

ỨNG DỤNG CHẾ PHẨM SINH HỌC THU NHẬN TỪ VI KHUẨN *Bacillus subtilis* VÀ ENZYME CÔNG NGHIỆP ĐỂ PHÂN GIẢI NẤM MEN BIA

Hồ Tuấn Anh¹, Nguyễn Hoàng Anh²

TÓM TẮT

Nghiên cứu ảnh hưởng của các enzyme công nghiệp đến sự thủy phân tế bào nấm men bia thải đã xác định được tỷ lệ phù hợp chế phẩm enzyme SEBflo-TL bổ sung là 0,6%. Hàm lượng nitơ amin tự do (FAN) tăng 16%, nitơ tổng số hòa tan tăng 19%, hàm lượng chất khô hòa tan trong dịch chiết tăng 28%, lượng đường khử tăng 43%. Tỷ lệ enzyme Neutral PL xúc tác phân giải protein được lựa chọn là 1,2%; với tỷ lệ bổ sung này, hàm lượng FAN tăng 38% so với mẫu đối chứng, nitơ tổng số hòa tan tăng 24%, hàm lượng chất khô hòa tan trong dịch chiết tăng 17%, lượng đường khử tăng 23%. Tỷ lệ chế phẩm sinh học có chứa *Bacillus subtilis* phù hợp được xác định là 5%; tại đó FAN tăng 12%, nitơ tổng số tăng 10%, chất khô hòa tan tăng 12%, đường khử tăng 14%. Chế phẩm sinh học có khả năng ứng dụng để xử lý nấm men bia thải nhằm sản xuất thức ăn chăn nuôi.

Từ khóa: Nấm men bia, enzyme công nghiệp, chế phẩm *B. subtilis*, thủy phân

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Thành phần của thành tế bào nấm men bao gồm 35 - 45% glucan, 40 - 45% manan, 5 - 10% protein, 1 - 2% kitin, 3 - 8% lipid và 1 - 3% các thành phần vô cơ. Các glucan của tế bào là những cấu trúc cao phân tử, trong đó đơn phân là glucose liên kết với nhau bằng các cầu β -1,3 và β -1,6. Những glucan này tạo thành lớp bên trong của thành tế bào và liên kết với các phân tử protein (Попова, 1992).

Các phương pháp xử lý sinh khối nấm men bia đã công bố bao gồm tự phân, xử lý bằng enzyme, xử lý hóa học (Hồ Tuấn Anh và Nguyễn Thị Thanh Thủy, 2017; Kenji Satake, 2002; Chae *et al.*, 2001; Chung *et al.*, 1999; Иванова *et al.*, 1989).

Vi khuẩn *Bacillus subtilis* thuộc nhóm vi sinh vật bắt buộc của đường ruột, được phân bố hầu hết trong tự nhiên như cỏ khô, bụi, đất, nước... *Bacillus subtilis* sinh enzyme β -glucanase ngoại bào được đặc biệt quan tâm về khả năng dễ thu nhận hơn enzyme nội bào của nó. Enzyme này thủy phân liên kết β -1,6-glucoside của β -glucan tạo ra những chất có phân tử lượng thấp. Một số chủng *Bacillus subtilis* cũng được coi là vi khuẩn probiotic, tồn tại trong sinh phẩm ở trạng thái bào tử, nhờ vậy khi vào dạ dày nó không bị axit cũng như các men tiêu hóa ở dịch vị phá hủy. Ở ruột, bào tử nảy mầm và phát triển thành thể hoạt động. Giai đoạn này, *B. subtilis* tổng hợp nhiều chất có hoạt tính sinh học có lợi cho cơ thể như các enzym thủy phân, các vitamin, axit amin... Một số enzyme như protease, α -amylase, β -glucanase và một số enzyme khác hoạt động mạnh có lợi cho tiêu hóa ở ruột. β -D glucan là một polysaccharide được chú ý bởi những đặc tính sinh

học vượt trội như tăng cường miễn dịch, kháng khối u và là tác nhân bảo vệ phóng xạ, kích thích hệ thống miễn dịch (Bohn and Bemiller 1995).

Nghiên cứu ứng dụng vi sinh vật trong xử lý nấm thải nấm men để tiếp tục sử dụng làm thức ăn chăn nuôi là hướng đi có tính cấp thiết tại Việt Nam.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

- Nấm men bia thải thu từ Công ty TNHH Một thành viên Bia Rượu Eresson - Khu Công nghiệp Quang Minh - Mê Linh, Hà Nội. Nấm men thải được rửa và tách đẳng, sàng, vắt để thu được nấm men dạng đặc, màu kem đồng nhất (Hồ Tuấn Anh, 2016). Nấm men vắt có hàm lượng chất khô tuyệt đối 20,50%, hàm lượng protein và các thành phần chứa nitơ chiếm 54,72% so với chất khô tuyệt đối.

- Chế phẩm SEBflo-TL là enzyme endo-glucanase xúc tác cho quá trình thủy phân β -glucan và chế phẩm Neutral PL là endo-protease thủy phân protein có xuất xứ từ Mỹ.

- Chế phẩm sinh học từ chủng *B. subtilis* PX.07 phân lập từ dạ cỏ bò sinh enzyme β -glucanase ngoại bào (Nguyễn Hoàng Anh và *ctv.*, 2017).

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Điều kiện thủy phân sinh khối nấm men bia

Thủy phân sinh khối nấm men bia trong điều kiện tối ưu, gồm tỷ lệ sinh khối nấm men : nước là 1 : 3, tốc độ khuấy 30 vòng/phút, nhiệt độ tự phân 52°C, pH 5,8, thời gian tự phân 22 h (Nguyễn Thị Thanh Thủy và Hồ Tuấn Anh, 2017).

¹ Trường Đại học Kinh tế Kỹ thuật Công nghiệp

² Khoa Công nghệ thực phẩm, Học viện Nông nghiệp Việt Nam

2.2.2. Khảo sát khả năng phân giải của nấm men bia khi bổ sung chế phẩm enzyme SEBflo-TL

Khối lượng nấm men vât sử dụng là 100 gam trong các thí nghiệm, điều kiện thủy phân được thực hiện theo 2.2.1, nồng độ chế phẩm SEBflo-TL thực hiện ở các mức: 0% (đối chứng); 0,2%; 0,4%; 0,6%; 0,8% so với khối lượng men vât. Các chỉ tiêu theo dõi bao gồm hàm lượng đường khử, hàm lượng chất khô hòa tan, nitơ amin tự do (FAN), nitơ tổng số hòa tan trong dịch chiết nấm men.

2.2.3. Khảo sát khả năng phân giải của nấm men bia khi bổ sung chế phẩm Neutral PL

Khối lượng nấm men vât sử dụng là 100 gam trong các thí nghiệm, điều kiện thủy phân thực hiện theo 2.2.1, nồng độ chế phẩm enzyme Neutral PL thực hiện ở các mức: 0% (đối chứng); 0,4%; 0,8%; 1,2%; 1,6% so với khối lượng men vât. Các chỉ tiêu theo dõi giống như mô tả tại 2.2.2.

2.2.4. Khảo sát khả năng phân giải của nấm men bia khi bổ sung chế phẩm sinh học từ *B. subtilis* PX.07

Khối lượng nấm men vât sử dụng là 100 gam trong các thí nghiệm, điều kiện thủy phân thực hiện theo 2.2.1, nồng độ chế phẩm sinh học từ *B. subtilis* thực hiện ở các mức: 0% (đối chứng); 3%; 4%; 5%; 6% so với khối lượng men vât. Các chỉ tiêu theo dõi giống như mô tả tại 2.2.2.

2.3. Các phương pháp phân tích

Xác định hàm lượng FAN của dịch chiết nấm men theo phương pháp ninhydrin của Wylie và Johnson, đo màu quang phổ ở bước sóng 570 nm, mô tả trong mục 8.10 của EBC (EBC, 2005).

Xác định Nitơ tổng số hòa tan trong dịch chiết nấm men theo phương pháp 8.9.1 của EBC (EBC, 2005).

Xác định đường khử theo phương pháp acid dinitrosalicylic (DNS) (Miller, 1959).

Xác định hàm lượng chất khô bằng phương pháp sấy đến khối lượng không đổi.

2.4. Phương pháp xử lý số liệu

Thí nghiệm được lặp lại 03 lần. Số liệu sau khi thu thập được xử lý bằng phần mềm Excel và chương trình IRRISTAT 5.0.

2.5. Thời gian và địa điểm nghiên cứu

Nghiên cứu được thực hiện từ tháng 5 đến tháng 12 năm 2016 tại Khoa Công nghệ thực phẩm - Học viện Nông nghiệp Việt Nam.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Các nghiên cứu được thực hiện nhằm xác định ảnh hưởng của các enzyme thương mại có nguồn gốc từ sản xuất công nghiệp và chế phẩm sinh học thu được từ việc phát triển sinh khối *B. subtilis* PX.07 đã được tuyển chọn.

3.1. Khả năng phân giải của nấm men bia khi bổ sung enzyme SEBflo-TL

Kết quả xác định các chỉ tiêu theo dõi hàm lượng FAN, Nitơ tổng số hòa tan, chất khô hòa tan, đường khử được thể hiện trên bảng 1. Khi nồng độ enzyme SEBflo-TL tăng từ 0,2 đến 0,8%, lượng nitơ amin tự do trong dịch chiết nấm men tăng từ 1,927 g/l đến 2,087 g/l so với mức 1,784 g/l trong mẫu đối chứng. Hàm lượng nitơ tổng số hòa tan tăng từ 3,515 g/l đến 3,834 g/l so với mức 3,195 g/l trong mẫu không bổ sung enzyme. Chất khô hòa tan tăng từ 30,739 g/l đến 33,856 g/l so với mức 26,050 g/l trong mẫu không bổ sung enzyme. Lượng đường khử tăng từ 1,214 g/l đến 1,467 g/l so với mức 1,012 g/l trong mẫu đối chứng.

Kết quả chỉ ra rằng chế phẩm enzyme bổ sung đã hỗ trợ sự thủy phân thành tế bào nấm men, các phức chất giữa các chất hữu cơ cao phân tử trong cấu trúc thành tế bào được phân giải và tạo ra cơ chất cho sự thủy phân tiếp theo, theo đó các chỉ tiêu theo dõi đều tăng lên. So với mẫu đối chứng hàm lượng đường khử tăng cao nhất, đạt mức 45%, hàm lượng chất khô hòa tan trong dịch chiết tăng 30%.

Bảng 1. Thành phần của dịch chiết nấm men khi bổ sung SEBflo-TL

STT	Nồng độ SEBflo-TL, (%)	FAN (g/l)	Nitơ tổng số hòa tan (g/l)	Chất khô hòa tan, (g/l)	Đường khử (g/l)
1	0	1,784	3,195	26,050	1,012
2	0,2	1,927	3,515	30,739	1,214
3	0,4	2,034	3,674	32,562	1,336
4	0,6	2,069	3,802	33,344	1,447
5	0,8	2,087	3,834	33,865	1,467

Theo kết quả xử lý số liệu bằng phần mềm IRRISTAT 5.0 của các chỉ tiêu theo dõi thì có sự khác biệt giữa các tỷ lệ enzyme từ 0,2% đến 0,6%; tuy nhiên không có sự khác biệt giữa các tỷ lệ 0,6% và 0,8%. Để đạt được hiệu quả hỗ trợ phù hợp quá trình tự phân sinh khối nấm men, tỷ lệ enzyme SEBflo-TL được lựa chọn là 0,6%. Với tỷ lệ bổ sung này, khi so với mẫu đối chứng thì hàm lượng FAN tăng 16%, nitơ tổng số hòa tan tăng 19%, hàm lượng chất khô hòa tan trong dịch chiết tăng 28%, lượng đường khử tăng 43%.

3.2. Khả năng phân giải của nấm men bia khi bổ sung chế phẩm enzyme Neutral PL

Kết quả đạt được trên bảng 2 cho thấy chế phẩm Neutral PL là endo-protease đã hỗ trợ thủy phân protein tế bào nấm men và làm tăng lượng nitơ tổng số hòa tan trong dịch chiết lên mức 3,944 g/l, cao

hơn 25% so với mẫu không bổ sung Neutral PL, trong khi đó lượng FAN tăng lên đến 40%. Sự phân giải protein là nguyên nhân dẫn đến tăng các chỉ tiêu khác, như chất khô hòa tan tăng 18% và đường khử tăng 25%.

Kết quả cho thấy có sự khác biệt giữa các tỷ lệ enzyme từ 0,4 đến 1,2%, tuy nhiên không có sự khác biệt giữa các tỷ lệ 1,2 và 1,6%. Để đạt được hiệu quả hỗ trợ phù hợp cho quá trình tự phân sinh khối nấm men thì tỷ lệ enzyme Neutral PL được lựa chọn là 1,2%. Với tỷ lệ bổ sung này, hàm lượng FAN tăng 38%, nitơ tổng số hòa tan tăng 24%, hàm lượng chất khô hòa tan trong dịch chiết tăng 17%, lượng đường khử tăng 23% so với mẫu đối chứng. Kết quả của nghiên cứu này tương đồng với các công bố trước đây (Chae *et al.*, 2001; Chung *et al.*, 1999; Иванова *et al.*, 1989).

Bảng 2. Thành phần của dịch chiết nấm men khi bổ sung SEBflo-TL

STT	Nồng độ Neutral PL (%)	FAN (g/l)	Nitơ tổng số hòa tan (g/l)	Chất khô hòa tan (g/l)	Đường khử (g/l)
1	0	1,784	3,195	26,050	1,012
2	0,4	2,141	3,674	28,395	1,113
3	0,8	2,373	3,866	29,679	1,194
4	1,2	2,462	3,962	30,479	1,245
5	1,6	2,498	3,944	30,793	1,265

3.3. Khả năng phân giải của nấm men bia khi bổ sung chế phẩm sinh học từ *B. subtilis*

Kết quả xác định các chỉ tiêu theo dõi hàm lượng FAN, nitơ tổng số hòa tan, chất khô hòa tan, đường khử trong dịch chiết xuất nấm men được thể hiện trên bảng 3. Chế phẩm sinh học chứa sinh khối

B. subtilis PX.07 đã hỗ trợ quá trình thủy phân tế bào nấm men. Các chỉ tiêu theo dõi đều tăng, FAN đạt 2,005 g/l tăng 12,4% so với mẫu đối chứng không bổ sung chế phẩm sinh học; nitơ tổng số hòa tan đạt 3,530 g/l, tăng 10,5%; chất khô hòa tan đạt 29,254 g/l, tăng 12,3%; đường khử đạt 1,157 g/l, tăng 14,3%.

Bảng 3. Thành phần của dịch chiết khi bổ sung chế phẩm sinh học từ *B. subtilis* PX.07

STT	Nồng độ chế phẩm chứa <i>B. subtilis</i> (%)	FAN (g/l)	Nitơ tổng số hòa tan (g/l)	Chất khô hòa tan (g/l)	Đường khử (g/l)
1	0	1,784	3,195	26,050	1,012
2	3	1,891	3,355	27,352	1,093
3	4	1,962	3,351	28,395	1,133
4	5	1,998	3,515	29,176	1,154
5	6	2,005	3,530	29,254	1,157

Theo số liệu tại bảng 3, kết quả cho thấy có sự khác biệt giữa các tỷ lệ chế phẩm sinh học từ 3 đến 5%, tuy nhiên không có sự khác biệt giữa các tỷ lệ 5 và 6%. Tỷ lệ bổ sung chế phẩm sinh học được lựa chọn là 5%, tại đó FAN tăng 12%, nitơ tổng số tăng 10%, chất khô hòa tan tăng 12%, đường khử tăng 14%.

Khi so sánh các kết quả đạt được với các thí nghiệm ứng dụng enzyme công nghiệp SEBflo-TL

và Neutral PL thì hoạt lực của các enzyme trong chế phẩm sinh học có hoạt lực thấp hơn. Xử lý sinh khối nấm men bia bằng enzyme công nghiệp không có tính ưu việt về mặt kinh tế do các chế phẩm SEBflo-TL và Neutral PL đắt tiền và chỉ có tác dụng hỗ trợ thủy phân tế bào. Trong khi đó chế phẩm sinh học chứa *B. subtilis* có giá thành thấp, có khả năng hỗ trợ khác cho vật nuôi khi nghiên cứu ứng dụng chiết xuất nấm men bia thải làm thức ăn chăn nuôi.

IV. KẾT LUẬN

Nghiên cứu ảnh hưởng các chế phẩm enzyme công nghiệp và chế phẩm sinh học chứa *B. subtilis* đến quá trình thủy phân sinh khối nấm men bia thải đã xác định được nồng độ enzyme SEBflo-TL phù hợp là 0,6% so với khối lượng nấm men vât, tỷ lệ enzyme Neutral PL là 1,2%, tỷ lệ bổ sung chế phẩm sinh học từ *B. subtilis* là 5%. Các enzyme công nghiệp có khả năng xúc tác sự thủy phân tế bào nấm men cao hơn so với chế phẩm sinh học.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được Sở Khoa học và Công nghệ Hà Nội cấp kinh phí trong khuôn khổ đề tài “Nghiên cứu ứng dụng công nghệ sinh học trong tái chế men bia thải làm thức ăn chăn nuôi cho địa bàn Hà Nội”.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Nguyễn Hoàng Anh, Nguyễn Thị Thanh Thủy, Nguyễn Vĩnh Hoàng, 2017. Phân lập tuyển chọn vi khuẩn *Bacillus spp.* từ dạ cỏ bò có khả năng sinh enzyme β -glucanase và bước đầu xác định đặc tính của enzyme. *Tạp chí Khoa học nông nghiệp Việt Nam*, tập 15, số 1: 85-91.

Hồ Tuấn Anh, 2016. Nghiên cứu phương pháp tiền xử lý nấm men bia thải. Hội thảo khoa học toàn quốc 2016. “Tiến bộ kỹ thuật thực phẩm và kỹ thuật sinh học: Từ nghiên cứu đến sản xuất”, 10 - 11/10/2016, Trường Đại học Bách khoa Hà Nội. Nhà xuất bản Bách khoa Hà Nội, 253-261.

Nguyễn Thị Thanh Thủy, Hồ Tuấn Anh, 2017. Tối ưu hóa điều kiện tự phân nấm men bia thải. *Tạp chí Khoa học Công nghệ Nông nghiệp Việt Nam*, số 7(80): 73-79.

Bohn J. A., Bemiller J. N., 1995, (1-3) - Beta-D-glucan as biological response modifiers: a review of structure-functional activity relationship. *Carbohydr Polym* 28:3-14.

Chae, H. J., Joo, H., In, M. J., 2001. Utilization of brewer yeast cells for the production of food grade extract. Part 1: effect of different enzymatic treatments on solid and protein recovery and flavor characteristic. *Bioresource Tech.*, 76: 253-258.

Chung, Y., Chae, H. J., Kim, D. C., Oh, N. S., Park, M. J., Lee, Y. S., In, M. J., 1999. Selection of commercial proteolytic enzymes for the production of brewer yeast extract. *Food Eng. progr.*, 3:159-163.

EBC (European Brewery Convention), 2005. *Analitica - EBC*. Copyright Fachverlag Hans Carl, Nurnberg. Printed in Germany by Fahner Druck GmbH, Lauf a.d. Pegnitz. ISBN 3-418-00759-7.

Kenji Satake, 2002. Tận dụng men thừa trong các nhà máy bia, Hội thảo: Công nghệ xử lý chất thải và tận dụng nấm men trong ngành sản xuất bia. 13/3/2002, TP. Hồ Chí Minh. Viện Nghiên cứu Rượu, Bia, Nước giải khát (RIB), 11-16.

Miller G. L., 1959, Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Anal. Chem.* 31 (3), 426-428. DOI: 10.1021/ac60147a030.

Попова, Ж., 1992. Микробиология на пивото и безалкохолните напитки, ВИХВП - Пловдив.

Application of bio-product from *Bacillus subtilis* and industrial enzymes for hydrolyzing beer yeast

Ho Tuan Anh, Nguyen Hoang Anh

Abstract

Research on the effect of industrial enzymes on hydrolysis of waste beer yeast cells showed that the suitable concentration of supplemented SEBflo-TL was 0.6% . Free amin nitrogen (FAN) content increased by 16%, total dissolved nitrogen increased by 19%, content of soluble dry matter in extract increased by 28%, reducing sugar content increased by 43%. The ratio of proteolytic enzymes Neutral PL for protein degradation was 1.2%. The FAN content increased by 38%, total dissolved nitrogen, by 24%, dry matter by 17%, and reducing sugar by 23% when adding 1.2% of proteolytic enzymes Neutral PL. The ratio of bioproduct containing *B. subtilis* was 5% and at this ratio of bioproduct FAN, total nitrogen, dry mater, reducing sugar increased by 12%, 10%, 12%, and 14%, respectively. The bioproduct can be used for treatment of waste beer yeast to produce animal feed.

Key words: Beer yeast, industrial enzyme, *B. subtilis* bio-product, hydrolysis

Ngày nhận bài: 11/8/2017
Ngày phản biện: 15/8/2017

Người phản biện: TS. Trần Danh Sửu
Ngày duyệt đăng: 10/9/2017

HIỆU QUẢ CỦA CÂY DÃ QUỲ (*Tithonia diversifolia*) CHO PHÒNG TRỪ TUYẾN TRÙNG VÀ NẤM BỆNH GÂY HẠI CÂY CÀ PHÊ

Nguyễn Xuân Hòa¹, Trần Ngô Tuyết Vân¹, Nguyễn Hồng Phong¹

TÓM TẮT

Bệnh vàng lá, thối rễ gây hại nghiêm trọng trên cây cà phê do tuyến trùng và nấm gây ra. Nhiều nghiên cứu trên thế giới đã cho thấy tiềm năng của cây dã quỳ cho phòng trừ nấm và tuyến trùng, nhưng chưa được quan tâm nghiên cứu ở Việt Nam. Kết quả đánh giá đã thấy rõ hiệu quả của xử lý bột cây dã quỳ cho phòng trừ tuyến trùng, nấm bệnh và sinh trưởng của cây cà phê trong điều kiện nhà lưới. Công thức xử lý bột dã quỳ 20 g trong 1 kg đất, có hiệu lực rất cao phòng trừ tuyến trùng (91,75%) và nấm *Rhizoctonia* spp. (100%) gây hại rễ cây cà phê con, giữ tỷ lệ u sưng và thối rễ thấp (14,33%), và kích thích sinh trưởng và phát triển của cây cà phê tốt hơn một cách có ý nghĩa so với đối chứng sau 3 tháng trồng. Từ đó mở ra triển vọng có thể sử dụng bột cây dã quỳ (20 g/kg đất) để kiểm soát tuyến trùng và nấm bệnh cho sản xuất cây cà phê giống sạch bệnh.

Từ khóa: Cây dã quỳ, tuyến trùng, nấm bệnh, cà phê

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Tái canh cây cà phê hiện nay đang gặp trở ngại lớn do điều kiện đất trồng thay đổi sau một chu kỳ độc canh cà phê dài, thâm canh cao làm thay đổi tính chất vật lý và hoá học của đất, xuất hiện nhiều tuyến trùng và nấm gây hại rễ cà phê với mật độ cao.

Bột cây dã quỳ khô với liều lượng 8 g/ kg đất làm giảm khả năng sinh sản của tuyến trùng *Meloidogyne incognita*, hạn chế việc hình thành u sưng rễ, làm giảm mật độ ấu trùng cũng như kích thích sinh trưởng cây trồng (Nchore *et al.*, 2012). Bổ sung lá dã quỳ tươi 20 g lá tươi/ 1 kg đất đã làm giảm rõ rệt mật số tuyến trùng. Sử dụng cây dã quỳ làm phân xanh cũng làm giảm mật số tuyến trùng *Pratylenchus brachyurus* trong đất (Lawal *et al.*, 2013). Loài cây này đã làm giảm mật số tuyến trùng *Meloidogyne incognita* và *P. brachyurus* trong mẫu rễ của cà chua tương ứng 86 % và 87% so với đối chứng khi trồng xen cây dã quỳ và cà chua ngoài đồng ruộng (Osei *et al.*, 2011). Chiết xuất lá dã quỳ có khả năng kháng ba loại nấm gây bệnh đốm lá gồm: *Cochliobolus lunatus*, *Fusarium lateritium* và *Fusarium solani* (Ilondu *et al.*, 2014).

Như vậy, các nghiên cứu trên thế giới đã cho thấy tiềm năng của cây dã quỳ như một loại thuốc sinh học thảo mộc cho phòng trừ nấm và tuyến trùng. Do đó, đánh giá hiệu quả sử dụng bột cây dã quỳ để phòng trừ tuyến trùng và nấm bệnh gây hại rễ cây cà phê trong điều kiện nhà lưới là cần thiết phục vụ tái canh và cà phê bền vững.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

- Bột dã quỳ: Cây dã quỳ *Tithonia diversifolia*

(Hemsl.) A. Gray được thu thập tại thành phố Buôn Ma Thuột vào tháng 10/2015. Phần thân, cành và lá cây dã quỳ được rửa sạch bằng nước giếng, cắt nhỏ độ dài từ 3 - 5 cm, phơi khô dưới ánh nắng mặt trời, và dùng cối xay nhỏ thành bột.

- Cây cà phê: Cây cà phê con giống TRS1 của Viện Khoa học Kỹ thuật Nông Lâm nghiệp Tây Nguyên.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

- Bố trí thí nghiệm: Thí nghiệm được thực hiện gồm 4 công thức, 4 lần lặp lại, 12 cây/ô cơ sở và được bố trí theo kiểu khối đầy đủ ngẫu nhiên: Công thức 1: Đối chứng (không xử lý); Công thức 2: Xử lý bột dã quỳ (10 g/kg đất); Công thức 3: Xử lý bột dã quỳ (15 g/kg đất); Công thức 4: Xử lý bột dã quỳ (20 g/kg đất).

- Chuẩn bị đất nhiễm bệnh và xử lý bột dã quỳ: Đất chuẩn bị cho vào bầu (kích thước 13 × 23 cm) được lấy từ vùng trồng cà phê bị nhiễm bệnh vàng lá (lấy đất ở độ sâu 0 - 30 cm) có mật số tuyến trùng (112 con/100 g đất bao gồm có 48 con *Pratylenchus coffeae* và 64 con *Meloidogyne incognita*) và mật số nấm bệnh (*Fusarium* spp.: $5,4 \times 10^3$ cfu/g đất và *Rhizoctonia* spp.: 450 cfu/g đất) được sử dụng để đóng bầu và trồng cây cà phê. Đất được trộn đều và chia làm 4 phần xấp xỉ như nhau cho 4 công thức thí nghiệm.

Trộn bột cây dã quỳ vào đất theo các công thức nêu trên. Sau đó đóng bầu, để 1 tuần trước khi trồng cây cà phê con giống TRS1 ươm trên nền đất hấp khử trùng (điều kiện 121°C, 1 atm, 30 phút) đã được 1 cặp lá thật vào bầu.

- Các chỉ tiêu theo dõi: Theo dõi sau khi trồng cây cà phê con vào bầu 1, 2 và 3 tháng cho các chỉ tiêu theo dõi sau (mỗi lần theo dõi 3 cây /ô cơ sở):

¹ Viện Khoa học Kỹ thuật Nông Lâm nghiệp Tây Nguyên