh là chính .

### **2.3.2 Bệnh trên cây sầu riêng**

Cây sầu riêng là loại cây ăn trái có giá trị kinh tế cao, ngày càng được mở rộng diện tích ở nhiều nơi. Do đó thành phần sâu bệnh hại cũng phát triển không kém. Ở Malaysia, có trường hợp 50% số cây con trong vườn bị chết do bệnh nứt chảy nhựa thân. Ở Thái Lan (1994) 20% số cây bị chết ở thời kỳ đang cho trái do bệnh nứt thân chảy mủ (Nguyễn Minh Châu 2003).

Bệnh phổ biến và nguy hiểm nhất trên cây sầu riêng đó là bệnh nứt thân chảy mủ do nấm *Phytophthora* sp. gây ra đồng thời nấm này còn hại thêm ở bộ phận trái làm trái sầu riêng bị thối.

Đối với bệnh nứt thân chảy mủ, phần bị hại chủ yếu ở phần thân 1m từ gốc lên. Đầu tiên, trên vỏ thân có các vết đậm màu hơi ướt, sau có màu nâu đỏ, chỗ



vỏ bệnh nứt ra và chảy mủ màu vàng. Lâu ngày vết bệnh lan khắp vùng thân và ăn sâu vào phần gỗ, làm cây ký chủ héo và rụng các lá và một số cành phía ngọn bị khô chết, tiếp theo là các cành ở phía dưới và cuối cùng là cả cây bị chết. Nếu nắm tắt công vào phần rễ sẽ làm thối rễ và sau đó cây cành chết nhanh hơn (Tạp chí Khuyến Nông Tây Ninh – số 4/2002). Ở phần trái, vết bệnh thối thường có các sợi nấm màu trắng trên vết bệnh, bệnh làm thối một phần hoặc thối cả trái và dễ lây sang những trái khác.

Các loại thuốc hoá học để áp dụng phòng trừ gồm : Ridomil MZ 72 WP, Mancozed 80WP, Alliet 80WP với nồng độ 2% và dung dịch  $KmNO_4$  1% (thuốc tím) (Võ Thị Thu Oanh, 1999). Theo tạp chí Khuyến Nông Tây Ninh, số 4/2000 cho biết, có thể sử dụng thuốc Alliete 80WP và Ridomyl MZ 72WP. Ngoài ra, cần phải kết hợp với biện pháp canh tác và vệ sinh đồng ruộng.

### 2.3.3 Nấm *Phytophthora*

Là loại nấm đa ký chủ, ngoài gây hại tiêu, sầu riêng còn gây hại trên rau, hoa kiểng thuộc họ *Pythiaceae*, bộ *Pernoporales* lớp *Omycetes*, sợi nấm không màu, không vách ngăn, đơn bào kích thước không đều, bào tử mang hình trứng và hình quả chanh, trên đầu có nuốm hoặc không có nuốm, không màu trong suốt. Bào tử hình cầu hoặc hình thận có hai lông roi, di chuyển rất nhanh trong nước, nhiệt độ thích hợp để nấm sinh trưởng và phát triển 25-30<sup>0</sup>C, pH: 6-7.

Trên cây tiêu, dòng nấm thường gây hại được xác định nấm có tên là *Phytophthora* sp., gây hại chủ yếu trong mùa mưa, nhất là vào cuối mưa, khi có khí hậu ẩm và ảm. Nấm *Phytophthora* sp. có thể tấn công riêng lẻ nhưng đa số là có sự kết hợp với các nấm khác như: *Fusarium*, *Pythium*, *Rhizoctonia* cũng tấn công làm cây sầu riêng chết nhanh chóng.

Trên cây sầu riêng, nấm *Phytophthora* sp. gây hại nặng ở những vườn trồng dày, ẩm độ cao, nhất là ẩm độ quanh gốc cao. Bệnh phát hiện mạnh trên

đất xấu, đất thoát nước kém. Nấm bệnh xâm nhập vào cây qua vết thương do côn trùng phá hay xây xát trong quá trình chăm sóc.

## **2.4 Các phương pháp lên men tạo chế phẩm sinh học**

Hiện nay trên thế giới có nhiều phương pháp lên men tạo chế phẩm sinh học để trừ nấm bệnh, sâu hại cây trồng trong nông nghiệp. Người ta đã xây dựng những quy trình để thu nhận sản phẩm lên men khá hoàn chỉnh và được áp dụng vào thực tế sản xuất lớn ở quy mô công nghiệp. Tuy nhiên, quy trình lên men vẫn đang còn nằm trong giai đoạn tìm kiếm một phương pháp thích hợp, chọn lựa điều kiện và môi trường nuôi cấy tối ưu để đạt số lượng bào tử gồm chất khô cao, giá thành sản phẩm rẻ đồng thời sản phẩm tạo ra phải dễ bảo quản, giữ được hoạt tính lâu bền ở nhiệt độ bình thường.

Một số phương pháp lên men chế tạo chế phẩm sinh học đã được nghiên cứu và ứng dụng như sau:

### **2.4.1 Phương pháp lên men chìm**

Nhiều tác giả đã áp dụng phương pháp lên men chìm để nuôi cấy các nấm diệt sâu như nấm *Beauveria bassiana* (Samsinakova, 1961), *Metarrhizium anisopliae* (Adamek, 1965) và các tác giả khác (Weiser, 1966). Nấm nuôi cấy chìm phát triển cho dạng Chlamydo spores, còn khi nuôi bề mặt hoặc nấm phát triển cho dạng conidia.

Khi nuôi cấy chìm nấm thường phát triển qua 6 giai đoạn:

Giai đoạn 1: Bào tử phồng lên, sau đó tạo thành một hay nhiều ống mầm

Giai đoạn 2: Các sợi nấm phân nhánh

Giai đoạn 3: Tạo thành Chlamydo spores lần thứ nhất

Giai đoạn 4: Các Chlamydo spores phát triển lại tạo thành sợi nấm

Giai đoạn 5: Sợi nấm phát triển bắt đầu tạo Chlamydo spores lần thứ hai

Giai đoạn 6: Tạo thành Chlamydo spores lần 2.

Nếu tiếp tục nuôi cấy sẽ xảy ra sự phân li hoàn toàn của sợi nấm. Lượng Chlamydo spores lần thứ hai ổn định một thời gian, sau đó cũng giảm đi.

Nhược điểm của phương pháp lên men chìm là chỉ thu được chế phẩm ở dạng bào tử chồi Chlamydo spores, không bền vững, dễ bị mất hoạt tính vì có thời gian sống ngắn, có cấu trúc không bền vững.

#### **2.4.2 Phương pháp lên men bề mặt không vô trùng tạo chế phẩm nấm**

Phương pháp lên men bề mặt không vô trùng tạo chế phẩm nấm đã được thực hiện bởi A.A Evlachova (1968), đã áp dụng phương pháp lên men này để tạo chế phẩm Boverin, chất diệt sâu vi sinh trên cơ sở nấm *Beauveria bassiana*. Môi trường dinh dưỡng được nấu sôi ở 100°C và khi nguội cho thêm chất kháng sinh *Streptomycine* (0,01%) để ngăn cản sự phát triển của vi khuẩn trong quá trình lên men.

Tuy nhiên, để thực hiện phương pháp này có hiệu quả cần thực hiện 5 nguyên tắc chủ yếu sau:

(1) Bào tử nấm được cấy phủ kín khắp bề mặt môi trường dịch (đã đun sôi 100°C/20 phút). Các bào tử nấm sau khi cấy sẽ tự điều hoà khuếch tán thành một màng mỏng khắp bề mặt môi trường, ngăn ngừa các vi sinh vật lạ phát triển.

(2) Lượng bào tử trên một đơn vị bề mặt môi trường được cấy với một lượng lớn đủ áp đảo được phát triển ban đầu của các vi sinh vật lạ (1-2 tỷ bào tử/cm<sup>2</sup>)

(3) Ngay sau khi nảy mầm, bào tử của các nấm diệt sâu sẽ tiết ra các chất trao đổi chất, giống kháng sinh để ức chế sự phát triển của vi khuẩn và nấm lạ (Calvish, 1972 ; Scherf – denberg, 1965; Evlachova, 1966 ;1974; Evlachova và Tarasov, 1968).

(4) Tạo môi trường pH thấp 5 –5,5 thuận lợi hơn cho sự phát triển của nấm, ức chế sự phát triển của vi khuẩn.

(5) Sử dụng dụng cụ, thiết bị và phòng nuôi cấy sạch sẽ hạn chế tối thiểu sự nhiễm của các nấm nuôi.

#### **2.4.3 Phương pháp lên men hai giai đoạn tạo chế phẩm nấm**

Ở phương pháp này, các bước thực hiện được tiến hành như sau (sơ đồ 3):

Như vậy, phương pháp lên men 2 giai đoạn thực chất là phương pháp lên men chìm (giai đoạn 1) và sau đó chuyển sang lên men bề mặt (giai đoạn 2).

Như đã nêu trong phương pháp cấy chìm, sự phát triển của nấm xảy ra gồm 6 pha phát triển, thuận lợi nhất cho sự chuyển sang giai đoạn 2 nuôi bề mặt là lúc kết thúc pha 3 và bắt đầu pha 4, nghĩa là lúc trong dịch nuôi cấy tạo nhiều Chlamyospores lần thứ nhất, bắt đầu phát triển thành sợi nấm.

Mục đích cuối cùng khi sản xuất nấm là thu được một lượng lớn dạng conidia (bào tử có cấu trúc bền vững, có thời gian sống lâu, giữ hoạt tính bền lâu hơn) trên một thể tích môi trường dinh dưỡng. Vì vậy, cần thiết phải nghiên cứu điều kiện tạo conidia khi nuôi bề mặt ở giai đoạn 2.

Khi nhiệt độ nuôi trong khoảng 26-32<sup>0</sup>C có hiệu suất tạo conidia cao nhất.

Khi nhiệt độ thấp hơn 24<sup>0</sup>C và cao hơn 35<sup>0</sup>C hiệu suất tạo conidia giảm.

Ẩm độ không khí cao  $R_h = 90 - 100\%$  thúc đẩy nhanh sự tạo thành màng nấm trên bề mặt dịch nuôi và tạo nhiều conidia.

Ẩm độ không khí cao  $R_h = 70 - 80\%$  sẽ cản trở sự tạo thành màng nấm và tạo ít conidia.

#### **2.4.4 Phương pháp lên men xộp tạo chế phẩm nấm**

Là phương pháp được áp dụng rộng rãi nhất vì đây là quá trình lên men đơn giản, dễ thành công hơn các quy trình khác. Trong quy trình này, các loại cơ chất dùng để làm môi trường cho nấm kháng phát triển là cám trấu, bột gạo, bột bắp cùng với dịch dinh dưỡng để nuôi cấy nấm.

Lên men xốp sẽ thu nhận được chế phẩm sinh học dạng đính bào tử (conidiospore) của các nấm kháng, ổn định và bền vững hơn dạng Chlamydospores (bào tử chồi), vì vậy phương pháp này đã được nhiều nhà khoa học trên thế giới quan tâm từ lâu.

Khi nuôi nấm kháng trên môi trường xốp (hạt) theo Solivey F.F (1984) đã đạt hiệu suất bào tử so với các phương pháp lên men khác để chống sâu bệnh. Tuy nhiên, theo ông khả năng sống của bào tử trong chế phẩm phụ thuộc không chỉ vào điều kiện bảo quản mà còn phụ thuộc vào sự sấy khô và cơ chất dinh dưỡng. Kết quả cho thấy các chế phẩm sinh học nấm diệt sâu *Metarrhizium anisopliae* và *Beauveria bassiana* nếu bảo quản ở nhiệt độ 5 – 10<sup>0</sup>C có thể giữ được hoạt tính trong 6-8 tháng. Ngược lại bảo quản ở nhiệt độ phòng thì chỉ giữ được 6-8 tuần. Như vậy các chế phẩm sinh học từ nấm được sản xuất ra cần phải được bảo quản ở điều kiện lạnh, nơi khô ráo và sẽ có khả năng giữ được hoạt tính của chế phẩm trong khoảng thời gian 6-8 tháng.

#### **2.4.5 Phương pháp lên men xốp tạo chế phẩm nấm *Trichodema***

Người ta cũng thường áp dụng quy trình lên men xốp để tạo sinh khối, đã áp dụng rộng rãi trong sản xuất để diệt các loài nấm gây hại cây trồng. Bởi vì, môi trường lên men xốp cho lượng bào tử / gram chế phẩm cao, quy trình đơn giản dễ thực hiện, giá thành sản phẩm tạo ra thấp, đáp ứng được nhu cầu của người nông dân.

Để có được sản phẩm tạo ra có nhiều bào tử, các điều kiện môi trường như độ ẩm tương đối không khí  $Rh = 95\%$ ; nhiệt độ đạt: 30 – 32<sup>0</sup>C và thời gian nuôi cấy là 5-8 ngày.

Thành phần các loại môi trường dùng để lên men xốp, cũng là tạo chế phẩm nấm *Trichodema* như sau:

- (1) Bột ngô + bã đậu phụng

- (2) Cám gạo + bột ngô mảnh
- (3) Cám gạo + bột ngô + bột đậu nành
- (4) Cám gạo + bột ngô + bã đậu khô
- (5) Lúa nấu chín
- (6) Gạo nấu chín

- Ngoài ra, các nghiên cứu của Nguyễn Ngọc Tú (1997) còn thử nghiệm trên 3 loại môi trường khác để nhân sinh khối *Trichodema* đó là: (1) môi trường gồm các thành phần là cám, trấu ; (2) môi trường than, bùn ; (3) môi trường bột thạch cao tẩm mật rỉ 10%. Thí nghiệm được tiến hành trong cùng điều kiện về ẩm độ, nhiệt độ và thời gian nuôi cấy và hai dòng *Trichodema* được chọn là *Trichodema 1* và *Trichodema 2* . Kết quả của thí nghiệm như sau:

Môi trường cám trấu cho sản phẩm *Trichodema* có số lượng bào tử/g chế phẩm khô đạt  $10^9$  bào tử / gram, số lượng bào tử cao nhất và bảo quản ở nhiệt độ phòng.

Môi trường than bùn và bột thạch cao tẩm mật rỉ cho số lượng bào tử / gram chế phẩm khô thấp hơn, khoảng  $10^7$ ,  $10^8$  bào tử / gram.

Tiếp tục thử nghiệm về thời gian bảo quản của chế phẩm *Trichodema -1* và *Trichodema -2* đã lên men từ môi trường cám trấu sau 3 tháng bảo quản ở nhiệt độ phòng ( $29-32^{\circ}\text{C}$ ) số lượng bào tử tính được / gram chất khô như sau: *Trichodema - 2* còn  $2,72.10^9$  bào tử / gram và *Trichodema 1* còn  $0,65.10^9$  bào tử / gram so với ban đầu là  $5,88.10^9$  bào tử / gram ở *Trichodema - 2* và  $2,24.10^9$  bào tử / gram ở *Trichodema - 1*.

Tuy nhiên, chế phẩm *Trichodema* tốt nhất là không nên để quá 9 tháng. Với chế phẩm nhân chưa bảo quản số lượng bào tử / gram là cao nhất nhưng sau quá trình bảo quản, lượng bào tử giảm dần, nhất là sau 12 tháng thì lượng bào tử trong chế phẩm giảm đáng kể. Như vậy, thời gian bảo quản càng lâu thì càng ảnh hưởng tới chất lượng của chế phẩm.

## 2.5 Một số chế phẩm từ *Trichodema* đã được sản xuất và ứng dụng

Nền nông nghiệp hiện đại với phương thức chỉ độc canh một hoặc vài loại cây trồng trên một diện tích rộng lớn, xem thuốc hoá học như là một biện pháp tốt nhất để phòng trừ dịch hại trên cây trồng đã dẫn đến một loạt các hậu quả mà con người và thiên nhiên phải gánh chịu đó là: ô nhiễm môi trường; ô nhiễm nguồn nước gây chết cho các động vật thủy sản, gia súc, gia cầm ; làm mất cân bằng sinh thái trong tự nhiên ; tạo nên mối kháng thuốc ở côn trùng làm tăng thêm mức độ tàn phá trên cây nhiều hơn; tồn dư lượng thuốc hóa học quá mức cho phép trên sản phẩm nông nghiệp, gây hại tới sức khoẻ con người ; hơn nữa sử dụng thuốc hóa học chi phí đầu tư cao nhưng ngày càng không có hiệu quả. Do đó, cần phải nhanh chóng giảm bớt lượng thuốc sử dụng hoặc chuyển sang chế phẩm vi sinh nhằm khắc phục các hậu quả trên.

Từ những thực tại đó, trên thế giới hiện nay đã có nhiều quốc gia sử dụng chế phẩm vi sinh để trừ sâu bệnh hại cây trồng. Theo Dunin (1979) ở Liên Xô (cũ) đã sử dụng chế phẩm *Trichodema* (từ nấm *Trichodema lignorum*) trên cây bông vải làm giảm 15-20% bệnh héo do nấm *Verticillium* và làm tăng năng suất lên 3-9 tạ bông / hecta. Sử dụng chế phẩm *Trichodema* cũng làm giảm 2,5 – 3 lần bệnh thối rễ cây con ở thuốc lá và rau màu. Trong những năm giữa thập kỷ 80, chế phẩm *Trichodema* ở Liên Xô cũ đã sử dụng trên diện tích 3.000 hecta (Filippa, 1987), sử dụng 30-40g/m<sup>2</sup> chế phẩm (S.V. Badai), 1986). Chế phẩm nấm *Trichodema* ở Liên Xô (cũ) có tên thương mại *Trichodermin* với 4 dòng chế phẩm, *Trichodermin-1*: nấm nhân nuôi trên môi trường dinh dưỡng giàu chất đạm và chất bột; *Trichodermin-2*: nấm nhân nuôi trên môi trường các phế liệu thực vật; *Trichodermin-3*: nấm nhân trên than bùn sấy khô và *Trichodermin-4* là nấm được nhân theo phương pháp cấy sâu các nguồn nấm *Trichodema lignorum* (Trần Thị Thuần, 1999).

Ngoài ra, còn một số chế phẩm khác từ nấm *Trichodema* đang được các quốc gia trên thế giới sử dụng.

Ở nước ta, trong những năm gần đây, đã có một số công trình nghiên cứu sản xuất chế phẩm *Trichodema*. Một số sản phẩm của Viện Sinh Học Nhiệt Đới đưa vào thử nghiệm trên cây rau ở Củ Chi - Thành phố Hồ Chí Minh ; Chế phẩm của Bộ môn Bảo Vệ Thực Vật – Trường Đại Học Cần Thơ thử nghiệm trên cây xà lách xoong ở Vĩnh Long, đều cho những kết quả rất khả quan. Tuy nhiên, cho tới nay, theo tài liệu được công bố mới nhất của Bộ Nông Nghiệp và Phát Triển Nông Thôn số 49/2004/QĐ – BNN ngày 13/10/2004, mới có duy nhất một sản phẩm với tên thương mại TriB<sub>1</sub>, hàm lượng *Trichodema*  $3.2 \times 10^9$  bào tử /gram, được đăng ký trừ bệnh héo do nấm *Rhizoctonia*, *Sclerotium*, *Fusarium* hại cà chua, khoai tây, đậu đỗ, thuốc lá và hồ tiêu ở Việt Nam.



## Chương 3

# NỘI DUNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 3.1 Nội dung

1. Thu thập và phân lập các dòng nấm *Trichodema* ở các vùng sinh thái khác nhau.
2. Đánh giá tính đối kháng của các dòng nấm *Trichodema* được phân lập với một số nấm gây hại cây trồng trong đất trên môi trường chọn lọc.
3. Nhân sinh khối dòng nấm *Trichodema* có tính kháng cao bằng phương pháp lên men lỏng và lên men xốp để tìm ra quy trình lên men thích hợp nhất, tạo ra sản phẩm cho hiệu quả phòng trừ cao, giá thành thấp.
4. Sử dụng chế phẩm từ quy trình lên men để đánh giá khả năng kháng nấm của *Trichodema* đối với nấm *Phytophthora* gây bệnh cho cây tiêu trong điều kiện nhà lưới và gây bệnh xì mủ trên cây sầu riêng ngoài đồng ruộng.

### 3.2 Thời gian và địa điểm thực hiện

**Thời gian:** Từ tháng 2 năm 2003 đến tháng 8 năm 2004

**Địa điểm:**

- Thí nghiệm thu thập, phân lập và đánh giá khả năng đối kháng của các dòng *Trichodema* thực hiện ở Bộ môn Bảo Vệ Thực Vật, Khoa Nông học, Đại học Nông Lâm Tp. HCM và Trung tâm Khoa học Nông Nghiệp và Chuyển giao công nghệ trường Đại học Nông Lâm Tp HCM.
- Thí nghiệm nhân sinh khối *Trichodema* thực hiện ở Trung tâm Khoa học Nông Nghiệp và Chuyển giao công nghệ trường Đại học Nông Lâm Tp HCM.
- Thí nghiệm đánh giá khả năng phòng trừ bệnh của chế phẩm *Trichodema* trên cây tiêu thực hiện ở Nhà lưới Đại học Nông Lâm Tp. HCM.
- Thí nghiệm đánh giá khả năng phòng trừ bệnh của chế phẩm *Trichodema* trên cây sầu riêng giai đoạn vườn ươm thực hiện ở xã Long Định - Châu Thành, Tiền Giang.
- Thí nghiệm đánh giá khả năng phòng trừ bệnh của chế phẩm *Trichodema* trên cây sầu riêng ngoài đồng ruộng thực hiện ở xã Tam Bình - Cai Lậy – Tiền Giang.

**3.3 Phương pháp nghiên cứu**

**3.3.1 Vật liệu nghiên cứu**

- Các dòng nấm *Trichodema* và các nấm gây bệnh được phân lập và làm thuần từ các mẫu đất và mẫu cây bệnh lấy từ các vùng và các loại cây trồng khác nhau (xem bảng 3.2 ; bảng 3.3).

- Cây tiêu giống *Kalimanda* 4 tháng tuổi mua ở Trại giống Châu Đức, Tỉnh Bà Rịa – Vũng Tàu, được trồng trong chậu nhựa đen kích thước 20cm x 20cm.

- Cây sầu riêng cơm vàng hạt lép Ri 6 chuẩn bị xuất vườn ở Viện Cây ăn quả Miền Nam. Vườn sầu riêng giống khố qua xanh, 5 năm tuổi ở xã Tam Bình - Cai Lậy – Tiền Giang.

- Sử dụng máy lắc hiệu IKA WERKE AS 1.9 cho phương pháp lên men lỏng, các hộp xốp kích thước 15cm x 20cm dùng cho phương pháp lên men xốp.

- Ngoài ra còn có tác dụng khác cần thiết được sử dụng việc phân lập, nuôi cấy và quan sát vi sinh vật trong phòng thí nghiệm.

### 3.3.2. Thu thập và phân lập nấm

+ Thu thập mẫu nấm *Trichodema*:

Tùy theo loại cây trồng, địa bàn lấy mẫu, trong một ruộng hay một vườn cây chọn những nơi đất mùn, nhiều xác cây chết dùng dao xén lấy 50g đất. Trên

**Bảng 3.2a** Nguồn gốc của các dòng nấm *Trichodema* được phân lập

STT	Mã	Địa điểm	Nơi lấy mẫu
1	T.14	SR – Đạ Oai	Vườn sầu riêng
2	T.15	Trường ĐH NL Tp.HCM	Đất trại khoa Nông học
3	T.16	Trường ĐH NL Tp.HCM	Đất trại khoa Nông học
4	T.17	Trường ĐH NL Tp.HCM	Đất trại TT N-Lâm Ngư
5	T.29	Lâm Đồng	Vườn chè
6	T.30	Sun Agro - Ấn Độ	Sản phẩm thử nghiệm
7	T.31	Cần Thơ	Vườn cam, quýt
8	T.32	Bình Phước	Vườn tiêu
9	T.33	Kiên Giang	Ruộng dứa
10	T.34	Hà Nội	Ruộng đậu phộng
11	T.35	Bình Phước	Ruộng dứa
12	T.36	Củ Chi	Ruộng cà chua
13	T.37	Đồng Nai	Vườn sầu riêng
14	T.41	Trường ĐH NL Tp.HCM	Đất trại khoa Nông học

**Bảng 3.2b** Nguồn gốc nấm gây bệnh dùng trong các thí nghiệm

STT	Địa điểm	Tên nấm	Cây trồng
1	Đà Lạt	<i>Fusarium</i>	Đà Lan
2	Tây Ninh	<i>Sclerotium</i>	Cà chua
3	Bà Rịa – Vũng Tàu	<i>Phytophthora</i>	Tiêu
4	Tiền Giang	<i>Rhizoctonia</i>	Cà chua

cây, chọn những nơi vết bệnh mới vừa lành, cạo lấy khoảng 5g. Tất cả mẫu được lấy cho vào túi nylon. Ghi lý lịch mẫu và lưu trữ ở 4°C cho đến khi phân tích. Sử dụng các chữ cái T và số thứ tự ký hiệu vùng lấy mẫu. Ngoài ra còn chọn thêm chọn thêm một mẫu sản phẩm từ nước ngoài đây là sản phẩm của Công ty Sun Agro – Ấn Độ gửi mẫu giới thiệu ở Việt Nam.

+ Phân lập nấm *Trichodema*:

Mẫu đất, mẫu tại vết bệnh tại mỗi điểm thu được trộn đều. Cân 10 gram đất (hay 1 gram mẫu bệnh) cho vào bình tam giác dung tích 250ml với lượng nước cất theo tỷ lệ 1:10, lắc mạnh trên máy lắc hiệu ORBITAL INCUBATOR (SI 50) ở 150-180 vòng/phút, ở nhiệt độ 28°C. Dùng micro – pipet hút 1ml dung dịch trích cho vào ống nghiệm có chứa sẵn 9ml nước cất, lắc đều và tiếp tục pha loãng ở tỷ lệ  $10^{-5}$ . Ở mỗi nồng độ khác nhau dùng micro-pipet hút 0,1ml dung dịch rồi cho vào đĩa petri, đường kính 10cm chứa môi trường PGA. Nuôi trong tủ định ôn ở nhiệt độ 25°C. Sau 48 giờ bào tử nảy mầm và phát triển trên bề mặt môi trường, chúng được nhận dạng rồi cấy chuyển sang môi trường PGA trên đĩa petri. Cấy chuyển đến khi không còn tạp nhiễm các loài nấm khác. Kiểm tra dưới kính hiển vi và phân loại chúng. Lưu giữ nguồn nấm trong môi trường bột bắp, 2% đường Dextrose trong ống nghiệm.

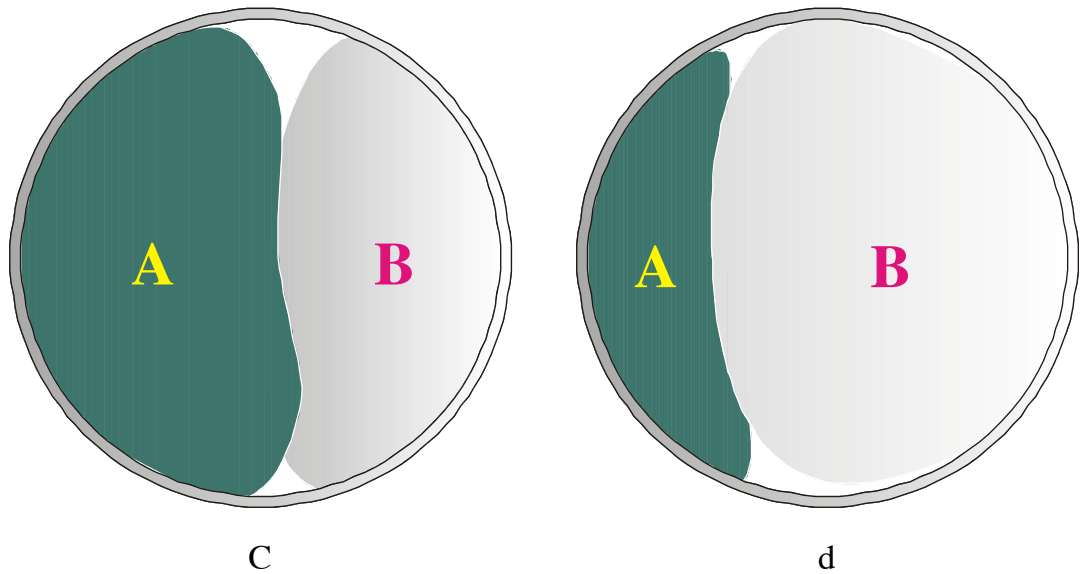
+ Các dòng nấm đất sử dụng trong thí nghiệm được thu thập trên các loại cây trồng, ở các địa điểm nêu trên và phân lập tương tự như phân lập nấm *Trichodema*.

### **3.3.3 Đánh giá khả năng đối kháng của *Trichodema* với 4 loại nấm gây hại cây trồng: *Fusarium*, *Sclerotium*, *Phytophthora* và *Rhizoctonia***

- Dùng 14 dòng nấm *Trichodema* đã phân lập được để thử nghiệm tính đối kháng với 4 loại nấm gây hại trong đất: *Phizoctonia solanni*, *Sclerotium rolfsii*, *Phytophthora* và *Fusarium*.

A

b



**Hình 3.1:** Phương pháp đánh giá tính kháng của *Trichoderma* trên đĩa petri với các nấm gây bệnh, A: nấm *Trichoderma* ; B: các loại nấm gây bệnh.

- Trichoderma* kháng mạnh với các loại nấm gây bệnh (++++)
- Trichoderma* kháng trung bình với các loại nấm gây bệnh (++)
- Trichoderma* kháng yếu với các loại nấm gây bệnh (+)
- Trichoderma* không kháng với các loại nấm gây bệnh (-)

- Thí nghiệm đối kháng: Nấm *Trichodema* và nấm gây bệnh được cấy đối xứng nhau qua đường kính đĩa, theo sơ đồ của hình 3.1 lặp lại 4 lần, mỗi lần lặp lại là 1 đĩa Petri trong môi trường bột bắp. Thí nghiệm được quan sát 2 ngày một lần, sau 7 ngày đánh giá kết quả kháng hoặc không kháng.

\* Cơ sở đánh giá tính kháng của nấm *Trichodema*: Sau 7 ngày nuôi cấy:

- Phần nấm *Trichodema* phát triển bao phủ qua phần nấm gây hại.
- Phần nấm gây hại bị bào mòn dần ở mép khuẩn lạc.
- Phần nấm *Trichodema* phát triển và khống chế làm cho phần nấm gây hại không phát triển được.

- Chúng tôi phân loại tính kháng ở các mức kháng mạnh: Nấm *Trichodema* tấn công và phân hủy hoàn toàn nấm gây hại, ký hiệu +++ (xem hình 3.1a); kháng trung bình: Nấm *Trichodema* tấn công và phân hủy một phần nấm gây hại, ký hiệu ++ (xem hình 3.1b) ; kháng yếu: Nấm *Trichodema* ngăn chặn sự phát triển của nấm nấm gây hại, ký hiệu + (xem hình 3.1c) và không kháng: nấm gây hại gần như phát triển bình thường, xâm nhập vào vùng phát triển của nấm *Trichodema*, ký hiệu - (xem hình 3.1d).

### 3.3.4 Phương pháp nhân sinh khối nấm *Trichodema*

#### 3.3.4.1 Trên môi trường lỏng

Chọn 2 dòng *Trichodema* có tính kháng tốt sau thí nghiệm đánh giá khả năng kháng của các dòng *Trichodema* để lên men. Thí nghiệm được thử nghiệm trên thành phần môi trường chủ yếu là đường và giá đậu xanh. Tiến hành với hai công thức môi trường có lượng đường glucose và lượng giá khác nhau.

Công thức môi trường (1): Các nghiệm thức khác nhau có lượng đường khác nhau, lượng giá sống không đổi. Thí nghiệm có 5 nghiệm thức, 4 lần lặp lại và công thức được trình bày qua bảng 3.3.

**Bảng 3.3** Thành phần môi trường các nghiệm thức trong thí nghiệm khảo sát ảnh hưởng của hàm lượng đường đến việc nhân sinh khối *Trichodema* dạng lỏng

Nghiệm thức	Thành phần môi trường					
	Giá	Đường	Ure	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	MgSO <sub>4</sub>	Nước
	(g)	(g)	(g)	(g)	(g)	(ml)

P <sub>1</sub>	100	0	1	1	0,5	1000
P <sub>2</sub>	100	10	1	1	0,5	1000
P <sub>3</sub>	100	20	1	1	0,5	1000
P <sub>4</sub>	100	30	1	1	0,5	1000
P <sub>5</sub>	100	40	1	1	0,5	1000

**Bảng 3.4** Thành phần môi trường các nghiệm thức trong thí nghiệm khảo sát ảnh hưởng của hàm lượng giá đậu xanh đến việc nhân sinh khối *Trichodema* dạng lỏng

Nghiệm thức	Thành phần môi trường					
	Giá (g)	Đường (g)	Ure (g)	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> (g)	MgSO <sub>4</sub> (g)	Nước (ml)
G <sub>1</sub>	0	20	1	1	0,5	1000
G <sub>2</sub>	50	20	1	1	0,5	1000
G <sub>3</sub>	100	20	1	1	0,5	1000
G <sub>4</sub>	150	20	1	1	0,5	1000
G <sub>5</sub>	200	20	1	1	0,5	1000

Công thức môi trường (2): Các nghiệm thức khác nhau có lượng giá sống khác nhau, lượng đường không đổi. Thành phần môi trường của các nghiệm thức ở công thức môi trường (2) được trình bày qua bảng 3.4. Thí nghiệm có 5 nghiệm thức, 4 lần lặp lại, bố trí theo kiểu hoàn toàn ngẫu nhiên.

- Phương pháp thực hiện: Cho 100ml dung dịch môi trường vào bình tam giác 250ml, mỗi bình tam giác là 1 lần lặp lại. Dùng autoclave hấp khử trùng ở nhiệt độ 120<sup>0</sup>C, áp suất 1atm trong thời gian 30 phút. Cắt 5 khoanh thạch nấm *Trichodema*, đường kính khoanh 5mm, nghiền nát, cấy vào bình tam giác, lắc 150



vòng/1phút trong thời gian 72 giờ (xem hình 4.5). Sau khi ngưng lắ, lọc lấy sợi nấm, thấ khô bằng giấy thấ, và cân tĩn trọng lượng sợi nấm.

- Chỉ tiêu theo dõi: Cân xác định khối lượng sợi nấm. Theo dõi thời gian phát triển của nấm *Trichodema* bằng cách quan sát sợi nấm phát triển bào tử xanh trên mặt môi trường.

### 3.3.4.2 Lên men trên môi trường xốp

Chọn 2 dòng *Trichodema* có tĩn kháng cao sau thí nghiệm đánh giá tĩn đối kháng. Thử nghiệm với thành phần cơ chất làm môi trường gồm: Cám, trấu, vỏ cà phê và cõm. Thí nghiệm được tiến hành với 7 nghiệm thức và 4 lần lặp lại, bố trí theo kiểu hoàn toàn ngẫu nhiên. Công thức thí nghiệm xem bảng 3.5.

- Phương pháp thực hiện: Khử trùng các loại cơ chất ở nhiệt độ 120<sup>0</sup>C, áp suất 1atm, trong thời gian 30 phút. Sử dụng các hộp xốp kích thước 15cm x 20cm để lên men, mỗi hộp xốp là một lần lặp lại. Cân các thành phần cơ chất theo tỷ lệ của từng nghiệm thức. Cho thêm vào 15ml nước cất. Cắt 5 khoanh thạch nấm *Trichodema* được chọn nghiền nát cho vào môi trường và trộn đều. Ủ các hộp xốp trong phòng kín cho đến khi bào tử nấm mọc xanh đầy mặt hộp đem sấy khô ở nhiệt độ 35<sup>0</sup>C đến khi độ ẩm còn khoảng 12% cho vào cối xay nhuyễn và để vào vào hộp nhựa giữ ở nhiệt độ phòng (25<sup>0</sup>C) (xem hình 4.6a, 4.6b và 4.6c). Mỗi tháng kiểm tra khả năng sống sót của chế phẩm 1 lần trên môi trường PGA.

**Bảng 3.5** Thành phần môi trường các nghiệm thức trong thí nghiệm khảo sát ảnh hưởng của các loại cơ chất khác nhau đến việc nhân sinh khối *Trichodema* dạng rắn

Nghiệm thức	Thành phần môi trường	Tỷ lệ
N <sub>1</sub>	15g Cám + 15g Trấu	1:1
N <sub>2</sub>	10g Cám + 20g Trấu	1:2

N <sub>3</sub>	20g Cám + 10g Trấu	2:1
N <sub>4</sub>	15g Cám + 15g Vỏ cafe	1:1
N <sub>5</sub>	10g Cám + 20g Vỏ cafe	1:2
N <sub>6</sub>	20g Cám + 10g Vỏ cafe	2:1
N <sub>7</sub>	30g Cơm	

- Chỉ tiêu theo dõi : \* Tính lượng bào tử / gram chế phẩm sau khi hoàn thành quá trình lên men theo công thức:  $D = (4000 \times a \times 10^3 \times 10^{-n})/b$

Trong đó: a : Số lượng bào tử đếm trong 16 ô lớn.

b : Số ô con trong 16 ô lớn ( 256 ô con)

n : Nồng độ pha loãng của dung dịch bào tử.

\* Theo dõi thời gian sống của chế phẩm nấm *Trichodema*: 1 tháng 1 lần, lấy chế phẩm lưu giữ, pha loãng ở  $10^{-5}$  lần, dùng 1ml dung dịch cấy vào đĩa petri có chứa lẫn môi trường PGA, xem xét sự nảy mầm của bào tử.

### **3.3.5 Đánh giá khả năng phòng trừ bệnh của chế phẩm nấm *Trichodema* trên một số loại cây trồng trong nhà lưới, ngoài đồng ruộng**

#### **3.3.5.1 Trong nhà lưới**

- Đánh giá khả năng kháng của chế phẩm nấm *Trichodema* với nấm *Phytophthora sp.*, gây bệnh chết cây tiêu trong nhà lưới. So sánh hiệu quả các chế phẩm của từng dòng *Trichodema* và hiệu quả giữa các cách xử lý.

- Bố trí thí nghiệm: Thí nghiệm được bố trí theo kiểu hoàn toàn ngẫu nhiên, gồm 8 nghiệm thức và 4 lần lặp lại. Mỗi lần lặp lại có 5 chậu, kích thước chậu 20cm x 25cm. Trồng 2 dây trên 1 chậu. Trước khi xử lý, mỗi chậu khống chế chỉ còn 3 nhánh mỗi nhánh có 7 lá. Trên mỗi cây trung bình có 15 đọt (lóng). Công thức thí nghiệm theo bảng 3.6.

**Bảng 3.6** Công thức bố trí thí nghiệm đánh giá khả năng phòng trừ bệnh của chế phẩm *Trichodema* trên cây tiêu trong nhà lưới

Ký hiệu	Nghiệm Thức	Cách xử lý
T1	A <sub>1</sub> B <sub>1</sub>	Dùng chế phẩm T.32 (A1) để bón (B1)
T2	A <sub>1</sub> B <sub>2</sub>	Dùng chế phẩm T.32 (A1) để phun (B1)
T3	A <sub>1</sub> B <sub>3</sub>	Dùng chế phẩm T.32 (A1) bón và phun (B3)
T4	A <sub>2</sub> B <sub>1</sub>	Dùng chế phẩm T.41 (A2) để bón (B1)
T5	A <sub>2</sub> B <sub>2</sub>	Dùng chế phẩm T.41 (A2) để phun (B1)
T6	A <sub>2</sub> B <sub>3</sub>	Dùng chế phẩm T.41 (A2) bón và phun (B3)
T7	B0 <sub>1</sub>	ĐC có chủng <i>Phytophthora</i> không có <i>Trichodema</i>
T8	B0 <sub>2</sub>	ĐC không chủng <i>Phytophthora</i> không có <i>Trichodema</i>

- Phương pháp thực hiện: Dùng chế phẩm *Trichodema* thu được ở phương pháp lên men để sử dụng cho thí nghiệm. Dạng bột dùng để bón, dạng lỏng dùng để phun. Ruộng thí nghiệm được lây bệnh nhân tạo bằng cách chủng nấm *Phytophthora*. Sau khi bón chế phẩm dạng rắn 2 ngày ở các nghiệm thức bón và bón + phun tiến hành chủng nấm gây bệnh *Phytophthora* lên cây tiêu ở các nghiệm thức (trừ nghiệm thức đối chứng không chủng *Phytophthora*). Sau chủng 5 ngày dùng chế phẩm dạng lỏng phun ở các nghiệm thức phun và bón + phun, 7 ngày phun một lần. Liều lượng bón 5g chế phẩm / chậu, liều lượng phun dùng chế phẩm dạng lỏng có hàm lượng sợi nấm 100g/lít phun ướt đều lên cây thí nghiệm.

+ Các chỉ tiêu theo dõi:

- Tỷ lệ lá bệnh: Đếm số lá bệnh và số lá điều tra từ khi chủng *Phytophthora* đến khi bệnh ngừng không tiến triển hoặc lá rụng. Tính tỷ lệ % lá bệnh ở các ngày 2, 4, 6, 8 và 41 ngày sau chủng *Phytophthora*.

- Theo dõi sự gia tăng đường kính vết bệnh trên lá: Sau khi chủng *Phytophthora*, mỗi ô thí nghiệm chọn 3 lá bệnh, đo kích thước vết bệnh đến khi lá rụng hoặc vết bệnh ngừng phát triển.
- Tỷ lệ dây chết: Đếm số dây bệnh và số dây điều tra từ khi chủng *Phytophthora* đến khi bệnh ngừng không phát triển hoặc dây chết hoàn toàn. Tính tỷ lệ % dây bệnh ở các ngày 8, 15, 22, 29 và 41 ngày sau chủng *Phytophthora*
- Số chồi non mới mọc: Đếm số chồi non mới mọc ở các ngày 8, 15, 22, 29 và 41 ngày sau chủng *Phytophthora*.
- Tỷ lệ chồi non chết: Đếm số chồi non chết và số chồi non lúc điều tra. Ghi nhận kết quả ở các ngày 8, 15, 22, 29 và 41 ngày sau chủng *Phytophthora*.
- Ảnh hưởng đến rễ cây: Cân trọng lượng tươi toàn bộ - bộ rễ của tất cả các nghiệm thức khi kết thúc thí nghiệm.

### **3.3.5.2 Đánh giá khả năng phòng trừ bệnh của nấm *Trichodema* trên cây sầu riêng trong giai đoạn vườn ươm**

- Đánh giá khả năng đối kháng của chế phẩm *Trichodema* dạng rắn với nấm *Phytophthora* gây hại trên sầu riêng trong giai đoạn vườn ươm với các liều lượng khác nhau.

- Bố trí thí nghiệm: Thí nghiệm được bố trí theo kiểu khối hoàn toàn ngẫu nhiên 3 lần lặp lại, mỗi nghiệm thức xử lý 10 cây. Đây là những cây chuẩn bị xuất khỏi vườn ươm để trồng ngoài đồng. Đường kính cành gốc ghép 2,5cm và đường kính cành mắt ghép 1,2cm. Môi trường dinh dưỡng trong mỗi bầu cây giống trước khi xử lý hỗn hợp chế phẩm gồm có: cát xây dựng, tro trấu, trấu mục, sơ dừa và phân chuồng hoai với tỷ lệ 1:3:3:2:1. Đây là công thức môi trường ươm cây của Viện cây ăn quả Miền Nam. Kích thước bầu 15 x 30 cm.

Công thức thí nghiệm gồm có 6 nghiệm thức (xem bảng 3.7). Tất cả các nghiệm thức đều có chủng *Phytophthora*, trong đó có 4 nghiệm thức có xử lý chế

phẩm *Trichodema*, 1 nghiệm thức đối chứng có phân chuồng, không xử lý chế phẩm *Trichodema* và 1 nghiệm thức đối chứng không có phân chuồng, không xử lý chế phẩm *Trichodema*. Phân chuồng dùng trong thí nghiệm được mua từ Viện cây ăn quả Miền Nam, được ủ sẵn dùng để ươm cây.

**Bảng 3.7** Công thức bố trí thí nghiệm đánh giá khả năng phòng trừ bệnh của chế phẩm *Trichodema* trên cây sầu riêng vườn ươm

<b>Nghiệm thức</b>	<b>Liều lượng / Bầu</b>	<b>Cách xử lý</b>
T1	10g chế phẩm <i>Trichodema</i> + 800g phân chuồng hoai mục	Hỗn hợp phân chuồng và chế phẩm cho vào giá thể cây con giống. Chủng nấm <i>Phytophthora</i> ngay khi xử lý chế phẩm
T2	20g chế phẩm <i>Trichodema</i> + 800g phân chuồng hoai mục	
T3	40g chế phẩm <i>Trichodema</i> + 800g phân chuồng hoai mục	
T4	25g chế phẩm <i>Trichodema</i> + 0g phân chuồng hoai mục	Chỉ sử dụng chế phẩm <i>Trichodema</i>
ĐC1	0g chế phẩm <i>Trichodema</i> + 800g phân chuồng hoai mục	Chỉ sử dụng phân chuồng hoai.
ĐC2	0g chế phẩm <i>Trichodema</i> + 0g phân chuồng hoai mục	

- Phương pháp chủng nấm: Nấm *Phytophthora palmivora* được thu thập từ vườn sầu riêng bị bệnh, nuôi cấy và làm thuần trên môi trường CMA. Nhân nhanh nấm trên môi trường CMA, sau 10 ngày nuôi cấy trên môi trường CMA, mỗi bầu cây giống chủng 4 mẫu thạch có chứa nấm (1cm<sup>2</sup>) vào 4 hướng phần dưới đáy bầu, rồi cho vào mỗi bầu cây giống 0,kg hỗn hợp phân và chế phẩm *Trichodema* như công thức thí nghiệm ở bảng 7. Tưới nước cho cây 1 lần/ngày sau

khi chủng nấm. Ghi nhận biểu hiện của cây ở 15, 30, 45 và 60 ngày sau khi chủng nấm *Phytophthora palmivora* và xử lý chế phẩm *Trichodema*.

Chỉ tiêu theo dõi

- Tỷ lệ chết cành, héo đọt: theo dõi sau khi xử lý đến lúc cành và ngọn héo có dấu hiệu hồi phục.
- Tỷ lệ cây hồi phục: theo dõi từ sau khi xử lý hỗn hợp đến lúc cánh héo bị chết hẳn hoặc được hồi phục hoàn toàn.
- Tỷ lệ cây chết: theo dõi từ sau chủng đến lúc cây chết hoặc ngừng nhiễm bệnh.

### **3.3.5.3 Đánh giá khả năng phòng trừ bệnh của nấm *Trichodema* trên cây sầu riêng ở ngoài đồng ruộng**

- Đánh giá khả năng đối kháng của chế phẩm *Trichodema* dạng rắn với nấm *Phytophthora* gây hại trên cây sầu riêng ngoài đồng ở các liều lượng và cách xử lý khác nhau.

- Thí nghiệm thực hiện ở vườn Sầu riêng khổ qua xanh 5 năm tuổi ở Tam Bình, Cai Lậy, Tiền Giang. Tình trạng cây trước đây đã được trồng trên nền đất thấp, cây sinh trưởng kém, lá vàng, khảo sát rễ thấy ít rễ tơ, rễ bị thối ướt. Các mẫu đất được thu thập để khảo sát nấm bệnh đều ghi nhận có sự hiện diện của nấm *Phytophthora* bằng phương pháp bẫy bào tử của Linderman và Zeitoun (1977)

- Bố trí thí nghiệm: Thí nghiệm được bố trí theo kiểu khối hoàn toàn ngẫu nhiên 3 lần lặp lại, mỗi nghiệm thức một cây. Dùng chế phẩm nấm *Trichodema* dạng bột và phân chuồng hoai theo các công thức thí nghiệm (xem bảng 3.8). Thí nghiệm có 6 nghiệm thức, trong đó có 4 nghiệm thức có xử lý chế phẩm *Trichodema*, 1 nghiệm thức đối chứng chỉ có phân chuồng (ĐC1) và 1 nghiệm thức đối chứng được xử lý theo cách truyền thống của dân địa phương (ĐC2).

Nguồn gốc phân chuồng hoai mua ở Viện cây ăn quả Miền Nam, loại phân dùng bón lót. Cách bón theo rãnh được đào quanh gốc. Bón xong lấp đất lại.

**Bảng 3.8** Công thức bố trí thí nghiệm đánh giá khả năng phòng trừ bệnh của chế phẩm *Trichodema* trên cây sầu riêng ngoài đồng ruộng

Stt	Nghiệm thức	Liều lượng
1	T1	125g chế phẩm <i>Trichodema</i> + 10kg phân chuồng hoai
2	T2	250g chế phẩm <i>Trichodema</i> + 10kg phân chuồng hoai
3	T3	500g chế phẩm <i>Trichodema</i> + 10kg phân chuồng hoai
4	T4	200g chế phẩm <i>Trichodema</i> + 0kg phân chuồng hoai
5	ĐC1	0g chế phẩm <i>Trichodema</i> + 10kg phân chuồng hoai
6	ĐC2	5kg sơ dừa, 1kg NPK 16168, 0,5kg Ure

Trước khi xử lý, tiến hành dọn cỏ, xới nhẹ vùng đất dưới tán, tạo một gờ đất nhỏ rộng bằng tán cây chung quanh vùng rễ để tránh rửa trôi khi xử lý hỗn hợp chế phẩm. Thu mẫu đất để phân tích nấm bệnh. Mỗi cây lấy 4 mẫu đất (0,5 kg/mẫu) ở 4 hướng trong vùng rễ non, dưới lớp đất mặt 5 – 1cm.

Nấm được phân lập theo phương pháp bẫy bào tử của Linderman và Zeitoun (1977)

Chỉ tiêu theo dõi:

- Quan sát sức sinh trưởng của cây ở các thời điểm 15, 30, 45 và 60 ngày sau khi xử lý để đánh giá khả năng phục hồi của cây sau khi được xử lý hỗn hợp trên.
- Hàm lượng diệp lục tố trong lá: Được thể hiện qua chỉ số SPAD (Soil Plant Analysis Development). Sử dụng máy đo hàm lượng diệp lục tố trên lá: SPAD – 502 của hãng Minolta Nhật Bản. Phương pháp đo hàm lượng diệp lục: Chọn các lá bánh tẻ (có độ tuổi đồng đều nhau), được phát triển ra sau khi xử lý hỗn hợp

chế phẩm để đo. Mỗi cây đo 10 lá, tính chỉ số trung bình của 10 lá cho một lần lặp lại.

- Kích thước lá: Được thể hiện qua chỉ số diện tích lá (LAI). Tiến hành đo chiều dài lá và chiều rộng lá khi lá đạt được kích thước tối đa, mỗi cây đo 10 lá, tính trị số trung bình của 10 lá.

- Tần suất xuất hiện của nấm *Phytophthora*: Sau khi được xử lý hỗn hợp chế phẩm, mỗi cây lấy 4 mẫu đất ở 4 hướng của cây. Tính tỷ lệ % mẫu đất thu được có xuất hiện nấm *Phytophthora*.

### **3.3.6 Phương pháp đánh giá kết quả**

Số liệu thu thập được từ các thí nghiệm đều được chuyển đổi thành số liệu thống kê tương ứng và biểu thị bằng  $X \pm SE$ . Đánh giá các kết quả bằng phân tích ANOVA, ANOCOVA, trắc nghiệm LSD, trắc nghiệm Duncan (Gomez, 1984). Sử dụng phần mềm thống kê Statgraphic 7.0 để xử lý.

## **Chương 4**

# **KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN**

### **4.1 Kết quả**



#### 4.1.1 Thu thập và phân lập nấm *Trichodema*

Việc tiến hành lấy mẫu được thực hiện trên các loại cây trồng khác nhau ở nhiều vùng sinh thái khác nhau. Chúng tôi chọn điểm lấy mẫu ở vùng có lịch sử nhiễm bệnh, ruộng nhiễm bệnh và cây trồng có bệnh vừa phục hồi. Trên cơ sở các mẫu bệnh lấy từ đất và vết bệnh ngừng phát triển, đã khô. Đồng thời, để khảo sát thêm khả năng đối kháng của dòng nấm *Trichodema* ở những vùng sinh thái khác biệt với điều kiện môi trường ở Việt Nam, chúng tôi phân lập thêm một dòng *Trichodema* từ chế phẩm thử nghiệm từ Ấn Độ. Đây là chế phẩm của Công ty Sun Agro đề nghị chúng tôi thử hiệu lực ở Việt Nam. Tổng cộng thu được 14 dòng đưa vào thí nghiệm khảo sát tính đối kháng.

Quan sát dưới kính hiển vi, dựa vào một số đặc điểm về hình thái màu sắc, mùi vị trên môi trường chọn lọc, hình dạng cành bào tử, bào tử, và sợi nấm để định danh chúng. Bước đầu định danh dựa trên cơ sở phân loại của Giáo sư Gary J.Samuels (2003). Trong các mẫu *Trichodema* phân lập được chúng tôi xác định được 13 dòng. Dòng *Trichodema* thu thập được trên cây cà chua ở Củ Chi chúng tôi chưa định danh được. Ngoài ra, trong các dòng thu thập được có 1 dòng trên sầu riêng ở Đồng Nai chúng tôi xác định đây là dòng *T. sinensis*, chưa được khuyến cáo sử dụng trong phòng trừ sinh học. Vì vậy dòng này có thể khảo sát tính kháng trong phòng thí nghiệm, không nên để phát tán ra ngoài đồng ruộng.

Kết quả định danh của các dòng phân lập được trình bày trong bảng 4.9.

**Bảng 4.9** Kết quả định danh của các dòng *Trichodema* phân lập được

STT	Mã	Địa điểm	Định danh
1	T.14	Trường ĐH NL Tp.HCM	<i>T.harzianum</i>
2	T.15	Trường ĐH NL Tp.HCM	<i>T. asperellum</i>
3	T.16	Trường ĐH NL Tp.HCM	<i>T. asperellum</i>
4	T.17	Trường ĐH NL Tp.HCM	<i>T. sinensis</i>

5	T.29	Lâm Đồng	<i>T. asperellum</i>
6	T.30	Ấn Độ	<i>T.harzianum</i>
7	T.31	Cần Thơ	<i>T. asperellum</i>
8	T.32	Bình Phước	<i>T. viride</i>
9	T.33	Kiên Giang	<i>T. asperellum</i>
10	T.34	Tây Ninh	<i>T. asperellum</i>
11	T.35	Bình Phước	<i>T. asperellum</i>
12	T.36	Củ Chi	Chưa định danh được
13	T.37	Đồng Nai	<i>T. sinensis</i>
14	T.41	Trường ĐH NL Tp.HCM	<i>T.harzianum</i>

#### 4.1.2 Đánh giá khả năng đối kháng của *Trichodema* với 4 loại nấm *Fusarium*, *Sclerotium*, *Phytophthora* và *Rhizoctonia*

Chúng tôi dùng 14 dòng nấm *Trichodema* đã phân lập được để thử nghiệm tính đối kháng với 4 loại nấm trong đất gây hại trong đất: *Phizoctonia Solanni*, *Sclerotium rolfsii*, *Phytophthora* và *Fusarium*. Thí nghiệm được thực hiện đồng loạt trên đĩa petri với môi trường bột bắp có 2% đường Dextrose và điều kiện thí nghiệm đồng nhất. Quan sát sự đối kháng của *Trichodema* với từng loại nấm trên sau 7 ngày nuôi cấy.

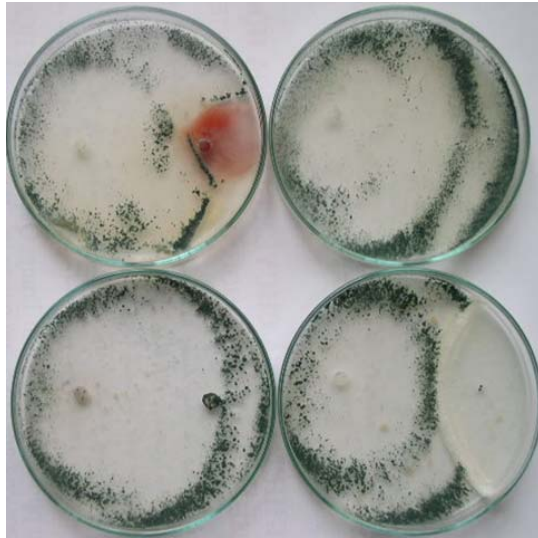
**Bảng 4.10** Khả năng đối kháng của *Trichodema* với một số loại nấm gây hại cây trồng trong đất

STT	Mã	Khả năng đối kháng của <i>Trichodema</i> với các nấm			
		<i>Phytophthora</i>	<i>Fusarium</i>	<i>Rhizoctonia</i>	<i>Sclerotium</i>
1	T.14	+++	-	+++	-
2	T.15	+++	-	+++	-
3	T.16	+++	-	+	-

4	T.17	+++	+	+++	-
5	T.29	+++	+	+++	-
6	T.30	+++	-	+++	-
7	T.31	+++	-	+	-
8	T.32	+++	+	+++	-
9	T.33	+++	-	+++	-
10	T.34	+++	-	++	-
11	T.35	+++	-	+++	-
12	T.36	+++	-	+	-
13	T.37	+++	-	+++	-
14	T.41	+++	+	+++	+++

\* *Ký hiệu: kháng mạnh (+++), kháng trung bình (++) , kháng yếu (+) và không kháng (-).*

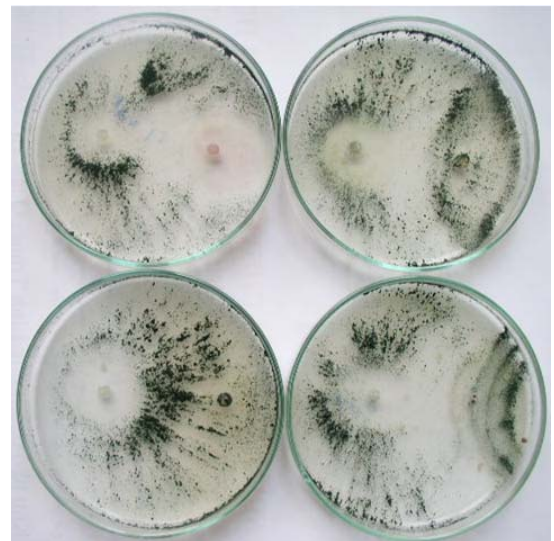
Qua kết quả thu được như bảng 4.10, cũng như quan sát trực tiếp trên đĩa petri chúng tôi nhận thấy tính kháng nấm có sự khác biệt giữa các dòng *Trichodema* đang được thí nghiệm (xem hình 4.2 ; 4.3 ; 4.4 và 4.5). Đặc biệt, sự khác biệt thể hiện rõ hơn khi so sánh tính kháng đối với từng loại nấm gây hại khác nhau.



a

c

b



d

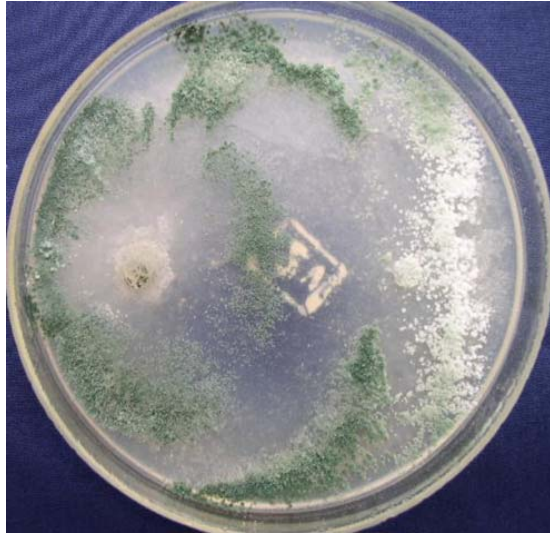
**Hình 4.2:** Khả năng đối kháng của một số dòng nấm *Trichodema* với các loại nấm *Fusarium*, *Rhizoctonia*, *Sclerotium* và *Phytophthora* ( từ trái sang phải)

a. Dòng *Trichodema* số 29 (T29)

b. Dòng *Trichodema* số 30 (T30)

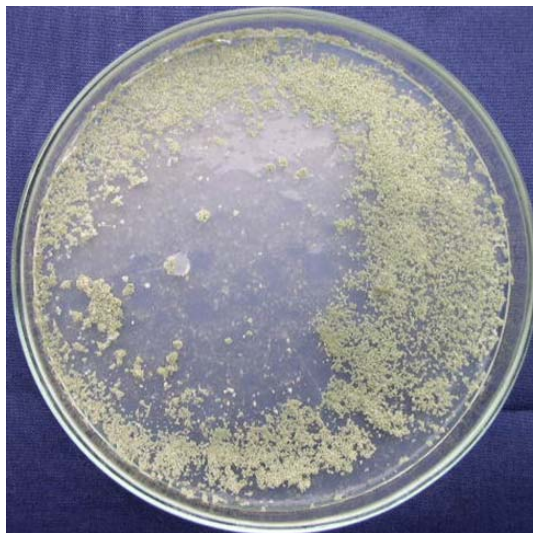
c. Dòng *Trichodema* số 32 (T32)

d. Dòng *Trichodema* số 41 (T41)



a

b



c

d

**Hình 4.3:** Khả năng đối kháng của một số dòng nấm *Trichodema* với nấm gây bệnh *Phytophthora*.

- a. Dòng *Trichodema* số 16 (T16): Kháng trung bình (++)
- b. Dòng *Trichodema* số 33 (T33): Kháng trung bình (++)
- c. Dòng *Trichodema* số 36 (T36): Kháng mạnh (+++)
- d. Dòng *Trichodema* số 47 (T41): Kháng mạnh (+++)



a

b

c



d

**Hình 4.4:** Khả năng đối kháng của một số dòng nấm *Trichodema* với nấm gây bệnh *Sclerotium*

a. Dòng *Trichodema* số 36 (T36): Không kháng (-)

b. Dòng *Trichodema* số 30 (T33): Không kháng (-)

c. Dòng *Trichodema* số 29 (T36): Kháng yếu (-)

d. Dòng *Trichodema* số 41 (T41): Kháng mạnh (+++)

So sánh giữa các dòng nấm *Trichodema* khác nhau, chúng tôi thấy rằng chỉ có dòng T.41 là có khả năng đối kháng với cả 4 loại nấm gây bệnh trong thí nghiệm (xem hình 4.2d). Một số kháng yếu với *Fusarium*. Hầu hết đều kháng với *Rhizoctonia*, tuy nhiên, mức độ kháng khác nhau giữa các dòng. Đây là điều kiện để lựa chọn những dòng cụ thể sử dụng tiếp tục cho việc nghiên cứu. Điều này còn nói lên tính chuyên biệt của nấm *Trichodema* trong việc đối kháng với từng loại nấm gây hại cụ thể. Một dòng nấm có khả năng đối kháng cao một loại bệnh, một cây trồng hay một vùng sinh thái này chưa hẳn đã có hiệu quả khi sử dụng cho điều kiện khác. Đây là một hạn chế của việc sử dụng sản phẩm sinh học so với các sản phẩm thuốc hóa học khác, phổ rộng hơn. Vì vậy, muốn nâng cao hiệu quả của chế phẩm sinh học, mà cụ thể là chế phẩm *Trichodema* cần khắc phục nhược điểm này. Tức là cần phải tuyển chọn những nguồn nấm trên từng điều kiện cụ thể để áp dụng ngay chính trong điều kiện đó.

Đối với nấm *Fusarium*, chỉ có 4 trong 14 dòng nấm *Trichodema* có khả năng kháng yếu còn lại hầu như không kháng. Tuy nhiên, theo Godwin (2002) cho rằng khả năng đối kháng của nấm *Trichodema* với nấm *Fusarium* thay đổi tùy theo nguồn dinh dưỡng có trong môi trường.

Đối với nấm *Sclerotium* hầu như chỉ có nấm *Trichodema* dòng 41 có khả năng kháng mạnh còn các dòng khác đều kháng yếu và không kháng (xem hình 4.4d)

Đối với nấm *Phytophthora*, hầu hết các dòng nấm *Trichodema* đều có khả năng kháng cao với loại nấm này (xem hình 4.3). Điều này cho thấy khả năng đối kháng của nấm *Trichodema* với nấm gây bệnh do *Phytophthora* rất lớn. Vì vậy, trong điều kiện việc sử dụng chế phẩm nấm *Trichodema* còn chưa phổ biến và chưa thuyết phục người nông dân thay đổi tập tục sử dụng thuốc. Nên đưa chế phẩm với khuyến cáo trừ bệnh do nấm *Phytophthora* gây hại trên một số cây trồng chính, có giá trị kinh tế cao và đang bị bệnh gây hại rất nghiêm trọng, gây

hoang mang cho nhà vườn mà người nông dân gọi với những ngôn từ như là “tiêu diên” hay “sầu riêng tự tử”.

### **4.1.3 Kết quả nhân sinh khối nấm *Trichodema***

#### **4.1.3.1 Kết quả nhân sinh khối *Trichodema* dạng lỏng**

Qua thí nghiệm khảo sát tình đối kháng của nấm *Trichodema*, chúng tôi nhận thấy dòng T.41 là ưu việt hơn cả. Nó có khả năng kháng với cả 4 loại nấm đưa ra khảo sát. Vì vậy chúng tôi quyết định chọn dòng này đưa vào thí nghiệm nhân sinh khối. Tuy nhiên, theo Godwin (2002), khả năng đối kháng của nấm *Trichodema* còn phụ thuộc vào điều kiện môi trường nó tồn tại. Vì vậy chúng tôi chọn thêm 1 dòng trong số những dòng nấm *Trichodema* có khả năng kháng cao để khảo sát thêm việc nhân sinh khối. Do dự kiến của chúng tôi sẽ khảo sát khả năng đối của nấm *Trichodema* trên cây tiêu và sầu riêng. Vì vậy, chúng tôi chọn thêm dòng thu phân lập được ở vườn tiêu của tỉnh Bình Phước, có ký hiệu T.32 để đưa vào thí nghiệm nhân sinh khối.

Thí nghiệm nhân sinh khối dạng lỏng, chúng tôi sử dụng môi trường chủ yếu là giá thể đường glucose và giá đậu xanh. Trong môi trường chúng tôi cho thêm Urê,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  và  $\text{MgSO}_4$ . Đây là những loại khoáng thiết yếu cho việc phát triển của tế bào nấm cũng như giúp cho việc đảm bảo độ pH thích hợp cho nấm phát triển. Những loại khoáng này chỉ cần một lượng nhỏ, nên ảnh hưởng của sự thay đổi liều lượng các chất này lên khối lượng khuẩn ty thu được là không lớn. Vì vậy, trong môi trường dự kiến khảo sát chỉ còn 2 yếu tố hữu cơ là đường và giá cần phải xác định được liều lượng thích hợp. Chúng tôi lần lượt cố định một yếu tố để khảo sát sự thay đổi của yếu tố kia. Thí nghiệm, của chúng tôi tiến hành với 2 dòng nấm *Trichodema*. Vì vậy, chúng tôi bố trí thí nghiệm ở dạng ngẫu nhiên đa yếu tố với 2 dòng, 5 nghiệm thức và 4 lần lặp lại. Tổng cộng có 40



binh tam giác cho một thí nghiệm. Thí nghiệm được thực hiện trong điều kiện hoàn toàn giống nhau.

#### 4.1.3.1.1 Khảo sát yếu tố đường thay đổi, cố định lượng giá

Trước tiên chúng tôi so sánh giữa các nghiệm thức khác nhau xem có sự khác biệt như thế nào? Phân tích kết quả bằng ANOVA và qua số liệu phân tích, so sánh, nhận thấy rằng lượng đường trong thành phần môi trường tăng lên càng tăng lượng khuẩn ty thu được, sau đó giảm, nghiệm thức có 30g đường trong 1 lít môi trường (P.4) có giá trị cao nhất. Tuy nhiên, việc tăng khối lượng khuẩn ty ở những nghiệm thức có lượng đường lớn không đáng kể và không có ý nghĩa thống kê. Vì vậy, có thể sử dụng lượng đường ở nghiệm thức có 20g đường trong 1 lít môi trường (P.3) để sử dụng trong các thí nghiệm tiếp theo và sản xuất chế phẩm dạng lỏng.

**Bảng 4.11** So sánh khối lượng khuẩn ty thu được ở các nghiệm thức môi trường có lượng đường khác nhau trong thí nghiệm nhân sinh khối *Trichodema* dạng lỏng

Nghiệm thức	Khối lượng khuẩn ty TB (g)	So sánh
0g đường + 100g giá	0,4 ± 0,1	<b>x</b>
10g đường + 100g giá	1,7 ± 0,1	<b>x</b>
40g đường + 100g giá	2,3 ± 0,1	<b>x</b>
20g đường + 100g giá	2,3 ± 0,1	<b>x</b>
30g đường + 100g giá	2,5 ± 0,1	<b>x</b>

\* Trên cùng một cột theo phương thẳng đứng thì sự khác biệt ở mức  $\alpha = 0,05$  theo trắc nghiệm Duncan.

#### 4.1.3.1.2 Khảo sát yếu tố giá thay đổi, cố định lượng đường

-Trên cơ sở thí nghiệm khảo sát lượng đường thu được. Chúng tôi thay đổi lượng giá trong môi trường thí nghiệm. Tiến hành như thí nghiệm khảo sát hàm lượng đường.

Qua kết quả thí nghiệm ở bảng 4.12 cho thấy sự khác biệt của các nghiệm thức với lượng giá khác nhau rất có ý nghĩa về phương diện thống kê. Lượng giá càng lớn thu được khối lượng khuẩn ty càng lớn. Tuy nhiên, xét về yếu tố hiệu quả kinh tế, chúng ta có thể chọn nghiệm thức G.3, 100g giá sống cho 1 lít môi trường hơn là chọn G.5, 200g giá sống cho 1 lít môi trường.

**Bảng 4.12** So sánh khối lượng khuẩn ty thu được ở các nghiệm thức môi trường có lượng giá khác nhau trong thí nghiệm nhân sinh khối *Trichodema* dạng lỏng

Nghiệm thức	Khối lượng khuẩn ty TB (g)	So sánh
0g giá + 20g đường	0.41 ± 0,05	<b>x</b>
50g giá + 20g đường	1.23 ± 0,07	<b>x</b>
150g giá + 20g đường	1.41 ± 0,04	<b>x</b>
100g giá + 20g đường	1.43 ± 0,03	<b>x</b>
200g giá + 20g đường	1.59 ± 0,05	<b>x</b>

\* Trên cùng một cột theo phương thẳng đứng thì sự khác biệt ở mức  $\alpha = 0,05$  theo trắc nghiệm Duncan.

+ So sánh 2 dòng nấm *Trichodema* dùng trong thí nghiệm nhân sinh khối lỏng. Trên cơ sở khối lượng khuẩn ty thu được ở 2 thí nghiệm nhân sinh khối lỏng ở trên, lấy nghiệm thức chính là 2 dòng nấm *Trichodema* T.41 và T.32 trong điều kiện thay đổi lượng đường, lượng giá và lặp lại. Phân tích ANOCOVA, kết quả thu được theo bảng 4.13.

Qua kết quả phân tích số liệu ở bảng 4.13, ta thấy rằng ở thí nghiệm khảo sát lượng đường sự khác biệt về khối lượng khuẩn ty giữa 2 dòng nấm *Trichodema* thu được là rất khác nhau và có ý nghĩa lớn về phân tích thống kê. Dòng T.32 cho kết quả cao hơn dòng T.41 rất nhiều. Tuy nhiên, điều đó lại không lặp lại ở thí nghiệm khảo sát lượng giá. Chứng tỏ môi trường khác nhau và dòng nấm khác nhau sự phát triển của chúng cũng khác nhau. Vì vậy, nên tiếp tục sử dụng cả 2 dòng nấm này trong các thí nghiệm tiếp theo.

**Bảng 4.13** So sánh khối lượng khuẩn ty thu được của 2 dòng T.41 và T.32 trong các thí nghiệm nhân sinh khối *Trichodema* dạng lỏng

Nghiệm thức	Thí nghiệm đường		Thí nghiệm giá	
	KL TB (g)	So sánh	KL TB (g)	So sánh
T.41	1,65 ± 0,11	<b>x</b>	1,21 ± 0,06	
T.32	2,04 ± 0,11	<b>x</b>	1.21 ± 0,06	

\* Trên cùng một cột theo phương thẳng đứng thì sự khác biệt ở mức  $\alpha = 0,05$  theo trắc nghiệm Duncan.

#### 4.1.3.1.3 Trắc nghiệm chế phẩm dạng lỏng

Qua kết quả thu được từ 2 thí nghiệm khảo sát lượng đường và lượng giá, chúng tôi chọn thành phần môi trường là 20g đường gluco, 100g giá sống, 1g Urê, 1g  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  và 0.5g  $\text{MgSO}_4$  để khảo sát thêm khả năng tồn tại của chế phẩm sau khi lên men của 2 dòng nấm *Trichodema*. Thí nghiệm được bố trí 2 nghiệm thức (2 dòng) với 10 lần lặp lại trong 10 bình tam giác. Sau khi lên men xong, chúng tôi quan sát hàng ngày và nhận thấy sau thời gian 1 tuần chế phẩm bắt đầu chuyển màu. Phần dưới dung dịch có màu vàng sậm. Trên mặt đóng váng, xuất hiện màu xanh, màu đặc trưng của nấm *Trichodema* phát triển. Sau đó trên mặt chuyển màu sẫm dần. Sau 2 tháng chuyển màu nâu đen, đây là hiện tượng *Trichodema* phân hủy (xem hình 4.5b ; 4.5c).



**Hình 4.5:** Nhân sinh khối, sản xuất chế phẩm *Trichodema* dạng lỏng

- a. Sử dụng máy lắc lên men chìm sản xuất chế phẩm *Trichodema*
- b. Chế phẩm dạng lỏng của dòng *Trichodema* số 32 (T.32) 60 ngày sau khi lên men
- c. Chế phẩm dạng lỏng của dòng *Trichodema* số 32 (T.41) 60 ngày sau khi lên men

#### 4.1.3.2 Kết quả nhân sinh khối *Trichodema* dạng rắn

Thí nghiệm được tiến hành đồng thời việc lên men dạng lỏng với 2 dòng *Trichodema* T.41 và T.32 được chọn. Dùng các giá thể rắn, xốp như cám, trấu, vỏ cà phê và cơm nguội. Với tỷ lệ giá thể khác nhau tổ hợp thành 7 nghiệm thức. Trong điều kiện thí nghiệm như nhau. Thí nghiệm được bố trí theo khối ngẫu nhiên đa yếu tố, với 4 lần lặp lại. Sau khi lên men xong, đếm lượng bào tử bằng buồng đếm hồng cầu Thomas với đơn vị tính là bào tử /ml chế phẩm. Lưu lại tất cả các mẫu lên men để theo dõi khả năng nảy mầm của bào tử trong thời gian lưu trữ (xem hình 4.7).

Kết quả thu được sau khi lên men, phân tích, được kết quả qua bảng 4.14.

**Bảng 4.14** So sánh số lượng bào tử thu được ở các nghiệm thức có cơ chất khác nhau trong thí nghiệm nhân sinh khối *Trichodema* dạng rắn

Nghiệm thức	Số lượng bào tử / ml x 10 <sup>8</sup>	So sánh
30g cơm	1,12 ± 0,03	<b>x</b>
10g cám + 20g vỏ cà phê	2,6 ± 0,4	<b>x</b>
15g cám + 15g vỏ cà phê	4,9 ± 0,6	<b>x</b>
20g cám + 10g vỏ cà phê	6,9 ± 0,5	<b>x</b>
20g cám + 10g trấu	18,5 ± 0,7	<b>x</b>
15g cám + 15g trấu	29,0 ± 5,0	<b>x</b>
10g cám + 20g trấu	33,5 ± 5,8	<b>x</b>

\* Trên cùng một cột theo phương thẳng đứng thì sự khác biệt ở mức  $\alpha = 0,05$  theo trắc nghiệm Duncan.

Qua bảng 4.14, chúng ta thấy rằng các loại giá thể dùng để lên men khác nhau ảnh hưởng rất lớn đến số lượng bào tử trên một đơn vị khối lượng. Nghiệm thức 30g cơm (N.7) có giá trị nhỏ nhất. Đây là nghiệm thức mà giá thể lên men là cơm, bề mặt thông thoáng ít, dẫn đến sự phát triển của nấm *Trichodema* kém,

khả năng tạo bào tử thấp. Các nghiệm thức giá thể lên men là hỗn hợp cám và vỏ cà phê (N.4, N.5 và N.6), cho lượng bào tử ở mức độ trung bình và gần như nhau ở các tỷ lệ, không có sự khác biệt về phương diện thống kê. Các nghiệm thức cám và trấu cho kết quả cao nhất (N.1, N.2 và N.3). Đồng thời có sự khác biệt đáng kể giữa các tỷ lệ. Nghiệm thức 10g cám + 20g trấu (N.2) có giá trị cao nhất nhưng không khác biệt lắm so với nghiệm thức 15g cám + 15g trấu (N.1). Hai nghiệm thức này khác biệt có ý nghĩa với nghiệm thức 20g cám + 10g trấu (N.3). Chứng tỏ cùng trong thành phần cám trấu nhưng trấu hơi nhích hơn một chút cho kết quả tốt hơn.

**Bảng 4.15** So sánh số lượng bào tử thu được giữa các dòng T.32 và T.41 trong thí nghiệm nhân sinh khối *Trichodema* dạng rắn

Nghiệm thức	Số lượng bào tử /ml x 10 <sup>8</sup>	So sánh
T.41	10,0 ± 1,6	<b>x</b>
T.32	17,6 ± 1,6	<b>x</b>

\* Trên cùng một cột theo phương thẳng đứng thì sự khác biệt ở mức  $\alpha = 0,05$  theo trắc nghiệm Duncan.

Qua kết quả ở bảng 4.15, số liệu thống kê cho thấy có sự khác biệt rất ý nghĩa về số lượng bào tử thu được sau khi nhân sinh khối giữa 2 dòng *Trichodema* T.32 và T.41. Đây là cơ sở cho việc lựa chọn dòng *Trichodema* nhân sinh khối sử dụng trong các thí nghiệm tiếp theo và ngoài đồng ruộng.

Bên cạnh so sánh về số lượng bào tử thu được trên một đơn vị khối lượng sau khi lên men, việc xem xét thời gian tồn trữ chế phẩm rất quan trọng. Lượng bào tử lớn chưa hẳn đã phát huy tốt khả năng sinh trưởng của nấm mà cái chính là liệu bào tử đó có khả năng nảy mầm hay không sau một thời gian lưu trữ. Và thời gian lưu giữ chế phẩm lên men được bao lâu?



b

a

c

**Hình 4.6:** Nhân sinh khối, sản xuất chế phẩm *Trichoderma* dạng rắn

- a. Chế phẩm *Trichoderma* dạng rắn sau 7 ngày lên men trên môi trường cám và trấu.
- b. Chế phẩm *Trichoderma* dạng rắn sau 7 ngày lên men trên môi trường cơm.
- c. Chế phẩm *Trichoderma* dạng rắn được lưu trữ 9 tháng sau khi lên men ở các nghiệm thức thí nghiệm.

Chúng tôi tiến hành việc trắc nghiệm khả năng nảy mầm của tất cả các mẫu chế phẩm trong thí nghiệm trên bằng phương pháp pha loãng nhiều lần rồi cho vào đĩa petri để xác định chúng còn có khả năng nảy mầm hay không. Trắc nghiệm thực hiện 1 lần / tháng. Ký hiệu còn nảy mầm (+) không nảy mầm (-). Kết quả được thể hiện qua bảng 4.16.

**Bảng 4.16** Trắc nghiệm sự nảy mầm của các chế phẩm nấm *Trichodema* theo phương pháp nhân sinh khối dạng rắn

Nghiệm thức	Thời gian sau lên men (Tháng)								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
15g cám + 15g trấu	+	+	+	+	+	+	+	+	-
10g cám + 20g trấu	+	+	+	+	+	+	+	-	-
20g cám + 10g trấu	+	+	+	+	+	+	+	-	-
15g cám + 15g vỏ cà phê	+	+	+	+	+	+	+	-	-
10g cám + 20g vỏ cà phê	+	+	+	+	+	+	-	-	-
20g cám + 10g vỏ cà phê	+	+	+	+	+	+	+	-	-
30g cơm	+	+	+	+	+	-	-	-	-

Qua các thí nghiệm và trắc nghiệm lên men tạo chế phẩm dạng lỏng và dạng xốp, về sự khác biệt giữa các nghiệm thức, chúng tôi chọn được các phương pháp lên men phù hợp, làm vật liệu cho các thí nghiệm tiếp theo. Tuy nhiên, số lượng bào tử hoặc khối lượng khuẩn ty lớn chưa đủ mà cần phải có cách xử lý hợp lý. Đồng thời, sự khác biệt giữa 2 dòng *Trichodema* khá rõ ở thí nghiệm nhân sinh khối dạng rắn nhưng không rõ lắm ở thí nghiệm dạng lỏng. Vì vậy, chúng tôi tiếp tục khảo sát tiếp 2 dòng này ở những thí nghiệm tiếp theo trong nhà lưới cũng như ngoài đồng ruộng.



#### 4.1.4 Khảo sát hiệu lực của chế phẩm *Trichodema* trừ bệnh do nấm *Phytophthora* gây hại trên cây tiêu trong điều kiện nhà lưới

Trong thí nghiệm này, ngoài việc khảo sát hiệu lực của 2 dòng chế phẩm *Trichodema* thu được từ việc nhân sinh khối ở dạng lỏng và dạng rắn, chúng tôi khảo sát thêm hiệu quả của các cách xử lý khác nhau. Thí nghiệm được tiến hành trong điều kiện nhà lưới với những nghiệm thức xử lý *Trichodema* được chủng nấm *Phytophthora* gây bệnh (xem hình 4.7b và 4.7c), đối chứng là nghiệm thức có chủng *Phytophthora* không xử lý *Trichodema* và đối chứng không chủng *Phytophthora* không xử lý *Trichodema* (xem hình 4.8). Như vậy, tổ hợp các yếu tố thí nghiệm ta có 2 kiểu bố trí thí nghiệm. So sánh giữa các nghiệm thức với đối chứng là thí nghiệm đơn yếu tố, đánh giá kết quả bằng phân tích ANOVA. So sánh giữa các cách xử lý bón, phun và bón kết hợp phun cũng như so sánh hiệu quả chế phẩm của 2 dòng *Trichodema* là thí nghiệm đa yếu tố, đánh giá kết quả bằng phân tích ANOCOVA. Sau khi tiến hành thí nghiệm, nhìn tổng thể toàn bộ thí nghiệm, chúng tôi nhận thấy có sự khác biệt rất đáng kể giữa các lô thí nghiệm (xem hình 4.9) và trên từng cây tiêu của từng nghiệm thức (xem hình 4.10.1 và 4.10.2). Kết quả của từng chỉ tiêu theo dõi như sau:

+ *Tỷ lệ lá bệnh*: Sau khi chủng *Phytophthora*, chúng tôi theo dõi, đếm số lá bệnh và số lá điều tra. Quan sát ruộng thí nghiệm, chúng tôi nhận thấy 1 ngày sau khi chủng đã có triệu chứng lá bị nhiễm bệnh. Bệnh trên lá tiến triển rất nhanh trong vòng 1 tuần, sau đó gần như dừng lại.

Quan sát vết bệnh trên lá chúng tôi thấy triệu chứng gây hại do *Phytophthora* trên cây lá tiêu rất đa dạng (xem hình 4.11). Có vết bệnh ở đầu ngọn lá, làm lá rụng hoặc còn một phần trên cây. Có vết bệnh ở cuống lá, làm lá rụng khi còn xanh. Có vết bệnh gây hại ở mép lá, lá hoặc toàn bộ phiến lá. Điều tra ở 2, 4, 6, 8 và 41 ngày sau khi chủng *Phytophthora*, kết quả như sau:



a



b



c

- Hình 4.7:** Hình dạng bào tử nấm *Phytophthora* được dùng trong thí nghiệm
- Sporangia của nấm *Phytophthora palmivora* trên môi trường PGA sau 7 ngày nuôi cấy (40X) dùng nhiễm bệnh trên sầu riêng.
  - Sporangia của nấm *Phytophthora* sp. trên môi trường PGA sau 7 ngày nuôi cấy (40X) dùng nhiễm bệnh trên cây tiêu
  - Sporangia của nấm *Phytophthora* sp. trên môi trường PGA sau 7 ngày nuôi cấy (40X) dùng nhiễm bệnh trên cây tiêu phóng lớn

a



b



c

**Hình 4.8:** Vườn tiêu chuẩn bị thí nghiệm.

- a. Toàn cảnh vườn tiêu lúc mới sang chậu.
- b. Phân ô bố trí theo từng nghiệm thức.
- c. Trước khi chủng *Phytophthora* và xử lý *Trichoderma*.



**Hình 4.9:** Các nghiệm thức tiêu 60 ngày sau xử lý theo từng ô thí nghiệm

- a. ĐC không xử lý      c. T.32 bón      e. T.32 phun      g. T.32 bón + phun  
b. ĐC có *Phytophthora*      d. T.41 bón      f. T.41 phun      h. T.41 bón + phun



a



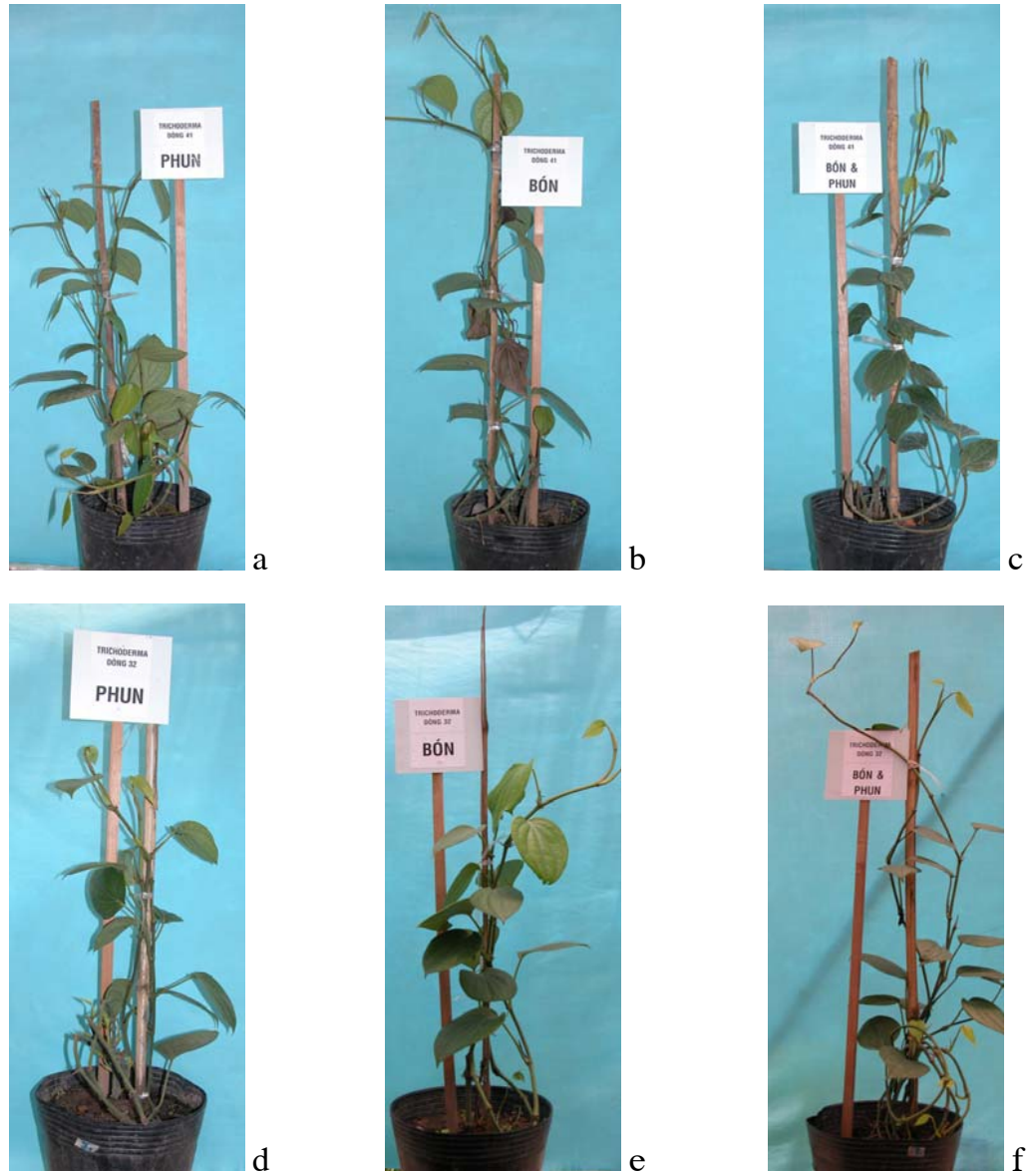
b



c

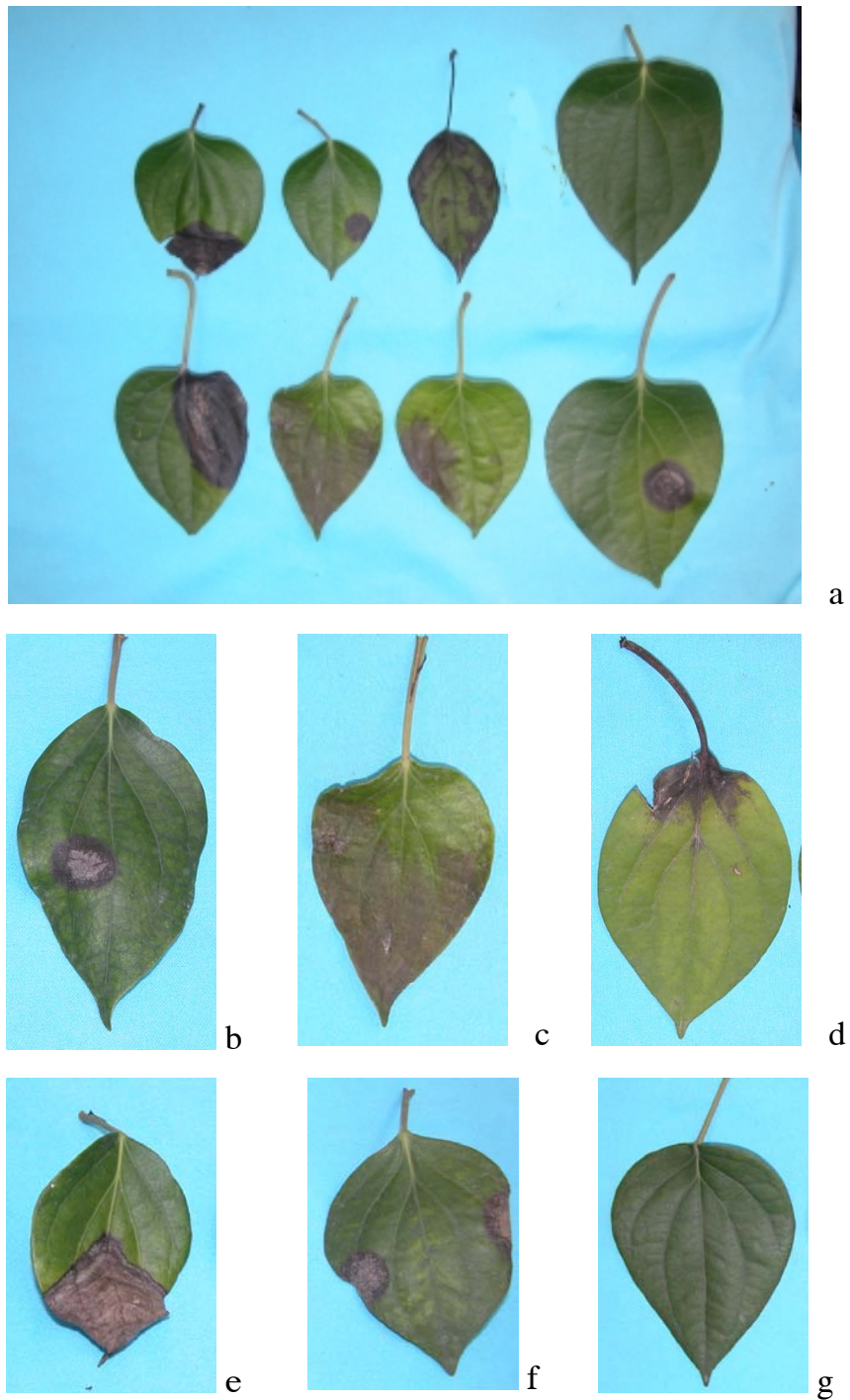
**Hình 4.10.1:** Hình dạng cây tiêu 60 ngày sau xử lý theo từng công thức của thí nghiệm phòng trừ bệnh trên cây tiêu

- a. Tổng thể các cây của 8 nghiệm thức bố trí thí nghiệm
- b. Cây tiêu của nghiệm thức đối chứng không chủng *Phytophthora*
- c. Cây tiêu của nghiệm thức đối chứng có chủng *Phytophthora*



**Hình 4.10.2:** Hình dạng cây tiêu 60 ngày sau xử lý theo từng công thức của thí nghiệm phòng trừ bệnh trên cây tiêu

- a. Cây tiêu của nghiệm thức phun chế phẩm T.41
- b. Cây tiêu của nghiệm thức bón chế phẩm T.41
- c. Cây tiêu của nghiệm thức bón + phun chế phẩm T.41
- d. Cây tiêu của nghiệm thức phun chế phẩm T.32
- e. Cây tiêu của nghiệm thức bón chế phẩm T.32
- f. Cây tiêu của nghiệm thức bón + phun chế phẩm T.32



**Hình 4.11:** Triệu chứng bệnh do nấm *Phytophthora* gây hại trên lá tiêu

a. Các dạng lá bị bệnh do nấm *Phytophthora* và lá không bệnh

b. Bệnh ở giữa lá

c. Bệnh ở phiến lá

d. Bệnh ở cuống lá

e. Bệnh ở đầu lá

f. bệnh ở 2 mép lá

g. lá không bị bệnh

- So sánh giữa các nghiệm thức với nhau và với đối chứng: Kết quả phân tích thống kê cho thấy ở 2, 4 ngày sau chủng sự khác biệt không rõ ràng. Bắt đầu từ ngày thứ 6 sau chủng, có sự khác biệt rõ giữa các nghiệm thức có xử lý *Trichodema* và các nghiệm thức đối chứng có chủng *Phytophthora*. Sự khác biệt giữa các nghiệm thức này duy trì cho đến khi chúng tôi điều tra lần cuối vào thời gian 41 ngày sau chủng *Phytophthora* (xem bảng 4.17).

**Bảng 4.17** So sánh tỷ lệ lá tiêu bị bệnh giữa các nghiệm thức qua một số kỳ điều tra của thí nghiệm phòng trừ bệnh trên cây tiêu

Nghiệm thức	2 NSC		6 NSC		41 NSC	
	Tỷ lệ lá bệnh	So sánh	Tỷ lệ lá bệnh	So sánh	Tỷ lệ lá bệnh	So sánh
T.41 bón + phun	12,8 ± 1,3	x	17,9 ± 2,3	x	18,3 ± 2,6	x
T.41 bón	15,7 ± 3,0	x x	18,8 ± 2,6	x	21,0 ± 2,8	x x
T.32 bón + phun	17,1 ± 3,1	x x	23,1 ± 3,5	x x	30,5 ± 3,5	x x x
T.32 bón	21,2 ± 1,6	x x	28,3 ± 3,4	x x	32,6 ± 2,5	x x
T.32 phun	24,0 ± 1,4	x	30,5 ± 4,4	x	33,3 ± 6,0	x x
T.41 phun	21,0 ± 2,5	x x	30,5 ± 5,8	x	37,2 ± 6,3	x
ĐC có chủng <i>P.</i>	24,0 ± 1,7	x	46,4 ± 3,1	x	89,2 ± 5,3	x

\* Trên cùng một cột theo phương thẳng đứng thì sự khác biệt ở mức  $\alpha = 0,05$  theo trắc nghiệm Duncan.

Trường hợp nghiệm thức BO<sub>2</sub>, không chủng *Phytophthora* và không xử lý *Trichodema* (T8), chúng tôi không đưa vào bảng phân tích do đó là nghiệm thức đối chứng không chủng *Phytophthora*, trong điều kiện nhà lưới lúc bố trí thí nghiệm không thấy xuất hiện bệnh.

- So sánh giữa các cách xử lý: ở tất cả các giai đoạn điều tra đều thấy có sự khác biệt. Tỷ lệ bệnh thấp nhất ở nghiệm thức vừa bón vừa phun, cao nhất ở



thí nghiệm thức phun. Tuy nhiên, theo kết quả xử lý thống kê, với 3 cách xử lý và 8 lần lặp lại, sự khác biệt không có ý nghĩa (xem bảng 4.18).

**Bảng 4.18** So sánh tỷ lệ lá tiêu bị bệnh giữa các cách xử lý *Trichodema* qua một số kỳ điều tra của thí nghiệm phòng trừ bệnh trên cây tiêu

Thí nghiệm thức	2 NSC		4 NSC		41 NSC	
	Tỷ lệ lá bệnh	So sánh	Tỷ lệ lá bệnh	So sánh	Tỷ lệ lá bệnh	So sánh
Bón + phun	15,0 ± 1,7	x	16,8 ± 2,4	x	24,4 ± 2,9	x
Bón	18,5 ± 1,7	x x	21,1 ± 2,4	x x	26,8 ± 2,9	x x
Phun	22,5 ± 1,7	x	27,3 ± 2,4	x	35,2 ± 2,9	x

\* Trên cùng một cột theo phương thẳng đứng thì sự khác biệt ở mức  $\alpha = 0,05$  theo trắc nghiệm Duncan.

- So sánh giữa các dòng chế phẩm *Trichodema*: Theo dõi ở tất cả các giai đoạn điều tra đều thấy có sự khác biệt. Tỷ lệ bệnh ở những thí nghiệm thức xử lý chế phẩm từ dòng nấm T.41 có tỷ lệ bệnh thấp hơn những thí nghiệm thức xử lý chế phẩm từ dòng nấm T.32. Tuy nhiên, theo kết quả xử lý thống kê, với sự khác biệt chỉ có ý nghĩa ở lần điều tra cuối cùng, tức 41 ngày sau khi lây nhiễm bệnh (xem bảng 4.19).

**Bảng 4.19** So sánh tỷ lệ lá tiêu bị bệnh giữa 2 dòng T.32 và T.41 qua một số kỳ điều tra của thí nghiệm phòng trừ bệnh trên cây tiêu

Thí nghiệm thức	2 NSC	8 NSC	41 NSC	So sánh
	Tỷ lệ lá bệnh	Tỷ lệ lá bệnh	Tỷ lệ Lá bệnh	
T.41	17,5 ± 1,6	22,38	24,2 ± 2,7	x
T.32	19,8 ± 1,6	27,30	33,4 ± 2,7	x

\* Trên cùng một cột theo phương thẳng đứng thì sự khác biệt ở mức  $\alpha = 0,05$  theo trắc nghiệm Duncan.

+ Sự gia tăng vết bệnh trên lá: Sau khi chủng *Phytophthora*, mỗi ô thí nghiệm chúng tôi đánh dấu 3 lá bệnh, quan sát triệu chứng và đo kích thước vết bệnh. Ở các ngày 2, 4, 6 vết bệnh ở tất cả các nghiệm thức đều gia tăng sau đó có triệu chứng sập rụng. Đến ngày thứ 8 sau khi chủng *Phytophthora* có đến 9/21 lá quan sát bị rụng. Kích thước vết bệnh ở các lá chưa rụng cũng rất lớn, từ 3-4 cm, tức hơn ½ diện tích lá.

Mặc dù vết bệnh tăng rất nhanh trong những ngày đầu sau khi chủng *Phytophthora*, nhưng qua phân tích thống kê, sự khác biệt giữa các nghiệm thức là không lớn (xem bảng 4.20). Cũng như sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê khi so sánh giữa 2 dòng *Trichodema* dùng thử nghiệm và cách xử lý chế phẩm như thế nào.

**Bảng 4.20** So sánh sự gia tăng vết bệnh trên lá tiêu giữa các nghiệm thức qua một số kỳ điều tra của thí nghiệm phòng trừ bệnh trên cây tiêu (mm)

Nghiệm thức	2 NSC	4 NSC	6 NSC
T.32-bón + phun	6,7 ± 2,0	19,0 ± 1,7	27,3 ± 2,0
T.41-bón	8,0 ± 0,6	21,0 ± 1,0	30,0 ± 0,6
T.32 bón	10,7 ± 2,3	22,7 ± 2,0	29,7 ± 1,5
ĐC có chủng P.	11,7 ± 0,9	24,3 ± 2,0	33,7 ± 1,8
T.41-bón + phun	14,3 ± 2,8	27,3 ± 2,4	34,3 ± 2,5
T.41-phun	14,7 ± 6,8	27,7 ± 6,3	36,0 ± 6,1
T.32-phun	15,3 ± 4,0	26,7 ± 3,0	36,0 ± 3,2

\* Trên cùng một cột theo phương thẳng đứng thì sự khác biệt ở mức  $\alpha = 0,05$  theo trắc nghiệm Duncan.

+ Tỷ lệ dây chết: quan sát ruộng thí nghiệm, chúng tôi nhận thấy 8 ngày sau khi chủng *Phytophthora* hầu hết các nghiệm thức có xuất hiện dây chết. Chỉ có ở nghiệm thức T.41-bón + phun là chưa có hiện tượng chết. Ở nghiệm thức đối

chúng có chủng *Phytophthora* không xử lý *Trichodema* (T7) có gần 1/3 dây chết. Qua 15 ngày, tất cả các nghiệm thức đều xuất hiện dây chết, tỷ lệ dây chết tăng lên so với lúc 8 ngày. Cá biệt, ĐC có chủng *Phytophthora* có hơn 50% dây chết. Từ 15 đến 34 ngày sau chủng *Phytophthora*, hầu hết các nghiệm thức có xử lý *Trichodema* dây không bị chết thêm và sau đó có biến động nhẹ. Riêng T7, tỷ lệ dây chết tăng dần và đạt hơn 80% ở 41 ngày sau xử lý. So sánh giữa các nghiệm thức, chúng tôi thấy không có sự khác lắm giữa những nghiệm thức có xử lý *Trichodema* mà đều khác biệt rất rõ với nghiệm thức chỉ chủng *Phytophthora*. Điều đó được thể hiện rất rõ qua kết quả phân tích thống kê. Kết quả phân tích ở một số thời điểm có biến động lớn được thể hiện qua bảng 4.21.

**Bảng 4.21** So sánh tỷ lệ dây tiêu chết giữa các nghiệm thức qua một số kỳ điều tra của thí nghiệm phòng trừ bệnh trên cây tiêu

Nghiệm thức	8 NSC		15 NSC		41 NSC	
	Tỷ lệ dây chết	So sánh	Tỷ lệ dây chết	So sánh	Tỷ lệ dây chết	So sánh
T.41-bón + phun	0,0 ± 0,0	x	13,3 ± 4,7	x	15,8 ± 4,2	x
T.32-bón	3,3 ± 2,0	x	11,7 ± 3,2	x	18,3 ± 1,7	x
T.41-bón	3,3 ± 2,0	x	5,0 ± 1,7	x	16,7 ± 5,8	x
T.41-phun	3,3 ± 2,0	x	13,3 ± 4,7	x	13,3 ± 4,7	x
T.32-phun	5,0 ± 1,7	x	10,0 ± 3,3	x	31,7 ± 12,0	x
T.32-bón + phun	8,3 ± 5,0	x	10,0 ± 4,3	x	15,0 ± 7,4	x
ĐC có chủng P.	35,0 ± 9,2	X	51,7 ± 10,3	x	83,2 ± 7,0	x

\* Trên cùng một cột theo phương thẳng đứng thì sự khác biệt ở mức  $\alpha = 0,05$  theo trắc nghiệm Duncan.

So sánh giữa các cách xử lý, chúng tôi nhận thấy từ thời gian đầu sau khi chủng *Phytophthora* nghiệm thức bón có tỷ lệ dây chết thấp nhất. Sau 29 ngày

chủng *Phytophthora* nghiệm thức vừa bón vừa phun có tỷ lệ dây chết thấp hơn. Tuy nhiên qua phân tích thống kê, sự khác biệt này không có ý nghĩa.

So sánh giữa các dòng *Trichodema*, qua kết quả phân tích thống kê, sự khác biệt về tỷ lệ dây chết giữa 2 dòng không có ý nghĩa.

Về triệu chứng dây chết ở cả từ ngọn, gốc và giữa thân (hình 4.12, 4.13)

+ Số chồi non mới mọc: Quan sát trong suốt quá trình theo dõi, chúng tôi thấy các nghiệm thức T.32-bón, T.32-phun, T.32-bón + phun có sự phát triển chồi non nhiều hơn so với các nghiệm thức còn lại. Ở thời gian 8 ngày sau khi chủng *Phytophthora*, các nghiệm thức T.41-bón, T.41-phun, T.41-bón + phun chưa có sự khác biệt với đối chứng. Những ngày sau quan sát bắt đầu thấy bắt đầu có khác biệt nhưng không nhiều lắm (xem bảng 4.22).

**Bảng 4.22** So sánh số chồi mới mọc giữa các nghiệm thức qua một số kỳ điều tra của thí nghiệm phòng trừ bệnh trên cây tiêu

Nghiệm thức	8 NSC		15 NSC		41 NSC	
	Số chồi	SS	Số chồi	SS	Số chồi	SS
ĐC có chủng P.	13,8 ± 1,5	x	17,5 ± 1,3	x	23,5 ± 1,6	x
T.41-bón	17,3 ± 1,3	x	20,5 ± 0,9	x	28,0 ± 2,5	x x
T.41-phun	17,8 ± 0,8	x	25,0 ± 1,4	x x	29,5 ± 1,3	x x
T.41-bón + phun	18,3 ± 2,4	x	24,0 ± 2,4	x x	33,8 ± 5,0	x x x
T.32-bón	30,3 ± 5,2	x	33,8 ± 4,4	x x	39,5 ± 5,2	x x x
T.32-bón + phun	32,0 ± 6,5	x	36,0 ± 7,3	x	43,3 ± 5,8	x x
T.32-phun	32,3 ± 1,7	x	42,3 ± 2,9	x	50,3 ± 4,3	x

\* Trên cùng một cột theo phương thẳng đứng thì sự khác biệt ở mức  $\alpha = 0,05$  theo trắc nghiệm Duncan.

So sánh số chồi non mới mọc giữa các cách xử lý khác nhau, phun, bón và vừa phun vừa bón, trong suốt quá trình theo dõi chúng tôi nhận thấy không có



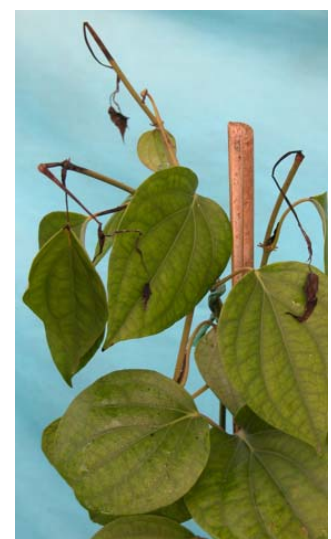
a.



b



c



d

**Hình 4.12:** Triệu chứng bệnh do nấm *Phytophthora* gây hại trên ngọn tiêu

- a. Các dạng triệu chứng chết ngọn sau khi chủng nấm *Phytophthora* và ngọn cây tiêu khỏe
- b. Ngọn cây tiêu trước khi chủng *Phytophthora*
- c. Ngọn cây tiêu bị bệnh ở 4 ngày sau khi chủng *Phytophthora*
- d. Ngọn cây tiêu bị bệnh ở 30 ngày sau khi chủng *Phytophthora*



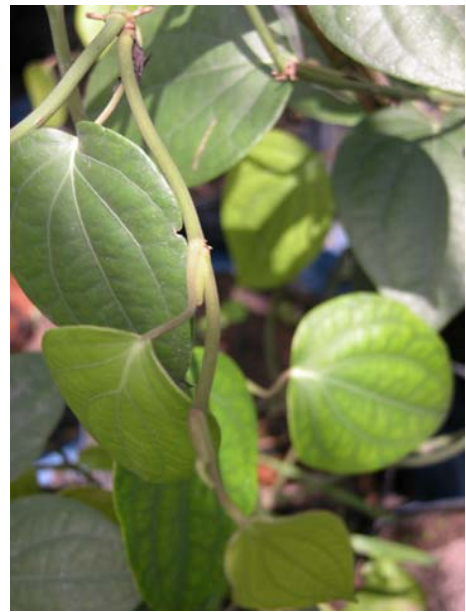
a



b



c



d

**Hình 4.13:** Triệu chứng bệnh do nấm *Phytophthora* gây hại trên dây tiêu  
a. Dây tiêu chết ở phần gốc khi chủng nấm *Phytophthora*  
b. Dây tiêu chết ở phần giữa khi chủng nấm *Phytophthora*  
c. Dây tiêu chết ở phần ngọn khi chủng nấm *Phytophthora*  
d. Dây tiêu khỏe không bị nhiễm bệnh

khác biệt lớn. Qua phân tích thống kê, sự khác biệt hoàn toàn không có ý nghĩa giữa các cách xử lý chế phẩm *Trichodema*.

So sánh giữa các dòng chế phẩm *Trichodema*, qua bảng 4.23, chúng tôi nhận thấy có sự khác biệt khá lớn giữa các nghiệm thức.

**Bảng 4.23** So sánh số chồi mới mọc giữa 2 dòng T.32 và T.41 qua một số kỳ điều tra của thí nghiệm phòng trừ bệnh trên cây tiêu

Nghiệm thức	8 NSC		15 NSC		22 NSC		41 NSC	
	Số chồi	SS	Số chồi	SS	Số chồi	SS	Số chồi	SS
T.41	17,8 ± 2,0	x	23,16 ± 2,1	x	29,1 ± 2,3	x	30,4 ± 2,5	x
T.32	31,5 ± 2,0	x	37,33 ± 2,1	x	41,8 ± 2,3	x	44,3 ± 2,5	x

\* Trên cùng một cột theo phương thẳng đứng thì sự khác biệt ở mức  $\alpha = 0,05$  theo trắc nghiệm Duncan.

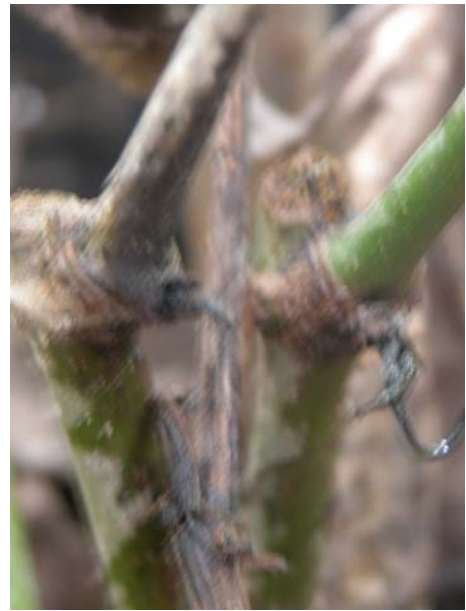
+ Tỷ lệ chồi non chết: Quan sát sự sinh trưởng của chồi non cùng với sự lây nhiễm bệnh của chúng, chúng tôi thấy đa số các chồi non ở nghiệm thức đối chứng có chủng *Phytophthora* đều bị nhiễm và chết gần hết vào cuối đợt điều tra (xem hình 4.14). Trong khi đó ở các nghiệm thức có xử lý *Trichodema* chỉ dừng lại ở mức khoảng 15% số chồi non bị nhiễm bệnh. Theo kết quả phân tích thống kê, sự khác biệt giữa các nghiệm thức có và không xử lý *Trichodema* chỉ thực sự có ý nghĩa ở 29 ngày sau chủng *Phytophthora*. Tỷ lệ chồi chết ở một số giai đoạn điều tra thể hiện qua bảng 4.24.

So sánh giữa các cách xử lý *Trichodema*, chúng tôi thấy có khác biệt trong thời gian đầu, sau đó sự khác biệt này ít biểu hiện hơn. Qua xử lý thống kê, bảng kết quả cho thấy hầu hết sự khác biệt này đều không có ý nghĩa.

Theo dõi giữa các nghiệm thức xử lý những dòng *Trichodema* khác nhau, đồng thời với việc gia tăng chồi mới khác nhau, tỷ lệ các chồi chết cũng khác nhau rất rõ trong gần cả quá trình điều tra. Chỉ lần điều tra cuối cùng sự khác



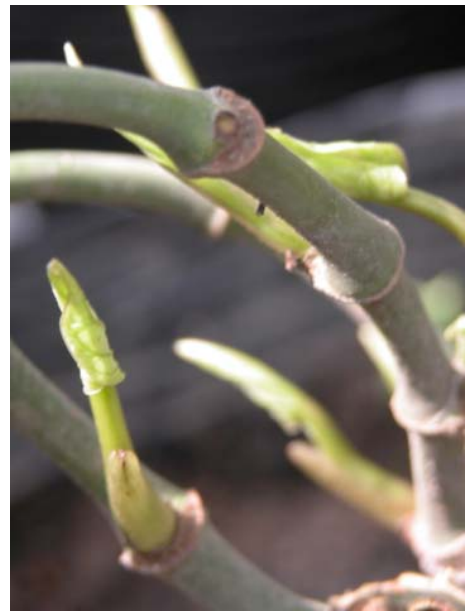
a



b



c



d

**Hình 4.14:** Triệu chứng bệnh do nấm *Phytophthora* gây hại chồi tiêu mới

- a. Chồi tiêu non bị nấm *Phytophthora* gây hại trên lá
- b. Chồi tiêu mới hình thành bị nấm *Phytophthora* hại chết
- c. Chồi tiêu non bị nấm *Phytophthora* gây hại trên ngọn
- d. Chồi tiêu non khoẻ không bị nhiễm bệnh



biệt này không được rõ về phương diện thống kê. Kết quả phân tích số liệu thống kê thể hiện qua bảng 4.25.

**Bảng 4.24** So sánh tỷ lệ chồi tiêu mới mọc bị chết giữa các nghiệm thức qua một số kỳ điều tra của thí nghiệm phòng trừ bệnh trên cây tiêu

Nghiệm thức	15 NSC		22 NSC		34 NSC	
	Tỷ lệ chồi chết	SS	Tỷ lệ chồi chết	SS	Tỷ lệ chồi chết	SS
T.32-bón + phun	2,3 ± 2,3	x	4,3 ± 3,3	x	7,2 ± 3,7	x
T.32-bón	0,0 ± 0,0	x	9,3 ± 2,4	x	11,9 ± 2,6	x
T.41-bón	1,4 ± 1,4	x	9,3 ± 2,6	x	11,9 ± 3,7	x
T.41-bón + phun	6,0 ± 4,8	x	12,7 ± 4,4	x	13,0 ± 4,5	x
T.32-phun	3,8 ± 1,6	x	12,0 ± 3,2	x	14,1 ± 3,0	x
T.41-phun	16,0 ± 3,1	x x	20,7 ± 3,4	x x	14,4 ± 3,9	x
ĐC có chủng P.	29,0 ± 15,2	x	40,7 ± 16,2	x	90,4 ± 4,8	x

\* Trên cùng một cột theo phương thẳng đứng thì sự khác biệt ở mức  $\alpha = 0,05$  theo trắc nghiệm Duncan.

**Bảng 4.25** So sánh tỷ lệ chồi tiêu mới mọc bị chết giữa 2 dòng T.32 và T.41 của thí nghiệm phòng trừ bệnh trên cây tiêu

Nghiệm thức	8 NSC		15 NSC		22 NSC		41 NSC	
	Tỷ lệ chồi chết	SS	Tỷ lệ chồi chết	SS	Tỷ lệ chồi chết	SS	Tỷ lệ chồi chết	SS
T.32	2,0 ± 1,9	x	8,5 ± 2,1	x	9,3 ± 3,4	x	11,0 ± 4,9	x
T.41	9,6 ± 1,9	x	16,6 ± 2,1	x	17,0 ± 3,4	x	20,7 ± 4,9	x

\* Trên cùng một cột theo phương ngang thì sự khác biệt ở mức  $\alpha = 0,05$  theo trắc nghiệm Duncan.

+ Ảnh hưởng đến rễ cây: Sau khi kết thúc quá trình điều tra theo dõi các chỉ tiêu lá, dây, chồi, chúng tôi tiến hành nhổ cây để khảo sát thêm ảnh hưởng của *Trichodema* và *Phytophthora* đến việc sinh trưởng của rễ cây (xem hình 4.15). Kết quả thu được thể hiện qua bảng 4.26.

**Bảng 4.26** So sánh khối lượng bộ rễ sau thí nghiệm phòng trừ bệnh trên cây tiêu

Nghiệm thức	Khối lượng rễ (g/chậu)	So sánh
ĐC có chủng P.	21.8 ± 1,1	x
T.41-bón	31.0 ± 0,8	x
T.41-phun	32.2 ± 0,7	x
T.32-bón	32.7 ± 0,8	x
T.32-phun	33.7 ± 0,8	x x
T.32-bón + phun	34.3 ± 2,0	x x
T.41-bón + phun	37.9 ± 1,8	x
ĐC không chủng P.	46.7 ± 3,2	x

\* Trên cùng một cột theo phương thẳng đứng thì sự khác biệt ở mức  $\alpha = 0,05$  theo trắc nghiệm Duncan.

Qua bảng 4.26, xử lý thống kê về so sánh, có sự khác biệt rất có ý nghĩa giữa nghiệm thức đối chứng có chủng *Phytophthora* (B01) với tất cả các nghiệm thức khác. Trong khi sự khác biệt giữa những nghiệm thức có xử lý chế phẩm *Trichodema* với nghiệm thức đối chứng không chủng *Phytophthora* (B02) không khác biệt lắm. Trong đó những nghiệm thức vừa bón kết hợp phun gần tương đương với nghiệm thức đối chứng không chủng *Phytophthora*. Điều này cũng thể hiện rõ khi phân tích thống kê so sánh khối lượng rễ giữa các cách xử lý khác nhau qua bảng 4.27, nghiệm thức vừa bón kết hợp phun chế phẩm *Trichodema* bộ rễ tiêu được bảo vệ tốt hơn.



**Hình 4.15:** Hình dạng cây và bộ rễ tiêu ở các nghiệm thức sau thí nghiệm  
a,b. ĐC không chủng *Phytophthora* e,f. Xử lý *Trichodema* T.32  
c,d. ĐC có chủng *Phytophthora* g,h. Xử lý *Trichodema* T.41

**Bảng 4.27** So sánh khối lượng bộ rễ ở các nghiệm thức có cách xử lý *Trichodema* khác nhau sau thí nghiệm phòng trừ bệnh trên cây tiêu

Nghiệm thức	Khối lượng rễ (g/chậu)	So sánh
Bón	31.8 ± 0,9	x
Phun	32.9 ± 0,9	x
Bón + phun	36.1 ± 0,9	x

\* Trên cùng một cột theo phương thẳng đứng thì sự khác biệt ở mức  $\alpha = 0,05$  theo trắc nghiệm Duncan.

Tuy nhiên, khi so sánh khối lượng rễ giữa các nghiệm thức xử lý các dòng *Trichodema* khác nhau (T.41 và T.32) hầu như sự khác biệt về khối lượng rễ không có ý nghĩa (xem bảng 4.28)

**Bảng 4.28** So sánh khối lượng bộ rễ ở các nghiệm thức xử lý các dòng *Trichodema* khác nhau sau thí nghiệm phòng trừ bệnh trên cây tiêu

Nghiệm thức	Trọng lượng rễ (g/chậu)	So sánh
T.32	33.6 ± 0,8	
T.41	33.7 ± 0,8	

\* Trên cùng một cột theo phương thẳng đứng thì sự khác biệt ở mức  $\alpha = 0,05$  theo trắc nghiệm Duncan.

Qua thí nghiệm xử lý 2 dòng chế phẩm *Trichodema* khác nhau T.41 và T.32, với 3 cách xử lý khác nhau là dùng dạng rắn để bón, dùng dạng lỏng để phun và dùng kết hợp vừa bón vừa phun trên ruộng thí nghiệm đã lây nhiễm nhân tạo nấm gây bệnh *Phytophthora* so với đối chứng có và không lây nhiễm *Phytophthora*. Với một số chỉ tiêu đã theo dõi, đánh giá sau phân tích chúng tôi thấy rằng:

Hầu hết đều có sự khác biệt rất có ý nghĩa giữa các nghiệm thức có xử lý *Trichodema* so với các nghiệm thức đối chứng có lây nhiễm *Phytophthora*, chỉ có chỉ tiêu sự gia tăng vết bệnh là không có ý nghĩa, điều này cho thấy *Trichodema* có tác dụng chậm hơn so với sự tấn công của *Phytophthora*. Đồng thời một số lá vết bệnh gây hại không lớn nhưng đã rụng sau khi theo dõi, đây có thể là một cơ chế tự bảo vệ của cây trồng trước sự tấn công của các tác nhân gây hại.

So sánh giữa các cách xử lý *Trichodema*, bón, phun và bón kết hợp phun, hầu hết ở các chỉ tiêu theo dõi, sự khác biệt không lớn. Qua đó, khi đưa ra sử dụng đại trà trên đồng ruộng ta nên chọn phương pháp nào vừa tiện dụng vừa có hiệu quả kinh tế cho từng loại cây trồng cụ thể như tưới chế phẩm cho các loại rau, bón dạng rắn cho các cây lâu năm.

So sánh giữa hai dòng *Trichodema* dùng thí nghiệm, đa số sự khác biệt không lớn. Trong một số chỉ tiêu dòng T.32 có nhỉnh hơn có thể sử dụng dòng này cho các thí nghiệm tiếp theo để khẳng định lại hiệu lực của nó khi đưa ra đồng ruộng.

#### **4.1.5 Khảo sát hiệu lực của chế phẩm *Trichodema* trừ bệnh do nấm *Phytophthora* sp. gây hại trên cây sầu riêng.**

Qua việc chọn lọc, thử đối kháng các dòng *Trichodema* với các loại nấm gây hại. Qua thí nghiệm nhân sinh khối *Trichodema* dạng lỏng và dạng rắn. Đặc biệt, qua thí nghiệm khảo sát hiệu lực của chế phẩm *Trichodema* trong nhà lưới, chúng tôi quyết định chọn chế phẩm dạng rắn của dòng T.32 tiếp tục thử nghiệm ngoài đồng ruộng. Với mục đích kiểm tra hiệu lực của chế phẩm, xác định liều lượng thích hợp và cách xử lý hợp lý, chúng tôi bố trí có nhiều nghiệm thức có xử lý chế phẩm *Trichodema* với liều lượng khác nhau và có hay không kết hợp với phân chuồng so với 2 nghiệm thức đối chứng là có bón phân chuồng và không bón phân chuồng.

Cây trồng dùng thí nghiệm là sầu riêng, khác trong nhà lưới (cây tiêu), để kiểm tra thêm phổ tác động của chế phẩm. Chúng tôi tiến hành đồng thời trên cây sầu riêng vườn ươm và đồng ruộng để xem xét thêm việc áp dụng chế phẩm *Trichodema* trong thực tiễn phòng trừ dịch hại sau này.

#### **4.1.5.1 Khảo sát trong giai đoạn cây sầu riêng chuẩn bị xuất vườn**

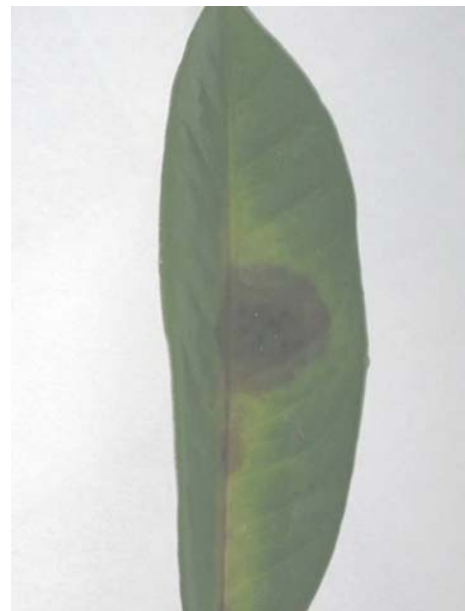
- Tỷ lệ cây chết cành, héo đọt: sau khi chủng nấm 1 tuần hầu hết các cây sầu riêng con đều có biểu hiện bị vàng, rụng lá chân, khô và chết các cành bên dưới, một số khô và chết đọt (xem hình 4.16a và 4.16b). Kết quả điều tra cho thấy, ở 15 ngày sau khi chủng nhiễm được xử lý hỗn hợp phân chuồng và chế phẩm *Trichodema*, tỷ lệ cây bị khô cành bên dưới và chết đọt ở nghiệm thức 2, nghiệm thức không xử lý chế phẩm *Trichodema* cao nhất (93,33%). Nghiệm thức chỉ xử lý 25 gram chế phẩm *Trichodema* / cây (T4) có tỷ lệ cây bị khô cành và chết đọt thấp nhất và khác biệt có ý nghĩa so với các nghiệm thức khác. Các nghiệm thức xử lý chế phẩm *Trichodema* và phân chuồng có biểu hiện gần giống nhau và tỷ lệ cây bị khô cành và chết đọt tương đương nhau (bảng 4.29).

- Tỷ lệ cây hồi phục: Cây bắt đầu thể hiện sự hồi phục ở 30 ngày sau khi xử lý, chúng ra nhiều đọt non mới, nhưng cho đến 45 ngày sau khi xử lý các cây thể hiện sự hồi phục khá rõ rệt, đặc biệt đối với các nghiệm thức có xử lý chế phẩm *Trichodema*. Nghiệm thức chỉ xử lý phân chuồng (T5) cũng hồi phục tuy nhiên mức hồi phục thấp hơn so với các nghiệm thức có xử lý chế phẩm *Trichodema*.

Ở 60 ngày sau khi xử lý cây gần như hồi phục hoàn toàn đối với các nghiệm thức có xử lý chế phẩm *Trichodema*. Qua xử lý thống kê, không có sự khác biệt có ý nghĩa giữa những nghiệm thức này (xem hình 4.17, và 4.18).



a



b



c



d

**Hình 4.16:** Triệu chứng bệnh do nấm *Phytophthora* gây hại trên sầu riêng  
a,b. Triệu chứng lá sầu riêng bị bệnh ở 15 ngày sau khi chủng nấm  
*Phytophthora palmovora*  
c. Triệu chứng lá sầu riêng bị bệnh ở ngoài đồng ruộng  
d. Rễ sầu riêng vườn ươm nấm *Phytophthora palmovora* gây hại



**Hình 4.17:** Sầu riêng giai đoạn cây vườn ươm 2 tháng sau chủng nhiễm

*Phytophthora palmovora* và xử lý chế phẩm *Trichodema*

a. Toàn cảnh ruộng thí nghiệm

b. Nghiệm thức xử lý 10g *Trichodema* + 800g phân chuồng / bầu

c. Nghiệm thức đối chứng không xử lý *Trichodema* và phân chuồng





**Hình 4.18:** Cây sầu riêng giai đoạn cây vườn ươm 2 tháng sau chủng nhiễm *Phytophthora palmovora* và xử lý chế phẩm *Trichodema* ở các nghiệm thức

a. 10g CP *Tr.* + 800g PCh.

b. 20g CP *Tr.* + 800g PCh.

c. 40g CP *Tr.* + 800g PCh.

d. 25g CP *Tr.* + 0g PCh.

e. 0g CP *Tr.* + 800g PCh.

f. 0g CP *Tr.* + 0g PCh.

**Bảng 4.29** So sánh tỷ lệ cây bị chết cành, héo đọt giữa các nghiệm thức ở thí nghiệm phòng trừ bệnh trên cây sầu riêng vườn ươm

Nghiệm thức	Tỷ lệ bệnh 15 ngày SXL	So sánh
20g Tr.	33,3 ± 3,3	<b>x</b>
10g Tr. + P.Ch	53,3 ± 3,3	<b>x</b>
40g Tr. + P.Ch	60,0 ± 5,8	<b>x</b>
20g Tr. + P.Ch	73,3 ± 3,3	<b>x</b>
ĐC có P.Ch	93,3 ± 3,3	<b>x</b>
ĐC không P.Ch	93,3 ± 3,3	<b>x</b>

\* Trên cùng một cột theo phương thẳng đứng thì sự khác biệt ở mức  $\alpha = 0,05$  theo trắc nghiệm Duncan.

**Bảng 4.30** So sánh tỷ lệ cây hồi phục giữa các nghiệm thức ở thí nghiệm phòng trừ bệnh trên cây sầu riêng vườn ươm

Nghiệm thức	45 NSXL		60 NSXL	
	Tỷ lệ hồi phục	SS	Tỷ lệ hồi phục	SS
ĐC không P.Ch	13,3 ± 3,3	<b>x</b>	13,3 ± 3,3	<b>x</b>
ĐC có P.Ch	33,3 ± 3,3	<b>x</b>	33,3 ± 6,7	<b>x</b>
20g Tr.	46,7 ± 3,3	<b>x x</b>	83,3 ± 3,3	<b>x</b>
10g Tr. + P.Ch	50,0 ± 5,8	<b>x</b>	76,7 ± 3,3	<b>x</b>
20g Tr. + P.Ch	53,3 ± 3,3	<b>x</b>	76,7 ± 3,3	<b>x</b>
40g Tr. + P.Ch	56,7 ± 6,7	<b>x</b>	86,7 ± 3,3	<b>x</b>

\* Trên cùng một cột theo phương thẳng đứng thì sự khác biệt ở mức  $\alpha = 0,05$  theo trắc nghiệm Duncan.

- Tỷ lệ cây chết hẳn: Sau 45 ngày chủng nhiễm nấm bệnh và xử lý hỗn hợp phân chuồng và chế phẩm *Trichodema*, ở hầu hết các nghiệm thức đều có

cây bị chết, tỷ lệ cây chết ở các nghiệm thức có xử lý *Trichodema* đều rất thấp so với nghiệm thức chỉ bón phân chuồng và nghiệm thức không bón phân chuồng. Quan sát rễ cây chết có triệu chứng thối (xem hình 4.16d)

Ở 60 ngày sau chủng nấm xử lý hỗn hợp phân chuồng và chế phẩm *Trichodema* tỷ lệ cây bị chết ở các nghiệm thức có xử lý *Trichodema* và kể cả nghiệm thức chỉ có phân chuồng đều không gia tăng. Nghiệm thức đối chứng không bón phân chuồng tỷ lệ chết là 96,66%.

**Bảng 4.31** So sánh tỷ lệ cây chết hẳn giữa các nghiệm thức ở thí nghiệm phòng trừ bệnh trên cây sầu riêng vườn ươm

Nghiệm thức	45 NSXL		60 NSXL	
	Tỷ lệ cây chết	SS	Tỷ lệ cây chết	SS
10g Tr. + P.Ch	10,0 ± 0,0	x	10,0 ± 0,0	x
20g Tr. + P.Ch	10,0 ± 0,0	x	10,0 ± 0,0	x
40g Tr. + P.Ch	10,0 ± 0,0	x	10,0 ± 0,0	x
20g Tr.	10,0 ± 0,0	x	10,0 ± 0,0	x
ĐC có P.Ch	20,0 ± 0,0	x	20,0 ± 0,0	x
ĐC không P.Ch	46,7 ± 3,3	x	73,3 ± 26,7	x

\* Trên cùng một cột theo phương thẳng đứng thì sự khác biệt ở mức  $\alpha = 0,05$  theo trắc nghiệm Duncan.

Qua phân tích thống kê, sự khác biệt giữa các nghiệm thức có xử lý chế phẩm *Trichodema* với nghiệm thức không xử lý chế phẩm *Trichodema* và giữa nghiệm thức có bón phân chuồng với nghiệm thức không bón phân chuồng lá rất ý nghĩa. Nhưng sự khác biệt giữa các nghiệm thức có bón phân chuồng kết hợp chế phẩm *Trichodema* ở các liều lượng khác nhau không lớn, không có ý nghĩa về phương diện thống kê.

- Diện tích lá: về kích thước lá ở các nghiệm thức cũng có sự khác biệt. Ở 30 ngày sau xử lý nghiệm thức xử lý 25 gram chế phẩm *Trichodema* / cây (T4) kích thước lá to nhất. Tuy nhiên đến 60 ngày sau khi xử lý thì nghiệm thức 40g *Trichodema* + 800g phân chuồng có diện tích lá to, cây xanh tốt và đẹp nhất (xem bảng 4.32).

Kết quả phân tích thống kê ở 60 ngày sau xử lý cho thấy có sự khác biệt có ý nghĩa giữa các nghiệm thức có bón phân kết hợp chế phẩm *Trichodema* với các nghiệm thức không bón phân chuồng hoặc không xử lý *Trichodema*. Những sự khác biệt khác thực sự không có ý nghĩa.

**Bảng 4.32** So sánh diện tích lá giữa các nghiệm thức ở thí nghiệm phòng trừ bệnh trên cây sấu riêng vườn ươm (cm<sup>2</sup>)

Nghiệm thức	30 NSXL		60 NSXL	
	Diện tích lá	So sánh	Diện tích lá	So sánh
ĐC không P.Ch	45,7 ± 3,3	<b>x</b>	0,3 ± 0,3	<b>x</b>
20g Tr.	77,2 ± 2,7	<b>x</b>	67,7 ± 5,9	<b>x</b>
ĐC có P.Ch	58,0 ± 6,2	<b>x x</b>	68,3 ± 4,1	<b>x</b>
10g Tr. + P.Ch	63,3 ± 2,4	<b>x x</b>	81,7 ± 2,8	<b>x</b>
20g Tr. + P.Ch	63,4 ± 4,2	<b>x x</b>	85,3 ± 2,8	<b>x x</b>
40g Tr. + P.Ch	66,6 ± 7,1	<b>x x</b>	94,0 ± 0,6	<b>x</b>

\* Trên cùng một cột theo phương thẳng đứng thì sự khác biệt ở mức  $\alpha = 0,05$  theo trắc nghiệm Duncan.

#### 4.1.5.2 Khảo sát trên cây sấu riêng ngoài đồng ruộng

Ở 15 ngày sau khi xử lý, cây bắt đầu ra đọt non ở hầu hết các nghiệm thức, khảo sát vùng rễ trong đất cũng thấy có sự ra rễ mới ở hầu hết tất cả các cây sau khi được xử lý. Đo chỉ số SPAD, cho đến 1 tháng sau khi xử lý, giữa các

thực nghiệm chưa thể hiện sự khác biệt về hàm lượng diệp lục tố trong lá nhưng ở tháng thứ 2 sau khi xử lý thì đã có sự khác biệt rõ rệt giữa các nghiệm thức có xử lý chế phẩm *Trichodema* và các nghiệm thức không xử lý chế phẩm *Trichodema* (xem bảng 4.33). Ruộng thí nghiệm và cách xử lý chế phẩm xem hình 4.19 và 4.20.

**Bảng 4.33** So sánh chỉ số diệp lục tố trên lá giữa các nghiệm thức ở thí nghiệm phòng trừ bệnh trên cây sấu riêng ngoài ruộng

Nghiệm thức	30 NSXL		60 NSXL	
	Chỉ số SPAD	Chỉ số SPAD	Chỉ số SPAD	So sánh
125g Tr. + P.Ch	23,9 ± 1,1	26,8 ± 1,3		<b>x</b>
250g Tr. + P.Ch	25,7 ± 1,2	32,1 ± 1,5		<b>x x</b>
500g Tr. + P.Ch	24,9 ± 1,1	32,4 ± 1,6		<b>x x</b>
200g Tr.	23,7 ± 1,0	31,3 ± 1,5		<b>x x</b>
ĐC có P.Ch	23,4 ± 1,3	21,5 ± 1,0		<b>x</b>
ĐC như Nd	21,9 ± 1,1	20,3 ± 1,0		<b>x</b>

\* Trên cùng một cột theo phương thẳng đứng thì sự khác biệt ở mức  $\alpha = 0,05$  theo trắc nghiệm Duncan.

Khảo sát kích thước lá qua 2 tháng xử lý, chúng tôi cũng ghi nhận có sự khác biệt về kích thước lá giữa các nghiệm thức. Nghiệm thức có kích thước lá cao nhất vẫn là các nghiệm thức có xử lý phân chuồng kết hợp với *Trichodema* liều lượng cao. Tuy nhiên, qua phân tích thống kê, sự khác biệt này không thực sự có ý nghĩa (xem bảng 4.34).

- Tần suất xuất hiện của nấm *Phytophthora palmivora* sau khi xử lý: Kết quả cho thấy sau khi xử lý hỗn hợp chế phẩm phân chuồng và *Trichodema*, tần suất xuất hiện của nấm qua các lần phân lập đều giảm, đặc biệt là nghiệm thức xử lý phân chuồng và *Trichodema* liều lượng 500g, có tần suất xuất hiện của nấm là thấp

nhất và khác biệt có ý nghĩa so với tất cả các nghiệm thức còn lại. So sánh giữa các nghiệm thức có xử lý kết hợp chế phẩm *Trichodema* và phân chuồng đều khác biệt có ý nghĩa với các nghiệm thức khác. Đặc biệt có sự khác biệt lớn giữa có bón phân chuồng với cách xử lý như nông dân đang thực hiện (xem bảng 4.35; bảng 4.36).

**Bảng 4.34** So sánh diện tích lá giữa các nghiệm thức ở thí nghiệm phòng trừ bệnh trên cây sầu riêng ngoài ruộng (cm<sup>2</sup>)

Nghiệm thức	30 NSXL		60 NSXL	
	Diện tích lá	So sánh	Diện tích lá	So sánh
ĐC như Nd	32,7 ± 2,5	x	60,6 ± 5,4	x
ĐC có P.Ch	34,8 ± 2,6	x x	65,9 ± 5,6	x x
250g Tr. + P.Ch	37,7 ± 2,5	x x x	82,7 ± 5,4	x x
125g Tr. + P.Ch	38,0 ± 2,5	x x x	72,2 ± 5,3	x x
200g Tr.	40,7 ± 2,5	x x	66,4 ± 5,4	x
500g Tr. + P.Ch	44,1 ± 2,5	x	80,0 ± 5,4	x

\* Trên cùng một cột theo phương thẳng đứng thì sự khác biệt ở mức  $\alpha = 0,05$  theo trắc nghiệm Duncan.

Qua thí nghiệm trên cây sầu riêng giai đoạn vườn ươm, ở hầu hết các chỉ tiêu liên quan đến hiệu lực của chế phẩm *Trichodema*, đều có sự khác biệt rất có ý nghĩa giữa những nghiệm thức có xử lý và không xử lý chế phẩm này. nhưng sự khác biệt giữa các nghiệm thức có liều lượng sử dụng khác nhau và cách xử lý khác nhau không có ý nghĩa lắm. Đồng nghĩa với việc lựa chọn những nghiệm thức liều lượng sử dụng thấp để tăng hiệu quả kinh tế, hay tiếp tục thử nghiệm ở những liều lượng thấp hơn nữa để xác định liều lượng tối ưu.



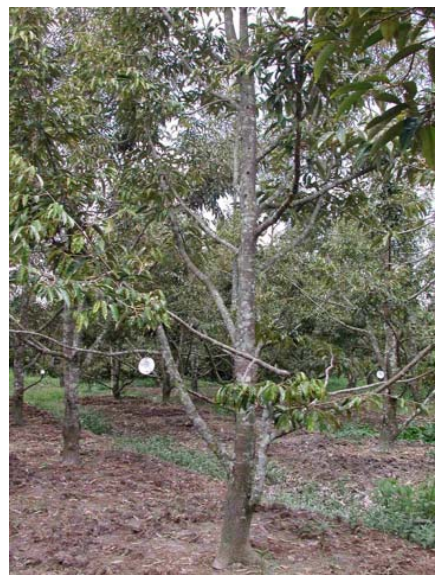
a



b



c



d

**Hình 4.19:** Vườn sầu riêng 5 năm tuổi trong thí nghiệm đánh giá hiệu quả phòng trừ bệnh của chế phẩm *Trichoderma* ngoài đồng ruộng

a. Vườn cây sầu riêng trước thí nghiệm

b. Vườn cây sầu riêng đang làm vệ sinh chuẩn bị bố trí thí nghiệm

c. Vườn cây sầu riêng đang xử lý *Trichoderma* và phân chuồng

d. Vườn cây sầu riêng 15 ngày sau xử lý *Trichoderma* và phân chuồng

a

b



c

d

**Hình 4.20:** Cách xử lý chế phẩm *Trichoderma* và phân chuồng trong thí nghiệm phòng trừ bệnh trên cây sầu riêng ngoài đồng ruộng

- a. Đánh rãnh quanh gốc cây sầu riêng
- b. Bón hỗn hợp chế phẩm *Trichoderma* và phân chuồng
- c. Rắc chế phẩm *Trichoderma* ở nghiệm thức không có phân chuồng
- d. lấp đất lại sau khi xử lý chế phẩm *Trichoderma* và phân chuồng



**Bảng 4.35** So sánh tần suất xuất hiện *Phytophthora* giữa các nghiệm thức ở 15 và 30 ngày sau xử lý của thí nghiệm phòng trừ bệnh trên cây sầu riêng ngoài ruộng (%)

Nghiệm thức	15 NSXL		30 NSXL	
	Tần suất	SS	Tần suất	SS
500g Tr. + P.Ch	45,5 ± 4,7	x	17,1 ± 3,6	x
250g Tr. + P.Ch	58,4 ± 4,6	x x	27,6 ± 3,5	x x
125g Tr. + P.Ch	58,4 ± 4,6	x x	29,7 ± 3,5	x x
ĐC có P.Ch	64,4 ± 4,6	x	38,7 ± 3,5	x x
200g Tr.	62,4 ± 4,5	x	43,6 ± 3,5	x
ĐC như Nd	83,5 ± 4,6	x	84,6 ± 3,6	x

\* Trên cùng một cột theo phương thẳng đứng thì sự khác biệt ở mức  $\alpha = 0,05$  theo trắc nghiệm Duncan.

**Bảng 4.36** So sánh tần suất xuất hiện *Phytophthora* giữa các nghiệm thức ở 45 và 60 ngày sau xử lý của thí nghiệm phòng trừ bệnh trên cây sầu riêng ngoài ruộng (%)

Nghiệm thức	45 NSXL		60 NSXL	
	%	SS	%	SS
500g Tr. + P.Ch	14,7 ± 2,7	x	13,6 ± 1,7	x
250g Tr. + P.Ch	21,5 ± 2,6	x x	21,1 ± 1,7	x
125g Tr. + P.Ch	23,6 ± 2,6	x	25,4 ± 1,7	x
ĐC có P.Ch	36,4 ± 2,6	x	41,1 ± 1,7	x
200g Tr.	39,3 ± 2,6	x	41,5 ± 1,7	x
ĐC như Nd	87,0 ± 2,6	x	86,1 ± 1,7	x

\* Trên cùng một cột theo phương thẳng đứng thì sự khác biệt ở mức  $\alpha = 0,05$  theo trắc nghiệm Duncan.

Ở cả thí nghiệm cây vườn ươm và thí nghiệm cây ngoài đồng ruộng, các nghiệm thức có bón kết hợp phân chuồng và chế phẩm *Trichodema* khác biệt rất có ý nghĩa với những nghiệm thức không kết hợp trong những chỉ tiêu theo dõi đến sinh trưởng của cây trồng và sự tồn lưu của mầm bệnh, nhưng sự khác biệt này lại không có ý nghĩa đối với việc tăng trưởng của diện tích lá. Điều này cũng khá dễ hiểu bởi đây là yếu tố quyết định do yếu tố giống hơn là tác động bởi yếu tố bên ngoài.

#### 4.2 Thảo luận

Qua kết quả các thí nghiệm chúng tôi đã thực hiện, từ việc đánh giá khả năng đối kháng của nấm *Trichodema* với bốn loại nấm gây hại cây trồng phổ biến ở trong đất, đến các thí nghiệm đánh giá khả năng phòng trừ bệnh của chế phẩm nấm *Trichodema* trên cây trồng trong nhà lưới, trong vườn ươm và ngoài đồng ruộng, *Trichodema* có khả năng kháng một số loại nấm gây bệnh trên cây trồng thì đã rõ. Điều đó cũng đã được chứng minh bằng nhiều công trình nghiên cứu của nhiều tác giả trên thế giới (Bliss, 1959 ; Baker, 1974 ; Barnett, 1974 ; Ohr, 1975 ; Lumsden, 1977 và Cook, 1980), ở trong nước (Lưu Hồng Mẫn, 1977 ; Nguyễn Ngọc Tú, 1977 ; Trần Thị Thuần, 1995 ; Trần Thị Ngọc Mai, 1999). Tuy nhiên, thí nghiệm đánh giá tính đối kháng của chúng tôi chỉ dừng lại ở 14 dòng nấm *Trichodema* với 4 loại nấm gây hại cây trồng *Phytophthora*, *Rhizoctonia*, *Fusarium* và *Sclerotium*, tất yếu sẽ còn nhiều hạn chế trong việc tìm được một dòng nấm *Trichodema* có hiệu quả đối kháng tốt nhất để đưa vào sản xuất tạo chế phẩm sử dụng đại trà cho các loại cây trồng.

Qua kết quả nhân sinh khối, với phương pháp lên men chìm và lên men xộp, chúng tôi đã tạo được những chế phẩm ở các dạng khác nhau (dạng lỏng và dạng rắn), với những dòng *Trichodema* khác nhau (T.32 và T.41), khẳng định lại việc sản xuất ra chế phẩm chế phẩm *Trichodema* không phải là khó. Chế phẩm

*Trichodema* cũng đã được ứng dụng từ lâu trên thế giới (Dunin 1979 ; Filippa 1987 ; Badai 1986). Nhưng việc sử dụng chúng như một biện pháp sinh học trong phòng trừ dịch hại hiện nay ở nước ta còn rất hạn chế. Phải chăng còn những bất cập trong quá trình sản xuất, tồn trữ, hiệu quả kinh tế cũng như công tác khuyến nông để thay đổi được tập quán sử dụng thuốc hóa học của người dân.

Trong quá trình thí nghiệm, chúng tôi nhận thấy việc lên men dạng lỏng sử dụng máy lắc, lượng chế phẩm một lần sản xuất ra còn thấp. Chúng tôi đang tiếp tục thử nghiệm một phương pháp lên men mới, đơn giản hơn từ những vật liệu rất dễ kiếm trên thị trường. Đó là phương pháp lên men bằng cách sục khí. Với thiết bị được dùng là máy sục khí cho những bể nuôi cá và vỏ bình nước tinh khiết loại lớn sau khi sử dụng (xem hình 4.21).

Việc lên men xộp, tạo chế phẩm *Trichodema* dạng rắn, bằng những hộp xộp, phương pháp này khá đơn giản, dễ làm. Nhưng ngược lại, không thể sản xuất đại trà bằng phương pháp đó được, lượng chế phẩm thu được thấp. Tuy nhiên, đây là cơ sở để chọn được loại môi trường dùng cho việc nhân sinh khối dạng rắn. Trấu và cám là những phụ phẩm trong chế biến lương thực rất phổ biến ở nước ta. Với 2 loại môi trường này, cùng với phương pháp lên men khá đơn giản, có thể sản xuất chế phẩm *Trichodema* dạng rắn rất dễ dàng ở các nhà máy nông dược, trên những dây chuyền sản xuất thuốc trừ sâu bệnh dạng hạt. Khử trùng môi trường bằng những nồi hấp bằng hơi nước có công suất lớn. Cụ thể phương pháp này có thể sản xuất đại trà trên dây chuyền công nghệ của Công Ty Liên Doanh Sản Xuất Nông Dược Vi Sinh Viguato ở Tp. Hồ Chí Minh.

Thí nghiệm đánh giá khả năng phòng trừ bệnh do nấm *Phytophthora* gây hại trên cây tiêu của chế phẩm nấm *Trichodema*, chúng tôi thực hiện được từ khâu chủng nấm *Phytophthora* gây bệnh đến việc bố trí thí nghiệm đơn và đa yếu tố. So sánh được nhiều yếu tố như các dòng *Trichodema*, các cách xử lý



a

b

c

**Hình 4.21:** Thí nghiệm sục khí trong phương pháp lên men chìm tạo chế phẩm *Trichoderma* dạng lỏng

a,b,c là các bình lên men nhìn ở các góc độ khác nhau

Thí nghiệm đánh giá khả năng phòng trừ bệnh do nấm *Phytophthora* gây hại trên cây sầu riêng của chế phẩm nấm *Trichodema*, chúng tôi cũng thực hiện được từ khâu chủng nấm *Phytophthora* gây bệnh đến việc bố trí thí nghiệm so sánh được nhiều yếu tố như liều lượng chế phẩm *Trichodema*, cách xử lý có hay không kết hợp với phân chuồng, theo dõi nhiều chỉ tiêu phòng trừ bệnh và ảnh hưởng đến sinh trưởng cây trồng cả trong vườn ươm và ngoài đồng ruộng. Tuy nhiên, thí nghiệm trên cây sầu riêng ngoài đồng ruộng chúng tôi cũng chỉ thực hiện được trong thời gian ngắn, nên chỉ đánh giá được một số chỉ tiêu liên quan đến sinh trưởng cây trồng và hạn chế mầm mống nấm gây hại tồn lưu trong đất khi sử dụng chế phẩm nấm *Trichodema*.

Xuyên suốt lại các thí nghiệm trong toàn bộ đề tài, chúng tôi muốn đưa ra một cách nhìn đơn giản hơn về sử dụng *Trichodema* trong phòng trừ sinh học. Đó là: Phải đảm bảo sản xuất và sử dụng chúng một cách đơn giản, gọn nhẹ, hiệu quả kinh tế cao và thuận lợi trong việc ứng dụng vào thực tiễn. Vì vậy, những thí nghiệm của chúng tôi tập trung vào việc ứng dụng vào thực tiễn. Phân lập, chọn dòng nấm kháng từ những tâm điểm vùng bệnh, nhân sinh khối, đưa chế phẩm về đúng cây trồng và môi trường sống của nó. Thí nghiệm đánh giá tính kháng của *Trichodema* với một số loại nấm trên đĩa petri chỉ dừng ở kết quả đánh giá cảm quan. Phương pháp sản xuất chế phẩm *Trichodema* cũng hết sức thô sơ, có thể áp dụng nó trong những điều kiện cơ sở vật chất ở các địa phương còn thiếu thốn. Thí nghiệm khảo sát hiệu lực của chế phẩm, mặc dù trong một thời gian ngắn, chúng tôi khảo sát được hiệu quả của nó đối với dịch bệnh trên 2 loại cây trồng phổ biến hiện nay, xem xét liều lượng sử dụng, cách xử lý và ảnh hưởng đến sinh trưởng cây trồng, tồn lưu mầm bệnh trong đất. Với hy vọng rút ngắn hơn nữa một qui trình khép kín sản xuất chế phẩm *Trichodema* chuyên biệt cho từng loại cây trồng, từng vùng sinh thái.

**Tóm tắt các bước cơ bản trong chọn lọc, nhân sinh khối và sử dụng chế phẩm *Trichodema***

1. Phân lập nấm *Trichodema* từ những vùng đang bị dịch bệnh.
2. Khảo sát tính đối kháng trên đĩa petri, chọn dòng nấm *Trichodema* đối kháng cao với nấm đang gây dịch.
3. Nhân sinh khối bằng phương pháp lên men lỏng hay lên men rắn tùy điều kiện sử dụng cho từng loại cây trồng và tập quán của địa phương.
4. Đánh giá hiệu lực, chọn liều lượng sử dụng và cách sử dụng bằng thí nghiệm tiến hành trên chính cây trồng và vùng phân lập nấm.

## Chương 5

# KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

### 5.1 Kết luận

Đề tài chọn được dòng *Trichodema* có khả năng đối kháng cao, nhân được các dạng sinh khối có hàm lượng bào tử hoặc sợi nấm trong chế phẩm lớn, đưa được vào nghiên cứu và thực tiễn sản xuất chế phẩm. Đánh giá hiệu lực chế phẩm, cách sử dụng, áp dụng trong phòng trừ bệnh cây trồng bằng phương pháp phòng trừ sinh học. Cụ thể như sau:

1. Thu thập và phân lập được 14 dòng *Trichodema* ở các địa điểm khác nhau.

2. Chọn ra được hai dòng *Trichodema* (T.31 và T.41) có khả năng kháng với nấm bệnh cao nhất trong 14 dòng *Trichodema* nói trên trong đĩa petri.

3. Khối lượng khuẩn ty của nhóm *Trichodema* thu được trong phương pháp nhân sinh khối lỏng, sau 72 giờ nuôi cấy, ở nghiệm thức 30g đường, 100g giá đậu xanh, 1g urê, 1g  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 0,5g  $\text{MgSO}_4$  và 1000ml nước cất (P4) cao nhất đạt 2,48g khuẩn ty. Tuy nhiên, ở nghiệm thức sử dụng 20g đường (P3) mà khối lượng khuẩn ty đạt 2,32g. Khối lượng khuẩn ty của nấm *Trichodema* thu được trong thí nghiệm khảo sát lượng giá ở nghiệm thức sử dụng 200g giá đậu xanh (G5) đạt 1,55g và trong nghiệm thức chỉ sử dụng 100g giá sống (G3) lượng khuẩn ty thu được 1,43g sau 72 giờ nuôi cấy. Qua đó, chúng tôi chọn công thức môi trường gồm 20g đường, 100g giá đậu xanh, 1g urê, 1g  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 0,5g  $\text{MgSO}_4$  và 1000ml nước cất là môi trường thích hợp nhất để nhân sinh khối *Trichodema* dạng lỏng.

4. Ở thí nghiệm so sánh khối lượng khuẩn ty của 2 dòng nấm *Trichodema* T.41 và T.32 thì lượng khuẩn ty của dòng T.32 cao hơn T.41 (2,04g so với 1,65g) sau 72 giờ nuôi cấy.

5. Nhân sinh khối dạng rắn ở 7 nghiệm thức khác nhau và đạt một số bào tử / ml cao nhất ở nghiệm thức 15g cám + 15g trấu (N.1) đạt  $33,46 \times 10^8$  bào tử / ml, thấp nhất ở nghiệm thức 30g cơm (N.7) được  $1,12 \times 10^8$  bào tử / ml sau 6 ngày nuôi cấy. Số lượng bào tử thu được ở dòng T.32 cao hơn T.41 là  $7,9 \times 10^8$  bào tử / ml. Nghiệm thức 15g cám + 15g trấu được chọn cho việc nhân sinh khối *Trichodema* dạng rắn.

6. Thí nghiệm khảo sát hiệu lực chế phẩm 2 dòng nấm *Trichodema* T.41 và T.32 trong việc phòng trừ bệnh trên cây tiêu cho thấy ở hầu hết các chỉ tiêu theo dõi đều có sự khác biệt rất có ý nghĩa giữa các nghiệm thức có xử lý *Trichodema* so với các nghiệm thức đối chứng có lây nhiễm *Phytophthora*. Giữa hai dòng *Trichodema* dùng thí nghiệm (T.41 và T.32), có khác biệt nhưng không lớn. Trong một số chỉ tiêu dòng T.32 có nhỉnh hơn. Giữa các cách xử lý *Trichodema*: Bón, phun và bón kết hợp phun, ở các chỉ tiêu theo dõi, sự khác biệt không lớn.

7. Sử dụng chế phẩm *Trichodema* dạng rắn dòng T.32 trong việc phòng trừ bệnh do nấm *Phytophthora* gây ra trên cây sầu riêng vườn ươm, các chỉ tiêu: Tỷ lệ cây sầu riêng chết cành, héo đọt, tỷ lệ cây hồi phục sau khi xử lý và tỷ lệ cây chết hẳn sau khi xử lý ở các nghiệm thức có xử lý chế phẩm *Trichodema* đều cho kết quả tốt hơn hẳn so với các nghiệm thức đối chứng không xử lý chế phẩm *Trichodema*

8. Sử dụng chế phẩm *Trichodema* dạng rắn dòng T.32 trong việc phòng trừ bệnh do nấm *Phytophthora* gây ra trên cây sầu riêng ngoài đồng ruộng, các nghiệm thức có bón kết hợp phân chuồng và chế phẩm *Trichodema* khác biệt rất có ý nghĩa với những nghiệm thức không kết hợp trong những chỉ tiêu theo dõi đến sinh trưởng của cây trồng và sự tồn lưu của mầm bệnh *Phytophthora*.

## 5.2 Đề nghị



Tiếp tục nghiên cứu về khả năng phòng trừ bệnh của các dòng nấm *Trichodema* đối với các loại nấm gây những loại bệnh khó trị trên những cây trồng khác.

Nghiên cứu tiếp những phương pháp tạo chế phẩm *Trichodema* đơn giản hơn, có thể áp dụng sản xuất ở từng địa phương, từng trang trại cho từng loại cây trồng cụ thể.

Trên cây dài ngày, cần có những nghiên cứu với thời gian dài hơn để có được những kết quả toàn diện hơn, bởi những biện pháp phòng trừ sinh học thường có tác dụng chậm nhưng kéo dài và bền vững hơn.

## Chương 6

### TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nguyễn Thị Ngọc Ẩn, 1999. *Kỹ thuật trồng và chăm sóc vườn cây và các vấn đề liên quan*. Nhà xuất bản Nông Nghiệp, Thành phố Hồ Chí Minh, trang 111-153.
2. Nguyễn Văn Cẩm và Phạm Văn Lâm (Trung tâm đấu tranh sinh học – Viện Bảo vệ Thực vật), 1996. *Tuyển tập công trình nghiên cứu biện pháp sinh học phòng trừ dịch hại cây trồng*, tập 1. Nhà xuất bản Nông Nghiệp.
3. Tạ Kim Chinh, 1996. *Nghiên cứu tuyển chọn một số chủng vi nấm diệt côn trùng gây hại ở Việt Nam và khả năng ứng dụng*. Luận án PTS, Viện công nghệ sinh học - TT. Khoa học Tự nhiên và Công nghệ Quốc gia, Hà Nội.
4. Đường Hồng Dật và ctv, 1979. *Giáo trình vi sinh vật trồng trọt*. Nhà xuất bản Nông Nghiệp, Hà Nội, Việt Nam.
5. Nguyễn Lâm Dũng, 1981. *Sử dụng vi sinh vật để phòng trừ sâu hại cây trồng*. Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội.
6. Đỗ Tấn Dũng và cvt, 2001. Đặc tính sinh học và khả năng phòng chống một số bệnh nấm hại rễ cây trồng cạn của nấm đối kháng *Trichoderma viride*. *Tạp chí Bảo vệ Thực vật* 4: 12-16.
7. Bùi Xuân Đồng, 1977. *Một số vấn đề về nấm học*. Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội.
8. Bùi Xuân Đồng, 1984, 1986. *Nhóm nấm Hyphomycetes ở Việt Nam*, tập 1 và 2. Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội.
9. Bùi Xuân Đồng và Nguyễn Huy Văn, 2000. *Vi nấm dùng trong công nghệ sinh học*. Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội.
10. Vũ Công Hậu, 2000. *Trồng cây ăn quả ở Việt Nam*. In lần thứ ba. Nhà xuất bản Nông Nghiệp, Thành phố Hồ Chí Minh.

11. Trần Văn Hòa và ctv, 2000. Sâu bệnh hại cây trồng, cách phòng trị. *101 câu hỏi thường gặp trong sản xuất Nông Nghiệp*, tập 4. Nhà xuất bản Trẻ.
12. Phạm Văn Lâm, 1995. *Biện pháp sinh học phòng chống dịch hại nông nghiệp*. Nhà xuất bản Nông Nghiệp, Hà Nội.
13. Trần Văn Mão, 1998. *Sử dụng sâu nấm có ích*. Đại học Lâm Nghiệp. Nhà xuất bản Nông nghiệp, Hà Nội.
14. Lê Văn Nương và Nguyễn Lâm Dũng, 1992. *Công nghệ sinh học - Một cơ hội cho tất cả*. Nhà xuất bản Nông nghiệp, Hà Nội.
15. Võ Thị Thu Oanh, 1999. *Bệnh cây chuyên khoa*.
16. Lê Thanh Phong, 1994. *Cây sấu riêng*. Nhà xuất bản Nông Nghiệp, 19 trang.
17. Trần Thị Thanh, 2000. *Công nghệ vi sinh*. Nhà xuất bản Giáo dục.
18. Lê Duy Thắng, 1999. *Kỹ thuật trồng nấm. Nuôi trồng một số nấm ăn thông dụng ở Việt Nam*, tập 1. Nhà xuất bản Nông Nghiệp, Thành phố Hồ Chí Minh.
19. Trần Thị Thuần, 1998. Ảnh hưởng của điều kiện chiếu sáng đến sự sinh trưởng và phát triển của nấm. *Tạp chí Bảo vệ Thực vật* 3: 7-10.
20. Trần Thị Thuần, 1998. Hiệu quả đối kháng của nấm *Trichodema* đối với nấm gây bệnh hại cây trồng. *Tạp chí Bảo vệ Thực vật* 4: 35-38.
21. Trần Thị Thuần, 1998. Chất trao đổi do nấm *Trichodema* sinh ra và sinh trưởng phát triển của một số cây trồng. *Tạp chí Bảo vệ Thực vật* 5: 39-40.
22. Trần Thị Thuần, 1999. Phương pháp sản xuất và sử dụng nấm *Trichodema* để phòng trừ bệnh hại cây trồng. *Tạp chí Bảo vệ Thực vật* 4: 33-34.
23. Nguyễn Ngọc Tú và Nguyễn Thị Hương Giang, 1997. *Bảo vệ cây trồng bằng các chế phẩm từ vi nấm*. Nhà xuất bản Nông Nghiệp, Thành phố Hồ Chí Minh, trang 111-153.
24. Nguyễn Văn Tuất và Lê Văn Thuyết, 2000. *Sản xuất, chế biến và sử dụng thuốc bảo vệ thực vật thảo mộc và sinh học*. Viện bảo vệ thực vật. Nhà xuất bản Nông nghiệp, Hà Nội.

25. Nhiều tác giả, 2004. *Tạp chí khoa học Đại học Cần Thơ*. Nhà xuất bản Nông Nghiệp.
26. Amy Y. Rossman, John M. McKemy, Rebecca A. Pardo-Schultheiss and Hans-Josef Schroers, 2000. Molecular studies of the *Bionectriaceae* using large subunit rDNA sequences. *Mycologia*, 93 (1), 2001. The Mycological Society of America, pp. 100-110.
27. C. R. Howell and R. D. Stipanovic, 1995. Mechanisms in the *Biocontrol* of *Rhizoctonia solani*-Induced Cotton Seedling Disease by *Gliocladium virens*: Antibiosis. *Phytopathology* 85 (4), 1995. Texas, USA, pp. 469-472.
28. *Crop Protection Handbook*, 2004. <URL: <http://www.meisterpro.com>>
29. *Developing Expertise in the Management of cocoa. Diseases in Viet Nam*. Workshop No.1. 11-14 November 2003. Nong Lam University.
30. D. J. Rae, V. C. Nguyen, M. D. Huang, S. Leong, P. Nanta and G. A. C. Beattie, 2000. *Integrated Control of Citrus Pests in China and Southeast Asia*. University of Western Sydney, Hawkesbury.
31. Elad, Y., Hadar, Y., Hadar, E...Chet, I and Henis., 1981. *Biological control of Rhizoctonia Solani by T.hazzianuni in Carnation*.
32. Evans, H. C., 1982. Entomogenous fungi in tropical forest ecosystems : an appraisal. *Ecol. Entomol* 7: 47-60.
33. Ferron, P., 1978. Biological control of insect pests by entomogenous fungi. *Annu. Rev. Entomol* 23: 409-422.
34. Fuxa, J. R., 1987. Ecological considerations for the use of entomogenous in IBM. *Annu. Rev. Entomol* 32: 225-251.
35. Gary J. Samuels, 1998. *The Hypocrea schweinitzii complex and Trichodema sect. Longibrachiatum*. United States Dept. of Agriculture, Agricultural Research Service, Systematic Botany and Mycology Lab., Rm. 304, B-011A, BARC-West, Beltsville, MD 20705 U.S.A.
36. Gary J. Samuels, 2004. *Trichodema a guide to identification and biology*. United States Dept. of Agriculture, Agricultural Research Service, Systematic Botany and Mycology Lab., Beltsville, MD 20705 U.S.A.

37. Gary E. Harman and Christian P. Kubicek, 1798-1998. *Trichodema and Gliocladium*. Basic biology, taxonomy and genetics, 1. Taylor & Francis.
38. Gary E. Harman and Christian P. Kubicek, 1798-1998. *Trichodema and Gliocladium*. Enzymes, biological control and commercial application, 2. Taylor & Francis.
39. Gary J. Samules and Amy. Rossman; Clark T. Rogerson and Rosalind Lowen, 1999. *General of Bionectriaceae, Hypocreaceae and Nectriaceae (Hypocreales, Ascomycetes)*.
40. George N. Agrios, 2000. *Plant Pathology*, Third edition. Academic press.
41. Hans – Josef Schroers, 2001. *A monograph of Bionectria (Ascomycota, Hypocreales, Bionectriaceae) and its Clonostachys anamorphs*. Centraalbureau voor Schimmelcultures, Fungal Biodiversity Centre, Utrecht, The Netherlands.
42. Hans-Josef Schroers, Gary J. Samules, Keith A. Seifert and Walter Gams, 1998. Classification of the mycoparasite *Gliocladium roseum* in *Clonostachys* as *C. rosea*, its relationship to *Bionectria ochroleuca*, and notes on other *Gliocladium*-like fungi. *Mycologia* 91 (2), 1999. The Mycological Society of America, pp. 365-385.
43. Humber, R. A., 1981. An alternative view of certain taxonomic criteria used in the *Entomophthorales (Zygomycetes)*. *Mycotaxon* 13: 191-240.
44. Ignoffo, C. M., D. L. Hostetter, K. D. Biever, C. Garcia, G. D. Thomas, W. A. Dickerson and R. Pinnell, 1978. Evaluation of an *entomopathogenic bacterium*, fungus, and virus for control for *Heliothis zea* on soybeans. *J. Econ. Entomol.* 71: 165-168.
45. John Bissett, George Szakacs, Carol Ann Nolan, Irina Dzhuhina, Cornelia Gradinger, and Christian P. Kubicek, 2003. New species of *Trichodema* from Asia. *Can. J. Bot.* 81:570-586.
46. King, D. S., 1979. Systematics of fungi causing entomophthora - mycosis. *Mycologia* 71: 731-745.

47. Kuruvilla, S. and A. Jacob, 1980b. Pathogenicity of the entomogenous fungus *Paecilomyces farinosus* (Dickson ex Fries) to several insect pests. *Entomon* 5: 175-176.
48. Maniania, N. K. and J. Fargues, 1984. Specificite des Hyphomycetes entomopathogenes pour les larves des lepidopteres Noctuidae. *Entomophaga* 29: 451-464.
49. Marques, E. J., A. M. Vilas Boas and C. E. F. Pereira, 1981. Para producao do fungo entomogeno *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) em laboratorios setorialis. *Bol. Tec. Planalsucar (Piracicaba)* 3 (2): 1-23.
50. McCabe, D. and R. S. Soper, 1985. Preparation of an entomopathogenic insect control agent. *United States Patent* # 4,530,834, 23 July, 1985. pp. 4.
51. Petch, T., 1931. Notes on entomogenous fungi. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 16: 55-75.
52. Petch, T., 1935. Notes on entomogenous fungi. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 19: 161-194.
53. Pickford, R. and P. W. Riegert, 1964. The fungus disease caused by *entomophthora grylli* and its effect on grasshopper populations in Saskatchewan in 1963. *Can. Entomol.* 96: 1158-1166.
54. Riba, G., S. Marcandis, G. Richard and I. Larget, 1983. Sensibilite de la pyrale du maïs (*Ostrinia nubilalis* Hubner) (Lep. Pyralidae) aux Hyphomycetes entomopathogenes. *Entomophaga* 28: 55-64.
55. Roberts, D. W. and R. A. Humber, 1981. Entomogenous fungi. In Cole, G. T. and B. Kendrick(eds.), *Biology of Conidial Fungi* 2, Academic Press, New York.
56. Roffey, J., 1968. The occurrence of the fungus *entomophthora grylli* F. on locusts and grasshoppers in Thailand. *J. Invertebr. Pathol.* 11: 237-241.
57. Rombach, M. C., R. M. Aguda and D. W. Roberts, 1986b. Biological control of the brown planthopper, *Nilaparvata lugens* (Homoptera: Delphacidae) with dry mycelium applications of *Metarhizium anisopliae* (Deuteromycotina : Hyphomycetes ). *Philipp. Entomol.* 8: 613-627.

58. Rombach, M. C., R. M. Aguda, B. M. Shepard, and D. W. Roberts, 1986b. Infection of the rice brown planthopper, *Nilaparvata lugens* (Homoptera: Delphacidae) by field application of entomopathogenic hyphomycetes (Deuteromycotina). *Environ. Entomol.* 15: 1070-1073.
59. Yoshimichi Doi, 1972. *Revision of the Hypocreales with Cultural Observations*. IV. The Genus *Hypocrea* and its Allies in Japan, 15(4). Bulletin of the national Science museum, Tokyo, Japan.
60. *Trichodema* Treated Black Pepper Vines  
<URL:www.iisr.org/photogallery/biologicalcontrol/pages/Trichodema%20Treated%20Black%20Pepper%20Vines.htm>
61. Management of nursery wilt of black pepper ( *Piper nigrum* L.) with ...  
<URL:www.ias.ac.in/currsci/sep102002/561.pdf >
62. Mycoflora and mycotoxins in Brazilian black pepper, white pepper ...  
<URL:www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&list\_uids=11229375&dopt=Abstract>
63. The Indian Institute of Spices Research  
<URL: www.ncipm.org.in/Trichodermo%20harzianum.htm>
64. Durian root and stem rot (*Phytophthora palmivora*)  
<URL:www.ipmthailand.org/en/Pests/Root\_and\_stem\_rot.htm - >
65. Durian Germplasm Evaluation  
<URL:www.rirdc.gov.au/reports/NPP/02-091.pdf >

## Chương 7

## PHỤ LỤC

**Phụ lục 7.1** Khối lượng khuẩn ty thu được ở các nghiệm thức môi trường có lượng đường khác nhau trong thí nghiệm nhân sinh khối *Trichoderma* dạng lỏng (g)

Nghiệm thức	Dòng T.32				Dòng T.41			
	1	2	3	4	1	2	3	4
Lặp lại								
0 g đường + 100 g giá	0,2	0,9	0,3	0,2	0,5	0,5	0,5	0,4
10 g đường + 100 g giá	1,9	1,9	2,1	1,6	1,3	1,6	1,9	1,4
40 g đường + 100 g giá	2,5	2,5	2,8	2,0	2,3	2,3	1,8	2,3
20 g đường + 100 g giá	2,6	2,6	2,8	3,1	2,2	2,1	2,1	2,1
30 g đường + 100 g giá	2,8	2,8	2,4	2,7	2,0	2,0	1,5	2,0

Analysis of Variance for LƯỢNG KHUẨN TY THU ĐƯỢC TRONG THÍ NGHIỆM LÊN MEN LỎNG CÓ LƯỢNG ĐƯỜNG THAY ĐỔI

Source of variation	Sum of Squares	d.f.	Mean square	F-ratio	Sig. level
COVARIATES					
DUONG.DG	1.5484225	1	1.5484225	20.851	.0001
MAIN EFFECTS					
A:DUONG.NT	22.274265	4	5.5685663	74.986	.0000
RESIDUAL	2.5248900	34	.0742615		
TOTAL (CORRECTED)	26.347578	39			

0 missing values have been excluded.

All F-ratios are based on the residual mean square error.

**Phụ lục 7.2** Khối lượng khuẩn ty thu được ở các nghiệm thức môi trường có lượng giá khác nhau trong thí nghiệm nhân sinh khối *Trichoderma* dạng lỏng (g)

Nghiệm thức	Dòng T.32				Dòng T.41			
	1	2	3	4	1	2	3	4
Lặp lại								
0 g giá + 20 g đường	0,2	0,4	0,6	0,4	0,2	0,4	0,6	0,4



50 g giá + 20 g đường	1,5	1,2	1,1	1,1	1,5	1,2	1,1	1,1
150 g giá + 20 g đường	1,5	1,3	1,5	1,5	1,5	1,3	1,5	1,5
100 g giá + 20 g đường	1,6	1,3	1,4	1,4	1,6	1,3	1,4	1,4
200 g giá + 20 g đường	1,4	1,7	1,6	1,7	1,4	1,7	1,6	1,7

Analysis of Variance for LƯỢNG KHUẨN TY THU ĐƯỢC TRONG THÍ NGHIỆM LÊN MEN LỎNG CÓ LƯỢNG GIÁ THAY ĐỔI

Source of variation	Sum of Squares	d.f.	Mean square	F-ratio	Sig. level
COVARIATES					
GIA.DG	.00000E0000	1	.00000E0000	.000	1.0000
MAIN EFFECTS					
A:GIA.NT	6.9352400	4	1.7338100	81.829	.0000
RESIDUAL	.7204000	34	.0211882		
TOTAL (CORRECTED)	7.6556400	39			

0 missing values have been excluded.

All F-ratios are based on the residual mean square error.

Analysis of Variance for - LƯỢNG KHUẨN TY CỦA 2 DÒNG *TRICHODERMA* T.32 VÀ T.41 TRONG THÍ NGHIỆM LÊN MEN LỎNG

Source of variation	Sum of Squares	d.f.	Mean square	F-ratio	Sig. level
COVARIATES					
DUONG.NT	15.797531	1	15.797531	64.934	.0000
MAIN EFFECTS					
A:DUONG.DG	1.5484225	1	1.5484225	6.365	.0161
RESIDUAL	9.0016238	37	.2432871		
TOTAL (CORRECTED)	26.347578	39			

0 missing values have been excluded.

All F-ratios are based on the residual mean square error.

**Phụ lục 7.3** Số lượng bào tử thu được ở các nghiệm thức có cơ chất khác nhau trong thí nghiệm nhân sinh khối *Trichoderma* dạng rắn ( $10^8$  bào tử /ml)

Nghiệm thức	Dòng T.32				Dòng T.41			
	1	2	3	4	1	2	3	4
Lặp lại								
30 g cơm	1,2	1,2	1,3	1,2	1,1	1,0	1,0	1,1
10 g cám + 20 g vỏ cà phê	1,5	1,5	4,3	2,9	3,2	3,3	2,1	1,7

15 g cám + 15 g vỏ cà phê	58,0	61,0	62,0	73,0	2,7	3,6	3,8	4,2
20 g cám + 10 g vỏ cà phê	57,0	56,0	47,0	67,0	6,3	8,2	8,9	8,2
20 g cám + 10 g trấu	21,0	19,0	25,0	26,0	17,0	15,0	17,0	17,0
15 g cám + 15 g trấu	50,0	43,0	51,0	47,0	25,0	14,0	17,0	17,0
10 g cám + 20 g trấu	21,0	52,0	43,0	38,0	27,0	15,0	16,0	16,0

Analysis of Variance for LƯỢNG BÀO TỬ THU ĐƯỢC CỦA CÁC NGHIỆM THỨC TRONG THÍ NGHIỆM LÊN MEN DẠNG RẮN

Source of variation	Sum of Squares	d.f.	Mean square	F-ratio	Sig. level
COVARIATES					
NSKR.DG	809.21010	1	809.21010	15.475	.0003
MAIN EFFECTS					
A:NSKR.NT	8411.1077	6	1401.8513	26.809	.0000
RESIDUAL	2509.9209	48	52.290020		
TOTAL (CORRECTED)	11730.239	55			

0 missing values have been excluded.

All F-ratios are based on the residual mean square error.

Analysis of Variance for LƯỢNG BÀO TỬ THU ĐƯỢC CỦA 2 DÒNG *TRICHODERMA* T.32 VÀ T.41 TRONG THÍ NGHIỆM LÊN MEN DẠNG RẮN

Source of variation	Sum of Squares	d.f.	Mean square	F-ratio	Sig. level
COVARIATES					
NSKR.NT	7052.2120	1	7052.2120	96.610	.0000
MAIN EFFECTS					
A:NSKR.DG	809.21010	1	809.21010	11.086	.0016
RESIDUAL	3868.8166	53	72.996541		
TOTAL (CORRECTED)	11730.239	55			

0 missing values have been excluded.

All F-ratios are based on the residual mean square error.

**Phụ lục 7.4** Tỷ lệ lá tiêu bị bệnh của các nghiệm thức ở 2, 4 và 6 ngày sau khi chủng *Phytophthora* ở thí nghiệm phòng trừ bệnh trên cây tiêu (%)

Nghiệm thức	2 NSC				4 NSC				6 NSC			
	I	II	III	IV	I	II	III	IV	I	II	III	IV
Lặp lại												
T.32 bón	20,0	23,8	23,8	17,1	20,0	24,8	36,2	21,0	24,8	27,6	38,1	22,9

T.32 phun	20,0	25,7	14,3	23,8	23,8	32,4	15,2	34,3	26,7	36,2	16,2	42,9
T.32 bón + phun	23,8	20,0	9,5	15,2	23,8	21,0	11,4	17,1	29,5	28,6	16,2	18,1
T.41 bón	19,1	13,3	8,6	21,9	20,0	13,3	10,5	22,9	20,0	14,3	15,2	25,7
T.41 phun	24,8	20,0	26,7	24,8	24,8	21,0	26,7	40,0	28,6	21,9	28,6	42,9
T.41 bón + phun	11,4	16,2	13,3	10,4	12,3	21,0	15,2	12,4	15,2	23,8	19,1	13,3
ĐC có chủng <i>P.</i>	19,1	24,8	26,7	25,7	25,2	34,3	28,6	34,3	46,7	53,3	38,1	47,6
ĐC không <i>P.</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

**Phụ lục 7.5** Tỷ lệ lá tiêu bị bệnh của các nghiệm thức ở 8 và 41 ngày sau khi chủng *Phytophthora* ở thí nghiệm phòng trừ bệnh trên cây tiêu (%)

Nghiệm thức	8 NSC				41 NSC			
	I	II	III	IV	I	II	III	IV
Lặp lại								
T.32 bón	29,5	29,5	40,0	31,4	29,5	29,5	40,0	31,4
T.32 phun	38,1	44,8	19,1	46,7	38,1	44,8	19,1	46,7
T.32 bón + phun	34,3	37,1	29,5	21,0	34,3	37,1	29,5	21,0
T.41 bón	25,7	17,1	15,2	25,7	25,7	17,1	15,2	25,7
T.41 phun	24,8	22,9	37,1	48,6	24,8	22,9	37,1	48,6
T.41 bón + phun	15,2	24,8	20,0	13,3	15,2	24,8	20,0	13,3
ĐC có chủng <i>P.</i>	74,3	59,1	53,3	76,2	100,	95,2	85,7	76,0
ĐC không <i>P.</i>	0	0	0	0	0	0	0	0

One-Way Analysis of Variance for TỶ LỆ LÁ TIÊU BỊ BỆNH CỦA CÁC NGHIỆM THỨC Ở 41 NGÀY SAU KHI CHỨNG NẤM GÂY BỆNH

Means plot: LSD		Confidence level: 95		Range test: LSD	
Analysis of variance					
Source of variation	Sum of Squares	d, f,	Mean square	F-ratio	Sig. level
Between groups	13634.433	6	2272.4054	29.038	.0000
Within groups	1643.395	21	78.2569		
Total (corrected)	15277,828	27			

0 missing value(s) have been excluded,

Analysis of Variance for TỶ LỆ LÁ TIÊU BỊ BỆNH CỦA CÁC CÁCH XỬ LÝ Ở 41 NGÀY SAU KHI CHỦNG NẤM GÂY BỆNH

Source of variation	Sum of Squares	d,f	Mean square	F-ratio	Sig, level
COVARIATES					
TB5B,DG	508,94460	1	508,94460	7,314	,0136
MAIN EFFECTS					
A:TB5B.CXL	518.83691	2	259.41845	3.728	.0421
RESIDUAL	1391.6058	20	69.580291		
TOTAL (CORRECTED)	2419.3873	23			

0 missing values have been excluded.

All F-ratios are based on the residual mean square error.

Analysis of Variance for TỶ LỆ LÁ TIÊU BỊ BỆNH Ở NT XỬ LÝ 2 DÒNG *TRICHODERMA* T.32 VÀ T.41 SAU KHI CHỦNG NẤM GÂY BỆNH 41 NGÀY

Source of variation	Sum of Squares	d.f.	Mean square	F-ratio	Sig. level
COVARIATES					
TB5B.DG	508.94460	1	508.94460	7.314	.0136
MAIN EFFECTS					
A:TB5B.CXL	518.83691	2	259.41845	3.728	.0421
RESIDUAL	1391.6058	20	69.580291		
TOTAL (CORRECTED)	2419.3873	23			

0 missing values have been excluded.

All F-ratios are based on the residual mean square error.

**Phụ lục 7.6** Sự gia tăng vết bệnh trên lá tiêu của các nghiệm thức qua các kỳ điều tra ở thí nghiệm phòng trừ bệnh trên cây tiêu (mm)

Nghiệm thức	2 NSC			4 NSC			6 NSC			8 NSC		
	I	II	III	I	II	III	I	II	III	I	II	III
Lặp lại												
T.32 bón	10	7	15	23	19	26	30	27	32	R	R	R

T.32 phun	10	23	13	22	32	26	29	40	34	34	37	R
T.32 bón + phun	3	10	7	16	22	19	24	31	27	30	37	33
T.41 bón	7	8	9	20	20	23	29	30	31	36	36	38
T.41 phun	6	28	10	19	40	24	28	48	32	34	R	39
T.41 bón + phun	12	20	11	26	32	24	34	41	33	R	R	40
ĐC có chủng <i>P.</i>	13	12	10	28	24	21	37	33	31	R	R	39
ĐC không <i>P.</i>												

One-Way Analysis of Variance for SỰ GIA TĂNG VẾT BỆNH TRÊN LÁ TIÊU CỦA CÁC  
NGHIỆM THỨC Ở 8 NGÀY SAU KHI CHỦNG NẤM GÂY BỆNH

Means plot: LSD

Confidence level: 95  
Analysis of variance

Range test: LSD

Source of variation	Sum of Squares	d.f.	Mean square	F-ratio	Sig. level
Between groups	48.583333	5	9.7166667	1.315	.3696
Within groups	44.333333	6	7.3888889		
Total (corrected)	92.916667	11			

9 missing value(s) have been excluded.

Analysis of Variance for SỰ GIA TĂNG VẾT BỆNH TRÊN LÁ TIÊU Ở CÁC CÁCH XỬ  
LÝ *TRICHODERMA* SAU KHI CHỦNG NẤM GÂY BỆNH 8 NGÀY

Source of variation	Sum of Squares	d.f.	Mean square	F-ratio	Sig. level
COVARIATES					
TB3B.CXL	.6627451	1	.6627451	.090	.7750
MAIN EFFECTS					
A:TB3B.DG	19.766254	1	19.766254	2.682	.1402
RESIDUAL	58.970588	8	7.3713235		
TOTAL (CORRECTED)	83.636364	10			

7 missing values have been excluded.

All F-ratios are based on the residual mean square error.

Analysis of Variance for SỰ GIA TĂNG VẾT BỆNH TRÊN LÁ TIÊU Ở NT XỬ LÝ 2  
ĐỒNG *TRICHODERMA* T.32 VÀ T.41 SAU KHI CHỦNG NẤM GÂY BỆNH 8 NGÀY

Source of variation	Sum of Squares	d.f.	Mean square	F-ratio	Sig. level
---------------------	----------------	------	-------------	---------	------------

COVARIATES					
TB3B.CXL	.6627451	1	.6627451	.090	.7750
MAIN EFFECTS					
A:TB3B.DG	19.766254	1	19.766254	2.682	.1402
RESIDUAL	58.970588	8	7.3713235		
-----					
TOTAL (CORRECTED)	83.636364	10			
-----					
7 missing values have been excluded.					
All F-ratios are based on the residual mean square error.					

**Phụ lục 7.7** Tỷ lệ dây tiêu chết của các nghiệm thức ở 8, 15 và 22 ngày sau khi chủng *Phytophthora* ở thí nghiệm phòng trừ bệnh trên cây tiêu (%)

Nghiệm thức	8 NSC				15 NSC				22 NSC			
	I	II	III	IV	I	II	III	IV	I	II	III	IV
Lặp lại												
T.32 bón	-	-	6,7	6,7	13,3	20,0	6,7	6,7	13,3	20,0	6,7	6,7
T.32 phun	-	6,7	6,7	6,7	-	13,3	13,3	13,3	-	13,3	13,3	13,3
T.32 bón + phun	-	20,0	13,3	-	6,7	20,0	13,3	-	6,7	20,0	13,3	-
T.41 bón	6,7	6,7	-	-	6,7	6,7	6,7	-	6,7	6,7	6,7	-
T.41 phun	-	-	6,7	6,7	6,7	26,7	6,7	13,3	6,7	26,7	6,7	13,3
T.41 bón + phun	-	-	-	-	6,7	6,7	13,3	26,7	6,7	6,7	13,3	26,7
ĐC có chủng <i>P</i> ,	46,7	13,3	26,7	53,3	80,0	53,3	40,0	33,3	80,0	53,3	40,0	33,3
ĐC không <i>P</i> ,	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

**Phụ lục 7.8** Tỷ lệ dây tiêu chết của các nghiệm thức ở 29, 34 và 41 ngày sau khi chủng *Phytophthora* ở thí nghiệm phòng trừ bệnh trên cây tiêu (%)

Nghiệm thức	29 NSC				34 NSC				41 NSC			
	I	II	III	IV	I	II	III	IV	I	II	III	IV
Lặp lại												
T.32 bón	13,3	20,0	6,7	6,7	20,0	20,0	13,3	20,0	20,0	20,0	13,3	20,0

T.32 phun	-	13,3	13,3	13,3	-	26,7	53,3	46,7	-	26,7	53,3	46,7
T.32 bón + phun	6,7	20,0	13,3	-	6,7	33,3	20,0	-	6,7	33,3	20,0	-
T.41 bón	6,7	6,7	6,7	-	6,7	13,3	13,3	33,3	6,7	13,3	13,3	33,3
T.41 phun	6,7	26,7	6,7	13,3	6,7	26,7	6,7	13,3	6,7	26,7	6,7	13,3
T.41 bón + phun	6,7	6,7	13,3	26,7	16,7	6,7	13,3	26,7	16,7	6,7	13,3	26,7
ĐC có chủng P,	80,0	53,3	40,0	33,3	86,7	60,0	53,3	33,3	100,	86,0	80,0	66,6
ĐC không P,	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

One-Way Analysis of Variance for TỶ LỆ DÂY TIÊU BỊ CHẾT CỦA CÁC NGHIỆM THỨC Ở 41 NGÀY SAU KHI CHỦNG NẤM GÂY BỆNH

Means plot: LSD

Confidence level: 95  
Analysis of variance

Range test: LSD

Source of variation	Sum of Squares	d.f.	Mean square	F-ratio	Sig. level
Between groups	15235.433	6	2539.2389	13.808	.0000
Within groups	3861.776	21	183.8941		
Total (corrected)	19097.209	27			

0 missing value(s) have been excluded.

Analysis of Variance for TỶ LỆ DÂY TIÊU BỊ CHẾT Ở NT XỬ LÝ 2 DÒNG TRICHODERMA T.32 VÀ T.41 SAU KHI CHỦNG NẤM GÂY BỆNH 34 NGÀY

Source of variation	Sum of Squares	d.f.	Mean square	F-ratio	Sig. level
COVARIATES					
TB4B.CXL	17.388900	1	17.388900	.093	.7663
MAIN EFFECTS					
A:TB4B.DG	245.12042	1	245.12042	1.315	.2644
RESIDUAL	3914.6538	21	186.41209		
TOTAL (CORRECTED)	4177.1631	23			

0 missing values have been excluded.

All F-ratios are based on the residual mean square error.

Analysis of Variance for TỶ LỆ DÂY TIÊU BỊ CHẾT Ở CÁC CÁCH XỬ LÝ TRICHODERMA SAU KHI CHỦNG NẤM GÂY BỆNH 34 NGÀY

Source of variation	Sum of Squares	d.f.	Mean square	F-ratio	Sig. level
COVARIATES					
TB4B.DG	245.12042	1	245.12042	1.318	.2645
MAIN EFFECTS					
A:TB4B.CXL	211.95743	2	105.97872	.570	.5746
RESIDUAL	3720.0853	20	186.00426		
TOTAL (CORRECTED)	4177.1631	23			

0 missing values have been excluded.

**Phụ lục 7.9** Số chồi mới mọc của các nghiệm thức thức ở 8, 15 và 22 ngày sau khi chủng *Phytophthora* ở thí nghiệm phòng trừ bệnh trên cây tiêu

Nghiệm thức	8 NSC				15 NSC				22 NSC			
	I	II	III	IV	I	II	III	IV	I	II	III	IV
Lặp lại												
T.32 bón	22	21	42	36	25	29	45	36	25	36	47	22
T.32 phun	34	29	30	36	50	39	37	43	59	49	40	34
T.32 bón + phun	20	49	35	24	20	55	38	31	29	50	43	20
T.41 bón	16	21	15	17	21	22	18	21	25	31	21	16
T.41 phun	16	19	19	17	21	27	25	27	27	27	28	16
T.41 bón + phun	25	17	14	17	26	30	20	20	37	42	29	25
ĐC có chủng <i>P.</i>	17	10	15	13	19	14	17	20	21	21	21	17

**Phụ lục 7.10** Số chồi mới mọc của các nghiệm thức thức ở 29 và 41 ngày sau khi chủng *Phytophthora* ở thí nghiệm phòng trừ bệnh trên cây tiêu

Nghiệm thức	29 NSC				41 NSC			
	I	II	III	IV	I	II	III	IV
Lặp lại								
T.32 bón	42	26	36	50	42	27	36	51



T.32 phun	48	61	49	40	48	62	49	41
T.32 bón + phun	34	31	59	44	35	34	59	45
T.41 bón	27	28	32	21	28	30	33	21
T.41 phun	33	30	27	28	33	30	27	28
T.41 bón + phun	22	39	43	29	22	40	44	29
ĐC có chủng P.	28	21	22	21	28	21	23	22

One-Way Analysis of Variance for SỐ CHỒI TIÊU NON MỚI MỌC CỦA CÁC NGHIỆM THỨC Ở 41 NGÀY SAU KHI CHỨNG NẤM GÂY BỆNH

Means plot: LSD

Confidence level: 95

Range test: LSD

Analysis of variance

Source of variation	Sum of Squares	d.f.	Mean square	F-ratio	Sig. level
Between groups	2131.4286	6	355.23810	5.385	.0017
Within groups	1385.2500	21	65.96429		
Total (corrected)	3516.6786	27			

0 missing value(s) have been excluded.

Analysis of Variance for SỐ CHỒI TIÊU NON MỚI MỌC Ở CÁC CÁCH XỬ LÝ TRICHODERMA SAU KHI CHỨNG NẤM GÂY BỆNH 41 NGÀY

Source of variation	Sum of Squares	d.f.	Mean square	F-ratio	Sig. level
COVARIATES					
TB1B.DG	1162.0417	1	1162.0417	15.490	.0008
MAIN EFFECTS					
A:TB1B.CXL	165.25000	2	82.625000	1.101	.3517
RESIDUAL	1500.3333	20	75.016667		
TOTAL (CORRECTED)	2827.6250	23			

0 missing values have been excluded.

All F-ratios are based on the residual mean square error.

Analysis of Variance for SỐ CHỒI TIÊU NON MỚI MỌC Ở NT XỬ LÝ 2 DÒNG TRICHODERMA T.32 VÀ T.41 SAU KHI CHỨNG NẤM GÂY BỆNH 41 NGÀY

Source of variation	Sum of Squares	d.f.	Mean square	F-ratio	Sig. level
COVARIATES					
TB1B.CXL	90.250000	1	90.250000	1.203	.2851
MAIN EFFECTS					
A:TB1B.DG	1162.0417	1	1162.0417	15.491	.0008
RESIDUAL	1575.3333	21	75.015873		

-----  
 TOTAL (CORRECTED) 2827.6250 23  
 -----

0 missing values have been excluded.  
 All F-ratios are based on the residual mean square error.

**Phụ lục 7.11** Tỷ lệ chồi tiêu mới mọc bị chết của các nghiệm thức ở 8, 15 và 22 ngày sau khi chủng *Phytophthora* thí nghiệm phòng trừ bệnh trên cây tiêu

Nghiệm thức	8 NSC				15 NSC				22 NSC			
	I	II	III	IV	I	II	III	IV	I	II	III	IV
Lặp lại												
T.32 bón	-	-	-	-	-	-	-	-	12,0	11,1	2,1	11,9
T.32 phun	-	-	-	2,8	-	7,7	2,7	4,7	5,1	20,4	10,0	12,5
T.32 bón + phun	-	10,2	-	-	-	9,1	-	-	3,4	13,8	-	-
T.41 bón	-	-	6,7	-	-	-	5,6	-	8,0	16,1	9,5	3,7
T.41 phun	-	21,1	-	5,9	19,0	14,8	8,0	22,2	14,8	14,8	27,1	26,1
T.41 bón + phun	-	-	-	23,5	3,8	-	-	20,0	18,9	-	13,8	18,2
ĐC có chủng <i>P</i> ,	35,3	-	-	15,4	73,7	21,4	5,9	15,0	85,7	28,6	9,2	39,3

One-Way Analysis of Variance SỐ CHỒI TIÊU NON MỚI MỌC BỊ CHẾT CỦA CÁC NGHIỆM THỨC Ở 34 NGÀY SAU KHI CHỦNG NẤM GÂY BỆNH

-----  
 Means plot: LSD                      Confidence level: 95                      Range test: LSD  
 Analysis of variance  
 -----

Source of variation	Sum of Squares	d.f.	Mean square	F-ratio	Sig. level
Between groups	21153.991	6	3525.6651	60.810	.0000
Within groups	1217.555	21	57.9788		
Total (corrected)	22371.546	27			

**Phụ lục 7.12** Tỷ lệ chồi tiêu mới mọc bị chết của các nghiệm thức ở 29 và 34 ngày sau khi chủng *Phytophthora* thí nghiệm phòng trừ bệnh trên cây tiêu

Nghiệm thức	29 NSC				34 NSC			
	I	II	III	IV	I	II	III	IV
Lặp lại								

T.32 bón	15,3	11,1	2,0	11,9	18,5	11,1	5,9	12,0
T.32 phun	6,6	20,4	10,0	12,5	9,7	22,4	10,0	14,3
T.32 bón + phun	3,2	15,3	-	2,9	8,8	16,9	-	2,9
T.41 bón	10,7	15,6	9,5	3,6	13,3	21,2	9,5	3,6
T.41 phun	13,1	14,8	5,3	18,2	13,1	14,8	5,3	24,2
T.41 bón + phun	17,9	-	13,8	18,2	20,0	-	13,8	18,2
ĐC có chủng P,	100,0	63,6	47,6	66,7	100,0	91,3	77,3	92,9

Analysis of Variance for SỐ CHỒI TIÊU NON MỚI MỌC BỊ CHẾT Ở CÁC CÁCH XỬ LÝ  
*TRICHODERMA* SAU KHI CHỨNG NẤM GÂY BỆNH 34 NGÀY

Source of variation	Sum of Squares	d.f.	Mean square	F-ratio	Sig. level
COVARIATES					
TB2B.DG	559.50727	1	559.50727	1.894	.1840
MAIN EFFECTS					
A:TB2B.CXL	400.73726	2	200.36863	.678	.5189
RESIDUAL	5909.5294	20	295.47647		
TOTAL (CORRECTED)	6869.7739	23			

0 missing values have been excluded.

All F-ratios are based on the residual mean square error.

Analysis of Variance for SỐ CHỒI TIÊU NON MỚI MỌC BỊ CHẾT Ở NT XỬ LÝ 2 DÒNG  
*TRICHODERMA* T.32 VÀ T.41 SAU KHI CHỨNG NẤM GÂY BỆNH 34 NGÀY

Source of variation	Sum of Squares	d.f.	Mean square	F-ratio	Sig. level
COVARIATES					
TB2B.CXL	368.54401	1	368.54401	1.303	.2666
MAIN EFFECTS					
A:TB2B.DG	559.50727	1	559.50727	1.977	.1743
RESIDUAL	5941.7227	21	282.93917		
TOTAL (CORRECTED)	6869.7739	23			

0 missing values have been excluded.

**Phụ lục 7.13** Khối lượng bộ rễ sau thí nghiệm phòng trừ bệnh trên cây tiêu

Nghiem thức	Khối lượng rễ trung bình (g) / chậu			
	I	II	III	IV
T.32 bón	34,3	32,7	30,7	33,3

T.32 phun	36,0	32,7	33,7	32,3
T.32 bón + phun	29,3	39,3	34,7	34,0
T.41 bón	30,0	32,7	29,3	32,0
T.41 phun	32,7	32,7	30,3	33,3
T.41 bón + phun	38,7	41,3	39,0	32,7
ĐC có chủng P,	19,5	24,8	22,5	20,8
ĐC không chủng P,	42,4	52,0	52,4	40,0

One-Way Analysis of Variance KHỐI LƯỢNG RỄ Ở CÁC NGHIỆM THỨC SAU KHI KẾT THÚC THÍ NGHIỆM (60 NSC CHỦNG NẤM GÂY BỆNH)

Means plot: LSD                      Confidence level: 95                      Range test: LSD  
Analysis of variance

Source of variation	Sum of Squares	d.f.	Mean square	F-ratio	Sig. level
Between groups	1349.0967	7	192.72810	17.845	.0000
Within groups	259.2083	24	10.80034		
Total (corrected)	1608.3050	31			

0 missing value(s) have been excluded.

Analysis of Variance for KHỐI LƯỢNG RỄ Ở CÁC CÁCH XỬ LÝ *TRICHODERMA* SAU KHI KẾT THÚC THÍ NGHIỆM (60 NSC CHỦNG NẤM GÂY BỆNH)

Source of variation	Sum of Squares	d.f.	Mean square	F-ratio	Sig. level
COVARIATES					
KLRB.DG	.1044560	1	.1044560	.013	.9101
MAIN EFFECTS					
A:KLRB.CXL	78.153356	2	39.076678	5.025	.0171
RESIDUAL	155.51968	20	7.7759838		
TOTAL (CORRECTED)	233.77749	23			

0 missing values have been excluded.

All F-ratios are based on the residual mean square error.

Analysis of Variance for KHỐI LƯỢNG RỄ Ở NT XỬ LÝ 2 DÒNG *TRICHODERMA* T.32 VÀ T.41 SAU KHI KẾT THÚC THÍ NGHIỆM (60 NSC CHỦNG NẤM GÂY BỆNH)

Source of variation	Sum of Squares	d.f.	Mean square	F-ratio	Sig. level
COVARIATES					
KLRB.CXL	72.250000	1	72.250000	9.399	.0059
MAIN EFFECTS					
A:KLRB.DG	.1044560	1	.1044560	.014	.9095

RESIDUAL 161.42303 21 7.6868111

TOTAL (CORRECTED) 233.77749 23

0 missing values have been excluded.

All F-ratios are based on the residual mean square error.

**Phụ lục 7.14** Tỷ lệ cây bị chết cành, héo đọt của các nghiệm thức ở thí nghiệm phòng trừ bệnh trên cây sấu riêng vườn ươm (%)

Nghiệm thức	Tỷ lệ bệnh ở 15 ngày SXL		
	I	II	III
Lặp lại			
10 g Tr. + P.Ch	50	60	50
20 g Tr. + P.Ch	70	80	70
40 g Tr. + P.Ch	50	60	70
20 g Tr.	30	30	40
ĐC có P.Ch	90	90	100
ĐC không P.Ch	90	90	100

One-Way Analysis of Variance TỶ LỆ CÂY CHẾT CỦA CÁC NGHIỆM THỨC TRONG THÍ NGHIỆM SẤU RIÊNG VƯỜN ƯƠM SAU CHỨNG NẤM BỆNH 60 NGÀY

Means plot: LSD

Confidence level: 95

Range test: LSD

Analysis of variance

Source of variation	Sum of Squares	d.f.	Mean square	F-ratio	Sig. level
Between groups	9643.4223	5	1928.6845	5.424	.0077
Within groups	4266.6670	12	355.5556		
Total (corrected)	13910.089	17			

0 missing value(s) have been excluded.

**Phụ lục 7.15** Tỷ lệ cây hồi phục của các nghiệm thức ở thí nghiệm phòng trừ bệnh trên cây sấu riêng vườn ươm (%)

Nghiệm thức	Tỷ lệ cây hồi phục ở 45 ngày SXL		
Lặp lại	50	40	60

10 g Tr. + P.Ch	50	50	60
20 g Tr. + P.Ch	50	50	70
40 g Tr. + P.Ch	50	50	40
20 g Tr.	30	30	40
ĐC có P.Ch	10	20	10
ĐC không P.Ch	50	40	60

**Phụ lục 7.16** Tỷ lệ cây chết hẳn giữa các nghiệm thức ở thí nghiệm phòng trừ bệnh trên cây sấu riêng vườn ươm (%)

Nghiệm thức	45 ngày SXL			60 ngày SXL		
	I	II	III	I	II	III
Lặp lại						
10 g Tr. + P.Ch	10	10,01	10	10,01	10	10
20 g Tr. + P.Ch	10	10	10,01	10,01	10	10
40 g Tr. + P.Ch	10,01	10	10	10	10,01	10
20 g Tr.	10,01	10	10	10	10,01	10
ĐC có P.Ch	20,01	20	20	20	20,01	20
ĐC không P.Ch	50	40	50	90	100	100

One-Way Analysis of Variance **DIỆN TÍCH LÁ CỦA CÁC NGHIỆM THỨC TRONG THÍ NGHIỆM SẤU RIÊNG VƯỜN ƯƠM SAU CHỦNG NẤM BỆNH 30 NGÀY**

Means plot: LSD                      Confidence level: 95                      Range test: LSD  
 Analysis of variance

Source of variation	Sum of Squares	d.f.	Mean square	F-ratio	Sig. level
Between groups	1613.2360	5	322.64720	4.964	.0108
Within groups	779.9587	12	64.99656		
Total (corrected)	2393.1946	17			

0 missing value(s) have been excluded.

**Phụ lục 4.17** Diện tích lá của các nghiệm thức ở thí nghiệm phòng trừ bệnh trên cây sấu riêng vườn ươm (cm<sup>2</sup>)

Nghiệm thức	45 ngày SXL			60 ngày SXL		
	I	II	III	I	II	III
Lặp lại						
10 g Tr. + P.Ch	66	58	66	85	76	84
20 g Tr. + P.Ch	72	58	61	83	82	91
40 g Tr. + P.Ch	79	66	55	95	94	93
20 g Tr.	82	76	74	75	56	72
ĐC có P.Ch	68	47	59	69	75	61
ĐC không P.Ch	48	39	50	0	1	0

**Phụ lục 4.18** Chỉ số diệt lục tổ trên lá của các nghiệm thức ở thí nghiệm phòng trừ bệnh trên cây sấu riêng ngoài ruộng

Nghiệm thức	45 ngày SXL			60 ngày SXL		
	I	II	III	I	II	III
Lặp lại						
10 g Tr. + P.Ch	23,7	22,4	25,5	24,2	31,1	25,2
20 g Tr. + P.Ch	28,8	22,9	25,5	30,9	32,8	32,5
40 g Tr. + P.Ch	23,4	24,6	26,6	29,0	33,4	35,0
20 g Tr.	24,6	23,8	22,6	26,9	32,5	34,4
ĐC có P.Ch	21,1	26,3	22,7	20,0	23,3	21,1
ĐC không P.Ch	21,7	23,0	21,1	21,4	20,7	18,7

**Phụ lục 7.19** Diện tích lá của các nghiệm thức ở thí nghiệm phòng trừ bệnh trên cây sấu riêng ngoài ruộng (cm<sup>2</sup>)

Nghiệm thức	Trước XL	45 ngày SXL	60 ngày SXL
-------------	----------	-------------	-------------

Lặp lại	I	I	II	III	II	III	I	II	III
10 g Tr. + P.Ch	24	28	30	36	36	42	70	75	71
20 g Tr. + P.Ch	28	28	30	35	36	42	90	70	88,8
40 g Tr. + P.Ch	36	30	21	38,5	42	51,6	79,5	83,2	78,4
20 g Tr.	32	30	24	42	43,5	36,6	85,2	56	58,8
ĐC có P.Ch	30	21	24	36,8	32	36	64,5	65	65,3
ĐC không P.Ch	30	32	24	36	32	30	50,4	64,5	67,5

Analysis of Variance for DIỆN TÍCH LÁ CỦA CÁC NGHIỆM THỨC TRONG THÍ NGHIỆM SẦU RIÊNG NGOÀI ĐỒNG SAU XỬ LÝ CHẾ PHẨM 30 NGÀY

Source of variation	Sum of Squares	d.f.	Mean square	F-ratio	Sig. level
COVARIATES					
DTLSRR.TRUOCXL	.8840045	1	.8840045	.048	.8327
MAIN EFFECTS					
A:DTLSRR.T	243.61928	5	48.723856	2.653	.0824
RESIDUAL	202.02266	11	18.365697		
TOTAL (CORRECTED)	447.86000	17			

0 missing values have been excluded.

All F-ratios are based on the residual mean square error.

Analysis of Variance for DIỆN TÍCH LÁ CỦA CÁC NGHIỆM THỨC TRONG THÍ NGHIỆM SẦU RIÊNG NGOÀI ĐỒNG SAU XỬ LÝ CHẾ PHẨM 60 NGÀY

Source of variation	Sum of Squares	d.f.	Mean square	F-ratio	Sig. level
COVARIATES					
SB260N.TRXL	25.237338	1	25.237338	.296	.6032
MAIN EFFECTS					
A:SB260N.T	1110.8501	5	222.17002	2.602	.0865
RESIDUAL	939.24933	11	85.386303		
TOTAL (CORRECTED)	2135.3250	17			

0 missing values have been excluded.

All F-ratios are based on the residual mean square error.

**Phụ lục 7.20** Tần suất xuất hiện *Phytophthora* của các nghiệm thức ở 15 và 30 ngày sau xử lý của thí nghiệm phòng trừ bệnh trên cây sầu riêng ngoài ruộng (%)



Nghiệm thức	Trước XL			15 ngày SXL			30 ngày SXL		
	I	I	II	III	II	III	I	II	III
Lặp lại									
10 g Tr. + P.Ch	87,5	75	75	62,5	62,5	50	31,3	25	31,3
20 g Tr. + P.Ch	87,5	75	75	50	62,5	62,5	31,3	25	25
40 g Tr. + P.Ch	75	100	81,2	37,5	50	50	12,5	25	18,7
20 g Tr.	75	81,2	87,5	62,5	62,4	62,5	50	37,5	43,7
ĐC có P.Ch	87,5	81,2	81,2	62,5	62,5	68,7	50	31,3	37,5
ĐC không P.Ch	87,5	75	68,7	87,5	68,7	93,8	87,5	75	87,5

**Phụ lục 7.21** Tần suất xuất hiện *Phytophthora* của các nghiệm thức ở 45 và 60 ngày sau xử lý của thí nghiệm phòng trừ bệnh trên cây sấu riêng ngoài ruộng (%)

Nghiệm thức	Trước XL			45 ngày SXL			60 ngày SXL		
	I	I	II	III	II	III	I	II	III
Lặp lại									
10 g Tr. + P.Ch	24	28	30	25	25	18,7	25	25	25,4
20 g Tr. + P.Ch	28	28	30	25	18,7	18,7	25	18,7	18,7
40 g Tr. + P.Ch	36	30	21	12,5	25	12,5	12,5	18,7	12,5
20 g Tr.	32	30	24	43,7	31,2	43,7	43,7	37,5	43,7
ĐC có P.Ch	30	21	24	43,7	37,5	31,2	43,7	43,7	37,5
ĐC không P.Ch	30	32	24	87,5	87,5	81,2	87,5	81,3	87,5

Analysis of Variance for TẦN SUẤT XUẤT HIỆN NẤM *PHYTOPHTHORA* Ở CÁC NGHIỆM THỨC TRONG THÍ NGHIỆM SẤU RIÊNG NGOÀI ĐỒNG 60 NSXL

Source of variation	Sum of Squares	d.f.	Mean square	F-ratio	Sig. level
COVARIATES					
SB3.TRXL	33.557251	1	33.557251	3.865	.0751

MAIN EFFECTS					
A:SB3.T	9628.5217	5	1925.7043	221.772	.0000
RESIDUAL	95.516083	11	8.6832802		
-----					
TOTAL (CORRECTED)	9988.8600	17			
-----					

0 missing values have been excluded.

All F-ratios are based on the residual mean square error.

## GIỚI THIỆU VỀ TÀI LIỆU

Tài liệu bạn đang xem được download từ website

[WWW.AGRIVIET.COM](http://WWW.AGRIVIET.COM)

[WWW.MAUTHOIGIAN.ORG](http://WWW.MAUTHOIGIAN.ORG)



»Agriviet.com là website chuyên đề về nông nghiệp nơi liên kết mọi thành viên hoạt động trong lĩnh vực nông nghiệp, chúng tôi thường xuyên tổng hợp tài liệu về tất cả các lĩnh vực có liên quan đến nông nghiệp để chia sẻ cùng tất cả mọi người. Nếu tài liệu bạn cần không tìm thấy trong website xin vui lòng gửi yêu cầu về ban biên tập website để chúng tôi cố gắng bổ sung trong thời gian sớm nhất.

»Chúng tôi xin chân thành cảm ơn các bạn thành viên đã gửi tài liệu về cho chúng tôi. Thay lời cảm ơn đến tác giả bằng cách chia sẻ lại những tài liệu mà bạn đang có cùng mọi người. Bạn có thể trực tiếp gửi tài liệu của bạn lên website hoặc gửi về cho chúng tôi theo địa chỉ email [Webmaster@Agriviet.Com](mailto:Webmaster@Agriviet.Com)

Lưu ý: Mọi tài liệu, hình ảnh bạn download từ website đều thuộc bản quyền của tác giả, do đó chúng tôi không chịu trách nhiệm về bất kỳ khía cạnh nào có liên quan đến nội dung của tập tài liệu này. Xin vui lòng ghi rõ nguồn gốc “Agriviet.Com” nếu bạn phát hành lại thông tin từ website để tránh những rắc rối về sau.

Một số tài liệu do thành viên gửi về cho chúng tôi không ghi rõ nguồn gốc tác giả, một số tài liệu có thể có nội dung không chính xác so với bản tài liệu gốc, vì vậy nếu bạn là tác giả của tập tài liệu này hãy liên hệ ngay với chúng tôi nếu có một trong các yêu cầu sau :

- Xóa bỏ tất cả tài liệu của bạn tại website Agriviet.com.
- Thêm thông tin về tác giả vào tài liệu
- Cập nhật mới nội dung tài liệu

