



(12) **BẢN MÔ TẢ GIẢI PHÁP HỮU ÍCH THUỘC BẰNG ĐỘC QUYỀN
GIẢI PHÁP HỮU ÍCH**

(19) **Cộng hòa xã hội chủ nghĩa Việt Nam (VN)
CỤC SỞ HỮU TRÍ TUỆ**

(11)



2-0003285

(51) **C12N 1/14; C12N 3/00**
2020.01

(13) **Y**

(21) 2-2021-00372

(22) 14/09/2021

(45) 25/08/2023 425

(43) 25/11/2021 404

(73) **TRUNG TÂM SINH HỌC THỰC NGHIỆM - VIỆN ỨNG DỤNG CÔNG NGHỆ
(VN)**

C6 Thanh Xuân Bắc, Thanh Xuân, Hà Nội

(72) **Vũ Xuân Tạo (VN); Trần Bảo Trâm (VN); Nguyễn Thị Hiền (VN).**

(54) **QUY TRÌNH SẢN XUẤT CHẾ PHẨM DỊCH BÀO TỬ NẤM TRICHODERMA
ASPERELLUM DÙNG CHO PHÒNG TRỪ NẤM PENICILLIUM DIGITATUM GÂY
THỐI CAM**

(57) Sáng chế đề xuất quy trình sản xuất chế phẩm dịch bào tử nấm *Trichoderma asperellum* dùng cho phòng trừ nấm *Penicillium digitatum* gây thối cam, bao gồm các bước:

a) nuôi cấy và thu dịch bào tử nấm *Trichoderma asperellum* trên môi trường dinh dưỡng sử dụng cơ chất vỏ trấu; và

b) phối trộn chất mang tạo chế phẩm dịch bào tử nấm *Trichoderma asperellum*.

Quy trình theo sáng chế đơn giản, dễ thực hiện, và có thể áp dụng trong sản xuất công nghiệp góp phần phòng trừ bệnh do nấm *Penicillium digitatum* gây ra trên cam.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế thuộc lĩnh vực công nghệ vi sinh vật, cụ thể sáng chế đề cập đến quy trình sản xuất chế phẩm dịch bào tử nấm *Trichoderma asperellum* dùng cho phòng trừ nấm *Penicillium digitatum* gây thối cam.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Cam là một trong những loại cây ăn quả được trồng phổ biến ở Việt Nam bởi giá trị dinh dưỡng và kinh tế mà nó mang lại. Ở Việt Nam, cam được trồng nhiều ở các vùng như Tuyên Quang, Hà Giang, Bắc Giang, Yên Bái, Hòa Bình,... Trên cây có múi tại Việt Nam đã phát hiện được khoảng 40 loại bệnh hại khác nhau. Một trong những đối tượng gây hại nghiêm trọng và phổ biến nhất là vi nấm. Trong đó, vi nấm *Penicillium digitatum* được xác định là tác nhân gây thối hồng quả nghiêm trọng nhất. *Penicillium digitatum* là nguyên nhân gây bệnh thối mốc xanh, chúng xâm nhiễm qua vết xước trên vỏ quả do côn trùng hoặc tác nhân vật lý gây ra. Nếu nấm nhiễm vào quả ở giai đoạn trước khi thu hoạch thì sẽ gây hiện tượng thối và rụng quả. Nấm nhiễm ở giai đoạn sau thu hoạch sẽ gây thối hồng hàng loạt trong thời gian ngắn, ảnh hưởng lớn tới việc bảo quản và lưu thông cam trên thị trường từ đó giảm hiệu quả kinh tế.

Hiện nay, để kiểm soát các loài vi nấm hại trên cây có múi, người dân chủ yếu sử dụng các loại thuốc bảo vệ thực vật hóa học. Tuy nhiên, các loại thuốc này gây nguy hại đến môi trường và sức khỏe con người. Nấm *Trichoderma asperellum* được đánh giá là chi nấm an toàn và có hoạt tính đối kháng chống lại một số nấm gây bệnh cây trồng nhờ các cơ chế sinh kháng sinh, ký sinh và cạnh tranh. Tại Việt Nam, các chế phẩm chứa nấm *Trichoderma* phòng trừ nấm bệnh trên quả còn chưa nhiều, chủ yếu sử dụng cho việc bón gốc cải tạo đất và phòng trừ bệnh hại ở rễ. Các chế phẩm chứa nấm *Trichoderma* hiện nay được sản xuất bằng cách nuôi cấy nấm *Trichoderma* trên môi trường cơ chất rắn, sau đó tiến hành thu toàn bộ cơ chất để sấy, nghiền và đóng bao thành phẩm. Loại chế phẩm này chỉ thích hợp cho việc bón gốc để phòng trừ bệnh hại rễ, không phù hợp cho việc phun cho quả để phòng trừ bệnh trên quả. Nghiên cứu phát triển giải pháp để ứng dụng nấm *Trichoderma asperellum* ở dạng dịch bào tử vào phòng trừ nấm *Penicillium digitatum* gây thối cam giữ vai trò quan trọng trong việc tăng năng suất chất lượng cam và thúc đẩy mở rộng ngành trồng cây có múi

ở nước ta. Tuy nhiên cho đến nay vẫn chưa có công trình nghiên cứu nào về việc phát triển giải pháp hoàn chỉnh sản xuất chế phẩm dịch bào từ nấm *Trichoderma asperellum* dùng cho phòng trừ nấm *Penicillium digitatum* gây thối cam.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Mục đích của sáng chế là giải quyết các vấn đề nêu trên. Theo đó, sáng chế đề xuất quy trình sản xuất chế phẩm dịch bào từ nấm *Trichoderma asperellum* dùng cho phòng trừ nấm *Penicillium digitatum* gây thối cam, bao gồm các bước:

- a) nuôi cấy và thu dịch bào từ nấm *Trichoderma asperellum* trên môi trường dinh dưỡng sử dụng cơ chất vỏ trấu; và
- b) phối trộn chất mang tạo chế phẩm dịch bào từ nấm *Trichoderma asperellum*.

Quy trình theo sáng chế là quy trình hoàn chỉnh, đơn giản và có thể ứng dụng vào thực tế sản xuất một cách dễ dàng.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Hình 1: Nấm *Trichoderma asperellum* hình thành bào tử trên môi trường dinh dưỡng sử dụng cơ chất vỏ trấu trong hộp nuôi nấm.

Hình 2: Chế phẩm dịch bào từ nấm *Trichoderma asperellum* dùng cho phòng trừ nấm *Penicillium digitatum* gây thối cam.

Hình 3: Khả năng kháng nấm *Penicillium digitatum* trên quả cam của chế phẩm dịch bào từ nấm *Trichoderma asperellum* dùng cho phòng trừ nấm *Penicillium digitatum* gây thối cam.

Mô tả chi tiết sáng chế

Sau đây, sáng chế mô tả chi tiết các phương án và ví dụ thực hiện cụ thể, tuy nhiên, các phương án này chỉ nhằm mục đích mô tả chi tiết sáng chế chứ không nhằm mục đích hạn chế phạm vi yêu cầu bảo hộ của sáng chế.

Các quy trình, kỹ thuật pha chế môi trường, khử trùng môi trường,... là đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này, ví dụ: phương pháp cấy để tránh vi sinh vật ngoại lai lây nhiễm vào môi trường nuôi cấy, phương pháp khử trùng môi trường nuôi cấy.

Các thành phần, hóa chất hoặc thiết bị sử dụng trong quy trình theo sáng chế có thể tìm thấy, hoặc mua được trên thị trường. Các thiết bị hoặc hóa chất có thể mua được, ví dụ, từ công ty Difco (Tây Ban Nha), Merck (Đức), Sigma (Hoa Kỳ) v.v..

Theo đó, sáng chế đề cập đến quy trình sản xuất chế phẩm dịch bào tử nấm *Trichoderma asperellum* dùng cho phòng trừ nấm *Penicillium digitatum* gây thối cam bao gồm các bước:

a) Nuôi cấy chủng nấm *Trichoderma asperellum* trên môi trường dinh dưỡng sử dụng cơ chất vỏ trái:

Chọn chủng nấm *Trichoderma asperellum* có hoạt tính kháng nấm *Penicillium digitatum* là các chủng nấm *Trichoderma asperellum* có hoạt tính kháng nấm *Penicillium digitatum* đạt từ 70% trở lên khi xác định theo phương pháp đồng nuôi cấy nấm *Trichoderma asperellum* với nấm bệnh *Penicillium digitatum*.

Chuẩn bị môi trường rắn MT678 có thành phần tính cho 1 lít môi trường như sau:

Sucroza: 20 g,

Nước chiết 200 g khoai tây (200g khoai tây cắt kích thước 1cmx1cm, đun sôi trong 1 lít nước cất trong 30 phút, thu dịch),

Pepton: 10 g,

Aga: 20g, và

Nước cất: vừa đủ 1 lít.

Dùng que cấy vô trùng cấy ria nấm *Trichoderma asperellum* qua đĩa petri chứa môi trường MT678 trong tủ cấy vô trùng. Đĩa được ủ ở 28°C để hệ sợi nấm phát triển hình thành bào tử và sau 7 ngày tiến hành thu bào tử nấm. Bổ sung nước cất vô trùng lên bề mặt đĩa nuôi, sau đó dùng que gạt vô trùng gạt tách bào tử ra khỏi hệ sợi nấm. Lọc dịch thu được trên đĩa bằng màng lọc Miracloth (Calbiochem, Đức) và thu vào ống falcon. Ly tâm dịch sau lọc ở tốc độ 4000 vòng/phút trong thời gian 10 phút, đổ bỏ dịch. Bổ sung nước cất vô trùng để tạo dịch bào tử nấm với nồng độ 10^6 bào tử/mL. Dịch bào tử được tiến hành xác định nồng độ bằng buồng đếm Thoma và pha loãng về nồng độ 10^6 bào tử/mL.

Chuẩn bị hộp nuôi nấm là các hộp nhựa trong hình trụ, thể tích 650 mL chứa 8 g vỏ trái và 10 mL dịch dinh dưỡng nuôi nấm, trong đó dịch dinh dưỡng nuôi nấm có thành phần tính cho 1 lít dịch dinh dưỡng nuôi nấm như sau:

Nước chiết 200 g khoai tây (200g khoai tây cắt kích thước 1cmx1cm, đun sôi trong 1 lít nước cất trong 30 phút, thu dịch),

Sucroza : 20 g,

Pepton : 10 g, và

Nước cất: vừa đủ 1 lít.

Số lượng hộp nuôi nấm được chuẩn bị bất kỳ, tùy theo nhu cầu.

Cấy dịch bào tử vào hộp nuôi nấm với tỷ lệ 1 mL dịch bào tử/hộp nuôi nấm. Hộp nuôi nấm sau cấy giống được ủ tối ở 28°C trong 4 ngày để hệ sợi nấm lan kín bề mặt môi trường một lớp mỏng. Sau đó hộp nuôi nấm được chuyển qua giai đoạn kích thích hình thành bào tử ở điều kiện 28°C, chiếu sáng 12 giờ/ngày bằng ánh sáng huỳnh quang có cường độ ánh sáng là 400-500 lux, trong 7 ngày.

Sau 7 ngày nuôi, bổ sung 70ml nước cất vô trùng vào mỗi hộp nuôi nấm, dùng que gạt vô trùng khuấy tách bào tử ra khỏi cơ chất vô trấu. Lọc dịch thu được bằng màng lọc Miracloth (Calbiochem, Đức), thu được dịch bào tử sau nuôi cấy và thu dịch này vào chai thủy tinh vô trùng. Từ mỗi hộp nuôi nấm thu được khoảng 50 mL dịch bào tử sau nuôi cấy có nồng độ khoảng 2×10^8 bào tử/mL.

Thực hiện pha loãng dịch bào tử sau nuôi cấy đến nồng độ 6×10^6 bào tử/mL bằng nước cất vô trùng, thu được dịch bào tử phối trộn. Việc xác định nồng độ bào tử có thể được thực hiện bằng buồng đếm Thoma.

Trong trường hợp không thực hiện ngay bước phối trộn thì có thể bảo quản dịch bào tử sau nuôi cấy bằng cách lưu giữ trong chai thủy tinh vô trùng ở nhiệt độ 6°C trước khi thực hiện pha loãng để thu dịch bào tử phối trộn.

b) Phối trộn chất mang tạo chế phẩm dịch bào tử nấm *Trichoderma asperellum* dùng cho phòng trừ nấm *Penicillium digitatum* gây thối cam:

Dịch bào tử phối trộn thu được từ bước (a) được bổ sung 10% glycerol, 0,2% carboxymetyl xenluloza (carboxymethyl cellulose-CMC) và 0,3% Tween 80. Quá trình phối trộn sử dụng thiết bị khuấy trộn với tốc độ khuấy 200 vòng/phút trong 2 giờ, thu được chế phẩm dịch bào tử nấm *Trichoderma asperellum* dùng cho phòng trừ nấm *Penicillium digitatum* gây thối cam.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Nuôi cấy và thu dịch bào tử nấm *Trichoderma asperellum* trên môi trường dinh dưỡng sử dụng cơ chất vỏ trấu

Chọn chủng nấm *Trichoderma asperellum* có hoạt tính kháng nấm *Penicillium digitatum* (hoạt tính kháng nấm *Penicillium digitatum* đạt từ 70% trở lên được xác định theo phương pháp đồng nuôi cấy nấm *Trichoderma asperellum* với nấm bệnh *Penicillium digitatum*). Chủng nấm *Trichoderma asperellum* được chọn là chủng được phân lập từ đất vùng rễ cây cam khỏe mạnh tại Hà Giang, được lưu giữ và bảo quản tại Phòng thí nghiệm của Trung tâm Sinh học Thực nghiệm - Viện Ứng dụng Công nghệ.

Chuẩn bị môi trường rắn MT678 (trong 1 lít) bao gồm:

Sucroza: 20 g

Nước chiết 200 g khoai tây (200g khoai tây cắt kích thước 1cmx1cm, đun sôi trong 1 lít nước cất trong 30 phút, thu dịch)

Pepton: 10 g

Aga: 20g

Nước cất: vừa đủ 1 lít

Môi trường MT678 và đĩa petri được khử trùng ở 121°C trong thời gian 20 phút. Môi trường sau khử trùng được để nguội về 50-60°C và chia vào các đĩa petri đã khử trùng. Dùng que cấy vô trùng cấy rìa nấm *Trichoderma asperellum* qua đĩa petri chứa môi trường MT678. Đĩa được ủ ở 28°C để hệ sợi nấm phát triển hình thành bào tử và sau 7 ngày tiến hành thu bào tử nấm. Bổ sung nước cất vô trùng lên bề mặt đĩa nuôi, sau đó dùng que gạt vô trùng gạt tách bào tử ra khỏi hệ sợi nấm. Lọc dịch thu được trên đĩa bằng màng lọc Miracloth (Calbiochem, Đức) và thu vào ống falcon. Ly tâm dịch sau lọc ở tốc độ 4000 vòng/phút trong thời gian 10 phút, đổ bỏ dịch. Bổ sung nước cất vô trùng để tạo dịch bào tử nấm, dịch bào tử được tiến hành xác định nồng độ bằng buồng đếm Thoma và pha loãng về nồng độ 10^6 bào tử/mL.

Chuẩn bị 500 hộp nuôi nấm là các hộp nhựa trong hình trụ, thể tích 650 mL chứa 8 g vỏ trấu và 10 mL dịch dinh dưỡng nuôi nấm, trong đó dịch dinh dưỡng nuôi nấm có thành phần tính cho 1 lít dịch dinh dưỡng nuôi nấm như sau:

Nước chiết 200 g khoai tây (200g khoai tây cắt kích thước 1cmx1cm, đun sôi trong 1 lít nước cất trong 30 phút, thu dịch),

Sucroza : 20 g,

Pepton : 10 g, và

Nước cất: vừa đủ 1 lít.

Tiến hành cấy 1mL dịch bào tử nấm *Trichoderma asperellum* thu được sang môi trường chứa trong hộp nuôi nấm. Hộp nuôi nấm sau khi được cấy dịch bào tử được ủ tối ở 28°C trong 4 ngày để hệ sợi nấm lan kín bề mặt môi trường một lớp mỏng. Sau đó hộp nuôi nấm được chuyển qua giai đoạn kích thích hình thành bào tử ở điều kiện 28°C, chiếu sáng 12 giờ/ngày bằng ánh sáng huỳnh quang có cường độ ánh sáng là 400-500 lux, trong 7 ngày. Hộp nuôi nấm sau 7 ngày có hệ sợi nấm phát triển và tạo bào tử (Hình 1).

Sau 7 ngày nuôi, bổ sung 70ml nước cất vô trùng vào mỗi hộp nuôi nấm, dùng que gạt vô trùng khuấy tách bào tử ra khỏi cơ chất vỏ trấu trong khoảng 15-30 giây. Lọc dịch thu được bằng màng lọc Miracloth (Calbiochem, Đức), thu được dịch bào tử phối trộn và thu vào chai thủy tinh vô trùng. Từ mỗi hộp nuôi thu được trung bình 50 mL dịch bào tử có nồng độ khoảng 2×10^8 bào tử/mL. Dịch bào tử phối trộn được pha loãng bằng nước cất đến nồng độ 6×10^6 bào tử/mL để tiến hành phối trộn tạo chế phẩm.

Dịch bào tử phối trộn được kiểm tra lại nồng độ bào tử bằng buồng đếm Thoma để xác định nồng độ 6×10^6 bào tử/mL, sau đó được bổ sung 10% glycerol, 0,2% carboxymethyl xenluloza (carboxymethyl cellulose – CMC) và 0,3% Tween 80. Thiết bị khuấy trộn trước đó được làm sạch bằng cồn 70 và để khô tự nhiên. Quá trình phối trộn sử dụng thiết bị khuấy trộn với tốc độ khuấy 200 vòng/phút trong 2 giờ, thu được chế phẩm dịch bào tử nấm *Trichoderma asperellum* dùng cho phòng trừ nấm *Penicillium digitatum* gây thối cam. Sau khi phối trộn, chế phẩm thu được được chiết rót vào lọ nhựa 500 mL để sử dụng hoặc bảo quản ở nhiệt độ phòng trong 6 tháng (Hình 2).

Thực hiện sử dụng chế phẩm lên cam được gây nhiễm nấm *Penicillium digitatum* gây thối cam ở các nồng độ pha loãng 100 lần, 200 lần và 300 lần. Mẫu đối chứng sử dụng nước cất. Kết quả được thể hiện trên Hình 3. Kết quả thu được cho thấy, chế phẩm thu được có khả năng ức chế hoàn toàn khả năng gây bệnh của nấm *Penicillium digitatum* trên quả cam với độ pha loãng tới 200 lần và hạn chế khả năng gây bệnh với độ pha loãng 300 lần ở điều kiện thí nghiệm.

Hiệu quả đạt được của sáng chế

Quy trình theo sáng chế đạt hiệu quả cao trong việc sản xuất chế phẩm dịch bào tử nấm *Trichoderma asperellum* dùng cho phòng trừ nấm *Penicillium digitatum* gây thối cam. Chế phẩm dịch bào tử có khả năng duy trì lâu dài mật độ bào tử và hoạt tính của nấm *Trichoderma asperellum*. Việc sử dụng nấm *Trichoderma asperellum* ở dạng dịch bào tử vào phòng trừ nấm *Penicillium digitatum* gây thối cam là biện pháp đơn giản, hiệu quả và dễ dàng khi thực hiện phun cho toàn bộ cây cam.

Quy trình theo sáng chế có khả năng áp dụng trên qui mô công nghiệp, giúp tạo ra sản phẩm mới là chế phẩm dịch bào tử nấm *Trichoderma asperellum* dùng cho phòng trừ nấm *Penicillium digitatum* gây thối cam góp phần tăng năng suất chất lượng cam và thúc đẩy mở rộng ngành trồng cây có múi ở Việt Nam.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Quy trình sản xuất chế phẩm dịch bào tử nấm *Trichoderma asperellum* dùng cho phòng trừ nấm *Penicillium digitatum* gây thối cam bao gồm các bước:

(a) nuôi cấy chủng nấm *Trichoderma asperellum* trên môi trường dinh dưỡng sử dụng cơ chất vỏ trấu:

chọn chủng nấm *Trichoderma asperellum* có hoạt tính kháng nấm *Penicillium digitatum* là các chủng nấm *Trichoderma asperellum* có hoạt tính kháng nấm *Penicillium digitatum* đạt từ 70% trở lên khi xác định theo phương pháp đồng nuôi cấy nấm *Trichoderma asperellum* với nấm bệnh *Penicillium digitatum*;

chuẩn bị môi trường rắn MT678 có thành phần tính cho 1 lít môi trường như sau:

sucroza: 20 g,

nước chiết 200 g khoai tây, trong đó nước chiết 200 g khoai tây được chuẩn bị bằng cách cắt 200g khoai tây kích thước 1cmx1cm, đun sôi trong 1 lít nước cất trong 30 phút, thu dịch,

pepton: 10 g,

aga: 20g, và

nước cất: vừa đủ 1 lít;

dùng que cấy vô trùng cấy ria nấm *Trichoderma asperellum* qua đĩa petri chứa môi trường MT678 trong tủ cấy vô trùng;

đĩa được ủ ở 28°C để hệ sợi nấm phát triển hình thành bào tử và sau 7 ngày tiến hành thu bào tử nấm.;

bổ sung nước cất vô trùng lên bề mặt đĩa nuôi, sau đó dùng que gạt vô trùng gạt tách bào tử ra khỏi hệ sợi nấm;

lọc dịch thu được trên đĩa bằng màng lọc Miracloth và thu vào ống falcon;

ly tâm dịch sau lọc ở tốc độ 4000 vòng/phút trong thời gian 10 phút, đổ bỏ dịch;

bổ sung nước cất vô trùng để tạo dịch bào tử nấm với nồng độ 10^6 bào tử/mL;

chuẩn bị hộp nuôi nấm là các hộp nhựa trong hình trụ, thể tích 650 mL chứa 8 g vỏ trấu và 10 mL dịch dinh dưỡng nuôi nấm, trong đó dịch dinh dưỡng nuôi nấm có thành phần tính cho 1 lít dịch dinh dưỡng nuôi nấm như sau:

nước chiết 200 g khoai tây, trong đó nước chiết 200 g khoai tây được chuẩn bị bằng cách cắt 200g khoai tây kích thước 1cmx1cm, đun sôi trong 1 lít nước cất trong 30 phút, thu dịch,

sucroza: 20 g,

pepton: 10 g, và

nước cất: vừa đủ 1 lít.

số lượng hộp nuôi nấm được chuẩn bị bất kỳ, tùy theo nhu cầu;

cấy dịch bào tử vào hộp nuôi nấm với tỷ lệ 1 mL dịch bào tử/hộp nuôi nấm;

hộp nuôi nấm sau cấy giống được ủ ở 28°C trong tối trong khoảng thời gian từ 4 ngày để hệ sợi nấm lan kín bề mặt môi trường một lớp mỏng;

sau đó hộp nuôi nấm được chuyển qua giai đoạn kích thích hình thành bào tử ở điều kiện 28°C, chiếu sáng 12 giờ/ngày bằng ánh sáng huỳnh quang có cường độ ánh sáng là 400-500 lux, trong 7 ngày;

bổ sung 70ml nước cất vô trùng vào mỗi hộp nuôi nấm, dùng que gạt vô trùng khuấy tách bào tử ra khỏi cơ chất vỏ trấu;

lọc dịch thu được bằng màng lọc Miracloth, thu được dịch bào tử sau nuôi cấy và thu dịch này vào chai thủy tinh vô trùng;

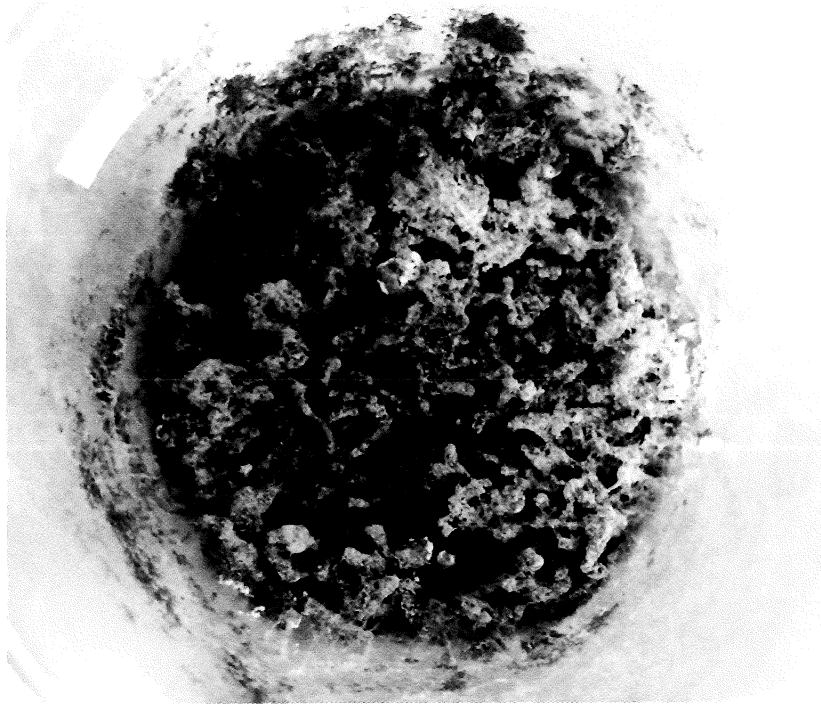
thực hiện pha loãng dịch bào tử sau nuôi cấy đến nồng độ 6×10^6 bào tử/mL bằng nước cất vô trùng, thu được dịch bào tử phối trộn; và

(b) phối trộn chất mang tạo chế phẩm dịch bào tử nấm *Trichoderma asperellum* dùng cho phòng trừ nấm *Penicillium digitatum* gây thối cam:

bổ sung vào dịch bào tử phối trộn thu được từ bước (a) 10% glycerol, 0,2% carboxymetyl xenluloza (carboxymethyl cellulose – CMC) và 0,3% Tween 80 trong thiết bị khuấy trộn với tốc độ khuấy 200 vòng/phút trong 2 giờ, thu được chế phẩm dịch bào tử nấm *Trichoderma asperellum* dùng cho phòng trừ nấm *Penicillium digitatum* gây thối cam.

2. Quy trình theo điểm 1, trong đó không thực hiện ngay bước (b) phối trộn chất mang tạo chế phẩm dịch bào tử nấm *Trichoderma asperellum* dùng cho phòng trừ nấm *Penicillium digitatum* gây thối cam, và trong thời gian chờ thực hiện bước (b), thực hiện bảo quản dịch

bào tử sau nuôi cấy bằng cách lưu giữ trong chai thủy tinh vô trùng ở nhiệt độ 6°C trước khi thực hiện pha loãng để thu dịch bào tử phối trộn.

Hình 1**Hình 2**

Hình 3

Gây nhiễm nấm Penicillium digitatum

Phun chế phẩm dịch bào từ nấm Trichoderma asperellum

