

# ẢNH HƯỞNG CỦA XỬ LÝ CHIẾU XẠ GAMMA TỚI TỶ LỆ SỐNG SỐT, HÌNH THÁI VÀ KHẢ NĂNG SINH CELLULASE CỦA CHUNG NẤM *Trichoderma*

NGUYỄN THỊ THOM, TRẦN XUÂN AN, HOÀNG ĐĂNG SÁNG, NGUYỄN VĂN BÌNH,  
TRẦN MINH QUỲNH, TRẦN BĂNG DIỆP

*Trung tâm chiếu xạ Hà Nội, km 12, Đường 32, Minh Khai - Bắc Từ Liêm - Hà Nội*

*Email: tranfbangdiepj@yahoo.com*

**Tóm tắt:** Mục đích của nghiên cứu là bước đầu khảo sát tác dụng gây đột biến sinh cellulase cao ở chủng nấm *Trichoderma* bởi bức xạ gamma. Dung dịch bào tử của chủng nấm này được xử lý chiếu xạ ở dải liều 0-3000 Gy trên nguồn gamma Co-60 tại trung tâm chiếu xạ Hà Nội. Kết quả cho thấy, tỷ lệ bào tử *Trichoderma* sống sót giảm theo liều chiếu. Ở liều 3000 Gy, số lượng bào tử sống sót giảm đi 10 đơn vị Log so với đối chứng. Sau chiếu xạ, tiến hành sàng lọc trên môi trường PDA có bổ sung CMC (caboxymethyl cellulose) với chỉ thị Congo đỏ đã thu được hàng trăm khuẩn lạc có vòng phân giải CMC lớn hơn chủng ban đầu, trong đó 3 thể đột biến TTG-700, TTG-1000 và TTG-1200 có khả năng phân giải cellulose tăng 2,25-2,37 lần so với chủng gốc. Ba thể đột biến sinh cellulase cao này cũng có hình thái khuẩn lạc, tốc độ phát triển, hình thái bào tử đính ... khác xa so với chủng ban đầu.

**Từ khóa:** *Trichoderma*, bào tử, chiếu xạ gamma, tỷ lệ sống sót, đột biến, cellulase.

## I. MỞ ĐẦU

Việt nam là nước nông nghiệp có sản lượng lúa gạo đứng hàng đầu thế giới với hàng triệu tấn rơm rạ để lại sau thu hoạch mỗi năm. Đốt rơm rạ đã trở thành thói quen từ lâu của nông dân nhiều nước Đông Nam Á trong đó có Việt Nam. Tuy nhiên, nhiều nghiên cứu chỉ ra rằng đốt rơm rạ ngay trên đồng ruộng sẽ làm mất chất dinh dưỡng của đất. Đốt đồng nhiều lần và lâu dài sẽ làm cho đất biến chất và trở nên chai cứng, dẫn đến phát sinh nhiều bệnh dịch hại lúa [1]. Ngoài ra, khói rơm gây nguy hại tới sức khỏe do đốt rơm rạ gây nên ô nhiễm bụi mịn - một loại bụi độc hại khi chui sâu vào phổi gây các bệnh về hô hấp, thậm chí ung thư [2]. Không những thế, chính việc đốt rơm rạ còn khiến Việt Nam đang phải đối mặt với hiện tượng sương mù quang hóa - một loại ô nhiễm không khí đặc biệt do sự tương tác giữa bức xạ tia cực tím của mặt trời với khí thải từ động cơ xe máy, khí thải công nghiệp, khói từ cháy rừng, đốt nương rẫy, rơm rạ theo mùa vụ... [2]. Để giải quyết vấn đề này, đồng thời giảm được lượng phân bón sử dụng trong nông nghiệp thì phân hủy rơm rạ ngay trên đồng ruộng theo cách tự nhiên là một lựa chọn. Việc bổ sung thêm các loài vi sinh vật có khả năng phân hủy cellulose mạnh như một số loài nấm sợi, xạ khuẩn, vi khuẩn... vào nguyên liệu chứa cellulose hay rơm rạ trên đồng sau thu hoạch giúp việc phân hủy được nhanh chóng, triệt để, mang lại hiệu quả lâu dài và không gây ô nhiễm cho môi trường mà các thuốc hóa học không thể sánh kịp.

*Trichoderma* spp. là loại nấm sợi hiện diện gần như trong tất cả các loại đất và trong nhiều môi trường sống khác. Nhờ việc nuôi cấy dễ dàng, không tốn kém cùng với khả năng tiết enzyme cellulase hoạt tính cao gấp vài trăm lần so với vi khuẩn [3] mà các chủng *Trichoderma* đã thu hút được sự quan tâm đặc biệt. Cellulase ngoại bào từ một số chủng *Trichoderma* thường tồn tại dưới dạng tổ hợp đa enzyme (cellulosome) nhờ vậy mà chúng thủy phân hiệu quả cả vùng vô định hình và vùng tinh thể của cellulose. Trong khi đó, các enzyme đơn lẻ hoặc kể cả hỗn hợp của chúng không thực hiện đồng thời cả hai chức năng trên [4].

Các tia X,  $\gamma$ , tia neutron có bước sóng ngắn nên có khả năng ion hóa và khả năng xuyên sâu cao. Các tia phóng xạ có thể gây đột biến bằng cách làm đứt gãy ADN, thay đổi cấu trúc của ADN hoặc hình thành các hợp chất có hoạt tính không ổn định làm biến đổi ADN. Bức xạ ion hóa có thể tạo ra đột biến tại những vị trí xác định nhờ đó hoạt tính của vi sinh vật được cải thiện [5]. Ngoài ra, gây đột biến bằng bức xạ có nhiều ưu điểm như phổ đột biến rộng, tần suất đột biến cao... do đó sẽ làm tăng khả năng chọn được đột biến mong muốn và rút ngắn thời gian sàng lọc [6].

Để cải thiện khả năng sinh cellulase của *Trichoderma* nhiều nghiên cứu gây đột biến chủng nấm này bởi bức xạ tia gamma đã được thực hiện. Trong nghiên cứu của Shahbazi & cs, hoạt tính cellulase của *Trichoderma reesei* đã được cải thiện tăng 1,5-1,99 lần nhờ tác nhân đột biến tia gamma [4]. Khả năng tiết cellulase của *Trichoderma reesei* cũng tăng lên 1,8 lần bởi xử lý chiếu xạ gamma liều 2 kGy trong khảo sát của Masao & cs [7]. Trên cơ chất là bã mía, chủng *Trichoderma viride* được xử lý chiếu xạ liều 20 krad 2 lần liên tiếp có hoạt tính sinh cellulase tăng 253,5% thay vì chỉ tăng 134,5% khi xử lý 1 lần ở cùng liều chiếu [8].

Với mục đích sử dụng bức xạ gamma tạo chủng *Trichoderma* đột biến có khả năng sinh cellulase cao dùng làm nguyên liệu sản xuất chế phẩm phân giải nhanh rơm rạ ngay trên đồng ruộng, nghiên cứu này bước đầu khảo sát ảnh hưởng của bức xạ gamma tới tỷ lệ sống sót, sự thay đổi về hình thái cũng như khả năng sinh cellulase của chủng nấm *Trichoderma*.

## II. THỰC NGHIỆM

### 1. Vật liệu

Chủng *Trichoderma* TTG có khả năng sinh tổng hợp cellulase ngoại bào cao được cung cấp bởi Trung tâm Giống, Viện Công nghệ Sinh học, Viện Hàn lâm Khoa học Việt Nam.

Môi trường nuôi cấy vi sinh vật: PDA (Potato Dextro Agar) do hãng Difco cung cấp. Các hóa chất: CMC (carboxymethyl cellulose) (Sigma), Congo Red (Sigma), Agar (Hạ long)... đều đảm bảo độ sạch phân tích.

### 2. Phương pháp

#### 2.1. Bảo quản và giữ giống

Chủng giống thuần *Trichoderma* TTG được bảo quản theo phương pháp cấy truyền trên ống thạch nghiêng chứa môi trường PDA, nuôi trong tủ ẩm ở 28 °C trong 72 giờ và được bảo quản tối đa 30 ngày ở 4 °C trước khi cấy truyền đợt tiếp theo.

#### 2.2. Xử lý chiếu xạ

**Chuẩn bị dung dịch bào tử:** Chủng *Trichoderma* TTG được nuôi cấy trên đĩa petri ở 28 °C. Sau 7 ngày, tiến hành gạt toàn bộ số bào tử mọc trên bề mặt đĩa vào 100 ml dung dịch NaCl 0,9% có bổ sung Twin 80 theo tỷ lệ 1/99 để thu dung dịch bào tử có nồng độ khoảng  $10^{12}$  CFU/ml.

**Chiếu xạ dung dịch bào tử:** Các ống nghiệm vô trùng có chứa 10 ml dung dịch bào tử *Trichoderma* TTG được đem xử lý chiếu xạ trên nguồn gamma Co-60 ở dải liều 0-3000 Gy (3 ống nghiệm lặp lại cho mỗi liều). Liều kế Gammachrome YR được sử dụng để đo liều hấp thụ.

#### 2.3. Xác định số lượng bào tử :

Dung dịch bào tử (trước và sau chiếu xạ) được pha loãng theo dãy thập phân. 0,1 ml mẫu ở các độ pha loãng thích hợp được cấy vào đĩa petri chứa môi trường PDA (3 đĩa petri/độ pha

loãng). Sử dụng que gạt vô trùng dàn đều dịch cấy trên bề mặt thạch. Tiến hành đếm số khuẩn lạc sau 72 giờ nuôi cấy ở 28 °C và tính số lượng bào tử (Mi) trong 1 ml mẫu theo công thức:

$$Mi \text{ (CFU/ml)} = Ai \times Di/V$$

Trong đó:  $Ai$  là số khuẩn lạc trung bình/đĩa;  $Di$  là độ pha loãng và  $V$  là thể tích dịch bào tử cấy vào mỗi đĩa (ml)

#### 2.4. Sàng lọc các đột biến sinh cellulase cao

Khả năng phân hủy cellulose của các chủng *Trichoderma* được xác định định tính bằng phương pháp khuếch tán trên đĩa thạch PDA có chứa cơ chất CMC và chất chỉ thị Congo đỏ.

Sau khi chiếu xạ, dung dịch bào tử *Trichoderma* ở các liều khác nhau ngay lập tức được cấy trải lên môi trường PDA có bổ sung CMC và congo đỏ. Đĩa sau khi cấy được ủ ấm ở 28 °C, vòng phân giải CMC sẽ xuất hiện ngoài rìa các khuẩn lạc sau 2-3 ngày nuôi cấy. Sau khi vòng phân giải CMC xuất hiện, các đĩa petri sẽ được đưa vào tủ lạnh ở 4 °C nhằm thu được vòng phân giải CMC tối đa. Khả năng phân hủy cellulose được đánh giá thông qua chỉ số HC (Hydrolysis Capacity) theo công thức [9]:

$$HC = \text{Đường kính vòng phân giải} / \text{Đường kính khuẩn lạc}$$

Những khuẩn lạc có chỉ số HC lớn hơn 10% so với chỉ số HC của chủng thuần đều được coi là các khuẩn lạc đột biến có khả năng sinh cellulase cao.

#### 2.5. Đánh giá sự thay đổi hình thái của các khuẩn lạc đột biến

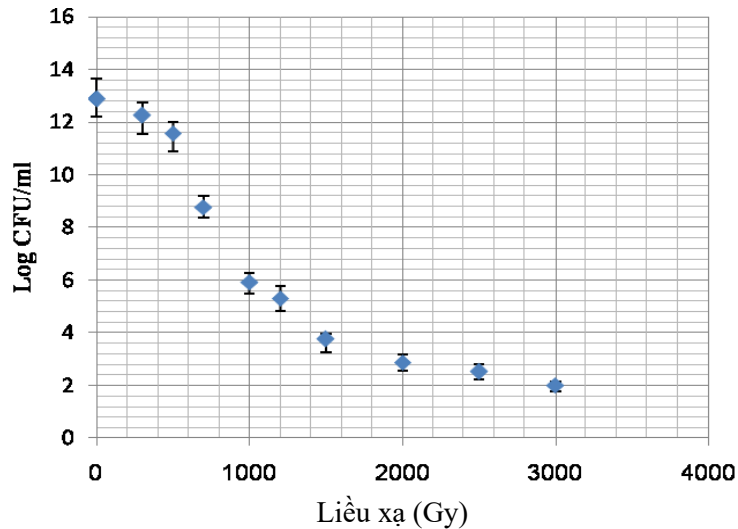
Đặc điểm hình thái của các khuẩn lạc sinh cellulase cao sàng lọc sau chiếu xạ được so sánh với chủng *Trichoderma* TTG thuần. Sự phát triển và màu sắc của khuẩn lạc, cấu trúc hệ sợi nấm... được quan sát bằng vật kính 10 x, trong khi đó, sự khác nhau về hình thái bào tử được quan sát bằng vật kính 40 x của kính hiển vi huỳnh quang kỹ thuật số CELENAS (Logos Bio - Hàn Quốc).

### III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

#### 3.1. Ảnh hưởng của xử lý chiếu xạ tới tỷ lệ sống sót của chủng *Trichoderma* TTG

Tác động của bức xạ gamma tới sự phát triển của chủng *Trichoderma* TTG được xác định thông qua số khuẩn lạc *Trichoderma* TTG sống sót trong dung dịch bào tử nấm được xử lý chiếu xạ ở dải liều từ 300 đến 3000 Gy. Hình 1 biểu diễn mối tương quan giữa Logarit số lượng bào tử nấm sống sót (CFU/ml) và liều chiếu xạ. Kết quả cho thấy, số lượng bào tử sống sót phụ thuộc vào liều chiếu. Số lượng bào tử giảm mạnh trong khoảng liều từ 300-1200 Gy, ở các liều cao hơn số lượng bào tử ít có sự chênh lệch hơn.

Nghiên cứu ảnh hưởng của chiếu xạ gamma tới đặc điểm hình thái và tính đối kháng của *Trichoderma viride* với nấm gây bệnh *M.phaseolina*, Baharvand & cs nhận thấy, tỷ lệ sống sót của *Trichoderma viride* là 9,7% ở liều chiếu 400 Gy và các tác giả đã không quan sát được bất cứ sự nảy mầm nào của các bào tử nấm ở liều 450 Gy [10]. Khi xác định liều khử nhiễm một số loại nấm gây hại trên các di sản văn hóa là các loại vật liệu có nguồn gốc là tự nhiên (giấy, da thuộc, đồ dệt...), Laura & cs nhận thấy D10 (liều gây chết 90% số lượng bào tử nấm) của *Trichoderma viride* nằm trong khoảng từ 450-500 Gy [11]. Tuy nhiên, nghiên cứu của chúng tôi cho thấy số lượng bào tử *Trichoderma* TTG còn khoảng 5% khi xử lý chiếu xạ liều ở 500 Gy. Những khác biệt trong các kết quả nghiên cứu nêu trên có thể được giải thích khi cho rằng các yếu tố như nhiệt độ, giai đoạn sinh trưởng, bản chất của môi trường dạng khí, thành phần hóa học của môi trường nuôi cấy... cũng như điều kiện sinh lý và khả năng tự sửa chữa của tế bào nấm đã ảnh hưởng đến sự tồn tại của chúng sau chiếu xạ.



**Hình 1.** Số lượng bào tử *Trichoderma* TTG sống sót sau xử lý chiếu xạ

Tác động gây chết của bức xạ gamma đối với các tế bào vi sinh vật có thể giải thích theo Tause khi cho rằng các tia bức xạ năng lượng cao đã gây tổn thương trực tiếp tới cấu trúc ADN của vi sinh vật dẫn tới những biến đổi làm cho chúng không thể phát triển hoặc tiếp tục sao chép. Thêm vào đó, các tia năng lượng cao còn tác động tới các phân tử nước vốn chiếm tới 80% thành phần tế bào vi sinh vật, gây nên hiện tượng xạ ly của các phân tử này và tạo ra các gốc tự do hoạt động. Các gốc tự do hoạt động tiếp tục gây ra các tổn thương gián tiếp tới cấu trúc ADN [12].

### 3.2. Độ biến sinh cellulase cao tạo được bằng xử lý chiếu xạ gamma



A

B

C

**Hình 2.** Vòng phân giải CMC bao quanh các khuẩn lạc *Trichoderma* TTG chiếu xạ ở các liều 300 Gy (A), 500 Gy (B) và 1000 Gy (C)

Các khuẩn lạc *Trichoderma* sống sót sau chiếu xạ chỉ số HC lớn hơn 10% so với chủng thuần đều được coi là các khuẩn lạc đột biến có khả năng sinh cellulase cao. Kết quả cho thấy khuẩn lạc sinh cellulase cao xuất hiện ở tất cả các liều chiếu xạ với vòng phân giải CMC bao quanh các khuẩn lạc trên môi trường sàng lọc có chỉ thị Congo đỏ (Hình 2). Tuy nhiên, số lượng khuẩn lạc có chỉ số HC cao là khác nhau ở mỗi liều chiếu xạ. Bảng 1 cho thấy giá trị HC trung bình cũng như giá trị HC lớn nhất ở các khuẩn lạc *Trichoderma* tại các liều chiếu xạ khác nhau. Khoảng liều chiếu từ 700 - 1200 Gy thu được nhiều hơn các khuẩn lạc có chỉ số HC cao so các liều còn lại. Điều này được thể hiện rõ ở giá trị HC trung bình, giá trị này là 1,750, 1,911 và 1,877 tương ứng với các liều 700, 1000 và 1200 Gy. Tại các liều chiếu xạ này cũng thu được các

khủng lạc có khả năng phân giải cellulose cao nhất với giá trị HC Max là 2,784;2,922 và 2,777, trong khi đó giá trị này ở chủng thuần là 1,230.

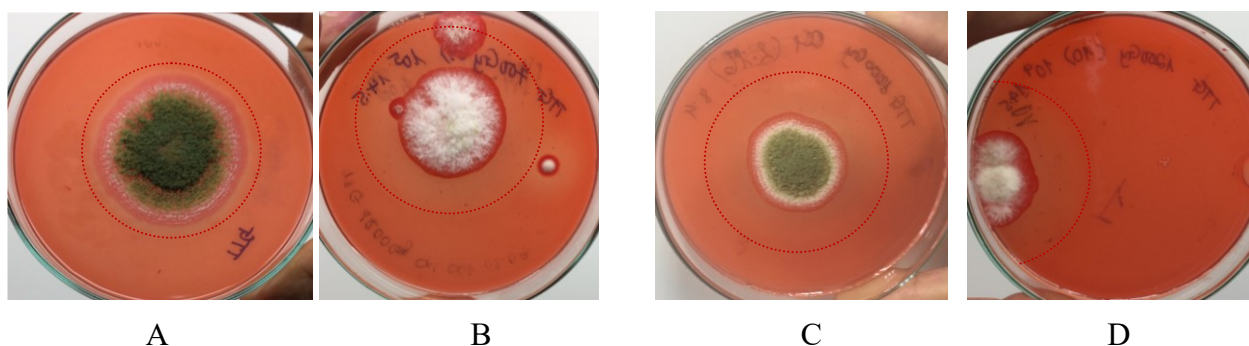
Một số nghiên cứu sử dụng bức xạ gamma tạo các đột biến sinh cellulase cao ở *Trichoderma* cũng đã cho thấy hiệu quả của loại tác nhân này. Trên cơ chất là bã mía, chủng *Trichoderma viride* được xử lý chiếu xạ liều 20 krad 2 lần liên tiếp có hoạt tính sinh cellulase tăng 253,5% thay vì chỉ tăng 134,5% khi xử lý 1 lần ở cùng liều chiếu [8]. Trong nghiên cứu của Shahbazi & cs, hoạt tính cellulase của *Trichoderma reesei* đã được cải thiện tăng 1,5-1,99 lần nhờ tác nhân đột biến tia gamma [4]. Trong một khảo sát khác, khả năng tiết cellulase của chủng nấm này tăng lên 1,8 lần bởi chiếu xạ gamma liều 2 kGy [7]. Nghiên cứu của chúng tôi cho thấy chiếu xạ gamma khoảng liều 700-1200Gy đã tạo ra được các thể đột biến có khả năng phân hủy cellulose mạnh, cao hơn 2,25 - 2,37 lần lần so với chủng thuần ban đầu.

**Bảng 1.** Khả năng phân hủy cellulose ở các chủng lạc *Trichoderma* TTG xử lý chiếu xạ liều khác nhau

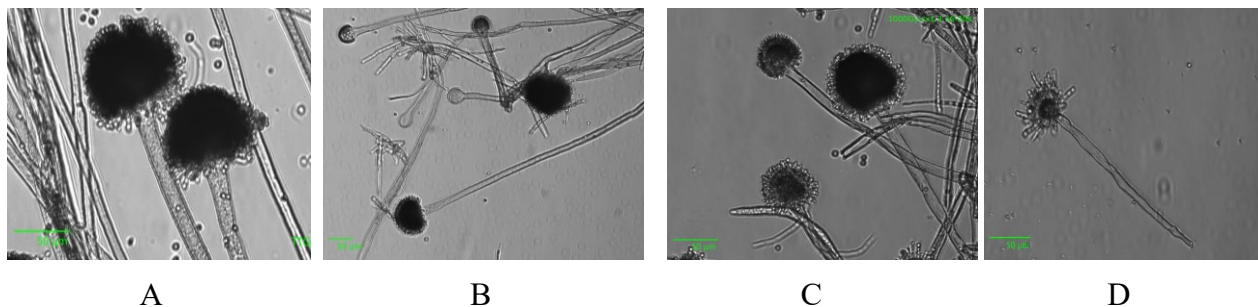
Liều chiếu (Gy)	Khả năng phân hủy cellulose (chỉ số HC)	
	Trung bình	Max
TTG-thuần	-	1,230
300	1,653	2,229
500	1,645	2,230
700	1,750	2,784
1000	1,911	2,922
1200	1,877	2,777
1500	1,669	2,071
2000	1,492	2,366
2500	1,554	2,154
3000	1,572	1,844

### 3.3. Đặc điểm hình thái của các thể *Trichoderma* đột biến

Ba thể đột biến TTG-700, TTG-1000 và TTG-1200 (được tạo ra ở dải liều 700-1200 Gy) có hoạt tính sinh cellulase lớn nhất được lựa chọn từ hàng trăm chủng lạc *Trichoderma* chiếu xạ có khả năng phân hủy cellulose cao. Các thể đột biến này sẽ được nuôi cấy trên môi trường PDA có chứa cơ chất CMC với chỉ thị Congo đỏ, vòng phân giải CMC, hình thái, tốc độ phát triển chủng lạc, hình thái bào tử đính ... của chúng được so sánh với chủng thuần ban đầu.



**Hình 3.** Hình thái chủng lạc và vòng phân giải CMC của chủng thuần *Trichoderma* TTG (A) và các thể đột biến TTG-700 (B), TTG-1000(C), TTG-1200 (D) sau 72 giờ nuôi cấy.



**Hình 4.** Hình thái bào tử đỉnh của chủng thuần *Trichoderma* TTG (A) và các thể đột biến TTG-700 (B), TTG-1000(C), TTG-1200 (D) sau 72 giờ nuôi cấy

Hình 3 cho thấy sự khác nhau về về màu sắc, đường kính khuẩn lạc, sự phát triển hệ sợi cũng như thời gian phát sinh bào tử giữa chủng thuần TTG và 3 thể đột biến có khả năng sinh cellulase cao. Sau 72 giờ nuôi cấy, đường kính khuẩn lạc chủng thuần lớn hơn đáng kể so với các thể đột biến (đạt kích thước 37 mm), các khuẩn lạc đột biến TTG-700, TTG-1000 và TTG-1200 có đường kính nhỏ hơn, tương ứng là 28; 29 và 15 mm. Điều này chứng tỏ xử lý chiếu xạ làm thay đổi tốc độ phát triển của chủng *Trichoderma*, cụ thể là các đột biến được lựa chọn đều sinh trưởng chậm hơn so với chủng ban đầu. Quan sát hình thái khuẩn lạc của chủng thuần và các thể đột biến cũng nhận thấy: sau 72 giờ nuôi cấy ở chủng thuần các bào tử trưởng thành đã được hình thành, hệ sợi nấm khá đồng nhất, khuẩn lạc màu xanh đậm. Trong khi đó, các khuẩn lạc được chiếu xạ đang trong giai đoạn phát sinh bào tử non, hệ sợi không đồng nhất, khuẩn lạc có màu trắng hoặc xanh nhạt, đôi khi xen kẽ cả trắng và xanh. Khả năng phân hủy cellulose cao của các thể đột biến cũng thể hiện khá rõ trên hình 3 thông qua hình ảnh kích thước vòng phân giải CMC của chúng so với chủng thuần.

Hình ảnh thu được của các bào tử nấm khi quan sát trên kính hiển vi kỹ thuật số với độ phóng đại 40x (hình 4) cho thấy: ở chủng thuần kích thước bào tử đỉnh lớn - đây là những bào tử đã trưởng thành, không có sự xuất hiện của các bào tử đỉnh non. Ở thể đột biến TTG-700 rất ít bào tử đỉnh trưởng thành được quan sát mà chủ yếu là hình ảnh các bào tử đỉnh non. Đối với TTG-1000, tương ứng khuẩn lạc màu xanh nhạt (hình 3), các bào tử đỉnh trưởng thành đã xuất hiện nhiều, tuy nhiên vẫn quan sát được sự xuất hiện các bào tử non với kích thước bào tử đỉnh nhỏ hơn đáng kể so với kích thước bào tử đỉnh của chủng thuần. Riêng TTG-1200, vì khuẩn lạc sinh trưởng và phát triển chậm nhất nên có sự khác biệt đáng kể về hình thái bào tử đỉnh so với chủng TTG thuần và hai thể đột biến còn lại.

Khi nghiên cứu tác động của chiếu xạ gamma tới nấm *Aspergillus niger*, Esmat & cs cũng đã nhận thấy ngoài việc làm tăng đáng kể hoạt tính của một số enzyme chẳng hạn lipase, protease, cellulase thì chiếu xạ khoảng liều từ 1-3 kGy đã làm hình thái, tốc độ phát triển của khuẩn lạc cũng như hình thái túi bào tử nấm sai khác nhiều so với chủng ban đầu [13].

#### IV. KẾT LUẬN

Xử lý chiếu xạ tia gamma dung dịch bào tử nấm *Trichoderma* TTG ảnh hưởng đáng kể tới tỷ lệ sống sót chúng. Tỷ lệ bào tử sống sót giảm dần khi liều xạ tăng dần trong dải liều 300-3000 Gy. Ở liều 3000 Gy, số lượng bào tử sống sót giảm đi 10 đơn vị Log so với đối chứng. Từ hàng trăm khuẩn lạc *Trichoderma* chiếu xạ có khả năng phân hủy cellulose cao, bước đầu đã lựa chọn được 3 thể đột biến TTG-700, TTG-1000 và TTG-1200 (được tạo ra ở dải liều 700-1200 Gy) có

khả năng phân giải cellulose tăng 2,25-2,37 lần so với chủng gốc. Ba thể đột biến này cũng có hình thái khuẩn lạc, tốc độ phát triển, hình thái bào tử đỉnh ... khác xa so với chủng ban đầu.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Martin, J. P., Bransonand, R. L., Jarrell, W. M. (1978): Decomposition of organic material used in planting mixes and some effects on soil properties and plant growth. *Agrochimica*, 22, 248-261.
2. <http://vea.gov.vn/vn/quanlymt/suckhoemoitruong>
3. Xu, F., Wang, J., Chen, S., Qin, W., Yu, Z., Zhao, H., Xing, X., Li, H. (2011): Strain Improvement for enhanced production of cellulose in *Trichoderma viride*. *Applied Biochemistry and Microbiology*, Vol. 47, 1.
4. Shahbazi, S., Ispareh, K., Karimi, M., Askari, H., Ebrahimi, M. A. (2014): Gamma and UV radiation induced mutagenesis in *Trichoderma reesei* to enhance cellulases enzyme activity. *International Journal of Farming and Allied Sciences*. Vol. 3, 5, 543-554.
5. Awan SD., Tabbasam N., Ayub N., Babar ME., Rahman M., Rân SM., Rajoka MI. (2011): Gamma radiation induced mutagenesis in *Aspergillus niger* to enhance its microbial fermentation activity for industrial enzyme production. *Mol. Biol. Rep*, 38, 1367-1374.
6. Diep T. B., Thom N. T., Sang H. D., Thao H. P., Binh N. V., Thuan T. B., Lan V. T. T., Quynh T. M. (2016): Screening streptomycin resistant Bacillus subtilis B5 producing high protease from gamma-radiation mutagenesis. *VNU Journal of Science: Natural Science and Technology*, 1S, 32, 170-176.
7. Masao, T., Noboru, K., Isao, K. (1987): Effects of gamma-ray irradiation on cellulose secretion of *Trichoderma resei*. *Ferment. Technol*, Vol. 65, 6, 703-705.
8. El-Zawahry, Y.A., Mostafa, I.Y. (1991): Effect of gamma irradiation on the production of cellulase enzyme by some fungal isolates. *Isotope and Radiation Research*, Vol. 19, 1, 43-50.
9. Pratima, G., Kalpana S., Avinash, S. (2011): Isolation of cellulose-degrading bacteria and determination of their cellulolytic potential. *International Journal of Microbiology*, Vol. 2012, Article ID 578925.
10. Baharvad, A., Shahbazi, S., Afsharmanesh, H., Ebrahimi, M. A., Askari, H. (2014): Investigation of gamma irradiation on morphological characteristics and antagonist potential of *Trichoderma viride* against *M. phaseolina*. *International Journal of Farming and Allied Science*, 1157-1164.
11. Laura, T., Florina, L. Z., Mioara, A., Mihaela, E., Mihai, C., Alexandru, A., Mihalis, C., Ovidui, I., Rodica, I. S. (2014): Radioresistance of biodegradation fungi and its importance in establishing the decontamination dose. *ICAMS 2014-5<sup>th</sup> International Conference on Advanced Materials and Systems*.
12. Tause, R. V. (2011): Food safety and irradiation: protection the public from food borne infections. *Emerging Infections Dis.*, 7, 516-522.
13. Esmat, E. A., Abd-El-Hamid, G., Abo-El-Soued, M. A., Khalil, N. M., Mostafa, H. S. (2016): Mutagenic effect of gamma irradiation on phenotype and enzyme activities in *Aspergillus niger*. *Egypt. J. Bot*, Vol. 56, No, 2, 507-526.

# **EFFECT OF GAMMA IRRADIATION ON THE SURVIVAL RATE, PHENOTYPE AND CELLULASE ACTIVITY IN *Trichoderma***

NGUYEN THI THOM, TRAN XUAN AN, HOANG DANG SANG, NGUYEN VAN BINH,  
TRAN MINH QUYNH, TRAN BANG DIEP

*Hanoi Irradiation Centre, Minh Khai- Tu Liem- Hanoi*

*Email:tranfbangdiepj@yahoo.com*

## **ABSTRACT**

The motivation of our research is to examine the mutagenic effect of gamma irradiation on cellulase secretion of *Trichoderma*. The spore suspensions of this fungus were irradiated at a dose ranging 0-3000 Gy under gamma Cobalt-60 source at Hanoi Irradiation Center. The result showed that the survival rate of *Trichoderma* decreases with the increasing dose. At the dose of 3000 Gy, the quantity survival spore decreased by 10 Log unit. By screening in PDA medium with the addition of CMC (cabonxymethyl cellulose) and Congo-Red as an indicator for cellulose degradation after irradiation, hundreds of colonies with a larger diameter of clearing zone compared to the initial strain were observed. It is important to notice the 3 mutants TTG-700, TTG-1000, TTG-1200, which demonstrates the higher cellulose degradation (2.25–2.37 times) compared to the wild type. Significant differences in the morphology and growth rate of colonies, morphology of conidium,... compared to their parent, were also observed in these 3 high cellulase-producing mutants.

***Key words:*** *Trichoderma, spore, gamma irradiation, survival rate, mutant, cellulase*