

NGHIÊN CỨU ĐIỀU KIỆN NHÂN NUÔI NẤM NỘI SINH *Trichoderma konilangbra* ĐL3 CÓ KHẢ NĂNG SINH TỔNG HỢP INDOLE -3-ACETIC ACID PHÂN LẬP TỪ RỄ CÂY ĐÌNH LĂNG (*Polyscias fruticosa*)

Nguyễn Thị Mai Hương^{1,*}

¹Khoa Công nghệ Thực phẩm, Trường Đại học Kinh tế - Kỹ thuật Công nghiệp

*Email: ntmhuong@uneti.edu.vn

TÓM TẮT

Trong nghiên cứu này, chủng nấm nội sinh *Trichoderma konilangbra* ĐL3 đã phân lập từ rễ cây đình lăng tại tỉnh Nam Định, được lựa chọn để khảo sát điều kiện nhân nuôi có khả năng sinh tổng hợp IAA từ đó ứng dụng tạo ra chế phẩm sinh học. Chủng nấm *Trichoderma konilangbra* ĐL3 sinh trưởng tốt trên môi trường Potato Dextrose Agar (PDA), ở 35°C, pH 7 lượng sinh khối ướt và IAA thu được cao nhất tại thời điểm 144 giờ đạt lần lượt 127,2 g/L và 26,31 ppm. Chủng nấm *Trichoderma konilangbra* ĐL3 phát triển tốt trên cơ chất thóc: ngô với tỷ lệ phối trộn 2: 1, độ ẩm 50 - 60% bổ sung giống 1%, sau 10 ngày nuôi cấy tạo hệ sợi bông màu trắng và hình thành các bào tử có màu xanh, mật độ nấm đạt 8,7 log CFU/g.

Từ khóa: IAA, nấm nội sinh, *Trichoderma* sp.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Việt Nam có nhiều loài dược liệu quý hiếm, đặc hữu như: Ba kích, đinh lăng, cỏ ngọt, sâm Ngọc Linh... trong đó, đinh lăng được sử dụng nhiều nhất khi chứa 8 loại saponin và hơn 20 loại axit amin, vitamin và khoáng chất thiết yếu, tuy nhiên chỉ có số ít được trồng và chế biến trong nước. Do vậy, việc tăng năng suất và sản lượng cho cây đinh lăng cũng như cây dược liệu nói chung đang là một vấn đề cần được quan tâm và hướng tới. Một trong số các giải pháp đó là sử dụng các chế phẩm trong đó có nấm nội sinh vùng rễ được biết đến với nhiều ứng dụng tiềm năng như: Hỗ trợ tăng năng suất và sức đề kháng của cây trồng bằng cách tạo ra enzyme phân hủy các chất khó hòa tan trong đất, hòa tan phosphate, cố định nitơ, khử kim loại và sản xuất các hormone thúc đẩy sự sinh trưởng (Indole-3-Acetic Acid (IAA)) [1]. Mặt khác, việc sử dụng chế phẩm kết hợp nấm rễ còn có nhiều ưu điểm như giá thành thấp, sử dụng dễ dàng, cho hiệu quả tốt, an toàn và có thể thay thế cho phân bón hóa học [2]. IAA là một hormone thực vật ảnh hưởng đến quá trình tăng trưởng, phân chia, biệt hóa tế bào và tổng hợp protein. IAA được tìm thấy tự nhiên trong thực vật được gọi là

IAA nội sinh và tạo ra bởi vi sinh vật, nấm được gọi là IAA ngoại sinh. IAA nội sinh được sản xuất bởi thực vật có số lượng hạn chế và không được thực vật sử dụng trực tiếp [3]. Các loại nấm có thể tạo ra auxin là *Trichosporon beigeli*, *Rhodotrula aurantiaca*, *Cryptococcus luteolus*, *Zygoascus hellenicus*, *Candida montana*, *Talaromyces aurantiacus*, *Aspergillus neoniger* và *Trichoderma* spp...[4, 5]. Trong đó, nấm *Trichoderma* spp. được biết đến là nấm đối kháng kiểm soát tác nhân gây bệnh thực vật và có khả năng sinh tổng hợp IAA thúc đẩy tăng trưởng đậu nành từ 2,1 - 41,1% cũng như trong hiệu quả hấp thụ photpho, lên đến 141% [6, 7].

Trong nghiên cứu này, sau khi phân lập được chủng nấm nội sinh *Trichoderma konilangbra* ĐL3 phân lập từ rễ cây đình lăng tại tỉnh Nam Định đã tiến hành khảo sát các điều kiện nhiệt độ, pH, thời gian không chỉ kích thích sự tăng sinh mà còn thúc đẩy sự sinh tổng hợp IAA, từ đó tạo được chế phẩm có chất lượng tốt.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu

- Nấm nội sinh *Trichoderma konilangbra* ĐL3 phân lập từ rễ cây đình lăng tại tỉnh Nam Định.

- Môi trường gause 1 (g/L): Tinh bột tan 10 g; K_2HPO_4 0,5 g; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0,5 g; KNO_3 0,5 g; NaCl 0,5 g; $FeSO_4$ 0,01 g.

- Môi trường gause 2 (g/L): Cao thịt 3 g; peptone 5 g; glucose 10 g.

- Môi trường malt 2%.

- Môi trường hansen (g/L): Cao thịt 10 g; glucose 20 g; K_2HPO_4 2 g; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 2 g.

- Môi trường PDA (g): Khoai tây 200; glucose 20; có bổ sung tryptophan 2 g/L.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Nghiên cứu lựa chọn môi trường nuôi cấy thích hợp

Thí nghiệm được tiến hành trong bình 100 ml với 25 ml môi trường (Malt 2%, gause 1, gause 2, hansen, PDA). Các bình môi trường sau khi được khử trùng ở 121°C trong 30 phút, được làm nguội về nhiệt độ phòng, tiến hành bổ sung giống với tỉ lệ 2%. Sau 5 ngày nuôi cấy ở 30°C với tốc độ lắc 150 vòng/phút, tiến hành xác định lượng sinh khối ướt và kiểm tra IAA sinh tổng hợp. Các thí nghiệm được lặp lại 3 lần.

2.2.2. Nghiên cứu một số điều kiện sinh tổng hợp IAA của nấm nội sinh *Trichoderma konilangbra* ĐL3

Trên môi trường thích hợp, ảnh hưởng của điều kiện nhiệt độ và pH được nghiên cứu trong dải nhiệt độ 25 - 45°C và pH 3 - 10, trong 5 ngày. Ảnh hưởng của thời gian nuôi cấy được nghiên cứu trong từ 24 - 192 giờ. Tất cả các thí nghiệm được tiến hành lặp lại 3 lần trong bình tam giác 100 ml, trên máy lắc tròn với tốc độ 150 vòng/phút và tiến hành xác định lượng sinh khối ướt và kiểm tra IAA sinh tổng hợp.

2.2.3. Nghiên cứu một số điều kiện nhân nuôi nấm nội sinh *Trichoderma konilangbra* ĐL3

- Quy trình tạo giá thể rắn: Thóc và gạo được ngâm ngập trong 2 giờ sau đó được hấp chín đến khi bung hạt rồi để nguội. Tiến hành phối trộn cơ chất theo các tỷ lệ sau: Thóc: Bột ngô (1: 1; 2: 1; 3: 1; 4: 1); gạo: Bột ngô (1: 1; 2: 1; 3: 1; 4: 1). Các cơ chất sau phối trộn được đóng túi bổ sung nước với độ ẩm từ 40 - 80% tạo chất mang có khối lượng 250 g/túi và được khử trùng ở 121°C, trong 20 phút.

Sau khử trùng các chất mang được làm nguội về nhiệt độ phòng và tiến hành bổ sung giống theo tỷ lệ phù hợp.

- Chuẩn bị giống trong nhân nuôi: Sử dụng que cấy vô trùng gạt các bào tử nấm và hòa vào nước cất vô trùng đến khi mật độ đạt 10^8 . Dịch bào tử nấm sau đó được bổ sung vào các túi giá thể với các tỷ lệ từ 1 - 5%.

- Nhân nuôi giá thể: Dịch nấm sẽ được bổ sung vào các giá thể chuẩn bị với các mức tỷ lệ giống phù hợp trong nghiên cứu. Sau khi bổ sung giống các giá thể sẽ được chuyển vào khu vực nuôi tinh trong tối, nhiệt độ nhân nuôi dao động 28 - 30°C. Sau 7 - 10 ngày tiến hành kiểm tra mẫu bằng cách quan sát khả năng sinh bào tử trên bề mặt của các chủng nấm và mật độ nấm bằng phương pháp đếm khuẩn lạc.

2.3. Phương pháp phân tích

2.3.1. Phương pháp xác định IAA

Khả năng sinh tổng hợp IAA được xác định bằng thuốc thử salkowski. Nấm nội sinh được nuôi trong môi trường để đánh giá khả năng phát triển các chất thúc đẩy IAA (20 g peptone; 1,15 g K_2HPO_4 ; 1,5 g $MgSO_4$; 1,5% (v/v) glycerol; 0,1 g tryptophan) lắc ở tốc độ 200 vòng/phút trong 48 giờ ở 30°C. Dịch sau nuôi cấy nấm được ly tâm 5.000 vòng/phút trong 10 phút. Phần dịch trong được dùng để xác định IAA trong mẫu.

Hút 500 μ l dịch nổi cần xác định IAA vào ống nghiệm. Bổ sung thêm 1.000 μ l thuốc thử salkowski (2% $FeCl_3$ 0,5 M trong dung dịch $HClO_4$ 35%). Để yên ở trong tối 30 phút, sau đó so màu ở bước sóng 530 nm. Khi tác dụng với thuốc thử, hỗn hợp phản ứng cho màu hồng nhạt đến đỏ, tùy theo hàm lượng chất IAA có trong dịch nuôi cấy.

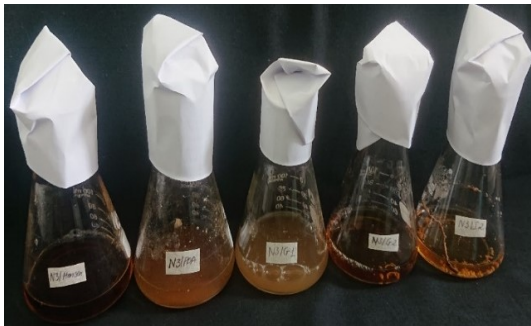
2.3.2. Phương pháp xác định mật độ tế bào

Lấy 10 g chế phẩm sau khi nuôi cấy ngâm 60 phút, trong 100 ml $Na_4P_2O_7 \cdot 10H_2O$ 100 mM đã hòa tan với nước ở nhiệt độ phòng. Tiến hành khuấy đều trong 2 phút, thu phần dịch pha loãng tới hệ số pha loãng thích hợp và lấy 0,1 ml dịch trải đều lên mặt hộp thạch petri và nuôi cấy ở nhiệt độ thích hợp trong thời gian 48 giờ. Sau đó đem đếm số khuẩn lạc hình thành trên bề mặt thạch. Số

lượng tế bào vi sinh vật trong mẫu ban đầu được tính theo số đơn vị hình thành khuẩn lạc (CFU/g) [8].

2.3.3. Phương pháp xử lý số liệu

Các số liệu thu được trong các thí nghiệm được tổng hợp và xử lý thống kê theo phương pháp phân tích phương sai (one – way ANOVA), dùng phép kiểm định Turkey sử dụng SPSS 23.0 ở mức $p < 0,05$ để so sánh sự sai khác giữa các công thức thí nghiệm.



Hình 1. Ảnh hưởng của môi trường đến sinh trưởng và sinh IAA của *Trichoderma konilangbra* ĐL3

Ghi chú: Các chữ cái khác nhau trên đồ thị thể hiện sự khác nhau có ý nghĩa thống kê giữa các giá trị trung bình, $p < 0,05$.

Trên môi trường gause 1, gause 2, malt 2% chủng *Trichoderma konilangbra* ĐL3 không sinh sắc tố, tuy nhiên khi nuôi cấy trên môi trường hansen chủng *Trichoderma konilangbra* ĐL3 có sinh sắc tố màu nâu đậm, trên môi trường PDA hình thành sắc tố màu nâu cam. Chủng nấm *Trichoderma konilangbra* ĐL3 sinh trưởng khá chậm trên hầu hết các môi trường khảo sát, lượng sinh khối ướt sinh ra trên môi trường đạt 6 - 56,13 g/L cao nhất ở môi trường PDA. Hàm lượng IAA sinh ra cao nhất thu được từ chủng *Trichoderma konilangbra* ĐL3 khi nuôi cấy trên môi trường hansen đạt 18,13 ppm và 11,26 ppm trên môi trường PDA. Thông qua quá trình khảo sát môi trường lên men, môi trường PDA được lựa chọn cho sinh trưởng và sinh tổng hợp IAA đối với nấm *Trichoderma konilangbra* ĐL3.

3.1.2. Ảnh hưởng của nhiệt độ đến khả năng sinh IAA

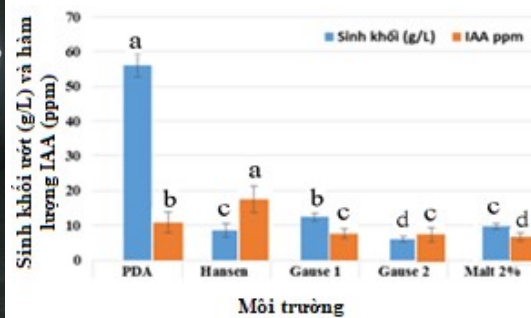
Khi khảo sát ảnh hưởng của nhiệt độ đối với chủng *Trichoderma konilangbra* ĐL3 cho thấy, chủng nấm phát triển tốt ở khoảng nhiệt từ 20 -

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

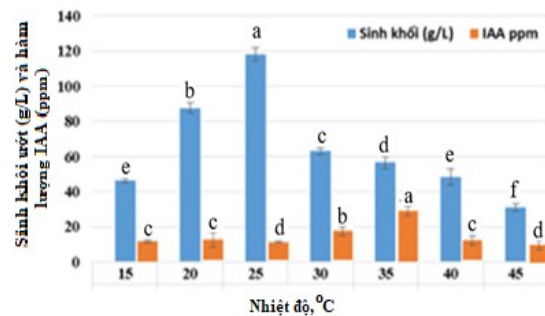
3.1. Nghiên cứu điều kiện sinh tổng hợp IAA của nấm *Trichoderma konilangbra* ĐL3

3.1.1. Ảnh hưởng của môi trường đến khả năng sinh IAA

Khả năng sinh tổng hợp IAA của *Trichoderma konilangbra* ĐL3 được thực hiện trên các môi trường PDA, hansen, gause 1, gause 2 và malt 2%.



25°C với lượng sinh khối ướt đạt từ 83,7 - 118,3 g/L dịch lên men sau 5 ngày. Tăng nhiệt độ lên 30°C và 35°C lượng sinh khối thu hồi giảm lần lượt 62,4 - 58,8 g/L.



Hình 2. Ảnh hưởng của nhiệt độ đến sinh trưởng và sinh IAA của *Trichoderma konilangbra* ĐL3

Ghi chú: Các chữ cái khác nhau trên đồ thị thể hiện sự khác nhau có ý nghĩa thống kê giữa các giá trị trung bình, $p < 0,05$.

Khả năng sinh tổng hợp IAA của chủng *Trichoderma konilangbra* ĐL3 thay đổi nhiều khi thay đổi nhiệt độ nuôi. Hàm lượng IAA sinh ra cao nhất khi nuôi ở 35°C đạt 29,31 ppm. Ở nhiệt độ

40°C và 45°C tuy sinh trưởng kém nhưng hàm lượng IAA sinh tổng hợp đạt 16,14 ppm và 15,05 ppm. Nhiệt độ 35°C phù hợp cho sự sinh trưởng và sinh tổng hợp IAA của chủng *Trichoderma konilangbra* ĐL3 được lựa chọn.

3.1.3. Ảnh hưởng của pH môi trường đến khả năng sinh IAA

Sinh trưởng của nấm *Trichoderma konilangbra* ĐL3 ở trong khoảng pH thay đổi từ 3 - 10 khác nhau

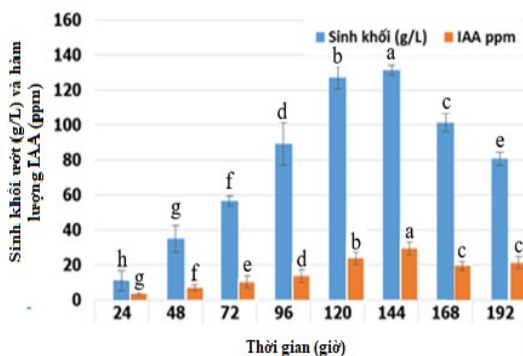


Hình 3. Ảnh hưởng của pH môi trường đến sinh trưởng và sinh IAA của *Trichoderma konilangbra* ĐL3

Ghi chú: Các chữ cái khác nhau trên đồ thị thể hiện sự khác nhau có ý nghĩa thống kê giữa các giá trị trung bình, $p < 0,05$.

Khoảng pH thích hợp nhất cho sinh trưởng và sinh tổng hợp IAA của chủng *Trichoderma konilangbra* ĐL3 là pH 7.

3.1.4. Ảnh hưởng của thời gian nuôi cấy đến khả năng sinh IAA

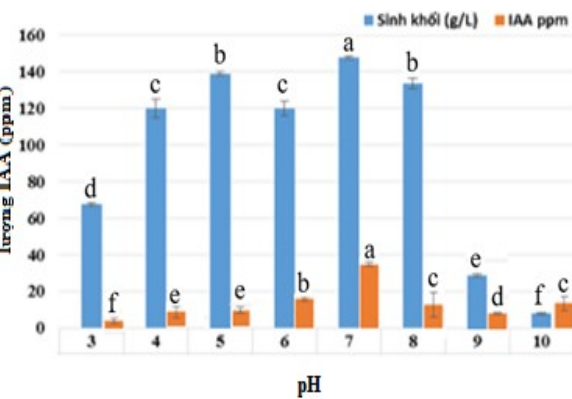


Hình 4. Ảnh hưởng của thời gian nuôi cấy đến sinh trưởng và sinh IAA của nấm *Trichoderma konilangbra* ĐL3

Ghi chú: Các chữ cái khác nhau trên đồ thị thể hiện sự khác nhau có ý nghĩa thống kê giữa các giá trị trung bình, $p < 0,05$.

rõ rệt. Khoảng pH thích hợp của chủng từ 4 - 7 với lượng sinh khối đạt 119,80 - 143,32 g/L sau 5 ngày nuôi cấy. Ngoài ngưỡng pH trên, sinh trưởng của nấm *Trichoderma konilangbra* ĐL3 yếu, hàm lượng sinh khối ướt giảm.

Hàm lượng IAA sinh ra ở các pH khác nhau của chủng *Trichoderma konilangbra* ĐL3 dao động từ 4,54 - 36,82 ppm, trong đó hàm lượng IAA cao nhất đạt được trong khoảng pH 7.



Sinh trưởng của chủng nấm *Trichoderma konilangbra* ĐL3 đạt cực đại khi ở thời điểm 120 - 144 giờ, lượng sinh khối ướt sinh ra đạt trên 127 - 131,2 g/L. Sau 144 giờ lên men nấm *Trichoderma konilangbra* ĐL3 bắt đầu dừng phát triển, lượng sinh khối sinh ra xu hướng giảm.

Hàm lượng IAA trong quá trình lên men của chủng *Trichoderma konilangbra* ĐL3 tăng dần theo thời gian và đạt cao nhất sau 120 - 144 giờ nuôi cấy là 23,15 - 26,31 ppm. Sau thời điểm này hàm lượng IAA giảm nhanh.

3.2. Nghiên cứu một số điều kiện nhân nuôi nấm nội sinh *Trichoderma konilangbra* ĐL3

3.2.1. Nghiên cứu lựa chọn giá thể, tỉ lệ phối trộn phù hợp để nhân nuôi nấm nội sinh *Trichoderma konilangbra* ĐL3

Lựa chọn giá thể, tỉ lệ phối trộn phù hợp được tiến hành nuôi cấy trên giá thể và quan sát khả năng phát triển của hệ sợi thể hiện trong bảng 1 và hình 5.

Bảng 1. Ảnh hưởng của giá thể đến sinh trưởng, phát triển của nấm nội sinh *Trichoderma konilangbra* ĐL3

Cơ chất phối trộn	Tỷ lệ	Tốc độ phát triển	Mật độ (log CFU/g)	Hình thái sợi nấm trên giá thể
Thóc: Ngô	1: 1	++	8,4	Hệ sợi nấm phát triển bình thường, hình thành các hệ sợi bông xốp màu trắng bám vào giá thể. Sau 7 ngày nuôi cấy, hình thành bào tử dạng bột, có màu xanh.
	2: 1	+++	8,6	Hệ sợi nấm phát triển tốt, hình thành các hệ sợi bông xốp màu trắng bám vào giá thể. Sau 7 ngày nuôi cấy, xuất hiện bào tử màu xanh dạng bột.
	3: 1	++	8,4	Hệ sợi nấm phát triển bình thường, hình thành các hệ sợi màu trắng bông xốp bám sát giá thể. Sau 7 ngày nuôi cấy, hình thành bào tử dạng bột, có màu xanh.
	4: 1	++	8,4	Hệ sợi nấm phát triển bình thường, hình thành các hệ sợi màu trắng bông xốp bám sát giá thể. Sau 7 ngày nuôi cấy, hình thành bào tử dạng bột, có màu xanh.
Gạo: Ngô	1: 1	+	7,7	Hệ sợi nấm phát triển kém, hình thành các hệ sợi màu trắng bông xốp bám sát giá thể. Sau 7 ngày nuôi cấy, mới bắt đầu hình thành bào tử dạng bột, có màu xanh.
	2: 1	+	8,2	Hệ sợi nấm phát triển kém, hình thành các hệ sợi màu trắng bông xốp bám sát giá thể. Sau 7 ngày nuôi cấy, mới bắt đầu hình thành bào tử dạng bột, màu xanh. Sau 10 ngày, bào tử nấm mới hình thành rõ rệt, có màu xanh đậm.
	3: 1	++	8,1	Hệ sợi nấm phát triển bình thường, hình thành các hệ sợi màu trắng bông xốp bám sát giá thể. Sau 10 ngày nuôi cấy, hình thành bào tử dạng bột, màu xanh đậm.
	4: 1	++	7,4	Hệ sợi nấm phát triển bình thường, hình thành các hệ sợi màu trắng bông xốp bám sát giá thể. Sau 10 ngày nuôi cấy, hình thành bào tử dạng bột, có màu xanh đậm.

Ghi chú: (+) phát triển kém, (++) phát triển tốt, (+++) phát triển rất tốt



Hình 5. Quá trình phát triển của chủng *Trichoderma konilangbra* ĐL3 trên các giá thể cơ chất khác nhau

Trên các giá thể, chủng *Trichoderma* màu trắng bông xốp bám sát giá thể và hình thành *konilangbra* ĐL3 phát triển tạo thành các hệ sợi bào tử dạng bột, có màu xanh. Sau 10 ngày nuôi

cấy, hầu hết các giá thể mang đều có mật độ đạt trên 7 - 8 log CFU/g. Cơ chất thóc và bột ngô cho khả năng tạo mật độ nấm tốt hơn so với các giá thể làm từ gạo và ngô với mật độ nấm đạt trên 8 log CFU/g. Thóc: Ngô với tỷ lệ phối trộn 2: 1 được xem là giá thể thích hợp nhất cho lựa chọn tạo chế phẩm, mật độ nấm đạt 8,6 log CFU/g CFU/g và tốc độ phát triển của nấm *Trichoderma konilangbra* ĐL3 cũng khá nhanh.

3.2.2. Nghiên cứu tỷ lệ giống thích hợp để nhân nuôi nấm nội sinh *Trichoderma konilangbra* ĐL3

Ngoài việc lựa chọn cơ chất mang phù hợp, tỷ lệ bổ sung giống vào giá thể cũng là yếu tố quan trọng trong quá trình sản xuất tạo chế phẩm. Kết quả được thể hiện ở hình 6 và bảng 2.

Bảng 2. Mật độ chủng nấm *Trichoderma konilangbra* ĐL3 trên giá với tỷ lệ bổ sung giống khác nhau sau 7 ngày

Chủng nấm	Tỷ lệ giống (%)	Tốc độ phát triển	Mật độ (log CFU/g)
<i>Trichoderma konilangbra</i> ĐL3	1	+++	8,4
	2	+++	8,5
	3	+++	8,5
	4	+++	8,4
	5	+++	8,3

Ghi chú: (+) phát triển kém, (++) phát triển tốt, (+++) phát triển rất tốt.



Hình 6. Khả năng phát triển của chủng *Trichoderma konilangbra* ĐL3 trên giá với tỷ lệ bổ sung giống khác nhau

Nấm *Trichoderma konilangbra* ĐL3 phát triển khá tốt ở tỷ lệ bổ sung giống từ 1 - 3% thúc đẩy quá trình sinh trưởng của nấm trên cơ chất mạnh mẽ,

khả năng lan sợi nấm tốt và mật độ nấm trên giá thể cao đạt trên 8 log CFU/g. Với mức sử dụng tỷ lệ giống 1%, cho mật độ nấm trên giá thể khá cao đạt 8,4 log CFU/g và không có sự khác biệt nhiều với 3%. Tuy nhiên, để phù hợp với yêu cầu sản xuất, tỷ lệ bổ sung giống 1% được xem là mức dùng phù hợp cho nhân nuôi tạo chế phẩm chủng *Trichoderma konilangbra* ĐL3.

3.2.3. Nghiên cứu độ ẩm thích hợp để nhân nuôi nấm nội sinh *Trichoderma konilangbra* ĐL3

Trichoderma konilangbra ĐL3 được tiến hành đánh giá ảnh hưởng của độ ẩm đến khả năng sinh trưởng của chúng thông qua việc thay đổi lượng nước vào cơ chất. Sau 10 ngày bổ sung 1% giống và nuôi ở điều kiện thiếu sáng, các mẫu sẽ được thu hồi, đánh giá khả năng sinh trưởng và mật độ nấm hình thành trên giá thể. Kết quả được thể hiện ở bảng 3.

Bảng 3. Mật độ chủng nấm *Trichoderma konilangbra* ĐL3 trên giá thể với các độ ẩm khác nhau

Chủng nấm	Độ ẩm (%)	Tốc độ phát triển	Mật độ (log CFU/g)
<i>Trichoderma konilangbra</i> ĐL3	40	+++	8,6
	50	+++	8,7
	60	+++	8,7
	70	+++	8,6
	80	++	8,2

Ghi chú: (+) phát triển kém, (++) phát triển tốt, (+++) phát triển rất tốt.



Hình 7. Quá trình phát triển của chủng *Trichoderma konilangbra* ĐL3 trên giá thể với các độ ẩm khác nhau

Ở độ ẩm 80% chủng *Trichoderma konilangbra* ĐL3 phát triển chậm hơn so với các mức độ ẩm khác, mật độ nấm đạt 8,2 log CFU/g. Mật độ nấm *Trichoderma konilangbra* ĐL3 cao nhất khi nuôi trên cơ chất có độ ẩm 50 - 60%, đạt 8,7 log CFU/g. Từ kết quả thu được, độ ẩm giá thể phù hợp cho nhân nuôi nấm là 50 - 60% làm điều kiện thích hợp cho nhân nuôi tạo chế phẩm chủng *Trichoderma konilangbra* ĐL3.

3.2.4. Nghiên cứu thời gian thích hợp để nhân nuôi nấm nội sinh *Trichoderma konilangbra* ĐL3

Trichoderma konilangbra ĐL3 lựa chọn cho sản xuất tạo chế phẩm sẽ được tiến hành nuôi cấy trên các giá thể cơ chất thích hợp với mức bổ sung giống 1% và độ ẩm 50 - 60%. Sau 5, 7, 10 và 14 ngày tiến hành đánh giá khả năng sinh trưởng và mật độ nấm trên giá thể. Kết quả được thể hiện ở bảng 4.

Bảng 4. Mật độ chủng nấm *Trichoderma konilangbra* ĐL3 trên các giá thể ở các thời điểm 5, 7, 10 và 14 ngày

Chủng nấm	Thời gian (ngày)	Tốc độ phát triển	Mật độ (log CFU/g)
<i>Trichoderma konilangbra</i> ĐL3	5	++	7,8
	7	++	8,3
	10	+++	8,7
	14	+++	8,7

Ghi chú: (+) phát triển kém, (++) phát triển tốt, (+++) phát triển rất tốt.

Sau 7 ngày nuôi cấy, hệ sợi nấm mọc lan gần kín túi cơ chất và bắt đầu hình thành bào tử có màu xanh, mật độ nấm đạt 8,3 log CFU/g. Mật độ nấm khi tiến hành thu mẫu ở 10 ngày, đạt 8,7 log CFU/g. Ở thời điểm này, nấm *Trichoderma konilangbra* ĐL3 trên giá thể đã hình thành nhiều bào tử màu xanh, mịn. Sau 14 ngày nuôi cấy, mật độ nấm không có sự sai khác so với 10 ngày. Có thể thấy, thời điểm thích hợp nhất cho thu nhận chế phẩm nấm *Trichoderma konilangbra* ĐL3 là sau 10 ngày nuôi cấy.

4. KẾT LUẬN

Kết quả nghiên cứu các điều kiện nhân nuôi chủng nấm nội sinh *Trichoderma konilangbra* ĐL3 đã chọn được môi trường nuôi cấy là nước

chiết khoai tây PDA có bổ sung 2 g/L tryptophan, ở nhiệt độ 35°C, pH 7 lượng sinh khối ướt và IAA thu được cao nhất tại thời điểm 144 giờ đạt lần lượt 127,2 g/L và 26,31 ppm. Chế phẩm sinh học có chứa chủng nấm *Trichoderma konilangbra* ĐL3 phát triển tốt trên cơ chất thóc: ngô (tỉ lệ 2: 1) ở điều kiện độ ẩm 50 - 60% và bổ sung 1% chủng giống gốc, sau 10 ngày nuôi cấy tạo hệ sợi có màu trắng, hình thành các bào tử có màu xanh, mật độ nấm đạt 8,7 log CFU/g.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Miransari M (2010). Contribution of arbuscular mycorrhizal symbiosis to plant growth under different types of soil stress. *Plant Biol*, 12: 563 - 569.
2. Najafi A, Ardakani MR, Rejali F, Sajedi N (2012). Response of winter barley to co-inoculation with Azotobacter and Mycorrhiza fungi influenced by plant growth promoting rhizobacteria. *Ann Biol Res*, 3: 4002 - 4006.
3. Widowati, T., Putrie, R. F. W., Lekatompey, S. J., Sukiman, H. (2018). Peningkatan galur pada bakteri penghasil IAA yang diisolasi dari bintil akar tanaman turi (Strain Improvement on Iaaproducing Bacteria Isolated From Root Nodules of *Sesbania grandiflora* (L)). *Biopropal Ind*, 9, 71 - 77.
4. G. Reineke, B. Heinze, J. Schirawski, H. Buettne, R. Kahmann, C. W. Basse. (2008). Indole-3-acetic acid (IAA) biosynthesis in the smut fungus *Ustilago maydis* and its relevance for increased IAA levels in infected tissue and host tumour formation. *Mol Plant Pathol*, 9, 339 - 355.
5. R. P. Rao, A. Hunter, O. Kashpur, J. Normanly. (2010). Aberrant synthesis of indole-3-acetic acid in *Saccharomyces cerevisiae* triggers morphogenic transition, a virulence trait of pathogenic fungi. *Genetics*, 185, 211 - 220.
6. Bischof, R. H., Jonas. (2016). Cellulases and beyond: The first 70 years of the enzyme producer *Trichoderma reesei*. *Microb. Cell Fact*, 15, 106.
7. Bononi, L., Chiaramonte, J. B., Pansa, C. C., Moitinho, M. A., Melo, I. S. (2020). Phosphorus-solubilizing *Trichoderma* spp. from Amazon soils improve soybean plant growth. *Sci. Rep*, 10, 2858.

8. Williams, J., J. M. Clarkson, P. R. Mills, and R. M. Cooper. (2003). Saprotrophic and mycoparasitic components of aggressiveness of *Trichoderma harzianum* groups towards the commercial mushroom *Agaricus bisporus*. *Applied and Environmental Microbiology*, 4192 - 4199.

**RESEARCH ON CULTIVATION CONDITIONS OF THE FUNGAL ENDOPHYTIC
Trichoderma konilangbra ĐL3 WITH THE ABILITY TO BIOSYNTHESIS OF INDOLE - 3 -
ACETIC ACID ISOLATED FROM THE ROOTS OF POLYSCIAS FRUTICOSA**

Nguyen Thi Mai Huong¹

¹ *Faculty of Food Technology,*

University of Economics - Technology for Industries (UNETI), Hanoi

Summary

In this report, strains of endophytic fungal *Trichoderma konilangbra* ĐL3 were isolated from the roots *Polyscias fruticosa* in Nam Dinh was selected for the biosynthesis IAA to create biological products. The strain *Trichoderma konilangbra* ĐL3 fungal grows at cultivation PDA medium, temperature at 35°C, pH 7, the highest amount of wet biomass and IAA concentration collected after 144 hours reached 127.2 g/L and 26.31 ppm, respectively. The *Trichoderma konilangbra* ĐL3 fungal grows well on the substrate of rice: corn with a mixing ratio of 2: 1, moisture 50 - 60%, supplemented with 1%, after 10 days of culture creating white mycelium, forming green spores, the mushroom density reached 8,7 log CFU/g.

Keywords: *IAA, endophytic fungi, Trichoderma sp.*

Ngày nhận bài: 9/9/2024

Ngày gửi phản biện: 30/9/2024

Ngày thông qua phản biện: 9/10/2024

Ngày duyệt đăng: 11/11/2024