

Application of molecular markers for breeding tomato (*Solanum lycopersicum*) resistant to late blight (*Phytophthora infestans*) and other diseases

Tran Ngoc Hung, Dang Thi Mai, Pham Thi Xuan

Abstract

Tomato (*Solanum lycopersicum* L.) is grown nationwide, reaching 24,000 - 25,000 ha hectare every year. However, tomato crops can be infected by bacterial, fungal and viral pathogens. Three most important diseases including late blight (*Phytophthora infestans*), tomato yellow leaf curl virus (TYLCV), and bacterial wilt (*Ralstonia solanacearum*) are very harmful to many tomato growing regions. The breeding line TP85 with homozygous gene *Ph3* resistant to late blight and the line AV10 resistant to both TYLCV (gene *Ty2*, *Ty3*) and bacterial wilt (gene *Bwr-12*) have been developed by marker assisted selection and artificial inoculation. CVR9 is a hybrid combination of TP85 x AV10 that carry simultaneously the resistance genes of its parents. Based on the evaluation of disease responses, CVR9 showed high tolerance to multiple diseases (late blight, TYLCV, and bacterial wilt). Field trials were conducted in different seasons from 2015 -2019 in Northern provinces indicated that CVR9 adapted highly in autumn-winter season in the Red river delta, reaching 70 tons/ha, fruit weight ~ 100 g, brix ~4.5.

Keywords: Tomato (*Solanum lycopersicum*), Late blight (*Phytophthora infestans*), Tomato Yellow Leaf Curl Virus, Bacterial wilt (*Ralstonia solanacearum*), molecular markers

Ngày nhận bài: 11/9/2020
Ngày phản biện: 19/9/2020

Người phản biện: PGS. TS. Trần Đăng Khánh
Ngày duyệt đăng: 24/9/2020

XÂY DỰNG QUY TRÌNH CÔNG NGHỆ NUÔI TRỒNG NẤM MỘC NHỈ SỬ DỤNG GIỐNG NẤM DẠNG DỊCH THỂ

Cổ Thị Thuỳ Vân¹, Lê Thị Lan¹, Hoàng Thị Soan¹

TÓM TẮT

Giống nấm Mộc nhĩ dạng dịch thể là giống được nhân sinh khối trong môi trường dinh dưỡng dạng dịch thể. Sau khi được nuôi trong điều kiện thích hợp và kiểm tra đạt chất lượng sẽ được sử dụng để cấy sang giá thể nuôi trồng nấm thương phẩm. Trong khuôn khổ bài báo này, chúng tôi tiến hành các nghiên cứu nhằm đưa ra các thông số kỹ thuật để xây dựng quy trình công nghệ nuôi trồng nấm Mộc nhĩ *Auricularia auricular* sử dụng giống dạng dịch thể. Kết quả nghiên cứu cho thấy nấm Mộc nhĩ hoàn toàn thích hợp với phương pháp nuôi trồng trên nguồn cơ chất tổng hợp sử dụng giống nấm dạng dịch thể với công thức môi trường thích hợp: 95% mùn cưa, 0,5% MgSO₄, 0,5% KH₂PO₄, 3% cám mì, 1% CaCO₃; Độ ẩm nguyên liệu: 65 ± 2%; Tỷ lệ giống cấy: 25 - 30 ml/bịch nguyên liệu.

Từ khóa: Nấm Mộc nhĩ (*Auricularia auricular*), giống nấm dạng dịch thể, nấm ăn - nấm dược liệu

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Mộc nhĩ là tên chung để chỉ các loài nấm ăn thuộc chi *Auricularia*. Chi này thuộc họ *Auriculariaceae*, bộ *Auriculariales*, lớp phụ *Auriculariomycetidae*, lớp *Hymenomycetes*, ngành phụ *Basidiomycotina*, ngành Nấm thật- *Eumycota*, giới Nấm - *Fungi* (Trịnh Tam Kiệt, 2001). Mộc nhĩ đứng hàng thứ 7 trong số các loài nấm ăn được nuôi trồng và buôn bán nhiều nhất trên thế giới. Mộc nhĩ mọc khắp châu Âu, châu Á và Hoa Kỳ và được đánh giá cao trong các món ăn châu Á nhờ kết cấu giòn, dẻo của nó. Giống với các loại nấm thạch khác, quả thể nấm Mộc nhĩ chứa

nhiều polysaccharid và đây là thành phần có hoạt tính sinh học chính có tác dụng chống oxy hóa và làm giảm cholesterol máu (Huang *et al.*, 2010; Chen *et al.*, 2011). Mộc nhĩ được quan tâm đặc biệt như một loại thực phẩm chức năng cho người cao tuổi, ở dạng chế biến cũng như chưa chế biến đều thể hiện khả năng ức chế chống lại một trong những enzym quan trọng liên quan đến bệnh Alzheimer (Fan *et al.*, 2007).

Ở Việt Nam, Mộc nhĩ được coi là một trong những loại nấm chủ lực ưu tiên phát triển hàng đầu; do đó việc nghiên cứu ứng dụng công nghệ mới

¹ Trung tâm Nghiên cứu và Phát triển Nấm, Viện Di truyền Nông nghiệp

trong nhân giống và nuôi trồng nấm Mộc nhĩ là vấn đề thời sự cần được quan tâm. Các nội dung được nghiên cứu trong bài báo này nhằm xác định được các điều kiện để nuôi trồng Mộc nhĩ trên nguồn cơ chất mùn cưa, sử dụng giống cấy dạng dịch thể; Kết quả nghiên cứu cho thấy thời gian nuôi trồng được rút ngắn, hiệu suất và năng suất tăng rõ rệt, chất lượng sản phẩm nấm thương phẩm được cải thiện, qua đó làm tăng đáng kể hiệu quả kinh tế cho người trồng nấm.

Hiện nay trên thế giới đã sử dụng phương pháp nuôi trồng nấm sử dụng giống nấm dạng dịch thể để nuôi trồng thành công hàng chục loại nấm ăn - nấm dược liệu quy mô công nghiệp, điển hình là các loại nấm có sản lượng và nhu cầu sử dụng cao như: nấm Mộc nhĩ, nấm Sò, nấm Hương, Kim châm, Sò đùi gà (Sò vua), Linh chi, Nhung trùng thảo... Từ kết quả thử nghiệm tại các phòng thí nghiệm lớn và nhỏ cho thấy, đại đa số các loại nấm được nuôi trồng bằng giống nấm dạng dịch thể đều cho hiệu quả tốt hơn so với sử dụng giống nấm dạng rắn, thể hiện ở các chỉ tiêu như: hệ sợi nấm đều phát triển tốt trên cơ chất nuôi trồng, rút ngắn thời gian ươm sợi, qua đó rút ngắn chu trình nuôi trồng nấm (Trần Á Phàm và *ctv.*, 2006).

Thông qua việc tham khảo các công trình nghiên cứu của một số tác giả trên thế giới cho thấy việc nuôi trồng nấm ăn - nấm dược liệu nói chung, nấm Mộc nhĩ nói riêng có sử dụng giống nấm dạng dịch thể đòi hỏi các điều kiện kiểm soát chặt chẽ về nguồn dinh dưỡng, độ ẩm cơ chất, cơ chế khử trùng nguyên liệu, nhiệt độ nuôi sợi và kích thích quả thể sinh trưởng phát triển,... Quá trình nhân giống, cấy giống, ươm sợi cần được kiểm soát chặt chẽ bằng các trang thiết bị hiện đại, đồng bộ và tổ chức thực hiện một cách khoa học. Trong phạm vi báo này chúng tôi tiến hành nghiên cứu nhằm xây dựng công

thức môi trường dinh dưỡng và các điều kiện tối ưu cho nuôi trồng nấm Mộc nhĩ *Auricularia auricula* sử dụng giống nấm dạng dịch thể.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

- Giống gốc nấm Mộc nhĩ đang được lưu giữ tại Trung tâm nghiên cứu và phát triển Nấm - Viện Di truyền Nông nghiệp, đã được công nhận giống quốc gia (2010).

- Giống sử dụng là giống dạng dịch thể đạt chất lượng được nuôi cấy trong bình lên men 120 lít.

- Nguyên liệu:

+ Mùn cưa: Mùn cưa tạp, không nhiễm mốc, hóa chất.

+ Lõi ngô nghiền: Lõi ngô khô độ ẩm đạt 12 - 13%, được nghiền nát, không nhiễm mốc, hóa chất.

+ Bã mía: Độ ẩm đạt 12 - 13%, được nghiền mịn, không nhiễm mốc, hóa chất.

+ Túi nylon chịu nhiệt, cổ nút nhựa, nắp nhựa,...

- Thiết bị: Nồi khử trùng, box cấy vô trùng, tủ nuôi vi sinh, nồi hấp áp lực công suất 1,5 - 2,5 kg hơi/giờ.

- Các loại môi trường sử dụng:

+ Môi trường giữ giống nấm: Môi trường PGA: Khoai tây: 20 gam, glucose: 20 gam, aga: 20 gam, nước: 1000 ml.

+ Môi trường nhân giống nấm mộc nhĩ dạng dịch thể: khoai tây: 200 g, Glucose: 15 g; Pepton: 2,0 g; giá đỗ 20g; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$: 0,5g; KH_2PO_4 : 1 g; K_2HPO_4 : 1 g; Thiamin: 10 mg; Nước cất: 1000 ml; pH 6 - 7.

+ Môi trường sử dụng trong nghiên cứu xây dựng QTCN nuôi trồng nấm Mộc nhĩ trên nguồn cơ tổng hợp sử dụng giống nấm dạng dịch thể.

Bảng 1. Thành phần môi trường nuôi trồng nấm mộc nhĩ

Thành phần Công thức	Mùn cưa	Lõi ngô	Bã mía	$MgSO_4$	KH_2PO_4	Cám gạo	Cám mì	$CaCO_3$
CTNT 1	95			0,5	0,5	3	-	1
CTNT 2		95		0,5	0,5	3	-	1
CTNT 3	55	40		0,5	0,5	3	-	1
CTNT 4	55		40	0,5	0,5	3	-	1
CTNT 5	95			0,5	0,5	-	3	1
CTNT 6	55	40		0,5	0,5	-	3	1

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Sử dụng một số phương pháp nghiên cứu nuôi trồng nấm ăn - nấm dược liệu theo các tác giả: Nguyễn Lâm Dũng (2001), Nguyễn Hữu Đống và cộng tác viên (2000), Trịnh Tam Kiệt và cộng tác viên (1986).

2.2.1. Phương pháp sử dụng trong nghiên cứu xây dựng QTCN nuôi trồng nấm Mộc nhĩ trên nguồn cơ tổng hợp sử dụng giống nấm dạng dịch thể

a) Khảo sát công thức môi trường nuôi trồng nấm Mộc nhĩ

Xử lý nguyên liệu nuôi trồng nấm Mộc nhĩ: Mùn cưa, lõi ngô, bã mía nghiền nhỏ được làm ẩm bằng nước vôi trong có pH 12 - 13, (4 kg vôi/1000 lít nước sạch), ủ 1 - 3 ngày, đảo đều, ủ tiếp 1 - 3 ngày; Độ ẩm nguyên liệu sau ủ đạt $65 \pm 2\%$, nguyên liệu đã được xử lý tiến hành phối trộn phụ gia theo các công thức thí nghiệm trong bảng 1, sau đó đóng túi 19×37 cm, mỗi bịch nguyên liệu có khối lượng 1,2 - 1,3 kg, độ nén nguyên liệu vừa phải sao cho chiều cao nguyên liệu sau khi đóng túi đạt 22 - 23 cm. Dem khử trùng nguyên liệu; để nguội, cấy giống: Cấy giống nấm dạng dịch thể chất lượng tốt; các mẫu đối chứng cấy giống dạng hạt đạt tiêu chuẩn, được sản xuất tại Trung tâm Nghiên cứu và Phát triển nấm - Viện Di truyền Nông Nghiệp.

Bịch cấy giống xong được nuôi trong phòng tối, ở nhiệt độ thích hợp; sau khi sợi lan kín bịch tiến hành rạch bịch, chăm sóc quả thể; Thu hái đúng độ tuổi khi nấm chưa xòe rộng.

b) Nghiên cứu ảnh hưởng của độ ẩm cơ chất phối trộn đến sự sinh trưởng, phát triển và khả năng nhiễm bệnh của nấm Mộc nhĩ trong giai đoạn nuôi trồng thu quả thể

Sử dụng công thức nuôi trồng thích hợp để khảo sát độ ẩm nguyên liệu; tiến hành phối trộn nguyên liệu đồng đều, tạo ẩm nguyên liệu ở các ngưỡng khác nhau: $50 \pm 2\%$, $55 \pm 2\%$, $60 \pm 2\%$, $65 \pm 2\%$, $70 \pm 2\%$. Đóng túi, khử trùng nguyên liệu; Cấy giống: Cấy giống nấm dạng dịch thể chất lượng tốt; các mẫu đối chứng cấy giống dạng hạt, dạng que đạt tiêu chuẩn; Nuôi sợi; sau khi sợi lan kín bịch tiến hành rạch bịch, chăm sóc, thu hái.

c) Nghiên cứu ảnh hưởng của tỷ lệ giống cấy vào bịch nguyên liệu đến sự sinh trưởng, phát triển của hệ sợi nấm Mộc nhĩ trong giai đoạn nuôi trồng thu quả thể

Cấy giống: Sử dụng giống nấm dịch thể nuôi 4 - 5 ngày cấy chuyển vào bịch nguyên liệu nuôi

trồng với các thể tích giống cấy: 10 ml/bịch, 15 ml/bịch, 20 ml/bịch, 25 ml/bịch, 30 ml/bịch, 35 ml/bịch; Mẫu đối chứng cấy giống nhân trên cơ chất hạt với định lượng 5 gam giống/ bịch; mỗi bịch nguyên liệu có khối lượng 1,2 kg.

d) Nghiên cứu ảnh hưởng của nhiệt độ đến sự sinh trưởng của hệ sợi nấm Mộc nhĩ trong giai đoạn nuôi trồng

Sử dụng công thức nuôi trồng thích hợp, khử trùng, cấy giống với tỉ lệ thích hợp; Nuôi sợi trong điều kiện nhiệt độ: 16 - 18°C; 20 - 22°C; 24 - 26°C; 28 - 30°C; 32 - 34°C.

e) Nghiên cứu ảnh hưởng của nhiệt độ đến sự hình thành và phát triển quả thể nấm Mộc nhĩ

Sau thời gian ươm sợi, chuyển bịch nguyên liệu ra khu vực nuôi trồng, rạch bịch, điều chỉnh nhiệt độ nuôi ở các ngưỡng: 20 - 22°C; 23 - 25°C; 26 - 28°C; 29 - 31°C.

Chỉ tiêu theo dõi của các thí nghiệm: Tốc độ lan sợi (mm/ngày), tỷ lệ nhiễm (%), thời điểm xuất hiện mầm quả thể (ngày), số lượng mầm hữu hiệu (mầm), thời gian sinh trưởng quả thể tổng thời gian nuôi thu quả thể (ngày), năng suất nấm thương phẩm (% hoặc kg nấm tươi/ 1 tấn nguyên liệu khô).

2.2.2. Phương pháp bố trí thí nghiệm

Các thí nghiệm được bố trí 3 lần nhắc lại và được tiến hành như sau: Mỗi công thức thí nghiệm bố trí 150 bịch nguyên liệu (1,2 kg/bịch). Theo dõi các chỉ tiêu nghiên cứu với số lượng 50 bịch/công thức thí nghiệm, lấy mẫu theo 5 điểm của đường chéo, mỗi điểm 10 bịch.

Các chỉ tiêu theo dõi:

+ Theo dõi các đặc điểm sinh trưởng của hệ sợi.

+ Tỷ lệ nhiễm: được tính theo công thức:

$$\text{Tỷ lệ nhiễm (\%)} = \frac{\text{Tổng số mẫu nhiễm}}{\text{Tổng số mẫu thí nghiệm}} \times 100\%$$

+ Thời gian ươm sợi, ký hiệu T_1 (ngày) được tính từ khi cấy giống đến khi hệ sợi mọc kín toàn bộ bịch nguyên liệu nuôi trồng.

+ Tốc độ của sợi nấm được tính theo công thức sau: $V = D/T_1$

Trong đó, V : Tốc độ mọc của hệ sợi (mm/ngày); D : Chiều cao bịch nguyên liệu (mm); T_1 : Thời gian ươm sợi (ngày).

- Thời gian hình thành mầm quả thể nấm, ký hiệu T_2 (ngày): Tính từ khi hệ sợi mọc kín bịch

nguyên liệu đến khi thấy xuất hiện mầm quả thể ở vết rạch.

- Thời gian quả thể trưởng thành, ký hiệu T_3 (ngày): Tính từ khi xuất hiện mầm quả thể đến khi quả trưởng thành có thể thu hoạch.

- Tổng thời gian nuôi trồng nấm thu quả thể, ký hiệu T (ngày): $T = T_1 + T_2 + T_3$.

- Đặc điểm hình thái quả thể, khối lượng trung bình của quả thể (g).

- Đường kính quả thể nấm (mm): Lấy kích thước trung bình của 10 mẫu nấm; mỗi mẫu được đo đường kính lớn nhất, đường kính nhỏ nhất.

- Hiệu suất sinh học (%) được tính theo công thức:

$$\text{Hiệu suất sinh học (\%)} = \frac{\text{Tổng khối lượng nấm tươi}}{\text{Khối lượng nguyên liệu khô}} \times 100\%$$

- Năng suất nấm tươi được tính như sau:

$$\text{Năng suất nấm (\%)} = \frac{M_1 - M_2}{\text{Khối lượng nguyên liệu khô}} \times 100\%$$

Trong đó: M_1 là tổng khối lượng nấm thu được; M_2 là khối lượng phần nấm không có giá trị sử dụng.

2.3. Thời gian và địa điểm nghiên cứu

- Thời gian nghiên cứu: Tháng 01/2029 đến tháng 6/2020.

- Địa điểm nghiên cứu: Viện Di truyền Nông nghiệp.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Kết quả khảo sát thành phần môi trường nuôi trồng nấm mộc nhĩ

Sử dụng các công thức nuôi trồng như trong bảng 1, qua thời gian nghiên cứu và theo dõi thu được một số kết quả thể hiện ở bảng 2.

Bảng 2. Ảnh hưởng của thành phần môi trường nuôi trồng tới sinh trưởng của hệ sợi và quả thể nấm Mộc nhĩ

Chỉ tiêu \ Công thức	CTNT1	CTNT2	CTNT3	CTNT4	CTNT5	CTNT6
Thời gian nuôi sợi	40	35	37	37	38	36
Tỷ lệ nhiễm bệnh (%)	8	12	10	11	8	10
Tổng thời gian nuôi đến thu quả thể (ngày)	95	80	83	85	92	86
Số cụm/bịch	11,6	9,52	10,3	10,6	12,2	10,8
Khối lượng nấm tươi/bịch (g)	845,54	720,77	821,25	834,28	870,76	837,27
Năng suất nấm (%)	83,25	64,42	78,38	79,13	86,51	80,4
Đặc điểm sợi	Sợi nấm trắng đồng nhất, phát triển tốt và đồng đều trên các công thức thí nghiệm					

Sợi nấm Mộc nhĩ sinh trưởng đồng đều trên các công thức nuôi trồng khác nhau, khoảng 2 ngày sau khi cấy giống sợi nấm mộc trắng bề mặt; Đối với công thức nuôi trồng 2 tốc độ phát triển của sợi nấm nhanh hơn, do các hạt lõi ngô có kích thước lớn, tạo độ xốp và thông thoáng trong cơ chất nên hệ sợi nấm dễ dàng phát triển hơn. Tuy nhiên, khi bước vào giai đoạn nuôi quả thể, ở công thức chứa lõi ngô rất nhanh bị giảm khối lượng, điều này làm ảnh hưởng tới thời gian thu quả thể và năng suất quả thể. Đối với công thức nuôi trồng 1 và 5 thời gian nuôi sợi kéo dài nhất nhưng hệ sợi trên công thức 5 phát triển khỏe mạnh nhất.

So sánh khi sử dụng cám gạo và cám mì cho thấy khi môi trường có bổ sung cám mì giúp năng suất trung bình của 1 bịch nấm Mộc nhĩ đạt 870,76 g, tương ứng với năng suất nấm (tỷ lệ giữa tổng khối

lượng nấm tươi/khối lượng nguyên liệu khô) đạt 86,51% cao hơn so với khi sử dụng cám gạo đạt 845,54g tương đương với năng suất đạt 83,25%. Sử dụng công thức nuôi trồng 5 cho năng suất quả thể thu được cao nhất.

3.2. Kết quả khảo sát ảnh hưởng của độ ẩm cơ chất phối trộn đến nuôi trồng nấm Mộc nhĩ trong giai đoạn thu quả thể

Theo nhiều nghiên cứu trước đây cho biết, đối với nuôi trồng nấm Mộc nhĩ độ ẩm cơ chất phù hợp khoảng 65%. Để đánh giá lại mức độ ảnh hưởng của độ ẩm cơ chất tới sinh trưởng và phát triển của nấm Mộc nhĩ khi sử dụng giống dạng dịch thể, tiến hành đánh giá trên 5 ngưỡng độ ẩm khác nhau trên công thức nuôi trồng 5. Kết quả nghiên cứu được trình bày trong bảng 3.

Bảng 3. Ảnh hưởng của độ ẩm cơ chất đến nuôi trồng nấm Mộc nhĩ

Chỉ tiêu \ Độ ẩm	50%	55%	60%	65%	70%
Thời gian nuôi sợi	45	42	39	38	40
Tỷ lệ nhiễm bệnh (%)	2	5	8	8	10
Tổng thời gian nuôi đến thu quả thể (ngày)	102	98	95	92	94
Số cụm/bịch	8,4	9,5	11,3	12,4	12,2
TL nấm tươi/bịch (g)	648,5	692,4	821,25	872,5	870,2
Năng suất nấm (%)	61,6	65,57	80,12	86,73	84,55
Đặc điểm sợi	Giống nấm bung sợi chậm, tốc độ phát triển sợi kém, sợi mảnh, phát triển loang lỗ không đồng đều.		Giống nấm mọc sợi sau khoảng 2 - 3 ngày cấy, hệ sợi trắng đồng nhất, dày sợi, sinh trưởng mạnh, tốc độ phát triển sợi nhanh		

Độ ẩm cơ chất có ảnh hưởng lớn tới sinh trưởng và phát triển của nấm Mộc nhĩ; độ ẩm cơ chất thích hợp là 60 - 70% cho kết quả tốt hơn cả với năng suất trung bình ở độ ẩm 65% là 972,5 g/bịch. Vì vậy, sử dụng độ ẩm cơ chất khoảng 65% cho các thí nghiệm nuôi trồng nấm Mộc nhĩ tiếp theo.

3.3. Kết quả khảo sát ảnh hưởng của tỷ lệ giống cấy vào bịch nguyên liệu đến sự sinh trưởng, phát triển của hệ sợi nấm Mộc nhĩ trong giai đoạn nuôi trồng

Sử dụng công thức môi trường 5, sử dụng giống nấm dịch thể nuôi 4 - 5 ngày cấy chuyển vào bịch nguyên liệu nuôi trồng với các thể tích giống cấy: 10 ml/bịch, 15 ml/bịch, 20 ml/bịch, 25ml/ bịch, 30ml/bịch, 35ml/ bịch; Mẫu đối chứng cấy giống nhân trên cơ chất hạt với định lượng 5 gam giống/ bịch; mỗi bịch nguyên liệu có khối lượng 1,2 kg; Nuôi sợi trong điều kiện 25°C, không có ánh sáng. Kết quả được ghi nhận ở bảng 4.

Bảng 4. Ảnh hưởng của tỷ lệ cấy giống đến sự phát triển của nấm Mộc nhĩ

Chỉ tiêu \ Tỷ lệ giống cấy (ml)	ĐC	10	15	20	25	30	35
Thời gian nuôi sợi	45	53	48	40	38	35	35
Tỷ lệ nhiễm bệnh (%)	13	15	12	10	6	6	8
Tổng thời gian nuôi đến thu quả thể (ngày)	95	100	95	90	85	82	83
Số cụm/bịch	12,4	9,5	10,3	11,6	12,2	12,7	12,2
TL nấm tươi/bịch (g)	848,5	722,4	764,2	782,5	834,6	867,7	840,2
Năng suất nấm (%)	79,1	62,24	69,6	73,49	83,64	87,98	82,56
Đặc điểm sợi	Hệ sợi trắng khỏe, bung đều trên bề mặt túi mùn cưa	Giống Mộc nhĩ bung sợi kém trong những ngày đầu, sợi mảnh, từ ngày thứ 20 sợi dày, trắng đậm		Giống nấm bung khỏe, phân bố rải rác tại nhiều vị trí trên bịch mùn cưa, sợi mọc dài, dày và màu trắng đậm từ ngày thứ 10 sau cấy		Sợi phát triển khỏe, nhiều bịch bị ướt đáy	

Nhận xét: Dựa vào kết quả trong bảng 4 cho thấy, tỷ lệ giống cấy có ảnh hưởng rõ rệt tới sinh trưởng và phát triển của nấm Mộc nhĩ.

Về chỉ tiêu thời gian nuôi sợi: Khi sử dụng giống hạt theo phương pháp truyền thống, với cùng thành phần môi trường cơ chất và điều kiện nuôi thì thời gian nuôi sợi kéo dài 45 ngày; Khi sử dụng giống Mộc

nhĩ dạng dịch thể, ưu điểm của nó là dịch giống khi cấy có thể phân bố rải rác khắp bề mặt bịch từ trên xuống dưới nếu cấy với lượng giống từ 25 - 30 ml dịch giống/bịch, điều này tạo điều kiện cho sợi nấm bung đều ở khắp các vị trí nên thời gian nuôi sợi rút ngắn đáng kể chỉ còn từ 35 - 38 ngày. Tuy nhiên, khi tăng lên 35 ml/bịch quan sát thấy có nhiều bịch

bị ứ đọng, điều này sẽ gây ảnh hưởng cho sợi nấm sinh trưởng sau này, sợi bị co lại hoặc không thể phát triển khi môi trường quá ứ đọng. Trong trường hợp sử dụng tỷ lệ giống ít từ 10 - 15 ml/bịch, dịch giống chỉ tập trung chủ yếu tại vị trí cấy nên giống bung sợi chậm, lượng giống ít cũng làm cho hệ sợi phát triển kém, sợi mảnh, mờ không trắng muốt như các công thức khác.

Ngoài ra, cấy giống với tỷ lệ thấp cũng ảnh hưởng tới tỷ lệ nhiễm bệnh, do càng kéo dài thời gian nuôi sợi sẽ làm cho những vị trí giống chưa phát triển tới dễ nhiễm bệnh như mốc trắng, mốc xanh, mốc đen, khuẩn... với tỷ lệ cấy 30 ml tỷ lệ nhiễm chỉ 6%, nhưng cấy với tỷ lệ 10 ml tỷ lệ nhiễm tăng lên 15%/ tổng số bịch theo dõi.

Các chỉ tiêu về năng suất: Ưu điểm khi cấy giống dạng dịch thể là thời gian kín bịch nuôi trồng nhanh, nên ít có hiện tượng sợi nấm phía đầu bịch bị già mà đáy bịch còn non. Đến giai đoạn khi bịch nấm đã kín chuyển sang nhà nuôi trồng, rạch bịch đón nấm thì đối với phương pháp cấy hạt thì những vết rạch phía trên miệng bịch (sợi nấm già hơn) sẽ ra quả thể trước còn đối với những bịch cấy giống dịch thể tuổi nấm sẽ đồng đều hơn, nên ra tập trung ngay sau khi rạch bịch khoảng 7 ngày. Vì vậy, số quả thể

hữu hiệu trên những bịch sử dụng giống cấy dạng dịch thể sẽ cao hơn. Dựa vào bảng 4 cho thấy, về chỉ tiêu số cụm/bịch của phương pháp cấy hạt đo được là 12,4 cụm/bịch không khác nhiều với số cụm 12,7 cụm/bịch khi cấy 30 ml dịch giống; tuy nhiên do số cụm hữu hiệu cao hơn nên năng suất thu được khi cấy dịch tương ứng là 87,98% so với cấy hạt là 79,1%. Khi cấy lượng dịch giống ít 10 - 15 ml, sợi nấm sinh trưởng trong thời gian đầu kém nên cũng gặp trường hợp sợi nấm phía trên bị già hóa (thường xuất hiện mầm quả thể khi chưa rạch hoặc chảy dịch màu nâu vàng), còn sợi nấm phía dưới bị non nên ảnh hưởng lớn tới năng suất, chỉ thu được năng suất 62,24% và 69,6% khi cấy 10ml và 15ml.

Như vậy, cấy giống với tỷ lệ 25 - 30 ml/bịch cho kết quả tốt nhất.

3.4. Kết quả khảo sát ảnh hưởng của nhiệt độ đến sự sinh trưởng của hệ sợi nấm Mộc nhĩ trong giai đoạn nuôi trồng

Sử dụng công thức môi trường 5; Cấy giống dịch thể với tỷ lệ 25 ml dịch giống/bịch. Nuôi sợi trong các khoảng nhiệt độ: 16 - 18°C; 20 - 22°C; 24 - 26°C; 28 - 30°C; 32 - 34°C. Kết quả được thể hiện trong bảng 5.

Bảng 5. Ảnh hưởng của nhiệt độ đến sự phát triển của hệ sợi nấm Mộc nhĩ

Chi tiêu	Nhiệt độ (°C)				
	16 - 18	20 - 22	24 - 26	28 - 30	32 - 34
Thời gian nuôi sợi (ngày)	50	43	35	33	33
Tỷ lệ nhiễm bệnh (%)	5	10	12	12	12
Đặc điểm sợi	Sợi nấm thô dày, phát triển chậm	Sợi nấm trắng mượt, phát triển đều	Sợi nấm trắng mượt, phát triển nhanh, đồng đều	Sợi nấm phát triển nhanh, sợi mảnh, phát triển đồng đều	Sợi nấm phát triển nhanh, sợi mảnh hơn, có xuất hiện dịch màu vàng phía trên đầu bịch

Nhiệt độ ảnh hưởng tới sự phát triển của hệ sợi nấm Mộc nhĩ, trong điều kiện nhiệt độ khoảng 25°C và cấy giống dịch thể thời gian nuôi sợi của nấm Mộc nhĩ khoảng 35 ngày. Nhưng khi nuôi sợi ở nhiệt độ thấp từ 16 - 18°C, thời gian nuôi sợi kéo dài hơn, quan sát đặc điểm hệ sợi cho thấy: tốc độ mọc sợi chậm qua từng giai đoạn theo dõi, hệ sợi thô có màu trắng đục, ưu điểm khi nuôi sợi trong nhiệt độ thấp đó là tỷ lệ nhiễm bịch thấp nhất (5%). Khi nuôi sợi ở nhiệt độ cao từ 32 - 34°C, hệ sợi phát triển có phần nhanh hơn nhưng sợi mảnh, ở phía trên đầu bịch sợi nấm già hơn nên xuất hiện dịch màu nâu vàng. Kết quả ở bảng 5 cho thấy, hệ sợi nấm mộc nhĩ trên

cơ chất mùn của sinh trưởng tốt trong ngưỡng từ 24 - 26°C.

3.5. Kết quả khảo sát ảnh hưởng của nhiệt độ đến sự hình thành và phát triển quả thể nấm Mộc nhĩ

Sử dụng công thức môi trường 5. Cấy giống dịch thể với tỷ lệ 25 ml dịch giống/bịch. Sau giai đoạn ươm sợi ở thí nghiệm trên, chuyển bịch vào phòng cho ra quả thể có mức điều chỉnh nhiệt độ ở các ngưỡng khác nhau: 20 - 22°C; 23 - 25°C; 26 - 28°C; 29 - 31°C. Quan sát sự hình thành và phát triển quả thể, kết quả được trình bày ở bảng 6.

Bảng 6. Ảnh hưởng của nhiệt độ đến sự hình thành và phát triển của quả thể nấm Mộc nhĩ

Chỉ tiêu	Nhiệt độ (°C)			
	20 - 22	23 - 25	26 - 28	29 - 31
Thời gian xuất hiện mầm quả thể (T ₂)	12	8	7	8
Thời gian quả thể trưởng thành (T ₃)	15	10	8	7
Tổng thời gian thu hái quả thể	64	53	50	50
Đường kính trung bình quả thể nấm (cm)	12,6	15,5	16,2	16,4
Số cụm trung bình/bịch	10,3	13,8	12,5	12,1
Trọng lượng nấm tươi grung bình/bịch (g)	682,5	874,3	862,6	836,4
Năng suất nấm (%)	71,1	91,2	83,4	81,8
Đặc điểm quả thể	Quả màu nâu đen, cánh dày, nhỏ	Quả màu nâu đen, cánh nấm to dày, cân đối	Quả màu nâu, cánh nấm to dày, cân đối	Quả màu nhạt, cánh nấm to mỏng, cân đối

Qua theo dõi cho thấy, nhiệt độ ảnh hưởng tới thời gian hình thành mầm quả thể nấm; Nhiệt độ thấp 20 - 22°C, làm kéo dài thời gian xuất hiện mầm quả thể lên 12 ngày, trong khi thời gian xuất hiện mầm quả thể ở các công thức khác từ 7 - 8 ngày. Như vậy, nhiệt độ không chỉ ảnh hưởng tới thời gian ươm sợi mà còn ảnh hưởng tới thời gian ra quả thể, bên cạnh đó cũng làm kéo dài thời gian quả thể trưởng thành; Trong điều kiện thích hợp 23 - 25°C, thời gian chăm sóc để cánh Mộc nhĩ phát triển hết cỡ khoảng 10 ngày, với nhiệt độ cao hơn là khoảng 7 ngày; trong khi đó, khi nuôi trồng ở nhiệt độ thấp, thời gian để quả thể trưởng thành là 15 ngày.

Về chỉ tiêu tổng thời gian thu hái quả thể trong thí nghiệm này được tính từ khi rạch bịch đến khi kết thúc đợt thu hái thứ 2. Trong nuôi trồng nấm mộc nhĩ, thời gian từ lúc thu hoạch đợt đầu đến khi có lứa mới khoảng 18 - 20 ngày, do vậy khi thời gian xuất hiện mầm quả thể và thời gian chăm sóc quả thể kéo dài cũng làm kéo dài thời gian thu hái. Khi nhiệt độ 26 - 28°C, tổng thời gian để thu hái quả thể khoảng 50 ngày, nhưng nhiệt độ thấp làm kéo dài thời gian phát triển của quả thể, thời gian thu hái kéo dài hơn so với các công thức khác từ 11 - 14 ngày.

Bên cạnh đó, khi quan sát đặc điểm hình thái quả thể nấm cho thấy, nhiệt độ thấp cánh mộc nhĩ có màu nâu đen đậm hơn và dày hơn, đường kính quả thể và số cụm/bịch cũng thấp hơn làm cho năng suất nấm mộc nhĩ thu được khi nuôi trồng ở nhiệt độ thấp cũng giảm đáng kể, chỉ đạt 71,1%, trong khi năng suất đạt cao nhất khi nuôi trồng ở nhiệt độ thích hợp là 91,2%.

IV. KẾT LUẬN

Nấm Mộc nhĩ hoàn toàn thích hợp với phương pháp nuôi trồng trên nguồn cơ chất tổng hợp sử dụng giống nấm dạng dịch thể với các điều kiện như sau:

- + Công thức môi trường thích hợp cho nuôi trồng nấm Mộc nhĩ: 95% mùn cưa, 0,5% MgSO₄, 0,5% KH₂PO₄, 3% cám mì, 1% CaCO₃ (có thể phối trộn thêm lõi ngô, bã mía để tận dụng nguồn nguyên liệu sẵn có tại vùng sản xuất)

- + Độ ẩm nguyên liệu phù hợp cho nuôi trồng nấm Mộc nhĩ: 65 ± 2%.

- + Tỷ lệ giống cấy phù hợp cho nuôi trồng nấm Mộc nhĩ: 25 - 30 ml/bịch.

- + Nhiệt độ thích hợp nhất trong giai đoạn nuôi sợi: 24 - 26°C.

- + Nhiệt độ thích hợp nhất trong giai đoạn thu quả thể: 23 - 25°C.

LỜI CẢM ƠN

Công trình nghiên cứu được hỗ trợ kinh phí từ dự án “Sản xuất thử nghiệm giống nấm dạng dịch thể đối với một số loại nấm chủ lực” thuộc dự án KH&CN: “Nghiên cứu chọn tạo giống và công nghệ sản xuất nấm ăn, nấm dược liệu quy mô công nghiệp”, Chương trình: “Phát triển sản phẩm Quốc gia đến năm 2020”. Nhóm tác giả xin cảm ơn Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn và Bộ Khoa học và Công nghệ.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Nguyễn Lâm Dũng, 2001. Công nghệ nuôi trồng nấm, Tập 1. Nhà xuất bản Nông nghiệp.
 Nguyễn Hữu Đống, Đinh Xuân Linh, Nguyễn Thị Sơn, Ngô Xuân Nghiễn, Zani Federico, 2000. Nấm

ăn - Cơ sở khoa học và công nghệ nuôi trồng. Nhà xuất bản Nông nghiệp.

Trịnh Tam Kiệt, Đoàn Văn Vệ, Vũ Mai Liên, 1986. *Sinh học và kỹ thuật nuôi trồng nấm ăn*. Nxb Khoa học và Kỹ thuật. Hà Nội.

Trịnh Tam Kiệt, 2001. *Danh lục các loài thực vật Việt Nam*, Tập 1. Phần nấm. Nhà xuất bản Nông nghiệp. Hà Nội.

Trần Á Phàm, Lý Lực, Đặng Vĩnh Cường, 2006. *Bản luận về một số vấn đề trong sản xuất giống dịch thể nấm ăn*. Khoa học Công nghệ Nông nghiệp Ninh Hạ, Trung Quốc.

Huang XG, Quan YL, Guan B, Hu Y, 2010. Research progress in *Auricularia auricula* polysaccharide. *Liangyou Shipin Keji*, 18 (1): 47-50, 54.

Chen G, Luo YC, Ji BP, Li B, Su W, Xiao ZL, Zhang GZ. J, 2011. Hypocholesterolemic effects of *Auricularia auricula* ethanol extract in ICR mice fed a cholesterol-enriched diet. *Food Sci. Technol.*, 48 (6): 692-698.

Fan LS, Zhang SH, Yu L, Li Ma, 2007. Evaluation of antioxidant property and quality of breads containing *Auricularia auricula* polysaccharide flour. *Food Chemistry*, 101 (3): 1158-1163.

Building a technological procedure for cultivation of ear mushroom by using liquid spawn

Co Thi Thuy Van, Le Thi Lan, Hoang Thi Soan

Abstract

The liquid spawn ear mushroom is a multiplied biomass in the liquid nutrient medium. After culturing under suitable conditions and testing for quality, they will be transferred to a solid medium for growing ear mushroom. In this article, we conducted studies on parameters to develop the cultivation process of *Auricularia auricula* using liquid spawn. The study results showed that the Ear mushroom was completely suitable for the cultivation on substrate using liquid spawn with the formula: 95% sawdust, 0.5% $MgSO_4$, 0.5% KH_2PO_4 , 3 % wheat bran, 1% $CaCO_3$; material moisture: $65 \pm 2\%$; seeding rate: 25 - 30 ml/bag of material.

Keywords: Ear Mushroom (*Auricularia auricular*), liquid spawn, edible - medicinal mushroom

Ngày nhận bài: 07/9/2020

Ngày phản biện: 19/9/2020

Người phản biện: PGS. TS. Nguyễn Thị Bích Thùy

Ngày duyệt đăng: 24/9/2020

NGHIÊN CỨU ẢNH HƯỞNG CỦA PHÂN GÀ KẾT HỢP VỚI PHÂN BÓN HÓA HỌC ĐẾN NĂNG SUẤT, CHẤT LƯỢNG TRÁI ĐẬU BẮP ĐỎ TRỒNG TRÊN ĐẤT PHÙ SA

Phạm Thị Diễm Thúy¹, Tất Anh Thư², Bùi Triệu Thương²

TÓM TẮT

Nghiên cứu này trình bày kết quả đánh giá ảnh hưởng của việc bón kết hợp phân hữu cơ gà và phân bón hóa học đến sinh trưởng, năng suất và chất lượng trái đậu bắp đỏ (*Abelmoschus esculentus* L. Moench). Thí nghiệm đồng ruộng được thực hiện vào vụ Đông Xuân 2019 - 2020 trên đất phù sa (Fluvisol), tại khu thực nghiệm Trường Đại học Cần Thơ. Thí nghiệm được bố trí theo thể thức khối hoàn toàn ngẫu nhiên với bốn nghiệm thức, ba lần lặp lại. Kết quả thí nghiệm cho thấy khi bón 70% NPK + 30% phân gà (84 kg N - 42 kg P_2O_5 - 42 kg K_2O /ha + 1,8 tấn/ha phân gà) giúp cây sinh trưởng tốt, đạt năng suất cao hơn so với bón 100% NPK (120 kg N - 60 kg P_2O_5 - 60 kg K_2O /ha). Bón 50% NPK + 50% phân gà (60 kg N - 30 kg P_2O_5 - 30 kg K_2O /ha + 3 tấn/ha phân gà) cho năng suất ngang bằng với bón 100% NPK. Ngoài ra, bón phân hữu cơ đã giúp gia tăng độ Brix, giảm sự tích lũy nitrate trong trái so với bón hoàn toàn phân bón hóa học; đồng thời giúp cải thiện pH đất, chất hữu cơ, hàm lượng dinh dưỡng hữu dụng trong đất rõ rệt hơn so với không bón phân hữu cơ (100% NPK).

Từ khóa: Đậu bắp (*Abelmoschus esculentus* L.), năng suất, phân gà, dinh dưỡng đất

¹Hội Chủ thập đỏ tỉnh An Giang, ²Trường Đại học Cần Thơ