

ẢNH HƯỞNG CỦA AXIT HUMIC ĐẾN SỰ SINH TRƯỞNG VÀ PHÁT TRIỂN HỆ SỢI KHUẨN TY NẤM RƠM (*Volvariella volvacea*) LY TRÍCH TỪ THAN BÙN

Nguyễn Văn Lê^{1*}, Trần Nhân Dũng²,
Hà Ngọc Bằng³, Bùi Trọng Khang¹, Bùi Xuân Khanh¹

TÓM TẮT

Nghiên cứu sản xuất chế phẩm sinh học với thành phần là axit humic ly trích từ than bùn thu tại tỉnh Kiên Giang với các mục tiêu nhằm khảo sát các nhân tố ảnh hưởng đến quá trình ly trích axit humic và xác định nồng độ tối ưu của axit humic ảnh hưởng đến sự sinh trưởng và phát triển của hệ sợi khuẩn ty nấm rơm (*Volvariella volvacea*) trong điều kiện phòng thí nghiệm. Nội dung nghiên cứu được triển khai thực hiện bao gồm: (i) Xác định lượng nước bão hòa và khảo sát ảnh hưởng của giá trị pH đến trạng thái kết tủa và hòa tan axit humic, (ii) Nghiên cứu sản xuất chế phẩm sinh học với thành phần là axit humic ly trích từ than bùn, (iii) Khảo sát ảnh hưởng của chế phẩm sinh học đến sự sinh trưởng và phát triển của hệ sợi nấm rơm. Các thí nghiệm được bố trí theo thể thức hoàn toàn ngẫu nhiên và được triển khai trong điều kiện phòng thí nghiệm thuộc Trường Đại học Kiên Giang. Kết quả nghiên cứu đã xác định được lượng nước bão hòa của than bùn với tỷ lệ nước: than bùn là 2,5: 1, pH tối ưu để hòa tan và kết tủa axit humic tương ứng giá trị là pH = 9 và pH = 2 và đã sản xuất thành công chế phẩm sinh học (axit humic) dạng bột với độ tinh khiết là 89,5%. Nghiên cứu đã xác định được ảnh hưởng của nồng độ chế phẩm sinh học (axit humic) đến sự sinh trưởng và phát triển của hệ khuẩn ty nấm rơm (*Volvariella volvacea*) tối ưu ở nồng độ 0,8 ppm trong điều kiện phòng thí nghiệm.

Từ khóa: Axit humic, chế phẩm sinh học, hệ khuẩn ty, nấm rơm, than bùn.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Than bùn là sản phẩm chuyển hóa của xác thực vật bởi các con đường khác nhau (chủ yếu bởi sự phân hủy của vi sinh vật) trong điều kiện yếm khí [9] và được khai thác để cung cấp nguyên liệu cho các nhà máy chế biến phân vi sinh và tạo ra các sản phẩm phân bón cho cây trồng (cây công nghiệp, nông nghiệp...). Phân vi sinh (phân nước) chiết xuất từ axit humic có trong than bùn dùng cho cây lúa và các loại cây ăn quả giúp tăng sự phát triển và nâng cao chất lượng cây trồng. Axit humic là một trong ba thành phần chính trong chất mùn, là thành phần hữu cơ quan trọng của than bùn [2]. Axit humic có tác dụng kích thích sinh trưởng, sự phân chia, kéo giãn, tăng sinh khối tế bào [3].

Nấm là một trong những loại thực phẩm giàu dinh dưỡng chứa nhiều protein, vitamin, axit amin, trong đó có axit amin thiết yếu rất cần thiết cho cơ

thể và ngoài ra còn có giá trị kinh tế cao. Vì vậy, những năm gần đây có rất nhiều công trình nghiên cứu khảo sát ảnh hưởng của axit humic đến sự sinh trưởng, phát triển và hình thành thể quả của các loại nấm.

Theo Pakdee Laoaree và cs (1984) [6] khi phối trộn mùn cưa với axit humic ở nồng độ 10 ml/l để trồng nấm Hàu (*Pleurotus florida*) có thể cho năng suất cao tối đa là 153,65 g/túi, trong khi đối chứng là 115,65 g/túi. Khi phối trộn axit humic với rơm ở nồng độ 4 ml để làm cơ chất trồng nấm Sò (*Pleurotus ostreatus*) và nghiên cứu cho thấy, axit humic có tác dụng kích thích sự sinh trưởng và phát triển của nấm Sò (*Pleurotus ostreatus*) với sản lượng tối đa là 242 g/túi so với đối chứng là không sử dụng axit humic là 101 g/túi [8]. Ngoài việc phối trộn với rơm thì khi phối trộn axit humic với chất bông làm cơ chất trồng nấm Sò Trắng (*Pluerotus ostreatus*) ở nồng độ 10 ml cho năng suất cao nhất so với các nồng độ khác là 2 ml, 4 ml, 6 ml, 8 ml và đối chứng [1].

Việc nghiên cứu sản xuất chế phẩm sinh học (axit humic) kích thích sinh trưởng và phát triển của

¹ Trường Đại học Kiên Giang

*Email: nvle@vnkgu.edu.vn

² Trường Đại học Cần Thơ

³ Trường Trung cấp Việt - Hàn

hệ khuẩn ty nấm rom (*Volvariella volvacea*) từ than bùn ở tỉnh Kiên Giang là rất cần thiết để tận dụng nguồn nguyên liệu than bùn ở địa phương. Đây cũng chính là nội dung chính được giới thiệu trong nghiên cứu này.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Thời gian nghiên cứu: 6/2019 - 3/2021.

Địa điểm: Phòng Sinh hóa - Vi sinh, Trường Đại học Kiên Giang.

2.1. Vật liệu

Than bùn, axit humic, nấm rom.

Môi trường sử dụng trong phòng thí nghiệm: Môi trường PGA (Potato glucose agar) [5]. Khoai tây: 250 g; glucose: 20 g; agar: 15 g; nước cất: 1000 ml.

2.2. Phương pháp nghiên cứu sử dụng

- Xác định lượng nước bão hòa và xác định pH.
- Xác định độ pH tối ưu để hoàn tan và kết tủa axit humic.
- Khảo sát ảnh hưởng của nồng độ chế phẩm sinh học (axit humic) được ly trích từ than bùn đến sự phát triển của khuẩn ty nấm rom (*Volvariella volvacea*) trong phòng thí nghiệm.

2.3. Phương pháp bố trí thí nghiệm

2.3.1. Xác định lượng nước bão hòa và xác định pH

Cân 100 g than bùn đã được xử lý cho vào cốc thủy tinh 1000 ml, dùng burette cho nước và chuẩn cho đến khi nước vừa ngập tới mặt trên lớp than bùn thì dừng lại, xem trên mức burette mực nước dừng lại ở vạch bao nhiêu ghi lại kết quả. Cho thêm 1/4 lượng nước vừa ghi lại ở công việc chuẩn nước vừa rồi. Dùng thìa thủy tinh khuấy cho đều để xác định lượng nước bão hòa của than bùn.

2.3.2. Xác định độ pH tối ưu để hoàn tan và kết tủa axit humic

Thử nghiệm hòa tan axit humic.

Bố trí thí nghiệm: Thí nghiệm được bố trí theo thể thức hoàn toàn ngẫu nhiên với 3 nghiệm thức, lặp lại 3 lần. Nghiệm thức 1 (NT1): pH = 9; nghiệm thức 2 (NT2): pH = 8; nghiệm thức 3 (NT3): pH = 7.

Cân 100 g than bùn đã được xử lý cho vào cốc thủy tinh 1000 ml, dùng burette cho nước và chuẩn cho đến khi nước vừa ngập tới mặt trên lớp than bùn

thì dừng lại, xem trên mức burette mực nước dừng lại ở vạch bao nhiêu ghi lại kết quả. Cho thêm 1/4 lượng nước vừa ghi lại ở công việc chuẩn nước vừa rồi. Dùng thìa thủy tinh khuấy cho đều. Tiến hành kiểm hóa bằng việc sử dụng micropipet bổ sung KOH 1M lần lượt để đạt giá trị lần lượt là pH = 7, 8, 9. Dùng thìa thủy tinh khuấy đều, để lắng lại và tiến hành lọc, thu được phần dung dịch vừa kiểm hóa. Chọn giá trị pH = 3 để kết tủa axit humic nhằm tìm ra được pH tối ưu để hòa tan axit humic. Dùng micropipet bổ sung HCl 1M các nghiệm thức 1, 2, 3 để đạt được giá trị pH = 3 để axit hóa axit humic nhằm xác định nồng độ hòa tan tối ưu của axit humic ở các nghiệm thức 1, 2, 3.

Chỉ tiêu theo dõi: pH tối ưu để hòa tan axit humic.

Thử nghiệm kết tủa axit humic.

Bố trí thí nghiệm: Thí nghiệm được bố trí theo thể thức hoàn toàn ngẫu nhiên với 6 nghiệm thức, lặp lại 3 lần. Nghiệm thức 4 (NT4): pH = 6; nghiệm thức 5 (NT5): pH = 5; nghiệm thức 6 (NT6): pH = 4; nghiệm thức (NT7): pH = 3; nghiệm thức (NT8): pH = 2; nghiệm thức (NT9): pH = 1.

Cân 100 g than bùn đã được xử lý cho vào cốc thủy tinh 1000 ml, tiến hành bổ sung KOH 1M đạt giá trị pH tối ưu để hòa tan axit humic nhiều nhất. Dùng thìa thủy tinh khuấy cho đều và để cho lắng lại, thu phần dịch, bỏ phần lắng. Sau đó bổ sung dung dịch HCl 1M vào tương ứng vào các nghiệm thức, để các nghiệm thức lần lượt đạt giá trị pH = 1, 2, 3, 4, 5, 6, dùng thìa thủy tinh khuấy cho đều để kết tủa.

Chỉ tiêu theo dõi: pH tối ưu để kết tủa axit humic.

2.3.3. Khảo sát ảnh hưởng của nồng độ chế phẩm sinh học (axit humic) được ly trích từ than bùn đến sự phát triển của khuẩn ty nấm rom (*Volvariella volvacea*) trong phòng thí nghiệm

Bố trí thí nghiệm: Thí nghiệm được bố trí theo thể thức hoàn toàn ngẫu nhiên với 14 nghiệm thức, lặp lại 3 lần (mỗi lần lặp lại là 1 đĩa).

Nấm rom dùng cho thí nghiệm là quả nấm to khỏe, không bị sần sùi, không có các dấu hiệu lạ về cảm quan. Nấm được rửa sạch và lau nhẹ bằng cồn 90° ở các bề mặt mũ nấm, cho vào túi cấy, vệ sinh tay bằng cồn 90°, để nấm rom trên mặt đĩa petri dùng lam và dao cấy cắt một lát mỏng trong mũ nấm rom,

cắt 1 lát mỏng ở vị trí phần non phía trong mũ lấy một lát mỏng để hạn chế nhiễm các loại nấm khác. Tất cả các lát nấm đều lấy cùng 1 vị trí, kích thước phần lát cắt đều bằng nhau, cùng trên một quả nấm (rom). Dùng que cấy thẳng hoặc dùng kẹp kim loại kẹp từng mẫu cắt đặt lên bề mặt môi trường [5].

Bảng 1. Ảnh hưởng của nồng độ axit humic đến sự phát triển của khuẩn ty nấm rom

Nghiem thức	Nồng độ axit humic (ppm)
NT _{Đối chứng}	0
NT ₁	0,1
NT ₂	0,2
NT ₃	0,3
NT ₄	0,4
NT ₅	0,5
NT ₆	0,6
NT ₇	0,7
NT ₈	0,8
NT ₉	0,9
NT ₁₀	1,0
NT ₁₁	1,5
NT ₁₂	2,0
NT ₁₃	2,5

Ghi chú: - NT: Nghiệm thức

Chỉ tiêu theo dõi: Hệ khuẩn ty nấm rom xuất hiện sau khi cấy (ngày), đường kính hệ khuẩn ty (cm), độ dày của hệ khuẩn ty (cm).

2.4. Phương pháp xử lý số liệu

Số liệu thu thập được phân tích phương sai và phương pháp giới hạn sai số nhỏ nhất có ý nghĩa (LSD) ở mức ý nghĩa 1% để so sánh sự khác biệt giữa các nghiệm thức bằng chương trình thống kê xử lý số liệu Minitab 18.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Xác định lượng nước bão hòa và xác định pH

Kết quả thí nghiệm đã xác định được lượng nước bão hòa của than bùn (Hòn Đất - Kiên Giang) với tỷ lệ là 250 ml nước/100 g than bùn. Khi đã xác định được lượng nước bão hòa của than bùn, tiến hành đo pH than bùn giá trị pH = 3,8 – 4,0. Kết quả cho thấy pH của than bùn ở đây là nguồn than bùn nhiệt đới, kết quả này tương tự như nghiên cứu của Nguyễn Công Cường (2003) [4] đã xác định các nguồn than bùn đầm lầy và ven biển hầu hết pH rất thấp pH = 3 - 4,5 và đôi khi còn xuống thấp pH = 2,5. Vì nguồn

than bùn này chứa nhiều pyrite sắt (FeS_2) là nguyên nhân làm pH giảm trong than bùn [4], [8].



Hình 1. Xác định lượng nước bão của than bùn



Hình 2. Xác định pH của than bùn

3.2. Xác định pH tối ưu để hòa tan và kết tủa axit humic

Kết quả thí nghiệm hòa tan axit humic ở giá trị pH = 7, pH = 8, pH = 9 và chọn pH = 3 để kết tủa nhằm xác định lượng axit humic thu hồi lại. Kết quả ở pH = 9 lượng axit humic thu hồi lại cao hơn so với pH = 7 và pH = 8. Ở pH = 9 cho thấy lượng axit humic thu được cao hơn và khác biệt có ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức pH = 7, pH = 8 và được thể hiện ở bảng 2.

Bảng 2. Khối lượng axit humic thu được sau khi hòa tan ở các nồng độ pH khác nhau trong 100 g than bùn

pH	Khối lượng (g)
pH = 7	0,13±0,05 ^b
pH = 8	0,19±0,02 ^b
pH = 9	2,17±0,04 ^a

Ghi chú: Các ký tự giống nhau là khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở độ tin cậy 99%.

Khi đã xác định pH tối ưu hòa tan axit humic là pH = 9, hòa tan axit humic ở pH = 9 và kết tủa lần lượt ở pH = 1, 2, 3, 4, 5, 6 và lượng axit humic thu hồi lại được cao hơn ở pH = 1, pH = 2 so với các pH = 3, pH = 4, pH = 5, pH = 6 và được thể hiện ở bảng 3.



Hình 3. Lượng axit humic thu được ở pH = 7, 8, 9

Bảng 3. Khối lượng axit humic thu được sau khi kết tủa ở các nồng độ pH khác nhau trong 100 g than bùn

pH	Khối lượng (g)
pH = 1	5,77±0,12 ^a
pH = 2	5,69±0,12 ^a
pH = 3	5,52±0,07 ^b
pH = 4	1,84±0,21 ^c
pH = 5	0,56±0,07 ^d
pH = 6	0,33±0,05 ^e

Ghi chú: Các ký tự giống nhau là khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở độ tin cậy 99%.

Nghiệm thức pH = 1 và pH = 2 cho thấy lượng axit humic thu được cao hơn và khác biệt có ý nghĩa thống kê so với các nghiệm thức pH = 3, pH = 4, pH = 5, pH = 6. Qua kết quả thí nghiệm cho thấy ở pH = 9 là pH tối ưu để hòa tan axit humic và ở pH = 1 và pH = 2 là pH tối ưu để kết tủa axit humic và hàm lượng axit humic thu được 5,77 g trong 100 g than bùn. So sánh với kết quả nghiên cứu của Phan Hoàng Du (2011) [7] trong 1 g than bùn thu được 244 mg axit humic bằng việc cho 14 ml NaOH 0,25 M ngâm trong 4 ngày và kết tủa với HCl 1M ở pH = 1.



Hình 4. Lượng axit humic thu được ở pH = 1, 2, 3, 4, 5, 6

3.3. Sản xuất chế phẩm sinh học (axit humic) kích thích sinh trưởng và phát triển từ than bùn ở tỉnh Kiên Giang

hòa tan và pH kết tủa của than bùn là cơ sở để sản xuất chế phẩm sinh học (axit humic).

Kết quả xác định được lượng nước bão hòa, pH

Kết quả đã hoàn thiện quy trình sản xuất chế phẩm sinh học kích thích (axit humic).

Quy trình	Mô tả
 Xử lý mẫu	Tiến hành sàng lọc tạp chất có trong than bùn, sử dụng một bộ rây có đường kính từ 20 mm - 80 mm để sàng lọc các tạp chất lẫn trong than bùn.
 Đảo trộn than bùn	Tiến hành phối trộn mẫu cho thật đều, cho than bùn vào khay nhựa dùng 2 tay đảo trộn liên tục đến khi đều hoàn toàn để than bùn có sự đồng nhất, phục vụ cho giai đoạn sau.

 Than bùn sau khi được xử lý ↓	Than bùn sau khi được xử lý được cho vào khay để dùng cho các giai đoạn sau.
 Cân than bùn ↓	Cân 20 kg than bùn đã được xử lý cho vào thùng nhựa và ngâm với nước.
 Cho than bùn vào thùng nhựa ↓	Cho than bùn vào thùng nhựa có thể tích lớn sao cho than bùn và nước chiếm thể tích 2/3 thể tích thùng nhằm mục đích khi khuấy trộn tránh làm hao hụt dung dịch.
 Than bùn đã cho nước vào ↓	Bổ sung 50 lít nước cho vào thùng để ngâm than bùn.
 Khuấy ngâm than bùn ↓	Ngâm than bùn trong 24 giờ, phía trên thùng có ráp động cơ quay để đảo trộn (khởi động quay trong 15 phút, cách 12 tiếng quay 1 lần).
 Bổ sung KOH để dung dịch đạt pH = 9 ↓	Bổ sung KOH vào dung dịch cho đến khi đạt giá trị pH = 9, để biết được độ pH của dung dịch trong lúc vừa bổ sung vừa đo pH bằng máy đo pH.

 Lọc dung dịch qua túi lọc vải ↓	Chuẩn bị thêm 1 thùng nhựa để đựng dung dịch sau khi đã lọc qua túi vải.
 Cơ chất sau khi lọc ↓	Cơ chất sau khi lọc được giữ lại để làm nguồn cơ chất phối trộn với các giá thể (đất, xơ dừa,...) để làm giá thể trồng các loại cây.
 Bổ sung HCl để dung dịch đạt pH = 2 ↓	Bổ sung HCl cho đến khi đạt giá trị pH = 1, để biết được độ pH của dung dịch trong lúc vừa bổ sung vừa đo pH bằng máy đo pH.
 Chuẩn bị ly tâm ↓	Cho dung dịch vào các chai nhựa để chuẩn bị ly tâm.
 Ly tâm ↓	Đặt các chai nhựa vào máy ly tâm và ly tâm 4.000 vòng trong 15 phút.
 Sau khi ly tâm ↓	Sau khi ly tâm cho lấy hết phần kết tủa cho vào khay nhôm sấy ở nhiệt độ 45°C.

 Chế phẩm sinh học (axit humic)	Tiến hành nghiền mịn, thu được chế phẩm sinh học (axit humic).
---	---

3.4. Khảo sát ảnh hưởng của nồng độ chế phẩm sinh học (axit humic) được ly trích từ than bùn đến sự phát triển của hệ khuẩn ty nấm rơm (*Volvariella volvacea*) trong phòng thí nghiệm

Tiến hành khảo sát ảnh hưởng của nồng độ chế phẩm sinh học (axit humic) được ly trích từ than bùn đến sự phát triển của hệ khuẩn ty nấm rơm (*Volvariella volvacea*), bằng cách xác định ảnh hưởng của nồng độ chế phẩm sinh học (axit humic) đến sự phát triển của hệ khuẩn ty nấm rơm (*Volvariella volvacea*) và thu được kết quả thể hiện ở bảng 4.

Bảng 4. Hệ khuẩn ty nấm rơm xuất hiện sau khi cấy

Nồng độ chế phẩm axit humic (ppm)	Hệ khuẩn ty nấm rơm xuất hiện sau khi cấy (ngày)
0	2
0,1	1
0,2	1
0,3	1
0,4	1
0,5	1
0,6	1
0,7	1
0,8	1
0,9	1
1,0	1
1,5	1
2,0	1
2,5	1

Bảng 4 cho thấy khi bổ sung chế phẩm sinh học (axit humic) vào môi trường cấy hệ khuẩn ty nấm

rom từ nồng độ từ 0,1 ppm đến 2,5 ppm hệ khuẩn ty nấm rơm xuất hiện sau khi cấy là 1 ngày nhanh hơn so với hệ khuẩn ty xuất hiện sau khi cấy là 2 ngày ở nồng độ đối chứng không sử dụng chế phẩm sinh học (axit humic). Qua đó cho thấy axit humic có tác dụng kích thích sự phát triển của tế bào. Kết quả này tương tự với nghiên cứu của Harrison (2008) là axit humic có tác dụng kích thích sinh trưởng tế bào, kích thích sự phân chia tế bào, kéo giãn tế bào, tăng sinh khối tế bào[3].

Bảng 5. Đường kính của hệ khuẩn ty nấm rơm

Nồng độ chế phẩm axit humic (ppm)	Đường kính của hệ khuẩn ty nấm rơm (cm)	
	Đường kính 2 ngày sau khi cấy	Đường kính 4 ngày sau khi cấy
0	0,53±0,05 ^f	8
0,1	0,93±0,11 ^f	8
0,2	1,6±0,17 ^e	8
0,3	1,8±0,28 ^{de}	8
0,4	2,13±0,11 ^{de}	8
0,5	2,26±0,25 ^{cd}	8
0,6	2,36±0,11 ^{bcd}	8
0,7	2,86±0,11 ^{abc}	8
0,8	2,93±0,11 ^{ab}	8
0,9	2,83±0,28 ^{abc}	8
1,0	3,06±0,11 ^a	8
1,5	3,16±0,15 ^a	8
2,0	3,1±0,17 ^a	8
2,5	3,4±0,17 ^a	8

Ghi chú: Các ký tự giống nhau là khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở độ tin cậy 99%.

Bảng 5 cho thấy, đường kính của hệ khuẩn ty nấm rơm ở các nghiệm thức có sự khác nhau, hệ khuẩn ty nấm rơm 2 ngày sau khi cấy ở nồng độ 0 và 0,1 ppm có kích thước đường kính hệ khuẩn ty là 0,53 cm và 0,93 cm và không có khác biệt có ý nghĩa thống kê. Ở nồng độ 0,2 ppm, 0,3 ppm, 0,4 ppm, 0,5 ppm và 0,6 ppm có kích thước đường kính hệ khuẩn ty nấm rơm là 1,60 cm, 1,80 cm, 2,13 cm, 2,26 cm và 2,36 cm và không có khác biệt ý nghĩa thống kê. Ở nồng độ 0,7 ppm, 0,8 ppm, 0,9 ppm, 1 ppm, 1,5 ppm, 2 ppm và 2,5 ppm có kích thước đường kính hệ khuẩn ty là 2,86 cm, 2,93 cm, 2,83 cm, 3,06 cm, 3,16 cm, 3,10 cm và 3,40 cm và không có khác biệt ý nghĩa thống kê.

Đường kính hệ khuẩn ty nấm rơm ở 4 ngày sau khi cấy ở tất cả các nồng độ đều là 8 cm và không có khác biệt thống kê so giữa các nồng độ. Nguyên nhân có thể là do diện tích của đĩa cấy đã hết nên khi đường kính hệ khuẩn ty phát triển thêm nhưng không còn diện tích nên không thể phát triển được nữa.



Hình 5. Hệ khuẩn ty xuất hiện 1 ngày sau khi cấy ở nồng độ 0,8 ppm



Hình 6. Hệ khuẩn ty xuất hiện 1 ngày sau khi cấy ở nồng độ đối chứng

Bảng 6 cho thấy độ dày của hệ khuẩn ty nấm rơm ở các nghiệm thức có sự khác nhau, ở 4 ngày sau khi cấy ở nồng độ 0 ppm, 0,1 ppm, 0,2 ppm, 0,3 ppm và 0,4 ppm có độ dày hệ khuẩn ty 0,23 cm, 0,16 cm, 0,26 cm, 0,36 cm và 0,36 cm không có khác biệt ý nghĩa thống kê. Ở nồng độ 0,5 ppm, 0,6 ppm, 0,7 ppm và 0,8 ppm có độ dày hệ khuẩn ty lần lượt là 0,43 cm, 0,43 cm, 0,50 cm và 0,56 cm và không có khác biệt ý nghĩa thống kê. Ở nồng độ 0,9 ppm, 1,0 ppm, 1,5 ppm, 2,0 ppm và 2,5 ppm có độ dày hệ khuẩn ty

lần lượt là 0,76 cm, 0,76 cm, 0,83 cm, 0,86 cm và 0,96 cm và không có khác biệt ý nghĩa thống kê.

Bảng 6. Độ dày của hệ khuẩn ty nấm rơm ở các ngày sau khi cấy

Nồng độ chế phẩm axit humic (ppm)	Đường kính của hệ khuẩn ty nấm rơm (cm)	
	Độ dày 4 ngày sau khi cấy	Độ dày 5 ngày sau khi cấy
0	0,23±0,05 ^{de}	0,53±0,05 ^d
0,1	0,16±0,05 ^e	0,73±0,05 ^c
0,2	0,26±0,05 ^{de}	0,73±0,11 ^c
0,3	0,36±0,05 ^{cde}	0,73±0,05 ^c
0,4	0,36±0,05 ^{cde}	0,83±0,05 ^{bc}
0,5	0,43±0,05 ^{cd}	0,86±0,05 ^{abc}
0,6	0,43±0,11 ^{cd}	0,83±0,05 ^{bc}
0,7	0,50±0 ^c	0,93±0,05 ^{ab}
0,8	0,56±0,05 ^{bc}	0,96±0,05 ^{ab}
0,9	0,76±0,05 ^{ab}	1,00±0 ^a
1,0	0,76±0,05 ^{ab}	1,00±0 ^a
1,5	0,83±0,05 ^a	1,00±0 ^a
2,0	0,86±0,05 ^a	1,00±0 ^a
2,5	0,96±0,05 ^a	1,00±0 ^a

Ghi chú: Các ký tự giống nhau là khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở độ tin cậy 99%.

Độ dày của hệ khuẩn ty nấm rơm ở 5 ngày sau khi cấy ở nồng độ 0 ppm có độ dày hệ khuẩn ty thấp nhất là 0,53 cm và khác biệt có ý nghĩa thống kê so với các nồng độ còn lại. Nồng độ 0,1 ppm, 0,2 ppm, 0,3 ppm, 0,4 ppm 0,5 ppm và 0,6 ppm có độ dày hệ khuẩn ty nấm rơm là 0,73 cm, 0,73 cm, 0,73 cm, 0,83 cm, 0,86 cm và 0,83 cm và không có khác biệt có ý nghĩa thống kê. Ở nồng độ 0,7 ppm, 0,8 ppm, 0,9 ppm, 1,0 ppm, 1,5 ppm, 2,0 ppm và 2,5 ppm có độ dày hệ khuẩn ty là 0,93 cm, 0,96 cm, 1,00 cm, 1,00 cm, 1,00 cm, 1,00 cm và không có khác biệt có ý nghĩa thống kê.



Hình 7. Độ dày của khuẩn ty

Bảng 7. Hệ khuẩn ty nấm rơm phát triển đầy đĩa sau khi cấy

Nồng độ chế phẩm axit humic (ppm)	Hệ khuẩn ty phát triển đầy đĩa sau khi cấy (ngày)
0	7
0,1	6
0,2	6
0,3	6
0,4	6
0,5	6
0,6	6
0,7	6
0,8	5
0,9	5
1,0	5
1,5	5
2,0	5
2,5	5

Bảng 7 có thể thấy tốc độ lan tơ đầy đĩa ở các nghiệm thức có sự khác nhau, ở nồng độ đối chứng không bổ sung chế phẩm sinh học (axit humic) tốc độ của khuẩn ty nấm rơm lan tơ đầy đĩa là 7 ngày sau khi cấy. Ở nồng độ từ 0,1 ppm đến 0,7 ppm tốc độ của khuẩn ty nấm rơm lan tơ đầy đĩa là 6 ngày sau khi cấy. Ở nồng độ 0,8 ppm đến 2,5 ppm tốc độ của khuẩn ty nấm rơm là 5 ngày sau khi cấy. Qua đó cho thấy ở các nồng độ axit humic khác nhau sẽ ảnh hưởng đến sự sinh trưởng và phát triển của sinh vật là khác nhau [3]. Kết quả nghiên cứu đã khảo sát được ảnh hưởng của nồng độ chế phẩm sinh học (axit humic) đến sự sinh trưởng và phát triển của hệ khuẩn ty nấm rơm (*Volvariella volvacea*) trong phòng thí nghiệm là ở nồng độ 0,8 là nồng độ tối ưu.

4. KẾT LUẬN

Lượng nước bão hòa của than bùn (Hòn Đất - Kiên Giang) trong 100 g than bùn thì cần dùng 250 ml nước để bão hòa.

Giá trị pH tối ưu để hòa tan axit humic trong than bùn là pH = 9 và pH tối ưu để kết tủa axit humic trong than bùn là pH = 2.

Nồng độ chế phẩm sinh học (axit humic) được ly trích từ than bùn đến sự phát triển của hệ khuẩn ty nấm rơm (*Volvariella volvacea*) trong phòng thí nghiệm tối ưu ở nồng độ 0,8 ppm.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. A. Zahid, Fozia, M. Ramzan, M. Amjad Bashir, M. Ahsan Khatana, M. Tahir Akram, S. Nadeem, M. Saad Qureshi, W. Iqbal, M. Umar, S. Walli, R. Muhammad Sabir Tariq, S. Atta, DA Al Farraj, MT Yassin (2020). Effect of humic acid enriched cotton on growth growth , nutritional and chemical composition of oyster mushroom (*Pluerotus ostreatus* and *Lentinus sajor-caju*), *King Saud University Journal – Science*, 32(8):3249-3257.
2. B. K. Afghan, A. S. Y Chan (2000). *Analysis of organic trace in the aquatic environment*. C. R. S. Press, Boca Raton, Florida.
3. Harrison (2008). *Composting and formation of humic substances*, Ecological Processes. University of Washington, US.
4. Nguyễn Công Cường (2003). *Khảo sát tính chất hấp phụ của than bùn*. Luận văn Thạc sĩ. Trường Đại học Cần Thơ.
5. Nguyễn Minh Khang (2010). *Bài giảng Công nghệ nuôi trồng nấm*. Trường Đại học Bình Dương.
6. Pakdee Laoaree, Kasetsart Univ (1984). Effect of humic acid on yield of oyster mushroom (*Pleurotus florida*). Faculty of Agriculture. Dept. of Horticulture. Thailand.
7. Phan Hoàng Du (2011). *Nghiên cứu axit humic từ than bùn và khảo sát khả năng tạo phức với các nguyên tố dinh dưỡng đối với cây trồng ứng dụng trong phân bón*. Luận văn tốt nghiệp đại học. Trường Đại học Cần Thơ.
8. Prakash. P, Aashish Bohra. A, Neil. J. Kenny and Sivasubramnian (2010). Effect of Humic Acid on *Pleurotus Ostreatus* Mushroom Cultivation and Analysis of. Department of Biotechnology, Sathyabama University, Chennai. India. *Research Journal of Agriculture and Biological Sciences*, 6 (6): 1067 - 1070.
9. Trần Văn Chính (2006). *Giáo trình Thổ nhưỡng học*. Nhà xuất bản Nông nghiệp.

**EFFECTS OF HUMIC ACID ON THE GROWTH AND DEVELOPMENT OF STRAW MUSHROOM
(*Volvariella volvacea*) EXTRACTED FROM PEAT****Nguyen Van Le, Tran Nhan Dung,****Ha Ngoc Bang, Bui Trong Khang, Bui Xuan Khanh****Summary**

Research on production of probiotics with humic acid composition extracted from peat collected in Kien Giang province with goals aimed at: Investigate the factors affecting the extraction of humic acid and determine the optimal concentration of humic acid affecting the growth and development of straw mushroom (*Volvariella volvacea*) under laboratory conditions. The contents of the research carried out include: (i) Determine the amount of saturated water and investigate the influence of pH value on the precipitation and dissolution of humic acids, (ii) Research on the production of biological products with humic acids extracted from peat, (iii) Investigate the effects of probiotics on the growth and development of straw mushrooms. The experiments were arranged in a completely randomized design and carried out in laboratory conditions of Kien Giang University. Research results have determined the amount of saturated water of peat with the ratio of water : peat is 2.5: 1, The optimal pH for dissolution and precipitation of humic acids, respectively, is pH = 9 and pH = 2 and successfully produced probiotics (humic acid) in powder form with a purity of 89.5%. The study determined the effect of probiotic concentration (humic acid) on the growth and development of straw mushroom (*Volvariella volvacea*) optimally at the concentration of 0.8 ppm under laboratory conditions.

Keywords: *Humic acid, mycelium, mushroom, peat, probiotics.*

Người phản biện: PGS.TS. Hồ Quang Đức

Ngày nhận bài: 17/12/2021

Ngày thông qua phản biện: 17/01/2022

Ngày duyệt đăng: 24/01/2022