

ẢNH HƯỞNG CỦA NỒNG ĐỘ HYDROGEN PEROXIDE TRONG QUẢN LÝ NẤM MỐC *Trichoderma afroharzianum* ĐẾN NĂNG SUẤT NẤM BÀO NGƯ XÁM (*Pleurotus sajor-caju* (Fr.) Singer)

Nguyễn Hồng Huế, Nguyễn Lâm Duy, Lê Cao Thắng, Lê Vĩnh Thúc*

Khoa Khoa học cây trồng, Trường Nông nghiệp, Trường Đại học Cần Thơ

*Tác giả liên hệ: lvthuc@ctu.edu.vn

Nhận bài: 28/02/2024 Hoàn thành phản biện: 18/04/2024 Chấp nhận bài: 19/04/2024

TÓM TẮT

Đề tài được thực hiện nhằm xác định nấm mốc nhiễm chất nền và ảnh hưởng của hydrogen peroxide đến sinh trưởng và năng suất nấm bào ngư xám (*Pleurotus sajor-caju* (Fr.) Singer). Nội dung nghiên cứu gồm phân lập nấm mốc nhiễm chất nền và thí nghiệm đánh giá ảnh hưởng của nồng độ hydrogen peroxide đến năng suất và thành phần năng suất của nấm bào ngư xám được trồng trên mùn cưa cao su. Kết quả phân lập và định danh đã xác định được dòng nấm gây nhiễm chất nền trồng nấm bào ngư xám là *Trichoderma afroharzianum*. Xử lý H₂O₂ ở nồng độ từ 1.000 ppm đến 5.000 ppm có khả năng ức chế nấm *T. afroharzianum* phát triển. Nồng độ H₂O₂ 3.000 ppm có khả năng ức chế gây hại của nấm *T. afroharzianum* cao và ít tác động đến các chỉ tiêu năng suất của nấm bào ngư xám. Ở lần thu hoạch thứ nhất nấm *T. afroharzianum* chưa gây hại làm ảnh hưởng năng suất quả thể và các nồng độ H₂O₂ không ảnh hưởng đến năng suất quả thể nấm bào ngư xám. Kết quả phân tích tổng bốn lần thu hoạch và ở các lần thu hoạch thứ 2, 3 và 4 cho thấy xử lý H₂O₂ ở nồng độ 3.000 ppm quản lý sự gây hại của nấm *T. afroharzianum* trên nấm bào ngư là tốt nhất. Đề nghị sử dụng H₂O₂ 3.000 ppm vào sản xuất nấm bào ngư để trị bệnh mốc xanh do nấm *T. afroharzianum* gây ra.

Từ khóa: Hydrogen peroxide, Nấm bào ngư xám, *Trichoderma afroharzianum*

THE EFFECT OF HYDROGEN PEROXIDE CONCENTRATION ON THE YIELD AND YIELD COMPONENTS OF GRAY OYSTER MUSHROOM (*Pleurotus sajor-caju* (Fr.) Singer)

Nguyen Hong Hue, Nguyen Lam Duy, La Cao Thang, Le Vinh Thuc*

Department of Crop Science, College of Agriculture, Can Tho University

ABSTRACT

The project was carried out to identify the fungus that contaminated on the substrate and the effect of hydrogen peroxide on the yield and yield components of gray oyster mushroom (*Pleurotus sajor-caju* (Fr.) Singer). This research included the isolation of fungus from contaminated substrate and the evaluation of H₂O₂'s concentration on the yield and yield components of gray oyster mushroom that were grown on rubber tree sawdust. As a result, *Trichoderma afroharzianum* was isolated and identified. Treating H₂O₂ at different concentrations ranged from 1,000 ppm to 5,000 ppm showed significant potential to inhibit the growth of *T. afroharzianum*. H₂O₂ concentration of 3,000 ppm showed a high potential to inhibit the harmful effects of *T. afroharzianum* with insignificant impact on yield and yield components of gray oyster mushroom. At the first harvest, *T. afroharzianum* showed insignificant effect on yield and H₂O₂ did not affect abalone growth. At the second, third, and fourth harvests, H₂O₂ at the concentration of 3,000 ppm significantly inhibited the development of *T. afroharzianum* with minimum negative effect on the development of gray oyster mushroom.

Keywords: Gray oyster mushroom, Hydrogen peroxide, *Trichoderma afroharzianum*

1. MỞ ĐẦU

Nấm bào ngư xám (*Pleurotus sajor-caju* (Fr.) Singer) là một trong những loại nấm có giá trị dinh dưỡng cao và dễ trồng (Pokhrel và cs., 2013). Ngoài việc cung cấp một lượng đáng kể chất đạm, đường, vitamin và khoáng, nấm bào ngư xám còn là dược liệu quý trong việc duy trì, bảo vệ sức khỏe và cũng là mặt hàng xuất khẩu có giá trị (Thái Hà và Đặng Mai, 2011). Đồng thời, nấm bào ngư xám còn được đánh giá là dược phẩm có hiệu quả chống ung thư, chống oxy hóa, điều hòa miễn dịch, hạ cholesterol máu, ổn định tim mạch, kháng virus và kháng khuẩn (Royse và cs., 2017). Nấm bào ngư xám được trồng chủ yếu ở các nước châu Á (Zmitrovich và Wasser, 2016) trong đó có Việt Nam. Kỹ thuật trồng nấm bào ngư xám cho ra nấm từ cô chai rất phổ biến để thu nấm được tập trung và điều khiển nấm mọc theo thời gian mong muốn. Tuy nhiên, việc vệ sinh cô chai trong thời gian xử lý cho nấm mọc là vấn đề lớn do tạp nhiễm nấm gây hại làm hạn chế sự phát triển của nấm bào ngư xám. Trong số các loại nấm gây bệnh, gây ảnh hưởng nhiều nhất là nấm *Hyphomycetous* bao gồm chủng nấm đối kháng *Trichoderma* (Oh và cs., 2000) gây bệnh mốc xanh trên nấm. Bệnh mốc xanh đã được nghiên cứu nhiều ở Hoa Kỳ, Canada, Nam Mỹ, Châu Á, Úc và các nước Châu Âu (Grogan và cs., 2000) nhưng chưa được nghiên cứu nhiều ở Việt Nam. Bệnh mốc xanh do *Trichoderma* gây ra được đặc trưng bởi lớp bào tử dày màu xanh trên bề mặt giá thể (Hatvani và cs., 2007). Bào tử nấm *Trichoderma* hình thành nhanh và nhiều, có thể nhanh chóng phát tán trong không khí do trọng lượng thấp. Các bào tử này có thể xâm nhập vào tế bào nấm bằng cách nhận biết lớp lectin trên thành tế bào (Barak và cs., 1986). Sau đó bào tử nảy mầm thành sợi nấm, chúng nhanh chóng chiếm vị trí dinh dưỡng và sinh sản trong

giá thể nấm. Hydrogen peroxide có hoạt tính chống lại nhiều loại vi sinh vật, bao gồm vi khuẩn, nấm men, nấm và virus tùy thuộc vào nồng độ và thời gian phơi nhiễm (Rutala và cs., 2008; Block, 2001). Hydrogen peroxide khi được sử dụng ở nồng độ 0.5% có khả năng diệt vi khuẩn và virus trong một phút và diệt nấm trong năm phút (Omidbakhsh và Sattar, 2006). Hoạt tính đặc hiệu tùy theo nồng độ của hydrogen peroxide trong việc khống chế sự phát triển của bào tử nấm nhưng không ảnh hưởng đến sự phát triển của sợi nấm được ứng dụng để khử trùng trong sản xuất nấm (Wayne 1999). Các nghiên cứu trước đây chỉ tập trung vào các loại cơ chất trồng nấm bào ngư xám mà chưa thật sự quan tâm đến việc nhận diện chủng nấm gây hại đến quá trình sản xuất nấm bào ngư cũng như nồng độ H_2O_2 thích hợp để kiểm soát nấm gây hại. Do vậy, nghiên cứu được thực hiện nhằm tìm ra nồng độ hydrogen peroxide phù hợp để ngăn ngừa sự xâm nhiễm của nấm gây hại và không ảnh hưởng đến sự phát triển của nấm bào ngư xám.

2. NỘI DUNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Phân lập các loại nấm gây nhiễm meo giống và quả thể nấm bào ngư xám được thực hiện theo phương pháp của Dhingra và Sinclair (1995). Quá trình tách chiết, tinh sạch DNA và giải trình tự được thực hiện tại Viện Công nghệ sinh học, Trường Đại học Cần Thơ.

Hóa chất thí nghiệm

Mùn cưa cao su được trộn với nước vôi để đạt pH 5,0-7,0 và độ ẩm đạt 50-60%. Sau đó, nguyên liệu được khử trùng ở 70°C trong 12 tiếng. Sau đó, nguyên liệu được cấy giống nấm bào ngư xám và cho vào bịch nilong trắng có kích thước 10x20 cm với cổ phôi nhựa có đường kính 4 cm. Quá trình xử lý mùn cưa cao su và cấy giống bào ngư xám được thực hiện tại trại nấm Đồng Tâm,

Quốc lộ 91B, Quận Bình Thủy, thành phố Cần Thơ.

Hóa chất ly trích DNA: CTAB Buffer (2% CTAB, 100 mM Tris pH 8.0, 20 mM EDTA pH 8.0, 1.4 M NaCl), β -mercaptoethanol, Chloroform:Isoamyl alcohol (24:1), Enzyme RNase,

Isopropanol, ethanol (70%). Hóa chất PCR và điện di: PCR Mix (NEXpro, Korea), Agarose tinh khiết, thuốc nhuộm Ethidium bromide, TAE 1X, giấy parafilm, Loading dye 6x, Ladder 1kb plus, TE, nước tinh sạch (nước cất 2 lần và đã qua khử trùng ở 121°C trong 20 phút).

Bảng 1. Trình tự cặp mồi RbcL sử dụng trong phản ứng PCR

Tên mồi	Trình tự (5'-3')	T _m (°C)	Tác giả
ITS 1P	CCTTATCATTTAGAGGAAGGAG	60	White và cs. (1990)
ITS 4	TCCTCCGCTTATTGATATGC		

T_m, nhiệt độ gắn mồi

Phương pháp ly trích DNA

DNA của mẫu nấm tạp nhiễm được ly trích theo phương pháp CTAB (Doyle và Doyle, 1990). Quy trình ly trích DNA được thực hiện như sau:

Nghiền mịn 100 mg mẫu trong 1 ml dung dịch CTAB 2X đã được ủ ở 65°C trong 15 phút, sau đó thêm vào từng mẫu 10 μ l β -mercaptoethanol. Tiến hành ủ ở nhiệt độ 65°C trong 60 phút (cứ 10 phút lắc trộn đều mẫu 1 lần). Tiếp theo cho thêm vào mỗi tuýp 500 μ l chloroform, trộn đều và đem ly tâm 13000 vòng trong 10 phút. Rút 750 μ l phần dung dịch bên trên cho vào tuýp mới, sau đó tiếp tục thêm vào 500 μ l chloroform, trộn đều và ly tâm 13000 vòng trong 10 phút. Rút tiếp 650 μ l lớp dịch bên trên và cho vào tuýp mới, sau đó thêm 500 μ l chloroform vào mỗi tuýp và ly tâm 13000 vòng trong 10 phút. Tiếp theo rút mỗi tuýp 400 μ l lớp dịch bên trên và cho vào tuýp mới, đồng thời thêm 400 μ l isopropanol (tỉ lệ 1:1), trộn đều và ủ lạnh ở nhiệt độ -20°C trong 30 phút. Đem mẫu đi ly tâm 13000 vòng trong 10 phút, tiến hành đổ bỏ phần dung dịch bên trên, giữ lại phần kết tủa lắng tụ bên dưới. Thêm 500 μ l ethanol 70% vào mỗi tuýp và ly tâm 13000 vòng trong 5 phút để rửa sạch mẫu, sau đó đổ bỏ phần cồn và chứa lại kết tủa. Thêm tiếp tục 500 μ l ethanol 70% vào mỗi tuýp để rửa sạch mẫu lần hai và ly tâm 13000 vòng trong 5 phút.

Sau đó đổ bỏ phần cồn và chứa lại kết tủa. Dùng micropipet hút sạch phần cồn còn sót lại trong mỗi tuýp và đem mẫu đi phơi khô ở nhiệt độ phòng trong 1 giờ. Cuối cùng thêm vào mỗi tuýp 30 μ l TE (pH = 8.0) để hòa tan DNA và trữ lạnh ở nhiệt độ -20°C.

Phản ứng PCR

Phản ứng PCR (Polymerase Chain Reaction) hay còn gọi là phản ứng khuếch đại DNA, mỗi phản ứng bao gồm 50 μ l, sử dụng bộ PCR KIT (NEXpro™ Diagnostics) gồm các thành phần 10X e-Taq Buffer, 10 mM dNTP, e-Taq DNA Polymerase, thêm vào nước tinh sạch, cặp mồi ITS (Bảng 1) và DNA. Tất cả được trộn đều trước khi cho vào máy PCR GeneAmp PCR System 2700. Phản ứng này được thực hiện trong 35 chu kỳ gia nhiệt, bao gồm: 5 phút ở 95°C, 30 giây ở 95°C, 30 giây ở 60°C, 30 giây ở 72°C, kéo dài chuỗi trong 5 phút ở 72°C và sản phẩm được trữ ở 10°C trong 20 phút.

Điện di sản phẩm PCR và giải trình tự

Điện di sản phẩm PCR rồi tinh chế bằng bộ kit Wizard SV Gel và PCR Cleanup System (Promega), sau đó được gửi đi giải trình tự bằng phương pháp Sanger (Sanger và cs., 1977) bằng máy ABI PRISM™ 3130XL DNA Genetic Analyzer.

Phân tích kết quả giải trình tự

Khối lượng phân tử được tính toán bằng phần mềm GelAnalyzer. Kết quả giải trình tự được lưu trữ ở dạng FASTA và phân tích bằng phần mềm BioEdit phiên bản cập nhật mới nhất 7.0.5 (Hall 1999). Sau đó bằng phương pháp BLAST trên hệ thống ngân hàng gene NCBI (National Center for Biotechnology Information) dùng cho việc nhận diện loài.

Bố trí thí nghiệm

Thí nghiệm thực hiện theo kiểu bố trí khối hoàn toàn ngẫu nhiên gồm sáu nghiệm thức và mười lần lặp lại. Mỗi lần lặp lại là 01 túi phôi nấm bào ngư xám có khối lượng trung bình 1,2 kg. Các nghiệm thức thí nghiệm là Đối chứng dương, Đối chứng âm, 1.000, 2000, 3.000, 4000 và 5000 ppm hydrogen peroxide (H_2O_2). Đối chứng dương không được chủng bệnh. Các đối chứng còn lại được chủng bệnh.

Phương pháp chủng bệnh: Sử dụng micropipet rút 01 ml dung dịch huyền phù nấm gây nhiễm và xịt trực tiếp vào vùng cổ phôi nấm bào ngư xám. Chủng bệnh vào thời điểm 01 ngày trước khi sốc nhiệt, giữ nhiệt độ phòng trong 24 giờ để nấm mốc có điều kiện phát triển trong phôi. Cuối cùng, sốc nhiệt bằng nước đá lạnh để tạo môi trường tối hảo cho nấm phát triển đồng loạt ở lần thu hoạch đầu tiên.

Sau khi chủng bệnh, các phôi nấm được xử lý bề mặt vùng cổ chai phôi bằng cách xịt H_2O_2 với nồng độ theo từng nghiệm thức thí nghiệm.

Các chỉ tiêu thu thập gồm năng suất và thành phần năng suất nấm bào ngư xám. Tổng số lượng quả thể được xác định bằng cách đếm toàn bộ quả thể xuất hiện trên túi phôi. Khối lượng trung bình của quả thể được xác định bằng cách lấy tổng khối lượng quả thể của túi phôi chia cho tổng số quả thể của túi phôi. Kích thước quả thể của

nấm bào ngư được xác định bằng cách chọn ngẫu nhiên 05 tai nấm trưởng thành trên mỗi nghiệm thức để ghi nhận độ dày và đường kính phiến nấm và chiều dài và đường kính cuống nấm. Khối lượng tươi của quả thể được xác định bằng cách cân toàn bộ quả thể bao gồm cả cuống nấm của mỗi túi phôi.

Số liệu thu thập từ thí nghiệm được phân tích bằng phần mềm thống kê SPSS độ giữa các nghiệm thức và sử dụng phương pháp kiểm định Duncan để so sánh giá trị trung bình.

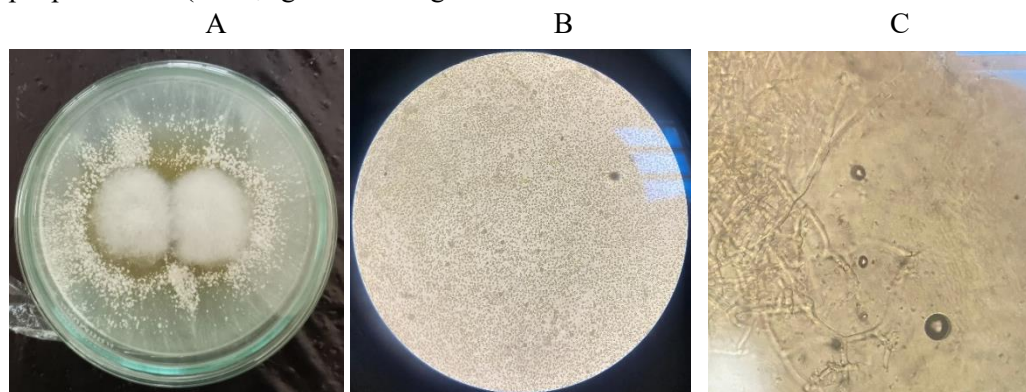
3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Phân lập và định danh tác nhân gây bệnh bằng đặc điểm hình thái

Kết quả quan sát cho thấy đặc điểm hình thái của sợi nấm trong thí nghiệm phân lập có màu sắc sợi tơ trắng sữa, tản nấm phát triển tạo thành các vòng đồng tâm, tơ nấm có xu hướng bung lên ở vị trí tâm đĩa petri (Hình 1A). Đặc điểm hình thái có nhiều điểm tương đồng với nghiên cứu của Urmi (2019), các sợi nấm phát triển và chuyển dần màu xanh lam trong các túi phôi nhiễm do nấm *Trichoderma* sp. sinh ra nhiều bào tử. Các vòng nấm phát triển nhanh và lúc đầu có màu trắng, sau chuyển sang màu xanh lam, xuất hiện các nốt sần và có màu vàng trắng (Hình 1B). Cuống bào tử được phân nhánh và tập hợp thành các bó (Hình 1C). Các cuống bào tử tản cùng có một hoặc một vài túi bào tử mọc lên từ trục gần đỉnh. Dựa trên đặc điểm hình thái cơ bản trên, tác nhân gây bệnh có đặc điểm tương đồng với nấm *Trichoderma* sp. Do các loài nấm thuộc chi *Trichoderma* có đặc điểm hình thái giống nhau và thay đổi tùy theo điều kiện môi trường (Cai và cs., 2021) nên việc định danh tác nhân gây bệnh dựa trên đặc điểm hình thái chỉ thể tới mức xác định chi. Trong nghiên cứu này, loại nấm tạp nhiễm vào giá thể nuôi trồng nấm bào ngư xám đã

được phân lập và định danh xác định là nấm *Trichoderma*, phù hợp với nghiên cứu của Balasubramanya và Kathe (1996). Theo nghiên cứu của Balasubramanya và Kathe (1996), nấm *Penicillium* sp. và *Trichoderma* sp. thường tạp nhiễm vào giá thể nuôi trồng nấm bào ngư, đặc biệt là sau khi giá thể đã được khử trùng bằng phương pháp Pasteur (sử dụng nước nóng 80°C

trong hai giờ). Šašić và cs. (2023) cũng nhận thấy rằng việc trồng nấm ăn dễ bị tạp nhiễm các loại nấm thuộc chi *Trichoderma* và gây bệnh mốc xanh. Mặc dù bệnh mốc xanh cũng có thể được gây ra bởi các loài nấm thuộc chi *Penicillium* và chi *Aspergillum* nhưng khả năng gây bệnh của các loại nấm này thấp (Šašić và cs., 2023).



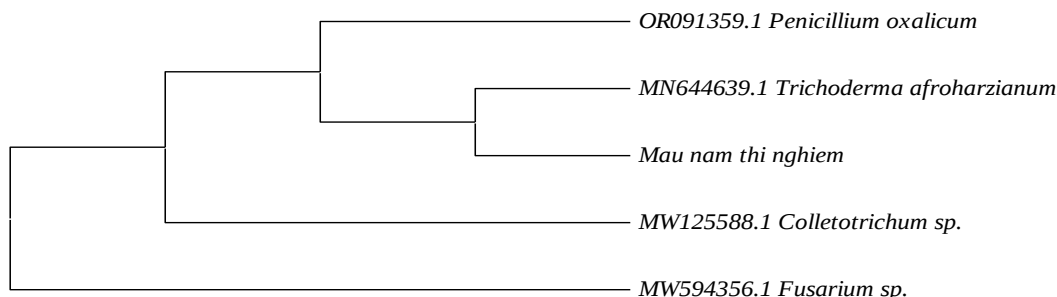
Hình 1. Đặc điểm hình thái của sợi nấm

(A) mặt trên tản nấm; (B) bào tử trên vật kính 10X (C) cuống bào tử phân nhánh trên vật kính 40X.

3.2. Định danh tác nhân gây bệnh bằng sinh học phân tử

Nhằm định danh tác nhân gây bệnh tới mức loài, kết quả giải trình tự gen *RbcL* của mẫu nấm được so sánh trên hệ thống ngân hàng gen của Trung tâm Thông tin Công nghệ sinh học Quốc gia (NCBI) cho thấy trình tự gen của mẫu trùng khớp 97,6% với loài *Trichoderma afroharzianum* có mã số MN644639.1 và kích thước 750 bp (Hình 2). Loài nấm *Trichoderma* được phát hiện trong nghiên cứu này khác với kết quả từ

nghiên cứu của Hassan và cs. (2022) có thể là do sự khác biệt về giá thể và loại nấm bào ngư mà nhóm tác giả sử dụng. Hassan và cs. (2022) phân lập nấm *Trichoderma* tạp nhiễm từ giá thể của nấm bào ngư *P. pulmonarius* trong khi nghiên cứu này sử dụng nấm bào ngư xám *P. sajor-caju*. Giá thể được sử dụng trong nghiên cứu của Hassan và cs. (2022) là rơm lúa mạch, rơm lúa mì và thân bắp trong khi giá thể được sử dụng trong nghiên cứu của nhóm tác giả là mùn cưa cao su.



Hình 2. Giản đồ phả hệ của loài *Trichoderma afroharzianum*

3.3. Ảnh hưởng của nồng độ H₂O₂ đến năng suất và thành phần năng suất nấm bào ngư xám

Tổng số lượng quả thể/túi phôi

Tổng số lượng quả thể qua bốn lần thu hoạch được trình bày trong Bảng 2. Tổng số lượng quả thể/túi phôi ở lần thu hoạch đầu tiên trong thí nghiệm khác biệt không ý nghĩa qua phân tích thống kê. Tổng số lượng quả thể/túi phôi trong lần thu hoạch thứ nhất của các nghiệm thức thí nghiệm dao động từ 9,1 đến 9,8 quả thể. Tổng số lượng quả thể/túi phôi ở lần thu hoạch thứ 2, 3 và 4 trong thí nghiệm khác biệt có ý nghĩa ở mức 1% qua phân tích thống kê. Tổng số lượng quả thể của bốn lần thu hoạch trong thí nghiệm khác biệt có ý nghĩa ở mức 1% qua phân tích thống kê. Tổng số lượng quả thể của bốn lần thu hoạch cao nhất ở nghiệm thức ĐC (+) và kế

đến là nghiệm thức xử lý H₂O₂ 3.000 ppm với các giá trị lần lượt là 32,2 và 29,3 quả thể. Tổng số lượng quả thể của bốn lần thu hoạch thấp hơn ở các nghiệm thức xử lý H₂O₂ 2.000 ppm, 4.000 ppm, 5.000 ppm và 1.000 ppm với các giá trị lần lượt là 19,7; 18,1; 15,6 và 15,3 quả thể. Đối chứng âm có tổng số lượng quả thể/túi phôi thấp nhất do từ lần thu hoạch thứ hai, các túi phôi của đối chứng âm bị nhiễm nấm *Trichoderma* và không thu hoạch được quả thể. Kết quả của nghiên cứu khác biệt với nghiên cứu của Najm và Alqaisi (2022) khi nhóm tác giả không quan sát thấy ảnh hưởng có ý nghĩa về mặt thống kê của việc xử lý H₂O₂ lên sự hình thành quả thể. Sự khác biệt này có thể là do sự khác biệt về giá thể, điều kiện môi trường, chủng nấm và loại nấm bào ngư (*Pleurotus sapidus* Q.) mà nhóm tác giả sử dụng.

Bảng 2. Số lượng quả thể và khối lượng nấm tươi của nấm bào ngư xám tại 4 lần thu hoạch

Lần thu hoạch	Nghiệm thức	Tổng số lượng (quả thể)	Khối lượng nấm tươi (g)
1	ĐC (+)	9,8	98,9
	ĐC (-)	9,3	92,4
	1.000 ppm	9,7	96,6
	2.000 ppm	9,6	95,6
	3.000 ppm	9,8	97,4
	4.000 ppm	9,7	96,5
	5.000 ppm	9,1	91,0
	Trung bình	9,6	95,5
	Mức ý nghĩa	ns	ns
2	CV (%)	15,1	15,7
	ĐC (+)	8,3a	78,4a
	ĐC (-)	-	-
	1.000 ppm	5,4b	33,8c
	2.000 ppm	6,4b	55,2b
	3.000 ppm	8,0a	73,3a
	4.000 ppm	5,9b	42,19c
	5.000 ppm	5,1b	29,8c
	Trung bình	6,5	50,1
3	Mức ý nghĩa	**	**
	CV (%)	11,7	14,1
	ĐC (+)	7,6a	66,8a
	ĐC (-)	-	-
	1.000 ppm	4,8cd	26,9c
	2.000 ppm	6,1b	44,1b
	3.000 ppm	7,4a	63,1a
	4.000 ppm	5,8bc	40,4b

Lần thu hoạch	Nghiem thức	Tổng số lượng (quả thể)	Khối lượng nấm tươi (g)
4	5.000 ppm	4,5d	24,9c
	Trung bình	6,0	48,3
	Mức ý nghĩa	**	**
	CV (%)	9,5	11,5
	ĐC (+)	6,5a	53,1a
	ĐC (-)	-	-
	1.000 ppm	3,7cd	17,4c
	2.000 ppm	4,7b	30,4b
	3.000 ppm	6,3a	50,3a
	4.000 ppm	4,6bc	27,2b
	5.000 ppm	3,3d	14,9c
	TB	4,85	32,2
	Mức ý nghĩa	**	**
	CV (%)	12,05	13,3
Tổng 4 lần thu	ĐC (+)	32,2 ^a	297,3 ^a
	ĐC (-)	9,3 ^f	92,4 ^f
	1.000 ppm	15,3 ^e	127,9 ^e
	2.000 ppm	19,7 ^c	173,6 ^c
	3.000 ppm	29,3 ^b	264,4 ^b
	4.000 ppm	18,1 ^d	152,0 ^d
	5.000 ppm	15,6 ^e	126,4 ^c
	TB	19,9	176,3
	Mức ý nghĩa	**	**
	CV (%)	4,06	3,2

Trong giá trị trong cùng một cột có ký tự theo sau giống nhau khác biệt không ý nghĩa;

**^{*}: Khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức 1%; ns: Khác biệt không ý nghĩa thống kê ở mức 5%.

Khối lượng nấm tươi

Khối lượng nấm tươi của 4 lần thu hoạch được trình bày trong Bảng 2. Khối lượng nấm tươi ở lần thu hoạch thứ nhất trong thí nghiệm khác biệt không ý nghĩa thống kê ở mức 5% qua phân tích thống kê. Năng suất sinh học ở lần thu hoạch thứ nhất có giá trị trung bình 95,48 g và các giá trị dao động từ 90,96 đến 98,90 g. Khối lượng nấm tươi của các nghiệm thức ở lần thu hoạch thứ hai, ba và tư trong thí nghiệm khác biệt có ý nghĩa ở mức 1% qua phân tích thống kê.

Tổng khối lượng nấm tươi của bốn lần thu hoạch trong thí nghiệm khác biệt có

ý nghĩa ở mức 1% qua phân tích thống kê. Tổng khối lượng nấm tươi của bốn lần thu hoạch cao nhất ở nghiệm thức ĐC (+) và kế đến là nghiệm thức xử lý H₂O₂ 3.000 ppm với các giá trị lần lượt là 297,3 và 264,4 g. Tổng khối lượng nấm tươi của bốn lần thu hoạch thấp hơn ở các nghiệm thức xử lý H₂O₂ 2.000 ppm, 4.000 ppm, 1.000 ppm và 5.000 ppm với các giá trị lần lượt là 173,6 g, 152,0 g, 127,9 g và 126,4 g. Đối chứng âm có tổng khối lượng nấm tươi/túi phôi thấp nhất do từ lần thu hoạch thứ hai, các túi phôi của đối chứng âm bị nhiễm nấm *Trichoderma* và không thu hoạch được quả thể.

Bảng 3. Khối lượng trung bình và kích thước quả thề của nấm bào ngư xám tại 4 lần thu hoạch

Lần thu hoạch	Nghiệm thức	KLTB (g)	Phiến nấm		Cuống nấm	
			Độ dày (cm)	Đường kính (cm)	Chiều dài (cm)	Đường kính (cm)
1	ĐC (+)	10,1	1,1	8,9	9,3	1,2
	ĐC (-)	9,94	1,1	8,8	8,9	1,2
	1.000 ppm	10,0	1,1	8,6	9,1	1,2
	2.000 ppm	10,0	1,1	8,8	8,8	1,2
	3.000 ppm	10,0	1,1	8,8	9,0	1,3
	4.000 ppm	10,0	1,1	8,7	8,9	1,2
	5.000 ppm	10,0	1,1	8,8	8,9	1,3
	Trung bình	10,0	1,1	8,8	9,0	1,2
	Mức ý nghĩa	ns	ns	ns	ns	ns
	CV (%)	3,4	8,7	2,8	5,4	6,5
2	ĐC (+)	9,5	0,9	8,2	8,6	1,0
	ĐC (-)	-	-	-	-	-
	1.000 ppm	6,2d	0,5d	6,0c	6,3c	0,7d
	2.000 ppm	8,66b	0,8b	7,1b	7,3b	0,9b
	3.000 ppm	9,14a	0,9a	8,0a	8,27a	1,0a
	4.000 ppm	7,18c	0,6c	6,7b	6,9b	0,8c
	5.000 ppm	5,95d	0,5d	5,7c	6,1c	0,6e
	Trung bình	7,77	0,7	7,0	7,2	0,8c
	Mức ý nghĩa	**	**	**	**	**
	CV (%)	3,62	5,8	4,1	3,5	1,8
3	ĐC (+)	8,80a	0,8a	7,5a	7,8a	1,0a
	ĐC (-)	-	-	-	-	-
	1.000 ppm	5,53d	0,4d	5,1c	5,6d	0,6d
	2.000 ppm	7,55b	0,7b	6,05b	6,6b	0,8b
	3.000 ppm	8,54a	0,8a	7,23a	7,5a	0,9a
	4.000 ppm	6,51c	0,5c	5,8b	6,2c	0,7c
	5.000 ppm	5,37d	0,4d	4,8c	5,3d	0,5d
	Trung bình	7,05	0,61	6,1	6,5	0,8
	Mức ý nghĩa	**	**	**	**	**
	CV (%)	4,51	6,5	4,5	2,5	4,1
4	ĐC (+)	8,17a	0,7a	6,8a	7,0a	0,9a
	ĐC (-)	-	-	-	-	-
	1.000 ppm	4,79d	0,4d	4,5c	4,6c	0,5d
	2.000 ppm	6,62b	0,6b	5,4b	5,7b	0,8b
	3.000 ppm	7,87a	0,69a	6,63a	6,88a	0,8a
	4.000 ppm	5,85c	0,50c	5,08b	5,29b	0,6c
	5.000 ppm	4,65d	0,37d	4,11d	4,44c	0,5d
	TB	6,33	0,54	5,42	5,66	0,7

Mức ý nghĩa	**	**	**	**	**
CV (%)	8,66	3,79	3,55	5,33	3,8

Trong giá trị trong cùng một cột có ký tự theo sau giống nhau khác biệt không ý nghĩa;

****: Khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức 1%; *ns*: Khác biệt không ý nghĩa thống kê ở mức 5%.

Viết tắt: KLTB: Khối lượng trung bình.

Khối lượng trung bình/quả thể

Khối lượng trung bình quả thể của 04 lần thu hoạch được trình bày trong Bảng 3. Khối lượng trung bình của quả thể của các nghiệm thức ở lần thu hoạch thứ nhất khác biệt không có ý nghĩa ở mức 5% qua phân tích thống kê. Khối lượng trung bình quả thể ở lần 1 có giá trị trung bình 9,98 g và các giá trị dao động từ 9,9g đến 10,1 g. Khối lượng trung bình quả thể ở lần 2, 3, 4 trong thí nghiệm khác biệt có ý nghĩa ở mức 1% qua phân tích thống kê. Khối lượng trung bình quả thể ở lần 2 cao tại nghiệm thức ĐC (+) và nghiệm thức xử lý H₂O₂ 3.000 ppm với các giá trị lần lượt là 9,5 g và 9,1 g. Khối lượng trung bình quả thể ở lần thu hoạch thứ 2 thấp tại các nghiệm thức xử lý H₂O₂ 1.000 ppm và 5.000 ppm với các giá trị lần lượt là 6,24 và 5,95 g.

Khối lượng trung bình quả thể có xu hướng giảm dần ở lần thu hoạch thứ 3, tuy nhiên nghiệm thức ĐC (+) và nghiệm thức xử lý H₂O₂ 3.000 ppm cho giá trị khối lượng trung bình/quả thể cao với các giá trị lần lượt là 8,8 g và 8,5 g, thấp hơn là khối lượng trung bình/quả thể tại các nghiệm thức xử lý H₂O₂ 1.000 và 5.000 ppm với các giá trị lần lượt là 5,5 g và 5,4 g. Khối lượng trung bình quả thể ở lần thu hoạch thứ 4 giảm mạnh, ở nghiệm thức ĐC (+) và nghiệm thức xử lý H₂O₂ 3.000 ppm vẫn cho giá trị khối lượng trung bình quả thể cao với các giá trị lần lượt là 8,2 và 7,9 g. Khối lượng trung bình quả thể ở lần 4 thấp tại các nghiệm thức xử lý H₂O₂ 1.000 ppm và 5.000 ppm với các giá trị lần lượt là 4,8 g và 4,67 g.

Độ dày phiến nám (cm)

Độ dày phiến nám theo các lần thu hoạch được trình bày trong Bảng 3. Độ dày phiến nám ở lần thu hoạch thứ nhất của các nghiệm thức khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở mức 5% qua phân tích thống kê. Độ dày phiến nám ở lần thu hoạch thứ nhất có giá trị trung bình 1,1 cm. Độ dày phiến nám ở lần thu hoạch thứ 2, 3 và 4 khác biệt có ý nghĩa ở mức 1% qua phân tích thống kê. Độ dày phiến nám ở lần thu hoạch thứ 2 cao tại nghiệm thức ĐC (+) và nghiệm thức xử lý H₂O₂ 3.000 ppm có giá trị là 0,9 cm. Độ dày phiến nám ở lần 2 thấp tại các nghiệm thức xử lý H₂O₂ 1.000 và 5.000 ppm với các giá trị lần lượt là 0,5 cm và 0,5 cm. Độ dày phiến nám ở lần 3 cao tại nghiệm thức ĐC (+) và nghiệm thức xử lý H₂O₂ 3.000 ppm với giá trị là 0,8 cm. Độ dày phiến nám ở lần 3 thấp tại các nghiệm thức xử lý H₂O₂ 1.000 ppm và 5.000 ppm với giá trị là 0,4 và 0,4 cm. Độ dày phiến nám ở lần 4 cao tại nghiệm thức ĐC (+) và nghiệm thức xử lý H₂O₂ 3.000 ppm với các giá trị là 0,7 cm. Độ dày phiến nám ở lần 4 thấp tại các nghiệm thức xử lý H₂O₂ 1.000 và 5.000 ppm với giá trị là 0,4 cm.

Đường kính phiến nám (cm)

Đường kính phiến nám theo các lần thu hoạch được trình bày trong Bảng 3. Đường kính phiến nám ở lần 1 trong thí nghiệm khác biệt không ý nghĩa ở mức 5% qua phân tích thống kê. Đường kính phiến nám ở lần 1 có giá trị trung bình 8,8 cm và các giá trị dao động từ 8,6 cm đến 8,9 cm. Đường kính phiến nám ở lần 2, 3, 4 trong thí nghiệm khác biệt có ý nghĩa ở mức 1%. Đường kính phiến nám ở lần 2 cao tại nghiệm thức ĐC (+) và nghiệm thức xử lý

H₂O₂ 3.000 ppm với các giá trị lần lượt là 8,2 và 8,0 cm. Đường kính phiến nấm ở lần 2 thấp tại các nghiệm thức xử lý H₂O₂ 1.000 và 5.000 ppm với các giá trị lần lượt là 6,0 cm và 5,7 cm. Đường kính phiến nấm ở lần 3 cao tại nghiệm thức ĐC (+) và nghiệm thức xử lý H₂O₂ 3.000 ppm với các giá trị lần lượt là 7,5 cm và 7,3 cm. Đường kính phiến nấm ở lần 3 thấp tại các nghiệm thức xử lý H₂O₂ 1.000 ppm và 5.000 ppm với các giá trị lần lượt là 5,1 cm và 4,8 cm. Đường kính phiến nấm ở lần 4 cao tại nghiệm thức ĐC (+) và nghiệm thức xử lý H₂O₂ 3.000 ppm với các giá trị lần lượt là 6,8 và 6,6 cm. Đường kính phiến nấm ở lần 4 thấp nhất tại nghiệm thức xử lý H₂O₂ 5.000 ppm với giá trị là 4,1 cm.

Chiều dài cuống nấm (cm)

Chiều dài cuống nấm theo các lần thu hoạch được trình bày trong Bảng 3. Chiều dài cuống nấm của các nghiệm thức ở lần thu hoạch thứ nhất khác biệt không có ý nghĩa ở mức 5% qua phân tích thống kê. Chiều dài cuống nấm ở lần 1 có giá trị trung bình 10,0 cm và các giá trị dao động từ 8,78 cm đến 9,3 cm. Chiều dài cuống nấm của các nghiệm thức ở lần thu hoạch thứ 2, 3 và 4 khác biệt có ý nghĩa ở mức 1%. Chiều dài cuống nấm ở lần 2 cao tại nghiệm thức ĐC (+) và nghiệm thức xử lý H₂O₂ 3.000 ppm với các giá trị lần lượt là 8,6 cm và 8,3 cm. Chiều dài cuống nấm ở lần 2 thấp tại các nghiệm thức xử lý H₂O₂ 1.000 ppm và 5.000 ppm với các giá trị lần lượt là 6,3 cm và 6,1 cm. Chiều dài cuống nấm ở lần 3 cao tại nghiệm thức ĐC (+) và nghiệm thức xử lý H₂O₂ 3.000 ppm với các giá trị lần lượt là 7,8 và 7,5 cm. Chiều dài cuống nấm ở lần 3 thấp tại các nghiệm thức xử lý H₂O₂ 1.000 và 5.000 ppm với các giá trị lần lượt là 5,6 cm và 5,3 cm. Chiều dài cuống nấm ở lần 4 cao tại nghiệm thức ĐC (+) và nghiệm thức xử lý H₂O₂ 3.000 ppm với các giá trị lần lượt là 7,0 cm và 6,9 cm. Chiều dài cuống

nấm ở lần 4 thấp tại các nghiệm thức xử lý H₂O₂ 1.000 và 5.000 ppm với các giá trị lần lượt là 4,6 và 4,4 cm. Kết quả trên tương đồng với nghiên cứu của Urmi (2019), nghiên cứu đã cho thấy chiều dài cuống nấm bào ngư xám có xu hướng giảm khi xử lý H₂O₂ ở các nồng độ 3.000, 2.000 và 1.000 ppm với các giá trị lần lượt là 5,2 cm, 5,1 cm và 4,8 cm.

Đường kính cuống nấm (cm)

Đường kính cuống nấm theo các lần thu hoạch được trình bày trong Bảng 3. Đường kính cuống nấm của các nghiệm thức ở lần thu hoạch thứ nhất khác biệt không có ý nghĩa ở mức 5% qua phân tích thống kê. Đường kính cuống nấm ở lần thu hoạch thứ nhất có giá trị trung bình 1,24 cm và các giá trị dao động từ 1,2 cm đến 1,3 cm. Đường kính cuống của các nghiệm thức ở lần thu hoạch thứ 2, 3 và 4 trong thí nghiệm khác biệt có ý nghĩa ở mức 1%. Đường kính cuống nấm ở lần 2 cao tại nghiệm thức ĐC (+) và nghiệm thức xử lý H₂O₂ 3.000 ppm với các giá trị lần lượt là 1,0 cm và 1,0 cm. Đường kính cuống nấm ở lần 2 thấp nhất tại nghiệm thức xử lý H₂O₂ 5.000 ppm với giá trị là 0,6 cm. Đường kính cuống nấm ở lần 3 cao tại nghiệm thức ĐC (+) và nghiệm thức xử lý H₂O₂ 3.000 ppm với các giá trị lần lượt là 1,0 cm và 0,9 cm. Đường kính cuống nấm ở lần 3 thấp tại các nghiệm thức xử lý H₂O₂ 1.000 ppm và 5000 ppm với các giá trị lần lượt là 0,6 cm và 0,5 cm. Đường kính cuống nấm ở lần 4 cao tại nghiệm thức ĐC (+) và nghiệm thức xử lý H₂O₂ 3.000 ppm với các giá trị lần lượt là 0,9 cm và 0,8 cm. Đường kính cuống nấm ở lần 4 thấp tại các nghiệm thức xử lý H₂O₂ 1.000 ppm và 5.000 ppm với giá trị là 0,5 cm. Kết quả trên tương đồng với nghiên cứu của Urmi (2019), nghiên cứu đã cho thấy chiều dài cuống nấm bào ngư xám có xu hướng giảm khi xử lý H₂O₂ ở các nồng độ 3.000 ppm, 2.000 ppm và 1.000 ppm với

các giá trị lần lượt là 1,2 cm, 1,1 cm và 1,0 cm.

4. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

Đề tài đã phân lập và định danh được dòng nấm gây bệnh mốc xanh chủ yếu trên phôi nấm bào ngư là *Trichoderma afroharzianum*. Qua thí nghiệm thực hiện trên các túi phôi đã tìm ra nồng độ H₂O₂ 3.000 ppm có khả năng ức chế cao nhất và ít tác động đến năng suất của nấm bào ngư xám. Ở lần thu hoạch 1 tất cả nghiệm thức đều khác biệt không ý nghĩa thống kê. Nhưng kết quả phân tích ở các lần thu hoạch thứ 2, 3 và 4 cho thấy có sự khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê giữa nghiệm thức H₂O₂ 3.000 ppm và nghiệm thức đối chứng (+) khi so sánh tổng số lượng quả thể, khối lượng trung bình của quả thể, độ dày phiến nấm, đường kính phiến nấm, chiều dài cuống nấm và đường kính cuống nấm đều khác biệt có ý nghĩa ở mức 1% so với các nghiệm thức khác trong thí nghiệm. Có thể ứng dụng H₂O₂ 3.000 ppm vào sản xuất nấm bào ngư để trị bệnh mốc xanh do nấm *T.afroharzianum* gây ra.

LỜI CẢM ƠN

Nguồn kinh phí thực hiện nghiên cứu này từ đề tài cấp Trường Đại học Cần Thơ do cán bộ thực hiện, mã số T2023-148.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Tài liệu tiếng Việt

Thái Hà và Đặng Mai. (2011). *Bạn của nhà nông Kỹ thuật trồng và chăm sóc một số loại nấm*. Nhà xuất bản Hồng Đức, Hà Nội. 110 trang.

2. Tài liệu tiếng Anh

Balasubramanya, R. H., & Kathe, A.A.. (1996). An inexpensive pretreatment of cellulosic materials for growing edible oyster mushrooms." *Bioresource Technology*, 57(3), 303-305.

Barak, R., Elad, Y., & Chet, I. (1986). The properties of l-fucose binding agglutinin associated with the cell wall of *Rhizoctonia solani*. *Archive Microbiology*, 144, 346–349.

Cai, F., & Druzhinina, I. S. (2021). In honor of John Bissett: Authoritative guidelines on

molecular identification of *Trichoderma*. *Fungal Diversity*, 107(1), 1-69.

Dhingara, D.O., & Sinclair, B.J. (1995). Basic plant pathology methods. Boca Raton, Florida, USA. *CRC Press Inc*. 434.

Doyle, J.J., & Doyle, J.L. (1990). Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus*, 12, 13–15.

Grogan, H.M., Scruby, A., & Harvey, L. (2000). Moulds in spawn-run compost and their effect on mushroom production. *Mushroom Science*, 15(2), 609-615.

Hall, T. A. (1999). BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. In *Nucleic acids symposium series*, 41(41), 95-98

Hassan, A. A., Ibrahim, & M. T. (2022). Isolation, morphological and molecular identification of the pathogenic and competitors fungi associated with the edible mushroom *Pleurotus* sp. and control them. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 1060(1), 012118. IOP Publishing.

Hatvani, L., Antal, Z., Manczinger, L., Szekeres, A., Druzhinina, I.S., & Kubicek, C.P. (2007). Green mold diseases of *Agaricus* and *Pleurotus* spp. are caused by related but phylogenetically different *Trichoderma* species. *Phytopathology*, 97, 532–537.

Najm, S., & Alqaisi, M. (2022). Investigated of the Hydrogen peroxide's efficacy in sterilizing various substrates for the formation of the oyster mushroom *Pleurotus sapidus*. *Bionatura*, 7, 1-6.

Oh, S.J., Kong, W.S., & Kim, H.K. (2000). Studies on the effect of vinyl covering on *Pleurotus* spp. cultivation-improved picking efficiency of *P. ostreatus* and *P. sajor-caju*. *Mushroom Science*, 15(2), 949- 953.

Omidbakhsh, N., Sattar, S.A. (2006). Broad-spectrum microbicidal activity, toxicologic assessment, and materials compatibility of a new generation of accelerated hydrogen peroxide-based environmental surface disinfectant. *American journal of infection control*, 34, 251–257.

Pokhrel, C.P., Kalyan, N, Budathoki, U., & Yadav, R.K.P. (2013). Cultivation of *Pleurotus sajor-caju* using different agricultural residues. *International*

- Journal of Agricultural Policy and Research*, 1(2), 19-23.
- Royse, D.J., Baars, J., & Tan, Q. (2017). Current overview of mushroom production in the world. In *Edible and medicinal mushrooms: Technology and applications* (Editors: Diego C.Z., Pardo-Giménez A.), 5-13.
- Rutala, W.A., & Weber, D.J. (2008). The Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee. Guideline for Disinfection and Sterilization in Healthcare Facilities. *Center for Disease Control and Prevention*, Atlanta, GA.
- Sanger, F., Nicklen, S., & Coulson, A. R. (1977). DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proceedings of the national academy of sciences*, 74(12), 5463-5467.
- Šašić Zorić, L., Janjušević, L., Djisalov, M., Knežić, T., Vunduk, J., Milenković, I., & Gadjanski, I. (2023). Molecular approaches for detection of *Trichoderma* green mold disease in edible mushroom production. *Biology*, 12, 299.
- Urmi, F.J. (2019). Microbial contamination in oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) and their management using different chemicals. Doctoral dissertation, *Department of Plant Pathology*, Sher-E-Bangla Agricultural University, Dhaka.
- Wayne, R.. (1999). Growing mushrooms the easy way volume 1: home mushroom cultivation with hydrogen peroxide. *Rush Wayne Enterprises*, Eugene, OR.
- White, T.J., Bruns, T. Lee & Taylor, J. (1990). Amplifications and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: *PCR protocols: a guide to methods and applications*, (Eds.): M. Innis, D. Gelfand, J. Sninsky and T. White. 315-322. Academic Press, San Diego, California, USA.
- Zmitrovich, I.V., & Wasser, S.P. (2016). Is Widely cultivated "*Pleurotus sajor-caju*" especially in asia, indeed an independent species? *International Journal of Medicinal Mushrooms*, 18(7), 583-588.