

## ẢNH HƯỞNG CỦA NGUỒN DINH DƯỠNG VÀ ĐIỀU KIỆN NUÔI CẤY ĐẾN KHẢ NĂNG TĂNG TRƯỞNG VÀ PHÁT TRIỂN CỦA MỘT SỐ CHỦNG *TRICHODERMA* PHÂN LẬP TỪ BÃ THẢI TRỒNG NẤM BÀO NGƯ

Lê Thị Thịnh<sup>1</sup>, Nguyễn Thị Tường Vy<sup>1</sup>

### TÓM TẮT

Bài báo trình bày ảnh hưởng của các nguồn dinh dưỡng (carbon, nitrogen, khoáng chất) và điều kiện nuôi cấy (pH, nhiệt độ) đến sự tăng trưởng và hình thành bào tử của ba chủng *Trichoderma* (NHN3, NHN5, GP7) được phân lập từ mùn cưa bã thải sau trồng nấm bào ngư (MBNBN). Kết quả cho thấy, các chủng phản ứng khác nhau với từng loại carbon; cám bắp thích hợp với chủng NHN3, hỗn hợp các loại tinh bột thích hợp với chủng NHN5, còn cám gạo là tối ưu đối với chủng GP7. Sự phối hợp giữa nitrogen hữu cơ (peptone, cao nấm men) và vô cơ ((NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, ure) cho hiệu quả cao hơn so với sử dụng đơn lẻ. Kết quả cũng cho thấy nhu cầu khoáng của các chủng nấm không giống nhau; hầu hết khi bổ sung thêm một lượng hợp lý đa lượng và vi lượng sẽ làm tăng mật độ bào tử tạo thành. Nếu tiếp tục tăng khoáng sẽ giảm số lượng bào tử. Riêng với chủng NHN3, các nghiệm thức khảo sát không làm thay đổi mật độ bào tử so với đối chứng. pH tối ưu từ 5-6, nhiệt độ từ 25-30°C là thích hợp cho sự sinh trưởng và hình thành bào tử. Bằng việc tối ưu hóa các yếu tố trên, mật độ bào tử thu được cao hơn rất nhiều so với đối chứng và vượt tiêu chuẩn quy định hiện hành cho chế phẩm vi sinh hữu ích. Kết quả nghiên cứu là tiền đề quan trọng để tiến hành sản xuất thử nghiệm chế phẩm vi sinh *Trichoderma* ở quy mô lớn hơn.

**Từ khóa:** mùn cưa thải, *Trichoderma*, điều kiện nuôi cấy, nguồn dinh dưỡng.

### 1. Mở đầu

*Trichoderma* là một chi nấm thuộc họ Hypocreaceae được ứng dụng nhiều nhất trong nông nghiệp [8] nhờ vào khả năng ký sinh và tiêu diệt nhiều loại nấm gây bệnh trên cây trồng, đặc biệt là các loài nấm gây bệnh vùng rễ (như các loài *Sclerotinia sclerotiorum*, *Rhizoctonia solani*, các loài trong chi *Fusarium*, *Phytophthora*...) [10]. Các cơ chế kháng nấm bệnh bao gồm khả năng ký sinh, tiết chất kháng sinh và cạnh tranh môi trường sống với các loài nấm gây bệnh [12, 14].

Là các vi sinh vật phân huỷ, *Trichoderma* có thể phát triển trên nhiều nguồn cơ chất carbon và nitrogen phức tạp khác nhau. Tuy nhiên, nhu cầu dinh dưỡng và điều kiện sinh sống của nấm thay đổi tùy theo loài [2, 3]. Do đó, việc khảo sát ảnh hưởng của các nguồn nguyên liệu, điều kiện nuôi cấy lên sự sinh trưởng và phát triển của các chủng nấm *Trichoderma* trong điều kiện phòng thí nghiệm làm tiền đề để nghiên cứu sản xuất công nghiệp chế phẩm *Trichoderma* ứng dụng trong nông nghiệp là rất cần thiết. Đây cũng chính là nội dung chúng tôi trình bày trong bài báo này.

## 2. Nguyên liệu và phương pháp nghiên cứu

### 2.1. Nguyên liệu

Chúng tôi sử dụng 03 chủng *Trichoderma* NHN3, NHN5 và GP7 làm nguồn nguyên liệu nghiên cứu [1].

### 2.2. Phương pháp nghiên cứu

#### 2.2.1. Phương pháp chuẩn bị giống

Giống cấp 1 được nuôi trong môi trường lỏng với thành phần gồm: 1 g yeast extract, 1 g peptone, 15 g glucose, 1,4 g  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ , 2 g  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 0,4 g  $\text{CaCl}_2$ , 0,5 g  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 0,001 g  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 0,001 g  $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ , 0,001 g  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , nước cất đủ 1 lít, pH 6.0 [4]. Môi trường được chuẩn bị trong các bình nuôi cấy lỏng (50 ml trong bình 100 ml) và nuôi cấy lắc ở 28°C trong 72 giờ. Giống sau đó được cấy chuyển theo tỷ lệ 10% thể tích/khối lượng (v/w) qua môi trường rắn có thành phần 20% MBNBN, 20% cám bắp và 60% nước. Môi trường cấp 2 được chuẩn bị 100 g trong hộp nhựa 500 ml. Ủ 5 ngày ở 28°C thu được giống cấp 2.

#### 2.2.2. Bố trí thí nghiệm xác định ảnh hưởng của nguồn carbon

Bố trí các nghiệm thức môi trường thành phần như sau: 22% MBNBN (sấy khô) và 60% nước, bổ sung thêm các thành phần với tỷ lệ % như ở Bảng 1. Môi trường được chuẩn bị trong các hộp nhựa 2 lít, mỗi hộp chứa 400 g môi trường, hấp ở 121°C trong 45 phút. Cấy giống cấp 2 vào các hộp với tỷ lệ 10% khối lượng/khối lượng (w/w) và trộn đều, ủ 10 ngày ở 28°C và đánh giá hiệu quả của môi trường thông qua mật độ bào tử hình thành.

**Bảng 1.** Các nghiệm thức khảo sát ảnh hưởng của nguồn carbon lên mật độ bào tử hình thành của các chủng nấm *Trichoderma* có tiềm năng

Tên nghiệm thức	Cám bắp	Cám gạo	Cám mì
C0	0	0	0
C1	18	0	0
C2	0	18	0
C3	0	0	18
C4	6	6	6

#### 2.2.3. Bố trí thí nghiệm xác định ảnh hưởng của nguồn nitrogen

Bố trí các nghiệm thức môi trường thành phần như sau: 22% MBNBN (sấy khô) và 60% nước, bổ sung nguồn carbon tối ưu đã khảo sát ở mục 2.2.2. Bổ sung nguồn đạm theo các công thức ở Bảng 2. Môi trường thanh trùng tương tự như ở mục 2.2.2.

**Bảng 2.** Các nghiệm thức khảo sát ảnh hưởng của nguồn nitrogen lên mật độ bào tử hình thành của các chủng nấm *Trichoderma* có tiềm năng

Tên nghiệm thức	Urea	(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Hỗn hợp Pepton: cao nấm (1:1)
N0	0	0	0
N1	3 g/kg	0	0
N2	0	3 g/kg	0
N3	0	0	20 g/kg
N4	1,5 g/kg	1,5 g/kg	0
N5	1 g/kg	1 g/kg	7 g/kg

**2.2.4. Bố trí thí nghiệm xác định ảnh hưởng của nguồn khoáng**

Bố trí các nghiệm thức môi trường thành phần như sau: 22% MBNBN (sấy khô) và 60% nước, bổ sung nguồn carbon, nguồn nitrogen tối ưu đã khảo sát ở mục 2.2.2 và mục 2.2.3. Bổ sung nguồn khoáng theo các công thức ở Bảng 3. Môi trường thanh trùng tương tự như ở mục 2.2.2.

**Bảng 3.** Các nghiệm thức khảo sát ảnh hưởng của nguồn nitrogen lên mật độ bào tử hình thành của các chủng nấm *Trichoderma* có tiềm năng

Tên nghiệm thức	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> g/kg	MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O g/kg	CaCl <sub>2</sub> g/kg	Dung dịch vi lượng FeSO <sub>4</sub> – MnSO <sub>4</sub> – ZnSO <sub>4</sub> 1g/L mỗi loại (mL/kg)
K0	0	0	0	0
K1	1	0,5	0,4	1
K2	1	1	0,8	2
K3	1	1	0,8	1
K4	2	0,5	0,4	2
K5	2	1	0,8	3

**2.2.5. Bố trí thí nghiệm xác định ảnh hưởng của pH**

Từ môi trường tối ưu đã xác định được ở mục 2.2.4, chỉnh pH môi trường nuôi cấy ở các giá trị 4, 5, 6, 7. Môi trường thanh trùng tương tự như ở mục 2.2.2. Cây giống cấp 2

vào các hộp với tỷ lệ 10% w/w và trộn đều, ủ 10 ngày ở 28°C và đánh giá hiệu quả của môi trường thông qua mật độ bào tử hình thành.

### 2.2.6. Bộ trí thí nghiệm xác định ảnh hưởng của nhiệt độ

Sử dụng công thức môi trường và pH tối ưu cho từng chủng đã được xác định qua các nghiệm thức trên, nuôi cấy ở các điều kiện nhiệt độ 25, 30, 35, 40°C. Ủ 10 ngày và đánh giá hiệu quả thông qua mật độ bào tử hình thành.

### 2.2.7. Phương pháp xác định mật độ Trichoderma

Sau 7 ngày nuôi cấy lấy 10 g môi trường pha loãng với 90 ml nước cất, lắc đều và tiếp tục pha loãng bậc 10 bằng nước muối sinh lý xuống các độ pha loãng phù hợp. Cấy trải trên đĩa môi trường PGA (có thành phần gồm: 200 g khoai tây, 20 g glucose, 20 g agar và nước cất vừa đủ 1 lít), ủ ở 30°C trong 36 giờ và đếm số khuẩn lạc nấm hình thành.

$$\text{Mật độ bào tử} = \frac{N \times a}{V} \text{ (CFU/g)}$$

Trong đó N là số khuẩn lạc đếm được, a là độ pha loãng, V là thể tích cấy (ml).

### 2.2.8. Phương pháp xử lý số liệu thống kê

Các số liệu được lặp lại ít nhất 3 lần, tính trung bình, độ lệch chuẩn và phân tích phương sai (ANOVA) để xác định sự sai khác giữa các giá trị trung bình, sử dụng Tukey's Test bằng phần mềm IBM SPSS 20.

## 3. Kết quả-thảo luận

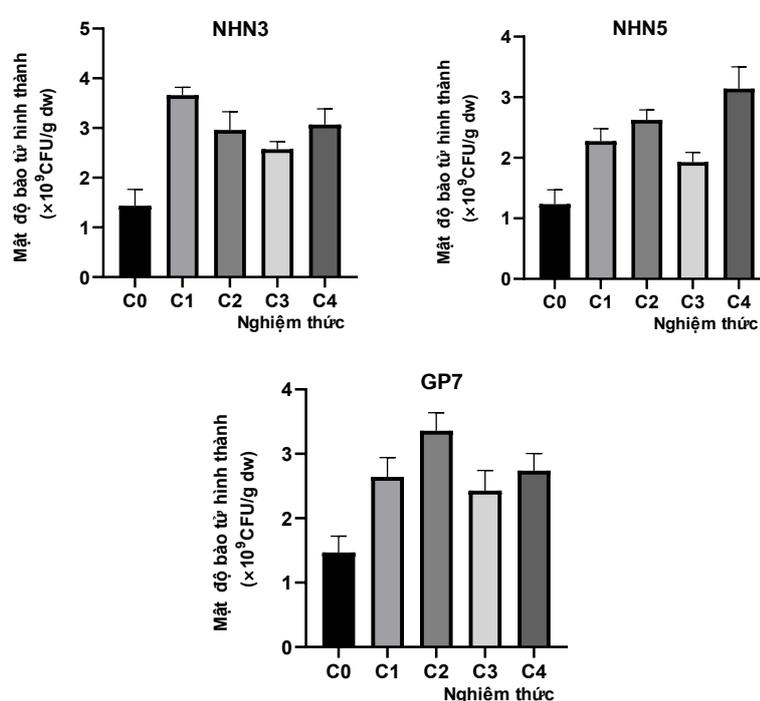
### 3.1. Ảnh hưởng của nguồn carbon lên tăng trưởng và phát triển của các chủng có tiềm năng

Ảnh hưởng của các nguồn carbon khác nhau đến sự tăng trưởng và phát triển của các chủng NHN3, NHN5 và GP7 được trình bày ở Hình 1. Kết quả cho thấy bổ sung các nguồn tinh bột vào bã thải mùn cưa làm gia tăng đáng kể mật độ bào tử hình thành của chủng NHN3. Trong đó, bổ sung cám bắp 18%, đạt  $1,83 \times 10^9$ , so với lô đối chứng là  $0,83 \times 10^9$ , cho hiệu quả cao nhất so với các nghiệm thức bổ sung cám gạo, bột mì và hỗn hợp cả 3 loại (6% mỗi loại). Bổ sung cám gạo hoặc hỗn hợp cả ba loại cho hiệu quả tương đương nhau và hiệu quả giảm khi chỉ bổ sung bột mì.

Đối với chủng NHN5 kết quả cho thấy khi bổ sung tinh bột ở dạng hỗn hợp cả tinh bột mì, cám bắp và cám gạo cho hiệu quả cao hơn hẳn bổ sung riêng lẻ từng loại. Ba nguồn tinh bột này cho hiệu quả không khác nhau đáng kể đối với mật độ bào tử hình thành nhưng khi phối trộn lại làm tăng hiệu quả đáng kể. Việc bổ sung tinh bột nói chung làm tăng lượng bào tử, nguyên nhân có lẽ do bã thải mùn cưa không có nhiều dinh dưỡng nên việc thêm tinh bột đã gia tăng đáng kể nguồn dinh dưỡng và làm tăng khả năng sinh trưởng của nấm.

Ở trường hợp của GP7, bổ sung cám gạo là nghiệm thức gia tăng mật độ bào tử tốt nhất. Hai nguồn tinh bột còn lại và khi sử dụng hỗn hợp cho kết quả tương đương. Việc bổ sung bất kỳ loại tinh bột nào cũng đều làm gia tăng đáng kể mật độ bào tử tạo thành.

Như vậy, các nguồn carbon có ảnh hưởng khác nhau đến sự hình thành bào tử của nấm *Trichoderma* tùy theo chủng. Onilude và cs (2012) nhận thấy trong số các nguồn carbon sử dụng trong nuôi cấy mẻ là glucose, manitol, tinh bột, cám lúa mì và cám gạo thì tinh bột và manitol cho sản lượng bào tử tốt nhất [9]. Trong khi đó, Nguyễn Tiên Dũng và cs (2022) khi khảo sát ảnh hưởng của một số nguồn carbon gồm lúa, cám gạo, than bùn và hỗn hợp cám mì-cám bắp cho thấy lúa là nguồn carbon cho kết quả tốt nhất, sau đó là cám gạo và hỗn hợp cám mì, cám bắp với mật độ đều đạt trên  $6 \times 10^9$  CFU/g [2].



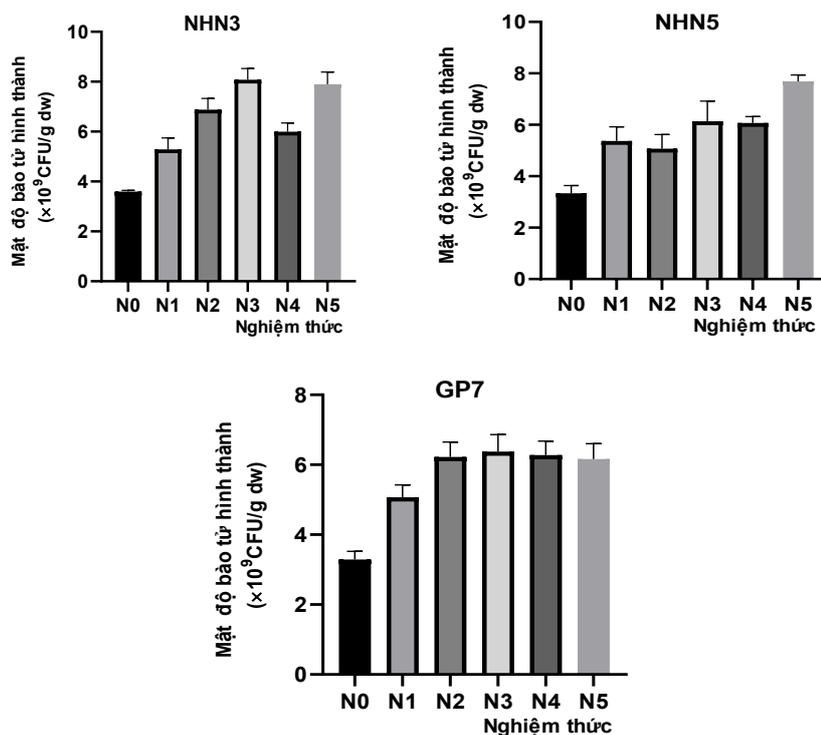
**Hình 1.** Ảnh hưởng của các nguồn carbon khác nhau lên sự tăng trưởng của các chủng có tiềm năng

### 3.2. Ảnh hưởng của nguồn nitrogen lên tăng trưởng và phát triển của các chủng có tiềm năng

Ảnh hưởng của nguồn nitrogen lên mật độ bào tử của các chủng *Trichoderma* có tiềm năng được trình bày ở Hình 2. Đối với chủng NHN3, kết quả cho thấy bổ sung thêm các nguồn nitrogen vào môi trường nuôi cấy đều làm gia tăng mật độ bào tử hình thành. Trong đó, bổ sung nguồn nitrogen hữu cơ từ hỗn hợp peptone và cao nấm hoặc phối hợp giữa vô cơ và hữu cơ cho hiệu quả cao hơn rõ rệt so với việc chỉ bổ sung nitrogen vô cơ. Trong số các nghiệm thức nitrogen vô cơ, amoni sulfate cho hiệu quả cao hơn so với bổ sung urea hoặc hỗn hợp giữa urea và amoni sulfate. Mặt dù, việc bổ sung hỗn hợp cao nấm men-pepton 1:1 (20 g/kg) cho hiệu quả tương đương với việc phối hợp 7 g/kg hỗn hợp này với 1 g/kg urea, 1 g/kg  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  nhưng nghiệm thức phối hợp giữa vô cơ và

hữu cơ có giá thành rẻ hơn.

Ở trường hợp chủng NHN5, kết quả vẫn cho thấy khi bổ sung tất cả các nguồn nitrogen đều làm tăng mức độ tạo thành bào tử. Trong đó, việc bổ sung nguồn nitrogen có yếu tố hữu cơ làm gia tăng sự tạo thành bào tử mạnh hơn so với trường hợp chỉ bổ sung nitrogen vô cơ. Nguồn nitrogen hỗn hợp có cả urea, amoni sulfat và cao chiết nấm men, peptone cho kết quả tốt nhất.



**Hình 2.** Ảnh hưởng của các nguồn nitrogen khác nhau lên sự tăng trưởng của các chủng có tiềm năng

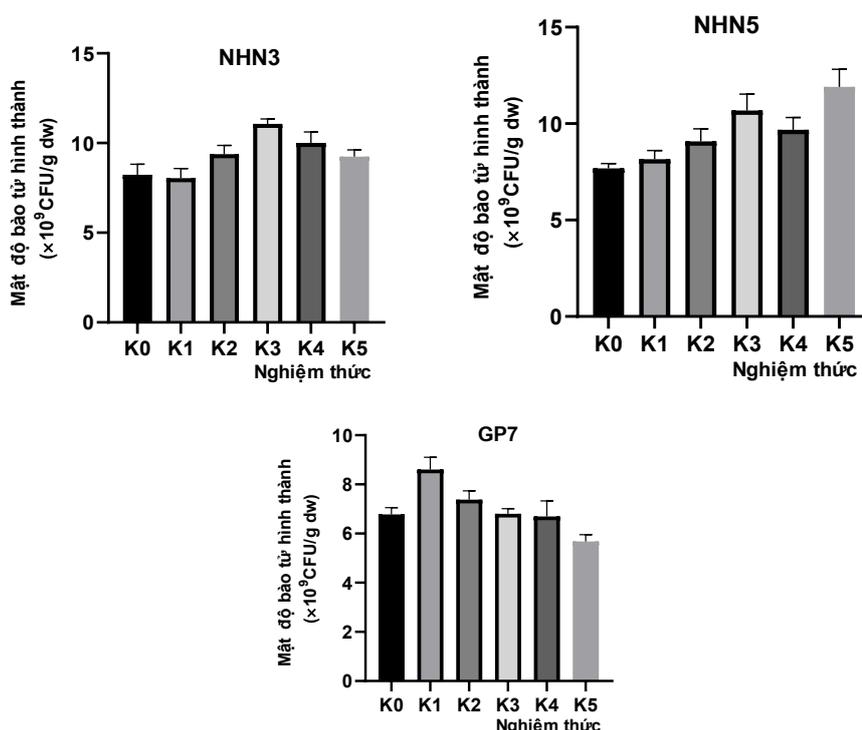
Ở trường hợp của GP7, việc bổ sung urea không làm tăng mức độ hình thành bào tử, tất cả các nghiệm thức bổ sung nitrogen còn lại đều làm tăng nhẹ mật độ bào tử hình thành ở mức độ tương đương nhau. Như vậy, có thể dùng đạm amoni sulfat riêng lẻ hoặc phối hợp với urea để thu được mật độ bào tử cao nhất. Do urea rẻ hơn so với amoni sulfat nên phối trộn 2 loại này với hàm lượng 1,5 g/kg mỗi loại sẽ tiết kiệm chi phí hơn.

Việc bổ sung các nguồn nitrogen vào môi trường nuôi cấy giúp gia tăng đáng kể hiệu quả tạo thành bào tử ở các chủng nấm *Trichoderma* được khảo sát. Trong đó, nguồn nitrogen tối ưu cho NHN3 và NHN5 đều là nguồn phối hợp chứa 1,5 g/kg urea, 1,5 g/kg amoni sulfat và 3,5 g/kg cao chiết nấm men, 3,5 g/kg peptone. Đối với chủng GP7, các nguồn nitrogen (trừ urea riêng lẻ) đều có tác dụng như nhau đối với sự tạo thành bào tử. Do đó, nguồn hỗn hợp 1,5 g/kg urea và 1,5 g/kg amoni sulfat là tối ưu do có giá thành thấp nhất. Các nguồn nitrogen có ảnh hưởng khác nhau đến các chủng khác nhau. Trong các nguồn nitrogen vô cơ, nguồn amoni thường cho kết quả tốt hơn nguồn nitrate. Onilude và cs (2012) cũng nhận thấy trong số các nguồn nitrogen sử dụng trong nuôi cấy

mê là casein, bột đậu nành, peptone,  $\text{NaNO}_3$  và  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  thì các nguồn casein, bột đậu nành, peptone và  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  có hiệu quả tăng trưởng tốt và tương đương nhau [9].

### 3.3. Ảnh hưởng của nguồn khoáng lên tăng trưởng và phát triển của các chủng có tiềm năng

Ảnh hưởng của nguồn khoáng lên mật độ bào tử của các chủng *Trichoderma* có tiềm năng được trình bày ở Hình 3. Kết quả cho thấy đối với chủng NHN3 việc thay đổi thành phần khoáng giúp làm tăng số lượng bào tử hình thành so với đối chứng. Trong đó nghiệm thức K3 cho kết quả tốt nhất, đạt  $11,07 \times 10^9$ .



**Hình 3.** Ảnh hưởng của các nguồn khoáng khác nhau lên sự tăng trưởng của các chủng có tiềm năng

Đối với chủng NHN5, mật độ bào tử tăng lên khi bổ sung cả chất khoáng vi lượng và đa lượng. Nghiệm thức K5 có hàm lượng khoáng cao nhất tương ứng với mật độ bào tử cao nhất và thấp nhất là nghiệm thức K0 không bổ sung chất khoáng.

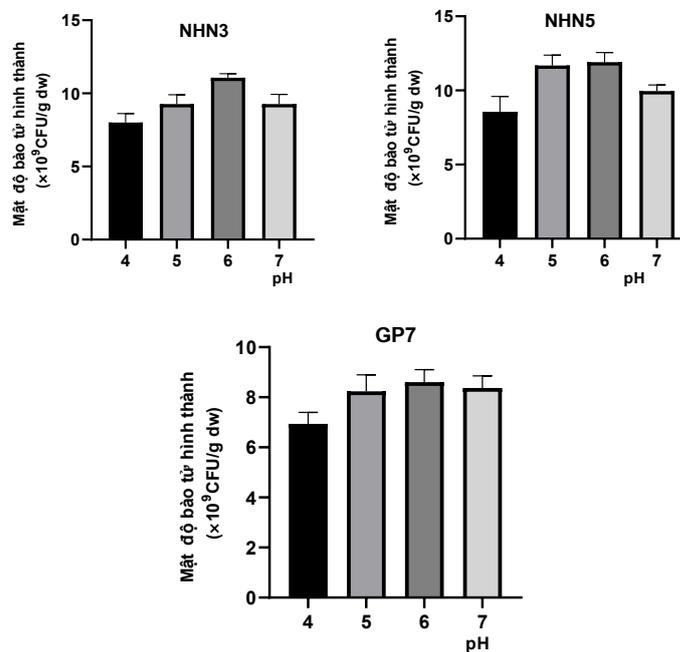
Ở trường hợp của GP7, việc bổ sung khoáng đa lượng và vi lượng ở mức thấp nhất (K1) làm tăng mật độ bào tử so với đối chứng (K0). Tuy nhiên tiếp tục tăng cả khoáng đa lượng và vi lượng đều giảm hiệu quả, mật độ bào tử chỉ tương đương với đối chứng. Ở nghiệm thức có hàm lượng đa lượng và vi lượng đều cao (K5) mật độ bào tử giảm thấp hơn cả đối chứng.

Kết quả cho thấy nhu cầu khoáng của các chủng nấm không giống nhau. Hầu hết khi bổ sung thêm một lượng hợp lý đa lượng và vi lượng sẽ làm tăng số lượng bào tử tạo thành. Nếu tiếp tục tăng khoáng sẽ giảm số lượng bào tử. Riêng với chủng NHN3 các

nghiệm thức khảo sát không làm thay đổi mật độ bào tử so với đối chứng. Nhìn chung, việc bổ sung thêm khoáng thường cho kết quả tốt hơn đối với sự sinh trưởng và tạo bào tử của nấm. Serna-Diaz và cs (2020) đã nghiên cứu nuôi cấy *T. hazianum* trên cơ chất rom có bổ sung khoáng, kết quả thu được mật độ bào tử đạt  $2,35 \times 10^{10}$  CFU/gdm. Sau khi nuôi cấy, bịt kín miệng bình nuôi và giữ trong tối có thể giữ được 70% bào tử hữu hiệu sau 12 tháng ở nhiệt độ phòng [11].

### 3.4. Ảnh hưởng của pH ban đầu đến sự sinh trưởng và phát triển của các chủng nấm *Trichoderma*

Kết quả ảnh hưởng của pH đến sự sinh trưởng và phát triển của các chủng có tiềm năng được trình bày ở Hình 4.



**Hình 4.** Ảnh hưởng của pH nuôi cấy khác nhau lên sự tăng trưởng của các chủng có tiềm năng

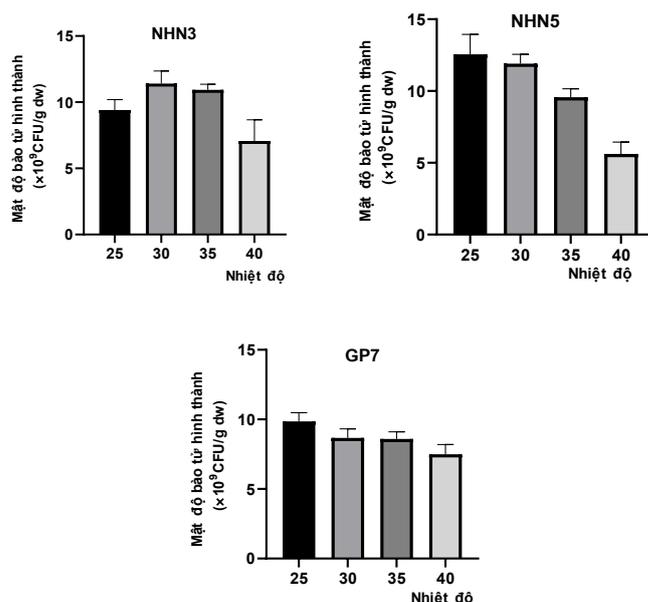
Kết quả cho thấy ở chủng NHN3, sự thay đổi pH có ảnh hưởng mạnh đến sự tăng trưởng. Giá trị pH 6 tối ưu cho sự tăng trưởng của chủng NHN3. Chủng NHN5 cũng có kết quả tương tự, trong đó pH tối ưu cho sự tăng trưởng của chủng vào khoảng 5-6. pH trung tính và pH 4 làm giảm mật độ bào tử. Sự tăng trưởng của chủng GP7 ít thay đổi theo sự thay đổi pH. Các nghiệm thức pH 5, 6, 7 có mật độ bào tử không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê, môi trường nuôi có pH 4 làm giảm mật độ bào tử hình thành sau 10 ngày nuôi cấy.

*Trichoderma* phát triển tốt ở pH trung tính và acid nhẹ. Singh và cs (2014) khảo sát ảnh hưởng của pH đến sinh khối một số chủng nấm *Trichoderma*, kết quả cho thấy mức độ pH tối ưu nằm trong khoảng từ 5,5 đến 7,5 [13]. Mamo và cs (2012) xác định pH từ 4,5-5,5 là tối ưu cho số lượng bào tử hình thành ở một số chủng *Trichoderma*, trong

khoảng pH khảo sát từ 3,5 đến 7,5, trong đó chủng ATU2, ATU4 cho mật độ bào tử cao nhất ở pH 5,5, chủng ATU1 đạt cao nhất ở pH 4,5 và chủng ATU7 đạt cao nhất ở pH 7,5 [7]. Jackson và cs (1991) nhận thấy hai chủng *T. pseudokoningii* và *T. viride* ở 20-25°C phát triển trong dải pH tối ưu từ 4,6-6,8 [6].

### 3.5. Ảnh hưởng của nhiệt độ nuôi cấy đến sự sinh trưởng và phát triển của các chủng nấm *Trichoderma*

Kết quả ảnh hưởng của nhiệt độ đến sự sinh trưởng và phát triển của các chủng nấm *Trichoderma* được trình bày ở Hình 5. Kết quả cho thấy sự thay đổi nhiệt độ trong khoảng 25-35°C không ảnh hưởng sự sinh trưởng, phát triển của chủng NHN3. Nhiệt độ 40°C làm giảm mức độ tạo thành bào tử rõ rệt. Đối với chủng NHN5, nhiệt độ tối ưu để nuôi cấy và thu nhận bào tử là từ 25-30°C. Nhiệt độ tăng trên 35°C làm giảm mạnh mật độ bào tử tạo thành sau 10 ngày nuôi cấy. Nuôi cấy ở nhiệt độ 40°C chỉ thu được mật độ  $5,62 \times 10^9$  CFU/gdw, trong khi đó, ở 25°C là  $12,55 \times 10^9$  CFU/gdw. So với 2 chủng NHN3 và NHN5 thì chủng GP7 ít nhạy cảm với nhiệt độ hơn. Nuôi ở nhiệt độ 40°C làm giảm nhẹ mật độ bào tử hình thành so với 25°C và không khác biệt so với các mức nhiệt độ còn lại.



**Hình 5.** Ảnh hưởng của nhiệt độ nuôi cấy khác nhau lên sự tăng trưởng của các chủng có tiềm năng

Nhìn chung, cả 3 chủng khảo sát đều phát triển tốt trong khoảng nhiệt độ từ 25-30°C. Kết quả này tương đối phù hợp với nhiều nghiên cứu trước đó về ảnh hưởng của nhiệt độ lên sự hình thành bào tử ở *Trichoderma*. Rezende và cs (2020) xác định nhiệt độ tối ưu là 30°C trong dải khảo sát 23, 26 và 30°C đối với chủng nấm *T. asperelloides* [5]. Jackson và cs (1991) nhận thấy nhiệt độ phát triển tối ưu trên chủng *T. pseudokoningii* trong khoảng 25-30°C và đối với chủng *T. viride* là 20-25°C. Singh và cs (2014) khảo sát ảnh hưởng của nhiệt độ nuôi cấy đến sự tăng trưởng sinh khối của nấm *Trichoderma*

trong dải nhiệt độ 20, 25, 30 và 35°C trên một số chủng nấm *Trichoderma*, kết quả cho thấy 2 mức nhiệt độ 25 và 30°C cho kết quả tốt nhất và tương đương nhau ở hầu hết các chủng khảo sát [13]. Mamo và cs (2012) khảo sát ảnh hưởng của nhiệt độ nuôi cấy lên 4 chủng *Trichoderma*, kết quả cho thấy một chủng đạt mật độ bào tử cao nhất ở 20°C, một chủng ở 25°C và 2 chủng có mức độ phát triển tối ưu ở 40°C [7].

#### 4. Kết luận

Chúng tôi đã xác định được các tham số tối ưu về nguồn carbon, nitrogen, khoáng chất, pH, nhiệt độ để sản xuất chế phẩm từ 3 chủng NHN3, NHN5 và GP7 trên cơ sở thành phần chính là mùn cưa thải sau trồng nấm kết hợp với các nguồn dinh dưỡng dạng công nghiệp như cám, urea, các nguồn phân vô cơ bổ sung N và khoáng chất khác, phù hợp cho sản xuất công nghiệp. Kết quả tối ưu đã làm tăng mật độ bào tử thu được nhiều lần so với đối chứng (từ khoảng  $1,3-1,5 \times 10^9$  lên khoảng  $10 \times 10^9$ ), cao hơn nhiều so với mức độ yêu cầu của quy định hiện hành đối với chế phẩm vi sinh hữu ích. Kết quả nghiên cứu là tiền đề quan trọng để tiến hành sản xuất thử nghiệm chế phẩm vi sinh ở quy mô lớn hơn, tiến tới chuyển giao công nghệ và sản xuất đại trà.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1]. Nguyễn Minh Cần, Nguyễn Thị Tường Vy, Trần Ngọc Hải, Trương Thị Thảo, Lê Thị Thính (2024). Khả năng sinh enzyme cellulase, chitinase và đối kháng *Fusarium* trong điều kiện *in vitro* của một số chủng nấm *Trichoderma* phân lập từ mùn cưa thải sau trồng nấm bào ngư tại Quảng Ngãi. *Tạp chí khoa học và Công nghệ trường Đại học Phạm Văn Đồng*, Số 30 (9), pp. 3-16.
- [2]. Nguyễn Tiến Dũng, Nguyễn Thị Thúy, Cao Thị Thu Dung, Quách Thị Hạnh, Nguyễn Thị Minh Trang, Nguyễn Thị Thu Hà, Phan Lệ Nga, Trần Phú Thắng, Trương Tuấn Oanh, Nguyễn Đức Thuận (2022). Nghiên cứu kỹ thuật sản xuất chế phẩm *Trichoderma* phòng trừ bệnh vàng lá - thối rễ trên cây có múi. *Tạp chí khoa học và Công nghệ Việt Nam*, 64(9), pp. 60-64.
- [3]. Phạm Thị Kim Thảo, Nguyễn Thị Minh Xuân, Đặng Đức Long (2014). Nghiên cứu phân lập nấm *Trichoderma* và khảo sát khả năng sinh enzyme, ứng dụng trong xử lý bã thải nấm. *Tạp chí khoa học và công nghệ, Đại học Đà Nẵng*, 1(74), pp. 127-130.
- [4]. Ahamed A., Vermette P. (2008). Culture-based strategies to enhance cellulase enzyme production from *Trichoderma reesei* RUT-C30 in bioreactor culture conditions. *Biochemical Engineering Journal* 40, pp. 399-407.
- [5]. de Rezende L.C., de Andrade Carvalho A.L., Costa L.B., de Almeida Halfeld-Vieira B., Silva L.G., Pinto Z.V., Morandi M.A.B., de Medeiros F.H.V., Mascarin G.M., Bettiol W. (2020). Optimizing mass production of *Trichoderma asperelloides* by submerged liquid fermentation and its antagonism against

- Sclerotinia sclerotiorum. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 36(8), pp. 113.
- [6]. Jackson A.M., Whipps J.M., Lynch J.M. (1991). Effects of temperature, pH and water potential on growth of four fungi with disease biocontrol potential. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 7(4), pp. 494-501.
- [7]. Mamo Z., Alemu T.J.J.A.B. (2012). Evaluation and optimization of agro-industrial wastes for conidial production of *Trichoderma* isolates under solid state fermentation. 54, pp. 3870-3879.
- [8]. Mukherjee P.K., Horwitz B.A., Singh U.S., Mukherjee M., Schmoll M. (2013). *Trichoderma: Biology and applications*, CABI, UK.
- [9]. Onilude A.A., Adebayo-Tayo B.C., Odeniyi A.O., Banjo D., Garuba E.O. (2012). Comparative mycelial and spore yield by *Trichoderma viride* in batch and fed-batch cultures. *Annals of Microbiology*, 63(2), pp. 547-553.
- [10]. Rai N., Limbu A.K., Joshi A. (2020). Impact of *Trichoderma* sp. in Agriculture: A Mini-Review. *Journal of Biology and Today's World*, 9(7), pp. 1-5.
- [11]. Serna-Diaz M.G., Mercado-Flores Y., Jimenez-Gonzalez A., Anducho-Reyes M.A., Medina-Marin J., Seck Tuoh-Mora J.C., Tellez-Jurado A. (2020). Use of barley straw as a support for the production of conidiospores of *Trichoderma harzianum*. *Biotechnol Rep (Amst)*, 26, pp. e00445.
- [12]. Sharma A.K., Sharma P. (2020). *Trichoderma: Host pathogen interactions and applications*, Springer, Singapore.
- [13]. Singh A., Shahid M., Srivastava M., Pandey S., Sharma A., Kumar V.J.V.M. (2014). Optimal physical parameters for growth of *Trichoderma* species at varying pH, temperature and agitation. 3(1), pp. 1-7.
- [14]. Vinale F., Sivasithamparam K., Ghisalberti E.L., Marra R., Woo S.L., Lorito M. (2008). *Trichoderma*–plant–pathogen interactions. *Soil Biology and Biochemistry*, 40(1), pp. 1-10.

**EFFECTS OF NUTRITIONAL SOURCES AND CULTIVATION CONDITIONS  
ON THE GROWTH AND DEVELOPMENT OF *TRICHODERMA* STRAINS  
ISOLATED FROM SPENT OYSTER MUSHROOM SUBSTRATE**

*Le Thi Thinh<sup>1</sup>, Nguyen Thi Tuong Vy<sup>1</sup>*

**ABSTRACT**

*This study evaluated the effects of nutritional sources (carbon, nitrogen, and minerals) and cultivation conditions (pH and temperature) on the growth and sporulation of three *Trichoderma* strains (NHN3, NHN5, GP7) isolated from spent oyster mushroom substrate. Results indicated that strain-specific responses to carbon sources: corn bran was optimal for NHN3, a mixture of starches for NHN5, and rice bran for GP7. A combination of organic (peptone and yeast extract) and inorganic ((NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> and urea) nitrogen sources yielded higher spore production than individual sources. Mineral requirements differed among strains; moderate supplementation with macro- and micronutrients enhanced sporulation, while excessive levels were inhibitory. For NHN3, mineral addition showed negligible effect. Optimal sporulation occurred at pH 5-6 and temperatures of 25-30°C. Under optimized conditions, spore density increased significantly (from ~1.3-1.5×10<sup>9</sup> CFU/g to ~10×10<sup>9</sup> CFU/g), surpassing current standards for beneficial microbial products. These findings support the development of scalable *Trichoderma*-based bioformulations for agricultural use.*

**Keywords:** *spent mushroom substrate, *Trichoderma*, cultivation conditions, nutrient sources.*



<sup>1</sup>Khoa Sư phạm Tự nhiên, Trường Đại học Phạm Văn Đồng, Email: [ltthinh@pdu.edu.vn](mailto:ltthinh@pdu.edu.vn).