

# KHẢO SÁT KHẢ NĂNG TIẾT CELLULASE CỦA CÁC CHŨNG NẤM *TRICHODERMA* THU THẬP TẠI ĐỒNG BẰNG SÔNG CỬU LONG

Duong Minh<sup>1</sup>, Tô Huỳnh Như<sup>1</sup>, Trần Thị Cẩm Nhụy<sup>2</sup> và Nguyễn Hoàng Phúc<sup>2</sup>

## ABSTRACT

*The experiment was carried out to evaluate the production of endo- and exo-cellulase of Trichoderma fungi in laboratory condition. The results showed that the high active enzyme of endo-cellulase (at 7 days after inoculation) was T-LM7a, T-VTa3d, T-BM5c, T-TTAG3b and exo-cellulase (at 10 days after inoculation) was T-LM7a, T-LM7c, T-VTa3d, T-BM2a. Two strains T-LM7a and T-VTa3d produced high endo- and exo-cellulase, hence can be applied to decompose plant wastes.*

**Keywords:** cellulase, endo-cellulase, exo-cellulase, plant wastes, *Trichoderma*

**Title:** Evaluation of cellulase released by *Trichoderma* isolates collected in the Mekong Delta

## TÓM TẮT

*Thí nghiệm nhằm đánh giá khả năng tiết cellulase của các chủng nấm Trichoderma trong điều kiện phòng thí nghiệm. Kết quả cho thấy các chủng T-LM7a, T-VTa3d, T-BM5c và T-TTAG3b có hoạt tính enzym endo-cellulase cao ở 7 ngày sau khi nuôi cấy nấm Trichoderma và các chủng T-LM7a, T-LM7c, T-VTa3d và T-BM2a đạt hoạt tính exo-cellulase cao ở 10 ngày sau khi nuôi cấy. Hai chủng T-LM7a và T-VTa3d đều có hoạt tính endo- và exo-cellulase cao nên có thể được áp dụng để phân hủy các xác bã thực vật.*

**Từ khóa:** cellulase, endo-cellulase, exo-cellulase, *Trichoderma*, xác bã thực vật

## 1 ĐẶT VẤN ĐỀ

Việt Nam là nước nông nghiệp có sản lượng lúa đứng hàng thứ hai trên thế giới. Bên cạnh việc sản xuất lúa gạo, lượng rơm rạ còn lại sau thu hoạch cũng rất lớn. Rơm rạ chứa 35 - 36% cellulose nên rất khó phân hủy trong thời gian ngắn (Bùi Huy Đáp, 1980). Trong khi đó, việc sử dụng các loài vi sinh vật, trong đó có nấm *Trichoderma* để phân hủy xác bã hữu cơ thực vật hiện được ứng dụng rộng rãi trên thế giới. Quy trình ủ phân với *Trichoderma* giúp thúc đẩy nhanh tiến trình phân hủy, trả lại nguồn hữu cơ và dinh dưỡng cho đất, tăng năng suất cây trồng đồng thời hạn chế được ngộ độc hữu cơ cho cây lúa (Dost Regional Offices, 2006).

Trong xu hướng phát triển nông nghiệp theo hướng bền vững, việc ứng dụng các biện pháp sinh học vào sản xuất đã được áp dụng rộng rãi. Trong các loài vi sinh vật được sử dụng, nấm *Trichoderma* đã chứng tỏ khả năng cho hiệu quả cao trong quản lý dịch hại cây trồng nhờ đối kháng được với nhiều loại nấm bệnh bằng cách ký sinh, tiết các kháng sinh hay các enzyme thủy phân: glucanase, chitinase, cellulase... đồng thời cũng là loại nấm hoại sinh đóng vai trò quan trọng trong việc phân hủy hữu cơ trong đất (Alexander, 1961; Harman, 1996; Kredics *et al.*, 2003).

<sup>1</sup> Bộ môn Bảo vệ Thực vật, Khoa Nông Nghiệp & SHƯD, Trường Đại học Cần Thơ

<sup>2</sup> Sinh viên K32, khoa Nông Nghiệp & SHƯD, Trường Đại học Cần Thơ

Trên cơ sở đó đề tài được thực hiện nhằm chọn lọc các chủng nấm *Trichoderma* có khả năng tiết nhiều cellulase để làm nền tảng cho các nghiên cứu về phân hủy các dư thừa thực vật theo hướng sinh học. Kết quả đạt được sẽ góp phần chọn các chủng có khả năng phân hủy rơm rạ, góp phần vào việc sản xuất nông nghiệp ở đồng bằng sông Cửu Long.

## 2 PHƯƠNG TIỆN VÀ PHƯƠNG PHÁP

Nguồn nấm: Các chủng *Trichoderma* được phân lập từ đất vườn cây ăn trái và khóm tại các tỉnh Hậu Giang, Vĩnh Long và An Giang thuộc đồng bằng sông Cửu Long.

Nấm *Trichoderma* được nuôi trong môi trường TSM lỏng + 5% CMC (carboxymethyl cellulose) với mật số  $10^6$  bào tử/ml và lắc ở 140 vòng/phút ở nhiệt độ phòng (27 - 30°C) (âm độ tương đối không khí 69 - 85%). Thí nghiệm bố trí theo thể thức hoàn toàn ngẫu nhiên với 4 lần lặp lại. Sau 7 và 10 ngày, lượng endo- và exo-cellulase do nấm tiết ra trong môi trường nuôi cấy được xác định theo phương pháp Ghose (1987) bằng cách đo giá trị mật độ quang (OD = optical density) ở bước sóng  $\lambda = 540$  nm qua quang phổ kế (spectrophotometer).

## 3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

### 3.1 3.1 Độ hấp thu (OD) của endo-cellulase

**Bảng 1: Mật độ quang (OD) của endo-cellulase trong dịch trích các chủng *Trichoderma* sau 7 và 10 ngày nuôi cấy (Đại Học Cần Thơ, 2009 - 2010)**

TT	<i>Trichoderma</i> (T)	Mật độ quang (OD)		Khác biệt
		7 ngày	10 ngày	
1	Đối chứng (không nấm)	0,0010	0,0010	ns
2	T-LM1b	0,2633 e	0,1568 f	**
3	T-LM1f	0,2815 d	0,1568 f	**
4	T-LM1h	0,2495 fg	0,1508 gh	**
5	T-LM3a	0,2515 f	0,2265 b	**
6	T-LM3c	0,2348 ijk	0,1385 i	**
7	T-LM3d	0,2613 e	0,1305 lm	**
8	T-LM7a	0,3010 c	0,3048 a	ns
9	T-LM7c	0,2323 jk	0,1333 jkl	**
10	T-VTa3d	0,3515 a	0,1553 fg	**
11	T-VTa5a	0,2465 gh	0,1195 op	**
12	T-VTa14c	0,2638 e	0,1208 nop	**
13	T-BM2a	0,2305 k	0,1818 d	**
14	T-BM5c	0,3515 a	0,1748 e	**
15	T-TTAG3b	0,3293 b	0,2113 c	**
Trung bình		0,2691	0,1612	
CV (%)			1,5	

Ghi chú: Trong cùng một cột, các số liệu mang cùng mẫu tự theo sau thì không khác biệt nhau ở độ ý nghĩa 5% qua phép thử Duncan. (\*), (\*\*) và (ns) khác biệt ở độ ý nghĩa 5%, 1% và không khác biệt

Sau 7 ngày nuôi cấy, bốn chủng T-LM7a, T-VTa3d, T-BM5c và T-TTAG3b đã tiết nhiều endo-cellulase cao hơn các chủng còn lại với giá trị OD > 0,30. Ở 10 ngày

sau khi nuôi cấy, khả năng tiết enzym của các chủng nấm giảm dần, chỉ còn chủng T-LM7a là còn duy trì giá trị OD > 0,30. Điều này cho thấy thời gian nuôi cấy kéo dài, lượng dinh dưỡng trong môi trường giảm dần đã làm ảnh hưởng đến khả năng tiết endo-cellulase của các chủng *Trichoderma*. Khả năng tiết nhiều endo-cellulase sẽ giúp tăng tốc độ phân hủy cellulose của *Trichoderma*.

**3.2 Độ hấp thu (OD) của exo-cellulase**

**Bảng 2: Mật độ quang (OD) exo-cellulase trong dịch trích các chủng *Trichoderma* sau 7 và 10 ngày nuôi cấy (Đại Học Cần Thơ, 2009 - 2010)**

TT	<i>Trichoderma</i> (T)	Mật độ quang (OD)				Khác biệt
		7 ngày		10 ngày		
1	Đối chứng (không nấm)	0,0010	m	0,0010	k	ns
2	T-LM1b	0,1040	l	0,1455	f	**
3	T-LM1f	0,1278	ij	0,1320	g	ns
4	T-LM1h	0,1278	ij	0,1670	d	**
5	T-LM3a	0,1475	de	0,1250	hi	**
6	T-LM3c	0,1405	fg	0,1223	i	**
7	T-LM3d	0,1520	cd	0,1488	f	ns
8	T-LM7a	0,1348	gh	0,1800	c	**
9	T-LM7c	0,1325	hi	0,1923	b	**
10	T-VTa3d	0,1373	gh	0,2025	a	**
11	T-VTa5a	0,1835	b	0,1060	j	**
12	T-VTa14c	0,1165	k	0,1095	j	*
13	T-BM2a	0,1240	j	0,2060	a	**
14	T-BM5c	0,1353	gh	0,1335	g	ns
15	T-TTAG3b	0,2058	a	0,1578	e	**
Trung bình		0,1395		0,1533		
CV (%)				3,0		

Ghi chú: Trong cùng một cột, các số liệu mang cùng mẫu tự theo sau thì không khác biệt nhau ở độ ý nghĩa 5% qua phép thử Duncan. (\*), (\*\*) và (ns) khác biệt ở độ ý nghĩa 5%, 1% và không khác biệt

Ngược lại với endo-cellulase, ở 7 ngày sau khi nuôi cấy, khả năng tiết exo-cellulase của *Trichoderma* vẫn còn thấp, chỉ có 2 chủng T-VTa5a và T-TTAG3b tiết nhiều exo-cellulase với mật độ quang (OD) > 0,18.

Đến 10 ngày sau khi nuôi cấy, khả năng tiết exo-cellulase tăng dần, với 4 chủng có khả năng cho OD > 0,18 là T-LM7a, T-LM7c, T-VTa3d và T-BM2a.

Các chủng *Trichoderma* có triển vọng, tiết nhiều endo- và exo-cellulase cao (T-LM7a và T-VTa3d) sẽ được tiếp tục thí nghiệm trong điều kiện nhà lưới và ngoài đồng để đánh giá khả năng phân hủy cellulose, góp phần vào việc phân hủy chất hữu cơ thực vật, phục vụ cho việc sản xuất phân hữu cơ sinh học.

**4 KẾT LUẬN**

Hoạt tính endo-cellulase các chủng T-LM7a, T-VTa3d, T-BM5c và T-TTAG3b đạt giá trị cao ở 7 ngày sau khi nuôi cấy nấm *Trichoderma*. Trong khi đó, hoạt tính exo-cellulaz đạt cao ở 10 ngày sau khi nuôi cấy với các chủng T-LM7a, T-LM7c, T-VTa3d và T-BM2a.

Hai chủng T-LM7a và T-VTa3d đều có hoạt tính của endo- và exo-cellulase cao nên có tiềm năng phân hủy tốt các xác bã thực vật.

### TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Alexander, M., 1961. *Microbial Ecology*. Pages 207 - 223. John Wiley and sons. New York and London.
- Bùi Huy Đáp, 1980. Cây lúa Việt Nam. NXB Nông Nghiệp, trang 462 – 472.
- Dost Regional Offices, 2006. *Trichoderma* CFA Powder.  
[http://region4a.dost.gov.ph/index.php?option=com\\_content&task=view&id=71](http://region4a.dost.gov.ph/index.php?option=com_content&task=view&id=71)
- Ghose, T. K., 1987. Measurement of cellulase activities. Biochemical Engineering Research Centre, Indian Institute of Technology, New Delhi-110016, Indian. *Pure & Appl. Chem*, 59 (2): 257 – 268.
- Harman, G.E., 1996. *Trichoderma* for biocontrol of plant pathogens: from basic research to commercialized production. Departments of Horticultural Science and of Plant Pathology, Cornell University NYSASE. Cornell community conference on biological control.
- Kredics, L., Antal, Z., Manczinger, L., Szekres, A., Kevei, F., Nagy, E., 2003. Influence of environmental parameter on *Trichoderma* strains with biocontrol potential. *Food Technol. Biotechnol.* 41(1): 37 - 41.
- Nguyễn Đức Lượng, Nguyễn Hữu Phước, 1996. Công nghệ vi sinh vật tập II; Vi sinh vật học công nghiệp. Trường Đại học Bách Khoa Thành phố Hồ Chí Minh.
- Nguyễn Thế Quyết, Nguyễn Thị Thanh Nga, Nguyễn Thanh Hà, Lê Thị Ánh Hồng, 2003. Một số kết quả bước đầu trong việc phân lập nhận dạng và thử các hoạt tính sinh học của một số chủng *Trichoderma*. Hội nghị công nghệ sinh học toàn quốc. Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật Hà Nội, trang 364 – 368.