

KHẢO SÁT HOẠT TÍNH CÁC HỆ ENZYM THỦY PHÂN CHIẾT TÁCH TỪ MÔI TRƯỜNG NUÔI CẤY *TRICHODERMA* VÀ THỬ ỨNG DỤNG CHẾ BIẾN PHÂN HỮU CƠ VI SINH

Hà Vân Linh⁽¹⁾, Đinh Minh Hiệp⁽²⁾, Phạm Thị Ánh Hồng⁽¹⁾

⁽¹⁾ Khoa Sinh học, Trường Đại học Khoa học Tự Nhiên – ĐHQG-HCM

⁽²⁾ Sở Khoa học Công nghệ Môi trường Tp. Hồ Chí Minh

(Bài nhận ngày 18 tháng 10 năm 2002, hoàn chỉnh sửa chữa ngày 22 tháng 11 năm 2002)

TÓM TẮT: Tiến hành khảo sát định tính và định lượng sơ bộ 8 hệ enzym phân giải của 10 chủng *Trichoderma*. Các chủng *Trichoderma* đều có khả năng sinh tổng hợp các hệ enzym phân giải các hợp chất biopolymer trên các môi trường cảm ứng.

Các hệ enzym thủy phân cellulase, xylanase, chitinase của 2 chủng *T. aureoviride* và *T. harzianum* (VN) có nhiệt độ tối ưu dao động trong khoảng 35 – 40 °C, pH tối ưu 4,0 – 5,0; lõi bắp là cơ chất tự nhiên thích hợp cho quá trình thủy phân bởi hệ enzym cellulase, cơ chất tự nhiên thích hợp cảm ứng hệ enzym chitinase là rơm sau trồng nấm.

Thử nghiệm sử dụng 2 chủng *Trichoderma* xử lý phế liệu với 3 nghiệm thức: D₁ (môi trường mật cưa sau trồng nấm), D₂ (môi trường rơm sau trồng nấm), D₃ (môi trường lá mía, bã mía). Nghiệm thức D₃ thích hợp nhất cho quá trình nhân sinh khối và tạo bào tử *Trichoderma*. Do đó, có thể dùng phế liệu trong công nghiệp mía đường (lá mía, bã mía) làm nguyên liệu cho quá trình sản xuất phân hữu cơ vi sinh với đối tượng xử lý là vi nấm *Trichoderma*.

I. MỞ ĐẦU

Từ năm 1960, ở các nước Mỹ, Nhật, Tây Âu và Liên Xô (cũ), việc tuyển chọn các chủng vi sinh vật có lợi cho đất, cho cây trồng được đẩy mạnh nhằm tăng cường cải tạo và bảo vệ môi trường đất, bảo vệ cây trồng và phân giải các xác bã hữu cơ, tạo môi trường dinh dưỡng tốt giúp cây trồng tăng năng suất... Trong số các nghiên cứu theo hướng này, các nghiên cứu về hoạt động của vi nấm mà cụ thể là *Trichoderma spp.* đã được các nhà khoa học sử dụng tạo ra các chế phẩm sinh học, các dạng phân bón hữu cơ vi sinh thế hệ mới, dùng như một tác nhân đấu tranh sinh học phòng trừ nấm bệnh hại cây trồng, đồng thời có khả năng phân hủy mạnh các hợp chất hữu cơ trong đất, tổng hợp các hoạt chất sinh học giúp cây trồng sinh trưởng và phát triển tốt hơn...

Trong nước, cũng đã có nhiều công trình nghiên cứu sử dụng các chủng *Trichoderma* để xử lý đất trước khi gieo trồng bắp hay trộn nấm mốc với phân chuồng hoại mục trước khi bón ruộng 5-10 ngày, rồi rải trên ruộng trước khi gieo hạt có tác dụng hạn chế bệnh khô vằn hại. Một vài công trình nghiên cứu khác còn sử dụng *Trichoderma* để xử lý các nguồn phế liệu nông nghiệp, làm giảm đáng kể sự ô nhiễm môi trường do nguồn rác thải này gây ra...

Trong bài báo khoa học này, chúng tôi không chỉ tập trung vào vấn đề xử lý các phế liệu nông nghiệp, chế biến thành phân bón hữu cơ vi sinh mà còn tận dụng thành phần vách tế bào của các loài nấm lớn (còn tồn tại trong rơm sau trồng nấm và mật cưa sau trồng nấm), để cảm ứng sinh tổng hợp hệ enzym chitinase, dùng như một tác nhân đối kháng giúp cây trồng sinh trưởng và phát triển tốt.

Để tiến hành mục tiêu trên, chúng tôi tiến hành nghiên cứu các vấn đề sau:

1. Chọn chủng *Trichoderma spp.* có hoạt tính các hệ enzym phân giải cao
2. Khảo sát hoạt tính các hệ enzym phân giải cao chiết tách từ môi trường nuôi cấy *Trichoderma*.
3. Thử nghiệm sử dụng *Trichoderma* chế biến phân hữu cơ vi sinh từ một số phế phụ liệu nông nghiệp.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1. Vật liệu

– 10 chủng *Trichoderma* gồm: *T.harzianum* (HL), *T.harzianum* (VN), *T.aureoviride* (1), *T.aureoviride* (2), *T.aureoviride* (4), *T.pseudokoningii* (1), *T.pseudokoningii* (2), *T.viride*, *T.hamatum*, *T.longibrachiatum*.

– Các phế liệu nông nghiệp dùng làm phân hữu cơ vi sinh: bã mía, lá mía, lõi bắp, rơm sau trồng nấm, mặt cưa sau trồng nấm.

2.2. Phương pháp

- Phương pháp phân lập và giữ giống nấm mốc *Trichoderma*. [5,4,6]
- Phương pháp làm tiêu bản nhuộm nấm mốc *Trichoderma*. [9]
- Phương pháp định tính và sơ bộ định lượng hoạt độ các hệ enzym bằng cách đo đường kính vòng phân giải.
- Phương pháp nuôi cấy *Trichoderma* và tách chiết các hệ enzym từ môi trường nuôi cấy.[7]
- Phương pháp xác định hàm lượng glucose (Schinner và Von Mersi). [10]
- Phương pháp xác định hàm lượng glucosamin (Elson – Morgan). [2,3]
- Phương pháp xác định hoạt tính các hệ enzym cellulase, xylanase, chitinase. [10]
- Phương pháp khảo sát động học quá trình sinh tổng hợp các hệ enzym thủy phân chủ yếu của *Trichoderma*.
- Phương pháp khảo sát đặc tính của các hệ enzym.
- Phương pháp định lượng cellulose. [1]
- Phương pháp định lượng lignin. [11]
- Phương pháp số lượng bào tử *Trichoderma*. [8]

III. MỤC TIÊU

3.1. Khảo sát hoạt tính các hệ enzym thủy phân chiết tách từ môi trường nuôi cấy *Trichoderma*

a. Định tính và định lượng sơ bộ hoạt tính của 8 hệ enzym trên 10 chủng *Trichoderma* nhằm:

- Sơ bộ chọn 2 chủng *Trichoderma* có hoạt tính các hệ enzym thủy phân tốt.
- Chọn 1 số hệ enzym thủy phân có hoạt tính cao tạo cơ sở cho các nghiên cứu tiếp theo.

b. Khảo sát động học các hệ enzym thủy phân có hoạt tính cao.

c. Khảo sát 1 số yếu tố ảnh hưởng đến hoạt tính các hệ enzym thủy phân có hoạt tính cao

- Nhiệt độ.
- pH.
- Cơ chất (dùng làm chất nền phân bón hữu cơ vi sinh).

3.2. Thử nghiệm sử dụng *Trichoderma* chế biến phân hữu cơ vi sinh từ các phế liệu nông nghiệp.

a. Khảo sát tỉ lệ phối trộn các thành phần phế liệu nông nghiệp dùng làm chất nền phân hữu cơ vi sinh

– Tỉ lệ phối trộn tùy thuộc vào chủng *Trichoderma* được tuyển chọn và hoạt tính các hệ enzym thủy phân đã khảo sát ở mục III.3.1.

– Số lượng nghiệm thức: 3 nghiệm thức.

– Thời gian bố trí thí nghiệm: 20 ngày.

– Đánh giá kết quả thông qua:

• Khảo sát hoạt tính các hệ enzym thủy phân có hoạt tính cao theo thời gian nuôi cấy bằng việc định lượng glucose và glucosamin.

• Khảo sát số lượng bào tử *Trichoderma* theo thời gian nuôi cấy.

b. Khảo sát sự biến đổi các thành phần chất nền ban đầu dưới sự tác động của các hệ enzym thủy phân

Tiến hành định lượng 1 số thành phần chất nền trước và sau khi nuôi cấy *Trichoderma*: cellulose, protein, lignin.

IV. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

4.1 Khảo sát hoạt tính các hệ enzym thủy phân chiết tách từ môi trường nuôi cấy *Trichoderma*

a. Định tính và định lượng sơ bộ hoạt tính của 8 hệ enzym trên 10 chủng *Trichoderma*

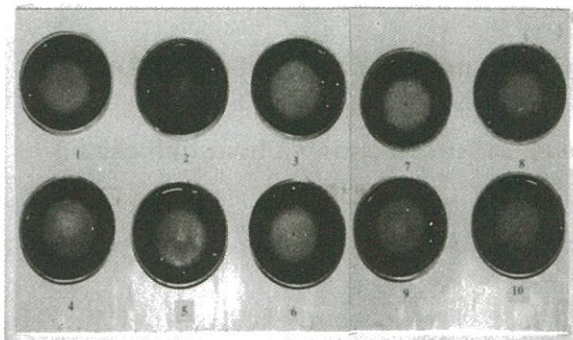
Kết quả khảo sát được trình bày ở bảng 1 và hình 1-8

Chủng vi nấm	Enzym Cellulase	Xylanase	Chitinase	Amylase	Pectinase	Lipase	Protease	Enzym phân giải lignin
Tri.1	43,00	54,16	42,00	83,00	62,33	57,00	51,00	37,33
Tri.2	33,16	9,00	34,00	78,60	63,00	53,33	55,30	26,00
Tri.3	44,30	52,67	44,33	75,67	68,30	54,00	48,30	31,70
Tri.4	47,50	48,16	44,66	73,33	54,17	42,67	46,00	32,70
Tri.5	37,50	43,80	43,33	70,00	36,30	48,80	52,70	35,70
Tri.6	39,30	33,30	36,00	66,88	54,30	46,67	46,70	34,00
Tri.7	41,00	39,16	32,00	59,00	62,33	49,00	52,30	42,00
Tri.8	33,66	26,00	19,33	45,30	24,83	31,67	5,00	31,00
Tri.9	10,16	45,33	26,33	34,00	58,30	53,00	56,70	40,00
Tri.10	35,00	33,30	29,66	27,00	33,33	50,00	50,00	32,70

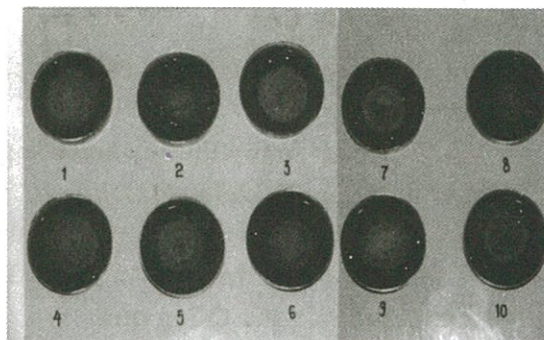
Bảng 1: Bảng thống kê đường kính vòng phân giải hay đường kính khuẩn lạc (mm) của các chủng *Trichoderma* trên các môi trường cảm ứng tổng hợp các enzym.

Trong đó:

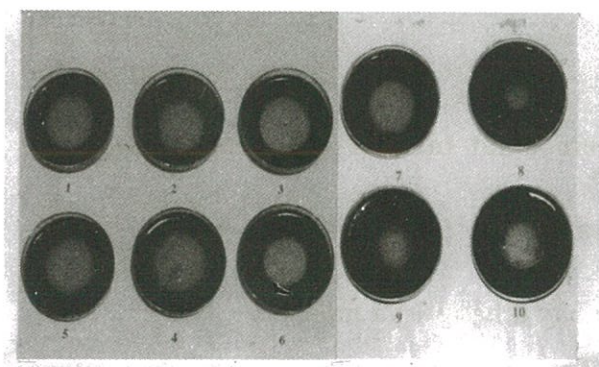
1. *T. harzianum* (VN)
2. *T. pseudokoningii* (2)
3. *T. aureoviride* (4)
4. *T. harzianum* (HL)
5. *T. aureoviride* (1)
6. *T. aureoviride* (2)
7. *T. longibrachiatum*
8. *T. pseudokoningii* (1)
9. *T. viride*
10. *T. hamatum*



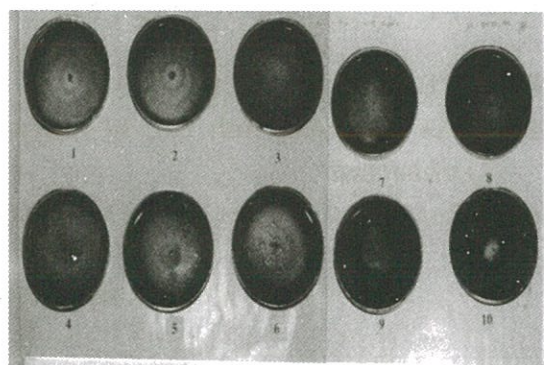
Hình 1 : Khả năng phân giải CMC của các chủng *Trichoderma* sau 2 ngày trên môi trường cảm ứng tổng hợp cellulase



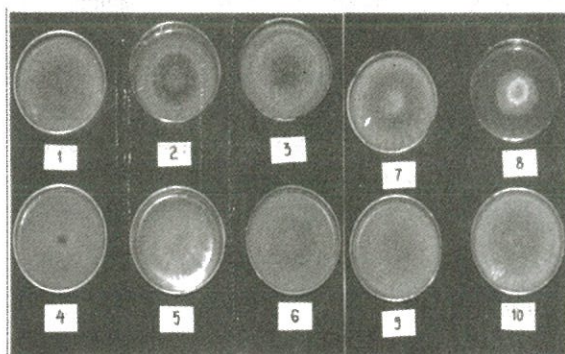
Hình 2 : Khả năng phân giải xylan của các chủng *Trichoderma* sau 2 ngày trên môi trường cảm ứng tổng hợp xylanase



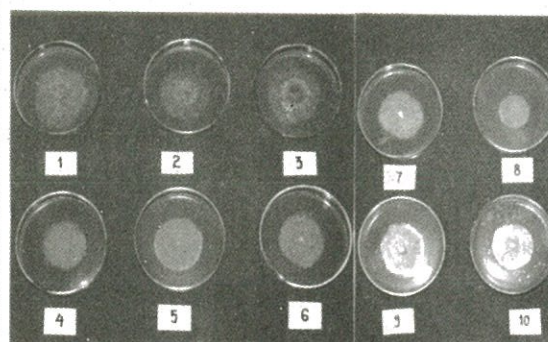
Hình 3 : Khả năng phân giải chitin của các chủng *Trichoderma* sau 2 ngày trên môi trường cảm ứng tổng hợp chitinase



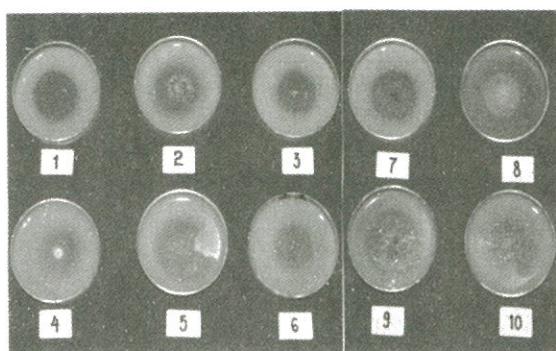
Hình 4 : Khả năng phân giải tinh bột của các chủng *Trichoderma* sau 3 ngày trên môi trường cảm ứng tổng hợp amylase



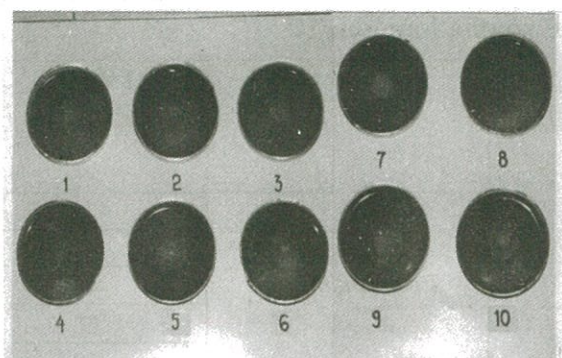
Hình 5 : Đường kính khuẩn lạc của các chủng *Trichoderma* sau 3 ngày trên môi trường cảm ứng tổng hợp peptinase



Hình 6 : Đường kính khuẩn lạc của các chủng *Trichoderma* sau 3 ngày trên môi trường cảm ứng tổng hợp lipase



Hình 7 : Đường kính vòng phân giải protein của các chủng *Trichoderma* sau 3 ngày trên môi trường cảm ứng tổng hợp protease



Hình 8 : Đường kính vòng phân giải protein của các chủng *Trichoderma* sau 4 ngày trên môi trường cảm ứng tổng hợp protease

Dựa vào bảng 1 và hình 1-8, chúng tôi nhận thấy

Khả năng sinh tổng hợp các hệ enzym phân giải các hợp chất biopolymer của các chủng nấm mốc *Trichoderma* được xếp theo thứ tự từ cao đến thấp như sau:

Cellulase : Tri.4 > **Tri.3** > **Tri.1** > Tri.7 > Tri.9 > Tri.6 > Tri.5 > Tri.10 > Tri.8 > Tri.2

Xylanase : **Tri.1** > **Tri.3** > Tri.4 > Tri.9 > Tri.5 > Tri.7 > Tri.6 = Tri.10 > Tri.8 > Tri.2

Chitinase : Tri.4 > **Tri.3** > Tri.5 > **Tri.1** > Tri.6 > Tri.2 > Tri.7 > Tri.10 > Tri.9 > Tri.8

Amylase : **Tri.1** > Tri.4 > **Tri.3** > Tri.7 > Tri.9 > Tri.6 > Tri.10 > Tri.2 > Tri.8 > Tri.5

Peptinase : **Tri.3** > Tri.10 > **Tri.1** = Tri.7 > Tri.2 > Tri.9 > Tri.6 > Tri.4 > Tri.5 > Tri.8

Lipase : **Tri.1** > **Tri.3** > Tri.2 > Tri.9 > Tri.10 > Tri.7 > Tri.5 > Tri.6 > Tri.4 > Tri.8

Protease : Tri.9 > Tri.2 > Tri.5 > Tri.7 > **Tri.1** > **Tri.3** > Tri.5 > Tri.6 > Tri.4 > Tri.8

Enzym phân giải lignin :

Tri.7 > Tri.9 > **Tri.1** > Tri.5 > Tri.6 > Tri.10 > Tri.4 > **Tri.3** > Tri.8 > Tri.2

Qua đó, chúng tôi nhận thấy rằng 9/10 chủng vi nấm có khả năng phân giải tất cả 8 loại cơ chất khác nhau và các hệ enzym này đều có hoạt tính khá mạnh chỉ riêng hệ enzym phân giải lignin là tương đối yếu.

So sánh hoạt tính các hệ enzym của các chủng vi nấm *Trichoderma*, chúng tôi chọn ra 2 chủng có hoạt tính các hệ enzym cao nhất là *T. harzianum* (VN) và *T. aureoviride* (4) để tiến hành các nghiên cứu tiếp theo và tập trung vào các hệ enzym chủ yếu là cellulase, xylanase, chitinase.

b. Khảo sát động học các hệ enzym thủy phân chủ yếu

Khảo sát hoạt tính của các hệ enzym thủy phân chủ yếu tại các thời điểm nuôi cấy 24h, 36h, 48h, 60h, 72h, 84h, tại mỗi thời điểm, lấy 50g môi trường nuôi cấy 2 chủng *T. aureoviride* và *T. harzianum* (HL) pha trong 100 ml nước cất, thu dịch chiết enzym và tiến hành định hoạt tính chung các hệ enzym: cellulose, xylanase và chitinase.

Kết quả xác định hoạt tính của các hệ enzym tách chiết từ môi trường bán rắn nuôi cấy *T. harzianum* (VN) và *T. aureoviride*(4) được thể hiện trong bảng 2.

Hệ số pha loãng n=10

Chủng vi nấm	Thời gian nuôi cấy (h)	Hoạt tính enzym (Đvht/gMT)		
		cellulase	xylanase	Chitinase
<i>T.harzianum</i> (VN)	24	0,19	0,97	7,00
	36	1,46	7,00	25,0
	48	6,71	6,61	30,0
	60	5,74	7,29	11,5
	72	0,53	1,31	6,00
	84	0,15	0,53	4,00
<i>T.aureoviride</i> (4)	24	0,78	1,80	15,0
	36	3,50	4,70	38,0
	48	3,30	6,10	40,0
	60	4,6	7,29	63,0
	72	2,1	1,60	46,5
	84	0,15	0,50	9,50

Bảng 2: Sự biến thiên hoạt tính riêng các hệ enzym của 2 chủng vi nấm *T. harzianum* (VN) và *T. aureoviride* (4) theo thời gian nuôi cấy

Kết luận:

Đối với hệ *Trichoderma aureoviride* (4) : thời gian nuôi cấy để thu nhận hệ enzym cellulase có hoạt tính cao nhất là 60 giờ, tương ứng với hệ enzym xylanase là 60 giờ và hệ enzym chitinase là 60 giờ.

Đối với *Trichoderma harzianum* (VN) : thời gian nuôi cấy để thu nhận hệ enzym cellulase có hoạt tính cao nhất là 48 giờ, tương ứng với hệ enzym xylanase là 60 giờ và hệ enzym chitinase là 48 giờ.

c. Khảo sát một số yếu tố ảnh hưởng đến hoạt tính các hệ enzym thủy phân có hoạt tính cao.

Kết quả khảo sát ảnh hưởng của yếu tố pH, nhiệt độ lên hoạt tính các hệ enzym được trình bày ở bảng 3 và 4

• pH

Chủng vi nấm	pH	Hoạt tính của hệ enzym cellulase (Đvht/MT)	Hoạt tính của hệ enzym xylanase (Đvht/g MT)	Hoạt tính của hệ enzym chitinase (Đvht/g MT)
<i>T. harzianum</i> (VN)	3.0	2,43	0,63	13,0
	4.0	7,60	7,63	19,0
	4.5	7,73	6,13	35,0
	5.0	3,40	2,04	45,0
	5.5	1,22	1,94	42,0
	6.0	1,46	1,17	15,5
<i>T. aureoviride</i> (4)	3.0	2,04	0,40	12,0
	4.0	5,74	7,40	18,0
	4.5	7,73	5,25	21,5
	5.0	1,22	1,17	40,5
	5.5	1,07	1,02	33,0
	6.0	1,07	0,24	8,50

Bảng 3: Ảnh hưởng của pH đối với hoạt tính của các hệ enzym cellulase, xylanase và chitinase

• Nhiệt độ

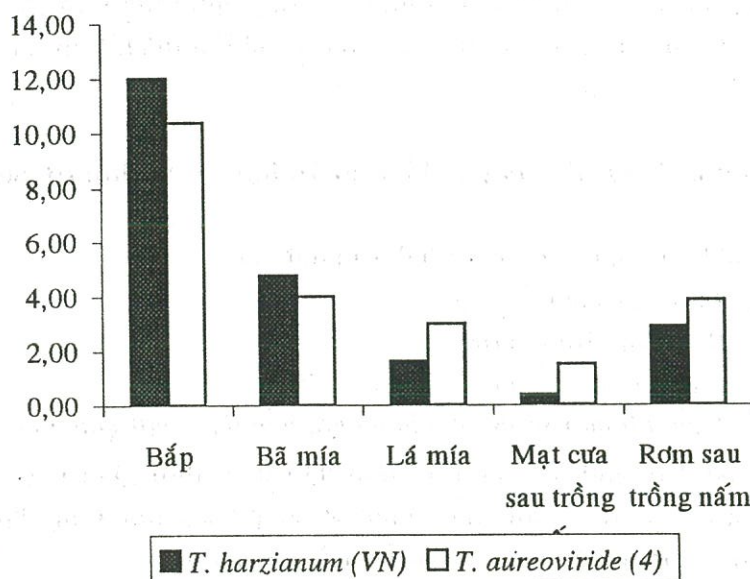
Chủng vi nấm	Nhiệt độ (°C)	Hoạt tính của hệ enzym cellulase (Đvht/g MT)	Hoạt tính của hệ enzym xylanase (Đvht/g MT)	Hoạt tính của hệ enzym chitinase (Đvht/g MT)
T. harzianum(VN)	25	2,1	0,53	5,50
	30	3,2	1,07	9,50
	35	7,6	3,40	19,5
	40	6,6	7,50	18,0
	45	6,1	7,05	8,50
	50	3,2	3,30	5,50
	60	2,3	0,24	2,00
T. aureoviride(4)	25	2,6	1,07	3,00
	30	4,6	1,60	7,00
	35	7,5	2,04	9,50
	40	7,4	6,03	22,5
	45	5,3	4,70	9,50
	50	3,2	2,80	3,00
	60	2,4	0,15	1,50
70	2,3	0,00	0,00	

Bảng 4: Ảnh hưởng của nhiệt độ phản ứng đối với hoạt tính các hệ enzym cellulase, xylanase và chitinase.

• Cơ chất

– Kết quả xác định hàm lượng glucose sinh ra do tác dụng thủy phân của 2 hệ enzym: cellulase và xylanase tách chiết từ môi trường nuôi cấy 2 chủng *Trichoderma* trên 5 loại cơ chất là: lọi bắp, bã mía, lá mía, mặt cưa sau trồng nấm và rơm sau trồng nấm được trình bày ở biểu đồ 1.

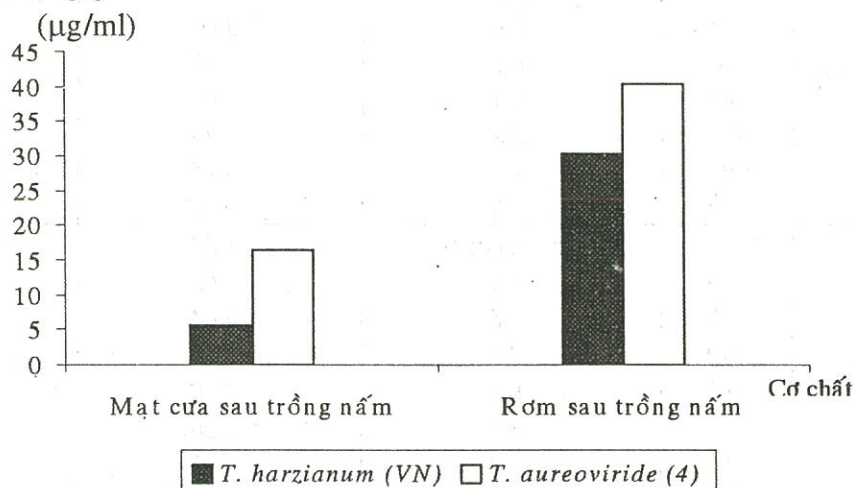
Hàm lượng glucose
($\mu\text{g/ml}$)



Biểu đồ 1: Hàm lượng glucose sinh ra do tác dụng của các hệ enzym chiết tách từ *T. harzianum* (VN) và *T. aureoviride* (4) lên các nguồn cơ chất tự nhiên khác nhau.

– Kết quả xác định hàm lượng glucosamin sinh ra do tác dụng thủy phân của hệ enzym chitinase tách chiết từ môi trường nuôi cấy 2 chủng *Trichoderma* trên 2 loại cơ chất: mặt cưa sau trồng nấm và rơm sau trồng nấm được trình bày ở biểu đồ 2.

Hàm lượng glucosamin



Biểu đồ 2 : Hàm lượng glucosamin sinh ra do tác dụng của hệ enzym chitinase của 2 chủng *Trichoderma* lên các nguồn cơ chất tự nhiên khác nhau.

Kết luận

Đối với *Trichoderma aureoviride* (4) : nhiệt độ tối ưu của hệ enzym cellulase là 35°C, xylanase là 40°C, chitinase là 40 °C, biên độ nhiệt là 25-60°C. pH tối ưu của enzym cellulase là 4,5, xylanase là 4,0, chitinase là 5,0, biên độ pH trong khoảng 4,0-6,0.

Đối với *Trichoderma harzianum* (VN) : nhiệt độ tối ưu của enzym cellulase là 35 °C, xylanase là 40 °C và chitinase là 35 °C, biên độ nhiệt trong khoảng 25-60°C. pH tối ưu của enzym cellulase là 4,5, xylanase là 4,0 và chitinase là 5,0, biên độ pH trong khoảng 4,0-6,0.

Lõi bắp là cơ chất tự nhiên thích hợp dùng cảm ứng sinh tổng hợp các hệ enzym phân giải cellulose, xylan. Rơm sau trồng nấm là cơ chất tự nhiên thích hợp dùng cảm ứng sinh tổng hợp hệ enzym phân giải chitin.

4.2 Thử nghiệm sử dụng *Trichoderma* chế biến phân hữu cơ vi sinh từ các phế liệu nông nghiệp

Tiến hành thử nghiệm trên 3 nghiệm thức là :

D₁ : Mặt cưa sau trồng nấm.

D₂ : Rơm sau trồng nấm.

D₃ : Lá mía và bã mía.

➤ *Khảo sát sự biến đổi một số thành phần chất nền theo thời gian nuôi cấy*

Các polysaccharid (cellulose, lignin) giảm dần theo thời gian nuôi cấy. Trong khi protein lúc đầu có giảm sau đó lại tăng dần, glucose và glucosamin tăng dần theo thời gian do tác động phân giải các hệ enzym ngoại bào của *Trichoderma*.

➤ *Khảo sát số lượng bào tử Trichoderma*

Tiến hành khảo sát số lượng bào tử ở 3 nghiệm thức tại các thời điểm 0 ngày, 10 ngày, 15 ngày, 20 ngày. Kết quả được trình bày ở bảng 5.

Môi trường (nghiệm thức)	0 ngày		10 ngày		15 ngày		20 ngày	
	Khoảng giá trị	Trung bình	Khoảng giá trị	Trung bình	Khoảng giá trị	Trung bình	Khoảng giá trị	Trung bình
D ₁ (số bào tử/gMT)	29.10 ⁶ - 21.10 ⁷	120.10 ⁶	24.10 ⁸ - 22.10 ⁹	117.10 ⁸	27.10 ¹⁰ - 20.10 ¹¹	114.10 ¹⁰	32.10 ¹³ - 31.10 ¹⁴	171.10 ¹³
D ₂ (số bào tử/gMT)	76.10 ⁶ - 23.10 ⁷	153.10 ⁶	22.10 ⁸ - 25.10 ⁹	136.10 ⁸	21.10 ¹⁰ - 29.10 ¹¹	119.10 ¹¹	21.10 ¹³ - 19.10 ¹⁴	197.10 ¹³
D ₃ (số bào tử/gMT)	42.10 ⁶ - 40.10 ⁷	221.10 ⁶	30.10 ¹⁰ - 22.10 ¹¹	125.10 ¹⁰	28.10 ¹¹ - 21.10 ¹²	119.10 ¹¹	24.10 ¹³ - 37.10 ¹⁴	197.10 ¹³

Bảng 5 : Số lượng bào tử *Trichoderma* theo thời gian nuôi cấy.

Kết luận

Trên 3 môi trường nghiệm thức, 2 chủng *Trichoderma* đều phát triển tốt và hình thành bào tử, riêng nghiệm thức D₃ (lá mía và bã mía) là môi trường thích hợp để nhân sinh khối và tạo bào tử *Trichoderma*

EXAMINING THE ACTIVITY OF HYDROLIZING ENZYMES FROM *TRICHODERMA* CULTURE MEDIA AND TESTED PROCESSING MICROORGANISM COMPOST

Ha Van Linh, Đinh Minh Hiep, Phạm Thị Anh Hong

ABSTRACT:

The result of preliminary evaluating the activity of 8 enzymes on 10 species of *Trichoderma* show that all of them have a high capacity to produce these enzymes in culture media.

The temperature 35 – 40°C and pH 4.0 – 5.0 are the optimum condition for enzymatic activities – cellulase, xylanase, chitinase – of *T. harzianum* (VN) and *T. aureoviride*. Corn-cob is the optimal natural substrate to produce cellulase, xylanase; fungus-growing straw is the optimal substrate to produce chitinolytic enzymes.

Handling agricultural waste by using 2 species *Trichoderma* has been done in 3 tested media: D1 (fungus-growing sawdust medium), D2 (fungus-growing straw medium), D3 (bagasse, sugarcane leaf medium). D3 is the best one for *Trichoderma* development. It therefor can be efficiently used in sugarcane processing wasted compost.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1]. Trần Thị Mỹ Diệu, 1995. Nghiên cứu tổng hợp Microcapsule theophylline chitosan. Luận văn tốt nghiệp Đại học Bách Khoa TP.HCM.
- [2]. Nguyễn Lân Dũng, Nguyễn Đăng Đức, Đặng Hồng Miên, Nguyễn Vĩnh Phước, Nguyễn Đình Quyển, Nguyễn Phùng Tiến, Phạm Văn Ty, 1976. Một số phương pháp nghiên cứu vi sinh vật học (tập II & III). NXB Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội.

- [3]. Nguyễn Thành Đạt, Mai Thị Hằng, 2000. Sinh học Vi sinh vật. NXB Giáo dục, p.236-274.
- [4]. N.X.Egôrov (dịch giả : Nguyễn Lâm Dũng). *Thực tập Vi sinh vật học. Nhà xuất bản Đại học và trung học chuyên nghiệp, Hà Nội.*
- [5]. Lê Quốc Phong, 2000. Khảo sát các đặc tính của enzym chitinase chiết tách từ nấm mốc *Trichoderma harzianum*. Khóa luận Cử nhân Sinh học, ĐH Khoa học Tự nhiên TP.HCM, p.20-34.
- [6]. Nguyễn Thị Hồng Thương, 2001. Khảo sát một số yếu tố tác động quá trình sinh tổng hợp hệ enzym chitinase của các chủng nấm mốc *Trichoderma*. Khóa luận Cử nhân Sinh học, ĐH Khoa học Tự nhiên TP.HCM, p.37-38.
- [7]. F. Schimer, R. Ohlenger, E. Kandler, R. Margesin, 1996. Method in soil biology. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, Germany, p.187.
- [8]. Stewart E. Allen, 1989. Chemical Analysis of Ecology Materials. Black. Sci. Pub., Second Ed., London.