



KHẢO SÁT MÔI TRƯỜNG NUÔI CẤY NẤM VÂN CHI ĐỎ (*Trametes sanguinea* (L.) Imazeki)

Nguyễn Diễm My, Đỗ Tấn Khang*, Nguyễn Phạm Anh Thi và Trần Nhân Dũng

Viện Nghiên cứu và Phát triển Công nghệ Sinh học, Trường Đại học Cần Thơ

*Người chịu trách nhiệm về bài viết: Đỗ Tấn Khang (email: dtkhang@ctu.edu.vn)

Thông tin chung:

Ngày nhận bài: 13/11/2018

Ngày nhận bài sửa: 05/03/2019

Ngày duyệt đăng: 12/04/2019

Title:

Evaluation of culturing media for *Trametes sanguinea* (L.) Imazeki production

Từ khóa:

Bột bắp, cám gạo, mật cưa cao su, *Trametes sanguinea*, Vân chi đỏ

Keywords:

Corn flour, rice bran, rubber sawdust, *Trametes sanguinea*

ABSTRACT

This study was conducted to examine nutritious factors affecting the growth of *Trametes sanguinea* (L.) Imazeki at various stages. The examined isolating media included PDA (supplied or non-supplied coconut juice). The second stage of culturing was evaluated basing on the development of mycelia on rice medium supplemented with rubber sawdust, rice bran and corn flour. At the third stage of culturing, cassava-stalk medium was supplied with sawdust, rice bran and corn flour were examined. Finally, the optimal ratio between rubber sawdust and corn flour were evaluated on fruiting bodies development. The results showed that PDA medium with 10% coconut juice supplement was the optimal medium for *T. sanguinea* (1.94 cm/day), and the medium with 5% rubber sawdust and 5% corn flour had the highest speed of mycelium development (0.84 cm/day). The optimum growth of *T. sanguinea* was in stalk of cassava with 10% of corn flour (0.88 cm/day). The highest productivity of fresh fruiting body was obtained in the medium with 10% corn flour supplement 95.76 g/bag (1 kg ingredient).

TÓM TẮT

Nghiên cứu được thực hiện với mục đích khảo sát các yếu tố dinh dưỡng ảnh hưởng đến sự phát triển của nấm Vân chi đỏ *Trametes sanguinea* (L.) Imazeki ở các giai đoạn khác nhau. Môi trường phân lập nấm được khảo sát là môi trường PDA (Potato Dextrose Agar) có hoặc không bổ sung nước dừa. Giai đoạn giống cấp 2 được khảo sát dựa trên sự phát triển của tơ nấm trên môi trường hạt lúa bổ sung mật cưa, cám gạo và bột bắp. Ở giai đoạn giống cấp 3, môi trường thân khoai mì được khảo sát với sự bổ sung mật cưa, bột bắp và cám gạo với tỷ lệ khác nhau. Cuối cùng là giai đoạn hình thành quả thể, tỷ lệ phối trộn giữa mật cưa cao su và bột bắp thích hợp để sản xuất nấm Vân chi đỏ cho năng suất cao được khảo sát. Kết quả nghiên cứu cho thấy khuẩn ty nấm phát triển tốt nhất trên môi trường PDA bổ sung nước dừa (1,94 cm/ngày) và phát triển tốt nhất trên môi trường hạt lúa bổ sung 5% mật cưa và 5% bột bắp (0,84 cm/ngày). Ở môi trường thân giống cấp 2 trên hạt lúa nghiệm thức bổ sung 5% mật cưa và 5% bột bắp có tốc độ lan tơ nhanh nhất (0,84cm/ngày). Đối với thí nghiệm khảo sát trên thân khoai mì cho thấy khoai mì bổ sung 10% bột bắp cho tốc độ lan tơ nhanh nhất (0,88 cm/ngày). Năng suất nấm được ghi nhận là cao nhất khi trồng trên cơ chất mật cưa cao su bổ sung 10% bột bắp cho kết quả cao nhất về năng suất trọng lượng tươi 95,76 g/bịch (1 kg cơ chất).

Trích dẫn: Nguyễn Diễm My, Đỗ Tấn Khang, Nguyễn Phạm Anh Thi và Trần Nhân Dũng, 2019. Khảo sát môi trường nuôi cấy nấm Vân chi đỏ (*Trametes sanguinea* (L.) Imazeki). Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ. 55(Số chuyên đề: Công nghệ Sinh học)(2): 158-165.

1 ĐẶT VẤN ĐỀ

Ngày nay, nấm ngoài những giá trị dinh dưỡng đã được biết còn được đề cập tới như một nguồn dược thảo quý trong y học cổ truyền, có khả năng chữa trị được rất nhiều bệnh và nâng cao sức đề kháng của cơ thể, chẳng hạn như nấm Linh chi, nấm Hầu thủ, nấm Vân chi...

Người ta biết đến nấm Vân chi thông qua giá trị dược học rất cao của nó, do có chứa các hợp chất polysaccharide liên kết với protein, gồm hai loại chính PSK (polysaccharide krestin) và PSP (polysaccharide peptide). Các chất này được coi là có khả năng chữa trị ung thư, tăng miễn dịch cơ thể, chống các phản ứng phụ của hóa trị và xạ trị, ức chế sự nhân lên của virus HIV... (Fritz *et al.*, 2015; Vũ Minh Tuấn và Lê Thị Thu Hương, 2017).

Sự phát triển của nấm nói chung và nấm Vân chi nói riêng chịu sự ảnh hưởng rất lớn bởi nguồn dinh dưỡng. Các loại nguyên liệu cung cấp dinh dưỡng cho nấm Vân chi phát triển khá đa dạng, hầu hết trong số đó là các phụ phẩm nông nghiệp. Việt Nam là một nước nông nghiệp với nguồn phụ phế phẩm hết sức phong phú và giá thành thấp. Vì vậy việc tìm ra môi trường nuôi trồng thích hợp sử dụng nguồn nguyên liệu rẻ tiền sẵn có ở địa phương để đạt được năng suất cao nhất trong nuôi trồng nấm Vân chi là điều cần thiết.

Xuất phát từ thực tiễn trên với mong muốn phát triển và mở rộng quy mô nuôi trồng nấm Vân chi, đề tài được thực hiện với mục tiêu khảo sát ảnh hưởng của môi trường nuôi trồng từ giai đoạn phân lập nhân giống đến khi thu hoạch quả thể đến sự phát triển và năng suất nấm Vân chi đó.

2 PHƯƠNG TIỆN VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1 Nguyên vật liệu và hóa chất

Giống nấm Vân chi đỏ được cung cấp từ trại nấm ở Tây Ninh. Mạt cưa cây cao su được cung cấp từ trại nấm của công ty ACI, quận Bình Thủy, thành phố Cần Thơ. Cám gạo và bột bắp được mua từ cơ sở thức ăn gia súc Hồng Phước, quận Ninh Kiều, thành phố Cần Thơ.

Hóa chất: D – Glucose, pepton, MgSO₄, agar, KH₂PO₄, K₂HPO₄, CaCO₃ bột, vôi bột, cám gạo, KNO₃, DAP (diamond phosphate), dung dịch lysis buffer, dung dịch TE (Tris EDTA) 0,1X, ethanol 70% và 96%, agarose, dung dịch TE 1X, ethidium bromide, loading buffer, Taq polymerase, BiH₂O, MgCl₂, dNTPs.

Môi trường thí nghiệm: Môi trường PDA (Potato Dextrose Agar): khoai tây (200g), D-Glucose (20g),

agar (20g); Môi trường bán tổng hợp: khoai tây (200g), D-Glucose (20g), agar (20g), KH₂PO₄ (3g), MgSO₄ (1,5g).

2.2 Phương pháp nghiên cứu

2.2.1 Phân lập và nhân giống

Phân lập: Bề mặt bịch phôi được khử trùng bằng cồn 70%. Bịch phôi được rạch và cắt một lớp mỏng 1 cm² phần khuẩn ty phát triển trên khối cơ chất. Lớp khuẩn ty được cấy vào giữa đĩa Petri có chứa môi trường phân lập PDA đã chuẩn bị sẵn. Các đĩa Petri này được đem ủ ở nhiệt độ trong 25–30°C và được kiểm tra mỗi ngày. Khi tơ nấm mọc lan ra từ tổ chức tơ nấm đã cấy, tiến hành cấy chuyển và kiểm tra độ thuần của khuẩn lạc.

2.2.2 Khảo sát sự phát triển của sợi nấm trên môi trường giống cấp 1

Khảo sát tốc độ lan của hệ sợi trên các môi trường dinh dưỡng khác nhau gồm: Môi trường 1: PDA; Môi trường 2: bán tổng hợp; Môi trường 3: PDA + 10% nước dừa.

Tất cả các môi trường được hấp khử trùng 121°C/2 giờ, để nguội 50–55°C và rót vào đĩa petri vô trùng. Mỗi môi trường chuẩn bị 10 đĩa. Thí nghiệm được lặp lại 3 lần. Sau 24 giờ cấy giống (cắt từng mẫu agar kích thước 10x10 mm có chứa giống gốc) từ môi trường thạch vào đĩa Petri có chứa môi trường đã chuẩn bị. Tiến hành ủ ở nhiệt độ phòng (30 ± 2 °C) cho đến khi tơ nấm lan đầy đĩa Petri. Tất cả các thao tác được thực hiện trong tủ cấy vô trùng.

Theo dõi sự lan tơ ở các môi trường nhân giống bằng cách đo đường kính lan tơ và ghi nhận thời gian lan tơ của nấm sau 2, 3, 4 ngày. Qua đó, đánh giá được tốc độ lan tơ của từng môi trường và chọn môi trường nhân giống tối ưu cho tơ nấm phát triển nhanh nhất.

2.2.3 Khảo sát môi trường nhân giống cấp 2 trên lúa

Thí nghiệm được bố trí ngẫu nhiên gồm 4 nghiệm thức (NT) NT1: lúa, 5% mạt cưa, 5% bột bắp; NT2: lúa, 5% mạt cưa, 5% cám gạo; NT3: lúa, 5% cám gạo; 5% bột bắp; NT4: lúa (đối chứng).

Cách tiến hành: Dùng dao cấy inox được khử trùng trên ngọn lửa đèn cồn nhiều lần rồi làm nguội (cho vào ống nghiệm có chứa cồn 90%), cắt từng mẫu agar bằng nhau có chứa giống gốc (được chọn từ môi trường cấp 1). Sau đó chuyển vào ống nghiệm có chứa môi trường hạt đã khử trùng. Tiến hành ủ ở nhiệt độ phòng (30 ± 2°C). Tất cả các thao tác được thực hiện trong tủ cấy vô trùng.

Phương pháp đánh giá: Tiến hành đo và thu thập số liệu sau 3, 5, 7, 9, 11 ngày theo các chỉ tiêu:

Tốc độ tăng trưởng của hệ sợi nấm qua các ngày trên sau khi cấy (bằng cách đo độ dài lan tơ). Màu sắc hệ sợi nấm trong ống nghiệm.

2.2.4 Khảo sát môi trường nhân giống cấp 3 trên thân khoai mì

Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên theo 7 nghiệm thức, mỗi nghiệm thức là 1 tỉ lệ phối trộn khác nhau của các thành phần dinh dưỡng bổ sung (NT1: khoai mì, 5% mật cưa, 5% bột bắp; NT2: khoai mì, 5% mật cưa, 5% cám gạo; NT3: khoai mì, 5% cám gạo, 5% bột bắp; NT4: khoai mì, 10% cám gạo; NT5: khoai mì, 10% bột bắp; NT6: khoai mì, 10% mật cưa; NT7: khoai mì (đối chứng)). Thí nghiệm được bố trí lặp lại 3 lần, mỗi lần lặp lại với 5 chai, tổng cộng có 105 chai. Tất cả môi trường đều được bổ sung nước để tạo ẩm độ (60%) cho hệ sợi nấm phát triển.

Cách tiến hành: Dùng muỗng inox được khử trùng trên ngọn lửa đèn cồn, sau đó làm nguội (cho vào ống nghiệm có chứa cồn 90%), múc 3 muỗng giống cấp 2 (từ môi trường lúa đã thực hiện từ bước

trên và đã lan tơ hoàn chỉnh) cho vào chai chứa thân khoai mì đã được chuẩn bị. Tiến hành ủ ở nhiệt độ phòng ($30 \pm 2^\circ\text{C}$) cho đến khi sợi nấm phát triển tốt và trắng cả chai khoai mì. Tất cả các thao tác được thực hiện trong tủ cấy vô trùng.

Phương pháp đánh giá: Tiến hành đo và thu thập số liệu sau 5, 7, 9, 11 ngày theo các chỉ tiêu:

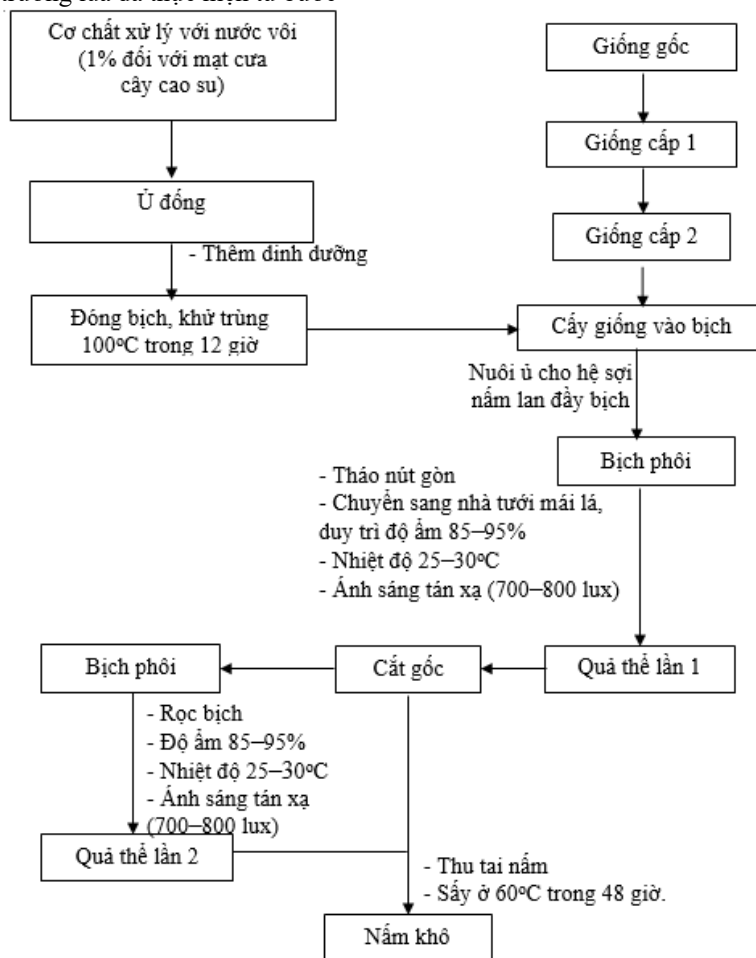
Tốc độ tăng trưởng của hệ sợi nấm qua các ngày trên sau khi cấy (bằng cách đo độ dài lan tơ).

Màu sắc hệ sợi nấm trong chai.

2.2.5 Khảo sát môi trường nuôi trồng quả thể

Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên theo Bảng 1, với 2 nhân tố (cơ chất và các mức dinh dưỡng bổ sung). Với cơ chất là mật cưa, 7 mức bổ sung chất dinh dưỡng khác nhau gồm 7 nghiệm thức, mỗi nghiệm thức lặp lại 3 lần (10 bịch phối/1 lần lặp lại), tổng cộng có 210 bịch phối.

Quy trình thực hiện dựa trên quy trình của Nguyễn Như Quỳnh (2006) có điều chỉnh:



Hình 1: Quy trình sản xuất nấm Vân chi đờ

Bảng 1: Bố trí tỉ lệ và thành phần dinh dưỡng bổ sung vào các cơ chất

| Nghiệm Thức (NT) | Cơ chất | Tỷ lệ dinh dưỡng bổ sung |
|------------------|---------|------------------------------------|
| NT1 | mạt cưa | đôi chứng (không bổ sung) |
| NT2 | mạt cưa | 10% cám gạo |
| NT3 | mạt cưa | 10% bột bắp |
| NT4 | mạt cưa | 5% cám gạo, 5% bột bắp |
| NT5 | mạt cưa | 5% cám gạo, 0,25% Urea |
| NT6 | mạt cưa | 5% cám gạo, 0,25% DAP |
| NT7 | mạt cưa | 5% cám gạo, 0,25% Urea , 0,25% DAP |

Mạt cưa cây cao su được xử lý với 1% vôi, độ ẩm 60% trong 3 ngày. Sau đó bổ sung dinh dưỡng theo các nghiệm thức của thí nghiệm, bổ sung ẩm đến 60%. Tiếp đó, cơ chất nền đã được trộn đều đưa vào bịch nylon và nện nhẹ, đồng thời xoay tròn bịch để cơ chất được nén đều vừa chặt. Mỗi bịch cơ chất có trọng lượng 1 kg và có chiều dài khoảng 23 cm. Buột cổ bịch và đậy nút gòn, dùng que nhọn đường kính 1,5–2 cm xuyên vào miệng bịch, cách đáy bịch 1 cm. Hấp khử trùng này bằng nồi hấp không có áp suất ở 100°C trong 12 giờ. Để nguội và tiến hành cấy nấm trong tủ cấy vô trùng.

Phương pháp đánh giá: Nấm được thu hoạch vào lúc sáng sớm, trước khi tưới nấm sau đó khảo sát một số chỉ tiêu như: Quan sát hình thái giải phẫu của nấm Vân chi, năng suất nấm tươi trên bịch phơi, phần trăm trọng lượng khô.

2.2.6 Định danh nấm bằng phương pháp giải trình tự đoạn ITS

Trình tự vùng ITS được giải với cặp mồi: ITS1: 5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3' và ITS4: 5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3'.

2.2.7 Phân tích số liệu

Số liệu được ghi nhận và nhập vào phần mềm Microsoft Office Excel 2003. Phần mềm Minitab 16.2.1 được sử dụng để phân tích ANOVA, các trung bình được so sánh bằng kiểm định Tukey với mức ý nghĩa 95%.

3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Từ kết quả giải trình tự (611 nucleotide) vùng ITS và so sánh với các trình tự trên ngân hàng gen NCBI cho thấy mức độ đồng hình với loài *Trametes sanguinea* là 99%. Kết quả này xác nhận giống nấm sử dụng trong nghiên cứu này chính xác là Vân chi đỏ. Nấm này còn có tên gọi khác là *Pycnoporus sanguineus*.

3.1 Môi trường nhân giống cấp 1

Kết quả cho thấy sự tăng trưởng của tơ nấm giữa các nghiệm thức trong cùng một mốc thời gian (ngày) khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức 5%. Môi trường bán tổng hợp có tốc độ lan tơ nhanh nhất, trong khi đó môi trường PDA có tốc độ lan tơ chậm nhất qua các mốc thời gian; môi trường PDA bổ sung 10% nước dừa có độ dày tơ nấm là nhiều hơn so với môi trường PDA và môi trường bán tổng hợp (Hình 2).

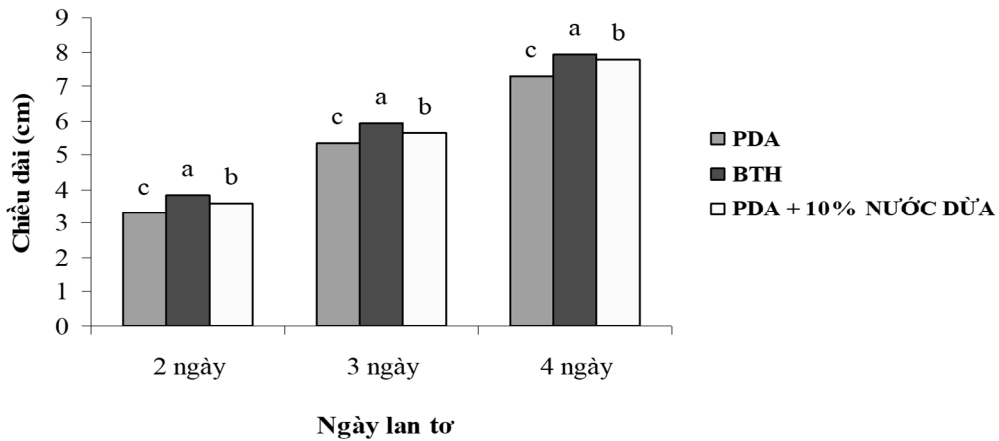


Hình 2: Đường kính hệ sợi tăng trưởng trên các môi trường sau 5 ngày cấy

1: Môi trường PDA; 2: Môi trường bán tổng hợp; 3: Môi trường PDA bổ sung 10% nước dừa

Quan sát sự lan tơ của hệ sợi trong 5 ngày nhận thấy: Trong 3 môi trường được khảo sát môi trường bán tổng hợp có hệ sợi phát triển nhanh nhất nguyên nhân chính là do môi trường bán tổng hợp có chứa hàm lượng khoáng đa dạng: Ca, Fe, Na, K, P... Môi trường PDA bổ sung 10% nước dừa có hệ sợi dày nhất và tốc độ lan tơ tương đối nhanh có thể giải thích trong nước dừa có một số chất khoáng cần thiết và một số loại vitamin có tác dụng kích thích sự tăng

trưởng của sợi nấm. Môi trường bán tổng hợp xuất hiện sắc tố sớm hơn môi trường bán tổng hợp và môi trường PDA bổ sung 10% nước dừa, thời gian hệ sợi bắt đầu xuất hiện sắc tố là 6 ngày sau khi cấy, đặc biệt càng để lâu hệ sợi càng dài. Chiều dài đường kính lan tơ trung bình môi trường PDA (1,83cm/ngày), môi trường bán tổng hợp (1,98cm/ngày) và môi trường PDA bổ sung 10% nước dừa (1,94cm/ngày) (Hình 3).



Hình 3: Đường kính lan tơ của nấm trên môi trường thạch

Ghi chú: Các giá trị trung bình có ký tự theo sau giống nhau thể hiện sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở mức 5%

Như vậy môi trường bán tổng hợp là môi trường có tốc độ lan tơ nhanh nhất, tuy nhiên, để tiết kiệm chi phí nên môi trường PDA có bổ sung 10% nước dừa được chọn vì thành phần môi trường dễ kiếm, giá thành rẻ, tiết kiệm hơn môi trường bán tổng hợp.

3.2 Môi trường nhân giống cấp 2 (môi trường hạt)

Kết quả thí nghiệm môi trường nhân giống cấp 2 cho thấy sự tăng trưởng của tơ nấm giữa các NT trong cùng một mốc thời gian khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức 5%. Sự lan tơ trung bình trong 1 ngày của NT1 có bổ sung 5% mật cưa, 5% bột bắp qua các mốc thời gian là nhanh nhất (0,84 cm/ngày), NT2 có bổ sung 5% mật cưa, 5% cám gạo (0,77 cm/ngày), NT3 có bổ sung 5% cám gạo, 5% bột bắp (0,66 cm/ngày), cuối cùng NT4 không bổ sung chất dinh dưỡng có sự lan tơ chậm nhất (0,63 cm/ngày). Sau 13 ngày, tơ nấm đã lan đều khắp các ống nghiệm.

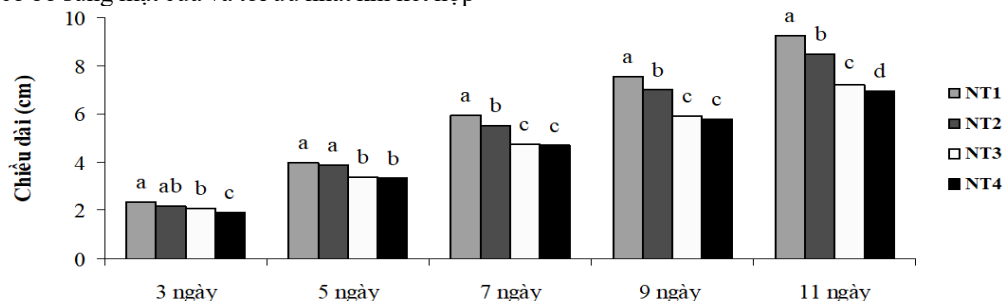


Hình 4: Kết quả lan tơ nấm trên môi trường hạt sau 9 ngày

Ghi chú: 1: NT1 (lúa, 5% mật cưa, 5% bột bắp); 2: NT2 (lúa, 5% mật cưa, 5% cám gạo); 3: NT3 (lúa, 5% cám gạo, 5% bột bắp); 4: NT4 (đối chứng)

Quan sát kết quả lan tơ nấm trên môi trường hạt sau 9 ngày (Hình 4) và chiều dài hệ sợi nấm phát triển theo thời gian (Hình 5) trên cả 4 nghiệm thức cho thấy ở hai nghiệm thức (NT1, NT2) có bổ sung 5% hạt cưa hệ sợi nấm lan nhanh, dày, có màu trắng và bện kết chặt với nhau; trong khi đó ở NT4 không bổ sung dinh dưỡng có hệ sợi lan chậm nhất và có mức độ tơ nấm tập trung thưa, khả năng bện kết yếu. Điều này chứng tỏ tơ nấm phát triển mạnh ở môi trường có bổ sung hạt cưa và tối ưu nhất khi kết hợp

với bột bắp hơn là cám gạo. Nguyên nhân dẫn tới kết quả trên có thể do Vân chi là một loại nấm phá gỗ và thường sống trên những thân cây chết đang phân hủy do đó khi môi trường có bổ sung hạt cưa cây cao su Vân chi dễ dàng thích nghi và phát triển. Kết quả thí nghiệm tương đồng với kết quả nghiên cứu của Nguyễn Phương Uyên (2005) môi trường lúa bổ sung 5% hạt cưa, 5% bột bắp có thời gian nhân giống nhanh nhất.



Hình 5: Chiều dài hệ sợi nấm phát triển trên môi trường hạt theo thời gian

Ghi chú: NT1: lúa, 5% hạt cưa, 5% bột bắp; NT2: lúa, 5% hạt cưa, 5% cám gạo; NT3: lúa, 5% cám gạo, 5% bột bắp; NT4: Đối chứng. Các giá trị trung bình có ký tự theo sau giống nhau thể hiện sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở mức 5%

Như vậy, NT1 với môi trường lúa có bổ sung 5% hạt cưa và 5% bột bắp là môi trường có tốc độ lan tơ tốt nhất và hệ sợi bện kết chặt hơn các NT khác.

3.3 Thành phần dinh dưỡng bổ sung cho thân khoai mì

Kết quả cho thấy sự tăng trưởng của tơ nấm giữa

các nghiệm thức trong cùng một mốc thời gian khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức 5%. Kết quả cho thấy sự lan tơ nấm của NT6 (bổ sung 10% hạt cưa) là phát triển nhanh nhất qua các mốc thời gian (0,88cm/ngày), NT5 (bổ sung 10% bột bắp) có tốc độ lan tơ chậm nhất (0,61cm/ngày). Sau 14 ngày hệ sợi nấm đã lan đều khắp các chai khoai mì.



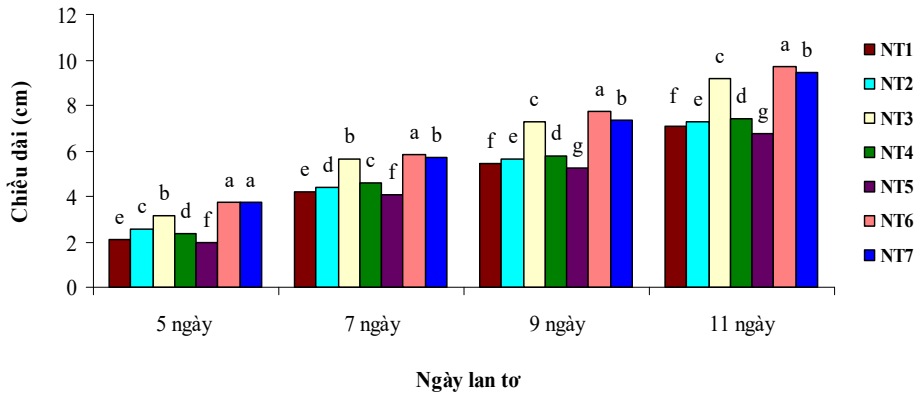
Hình 6: Kết quả lan tơ nấm trên thân khoai mì sau 6 ngày

Ghi chú: 1: NT1: (khoai mì, 5% hạt cưa, 5% bột bắp); 2: NT2 (khoai mì, 5% hạt cưa, 5% cám gạo); 3: NT3: (khoai mì, 5% cám gạo, 5% bột bắp); 4: NT4 (khoai mì, 10% cám gạo); 5: NT5 (khoai mì, 10% bột bắp); 6: NT6 (khoai mì, 10% hạt cưa); 7: NT7 (đối chứng)

Quan sát kết quả lan tơ nấm trên môi trường thân sấu 6 ngày (Hình 6) và chiều dài hệ sợi nấm phát triển trên thân khoai mì theo thời gian (Hình 7) trên cả 7 nghiệm thức cho thấy ở NT6 (bổ sung 10% hạt cưa) tơ nấm dày nhất và có tốc độ lan tơ nhanh nhất. Kết quả cũng cho thấy NT3 (bổ sung 5% cám gạo, 5% bột bắp) và NT7 (đối chứng) có tốc độ lan tơ tương đối vượt trội hơn những NT còn lại. Trong khi đó ở NT5 (bổ sung 10% bột bắp) có tốc độ lan tơ chậm nhất và tơ nấm mỏng nhất. Kết quả ghi nhận tơ nấm phát triển mạnh ở môi trường được bổ sung hạt cưa nguyên nhân có thể do tơ nấm đã thích nghi

với môi trường nhân giống cấp 2 có bổ sung hạt cưa, nên khi môi trường thân khoai mì có bổ sung hạt cưa tạo điều kiện cho tơ nấm dễ dàng tiếp nhận và phát triển mạnh mẽ. Bên cạnh đó, hạt cưa cao su có khả năng giữ ẩm tốt hơn cám gạo và bột bắp, điều đó cũng có thể giúp hệ sợi phát triển thuận lợi.

Như vậy, xét về tốc độ tăng trưởng NT6 với nguồn dinh dưỡng bổ sung là 10% hạt cưa trên thân khoai mì cho kết quả lan tơ phát triển nhanh nhất (12 ngày).



Hình 7: Chiều dài hệ sợi phát triển trên thân khoai mì theo thời gian

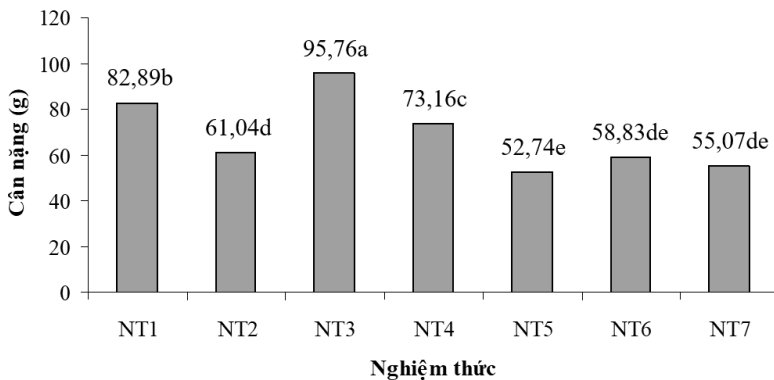
Ghi chú: **NT1:** khoai mì, 5% hạt cưa, 5% bột bắp; **NT2:** khoai mì, 5% hạt cưa, 5% cám gạo; **NT3:** khoai mì, 5% cám gạo, 5% bột bắp; **NT4:** khoai mì, 10% cám gạo; **NT5:** khoai mì, 10% bột bắp; **NT6:** khoai mì, 10% hạt cưa; **NT7:** đối chứng. Các giá trị trung bình có ký tự theo sau giống nhau thể hiện sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở mức 5%

3.4 Khảo sát môi trường cơ chất sản xuất bịch phôi

3.4.1 Năng suất nấm tươi trên bịch phôi

Kết quả trọng lượng tươi trung bình của quả thể được xử lý thống kê cho thấy NT3 có trọng lượng trung bình quả thể lần thu hoạch đầu tiên là cao nhất

(95,76 g/bịch phôi), NT5 có trọng lượng trung bình quả thể thấp nhất (52,74 g/bịch) khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức 5% (Hình 8). Trong khi đó, nghiệm thức NT2, NT6, NT7 có trọng lượng trung bình quả thể lần lượt (61,04 g/bịch phôi – 58,83 g/bịch phôi – 55,07 g/bịch phôi) khác biệt không có ý nghĩa thống kê.



Hình 8: Biểu đồ thể hiện trọng lượng quả thể trung bình trên các nghiệm thức

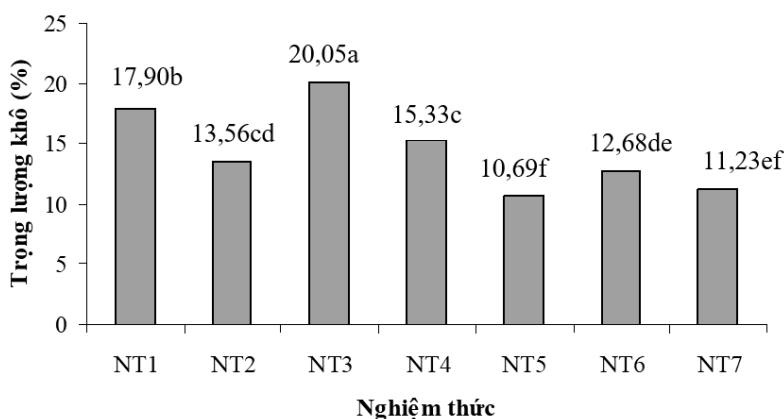
Ghi chú: **NT1:** đối chứng; **NT2:** hạt cưa, 10% cám gạo; **NT3:** hạt cưa, 10% bột bắp; **NT4:** hạt cưa, 5% cám gạo, 5% bột bắp; **NT5:** hạt cưa, 5% cám gạo, 0,25% Urea; **NT6:** hạt cưa, 5% cám gạo, 0,25% DAP; **NT7:** hạt cưa, 5% cám gạo, 0,25% Urea, 0,25% DAP. Các giá trị trung bình có ký tự theo sau giống nhau thể hiện sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở mức 5%

Theo dõi tốc độ lan tơ của các NT nhận thấy NT6 (bổ sung 5% cám gạo và 0,25% DAP) có chiều dài lan tơ đồng đều, tốc độ lan tơ nhanh nhất và có hệ sợi dày; trong khi đó ở NT1 (không bổ sung dinh dưỡng) khi bắt đầu lan tơ, tơ nấm lan rất chậm và có hệ sợi liên kết thưa. Nguyên nhân chính là do lúc đầu các nghiệm thức có bổ sung dưỡng chất tạo điều kiện thuận lợi cho tơ nấm sử dụng nguồn dinh dưỡng sẵn có để phát triển, còn NT chỉ có 100% là mật cưa cao su chưa được phân hủy nên chưa có dinh dưỡng cung cấp cho hệ sợi. Tuy nhiên, sau 1 tuần cấy thân khoai mì vào bịch phôi ở NT1, hệ enzyme của nấm Vân chi bắt đầu phân hủy cellulose do đó hệ sợi thích nghi và phát triển mạnh mẽ. Có thể thấy rằng mật cưa cây cao su là loại giá thể được nấm phân

giải và sử dụng thích hợp, bên cạnh đó việc kết hợp cơ chất mật cưa và bột bắp cho kết quả khả quan. Tơ nấm phát triển khá dày, sợi tơ phân nhánh nhiều, tích lũy được nhiều sinh khối tạo điều kiện thuận lợi cho sự phát triển của quả thể.

3.4.2 Phần trăm trọng lượng khô

Kết quả phân tích thống kê phần trăm trọng lượng khô cho thấy phần trăm trọng lượng khô của quả thể nấm cao nhất ở NT3 (20,05%) và thấp nhất ở NT5 (10,69%), khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức 5% (Hình 9). Do đặc tính của từng loài nấm có độ ẩm nhất định nên khi khảo sát phần trăm trọng lượng khô trong cùng 1 loài sự sai khác về độ ẩm giữa các nghiệm thức là không đáng kể, không phải do giá thể tác động (Patil *et al.*, 2010).



Hình 9: Biểu đồ thể hiện phần trăm trọng lượng khô của quả thể nấm theo từng nghiệm thức

Ghi chú: **NT1:** đối chứng; **NT2:** mật cưa, 10% cám gạo; **NT3:** mật cưa, 10% bột bắp; **NT4:** mật cưa, 5% cám gạo, 5% bột bắp; **NT5:** mật cưa, 5% cám gạo, 0,25% Urea; **NT6:** mật cưa, 5% cám gạo, 0,25% DAP; **NT7:** mật cưa, 5% cám gạo, 0,25% Urea, 0,25% DAP. Các giá trị trung bình có ký tự theo sau giống nhau thể hiện sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở mức 5%

4 KẾT LUẬN

Kết quả nghiên cứu đã tìm ra được môi trường tốt nhất cho mỗi giai đoạn phát triển của nấm Vân chi đỏ. Cụ thể, môi trường PDA có bổ sung 10% nước dừa là tối ưu ở giai đoạn phân lập; môi trường nhân giống cấp 2 tối ưu là môi trường lúa bổ sung 5% mật cưa và 5% bột bắp; môi trường nhân giống cấp 3 tốt nhất là môi trường thân khoai mì có bổ sung 10% mật cưa; và môi trường nuôi trồng quả thể với 100% cơ chất mật cưa cây cao su không bổ sung dinh dưỡng thích hợp cho hệ sợi nấm phát triển và cho năng suất cao nhất.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Fritz, H., Kennedy, D.A., Ishii, M., Fergusson, D., Fernandes, R., Cooley, K. and Seely, D., 2015. Polysaccharide K and *Coriolus versicolor* extracts for lung cancer: A systematic review. *Integrative Cancer Therapies*. 14(3): 201-211.

Nguyễn Như Quỳnh, 2006. Tìm hiểu về một loại nấm Linh chi thu hái tại Thủ Đức – Thành phố Hồ Chí Minh. Luận văn đại học. Trường Đại học Nông lâm Thành phố Hồ Chí Minh. Thành phố Hồ Chí Minh.

Nguyễn Phương Uyên, 2005. Khảo sát sinh trưởng một chủng nấm vân chi đen *Trametes versicolor* L.: Fr Pilat có nguồn gốc từ Trung Quốc. Luận văn đại học. Trường Đại học Nông lâm Thành phố Hồ Chí Minh. Thành phố Hồ Chí Minh.

Patil, S.S., Ahmed, S.A., Telsng, S.T. and Baig, M.M.V., 2010. The nutritional value of *Pleurotus ostreatus* cultivated on different lignocellulose Agro-waste. *Innovative Romanian Food Biotechnology*. 7(March): 66-76.

Vũ Minh Tuấn và Lê Thị Thu Hương, 2017. Nghiên cứu sự sinh trưởng, phát triển và năng suất nấm Vân chi (*Trametes versicolor* (L.) Pilat) trồng trên các loại giá thể tại Thừa Thiên Huế. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ nông nghiệp*. 1: 77-86.