

- Coliform* chịu nhiệt và *Escherichia coli* giả định. Phần 2: Phương pháp nhiều ống (số có xác suất cao nhất).
- TCVN 4829:2005 (ISO 6578:2002).** Tiêu chuẩn Việt Nam về vi sinh vật trong thực phẩm và thức ăn chăn nuôi - Phương pháp phát hiện *Salmonella* trên đĩa thạch.
- Võ Thị Kiều Thanh, Lê Thị Ánh Hồng, Phùng Huy Huấn,** 2012. Nghiên cứu sản xuất phân vi sinh cố định đạm từ bùn thải nhà máy bia Việt Nam. *Tạp chí Sinh học*, 34:137-144.
- Alemnesh Bejiga,** 2019. *College of natural and computational sciences center for environmental science.* Addis Ababa University.
- Fillaudeau L., Blanpain-Avet P., Daufin G.,** 2006. Water, wastewater and waste management in brewing industries. *Journal of Cleaner Production*, 14: 463-471.
- Gulizar Caliskan, Gokhan Giray, Tugba Keskin Gundogdu, Nuri Azbar,** 2014. Anaerobic Biodegradation of Beer Production Wastewater at a Field Scale and Exploitation of Bioenergy Potential of Other Solid Wastes from Beer Production. *International Journal of Renewable Energy & Biofuels.* DOI: 10.5171/2014.664594
- Kanagachandran K., Jayaratne R.,** 2006. Utilization Potential of Brewery Waste Water Sludge as an Organic Fertilizer. *J. Inst. Bew.*, 112 (2); 92-96.
- Prescott L.M., Harley J.P., Klein D.A.,** 2002. *Microbiology*, 5th Edition, McGraw-Hill, New York. 1014pp.
- Stocks C, Barker A J., Guy S.,** 2002. The composting of brewery sludge. *Journal of the Institute of Brewing* 108: 452-458.

Treatment of brewery waste sludge as an organic fertilizer

Vu Thuy Nga, Luong Huu Thanh, Nguyen Thi Thu, Dam Thi Huyen, Dam Trong Anh, Nguyen Ngoc Quynh, Hua Thi Son, Nguyen Kieu Bang Tam, Do Van Manh

Abstract

The objective of this study was to evaluate the biochemical characteristics and the potential of treatment of brewery waste sludge as an organic fertilizer for crops. The results indicated that Saigon brewery sludge contained quite high organic content (33.74 - 33.87%); the total nitrogen was high (1.378 - 3.85%); the potassium level was medium (0.133 - 0.411%) and the total phosphorus level was poor (0.039 - 0.12%). 30 days of treatment of sludge using microbial inoculants, the composting process changed the content of ingredients and eliminated pathogenic microorganisms. The organic matter reached 21.42%; total N reached 1.84%; total P reached 0.06% and total K reached 0.128%; the moisture reached 29.4%. The compost product met organic fertilizer standards according to Decree No.84/2019/ND-CP of Vietnam Government. The evaluation of the effect of compost product on common bean in pots showed that roots grew better and fruit weight was 23.6%, higher than in the control. The brewery sludge treatment process yielded an organic fertilizer that could be used in agriculture as a soil addition nutrient source.

Keywords: Sludge, brewery, composting, treatment, organic fertilizer

Ngày nhận bài: 12/3/2020
Ngày phản biện: 19/3/2020

Người phản biện: TS. Lê Thị Thanh Thủy
Ngày duyệt đăng: 23/03/2020

NGHIÊN CỨU THỬ NGHIỆM CHẾ PHẨM SINH HỌC P1 DIỆT TUYẾN TRÙNG GÂY BỆNH CÂY HỒ TIÊU TẠI TỈNH ĐẮK LẮK

Chu Thanh Bình¹, Trần Văn Tuấn^{1,2}, Bùi Thị Việt Hà^{1,3}

TÓM TẮT

Chủng *Paecilomyces* sp. P1 được phân lập từ đất trồng hồ tiêu khu vực tỉnh Đắk Lắk là chủng nấm sợi diệt tuyến trùng tiềm năng. Chế phẩm sinh học P1 dạng dịch thể được tiến hành thử nghiệm khả năng diệt tuyến trùng ở quy mô nhà lưới cho hiệu lực đạt 22,2% - 52,48% sau 30 ngày. Đối với cây hồ tiêu từ 5 - 7 năm tuổi, khi sử dụng chế phẩm cho năng suất hồ tiêu tăng 7,42% so với đối chứng sau 12 tháng trên mô hình 3 ha.

Từ khóa: Cây hồ tiêu, tuyến trùng, *Paecilomyces* sp., chế phẩm sinh học P1

¹ Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội

² Phòng thí nghiệm trọng điểm Enzyme và Protein, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên

³ Trung tâm Khoa học Sự sống, Khoa Sinh học, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cây hồ tiêu (*Piper nigrum* L.) là cây công nghiệp có giá trị kinh tế cao được trồng nhiều vùng trên cả nước, đặc biệt là vùng Tây Nguyên và Đông Nam Bộ. Theo quy hoạch, diện tích trồng cây hồ tiêu của tỉnh Đắk Lắk đến năm 2020 là 15.000 ha. Tuy nhiên, tháng 1 năm 2017 diện tích trồng hồ tiêu đã tăng lên tới 38.616 ha. Việc tăng nhanh diện tích trồng hồ tiêu cũng kèm theo số diện tích bị sâu và dịch hại tăng nhanh. Theo Chi cục Bảo vệ thực vật tỉnh Đắk Lắk, từ đầu năm 2016 đến đầu năm 2017 có hơn 2.776 ha trồng hồ tiêu bị sâu bệnh gây hại, chiếm 10% tổng diện tích hồ tiêu toàn tỉnh. Hầu hết tuyến trùng thuộc chi *Meloidogyne* là nhóm ký sinh thực vật quan trọng nhất và ảnh hưởng sâu rộng đến nền nông nghiệp trên toàn thế giới (Djian-Caporalino *et al.*, 2007). Tương tự, tuyến trùng gây hại cây hồ tiêu ở khu vực Tây Nguyên cũng chủ yếu thuộc chi *Meloidogyne* (Lê Đức Khánh và *ctv.*, 2013; Trịnh Thu Thủy, 2010). Khi nhóm này tấn công vào rễ sẽ làm cho bề mặt có dạng sần sùi hoặc tạo thành các u cục và sau đó các vi sinh vật cơ hội dễ dàng xâm nhập và gây bệnh. Đây là vấn đề khó khăn xử lý triệt để, cây dễ bị lại mắc bệnh. Hơn nữa, nhiều nghiên cứu cho thấy, ký chủ *Meloidogyne* còn có khả năng tồn tại trong đất rất lâu ngay cả trong điều kiện khắc nghiệt mùa khô tại Tây Nguyên (Trinh, P.Q. *et al.*, 2012).

Nhằm khắc phục một số những tổn tại do tuyến trùng gây hại ở trên, chúng tôi đã nghiên cứu, thử nghiệm chế phẩm sinh học P1 (từ chủng nấm *Paecilomyces* sp. P1) trong việc phòng trừ tuyến trùng hại cây hồ tiêu ở quy mô nhà lưới và quy mô đồng ruộng 3 ha/mô hình tại Đắk Lắk, góp phần nâng cao năng suất cây hồ tiêu và bảo vệ môi trường.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Chủng nấm sợi *Paecilomyces* sp. P1 được phân lập từ đất trồng hồ tiêu tại tỉnh Đắk Lắk (Chu Thanh Bình và *ctv.*, 2019).

Hồ tiêu giống Vĩnh Linh: 3,5 tháng tuổi. Giống ươm bằng dây thân theo TCVN 10684-4:2018. (Cây công nghiệp lâu năm. Phần 4: Hồ tiêu) - cung cấp bởi Công ty giống cây trồng Đắk Lắk. Thử nghiệm tại nhà lưới thuộc Xí nghiệp sản xuất phân bón - Công ty Cổ phần Nicotex, xã EaNuôi, huyện Buôn Đôn.

Mô hình 3 ha: Hồ tiêu kinh doanh từ 5 - 7 năm tuổi, giống Vĩnh Linh, trụ sống và trụ hỗn hợp. Trung bình 1800 trụ/ha.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Xác định hiệu lực của chế phẩm sinh học diệt tuyến trùng trên đất trồng cây hồ tiêu trong nhà lưới

Mẫu đất lấy 3 điểm theo hình tam giác đều, lấy gốc cây làm trung tâm. Mẫu của từng cây được trộn đều. Mỗi mẫu đất lấy 500 gram. Dụng cụ dùng lấy mẫu phải vô trùng để tránh nhiễm chéo. Dùng dao hay xẻng sạch đã lau cồn để lấy mẫu đất. Đầu tiên loại bỏ lớp đất dày 2 - 5 cm trên bề mặt, sau đó lấy phần đất tiếp theo cho vào túi đã được khử trùng, gài cẩn thận. Túi được dán nhãn ghi rõ đặc điểm, công thức thí nghiệm lấy mẫu. Mẫu thu được bảo quản trong phòng mát nhiệt độ khoảng 20 - 22°C, túi đựng mẫu riêng để trong tủ lạnh (9 - 10°C). Mẫu đất được xử lý trong vòng 5 - 7 ngày kể từ ngày nhận mẫu.

Trộn 3 phần đất đỏ bazan và 1 phần phân hữu cơ đã được xử lý bằng cách trải mỏng, phủ màng nilon, phơi nắng từ 4 - 5 ngày để tiêu diệt bớt vi sinh vật. Chia đều lượng đất vào các chậu, trung bình 10 kg/chậu đưa vào nhà lưới. Cây hồ tiêu được trồng ổn định vào chậu và theo dõi trong thời gian từ 7 đến 10 ngày trước khi đưa vào thử nghiệm. Thử nghiệm được bố trí theo kiểu ngẫu nhiên đầy đủ 3 lần lặp lại gồm 7 công thức, mỗi công thức 30 cây.

Các mẫu thử nghiệm: ĐC1 (đối chứng âm): không tuyến trùng; ĐC 2 (đối chứng dương +): tập quán người trồng tiêu. Bổ sung tuyến trùng đều ở các mẫu ĐC 2, ĐC 3, TN1, TN2, TN3, TN4. Mật độ tuyến trùng được bổ sung 100 con/100 gram đất; ĐC 3 (đối chứng dương ++): sử dụng chế phẩm thông thường trên thị trường Nokaph (có thành phần là Ethoprophos: 10% và phụ gia khác).

Các công thức thử nghiệm: TN1: Chế phẩm sinh học P1 được pha loãng 50 lần; pha loãng bằng nước thường từ chế phẩm sinh học P1 dịch thể gốc ban đầu; TN2: Chế phẩm sinh học P1 được pha loãng 100 lần; TN3: Chế phẩm sinh học P1 được pha loãng 150 lần; TN4: Chế phẩm sinh học P1 được pha loãng 200 lần.

Mỗi lần tưới cho một chậu là 200 ml chế phẩm, thời gian tưới trung bình từ 5 - 7 ngày, đối với mẫu ĐC 1 thì tưới nước thường.

Chỉ tiêu theo dõi: Đánh giá mật độ tuyến trùng qua các giai đoạn: trước xử lý, sau 10 ngày, sau 20 ngày, sau 30 ngày.

Thời gian lấy mẫu đất phân tích tuyến trùng: trước xử lý, sau 10 ngày, sau 20 ngày, sau 30 ngày.

Quá trình thử nghiệm tiến hành trong 30 ngày, nhiệt độ thử nghiệm trong nhà lưới duy trì trung bình 26 °C đến 29 °C.

Tuyến trùng *Meloidogyne* sp. được thu nhận từ nguồn nhân nuôi trong đất trồng và trên rễ cây bị sùng. Mật độ tuyến trùng lây nhiễm cho 1 chậu đất là 100 con/100 g đất. Sau khi lây nhiễm, để ổn định sự tồn tại của tuyến trùng khoảng 1 đến 2 ngày, kiểm tra lại mật độ tuyến trùng có trong 100 g đất.

2.2.2. Thử nghiệm mô hình 3 ha

a) Bố trí thử nghiệm

Mô hình hồ tiêu: 3 ha, quá trình chăm sóc hồ tiêu theo Quyết định 730/QĐ-BNN-TT, ngày 05 tháng 03 năm 2015 - Bộ Nông nghiệp và PTNT.

Lô đối chứng (ĐC) và thí nghiệm (TN) được tiến hành tại 3 vườn, mỗi vườn 1 ha; trung bình khoảng 1800 trụ/ha. Kết quả đánh giá từ 3 vườn lấy giá trị trung bình. Đánh giá 10 điểm/vườn. Mỗi điểm 06 trụ, mỗi trụ điều tra cấp độ bệnh của cây theo khung hình vuông theo 2 hướng đối lập nhau (Bắc - Nam) và quan trắc theo thang 4 cấp độ. Độ cao được tính từ dưới đất lên phần đặt khung là 1,5 m.

Quy trình sử dụng chế phẩm: Lô ĐC chăm sóc áp dụng theo “Quy trình kỹ thuật trồng, chăm sóc và thu hoạch hồ tiêu”. Lô TN được sử dụng theo quy trình chăm bón như trên.

Sử dụng chế phẩm sinh học P1 được pha loãng 100 lần (theo kết quả nghiên cứu mục 3.2 để chăm sóc.

b) Phương pháp đánh giá, quan trắc cấp độ cây bị bệnh

Đánh giá, quan trắc cấp độ cây bị bệnh biểu hiện qua lá theo QCVN 01-166:2014 và QCVN 01-172:2014/BNNPTNT về phân cấp cây bị bệnh.

$$R (\%) = (F/B) \times 100$$

Trong đó: R: Tỷ lệ (%) số lá bị vàng; B: Tổng số lá trong khung điều tra; F: Tổng số lá bị vàng.

Cấp độ 0: Cây có lá xanh bình thường, không có lá biểu hiện bị vàng; Cấp độ 1: cây có lá vàng nhẹ, dưới 25% lá biểu hiện vàng; Cấp độ 2: Từ 25 - 50%; Cấp độ 3: Từ 50 - 75%; Cấp độ 4: Trên 75% lá biểu hiện vàng.

c) Phương pháp lọc tinh thu tuyến trùng

Thiết kế trên cơ sở phương pháp Berman.

d) Phương pháp đếm tuyến trùng

Theo Nguyễn Ngọc Châu (2003).

e) Phương pháp thu hoạch năng suất

Thời điểm thu hoạch tiêu vào cuối tháng 3 và đầu tháng 4 khi chùm tiêu có trên 5% quả chín và có

màu vàng hoặc đỏ. Thu hái xong đưa vào phơi ngay khoảng 1 - 2 nắng tránh bị mốc.

Năng suất hồ tiêu thu hoạch được tính bằng tấn/ha (khi tiêu đạt 12 - 13% độ ẩm).

2.2.3. Hiệu lực của các chế phẩm

Tính theo công thức Henderson - Tilton (1955).

2.2.4. Phương pháp xử lý số liệu

Số liệu thu thập được từ các thí nghiệm được chuyển đổi thành số liệu thống kê tương ứng sử dụng chương trình Excel và xử lý trắc nghiệm Duncan.

Số liệu % được chuyển đổi qua arcsin K. A. Gomez và A. A. Gomez (1986).

2.3. Thời gian và địa điểm nghiên cứu

Thời gian thử nghiệm trong nhà lưới: Từ tháng 3 đến tháng 10 năm 2017. Mỗi đợt thử nghiệm tiến hành 30 ngày.

Địa điểm thử nghiệm: Tại nhà lưới thuộc Xí nghiệp sản xuất phân bón - Công ty Cổ phần Nicotex, xã EaNuôi, huyện Buôn Đôn.

Quá trình thử nghiệm mô hình 3 ha: Tiến hành từ tháng 3 năm 2018 đến tháng 4 năm 2019 tại vườn trồng hồ tiêu nhà ông Nguyễn Văn Chương (có diện tích 2,2 ha) và nhà bà Đỗ Thị Lan (có diện tích 1,5 ha) thuộc thôn 8 xã Eabar huyện Buôn Đôn.

Năng suất trung bình toàn vườn nhà ông Chương là 2,578 tấn/ha (vụ 2017); Năng suất trung bình nhà bà Lan là 2,653 tấn/ha (vụ 2017).

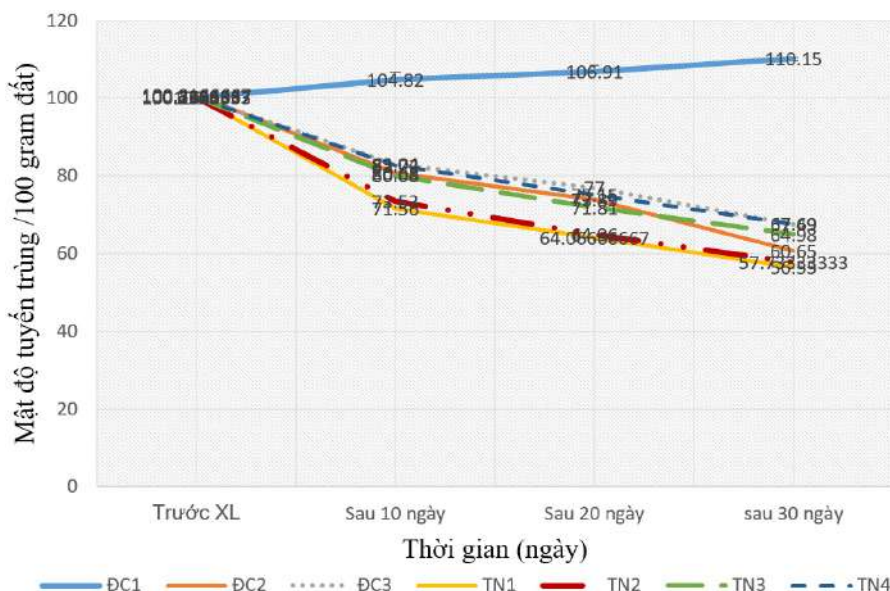
Điều kiện vườn tiêu nhà ông Chương trước khi xây dựng mô hình có 35% cây cấp độ bệnh 0; 30% cây cấp độ bệnh 1; 15% cây cấp độ bệnh 2; 15% cây cấp độ bệnh 3; khoảng 5% cây cấp độ bệnh 4.

Điều kiện vườn tiêu nhà bà Lan trước khi xây dựng mô hình có 35% cây cấp độ bệnh 0; 35% cây cấp độ bệnh 1; 20% cây cấp độ bệnh 2; 5% cây cấp độ bệnh 3; 5% cây cấp độ bệnh 4.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Nghiên cứu khả năng diệt tuyến trùng *Meloidogyne* sp. hại hồ tiêu trong điều kiện nhà lưới của chế phẩm sinh học P1

Chủng P1 được nuôi cấy tăng sinh khối, phối trộn với cám gạo và tinh bột hồ hóa tạo chế phẩm sinh học dạng dịch thể. Quá trình thử nghiệm diễn ra trong nhà lưới với nhiệt độ trung bình dao động từ 26 °C đến 29 °C. Kết quả xác định khả năng sống sót của tuyến trùng trong đất, trong rễ, hiệu lực của chế phẩm sinh học (H, %) tuyến trùng sau 10 ngày, 20 ngày, đến ngày thứ 30.



Hình 1. Diễn biến mật độ tuyến trùng trong thời gian 30 ngày (XL: xử lý)

Kết quả hình 1 cho thấy, tại các thời điểm kiểm tra sau xử lý, mật độ tuyến trùng trong các chậu đối chứng có tăng thêm từ 4,7% đến 9,9%, điều này được giải thích bởi trong đất một số trứng tuyến trùng gặp điều kiện thích hợp phát triển thành tuyến trùng. Trong các chậu thí nghiệm, mật độ tuyến trùng còn sống giảm xuống nhiều nhất là 56,5 (con/100 g đất) ở mẫu TN1. Mẫu TN2 mật độ tuyến trùng giảm xuống xấp xỉ mẫu TN1 57,3 (con/100 g đất). Mật độ tuyến trùng giảm ít nhất là 68 con/100 g đất (mẫu TN4).

3.2. Ảnh hưởng của chế phẩm sinh học đến hiệu lực diệt tuyến trùng trong điều kiện nhà lưới

Bảng 1. Hiệu lực diệt tuyến trùng của chế phẩm sinh học P1

| Công thức | Hiệu lực của chế phẩm sau khi xử lý (%) | | |
|-----------------------------------|---|--------------------|--------------------|
| | Sau 10 ngày | Sau 20 ngày | Sau 30 ngày |
| ĐC1 (không bổ sung tuyến trùng) | 0 ^c | 0 ^c | 0 ^c |
| ĐC2-(+1) (theo tập quán canh tác) | 23,11 ^a | 30,92 ^a | 44,9 ^a |
| ĐC3-(+2) (Nokaph 10GR) | 20,91 ^b | 27,6 ^b | 38,8 ^b |
| TN1 (CPSH pha 50x) | 33,27 ^a | 42,77 ^a | 53,57 ^a |
| TN2 (CPSH pha 100x) | 31,23 ^a | 41,84 ^a | 52,48 ^a |
| TN3 (CPSH pha 150x) | 24,8 ^b | 35,03 ^b | 45,51 ^b |
| TN4 (CPSH pha 200x) | 22,2 ^b | 31,81 ^b | 42,31 ^b |

Ghi chú: Các chữ cái không giống nhau theo hàng dọc thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa ở mức $\alpha = 0,05$.

Kết quả bảng 1 cho thấy, hiệu lực diệt tuyến trùng dao động trong khoảng 20 - 53%. ĐC 2 cho hiệu lực diệt cao hơn ĐC 3 bởi trong đó mẫu ĐC 2 được sử dụng theo tập quán canh tác của người trồng hồ tiêu và ĐC 3 chỉ sử dụng 1 loại chế phẩm bán sẵn trên thị trường (Nokaph).

Xét về hiệu lực diệt tuyến trùng ở các mức pha loãng 50 và 100 lần xấp xỉ nhau. Mẫu TN1 cho hiệu lực diệt là 53,57%, TN2 là 52,48%. Mẫu TN3 và TN4 hiệu lực diệt giảm hẳn. Nhằm tiết kiệm chi phí sản xuất, mô hình thử nghiệm 3 ha được áp dụng chế phẩm sinh học P1 pha loãng 100 lần, quá trình thử nghiệm được tiến hành tại vườn trồng hồ tiêu thuộc xã Eaba, huyện Buôn Đôn, tỉnh Đắk Lắk.

3.3. Đánh giá khả năng không phục hồi của cây hồ tiêu trên mô hình 3 ha

Sau thời gian sử dụng chế phẩm, các vườn hồ tiêu của mô hình thu hoạch trong khoảng cuối tháng 3 và 4, thời điểm thích hợp để đánh giá số lượng cây không có khả năng phục hồi về cấp bệnh thấp hơn (ví dụ trước thử nghiệm cây bị bệnh cấp độ 2, sau thử nghiệm cây vẫn cấp độ 2) tuy những cây đó vẫn cho thu hoạch nhưng năng suất thấp.

Kết quả nghiên cứu ở bảng 2 cho thấy ở cấp độ cây bị bệnh 1 tỷ lệ không phục hồi của cây là 20,6%, trong đó ở cấp độ cây bị bệnh 4 tỷ lệ không phục hồi lên tới 88,3%. Điều này được giải thích bởi chế phẩm sinh học có tác dụng ở giai đoạn cây chớm bị bệnh, còn khi cây đã ở cấp độ bệnh nặng, thường khó cứu chữa bởi ngoài tuyến trùng hại cây còn có nhiều vi sinh vật gây bệnh khác tấn công. Đối với mẫu đối chứng, tỷ lệ không phục hồi của tất cả các cấp cây bị bệnh là trên 95%.

Bảng 2. Tỷ lệ cây không phục hồi

| Cấp cây bị bệnh | Tỷ lệ cây không phục hồi (%) | |
|-----------------|------------------------------|-------------------|
| | ĐC | Mô hình |
| Cấp 0 | - | - |
| Cấp 1 | 96,1 ^a | 20,6 ^a |
| Cấp 2 | 96,1 ^a | 23,8 ^a |
| Cấp 3 | 98,3 ^b | 52,8 ^b |
| Cấp 4 | 99,7 ^b | 88,3 ^b |

Ghi chú: Các chữ cái không giống nhau theo hàng dọc thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa ở mức $\alpha = 0,05$.

3.4. Năng suất hồ tiêu của mô hình thử nghiệm 3 ha

Năng suất cây trồng được thể hiện qua các cây còn sống và cho thu hoạch quả. Số liệu bình quân trồng cây hồ tiêu 1800 trụ/1 ha. Ở mỗi khu vực, mỗi cấp bệnh, mô hình triển khai đánh giá năng suất trên 10 trụ hồ tiêu x 6 điểm thu hoạch bằng 60 trụ, từ đó tính bình quân cho một ha trồng thực tế để tính năng suất bình quân.

Bảng 3. Năng suất hồ tiêu ở các vườn mô hình (tấn /ha)

| Công thức | Vườn ông Chương | Vườn bà Lan | Trung bình | Tăng so với đối chứng (%) |
|---------------------|--------------------|--------------------|--------------------|---------------------------|
| Đối chứng | 2,578 ^a | 2,653 ^a | 2,616 ^a | - |
| Mô hình | 2,79 ^b | 2,831 ^b | 2,81 ^b | 7,42 |
| LSD _{0,05} | 0,622 | 0,651 | | |

Ghi chú: Các chữ cái không giống nhau theo hàng dọc thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa ở mức $\alpha = 0,05$.

Kết quả bảng 3 cho thấy, ở mô hình sử dụng chế phẩm cả vườn nhà ông Chương và vườn nhà bà Lan đều cho năng suất tăng cao hơn so với đối chứng. Cụ thể là năng suất trung bình tăng so với đối chứng là 7,42% trong thời gian 12 tháng khi sử dụng chế phẩm sinh học diệt tuyến trùng từ nấm sợi P1 đơn chủng dạng dịch thể để thử nghiệm.

Từ kết quả thử nghiệm trên, khuyến cáo sử dụng chế phẩm sinh học ngay từ khi trồng mới, kiến thiết vườn hồ tiêu và kiểm tra định kỳ khi có biểu hiện vàng lá phải sử dụng ngay các chế phẩm sinh học, vì tác dụng của chế phẩm sinh học là từ từ và cần có thời gian. Đồng thời các hộ trồng tiêu cũng nên kết hợp giữa chế phẩm sinh học diệt tuyến trùng với chế phẩm diệt vi sinh vật gây bệnh cây hồ tiêu nhằm tăng hiệu quả hơn.

IV. KẾT LUẬN

- Chế phẩm sinh học P1 dạng dịch thể ở độ pha loãng 100 lần cho hiệu lực diệt tuyến trùng lên tới 52,48% trong điều kiện nhà lưới với thời gian thử nghiệm 30 ngày.

- Đối với mô hình thử nghiệm 3 ha, năng suất tăng 7,42% so với đối chứng sau 12 tháng thử nghiệm.

LỜI CẢM ƠN

Nhóm tác giả trân trọng cảm ơn TS. Hồ Tuyên - Chủ nhiệm đề tài “Ứng dụng công nghệ nano sản xuất chế phẩm sinh học dạng dịch thể từ vi sinh vật và thảo mộc phòng trừ tuyến trùng và bệnh rễ cây hồ tiêu ở Tây Nguyên”, Mã số ĐTĐL.CN-07/16, Hợp đồng số 07/16-ĐTĐL.CN-CNN ngày 10/6/2016 giữa Bộ Khoa học và Công nghệ với Viện Công nghệ sinh học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Chu Thanh Bình, Nguyễn Phương Huệ, Hồ Tuyên, Bùi Thị Việt Hà, 2019. Tinh sạch và xác định hoạt tính chitinase từ nấm diệt tuyến trùng *Paecilomyces* sp. P1. *Tạp chí Khoa học Tự nhiên và Công nghệ*, Đại học Quốc gia Hà Nội, 35 (1): 90-96.

Bộ Nông nghiệp và PTNT, 2015. Quyết định số 730/QĐ-BNN-TT ngày 05/3/2015 về giải pháp phòng trừ dịch bệnh.

Nguyễn Ngọc Châu, 2003. *Tuyến trùng thực vật và cơ sở phòng trừ*. NXB Khoa học kỹ thuật Hà Nội, Hà Nội.

Lê Đức Khánh, Lê Quang Khải, Đào Thị Hằng, Phùng Sinh Hoạt, Trần Thị Thúy Hằng, Trần Thanh Toàn, Đặng Đình Thắng, Nguyễn Ngọc Châu, Trịnh Quang Pháp, Nguyễn Văn Vấn, Đào Thị Lan Hoa, Lương Đình Khoa, 2013. Thành phần tuyến trùng ký sinh thực vật trên cà phê, hồ tiêu ở một số vùng trồng tập trung tại Tây Nguyên. *Tạp chí Bảo vệ thực vật*, 6: 6-12.

QCVN 01-172:2014/BNNPTNT. Quy chuẩn Kỹ thuật Quốc gia về Phương pháp điều tra phát hiện sinh vật chính hại tiêu.

TCVN 10684-4:2018. Cây công nghiệp lâu năm. Phần 4: Hồ tiêu.

Djian-Caporalino, C., A. Fazari, M. Arguel, T. Vernie, C. VandeCastele, I. Faure, G. Brunoud, L. Pijarowski, A. Palloix, V. Lefebvre, 2007. Root-knot nematode (*Meloidogyne* sp.) Me resistance genes in pepper (*Capsicum annuum* L.) are clustered on the P9 chromosome. *Theoretical and Applied Genetics*, 114 (3): 473-486.

Henderson, C.F.E.W. Tilton, 1955. Tests with acaricides against the brown wheat mite. *Journal of Economic Entomology*, 48 (2): 157-161.

Thuy, T.T.T., 2010. *Incidence and effect of Meloidogyne incognita (Nematoda: Meloidogyninae) on black pepper plants in Vietnam*. Thesis, Katholieke Universiteit Leuven, België. Unpublish.

Trinh, P.Q., W.M. Wesemael, H.A. Tran, C.N. Nguyen, M. Moens, 2012. Resistance screening of Coffea spp. accessions for *Pratylenchus coffeae* and *Radopholus arabocoffeae* in Vietnam. *Euphytica*, 185 (2): 233-241.

Testing of bio-product P1 to control nematodes causing disease on black pepper in Dak Lak province

Chu Thanh Binh, Tran Van Tuan, Bui Thi Viet Ha

Abstract

Paecilomyces sp. P1 was isolated from pepper soil in Dak Lak province, which was a potential filamentous fungus for killing nematodes. Bio-product P1 was tested for the ability to kill nematodes at the nursery with the efficiency of 22.2% - 52.48% after 30 days. The black pepper at 5 -7 old age had the yield higher than that of the control by 7.42% when using bio-product P1 after 12 months on a 3 ha model.

Keywords: Black pepper, nematode, *Paecilomyces* sp., Bio-product P1

Ngày nhận bài: 17/4/2020

Ngày phản biện: 25/4/2020

Người phản biện: TS. Trương Hồng

Ngày duyệt đăng: 29/4/2020

NGHIÊN CỨU SỬ DỤNG GEN KHÁNG NOURSEOTHRICIN LÀM MARKER CHỌN LỌC DÙNG CHO CHUYỂN GEN VÀO NẤM ƯA NHIỆT *Myceliophthora thermophila* NHỜ VI KHUẨN *Agrobacterium tumefaciens*

Trần Văn Tuấn^{1,2}

TÓM TẮT

Myceliophthora thermophila là một loài nấm ưa nhiệt có khả năng sinh tổng hợp nhiều loại enzyme bền nhiệt. Một số enzyme do loài nấm này sinh ra như cellulase, xylanase và phytase có tiềm năng sử dụng để bổ sung vào thức ăn chăn nuôi. Phát triển công cụ phục vụ cải biến di truyền nhằm tăng khả năng sinh tổng hợp enzyme ở *M. thermophila* giữ một vai trò quan trọng. Trong nghiên cứu này, lần đầu tiên gen kháng nourseothricin được sử dụng thành công làm marker chọn lọc để chuyển gen vào chủng nấm *M. thermophila* DSM 1799 nhờ vi khuẩn *Agrobacterium tumefaciens*. Chủng *M. thermophila* DSM 1799 được đánh giá về mức độ mẫn cảm với kháng sinh nourseothricin. Kết quả cho thấy chủng nấm này bị ức chế hoàn toàn ở nồng độ nourseothricin khá thấp (50 µg/ml). Kết quả nghiên cứu cũng chứng minh gen huỳnh quang GFP được chuyển thành công vào hệ gen của chủng *M. thermophila* DSM 1799 khi sử dụng marker chọn lọc là gen kháng nourseothricin. Sử dụng PCR với cặp mồi đặc hiệu GFP-F/GFP-R đã xác nhận sự có mặt của gen GFP trong hệ gen của các thể chuyển gen thu được. Đặc biệt khi quan sát dưới kính hiển vi huỳnh quang, các thể chuyển gen đã có khả năng sinh tổng hợp protein GFP để phát màu huỳnh quang xanh trong hệ sợi và bào tử nấm.

Từ khóa: Chuyển gen thông qua *Agrobacterium tumefaciens*, *Myceliophthora thermophila*, marker chọn lọc kháng nourseothricin, vector nhệ thể

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Myceliophthora thermophila được coi như nhà máy tế bào tiềm năng cho sản xuất các loại enzyme bền nhiệt (Singh, 2016). Đặc điểm vượt trội của loài nấm này là có khả năng sinh tổng hợp một số enzyme có giá trị để bổ sung vào thức ăn chăn nuôi như cellulase, xylanase giúp chuyển hóa cellulose và xylan thành các phân tử đường đơn giản, hay

phytase phân giải phytate để giải phóng photpho vô cơ giúp vật nuôi dễ hấp thụ (Gomes *et al.*, 2019; Maheshwari *et al.*, 2000). Tuy nhiên, khả năng sinh tổng hợp các enzyme này của chủng nấm tự nhiên thường tương đối thấp. Để nâng cao năng lực cho các chủng tự nhiên, các kỹ thuật về cải biến chỉnh sửa hệ gen thường được áp dụng. Việc can thiệp vào hệ gen nấm có thể giúp tăng hiệu suất sinh tổng

¹ Khoa Sinh học, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội

² Phòng thí nghiệm Trọng điểm Công nghệ Enzym và Protein, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, ĐHQGHN