

E



**TRƯỜNG ĐẠI HỌC TRÀ VINH**  
**HỘI ĐỒNG KHOA HỌC**

**ISO 9001: 2008**

**BÁO CÁO TỔNG KẾT**  
**ĐỀ TÀI NGHIÊN CỨU KHOA HỌC CẤP TRƯỜNG**

**ẢNH HƯỞNG CỦA THÀNH PHẦN CƠ CHẤT**  
**ĐẾN KHẢ NĂNG SINH TRƯỞNG VÀ NĂNG**  
**SUẤT CỦA HAI GIỐNG NẤM LINH CHI ĐỎ**  
**(*Ganoderma lucidum*) CÓ NGUỒN GỐC TỪ**  
**NHẬT BẢN VÀ HÀN QUỐC TRỒNG**  
**TẠI TRÀ VINH**

**Chủ nhiệm đề tài : ThS. NGUYỄN NGỌC TRAI**  
**Chức vụ : Giảng viên**  
**Đơn vị : Bộ môn Trồng trọt & PTNT**  
**Khoa Nông nghiệp-Thủy sản**

*Trà Vinh, ngày.....tháng.... năm 2015*



**TRƯỜNG ĐẠI HỌC TRÀ VINH**  
**HỘI ĐỒNG KHOA HỌC**

**ISO 9001: 2008**

**BÁO CÁO TỔNG KẾT**  
**ĐỀ TÀI NGHIÊN CỨU KHOA HỌC CẤP TRƯỜNG**

**ẢNH HƯỞNG CỦA THÀNH PHẦN CƠ CHẤT**  
**ĐẾN KHẢ NĂNG SINH TRƯỞNG VÀ NĂNG**  
**SUẤT CỦA HAI GIỐNG NẤM LINH CHI ĐỎ**  
**(*Ganoderma lucidum*) CÓ NGUỒN GỐC TỪ**  
**NHẬT BẢN VÀ HÀN QUỐC TRỒNG**  
**TẠI TRÀ VINH**

**Xác nhận của cơ quan chủ quản**  
*(Ký, đóng dấu, ghi rõ họ tên)*

**Chủ nhiệm đề tài**  
*(Ký, ghi rõ họ tên)*

**Nguyễn Ngọc Trai**

*Trà Vinh, ngày..... tháng....năm 2015*

## LỜI CẢM ƠN

Để hoàn thành đề tài này, tôi xin chân thành gửi lời cảm ơn đến:

Ban Giám Hiệu, Khoa Nông nghiệp - Thủy sản, Phòng Khoa học Công nghệ và Đào tạo sau Đại học, Phòng Kế hoạch - Tài vụ Trường Đại học Trà Vinh đã tạo điều kiện thuận lợi nhất để tôi có điều kiện làm việc và nghiên cứu đề tài.

Các bạn đồng nghiệp tại Bộ môn Trồng trọt & PTNT, Khoa Nông nghiệp Thủy sản Trường Đại học Trà Vinh đã hỗ trợ tôi hoàn thành đề tài này.

Quý Thầy cô Trường Đại học Cần Thơ đã giảng dạy và truyền đạt những kiến thức quý báu làm nền tảng để tôi có thể thực hiện đề tài.

Các em sinh viên lớp Đại học Khoa học cây trồng khóa 2011, 2013, Khoa Nông nghiệp - Thủy sản, Trường Đại học Trà Vinh đã hỗ trợ tôi thực hiện đề tài này

Chân thành cảm ơn với tấm lòng trân trọng nhất!

**Nguyễn Ngọc Trai**

## TÓM TẮT

Mục tiêu của đề tài nhằm xác định môi trường nhân giống cấp 1, cấp 2 và thành phần giá thể phù hợp để trồng hai giống nấm linh chi có nguồn gốc từ Nhật Bản và Hàn Quốc. Kết quả nghiên cứu đạt được như sau : (1) Môi trường thạch - khoai tây - muối khoáng là thích hợp để nhân giống cấp 1 cả hai giống nấm linh chi Nhật và Hàn với tốc độ lan tơ trung bình sau 10 NSC của hai giống lần lượt là 0,80 và 0,83 cm/ngày ; (2) Trên môi trường lúa bổ sung 10% cám bắp hai giống nấm linh chi nghiên cứu có tốc độ sinh trưởng nhanh, tơ nấm có màu trắng đục với mật độ dày nên đây là môi trường thích hợp để nhân giống cấp 2 (giống meo) cho cả hai giống nấm; (3) Trọng lượng giá thể/bịch phôi thích hợp để trồng hai giống nấm là 1,2 kg/phôi ; (4) Thành phần giá thể thích hợp để trồng nấm linh chi Nhật là : mùn cưa cao su 83,5% :5% cám gạo: 10% Cám bắp:1,3% CaCO<sub>3</sub>: 0,4% DAP, sau thời gian 170 NSC nấm được thu hoạch 2 lần với kích thước mũ nấm trung bình 8,38 cm, năng suất trung 19,92 kg nấm khô/1000 phôi, hàm lượng polysaccharide/VCK và triterpenoid/VCK lần lượt là 0,511% và 0,166%. Đối với giống nấm linh chi Hàn, năng suất trung bình đạt 17,28 kg nấm khô/1000 phôi, mũ nấm có đường kính 9,65 cm trên giá thể có thành phần: mùn cưa 41,75%: bã mía 41,75%: 5% cám gạo: 10% Cám bắp:1,3% CaCO<sub>3</sub>:0,4% DAP, quả thể nấm phân tích chứa 0,725 % polysaccharide/VCK và 0,075% triterpenoid/VCK.

# MỤC LỤC

LỜI CẢM ƠN .....	i
TÓM TẮT .....	ii
MỤC LỤC.....	iii
DANH SÁCH BẢNG .....	v
DANH SÁCH HÌNH.....	vii
DANH MỤC TỪ VIẾT TẮT.....	viii
MỞ ĐẦU.....	- 1 -
2. Mục tiêu của đề tài .....	- 2 -
3. Nội dung triển khai nghiên cứu.....	- 2 -
4. Phương pháp nghiên cứu.....	- 2 -
4.1. Nguyên vật liệu: .....	- 2 -
4.2. Dụng cụ: .....	- 3 -
4.3. Hoá chất, môi trường: .....	- 3 -
4.4. Phương pháp nghiên cứu:.....	- 3 -
5. Phương pháp phân tích số liệu .....	- 3 -
CHƯƠNG 1. LƯỢC KHẢO TÀI LIỆU .....	- 4 -
1.1. Khái quát chung về nấm linh chi .....	- 4 -
1.1.1. Khái quát chung .....	- 4 -
1.1.2. Đặc điểm hình thái và chu trình sống của nấm linh chi.....	- 5 -
1.1.3. Nhu cầu dinh dưỡng cho sự phát triển tơ nấm.....	- 5 -
1.1.4. Ảnh hưởng của các yếu tố vật lý lên sự sinh trưởng tơ nấm .....	- 7 -
1.1.5. Bệnh trên nấm Linh chi.....	- 8 -
1.2. Nguyên liệu nuôi trồng nấm Linh chi .....	- 9 -
1.3. Tình hình nghiên cứu nuôi trồng nấm linh chi trong và ngoài nước .....	- 11 -
CHƯƠNG 2. NỘI DUNG NGHIÊN CỨU.....	- 17 -
2.1. Thí nghiệm 1: Khảo sát sự sinh trưởng của 02 giống nấm linh chi đỏ ( <i>Ganoderma lucidum</i> ) có nguồn gốc từ Nhật Bản và Hàn Quốc trên môi trường nhân giống cấp 1. ....	- 17 -

2.1.1. Mục đích nghiên cứu:.....	- 17 -
2.1.2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu.....	- 17 -
2.1.3. Kết quả nghiên cứu: .....	- 18 -
2.2. Thí nghiệm 2. Khảo sát sự sinh trưởng của 02 giống nấm Linh chi đỏ ( <i>Ganoderma lucidum</i> ) có nguồn gốc từ Nhật Bản và Hàn Quốc trên môi trường nhân giống cấp 2 (môi trường nhân giống meo).....	- 22 -
2.2.1. Mục đích nghiên cứu:.....	- 22 -
2.2.2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu.....	- 22 -
2.2.3. Kết quả thí nghiệm.....	- 24 -
2.3. Thí nghiệm 3. Khảo sát ảnh hưởng của thành phần giá thể đến năng suất và dược tính của 2 giống nấm Linh chi đỏ thí nghiệm.....	- 27 -
2.3.1. Mục đích nghiên cứu:.....	- 28 -
2.3.2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu: .....	- 28 -
2.3.3. Kết quả nghiên cứu .....	- 33 -
2.4. Thí nghiệm 4. Khảo sát ảnh hưởng của khối lượng giá thể đến kích thước mũ nấm và năng suất của từng giống.....	- 49 -
2.4.1. Mục đích thí nghiệm: .....	- 49 -
2.4.2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu.....	- 50 -
2.4.3. Kết quả thí nghiệm.....	- 51 -
<b>CHƯƠNG 3. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ .....</b>	<b>- 57 -</b>
3.1. KẾT LUẬN .....	- 57 -
3.2. ĐỀ NGHỊ .....	- 57 -
<b>TÀI LIỆU THAM KHẢO.....</b>	<b>- 58 -</b>
Tiếng Việt.....	- 58 -
Tiếng Anh.....	- 59 -
Trang web.....	- 61 -

## DANH SÁCH BẢNG

Bảng 1. Lục bảo Linh chi và tác dụng trị liệu (Lý Thời Trân, 1578) .....	- 4 -
Bảng 2. Nồng độ một số dạng muối khoáng sử dụng trong trồng nấm .....	- 7 -
Bảng 3. Các thông số cần thiết đối với sự phát triển của <i>Ganoderma</i> .....	- 14 -
Bảng 4. Tốc độ lan tơ, thời gian tơ nấm lan đầy đĩa và màu sắc, mật độ của tơ nấm linh chi Nhật trên các môi trường nhân giống cấp 1.....	- 19 -
Bảng 5. Tốc độ lan tơ, thời gian tơ nấm lan đầy đĩa và màu sắc, mật độ của tơ nấm linh chi Hàn trên các môi trường nhân giống cấp 1.....	- 21 -
Bảng 6. Tốc độ lan tơ, màu sắc tơ nấm của giống nấm linh chi Nhật trên các môi trường nhân giống cấp 2 .....	- 25 -
Bảng 7. Tốc độ lan tơ của giống nấm linh chi Hàn trên các môi trường nhân giống cấp 2.....	- 26 -
Bảng 8. Các loại môi trường giá thể nghiên cứu nuôi trồng 2 giống nấm linh chi.....	- 28 -
Bảng 9. Ảnh hưởng của môi trường giá thể và giống nấm linh chi lên tốc độ lan tơ (cm/ngày) .....	- 34 -
Bảng 10. Tốc độ lan tơ và thời gian tơ nấm lan đầy bịch phôi của giống nấm linh chi Nhật trên các môi trường giá thể.....	- 36 -
Bảng 11. Tốc độ lan tơ của giống nấm linh chi Hàn trên các môi trường giá thể khác nhau.....	- 37 -
Bảng 12. Thời gian mầm nấm xuất hiện mầm nấm và thời gian thu hoạch đối với 2 giống nấm linh chi đỏ nghiên cứu.....	- 40 -
Bảng 13. Ảnh hưởng của môi trường giá thể và giống nấm lên năng suất nấm sau 2 đợt thu hoạch (kg/1000 phôi).....	- 43 -
Bảng 14. Tỷ lệ polysaccharide/vật chất khô trong quả thể nấm linh chi Nhật và Hàn ở các môi trường giá thể .....	- 47 -
Bảng 15. Khối lượng giá thể bịch phôi ở các nghiệm thức nghiên cứu.....	- 50 -
Bảng 16. Ảnh hưởng của khối lượng giá thể lên đặc điểm sinh trưởng và năng suất của giống nấm linh chi Nhật.....	- 51 -

Bảng 17. Ảnh hưởng của khối lượng giá thể lên đặc điểm sinh trưởng và năng suất  
của giống nấm linh chi Hàn ..... - 52 -



## DANH SÁCH HÌNH

Hình 1. Chu trình phát triển của nấm Linh chi (Nguyễn Lâm Dũng, 2001).....	- 5 -
Hình 2. Nấm linh chi Nhật trên môi trường thạch-khoai tây-muôi khoáng.....	- 20 -
Hình 3. Nấm linh chi Hàn trên môi trường nhân giống cấp 1A.....	- 22 -
Hình 4. Nấm linh chi Hàn Quốc trên 4 loại môi trường nhân giống cấp 2. ....	- 27 -
Hình 5. Tốc độ lan tơ của hai giống nấm linh chi Nhật và Hàn trên các môi trường nhân giống cấp 2. ....	- 27 -
Hình 6. Sự hình thành mầm nấm ở giống nấm linh chi Nhật .....	- 40 -
Hình 7. Nấm linh chi Nhật ở giai đoạn phát triển.....	- 41 -
Hình 8. Hình thái, màu sắc nấm linh chi Hàn (a, c, e) Nhật Bản (b, d, f) ở giai đoạn mầm nấm, trưởng thành và chuẩn bị thu hoạch.....	- 42 -
Hình 9. Thử nghiệm tính tạo bọt định tính saponin .....	- 46 -
Hình 10. Định tính saponin quả thể nấm linh chi Nhật.....	- 46 -
Hình 11. Hội thảo về nấm linh chi đỏ được tổ chức tại trường Đại học Trà Vinh .....	- 56 -

## DANH MỤC TỪ VIẾT TẮT

CV	Coefficient of variation
DAP	Diammonium phosphate
LSD	Least significant difference
PGA	Potato glucose agar
NSC	Ngày sau cấy
DNA	Deoxynucleotide acid
PP	Polypropylene

# MỞ ĐẦU

## 1. Tính cấp thiết của đề tài

Ngày nay, nhu cầu sử dụng các thảo dược có nguồn gốc từ thiên nhiên để phòng và trị bệnh đã trở nên phổ biến trong xã hội. Một số loài thảo dược được dùng phổ biến như: Đông trùng hạ thảo, nấm linh chi, nhân sâm, sâm Ngọc Linh,... Trong đó, nấm linh chi mà đặc biệt là Linh chi đỏ là đối tượng được nghiên cứu trồng và sử dụng ở nhiều quốc gia trên thế giới mà đặc biệt là ở các nước Châu Á như: Trung Quốc, Nhật Bản, Hàn Quốc, Việt Nam,... vì đây là loại dược liệu quý có nhiều tác dụng phòng trị bệnh và thích nghi được với nhiều điều kiện khí hậu khác nhau.

Nhiều kết quả nghiên cứu đã cho thấy rằng trong các thành phần của nấm linh chi (tơ nấm, quả thể, bào tử) có chứa các nhóm chất có hoạt tính sinh học như: Triterpenoid, polysaccharide, nucleotide, sterol, alkaloid, steroid,...(Mckenna et al. (2002); Mizuno, T. (1995); Eo et al. (1999); và Smith et al. (2002)). Các nhóm chất này có tác dụng tăng cường hệ thống miễn dịch, kháng khuẩn, kháng virus (bao gồm virus HIV), chống lão hóa, chống oxy hóa, chống sự phát triển khối u,...(Wasser et al. (1997); Chang et al. (1999); Jong et al. (1992); Hobbs (1995); Mckenna et al. (2002); Wasser (2002); Smith et al. (2002)). Trung Quốc là cái nôi của việc trồng và sử dụng nấm linh chi với sản lượng năm 2003 khoảng 50.000 tấn. Hiện nay nấm linh chi đã được trồng với quy mô công nghiệp tại Nhật Bản, Hàn Quốc, Thái Lan và Đài Loan. Tại Việt Nam nhu cầu sử dụng nấm linh chi để chữa bệnh ở trong nước cũng như nhu cầu xuất khẩu ngày càng tăng. Theo định hướng phát triển đến năm 2020 thì nấm ăn và nấm dược liệu được đưa vào danh mục sản phẩm quốc gia được ưu tiên đầu tư phát triển theo quyết định số 439 được Thủ tướng Chính phủ ký ban hành ngày 16/4/2012. Tuy nhiên, quy mô sản xuất và sản lượng nấm ăn và nấm dược liệu nước ta hiện nay còn quá nhỏ, chưa đáp ứng được nhu cầu của thị trường trong và ngoài nước.

Linh chi là một loài nấm tương đối dễ trồng, chủ yếu là trên các nguyên liệu giàu cellulose. Ở nước ta, nấm linh chi được trồng chủ yếu là trên nhiều loại cơ chất

là phụ phẩm từ ngành nông nghiệp như: mùn cưa gỗ cây cao su, mùn cưa các loại gỗ mềm không chứa tinh dầu, bã mía. Hiện nay, tại Trà Vinh đã có một vài hộ trồng nấm linh chi tuy nhiên do nguồn giống chưa được kiểm định và được trồng trên các loại mùn cưa gỗ tạp nên năng suất thấp, không ổn định, sản phẩm chưa được kiểm tra chất lượng. Do đó, việc trồng giống nấm linh chi có nguồn gốc rõ ràng và nghiên cứu tìm ra môi trường cơ chất thích hợp để trồng các giống này mang lại năng suất cao, ổn định sản phẩm chất lượng là vấn đề cấp thiết. Xuất phát từ nhu cầu đó đề tài “*Ảnh hưởng của thành phần cơ chất đến khả năng sinh trưởng và năng suất của hai giống Linh chi đỏ (Ganoderma lucidum) có nguồn gốc từ Nhật Bản và Hàn Quốc trồng tại Trà Vinh*” được thực hiện.

## **2. Mục tiêu của đề tài**

- Xác định môi trường thích hợp để nhân giống cấp 1 và cấp 2 (giống meo) đối với 02 giống nấm linh chi đỏ (*Ganoderma lucidum*) có nguồn gốc từ Nhật Bản và Hàn Quốc.

- Xác định thành phần giá thể trồng cho năng suất nấm cao cao, sản phẩm chứa các chất có hoạt tính sinh học trong 2 giống nấm được nghiên cứu.

## **3. Nội dung triển khai nghiên cứu**

- Nghiên cứu môi trường nhân giống cấp 1 đối với từng giống nấm linh chi.
- Nghiên cứu môi trường nhân giống cấp 2 (giống meo).
- Trồng và đánh giá năng suất 02 giống nấm linh chi trên các môi trường giá thể có thành phần khác nhau.
- Khảo sát ảnh hưởng của khối lượng giá thể lên năng suất và kích thước quả thể từng giống nấm Linh chi.
- Định tính hợp chất saponin, triterpenoid và xác định hàm lượng polysaccharide trong 02 giống nấm linh chi trồng khảo nghiệm.

## **4. Phương pháp nghiên cứu**

### **4.1. Nguyên vật liệu:**

Hai giống nấm linh chi đỏ (*Ganoderma lucidum*): giống có nguồn gốc từ Nhật Bản (gọi tắt là nấm linh chi Nhật) được nhận từ Tiến sĩ Bùi Thị Minh Diệu, Viện Nghiên cứu và Phát triển Công nghệ Sinh học, Trường Đại học Cần Thơ; Giống nấm linh chi đỏ có nguồn gốc từ Hàn Quốc (gọi tắt là nấm linh chi Hàn) nhận từ Thạc sĩ Lê Phạm Thị Tường Anh, Công ty cổ phần Dược phẩm Hậu Giang. Mạt cưa gỗ cây cao su mua từ tỉnh Đồng Nai, bã mía mua từ nhà máy mía đường Trà Vinh.

#### **4.2. Dụng cụ:**

Sử dụng số dụng cụ và thiết bị chuyên dùng trong nuôi cấy nấm sẵn có tại phòng thí nghiệm vi sinh, Khoa Nông nghiệp - Thủy sản như: đĩa petri, cân điện tử, máy đo pH để bàn, máy đo pH cầm tay, nồi autoclave, tủ cấy vô trùng, ...

#### **4.3. Hoá chất, môi trường:**

Cồn 96<sup>0</sup>, glucose, agar, đường succrose, diamonium phosphate (DAP), cám gạo, cám bắp, giá đậu xanh,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , vitamin B1, ...

#### **4.4. Phương pháp nghiên cứu:**

Giống nấm sau khi được nhận về dưới dạng khuẩn lạc trong ống nghiệm được nhân giống trên môi trường PGA làm nguồn giống tiến hành các thí nghiệm trong đề tài.

### **5. Phương pháp phân tích số liệu**

Các số liệu được xử lý bằng phần mềm Excel và được phân tích thống kê bằng phần mềm Stagraphic Centurion XVI.

# CHƯƠNG 1. LƯỢC KHẢO TÀI LIỆU

## 1.1. Khái quát chung về nấm linh chi

### 1.1.1. Khái quát chung

Nấm linh chi là một loại thảo dược đã được sử dụng hơn 4000 năm qua tại các quốc gia châu Á như Trung Quốc, Nhật Bản, Hàn Quốc, Thái Lan,... Tại các quốc gia này, việc nghiên cứu phát triển và sử dụng linh chi đang được công nghiệp hóa với quy mô lớn về phân loại, nuôi trồng, chế biến và bào chế dược phẩm. Đồng thời nghiên cứu hóa dược các hoạt chất có tác dụng dược lý và phương pháp điều trị lâm sàng. Tại Việt Nam, Hải Thượng Lãn Ông Lê Hữu Trác đã nói về Linh chi từ lâu và Lê Quý Đôn đã chỉ rõ đó là “ nguồn sản vật quý hiếm của đất rừng Đại Nam”

Tài liệu cổ nhất về nấm Linh chi cũng như khả năng trị liệu của nó là quyển “*Bản Thảo Cương Mục*” được hoàn thành vào năm 1578 do danh y- nhà dược học nổi tiếng Trung Quốc Lý Thời Trân thời nhà Minh biên soạn. Theo Lý Thời Trân, linh chi được chia thành 6 loại chính gọi là Lục bảo linh chi. Nấm Linh chi (*Ganoderma lucidum*) có nhiều tên gọi khác nhau như Bất lão thảo, Vạn niên thảo, Thần tiên thảo, Chi linh, Đoạn thảo, Nấm lim,... Mỗi tên gọi của Linh chi gắn liền với một giá trị dược liệu của nó. Tên gọi Linh chi bắt nguồn từ Trung Quốc, tiếng Nhật gọi là *Reishi* hoặc *Mannentake*.

**Bảng 1. Lục bảo Linh chi và tác dụng trị liệu**

Tên gọi	Màu sắc	Đặc tính dược lý
Thanh chi	Xanh	Vị chua, tính bình, không độc chủ trị sáng mắt, bổ gan khí an thần, tăng trí nhớ.
Hồng chi	Đỏ	Vị đắng, tính bình, không độc, tăng trí nhớ, dưỡng tim, bổ trung, chữa trị tức ngực.
Hoàng chi	Vàng	Vị ngọt, tính bình, không độc, an thần ích tì khí.
Bạch chi	Trắng	Vị cay, tính bình, không độc, ích phổi, thông mũi, an thần, chữa ho nghẹt.
Hắc chi	Đen	Vị mặn, tính bình, không độc, trị chứng bí tiểu
Tử chi	Tím	Vị ngọt, tính ôn, không độc, trị đau nhức khớp xương, gân cốt.

Trong số các loài linh chi tìm thấy cho đến nay thì linh chi đỏ (*Ganoderma lucidum*) được nghiên cứu chi tiết nhất. Loài chuẩn *Ganoderma lucidum* có thành phần hoạt chất sinh học phong phú và hàm lượng các chất này nhiều nhất trong 6 loại linh chi (Lê Xuân Thám, 2005).

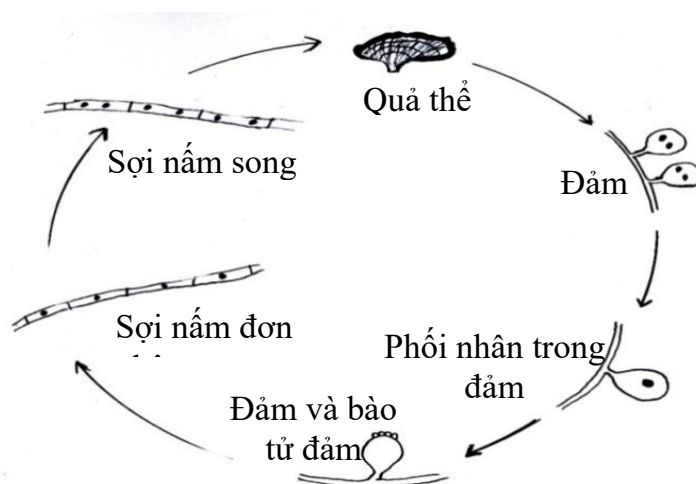
### 1.1.2. Đặc điểm hình thái và chu trình sống của nấm linh chi

#### a. Đặc điểm hình thái

Nấm linh chi nói chung và trong đó linh chi đỏ nói riêng, tai nấm gồm 2 phần: cuống nấm và mũ nấm. Cuống nấm dài hoặc ngắn, đỉnh bên có hình trụ đường kính 0,5 - 3 cm. Cuống nấm ít phân nhánh, đôi khi có uốn khúc cong queo. Lớp vỏ cuống màu đỏ, nâu đỏ, nâu đen, bóng, không có lông.

Mũ nấm khi non có hình trứng, lớn dần có hình quạt. Trên mặt mũ có vân gạch đồng tâm màu vàng nhẵn bóng như láng vecni. Mũ nấm có đường kính 2 – 15 cm, dày 0,8 - 1,2 cm, phần đỉnh cuống thường gồ lên hoặc hơi lõm. Khi nấm đến tuổi trưởng thành thì phát tán bào tử từ phiến.

#### b. Chu trình sống



**Hình 1. Chu trình phát triển của nấm Linh chi (Nguyễn Lâm Dũng, 2001)**

### 1.1.3. Nhu cầu dinh dưỡng cho sự phát triển tơ nấm

- Cacbon: Nguồn cacbon được cung cấp từ môi trường để tổng hợp nên các chất như: hydratcacbon, amino acid, acid nucleic, lipid... cần thiết cho sự phát triển

của nấm. Trong sinh khối nấm, cacbon chiếm nửa trọng lượng khô, đồng thời nguồn cacbon cung cấp năng lượng cho quá trình trao đổi chất. Đối với các loài nấm khác nhau thì nhu cầu cacbon cũng khác nhau, nhưng hầu hết chúng dùng nguồn đường đơn giản là glucose, với nồng độ khoảng 2 %.

Trong tự nhiên, cacbon được cung cấp chủ yếu từ cellulose, hemicellulose, lignin, pectin. Các chất này có kích thước lớn hơn kích thước của thành và màng nguyên sinh chất. Muốn tiêu hóa được cơ chất này, nấm tiết ra enzyme ngoại bào phân hủy cơ chất thành các chất có kích thước nhỏ hơn, đủ để có thể xâm nhập được vào trong thành và màng tế bào.

- Đạm (N): Đạm là thành phần dinh dưỡng cần thiết cho tất cả các môi trường nuôi cấy, đạm có tác dụng kích thích sự phát triển hệ sợi nấm. Hệ sợi nấm sử dụng nguồn đạm để tổng hợp các chất hữu cơ như: purin, pyrimidin, protein, tổng hợp chitin cho vách tế bào. Nguồn đạm sử dụng trong các môi trường ở dạng muối: muối nitrat, muối amon. Trong tế bào, ion  $\text{NH}_4^+$  thường gắn với cetoglutamic và những amin khác được hình thành từ những phản ứng chuyển hóa amin. Sự hiện diện của  $\text{NH}_4^+$  trong môi trường ảnh hưởng đến tỷ số C/N, chúng đánh giá mức độ hoạt động của vi sinh vật.

- Khoáng: Cần cho sự phát triển và tăng trưởng của nấm

+ Sufur: Được cung cấp vào môi trường từ nguồn sulfat và cần thiết để tổng hợp một số loại acid amin.

+ Phosphat: Tham gia tổng hợp ATP, acid nucleic, phospholipid màng. Nguồn cung cấp phospho thường là từ muối phosphat.

+ Kali: Đóng vai trò làm đồng yếu tố (cofactor), cung cấp cho các loại enzym hoạt động. Đồng thời đóng vai trò cân bằng khuynh độ (gradient) bên trong và ngoài tế bào.

+ Magnesium: Cần thiết cho sự hoạt động một số loại enzym, nguồn magnesium được cung cấp từ sulfat magnesium.

+ Vitamin: Những phân tử hữu cơ này được dùng với lượng rất ít, chúng không phải là nguồn cung cấp năng lượng cho tế bào. Vitamin cần thiết và giữ chức



năng đặc biệt trong hoạt động của enzym. Hầu hết nấm hấp thụ nguồn vitamin từ bên ngoài và chỉ cần một lượng rất ít nhưng không thể thiếu. Hai nguồn vitamin cần thiết cho nấm là biotin (vitamin H) và thiamin (vitamin B1).

**Bảng 2. Nồng độ một số dạng muối khoáng sử dụng trong trồng nấm**

Tên muối	Nồng độ cần thiết (‰)
Phosphat kali monobasic	1 – 2
Phosphat kali dibasic	1 – 2
Sulfat Magne	0,2 – 0,5
Sulfat Mangan	0,02 – 0,1
Sulfat Calxi	0,001 – 0,05
Clorua kali	2 – 3
Peroxi phosphat	2 – 3

(Nguồn: Lê Duy Thắng, 2001)

#### **1.1.4. Ảnh hưởng của các yếu tố vật lý lên sự sinh trưởng tơ nấm**

Các yếu tố vật lý tác động lên sợi nấm khác với tác động lên sự hình thành quả thể nấm. Tác nhân vật lý ảnh hưởng trực tiếp lên sợi nấm với mức độ khác nhau: mức độ tác động thấp nhất, mức độ tác động tối ưu, mức độ tác động lớn nhất. Những yếu tố tác động trực tiếp lên sự sinh trưởng sợi nấm là nhiệt độ, ánh sáng, độ ẩm và độ thông khí.

**Nhiệt độ:** Ảnh hưởng trực tiếp đến các phản ứng sinh hóa bên trong tế bào, kích thích hoạt động các chất sinh trưởng, các enzym và chi phối toàn bộ các hoạt động sống của nấm. Mỗi loài nấm có nhu cầu nhiệt độ cho sinh trưởng và phát triển khác nhau. Nhiệt độ nuôi ủ hệ sợi bao giờ cũng cao hơn so với khi nấm ra quả thể vài độ. Nhiệt độ cao hoặc thấp hơn nhiệt độ thích hợp sẽ làm cho hệ sợi nấm sinh trưởng chậm lại hoặc chết hẳn. Mặt khác, nhiệt độ thay đổi quá lớn làm nấm linh chi khó phát triển thành tán mà ở dạng sừng hươu, đuôi gà (Trịnh Tam Kiệt, 1983).

**Ánh sáng:** Không cần cho quá trình sinh trưởng của nấm. Cường độ ánh sáng mạnh kiềm chế sự sinh trưởng của sợi nấm, có trường hợp giết chết sợi nấm.

Ánh sáng có thể phá vỡ một số vitamin và enzym cần thiết, ảnh hưởng đến sự sinh trưởng bình thường của sợi nấm. Phòng ủ nấm không nên quá tối vì sẽ gây trở ngại cho việc phát hiện bệnh đối với nấm, nhất là tạo điều kiện thuận lợi cho nấm mốc, côn trùng phát triển. Trong giai đoạn nuôi hệ sợi tạo quả thể, ánh sáng có tác dụng kích thích hệ sợi nấm kết hạch (nụ nấm).

**Độ ẩm:** Hầu hết các loài nấm cần độ ẩm cao. Một số loài thuộc nấm đảm cần độ ẩm thích hợp cho sự sinh trưởng tối ưu của sợi nấm (80 – 90%). Nhưng hầu hết các loài nấm cần độ ẩm để sinh trưởng hệ sợi là 50 – 60% (Flegg, 1962).

**Độ thông khí:** Hàm lượng O<sub>2</sub> và CO<sub>2</sub> ảnh hưởng trực tiếp đến sự sinh trưởng của sợi nấm. Oxy cần thiết cho quá trình hô hấp của hệ sợi nấm. Nồng độ CO<sub>2</sub> tăng cao trong không khí sẽ ức chế quá trình hình thành quả thể nấm.

**Ảnh hưởng của pH:** Hầu hết các nhóm nấm mọc trên thực vật hay ký sinh thì thích hợp đối với môi trường pH thấp. Các loài nấm mọc trên mùn bã hay trên đất thì thích hợp với môi trường pH trung tính hay môi trường kiềm (Nguyễn Hữu Đống, 2003; Lê Duy Thắng, 2006).

#### ***1.1.5. Bệnh trên nấm Linh chi***

- Bệnh sinh lý

Theo Lê Duy Thắng (2006) tơ nấm dễ bị tác động bởi các yếu tố ngoại cảnh. Điều kiện không thích hợp, tơ nấm mọc chậm, thưa, rối lại như bông hoặc thành nhiều lớp. Thường tơ nấm yếu dẫn đến sức đề kháng giảm, dễ nhiễm bệnh và chết.

Đối với quả thể, tai nấm trong điều kiện không thuận lợi có những biểu hiện bất thường và có thể chết non.

Dinh dưỡng kém, nhiều tạp chất, tơ nấm không bám được vào cơ chất, co cụm lại, mọc thưa hoặc lão hóa sớm. Quả thể khó tạo thành hoặc nếu có thì nhỏ thưa, tai nấm bị dị dạng.

- Bệnh nhiễm

Yếu tố gây bệnh rất đa dạng, chủ yếu là các nhóm vi sinh vật như: vi khuẩn, nấm mốc, nấm nhầy, nấm đại. Các tác nhân này ảnh hưởng gián tiếp lên sự sinh trưởng và phát triển của nấm, bằng cách cạnh tranh nguồn thức ăn và thay đổi pH

của môi trường làm cho tơ nấm chậm phát triển, ngừng lại, thậm chí là chết tơ. Ngoài ra, côn trùng cũng tham gia gây bệnh. Chúng tấn công trực tiếp lên tơ hoặc quả thể nấm, đồng thời làm lây nhiễm các mầm bệnh khác (Lê Duy Thắng, 2006).

## **1.2. Nguyên liệu nuôi trồng nấm Linh chi**

Linh chi là loài nấm phá gỗ mạnh, có khả năng sử dụng trực tiếp nguồn cellulose. Do đó, nguyên liệu nào có cellulose thì nấm Linh chi có thể sống và phát triển.

Tại Đài Loan, Linh chi được trồng trên gỗ họ Long não để điều trị ung thư, khối u. Nhiều nơi khác đã dùng mùn cưa tươi, mùn cưa khô của các loại gỗ mềm, không có tinh dầu và độc tố. Ngoài ra có thể trồng Linh chi trên rom, rạ, bã mía,... Việt Nam nằm trong vùng khí hậu nhiệt đới gió mùa, giàu phế liệu cellulose đặc biệt là mùn cưa cây cao su, tạo điều kiện cho nghề trồng nấm phát triển mạnh (Lê Xuân Thám, 1996)

### **- Mạt cưa**

Phổ biến hiện nay người ta thường sử dụng mạt cưa cao su. Thành phần hoá học của mạt cưa cao su

Cellulose	: 40 - 53 %
Hemicellulose	: 27 - 40 %
Lignin	: 16 - 30 %
Tỷ lệ C/N	: 56,53

Người ta thường bổ sung dinh dưỡng để đạt năng suất cao. Có thể bổ sung: cám bắp, cám gạo, bột đậu nành, Urê, DAP, MgSO<sub>4</sub>, CaCO<sub>3</sub> ... (Võ Thị Kim Yến, 2005).

### **- Bã mía**

Trong mía chứa 70% là nước, đường chủ yếu nằm ở tủy cây. Thành phần hoá học của bã mía:

Cellulose	: 40 - 50 %
Pentozan	: 20 - 25 %
Lignin	: 18 - 23 %

Tro	: 2 – 3 %
Tỷ lệ C/N	: 60,7

Trong thành phần của bã mía còn một ít đường (1 – 2 %). Đây là nguồn dinh dưỡng tốt cho nấm phát triển. Tuy nhiên nếu ta xử lý không tốt thì nguy cơ nhiễm tạp là rất lớn (Võ Thị Kim Yến, 2005).

#### **- Cám gạo**

Cám gạo là phụ phẩm của quá trình xay xát gạo. Thông thường xay xát (hay giã thủ công) thì cứ 100 kg gạo sẽ có 6 kg cám. Tỷ lệ các chất dinh dưỡng trong cám tính theo trọng lượng khô (Nguyễn Lâm Dũng, 2001):

Protein	: 10,88 %
Lipid	: 11,70 %
Cellulose thô	: 11,50 %
Chất khoáng	: 10,50 %
Hydratcarbon	: 45 %

#### **- Cám bắp**

Theo Nguyễn Lâm Dũng (2001), cám bắp mịn thường có chứa

Nước	: 12,20 %
Chất hữu cơ	: 87,78 %
Protein	: 9,60 %
Lipid	: 5,60 %
Cellulose thô	: 3,90 %
Hydratcarbon	: 69,60 %
Chất khoáng	: 1,00 %

Các loại bột cám ngũ cốc, bột bánh dầu được xem là nguồn dinh dưỡng cơ bản cho nấm, hàm lượng bổ sung của chúng khá cao, từ 15 – 20% so với tổng lượng cơ chất (Lê Xuân Thám, 1996). Đây là nguồn cung cấp vitamine và đạm hữu cơ quan trọng cho nấm Linh chi – loại nấm đòi hỏi tỷ lệ C/N nhỏ, nhất là trong những giai đoạn đầu của quá trình sinh trưởng.

#### **- Dịch giá**

Giá đậu xanh giàu vitamin đặc biệt là vitamin C, khoáng chất, amino acid, protein và các chất có nguồn gốc thực vật (*phytochemicals*), những chất cần để nấm nấm phát triển.

#### **- Khoai Tây**

Trong 100 g khoai tây có: hydratcarbon 19 g (trong đó có 15 g tinh bột, 2,2 g chất xơ), 0,1 g chất béo, 3 g protein và 79 g nước. Bên cạnh đó, khoai tây còn chứa các vitamin (bao gồm vitamin B1: 0,08 mg (8 %), vitamin B2: 0,03 mg (2 %), vitamin B3: 1,1 mg (7 %), vitamin B6 (19 %), vitamin C: 20 mg (33 %) cùng với những khoáng chất như canxi 12 mg, sắt 1,8 mg, magiê 23 mg, photpho 57 mg, kali 421 mg, natri 6 mg.

#### **- Phân DAP**

DAP có tên là diammonium phosphate là loại phân hoá học phức hợp chứa hàm lượng dinh dưỡng cao. Thành phần DAP gồm có 18 % đạm (N) và 46 % lân ( $P_2O_5$ ), DAP được sản xuất ở dạng hạt cỡ từ 2 đến 4 mm, dễ hoà tan trong nước, phát huy hiệu quả nhanh, không có tạp chất khác gây ảnh hưởng đến sự sinh trưởng của nấm. Việc sử dụng phân bón hóa học làm tăng lượng đạm đáng kể nhờ sử dụng các amon có chứa nitơ. Khi nitơ được nấm biến dưỡng thì thành phần còn lại của hợp chất bị biến đổi và làm thay đổi pH của cơ chất (Nguyễn Hữu Đống, 2003). Mặt khác, chất khoáng phospho là nguyên tố đa lượng giúp cho tơ mọc với mật độ dày cần cho sự phát triển và tăng trưởng của nấm.

### **1.3. Tình hình nghiên cứu nuôi trồng nấm linh chi trong và ngoài nước**

Do biết được tác dụng chữa bệnh ưu việt của nấm linh chi nên việc khai thác quá mức đã làm cho nguồn linh chi ngoài tự nhiên ngày càng cạn kiệt. Vì vậy, đã có rất nhiều công trình nghiên cứu trồng và khảo sát các hoạt chất có tiềm năng dược liệu trên các giống nấm linh chi được thu hái từ tự nhiên.

Theo kết quả phân loại, trên thế giới hiện nay có hơn 250 loài nấm linh chi đã được mô tả. Tuy nhiên Linh chi đỏ (*Ganoderma lucidum*) được nghiên cứu và sử dụng nhiều nhất trong trị liệu (Moncalvo và Ryvardeen, 1997; Wasser và Weis, 1997; Lê Xuân Thám, 2005).

Theo Nguyễn Lâm Dũng (2001), một số môi trường có thể sử dụng để phân lập và nhân giống (giống cấp 1) nấm linh chi như:

- Môi trường thạch – đường - khoai tây (PDA): Khoai tây 200 g, glucoza 20 g, 20 g thạch và bổ sung nước vừa đủ 1000 ml.

- Môi trường thạch – khoai tây – muối khoáng: Khoai tây 200 g, glucoza 20 g, 20 g thạch,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  3 g,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  1,5 g, 2 – 4 viên vitamin B1 (10 – 20 mg) và bổ sung nước vừa đủ 1000 ml.

- Môi trường rơm rạ: Rơm rạ 200 g, đường kính 20 g,  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  3 g, thạch 20 g và bổ sung nước vừa đủ 1000 ml; pH tự nhiên không cần điều chỉnh.

- Môi trường thạch – bột ngô – pepton: bột ngô 20 g, glucoza 20 g,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  1 g,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0,5 g, pepton 1 g, thạch 20 g và bổ sung nước vừa đủ 1000 ml; pH tự nhiên không cần điều chỉnh.

- Môi trường thạch – glucoza – pepton (DPA): Glucoza 20 g, pepton 20 g, thạch 20 g và bổ sung nước vừa đủ 1000 ml.

- Môi trường Martin: Glucoza 10 g, pepton 5 g,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  1 g,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0,5 g, thạch 20 g và bổ sung nước vừa đủ 1000 ml.

- Môi trường Hansen: Glucoza 50 g, pepton 10 g,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  3 g,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  2,5 g, cao nấm men 1 g, thạch 20 g và bổ sung nước vừa đủ 1000 ml.

- Môi trường Czapek – Dox: Đường kính 30 g,  $\text{NaNO}_3$  3 g,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  1 g,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0,5 g, KCl 0,5 g,  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0,01 g, thạch 20 g và bổ sung nước vừa đủ 1000 ml.

- Môi trường Sabouraud: Glucoza 40 g, pepton 20 g, thạch 20 g và bổ sung nước vừa đủ 1000 ml.

- Môi trường giá đậu xanh: Giá đậu xanh 200 g, glucoza 20 g, 20 g thạch và bổ sung nước vừa đủ 1000 ml.

Tuy nhiên, đối với mỗi loài nấm và chủng nấm khác nhau thì thích hợp với một loại môi trường khác nhau.

Kết quả nghiên cứu “Xây dựng qui trình sản xuất sinh khối sợi nấm *Ganoderma lucidum*” của Nguyễn Vũ Duy Khanh (2009) cho thấy môi trường nhân

giống cấp 2 thích hợp cho *Ganoderma lucidum* là nguyên liệu thóc phối trộn với cám bắp.

Theo Trung tâm Ứng dụng Tiến bộ Khoa học và Công nghệ tỉnh Vĩnh Phúc, nguyên liệu trồng nấm linh chi có thể là mùn cưa các loại gỗ (không có tinh dầu và độc tố) hoặc bã mía. Mùn cưa và bã mía được xử lý bằng nước vôi sau đó được phối trộn để trồng với thành phần như sau: mùn cưa đũa 83,5%, bột nhẹ CaCO<sub>3</sub> 1,3%, cám gạo 5% và cám ngô 5% (<http://www.vinhphucdost.gov.vn>).

- Một nghiên cứu thuộc đề tài cấp Bộ của Tiến sĩ Cao Đăng Nguyên cho thấy nấm linh chi được trồng trên mùn cưa cao su và keo tai tượng đều chứa các thành phần dược liệu và đặc biệt là thành phần của các hợp chất polysaccharide - một thành phần có tính dược liệu trong nấm linh chi nuôi trồng khá cân bằng so với linh chi ngoài tự nhiên.

- Kết quả nghiên cứu nuôi trồng nấm linh chi trên cơ chất bã mía của Trung tâm Công nghệ Sinh học Thực Vật - Viện Di truyền Nông nghiệp Việt Nam cho năng suất cao hơn 10 - 14% so với trồng trên mùn cưa cao su. Trong khi đó bã mía lại là nguồn phế thải của các nhà máy mía đường nên đây là nguồn vật liệu rẻ tiền hầu như cho không. Việc trồng nấm linh chi trên mùn cưa cao su, công thức phối trộn nguyên liệu như sau: mùn cưa sau khi xử lý + 5-7% bột bắp, cám gạo 3 - 5% , CaCO<sub>3</sub> 1 - 1,5%. (<http://www.namlinhchihq.com>).

- Nghiên cứu gần đây của Viện Nghiên cứu và Phát triển Công nghệ Sinh học, Trường Đại học Cần Thơ cho thấy nấm linh chi được trồng trên cơ chất bã mía: mùn cưa gỗ cao su (80%:20%) bổ sung 5% cám gạo và 5% cám bắp cho năng suất nấm cao nhất và trong thành phần nấm vẫn chứa các chất có hoạt tính sinh học (<http://canthotv.vn>).

- Hiện nay, khuynh hướng của các nhà trồng nấm linh chi là bổ sung các nguồn đạm vô cơ vào cơ chất vì các nguồn đạm này có hàm lượng đạm cao (Nguyễn Lâm Dũng, 2001). Ngoài ra, người ta còn trộn cám gạo hoặc cám bắp chứa 1,18% nitơ vào giá thể trồng nấm (Trần Văn Mão, 2004). Tuy nhiên, cần phải lưu ý rằng nấm Linh chi không tạo quả thể khi trộn  $\geq 40\%$  cám gạo vào cơ chất.

- Nghiên cứu của Lý Thị Bé Nghi (2013) về “Khảo sát ảnh hưởng của môi trường nhân giống và giá thể đến năng suất nấm Hoàng chi (*Ganoderma colossum*)” cho thấy trồng giống nấm hoàng chi trên giá thể: mùn cưa cao su phối trộn bã mía (tỷ lệ 1:1) kết hợp bổ sung 0,4% DAP thì tơ nấm lan nhanh nhất, mật độ hệ sợi nấm dày và năng suất cao nhất. Và quan trọng là nấm Linh chi trồng trên giá thể này vẫn chứa các chất có tác dụng dược lý.

- Những nghiên cứu qui mô phòng thí nghiệm của Chen và Miles (1966) và Chen (1999) cho thấy thành phần giá thể phù hợp để trồng nấm linh chi (*Ganoderma lucidum*) là: Mùn cưa 80%, cám mì 18%, Succrose 1%, CaCO<sub>3</sub> 1% và nước được bổ sung để đạt độ ẩm 67%. Thành phần giá thể này được sử dụng trồng nấm linh chi thành công khi khối lượng giá thể trong các túi chứa nguyên liệu trồng được nhân lên gấp đôi bởi các nông dân ở Canada và nhiều tác giả khác như: Cha (1991), Chang (1983), Stamets (1993), Hseu (1993), Tong and Chen (1990)

- Bên cạnh các tác động trực tiếp của thành phần giá thể lên sự sinh trưởng và hình thành quả thể nấm linh chi, các nghiên cứu của Chen (1999) và Stamets (2000) cho thấy một số yếu tố vật lý như: nhiệt độ, ánh sáng, độ ẩm có ảnh hưởng lớn đến sự phát triển của tơ nấm cũng như sự hình thành quả thể (bảng 3).

**Bảng 3. Các thông số cần thiết đối với sự phát triển của *Ganoderma***

Giai đoạn phát triển	Âm độ (%)	Ánh sáng (lux)	Nhiệt độ (°C)
Hệ sợi	60-70%	Nil	25-30 hoặc thấp khoảng 20
Giai đoạn đầu tạo mầm	90-95	100-200	25-30 hoặc thấp khoảng 20
Hình thành cuống nấm	70-80 hoặc cao hơn	150-200	25-30 hoặc thấp khoảng 20
Chuyên hóa mũ nấm	85-95	150-200 (12 giờ)	25-30 hoặc thấp khoảng 20

(Nguồn: Chen (1999) và Stamets (2000))

- Bên cạnh các nghiên cứu thành phần giá thể trồng *Ganoderma lucidum*, các tác giả đi sâu nghiên cứu cấu trúc hóa học, dược tính của các thành phần có tiềm năng dược liệu trong nấm linh chi cũng như khả năng trị liệu của từng chất.



- Các kết quả phân tích của nhiều nghiên cứu cho thấy các thành phần của nấm linh chi (tơ nấm, quả thể, bào tử) chứa một số nhóm chất có hoạt tính sinh học như: triterpenoid, polysaccharide, saponine, nucleotide, sterol, alkaloid, steroid,...(Mckenna et al. (2002); Mizuno, T. (1995); Eo et al. (1999); và Smith et al. (2002)). Trong các thành phần trên thì polysaccharide và triterpenoid là hai thành phần chính trong nấm linh chi với nhiều tác dụng dược lý như tăng cường hệ thống miễn nhiễm, kháng khuẩn, kháng virus (bao gồm virus HIV), chống lão hóa, chống oxy hóa, chống sự phát triển khối u,...(Wasser et al. (1997); Chang et al. (1999); Jong et al. (1992); Hobbs (1995); Mckenna et al. (2002); Wasser (2002); (Smith et al. (2002)).

- Đã có hơn 100 loại polysaccharide đã được phân lập từ quả thể, bào tử, hệ sợi hoặc từ môi trường lỏng nuôi cấy *G. lucidum*. Các polysaccharide như beta-D-glucans, heteropolysaccharide và glycoprotein đã được phân lập và mô tả đặc điểm được xem như là nhân tố chính góp phần vào hoạt tính sinh học của nấm Linh chi. Các nghiên cứu cho thấy những polysaccharide này có khả năng ức chế sự phát triển của khối u rắn Sarcoma 180 ở chuột (Liu et al. (1999); Ooi và Liu (2000); Wang et al. (2002),...). Các nghiên cứu sâu hơn cho thấy beta-D-glucans hoạt động bởi việc gắn vào bề mặt của bạch cầu hoặc các protein huyết thanh dẫn đến hoạt hóa các đại thực bào, tế bào T, tế bào sát thủ tự nhiên (NK) và những tế bào hiệu quả khác (Toth et al. (1983); Mueller et al. (2000)).

- Quả thể nấm linh chi từ lâu đã được sử dụng như tác nhân kháng viêm dùng để chữa trị một số dị ứng. Các nhà khoa học thấy rằng Ganoderid acid C và D (một loại triterpenoid của nấm linh chi) có khả năng ức chế sự giải phóng histamine từ tế bào mast ở chuột. Những triterpenoid khác từ nấm này như cyclo-octasulfua cũng ức chế sự phóng thích histamine từ tế bào mast bởi chúng tương tác với các protein màng dẫn tới sự ức chế sự thu nhận Ca làm tắc nghẽn giải phóng histamine (Zhou và Gao (2002); Liu (1999); Smith et al. (2002)), bên cạnh đó triterpenoid còn có tác dụng hạ đường huyết, ức chế tổng hợp cholesterol, giảm đau, bảo vệ gan và chống khối u (Lê Xuân Thám, 1996).

- Hàng loạt các nghiên cứu của Shufeng Zhou chứng minh rằng polysaccharide và triterpene của nấm Linh chi có khả năng chữa trị bệnh viêm gan mãn tính. Ganopoly ức chế quá trình dịch mã của DNA polymerase của virút gây bệnh HBV, ngăn chặn sự hoạt động của virút. Ngoài ra polysaccharide và triterpene tác động hữu hiệu trong việc điều trị bệnh đái đường loại 2 (type II diabetes mellitus) cho các bệnh nhân.

- Một trong những giá trị dược liệu chính của nấm Linh chi là sự kháng lại sự phát triển của HIV. Những nghiên cứu *in vitro* đã chỉ ra rằng nhiều loại triterpenoid từ *G. lucidum* có tiềm năng ức chế kháng lại HIV. Lucidenic acid O và lucidenic lactone được phân lập từ quả thể *G. lucidum* không chỉ ức chế hoạt tính DNA polymerase - beta mà còn HIV-1 RT (Gao et al. 2003).

## CHƯƠNG 2. NỘI DUNG NGHIÊN CỨU

**2.1. Thí nghiệm 1: Khảo sát sự sinh trưởng của 02 giống nấm linh chi đỏ (*Ganoderma lucidum*) có nguồn gốc từ Nhật Bản và Hàn Quốc trên môi trường nhân giống cấp 1.**

### **2.1.1. Mục đích nghiên cứu:**

Nhằm tìm ra môi trường nhân giống cấp 1 phù hợp cho để ứng dụng nhân giống 2 giống nấm linh chi đỏ nghiên cứu.

### **2.1.2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu**

#### **a. Đối tượng nghiên cứu**

- Giống nấm linh chi đỏ (*Ganoderma lucidum*) có nguồn gốc từ Nhật bản và Hàn Quốc.

- Ba loại môi trường nhân giống cấp 1 tương ứng với 3 nghiệm thức: (1) môi trường PGA, (2) môi trường thạch-khoai tây-muối khoáng và (3) môi trường giá đậu xanh.

#### **b. Phương pháp nghiên cứu**

##### **- Đối với giống nấm Linh chi có nguồn gốc từ Nhật Bản**

Đây là thí nghiệm 1 nhân tố (môi trường nuôi cấy), 3 nghiệm thức, mỗi nghiệm thức được tiến hành trên 5 đĩa petri với 3 lần lặp lại. Tổng số đơn vị thí nghiệm là:  $3 \times 5 \times 3 = 45$

##### **Phương pháp thực hiện:**

- Môi trường PGA: khoai tây: 200g; glucose 20g; agar 20g và bổ sung nước vừa đủ 1000 ml.

- Đối với môi trường thạch – khoai tây – muối khoáng có thành phần: khoai tây 200 g, glucoza 20 g, 20 g agar ,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  3 g,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  1, 5 g, vitamin B1 10 mg) và bổ sung nước vừa đủ 1000 ml.

- Môi trường giá đậu xanh: giá đậu xanh 200 g, glucoza 20 g, 20 g agar và bổ sung nước vừa đủ 1000 ml.

Chuẩn bị môi trường: đối với các môi trường trên có thành phần khoai tây hoặc giá. Để pha được 1 lít môi trường, khoai tây và giá được cân đúng khối lượng nêu trên. Khoai tây được gọt vỏ, thái mỏng; giá được băm nhuyễn. Cho khoai tây (hoặc giá) vào nồi sau đó thêm khoảng 500 ml nước cất vào, đun sôi sau đó chiết lấy phần dịch. Cân các thành phần còn lại (trừ agar) cho vào dịch giá hoặc khoai tây, thêm nước vào cho đủ 1000 ml, khuấy đều, để nguội.

Môi trường được điều chỉnh pH về 6 – 6,5 sau đó cho agar vào và khử trùng ở 121°C, 1 atm trong 20 phút. Sau khử trùng, môi trường được rót vào đĩa petri vô trùng, để nguội, cấy một lượng giống nhất định (mỗi lần cấy lấy 1 miếng thạch 3\*3 mm mang sinh khối tơ nấm đã được nuôi cấy trước 10 ngày trên đĩa petri chứa 3 loại môi trường trên) vào đĩa và ủ ở nhiệt độ phòng ( $30 \pm 2^\circ\text{C}$ ). Chọn ra môi trường mà tơ nấm phát triển nhanh nhất để tiến hành nhân giống, cấy chuyển và giữ giống trong ống nghiệm.

#### **Chỉ tiêu theo dõi:**

- Tốc độ lan tơ nấm (cm/ngày) ở các ngày thứ 2; 4; 6; 8 và 10 bằng cách:
  - + Dùng bút kẻ 4 đường kính vuông góc ở tâm đĩa.
  - + Dùng thước đo tơ nấm lan ra theo 2 đường kính.
  - + Tốc độ lan tơ = chiều dài tơ nấm / số ngày sau cấy.
- Thời gian tơ nấm lan đầy đĩa petri (NSC)

Các kết quả thí nghiệm của các nghiệm thức được xử lý bằng phần mềm thống kê Stagraphic Centurion XVI để chọn nghiệm thức mà nấm sinh trưởng mạnh nhất (có tốc độ lan tơ nhanh nhất) để tiếp tục nhân giống thực hiện thí nghiệm 2.

#### ***- Đối với giống nấm Linh chi đỏ có nguồn gốc từ Hàn Quốc***

Thí nghiệm gồm 03 nghiệm thức được tiến hành tương tự như đối với giống nấm Linh chi Nhật.

#### **2.1.3. Kết quả nghiên cứu:**

Trên môi trường thạch chứa các thành phần dinh dưỡng được bổ sung theo 3 nghiệm thức nêu trên sau một khoảng thời gian nuôi cấy tơ nấm phát triển hình rế với tốc độ tương đối nhanh. Tơ nấm bắt đầu phân nhánh từ điểm cấy ban đầu, từ từ lan đều ra bên ngoài theo các hướng của đĩa thạch.

- Đối với giống nấm linh chi Nhật::

Lúc đầu tơ nấm có màu trắng trong, mật độ tơ thưa, mỏng, càng về sau mật độ tơ càng dày, tơ nấm có màu trắng sáng nổi bật trên môi trường dinh dưỡng ở giai đoạn phát triển mạnh nhất, càng về sau chuyển sang màu trắng đục đến vàng cho đến khi tơ nấm già và ngừng sinh trưởng.

**Bảng 4. Tốc độ lan tơ, thời gian tơ nấm lan đầy đĩa và màu sắc, mật độ của tơ nấm linh chi Nhật trên các môi trường nhân giống cấp 1.**

Môi trường	Tốc độ lan tơ (cm/ngày)					Tốc độ lan tơ trung bình (cm/ngày)	Thời gian tơ nấm lan đầy đĩa (NSC)	Màu sắc, mật độ sợi nấm
	2 NSC	4 NSC	6 NSC	8 NSC	10 NSC			
PGA	0,39	0,59	0,71	0,68	0,64	0,60c	14,0b	Trắng sáng, dày
Môi trường thạch - khoai tây - muối khoáng	0,36	0,89	0,88	0,92	0,96	0,80a	11,1a	Trắng sáng, dày
Môi trường giá đậu xanh	0,38	0,69	0,71	0,74	0,82	0,67b	13,2b	Trắng sáng, dày
	<b>F</b>					<b>**</b>	<b>**</b>	
	<b>CV%</b>					<b>13,03</b>	<b>10,48</b>	

*Ghi chú: các số trung bình trong cùng một cột có ít nhất một chữ cái theo sau giống nhau thì khác biệt không ý nghĩa thống kê qua phép thử LSD. (\*\*) khác biệt ở mức ý nghĩa 1%.*

Qua kết quả thí nghiệm được trình bày ở bảng 4 cho thấy, đối với giống nấm linh chi Nhật, tốc độ lan tơ giữa các môi trường nhân giống cấp 1 không giống nhau và khác biệt ý nghĩa về mặt thống kê ở mức 1% qua kiểm định LSD. Thời điểm 2 ngày sau khi cấy giống (NSC) do nấm mới thích nghi với môi trường nên ở 3 loại môi trường tơ nấm tăng trưởng rất chậm (< 0,4 cm/ngày), tơ nấm phát triển nhanh

với tốc độ lan tơ tăng từ ngày thứ 4 và đến ngày thứ 10. Sau 10 ngày nuôi cấy, tốc độ lan tơ trung bình ở môi trường thạch - khoai tây - muối khoáng là cao nhất (0,80 cm/ngày), kế đó là trên môi trường giá đậu xanh (0,67 cm/ngày) và thấp nhất (0,6 cm/ngày) trên môi trường PGA. Do có tốc độ lan tơ nhanh nhất nên chỉ sau 11,1 ngày, môi trường thạch khoai tây - muối khoáng tơ nấm lan đầy đĩa petri. Thời gian này là ngắn nhất và khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức 1% so với thời gian tơ nấm lan đầy đĩa trên 2 môi trường nhân giống còn lại. Mặc dù hai môi trường giá đậu xanh và PGA có tốc độ lan tơ khác biệt nhau nhưng thời gian tơ nấm lan đầy đĩa lại không có khác biệt ý nghĩa thống kê (lần lượt là 13,2 và 14 ngày). Trên 3 loại môi trường nhân giống trên thì màu sắc và mật độ tơ nấm tương đối đồng nhất, tơ nấm có màu trắng đục và mật độ dày.



a

b

**Hình 2. Nấm linh chi Nhật trên môi trường thạch-khoai tây-muối khoáng. (a) nấm mới cấy; (b) tơ nấm sau khi lan đầy đĩa petri**

Nghiên cứu nuôi sinh khối sợi nấm linh chi (*Ganoderma lucidum*) của Nguyễn Vũ Duy Khanh (2006) cho thấy rằng  $MgSO_4$  và  $KH_2PO_4$  có ảnh hưởng rất lớn đến sự tăng sinh khối tơ nấm linh chi. Tương tự, kết quả nghiên cứu nuôi cấy chìm của Cui và Zhang (2011) cũng cho thấy rằng môi trường cơ bản để nuôi cấy nấm linh chi luôn bổ sung  $MgSO_4$ ,  $KH_2PO_4$  và vitamin b1 với lượng 10 mg/l. Các nguyên tố khoáng và vitamin B1 có vai trò quan trọng đối với sự sinh trưởng của tơ nấm linh chi. Do đó, môi trường thạch - khoai tây - muối khoáng được chọn làm

môi trường nhân giống cấp 1 cũng như để phân lập giống nấm linh chi Nhật để tiến hành các thí nghiệm tiếp theo.

- Đối với giống nấm linh chi Hàn:

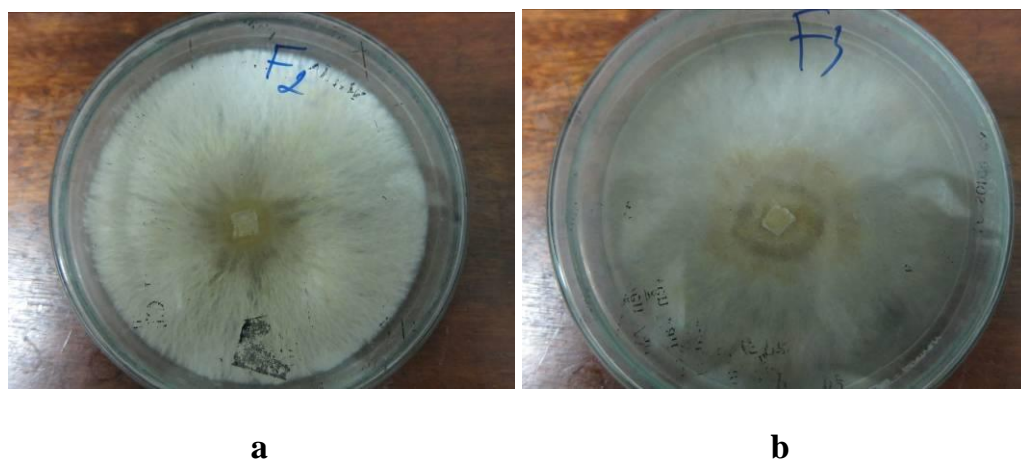
**Bảng 5. Tốc độ lan tơ, thời gian tơ nấm lan đầy đĩa và màu sắc, mật độ của tơ nấm linh chi Hàn trên các môi trường nhân giống cấp 1.**

Môi trường	Tốc độ lan tơ (cm/ngày)					Tốc độ lan tơ trung bình (cm/ngày)	Thời gian tơ nấm lan đầy đĩa (NSC)	Màu sắc, mật độ sợi nấm
	2 NSC	4 NSC	6 NSC	8 NSC	10 NSC			
PGA	0,37	0,76	0,78	0,81	0,85	0,71b	12,67b	Trắng sáng, thưa
Môi trường thạch - khoai tây-muối khoáng	0,39	0,91	0,9	0,95	0,96	0,83 a	11,13a	Trắng sáng, dày
Môi trường giá đậu xanh	0,33	0,71	0,84	0,89	0,96	0,74b	12,07b	Trắng sáng, thưa
	<b>F</b>					<b>**</b>	<b>**</b>	
	<b>CV%</b>					<b>7,18</b>	<b>5,78</b>	

*Ghi chú: các số trung bình trong cùng một cột có ít nhất một chữ theo sau giống nhau thì khác biệt không ý nghĩa thống kê qua phép thử LSD. (\*\*) khác biệt ở mức ý nghĩa 1%.*

Tương tự giống nấm linh chi Nhật, đối với giống nấm linh chi Hàn, 2 ngày đầu sau khi cấy do tơ nấm mới quen với môi trường nên tốc độ lan tơ rất chậm (0,33 - 0,39 cm/ngày). Đến ngày thứ 4 tốc độ lan tơ của nấm nhanh hơn và tăng đều đến ngày thứ 10. Tốc độ lan tơ trung bình sau 10 ngày cấy giống trên môi trường thạch-khoai tây- muối khoáng vẫn đạt cao nhất (0,83 cm/ngày) và khác biệt ý nghĩa thống kê ở mức 1% so với 2 môi trường còn lại. Trên môi trường PGA, tốc độ lan tơ là chậm nhất (0,71 cm/ngày) trong 3 môi trường được nghiên cứu. Có điểm khác biệt với giống với giống nấm linh chi Nhật là trên môi trường giá đậu xanh tơ nấm có màu sắc trắng trong và thưa thớt trong khi đối với giống nấm linh chi Nhật tơ nấm màu sắc trắng đục và dày (bảng 5, hình 3). Điều này cho thấy mặc dù có tốc độ lan

tơ cao nhưng có thể trong môi trường này thiếu khoáng chất để có thể giúp tơ nấm của giống nấm linh chi Hàn tăng sinh khối hệ sợi.



**Hình 3. Nấm linh chi Hàn trên môi trường nhân giống cấp 1. (a) trên môi trường thạch-khoai tây-muối khoáng; (b) trên môi trường PGA**

So sánh về màu sắc tơ nấm theo thời gian đối với 2 giống nấm cho thấy, đối với giống nấm linh chi Hàn mặc dù có tốc độ sinh trưởng nhanh hơn nấm linh chi Nhật nhưng tơ nấm dễ bị lão hóa (chuyển thành màu vàng từ trong tâm đĩa petri ra ngoài sau thời gian 13 ngày sau cấy giống) do đó thời gian nhân giống cấp 1 của giống nấm này tốt nhất là khoảng 10 ngày.

Từ các kết quả thí nghiệm trên có thể kết luận rằng môi trường thạch-khoai tây-muối khoáng là phù hợp và được chọn để nhân giống cấp 1 cho cả hai giống nấm linh chi Nhật và Hàn để tiến hành các thí nghiệm tiếp theo.

## **2.2. Thí nghiệm 2. Khảo sát sự sinh trưởng của 02 giống nấm Linh chi đỏ (*Ganoderma lucidum*) có nguồn gốc từ Nhật Bản và Hàn Quốc trên môi trường nhân giống cấp 2 (môi trường nhân giống meo).**

### **2.2.1. Mục đích nghiên cứu:**

Nhằm tìm ra môi trường phù hợp đối với từng giống nấm linh chi được nghiên cứu để tiến hành nhân giống meo cho thí nghiệm trồng khảo nghiệm ngoài nhà trồng cũng như để nhân giống sản xuất sau này.

### **2.2.2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu**



### **a. Đối tượng nghiên cứu**

- Giống nấm linh chi đỏ (*Ganoderma lucidum*) Nhật và Hàn.
- Bốn loại môi trường nhân giống cấp 2 tương ứng với 4 nghiệm thức: (1) lúa (đôi chứng); (2) lúa bổ sung 10% cám gạo; (3) Lúa + 10% cám bắp; (4) Lúa + 5% cám gạo + 5% cám bắp

### **b. Phương pháp nghiên cứu**

#### **- Đối với giống nấm linh chi Nhật**

+ **Bố trí thí nghiệm:** thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên, 1 nhân tố, 4 nghiệm thức, mỗi nghiệm thức 5 chai thủy tinh, 3 lần lặp lại.

#### **+ Phương pháp thực hiện:**

##### **Chuẩn bị nguyên liệu:**

Chọn loại lúa tốt (lúa Tài nguyên), nấu cho vừa nứt nanh, vớt ra để ráo.

Mùn cưa cao su được phơi khô loại bỏ dăm bào. Tưới nước vôi (dạng vôi tôi CaO) có pH 12 - 13 lên nguyên liệu.

##### **Phối trộn nguyên liệu:**

Trộn đều nguyên liệu với các thành phần theo các nghiệm thức nêu trên (cám gạo hoặc cám bắp được bổ sung theo phần trăm trọng lượng của lúa sau khi nấu), bổ sung thêm vào mỗi nghiệm thức: vôi bột 0,5%, mạch nha 0,5% sau đó trộn đều, thêm nước sạch để đạt đến độ ẩm khoảng  $65 \pm 2 \%$  và cho vào chai sao cho khoảng cách từ miệng chai đến môi trường khoảng 5 cm, khử trùng 121°C trong 20 phút, để nguội.

Giống nấm linh chi Nhật được nhân giống ở môi trường cấp 1 trên đĩa petri được cấy vào chai thủy tinh có chứa môi trường được chuẩn bị bên trên, ủ ở nhiệt độ phòng ( $30 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ ).

##### **Chỉ tiêu theo dõi:**

- Tốc độ lan tơ nấm 4 ngày 1 lần (cm/ngày): dùng thước kẻ 4 đường thẳng từ mức bề mặt môi trường xuống tới đáy chai thủy tinh. Đo tơ nấm lan theo 4 đường kẻ. Sau đó, lấy chiều dài đo được ở mỗi giai đoạn chia cho số ngày ở mỗi giai đoạn đó.
- Quan sát màu sắc, mật độ sợi nấm: dùng mắt quan sát.

### ***b. Đối với giống nấm Linh chi đỏ có nguồn gốc từ Hàn Quốc***

Thí nghiệm được tiến hành với các nghiệm thức tương tự như đối với giống nấm linh chi Nhật.

Chọn ra môi trường phù hợp đối với từng giống nấm thí nghiệm để tiến hành nhân giống meo cho thí nghiệm tiếp theo.

***Tổng số đơn vị thí nghiệm của thí nghiệm 2:  $2 \times 60 = 120$  đơn vị thí nghiệm.***

### ***2.2.3. Kết quả thí nghiệm***

Quan sát hình thái sợi nấm trong quá trình khảo sát trên môi trường hạt cho thấy tơ nấm lan sâu vào khối cơ chất tương đối chậm nhưng đồng đều mọi phía. Ở giai đoạn đầu tơ nấm tơ sinh trưởng rất chậm sau đó có xu hướng lan nhanh hơn. Màu sắc tơ nấm có sự thay đổi và mật độ tơ nấm cũng tăng dần theo thời gian, lúc đầu tơ nấm thưa và có màu trắng trong, dần về sau mật độ tơ nấm tăng lên tơ nấm có màu trắng đục. Tuy nhiên, ở mỗi môi trường dinh dưỡng khác nhau tơ nấm có tốc độ sinh trưởng khác nhau (bảng 6).

**Bảng 6. Tốc độ lan tơ, màu sắc tơ nấm của giống nấm linh chi Nhật trên các môi trường nhân giống cấp 2**

Nghiệm thức	Tốc độ lan tơ (cm/ngày)					Trung bình (cm/ngày)	Màu sắc, mật độ sợi nấm
	4	8	12	16	20		
	NS C	NS C	NS C	NS C	NS C		
<b>Đối chứng: Lúa</b>	0,3 5	1,0 2	0,8 6	0,8 9	0,90	0,8a	Trắng đục, mỏng
<b>1: Lúa + 10% cám gạo</b>	0,2 4	0,6 8	0,8 3	0,7 8	0,77	0,66b	Trắng đục, dày
<b>2: Lúa + 10% cám bắp</b>	0,3 7	1,0 5	0,9 7	0,9 6	0,97	0,84a	Trắng đục, dày
<b>3: Lúa + 5% cám gạo + 5% cám bắp</b>	0,1 5	0,7 2	0,8 2	0,8 8	0,93	0,7b	Trắng đục, dày
	<b>F</b>						<b>**</b>
	<b>CV (%)</b>						<b>11,19</b>

*Ghi chú: các số trung bình trong cùng một cột có ít nhất một chữ cái theo sau giống nhau thì khác biệt không ý nghĩa thống kê qua phép thử LSD. (\*\*) khác biệt ở mức ý nghĩa 1%.*

Trong 4 loại môi trường được chọn để nghiên cứu nhân giống cấp 2 giống nấm linh chi Nhật, môi trường lúa bổ sung 10% cám bắp có tốc độ lan tơ cao nhất (0,84 cm/ngày) và khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức 1% so với môi trường ở nghiệm thức 1 và nghiệm thức 3. Mặc dù giữa môi trường này và môi trường đối chứng (lúa) không có sự khác biệt nhưng so sánh về mật độ tơ nấm thì khác nhau rõ rệt. Môi trường lúa bổ sung 10% cám bắp tơ nấm màu trắng đục và mật độ rất dày trong khi ở môi trường lúa không bổ sung cám gạo hoặc cám bắp tơ nấm có màu trắng sáng, mật độ tơ rất thưa thớt. Bên cạnh đó, lúa được bổ sung cám gạo làm cho tốc độ lan tơ chậm nhất (0,66 cm/ngày) trong 4 nghiệm thức. Tuy nhiên so với nghiệm thức đối chứng thì mật độ tơ ở môi trường này dày hơn rất nhiều. Thay thế 5% cám gạo bằng 5% cám bắp (lúa + 5% cám gạo + 5% cám bắp) giúp tơ nấm lan nhanh hơn so với chỉ bổ sung cám gạo. Hay nói cách khác, đối với giống nấm linh chi Nhật, việc bổ sung dinh dưỡng giúp nấm tăng khả năng sinh trưởng nhưng cám

bấp giúp nấm tăng trưởng nhanh trong khi cám gạo lại ức chế sự phát triển của tơ nấm. Kết quả này khác với nghiên cứu của Nguyễn Minh Khang (2001) khi nghiên cứu trên nấm linh chi đen là khi bổ sung cám bắp lại làm tốc độ lan tơ của nấm chậm lại so với chỉ bổ sung cám gạo. Điều này cho thấy đối với các giống nấm khác nhau thì nhu cầu dinh dưỡng không giống nhau. Chất có thể kích thích sinh trưởng đối với chủng nấm này có thể lại ức chế đối với chủng nấm khác.

**Bảng 7. Tốc độ lan tơ của giống nấm linh chi Hàn trên các môi trường nhân giống cấp 2**

Thí nghiệm	Tốc độ lan tơ (cm/ngày)					Trung bình (cm/ngày)	Màu sắc, mật độ sợi nấm
	4 NSC	8 NSC	12 NSC	16 NSC	20 NSC		
1. Đối chứng: Lúa	0,59	1,26	1,17	1,16	0,36	0,85	Trắng đục, mỏng
2. Lúa + 10% cám gạo	0,56	0,87	0,82	0,93	1,00	0,80	Trắng đục, dày
3. Lúa + 10% cám bắp	0,58	0,96	0,92	1,04	0,85	0,83	Trắng đục, dày
4. Lúa + 5% cám gạo + 5% cám bắp	0,62	0,88	0,88	1,00	0,99	0,84	Trắng đục, dày
<b>F</b>						ns	
<b>CV (%)</b>						<b>4,2</b>	

*Ghi chú: các số trung bình trong cùng một cột có ít nhất một chữ cái theo sau giống nhau thì khác biệt không ý nghĩa thống kê qua phép thử LSD. (ns) khác biệt không ý nghĩa..*

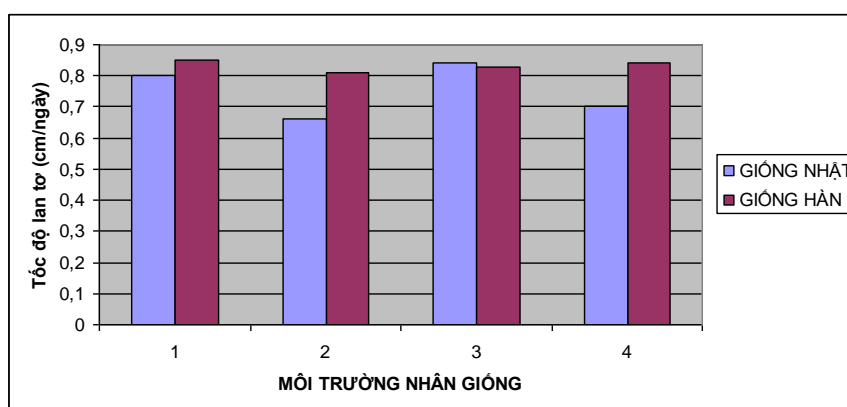
Đối với giống nấm linh chi Hàn, thí nghiệm thứ 1 (môi trường đối chứng:lúa) có tốc độ lan tơ nhanh nhất (0,85 cm/ngày) trong 4 thí nghiệm. Tuy nhiên, xét về mật độ thống kê thì giữa 4 môi trường này có tốc độ lan tơ nấm không khác biệt ý nghĩa (bảng 7). Cũng giống như giống nấm linh chi Nhật, ở môi trường chỉ có lúa tơ nấm lan nhanh nhưng mật độ tơ thưa hơn so với 3 thí nghiệm còn lại. Sự kết hợp giữa cám gạo và cám bắp (tỷ lệ 1:1) làm tơ nấm lan nhanh hơn chỉ sử dụng đơn cám gạo hoặc cám bắp. Tuy nhiên, môi trường tốt nhất mà chúng tôi chọn để nhân giống cấp 2 giống nấm linh chi Hàn lại là môi trường ở thí nghiệm thứ 3 (lúa + 10% cám

bấp) vì khi khảo sát trên môi trường nhân giống cấp 1 cho thấy đây là giống nấm có tốc độ lão nhanh hóa nên thời gian nhân giống cấp 2 trong khoảng 15-16 ngày là tốt nhất, trên môi trường này tốc độ lan tơ ở thời điểm 8, 12 và 16 NSC đều cao hơn so với nghiệm thức 4.



**Hình 4. Nấm linh chi Hàn Quốc trên 4 loại môi trường nhân giống cấp 2. (a) nhân giống ở thí nghiệm 2; (b) sản xuất meo phục vụ thí nghiệm 3.**

So sánh tốc độ lan tơ giữa 2 giống nấm linh chi Nhật và Hàn trên môi trường nhân giống cấp 2 cho thấy, giống nấm linh chi Hàn có tốc độ lan tơ nhanh hơn so với giống nấm linh chi Nhật ở các loại môi trường nhân giống (hình 5).



**Hình 5. Tốc độ lan tơ của hai giống nấm linh chi Nhật và Hàn trên các môi trường nhân giống cấp 2.**

**2.3. Thí nghiệm 3. Khảo sát ảnh hưởng của thành phần giá thể đến năng suất và dược tính của 2 giống nấm Linh chi ở thí nghiệm.**

### 2.3.1. Mục đích nghiên cứu:

Nhằm tìm ra thành phần giá thể phù hợp (cho năng suất cao và mang được tính) đối với mỗi giống nấm linh chi để tiến hành thí nghiệm tiếp theo nhằm hoàn thiện quy trình trồng để đưa vào sản xuất đại trà.

### 2.3.2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu:

#### a. Đối tượng nghiên cứu

- Giống nấm linh chi Nhật và Hàn.
- Mười hai loại môi trường giá thể ứng với mỗi giống theo bảng 8.
- Sản phẩm nấm thu được từ các giá thể trồng khác nhau của 2 giống.

#### b. Phương pháp thực hiện

**Khảo sát ảnh hưởng của thành phần giá thể đến năng suất của 2 giống nấm linh chi đỏ.**

- **Bố trí thí nghiệm:** thí nghiệm được bố trí theo thể thức hoàn toàn ngẫu nhiên với 2 nhân tố (nhân tố A: giống nấm linh chi (có 2 giống); nhân tố B: môi trường giá thể (có 12 loại môi trường giá thể), 24 nghiệm thức với mỗi nghiệm thức là 5 bịch phân, 3 lần lặp lại. Tổng số đơn vị thí nghiệm:  $2 \times 12 \times 5 \times 3 = 360$  đơn vị thí nghiệm.

**Bảng 8. Các loại môi trường giá thể nghiên cứu nuôi trồng 2 giống nấm linh chi.**

STT	Môi trường giá thể	Giống	
		Linh chi Nhật	Linh chi Hàn
1	Mùn cưa cao su 80% : 18% cám gạo : 1% Sucrose : 1% CaCO <sub>3</sub>	NT1	NT13
2	Bã mía 80% : 18% cám gạo : 1% Sucrose : 1% CaCO <sub>3</sub>	NT2	NT14
3	Mùn cưa cao su 40%: bã mía 40% : 18% cám gạo : 1% Sucrose : 1% CaCO <sub>3</sub>	NT3	NT15
4	Mùn cưa cao su 80% : 18% cám gạo : 1% Sucrose : 1% CaCO <sub>3</sub> bổ sung 0,4% DAP	NT4	NT16
5	Bã mía 80% : 18% cám gạo : 1% Sucrose : 1%	NT5	NT17

STT	Môi trường giá thể	Giống	
		Linh chi Nhật	Linh chi Hàn
	CaCO <sub>3</sub> bổ sung 0,4% DAP		
6	Mùn cưa 40%: bã mía 40% : 18% cám gạo 1% Sucrose : 1% CaCO <sub>3</sub> bổ sung 0,4% DAP	NT6	NT18
7	Mùn cưa cao su 83,5% : 5% cám gạo : 10% Cám bắp : 1,3% CaCO <sub>3</sub> (đối chứng)	NT7	NT19
8	Bã mía 83,5% : 5% cám gạo : 10% Cám bắp : 1,3% CaCO <sub>3</sub> .	NT8	NT20
9	Mùn cưa 41,75%: bã mía 41,75%: 5% cám gạo : 10% Cám bắp : 1,3% CaCO <sub>3</sub> .	NT9	NT21
10	Mùn cưa cao su 83,5% : 5% cám gạo : 10% Cám bắp : 1,3% CaCO <sub>3</sub> bổ sung 0,4% DAP	NT10	NT22
11	Bã mía 83,5% : 5% cám gạo : 10% Cám bắp : 1,3% CaCO <sub>3</sub> bổ sung 0,4% DAP	NT11	NT23
12	Mùn cưa 41,75%: bã mía 41,75%: 5% cám gạo: 10% Cám bắp : 1,3% CaCO <sub>3</sub> bổ sung 0,4% DAP	NT12	NT24

#### - Xử lý nguyên liệu:

Mùn cưa cao su được phơi khô loại bỏ dăm bào, bã mía được phơi khô và làm tơi ra. Tưới nước vôi có pH 12 - 13 lên nguyên liệu (các nguyên liệu được xử lý riêng). Thời gian ủ mùn cưa cao su là 1 ngày. Riêng đối với bã mía được đảo đều đến khi độ ẩm nguyên liệu đạt khoảng 60 - 65%, ủ khoảng 5 ngày. Sau đó đảo đều đồng ủ, bổ sung nước (nếu có) để đạt độ ẩm 60 - 65% ủ tiếp 5 ngày.

#### - Phối trộn giá thể:

Cân trọng lượng giá thể theo tỉ lệ nêu trên. Trộn đều các loại giá thể tổng hợp với các chất dinh dưỡng và đóng vào các bịch PP chịu nhiệt, mỗi bịch chứa 1,5kg nguyên liệu. Đóng bịch lại bằng nút và bông không thấm, dùng giấy bịch cổ nút. Hấp thanh trùng bằng nồi autoclave ở nhiệt độ 121<sup>0</sup>C thời gian 30 phút. Sau khi giá thể nguội, dùng giống meo đã được nuôi trên môi trường ở thí nghiệm 2 (mỗi lần cấy lượng giống khoảng 3 muỗng cà phê ) để cấy vào các bịch giá thể ở các thí nghiệm nêu trên. Độ tuổi thích hợp nhất của giống là 13 – 15 ngày.

Sau khi cấy giống vào, các bịch phôi được ủ nằm ngang trên các kệ trong nhà trồng có hệ thống phun sương: giai đoạn nuôi tơ có độ ẩm khoảng 60 - 70% ở giai đoạn này chỉ tưới nước dưới nền nhà trồng để tạo ẩm độ, tuyệt đối không dùng hệ thống phun sương. Giai đoạn đầu hình thành quả thể: khi chỗ nút bông xuất hiện mầm nấm tiến hành tháo giấy và nút bông và tiếp tục tưới nước dưới nền nhà, sau 4 ngày tiến hành kết hợp phun sương và tưới nền để tạo độ ẩm 90 - 95%. Giai đoạn quả thể phát triển tạo độ ẩm nhà trồng từ 85 - 95% bằng cách kết hợp tưới phun sương và tưới nền nhà trồng.

#### **Chỉ tiêu theo dõi:**

##### **Một số đặc điểm sinh học từng giống nấm**

- Tốc độ lan tơ của nấm trên bịch cơ chất 10 ngày 1 lần (cm/ngày).
- Thời gian tơ nấm lan đầy bịch (NSC).
- Thời gian hình thành quả thể (NSC): khi chỗ nút bông xuất hiện mầm nấm làm ướt nút bông.
- Thời gian thu hoạch quả thể nấm (NSC): khi mũ nấm phóng thích bào tử.

##### **Năng suất nấm**

- Nấm sau khi thu hoạch ở mỗi nghiệm thức khác nhau được phân ra riêng và tiến hành sấy ngay ở nhiệt độ 60<sup>0</sup>C cho đến khi độ ẩm đạt từ ≤13% (thường 3 kg nấm tươi sau sấy thu được 1 kg nấm khô)
- Cân trọng lượng nấm khô ở từng nghiệm thức.
- Năng suất nấm đối với từng nghiệm thức (kg/1000 bịch phôi) = Tổng khối lượng quả khô thể thu được trên mỗi nghiệm thức/15 x 1000.
- So sánh năng suất nấm (đối với từng giống) ở các nghiệm thức và so sánh năng suất nấm giữa 02 giống.

**Kiểm tra được tính của 02 giống nấm linh chi trồng trên giá thể ở các nghiệm thức khác nhau.**

**Mục đích:** nhằm xác định sự có mặt hay không có mặt một số chất có tiềm năng dược liệu trong nấm trồng thử nghiệm.



Quả thể 02 loài nấm Linh chi đỏ (*Ganoderma lucidum*) có nguồn gốc từ Nhật Bản và Hàn quốc ở tất cả các nghiệm thức ở thí nghiệm 3 sau khi sấy khô được tiến hành xay nhỏ để tiến hành định tính và định lượng một số chất có hoạt tính sinh học.

#### **- Phương pháp xác định hợp chất saponin (Trần Hùng, 2004)**

Chiết 10 gam dược liệu với cồn 70% bằng cách đun hồi lưu trong 30 phút rồi lọc. Cô dịch lọc bốc hơi đến cạn khô. Dùng cồn để làm các phản ứng định tính.

#### **+ Thử nghiệm tính tạo bọt**

Một đặc tính quan trọng của saponin là tính tạo bọt, nên đây là một trong những phương pháp chính xác để định tính sự hiện diện của saponin.

Cách tiến hành: Hòa tan một lượng cồn tương ứng với 1 gam dược liệu vào 5 ml nước nóng. Lọc rồi cho vào vào ống nghiệm 1,6 – 16 cm và để nguội, thêm nước cho đủ 10 ml, dùng ngón tay cái bịt miệng ống nghiệm và lắc mạnh theo chiều dọc ống nghiệm trong 1 phút (khoảng 30 lần lắc). Để yên ống nghiệm, quan sát lớp bọt và đánh giá kết quả:

Bọt bền trong 15 phút:	+
Bọt bền trong 30 phút:	++
Bọt bền trong 60 phút:	+++

#### **+ Thử nghiệm Fontan – Kaudel**

Lấy một lượng cồn tương ứng với 1 gam bột dược liệu, đun cách thủy để hòa tan với 10 ml nước. Chia đều vào 2 ống nghiệm.

Ống 1: thêm 2 ml HCl 0.1N (pH =1)

Ống 2: thêm 2 ml NaOH 0.1N (pH =13)

Bịt miệng ống nghiệm và lắc mạnh theo chiều dọc cả 2 ống trong 1 phút và để yên, quan sát các cột bong bóng trong cả 2 ống nghiệm.

- Nếu cột bọt trong cả 2 ống cao ngang nhau và bền như nhau, thì sơ bộ xác định là có saponin triterpen.

- Nếu ống có pH = 13 có cột bọt cao hơn nhiều so với ống pH = 1, sơ bộ xác định là có saponin steroid.

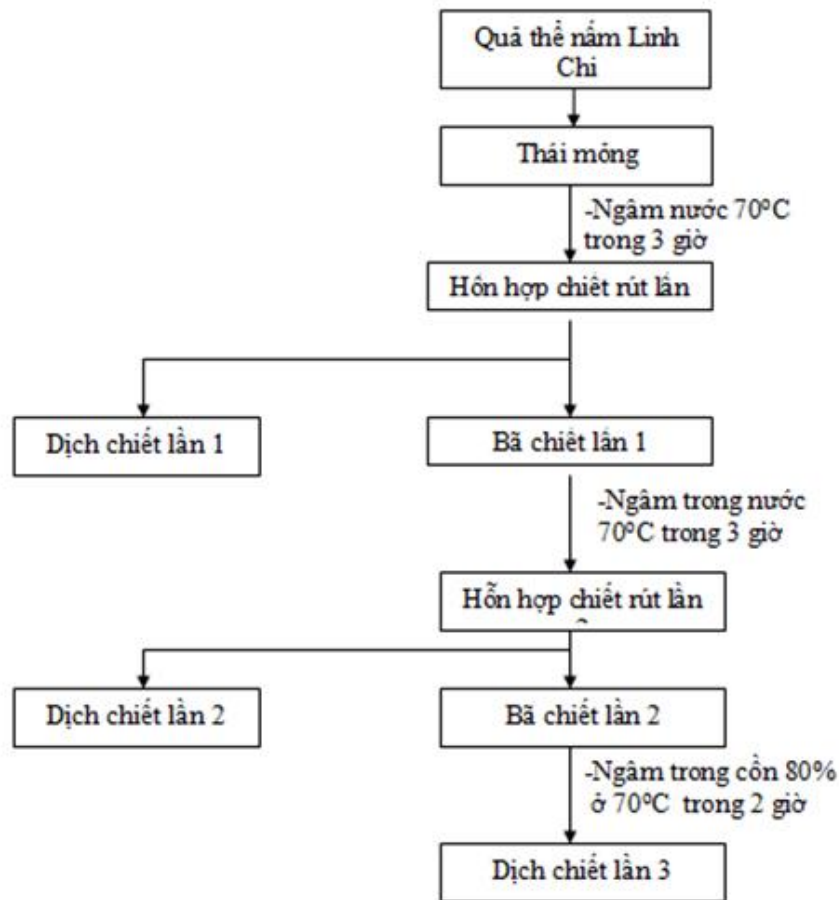
#### **- Định tính triterpenoid (bằng phản ứng Liebermann – Burchard)**

Chiết 10 – 20 gam bột dược liệu bằng diethylether lắc trong bình nón, trong 10 – 20 phút, chiết cho tới khi dịch ether sau khi bốc hơi không còn để lại lớp cặn mờ trên mặt kính đồng hồ, gộp các dịch chiết, lọc và cô lại còn khoảng 50 ml dịch chiết ether.

Lấy 5 ml dịch chiết ether cho vào chén sứ, bốc hơi tới cặn. Hòa tan cặn với 1 ml anhydrid acetic, rồi thêm vào dung dịch 0,5 ml chloroform. Chuyển dung dịch vào 1 ống nghiệm nhỏ khô, dùng pipet pasteur thêm cẩn thận 1 – 2 ml H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> đậm đặc lên thành ống nghiệm để nghiên cho acid chảy xuống đáy ống nghiệm. Nơi tiếp xúc giữa 2 lớp dung dịch có màu hồng đến đỏ tím kết luận dược liệu có triterpenoid.

#### **- Định lượng polysaccharides (GLPs)**

Polysaccharide có nhiều dạng và nhiều qui trình chiết khác nhau. Chiết GLPs ở 100°C trong 16 giờ, cho năng suất ly trích cao, nhưng làm biến đổi cấu trúc sinh học các polysaccharides có trong nấm Linh chi. Một qui trình thứ hai được ứng dụng rộng rãi để chiết các GLPs ở nhiệt độ thấp, nhằm ổn định cấu trúc sinh học của các GLPs đó là quy trình được nêu ra bởi Yihui Gao et al., 2001. Qui trình này được trình bày theo sơ đồ sau:



Thu nhận cả 3 dịch chiết và đem đi lọc. Lấy phần cặn (dịch lơ lửng sau khi lọc) đem đi sấy khô và cân trọng lượng. Từ đó đánh giá hàm lượng polysaccharide thô có trong quả thể nấm Linh chi.

Từ kết quả thí nghiệm 3 chọn ra nghiệm thức cho năng suất nấm cao và mang thành phần dược đối với từng giống để tiến hành thí nghiệm 4.

- Thời gian thực hiện thí nghiệm: từ tháng 3/2015 - 8/2015

### 2.3.3. Kết quả nghiên cứu

Để thu được nấm có chất lượng tốt và năng suất cao, khả năng sinh trưởng và phát triển nhanh, mạnh đồng thời có tỉ lệ nhiễm bệnh thấp nhất, ngoài những yếu tố như: giống gốc, nhà trồng nấm, cũng cần thiết phải có giá thể dinh dưỡng thích hợp.

Mạt cưa và bã mía được sử dụng làm môi trường giá thể. Tuy nhiên, đây là 2 loại nguyên liệu nghèo chất dinh dưỡng. Do đó để nâng cao hiệu suất nuôi trồng nấm cũng như rút ngắn thời gian nuôi trồng thì cần thiết phải trộn thêm nhiều chất bổ sung. Chất bổ sung chủ yếu là cám gạo, cám bắp, sucrose và DAP. Các nguyên liệu này sẽ cung cấp vitamin, acid amin và nguồn carbon và đạm, lân giúp cho hệ sợi nấm sinh trưởng nhanh.

**a. Tốc độ lan tơ của hai giống nấm linh chi trên các loại giá thể**

Sau 4 - 5 ngày chủng meo giống, tơ nấm bắt đầu xuất hiện ở cổ bịch phôi, tơ nấm lúc đầu có màu trắng trong, thưa thớt và lan ra xung quanh cổ bịch phôi. Sau đó tơ nấm tiếp tục lan đều xung quanh bịch phôi và ăn sâu xuống đáy bịch.

**Bảng 9. Ảnh hưởng của môi trường giá thể và giống nấm linh chi lên tốc độ lan tơ nấm (cm/ngày)**

STT	Môi trường giá thể (A)	Giống (B)		Trung bình (cm/ngày)
		Linh chi Nhật	Linh chi Hàn	
1	Mùn cưa cao su 80% : 18% cám gạo : 1% Sucrose : 1% CaCO <sub>3</sub>	0,43d	0,36e	<b>0,40de</b>
2	Bã mía 80% : 18% cám gạo : 1% Sucrose : 1% CaCO <sub>3</sub>	0,33de	0,43de	<b>0,38f</b>
3	Mùn cưa cao su 40%: bã mía 40% : 18% cám gạo 1% Sucrose : 1% CaCO <sub>3</sub>	0,39de	0,40de	<b>0,40de</b>
4	Mùn cưa cao su 80% : 18% cám gạo : 1% Sucrose : 1% CaCO <sub>3</sub> bổ sung 0,4% DAP	0,45bcd	0,43de	<b>0,44de</b>
5	Bã mía 80% : 18% cám gạo : 1% Sucrose : 1% CaCO <sub>3</sub> bổ sung 0,4% DAP	0,44cde	0,48cd	<b>0,46cd</b>
6	Mùn cưa 40%: bã mía 40% : 18% cám gạo 1% Sucrose : 1% CaCO <sub>3</sub> bổ sung 0,4% DAP	0,45bcd	0,46cd	<b>0,46cd</b>
7	Mùn cưa cao su 83,5% : 5% cám gạo : 10% Cám bắp : 1,3% CaCO <sub>3</sub> (đối chứng)	0,53abc	0,49cd	<b>0,51bc</b>
8	Bã mía 83,5% : 5% cám gạo : 10% Cám bắp : 1,3% CaCO <sub>3</sub> .	0,45bcd	0,58ab	<b>0,52bc</b>

STT	Môi trường giá thể (A)	Giống (B)		Trung bình (cm/ngày)
		Linh chi Nhật	Linh chi Hàn	
9	Mùn cưa 41,75%: bã mía 41,75%: 5% cám gạo : 10% Cám bắp : 1,3% CaCO <sub>3</sub> .	0,52abc	0,54bc	<b>0,53b</b>
10	Mùn cưa cao su 83,5% : 5% cám gạo : 10% Cám bắp : 1,3% CaCO <sub>3</sub> bổ sung 0,4% DAP	0,62a	0,59ab	<b>0,60a</b>
11	Bã mía 83,5% : 5% cám gạo : 10% Cám bắp : 1,3% CaCO <sub>3</sub> bổ sung 0,4% DAP	0,56ab	0,66a	<b>0,61a</b>
12	Mùn cưa 41,75%: bã mía 41,75%: 5% cám gạo: 10% Cám bắp : 1,3% CaCO <sub>3</sub> bổ sung 0,4% DAP	0,61a	0,63a	<b>0,62a</b>
<b>Trung bình</b>		<b>0,48</b>	<b>0,50</b>	
<b>F (A)</b>			<b>**</b>	
<b>F (B)</b>			<b>ns</b>	
<b>F (A x B)</b>			<b>*</b>	

*Ghi chú: các số trung bình trong cùng một cột có ít nhất một chữ theo sau giống nhau thì khác biệt không ý nghĩa thống kê qua phép thử DUCAN. (ns) khác biệt không ý nghĩa; (\*) khác biệt ở mức ý nghĩa 5%. (\*\*) khác biệt ở mức ý nghĩa 1%*

Kết quả thí nghiệm trình bày ở bảng 9 cho thấy có sự tương tác giữa môi trường giá thể và giống nấm linh chi lên tốc độ lan tơ. Giữa các môi trường giá thể khác nhau, tốc độ lan tơ trung bình của 2 giống có sự khác biệt nhau. Trong 12 loại môi trường giá thể được nghiên cứu, giá thể có sự phối trộn mùn cưa cao su: bã mía (tỷ lệ 1:1) được bổ sung 5% cám gạo, 10% Cám bắp, 1,3% CaCO<sub>3</sub> và 0,4% DAP có tốc độ lan tơ trung bình của 2 giống nấm là cao nhất (0,62 cm/ngày). Mặc dù không có sự khác biệt so với môi trường 10 và 11 nhưng có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức 1% so với các môi trường còn lại. Môi trường giá thể 2 (Bã mía 80% : 18% cám gạo: 1% Sucrose: 1% CaCO<sub>3</sub>) có tốc độ lan tơ nấm chậm nhất (0,38 cm/ngày). Mặc dù tốc độ lan tơ trung bình của mỗi giống trên 12 môi trường giá thể không khác biệt nhưng đối với mỗi giống tốc độ sinh trưởng trên các môi trường này là khác nhau.

**Bảng 10. Tốc độ lan tơ và thời gian tơ nắm lan đầy bịch phôi của giống nắm linh chi Nhật trên các môi trường giá thể**

Môi trường	Tốc độ lan tơ (cm/ngày)				Tốc độ lan tơ trung bình (cm/ngày)	Thời gian tơ nắm lan đầy bịch (NSC)
	0-10 NSC	10-20 NSC	20-30 NSC	30-35 NSC		
1	0,34	0,41	0,49	0,49	0,43bcd	51,67e
2	0,26	0,32	0,37	0,39	0,33d	53,33e
3	0,31	0,38	0,43	0,44	0,39cd	53,00e
4	0,36	0,44	0,49	0,51	0,45bcd	51,33e
5	0,35	0,42	0,50	0,49	0,44cde	53,33e
6	0,36	0,43	0,51	0,51	0,45bcd	51,00de
7	0,41	0,53	0,57	0,60	0,53abc	41,33bc
8	0,36	0,44	0,50	0,50	0,45bcd	48,67de
9	0,42	0,51	0,59	0,57	0,52abc	43,67cd
10	0,48	0,60	0,69	0,68	0,62a	35,67a
11	0,44	0,54	0,62	0,62	0,56ab	39,33ab
12	0,48	0,61	0,68	0,69	0,61a	36,33a
	<b>Trung bình</b>				<b>0,48</b>	<b>46,56</b>
	<b>F</b>				<b>**</b>	<b>**</b>
	<b>CV (%)</b>				<b>20,23</b>	<b>14,83</b>

*Ghi chú: các số trung bình trong cùng một cột có ít nhất một chữ cái theo sau giống nhau thì khác biệt không ý nghĩa thống kê qua kiểm định DUCAN. (\*\*) khác biệt ở mức ý nghĩa 1%.*

Đối với giống nắm linh chi Nhật, trong những ngày đầu tơ nắm phát triển rất chậm, kể từ ngày thứ 10 trở đi tốc độ lan tơ nhanh, mật độ tơ nắm lúc này dày và có màu trắng đục hiện rõ. Nhìn chung, trên 12 môi trường giá thể, giống nắm này có một số đặc điểm sau: (1) giữa 2 giá thể được bổ sung dinh dưỡng như nhau nhưng giá thể không bổ sung DAP có tốc độ lan tơ chậm hơn giá thể được bổ sung DAP (giữa các giá thể: 1-4; 2-5; 3-6; 7-10; 8-11; 9-12); (2) đối với cùng loại cơ chất (mùn cưa hoặc bã mía) việc bổ sung chỉ cám gạo có tốc độ lan tơ chậm hơn so với bổ sung phối trộn giữa cám gạo và cám bắp (giữa các môi trường 1-7; 2-8; 3-9; 4-10; 5-11; 6-12); (3) được bổ sung dinh dưỡng như nhau nhưng cơ chất mùn cưa cao su có tốc độ lan tơ nhanh hơn cơ chất bã mía (giữa các môi trường 1-2; 4-5; 7-8; 10-11); (4) phối trộn giữa mùn cưa và bã mía (tỷ lệ 1:1) tốc độ lan tơ tương đương với

cơ chất mùn cưa (giữa các giá thể 1-3; 4-6; 7-9; 10-12). Từ 4 đặc điểm trên cho thấy giống nấm linh chi Nhật sinh trưởng tốt trên cơ chất mùn cưa hoặc mùn cưa phối trộn bã mía và được bổ sung dinh dưỡng cám gạo; cám bắp và DAP. Môi trường 10 có tốc độ lan tơ trung bình cao nhất (0,62 cm/ngày) nên có thời gian tơ lan đầy bịch nhanh nhất (35,67 ngày). Môi trường 2 (Bã mía 80%:18% cám gạo:1% Sucrose:1% CaCO<sub>3</sub>) có tốc độ lan tơ trung bình là thấp nhất (0,33 cm/ngày) nên thời gian tơ lan đầy bịch cũng lâu nhất (53,53 ngày). Các môi trường còn lại có thời gian lan đầy bịch từ 41,33 ngày đến 53,33 ngày. Nghiên cứu của Nguyễn Minh Khang (2001) cho thấy rằng việc bổ sung cám bắp giúp nấm hấp thu dễ hơn so với cám gạo nên nấm có tốc độ sinh trưởng tơ nấm nhanh hơn.

**Bảng 11. Tốc độ lan tơ của giống nấm linh chi Hàn trên các môi trường giá thể khác nhau**

Môi trường	Tốc độ lan tơ (cm/ngày)				Tốc độ lan tơ trung bình (cm/ngày)	Thời gian tơ nấm lan đầy bịch (NSC)
	0-10 NSC	10-20 NSC	20-30 NSC	30-35NSC		
1	0,29	0,35	0,40	0,42	0,36f	57e
2	0,35	0,42	0,47	0,48	0,43def	52,33de
3	0,31	0,39	0,46	0,46	0,40ef	53e
4	0,34	0,42	0,49	0,48	0,43def	52,33de
5	0,39	0,46	0,54	0,54	0,48cde	47c
6	0,37	0,44	0,52	0,52	0,46def	48cd
7	0,39	0,52	0,51	0,54	0,49cde	45,67c
8	0,46	0,58	0,62	0,65	0,58abc	40ab
9	0,44	0,53	0,61	0,59	0,54bcd	44bc
10	0,47	0,60	0,66	0,65	0,59abc	37,67a
11	0,51	0,65	0,74	0,72	0,66a	35,33a
12	0,49	0,62	0,69	0,70	0,63ab	35,33a
<b>Trung bình F</b>					<b>0,5</b> **	<b>45,64</b> **
<b>CV (%)</b>					<b>19,60</b>	<b>15,98</b>

*Ghi chú: các số trung bình trong cùng một cột có ít nhất một chữ cái theo sau giống nhau thì khác biệt không ý nghĩa thống kê qua kiểm định DUCAN. (\*\*) khác biệt ở mức ý nghĩa 1%.*

Tương tự như giống nấm linh chi Nhật, trong những ngày đầu cấy meo giống vào bịch phối tốc độ lan tơ nấm chậm và tăng dần lên từ ngày thứ 10 trở đi cho đến

khi tơ nấm lan tới đáy bịch phôi. Bổ sung DAP và phối trộn cám gạo, cám bắp để bổ sung cơ chất giúp sinh trưởng mạnh hơn, tốc độ lan tơ nhanh hơn so với không bổ sung DAP hoặc chỉ bổ sung cám gạo mà không phối trộn cám gạo và cám bắp. Tuy nhiên đối với giống nấm linh chi Hàn, cơ chất bã mía nấm có tốc độ sinh trưởng mạnh hơn (tốc độ lan tơ nhanh hơn) so với cơ chất là mùn cưa cao su và việc phối trộn mùn cưa cao su và bã mía giúp nấm có tốc độ lan tơ tương đương với cơ chất bã mía (bảng 11). Điều này có thể giải thích do trong thành phần bã mía còn một hàm lượng đường sót lại sau khi mía được ép và chính lượng đường này kích thích tơ nấm của giống nấm này phát triển. Nhìn chung đối với giống nấm linh chi Hàn, môi trường giá thể 11 (Bá mía 83,5% bổ sung 5% cám gạo, 10% cám bắp, 1,3% CaCO<sub>3</sub> và 0,4% DAP) nấm có tốc độ lan tơ nhanh nhất (0,66 cm/ngày) trong khi môi trường giá thể 1 (Mùn cưa cao su 80% bổ sung 18% cám gạo, 1% Sucrose, 1% CaCO<sub>3</sub>) có tốc độ lan tơ thấp nhất (0,36 cm/ngày). Nghiên cứu này cũng phù hợp với nghiên cứu của Lý Thị Bé Nghi (2013), là giá thể mùn cưa cao su: bã mía bổ sung 0,4% DAP giúp nấm lan tơ nhanh nhất trong các giá thể thí nghiệm. Tuy nhiên, đối với chủng nấm *Ganoderma lucidum* được nghiên cứu bởi Gurung et al., (2012) cho thấy rằng tốc độ lan tơ nấm trên bịch phôi không bị ảnh hưởng bởi sự bổ sung bột đậu nành, bột bắp, cám gạo hoặc cám mì.

#### **b. Sự phát triển của quả thể nấm Linh chi**

Đối với cả 2 giống nấm, mặc dù tơ nấm chưa lan đầy bịch phôi nhưng mầm nấm đã hình thành (bảng 12). Kết quả này khác với nghiên cứu của Nguyễn Lâm Dũng (2001) và Lý Thị Bé Nghi (2013) là trên giá thể trồng khi nấm lan hết bịch phôi thì mầm nấm mới bắt đầu hình thành. Theo Nguyễn Lâm Dũng (2001), thời gian 41 – 45 ngày sau khi cấy meo mầm quả mới hình thành và quả thể thu hoạch được trong khoảng 121 – 145 ngày. Nghiên cứu của Lý Thị Bé Nghi (2013) trên nấm linh chi vàng cho thấy thời gian hình thành mầm quả thể sớm nhất là 34 ngày và thời gian thu hoạch dao động từ 116-164 ngày. Nghiên cứu của Gurung et al., (2012) cũng cho thấy thời gian mầm nấm xuất hiện là khoảng 46 ngày sau chủng giống. Điều



này là do các giống nấm và chủng nấm khác nhau nên đặc tính sinh học cũng khác nhau.

**Bảng 12. Thời gian mầm nấm xuất hiện và thời gian thu hoạch đối với 2 giống nấm linh chi đỏ nghiên cứu.**

Môi trường giá thể	Giống Nhật		Giống Hàn	
	Thời gian xuất hiện mầm nấm (NSC)	Thời gian thu hoạch (NSC)	Thời gian xuất hiện mầm nấm (NSC)	Thời gian thu hoạch (NSC)
1	22,0	100,33abc	25,33	93,0a
2	24,67	97,0a	25,0	95,33ab
3	22,0	98,67bc	24,67	97,67ab
4	23,67	106abc	24,67	101,0ab
5	24,6	108,0bc	23,33	97,0ab
6	23,0	107,67bc	24,33	100,33ab
7	21,0	109,0bc	23,0	107,33ab
8	19,33	110,0c	22,67	107,33ab
9	23,67	107,67bc	22,33	107,67b
10	21,0	110,0c	22,33	106,67ab
11	20,67	110,33c	21,0	108,33b
12	21,0	110,67c	23,0	109,33b
<b>Trung bình</b>	<b>22,53</b>	<b>106,28</b>	<b>23,47</b>	<b>102,58</b>
<b>F</b>	<b>ns</b>	<b>**</b>	<b>ns</b>	<b>**</b>
<b>CV (%)</b>	<b>9,54</b>	<b>2,0</b>	<b>1,9</b>	<b>7,2</b>

*Ghi chú: các số trung bình trong cùng một cột có ít nhất một chữ cái theo sau giống nhau thì khác biệt không ý nghĩa thống kê qua kiểm định DUCAN. (\*\*) khác biệt ở mức ý nghĩa 1%. (ns) khác biệt không ý nghĩa.*

- Đối với giống nấm linh chi Nhật: môi trường giá thể 8 nấm có thời gian hình thành mầm quả thể sớm nhất (19,33 NSC) và trễ nhất ở giá thể 2 (24,67 NSC) (bảng 12). Trên tất cả các loại giá thể, màu sắc mầm nấm đều giống nhau là đều có màu trắng đục. Mặc dù thời gian hình thành thành mầm nấm có chênh lệch giữa các loại giá thể trồng nhưng xét về mặt thống kê thì sự khác biệt này là không ý nghĩa. Điều này có thể do đặc tính giống nên trên cùng một quy cách làm phôi (giá thể được trộn và đóng vào bịch PP) thời gian hình thành mầm nấm vẫn giữ ổn định ở các giá

thể. Kết quả nghiên cứu được báo cáo bởi Gurung et al., (2012) cũng cho kết quả tương tự. Trong quá trình phát triển quả thể, lúc tai nấm còn non rìa có màu trắng bên trong có màu vàng và màu đỏ ở cuống nấm, theo thời gian màu đỏ lan từ trong cuống nấm ra ngoài rìa nấm. Khi mũ nấm già bắt đầu tung bào tử làm cho mũ nấm có màu nâu mặt trên, mặt dưới vẫn có màu trắng. Sau khi quả thể tung bào tử 7 ngày tiến hành thu hoạch nấm bằng cách nhổ cả lẫn mũ nấm cuống nấm.



**a** **b**  
**Hình 6. Sự hình thành mầm nấm ở giống nấm linh chi Nhật**  
**(a) mầm nấm mới hình thành; (b) mầm nấm tái hình thành sau 4 ngày tháo**  
**giấy và nút bông**

Đối với giống nấm linh chi này mặc dù giữa các giá thể khác nhau thời gian hình thành mầm nấm không khác biệt nhưng thì thời gian thu hoạch quả thể giữa các giá thể lại có sự khác biệt ý nghĩa thống kê ở mức 1%. Thời gian thu hoạch quả thể sớm nhất ở môi trường giá thể 2 (97 ngày) và chậm nhất ở giá thể 12 (110,67 ngày). Nhìn chung, đối với các môi trường giá thể có tốc độ lan tơ chậm, thời gian thu hoạch nấm lại nhanh hơn các giá thể có tốc độ lan tơ nhanh hơn (giữa các giá thể từ 1-6 đối với các giá thể từ 7-12). Nhưng xét về kích thước quả thể cho thấy ở các giá thể này lại có kích thước nhỏ hơn kích thước quả thể ở các giá thể có tốc độ lan tơ nhanh. Điều này có thể cho thấy rằng, môi trường giá thể không phù hợp sẽ cho tốc độ lan tơ chậm nên quá trình hấp thu dinh dưỡng của nấm từ cơ chất yếu do đó quả thể nấm phát triển không to và dễ bị lão hóa cũng như dễ bị chết. Nhưng qua kết quả nghiên cứu của chúng tôi cho thấy đây là 2 giống nấm linh chi có thời gian hình thành mầm nấm cũng như thời gian thu hoạch khá sớm.



**a**



**b**



**c**

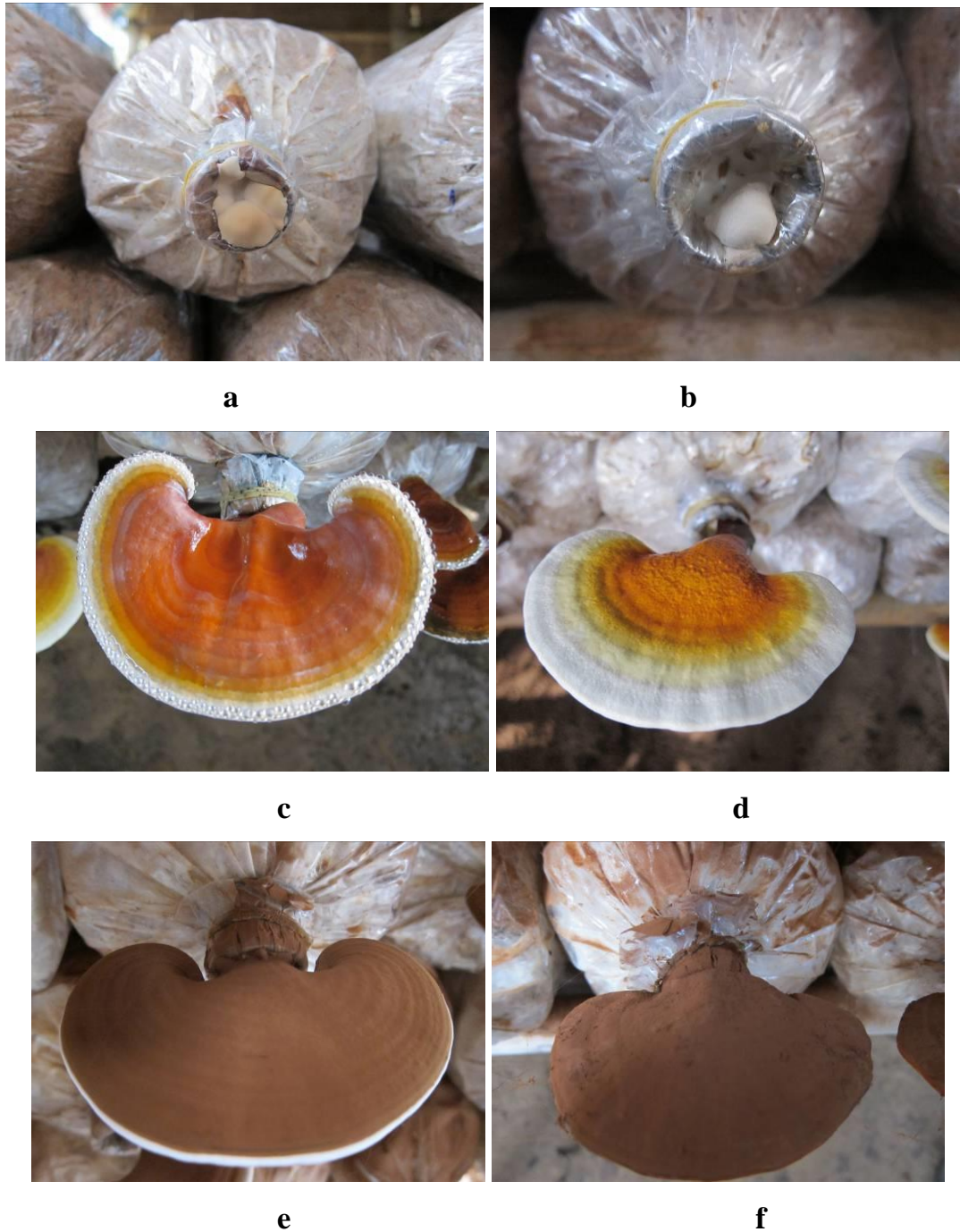


**d**

### **Hình 7. Nấm linh chi Nhật ở giai đoạn phát triển**

#### **a, b. Quả thể đang phát triển; c, d Quả thể lúc thu hoạch**

- Đối với giống nấm linh chi Hàn: thời gian hình thành mầm nấm không có sự khác biệt thống kê giữa các giá thể và dao động từ 21 ngày đến 25 (bảng 12) ngày sau chủng giống. Về màu sắc mầm nấm giữa các giá thể đồng nhất nhau là có màu hơi nâu. Khi trưởng thành quả thể có hình thận đặc trưng trong, đồng nhất, có màu đỏ đậm trong khi ở giống nấm linh chi Nhật không có hình thận đặc trưng này mà tai nấm hơi bị lệch và màu đỏ nhạt hơn (hình 8). Kết quả này cho thấy rằng giữa hai giống nấm này có có đặc điểm hình thái khác biệt nhau



**Hình 8. Hình thái, màu sắc nấm linh chi Hàn (a, c, e) và linh chi Nhật (b, d, f) ở giai đoạn mầm nấm, trưởng thành và chuẩn bị thu hoạch**

Kết quả nghiên cứu nấm linh chi (*Ganoderma lucidum*) của Rajapakse et al. (2013) cho thấy trên môi trường mùn cưa cao su hoặc mùn cưa cao su phối trộn mùn cưa gỗ xoài thời gian tơ nấm lan đầy bịch phôi dao động từ 22 - 28 ngày, thời gian mầm nấm xuất hiện từ 65-67 ngày và thời gian thu hoạch khoảng 108 NSC.

Cũng giống như đối với giống nấm linh chi Nhật, ở các môi trường giá thể có tơ nấm sinh trưởng chậm thì tai nấm có kích thước nhỏ và sớm lão hóa hơn nên được thu hoạch sớm hơn so với các giá thể có tơ nấm sinh trưởng tốt. Thời gian thu hoạch đối với giống nấm linh chi Hàn sớm nhất là 93 ngày và trễ nhất là 109, 33 ngày. Thời gian thu hoạch có sự khác biệt nghĩa thống kê giữa các giá thể và thời gian thu hoạch trung bình của giống nấm linh chi Hàn sớm hơn so với giống nấm linh chi Nhật là 3,7 ngày.

**Bảng 13. Ảnh hưởng của môi trường giá thể và giống nấm lên năng suất nấm sau 2 đợt thu hoạch (kg/1000 phôi)**

STT	Môi trường giá thể (A)	Giống (B)		Trung bình (kg/1000 phôi)
		Linh chi Nhật	Linh chi Hàn	
1	Mùn cưa cao su 80% : 18% cám gạo : 1% Sucrose : 1% CaCO <sub>3</sub>	11,37de	7,87g	<b>9,62c</b>
2	Bã mía 80% : 18% cám gạo : 1% Sucrose : 1% CaCO <sub>3</sub>	10,67e	9,73fg	<b>10,2c</b>
3	Mùn cưa cao su 40%: bã mía 40% : 18% cám gạo 1% Sucrose : 1% CaCO <sub>3</sub>	11,45de	10,1efg	<b>10,78bc</b>
4	Mùn cưa cao su 80% : 18% cám gạo : 1% Sucrose : 1% CaCO <sub>3</sub> bổ sung 0,4% DAP	12,83de	12,53cde	<b>12,68b</b>
5	Bã mía 80% : 18% cám gạo : 1% Sucrose : 1% CaCO <sub>3</sub> bổ sung 0,4% DAP	12,51de	12,4def	<b>12,45ab</b>
6	Mùn cưa 40%: bã mía 40% : 18% cám gạo 1% Sucrose : 1% CaCO <sub>3</sub> bổ sung 0,4% DAP	12,93de	12,53de	<b>12,9b</b>
7	Mùn cưa cao su 83,5% : 5% cám gạo : 10% Cám bắp : 1,3% CaCO <sub>3</sub> (đối chứng)	13,71bcd	13,83d	<b>13,77b</b>
8	Bã mía 83,5% : 5% cám gạo : 10% Cám bắp : 1,3% CaCO <sub>3</sub> .	13,15cde	14,27cd	<b>13,71b</b>
9	Mùn cưa 41,75%: bã mía 41,75%: 5% cám gạo : 10% Cám bắp : 1,3% CaCO <sub>3</sub> .	13,57cd	13,83d	<b>13,7b</b>

STT	Môi trường giá thể (A)	Giống (B)		Trung bình (kg/1000 phôi)
		Linh chi Nhật	Linh chi Hàn	
10	Mùn cưa cao su 83,5% : 5% cám gạo : 10% Cám bắp : 1,3% CaCO <sub>3</sub> bổ sung 0,4% DAP	16,94a	16,82bc	<b>16,87a</b>
11	Bã mía 83,5% : 5% cám gạo : 10% Cám bắp : 1,3% CaCO <sub>3</sub> bổ sung 0,4% DAP	15,78abc	20,06a	<b>17,92a</b>
12	Mùn cưa 41,75%: bã mía 41,75%: 5% cám gạo: 10% Cám bắp : 1,3% CaCO <sub>3</sub> bổ sung 0,4% DAP	16,25ab	17,42b	<b>16,83a</b>
<b>Trung bình (kg/1000 phôi)</b>		<b>13,42</b>	<b>13,48</b>	
<b>F (A)</b>			<b>**</b>	
<b>F (B)</b>			<b>ns</b>	
<b>F (A x B)</b>			<b>**</b>	

*Ghi chú: các số trong cùng một cột (hoặc hàng đối với năng suất trung bình từng giống) có ít nhất một chữ cái theo sau giống nhau thì khác biệt không ý nghĩa thống kê qua kiểm định DUCAN. (\*\*) khác biệt ở mức ý nghĩa 1%. (ns) khác biệt không ý nghĩa.*

Kết quả thí nghiệm trình bày ở bảng 13 cho thấy không có sự khác biệt về năng suất trung bình của hai giống. Tuy nhiên, giữa các giá thể khác nhau thì năng suất nấm thu được có sự khác biệt ý nghĩa thống kê ở mức 1% thông qua kiểm định Ducan. Kết quả cũng cho thấy có sự tương tác giữa giống và môi trường giá thể lên năng suất nấm thu được. Trong 12 môi trường giá thể thì môi trường 12 cho năng suất nấm trung bình cao nhất (17,92 kg/1000 phôi) trong khi giá thể 1 cho năng suất nấm thấp nhất (chỉ 9,62 kg/1000 phôi). Đối với từng giống nấm khác nhau thì năng suất cao nhất hoặc thấp nhất cũng khác nhau ở các giá thể.

Đối với giống nấm linh chi Nhật giá thể 10 (Mùn cưa cao su 83,5%:5% cám gạo:10% Cám bắp:1,3% CaCO<sub>3</sub> bổ sung 0,4% DAP) cho năng suất nấm cao nhất (16,94 kg/1000 phôi) và giá thể 2 (Bã mía 80%:18% cám gạo:1% Sucrose:1% CaCO<sub>3</sub>) cho năng suất nấm thấp nhất (10,67 kg/1000 phôi).

Đối với giống nấm linh chi Hàn giá thể 11 (Bá mía 83,5% : 5% cám gạo : 10% Cám bắp:1,3% CaCO<sub>3</sub> bổ sung 0,4% DAP) cho năng suất nấm cao nhất (20,06 kg/1000 phôi) và giá thể 1 (Mùn cưa cao su 80%:18% cám gạo:1% Sucrose: 1% CaCO<sub>3</sub>) có năng suất thấp nhất chỉ 7,87 kg/1000 phôi.

Kết quả nghiên cứu của về ảnh hưởng của thành phần giá thể lên năng suất nấm linh chi (*Ganoderma lucidum*) của Rajapakse et al. (2013) cũng cho thấy rằng, trên môi trường mùn cưa cao su có bổ sung dinh dưỡng năng suất nấm đạt cao nhất 141,25 g/bịch phôi và không khác biệt thống kê so với các nghiệm thức phối trộn giữa mùn cưa cao su: mùn cưa gỗ xoài (1:3), mùn cưa cao su: mùn cưa gỗ xoài (1:1) hoặc 100% mùn cưa gỗ xoài.

Bên cạnh đó, kết quả nghiên cứu còn cho thấy rằng, mặc dù giống nấm Hàn cho quả thể có kích thước to hơn quả thể giống Nhật nhưng tai nấm lại mỏng hơn và có cấu trúc xốp hơn. Tuy nhiên, một yếu tố làm cho năng suất của các giống này không cao đó là số phôi không hình thành quả thể. Đối với giống nấm linh chi Nhật, số phôi không hình thành quả thể chiếm 30,73% (trong đó lần 1: 5%; lần 2: 25,73%). Đối với giống nấm linh chi Hàn tỷ lệ này là 45,35% (trong đó lần 1: 5%, lần 2: 40,35%). Nguyên nhân không hình thành quả thể do một vài yếu tố gây ra như: bị nhiễm nấm dại mà chủ yếu là nấm mốc xanh trong quá trình ươm tơ và tưới đón nấm; do đặc tính giống dễ bị lão hóa nên ở lần thứ 2 khả năng hình thành quả thể kém, nấm sinh trưởng yếu nên dễ bị nấm mốc tấn công; ảnh hưởng của điều kiện môi trường: nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng,...do trồng trong cùng điều kiện có thể là phù hợp với giống nấm linh chi Nhật nhưng lại không phù hợp với giống nấm linh chi Hàn nên tỷ lệ không ra quả thể lần 2 cao.

Tuy nhiên, đây là nấm dược liệu nên năng suất cao, quả thể to lại không là yếu tố quyết định sản phẩm tốt hay xấu mà chất lượng nấm phụ thuộc vào sự hiện diện và hàm lượng các chất có hoạt tính dược lý có trong nó.

**b. Các thành phần dược tính trong quả thể của hai giống nấm trên các môi trường giá thể.**

**- Định tính saponine**

+ Thử nghiệm tính tạo bọt

Kết quả kiểm tra dịch chiết bằng cồn 70% từ quả thể 2 giống nấm linh chi Nhật và Hàn trồng trên các môi trường giá thể khác nhau cho thấy tất cả 24 mẫu sản phẩm đều chứa saponin do các mẫu này có tính tạo bọt khi thử nghiệm và có độ bền của bọt ở mức trung bình (bền trong 30 phút: ++)

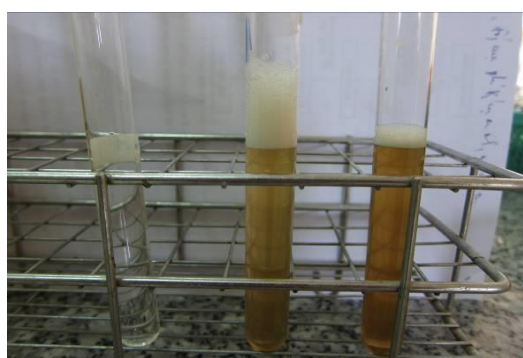


**Hình 9. Thử nghiệm tính tạo bọt định tính saponin**

**a. Đối chứng: nước cất; b. Nấm linh chi Nhật; c. Nấm linh chi Hàn**

+ Thử nghiệm Fontan - Kaudel

Kết quả định tính phân loại saponin cho thấy ở ống nghiệm là dịch chiết nấm linh chi sau khi cho NaOH 0,1N và HCl 0,1N vào và lắc tạo bọt, tất cả các dịch chiết của hai giống nấm ở các nghiệm thức khác nhau có cột bọt ở ống nghiệm thêm NaOH cao hơn so với thêm HCl. Từ kết quả này có thể kết luận rằng các sản phẩm nấm linh chi của hai giống nấm chứa saponin dạng steroid.



**ĐC                      A                      B**

**Hình 10. Định tính saponin quả thể nấm linh chi Nhật**

**ĐC. Nước cất; A. dịch chiết bột nấm thêm NaOH; B. dịch chiết bột nấm thêm HCl**



**- Định tính Triterpenoid**

Kết quả định tính triterpenoid bằng phản ứng Liebermann - Burchard cho thấy dung dịch trong ống nghiệm chuyển dần từ màu nâu sang màu đỏ tím cho thấy sự hiện diện của triterpenoid trong mẫu được kiểm tra. Từ kết quả này có thể khẳng định rằng tất cả các quả thể nấm của hai giống Nhật và Hàn trên các giá thể khác nhau đều có chứa triterpenoid tuy nhiên hàm lượng có thể khác nhau.

**- Định lượng polysaccharide**

**Bảng 14. Tỷ lệ polysaccharide/vật chất khô trong quả thể nấm linh chi Nhật và Hàn ở các môi trường giá thể**

STT	Môi trường giá thể (A)	Giống nấm (B)		Trung bình (%)
		Linh chi Nhật	Linh chi Hàn	
1	Mùn cưa cao su 80% : 18% cám gạo : 1% Sucrose : 1% CaCO <sub>3</sub>	0,42abc	0,67abc	<b>0,54abcd</b>
2	Bã mía 80% : 18% cám gạo : 1% Sucrose : 1% CaCO <sub>3</sub>	0,34c	0,52bc	<b>0,43d</b>
3	Mùn cưa cao su 40%: bã mía 40% : 18% cám gạo 1% Sucrose : 1% CaCO <sub>3</sub>	0,36bc	0,65abc	<b>0,51bcd</b>
4	Mùn cưa cao su 80% : 18% cám gạo : 1% Sucrose : 1% CaCO <sub>3</sub> bổ sung 0,4% DAP	0,57ab	0,65abc	<b>0,61ab</b>
5	Bã mía 80% : 18% cám gạo : 1% Sucrose : 1% CaCO <sub>3</sub> bổ sung 0,4% DAP	0,35c	0,49c	<b>0,42d</b>
6	Mùn cưa 40%: bã mía 40% : 18% cám gạo 1% Sucrose : 1% CaCO <sub>3</sub> bổ sung 0,4% DAP	0,51abc	0,72ab	<b>0,62ab</b>
7	Mùn cưa cao su 83,5% : 5% cám gạo : 10% Cám bắp : 1,3% CaCO <sub>3</sub> (đối chứng)	0,44abc	0,72ab	<b>0,78abc</b>
8	Bã mía 83,5% : 5% cám gạo : 10% Cám bắp : 1,3% CaCO <sub>3</sub> .	0,36bc	0,55bc	<b>0,46cd</b>
9	Mùn cưa 41,75%: bã mía 41,75%: 5% cám gạo : 10% Cám bắp : 1,3% CaCO <sub>3</sub> .	0,43abc	0,73ab	<b>0,58abc</b>

STT	Môi trường giá thể (A)	Giống nấm (B)		Trung bình (%)
		Linh chi Nhật	Linh chi Hàn	
10	Mùn cưa cao su 83,5% : 5% cám gạo : 10% Cám bắp : 1,3% CaCO <sub>3</sub> bổ sung 0,4% DAP	0,63a	0,71ab	<b>0,67a</b>
11	Bã mía 83,5% : 5% cám gạo : 10% Cám bắp : 1,3% CaCO <sub>3</sub> bổ sung 0,4% DAP	0,43abc	0,55bc	<b>0,49bcd</b>
12	Mùn cưa 41,75%: bã mía 41,75%: 5% cám gạo: 10% Cám bắp : 1,3% CaCO <sub>3</sub> bổ sung 0,4% DAP	0,58ab	0,79a	<b>0,68a</b>
<b>Trung bình (%)</b>		<b>0,45b</b>	<b>0,65a</b>	
<b>F (A)</b>			**	
<b>F (B)</b>			**	
<b>F (A x B)</b>			ns	
<b>CV (%)</b>		<b>26,07</b>	<b>18,18</b>	

*Ghi chú: các số trong cùng một cột (hoặc hàng đối với tỷ lệ polysaccharide/vck trung bình từng giống) có ít nhất một chữ cái theo sau giống nhau thì khác biệt không ý nghĩa thống kê qua kiểm định DUCAN. (\*\*) khác biệt ở mức ý nghĩa 1%. (ns) khác biệt không ý nghĩa.*

Kết quả thí nghiệm cho thấy không có sự tương tác giữa giá thể và giống lên tỷ lệ polysaccharide/vật chất khô (polysaccharide/vck) trong quả thể nấm linh chi (bảng 14). Tuy nhiên, giữa hai giống thì giống nấm linh chi Hàn có hàm lượng polysaccharide trung bình cao hơn giống nấm linh chi Nhật, trong 12 giá thể khác nhau thì giá thể 12 cho tỷ lệ polysaccharide/vck trung bình của hai giống là cao nhất (0,68%) trong khi giá thể 5 có tỷ lệ này là thấp nhất (0,42%). Tuy nhiên, tỷ lệ polysaccharide/vck cao nhất và thấp nhất ở từng giống có giá thể khác nhau.

Đối với giống nấm linh chi Nhật, nhìn chung trên môi trường giá thể chứa mùn cưa cao su hoặc phối trộn giữa mùn cưa cao su và bã mía có tỷ lệ polysaccharide/vck cao hơn đối với giá thể chỉ chứa bã mía bổ sung dinh dưỡng. Quả thể nấm linh chi nhật trên giá thể 10 (Mùn cưa cao su 83,5%:5% cám gạo:10%

Cám bắp:1,3% CaCO<sub>3</sub>: 0,4% DAP) có tỷ lệ polysaccharide/vck là cao nhất (0,63%) và trên giá thể 2 (Bã mía 80% : 18% cám gạo : 1% Sucrose : 1% CaCO<sub>3</sub>) là thấp nhất (0,34%). So với kết quả kiểm mẫu nấm linh chi Nhật trồng tại Việt Nam được mua từ một công ty nấm cho thấy tỷ lệ này chỉ 0,54% thấp hơn so với tỷ lệ này ở giá thể tối ưu mà chúng tôi chọn (giá thể 10) để sản xuất phôi nấm trong tương lai. Kết quả kiểm nghiệm tại Viện thực phẩm chức năng cũng cho thấy rằng tỷ lệ polysaccharide/vck của mẫu nấm linh chi Nhật trên giá thể 10 là 0,511% và tỷ lệ triterpenoid/vck là 0,166%. Sự khác biệt giữa kết quả kiểm nghiệm của chúng tôi và kết quả kiểm nghiệm tại Viện thực phẩm chức năng có thể do phương pháp kiểm nghiệm, hóa chất, điều kiện khác nhau.

Đối với giống nấm linh chi Hàn, sự phối trộn giữa mùn cưa và bã mía (1:1) quả thể có tỷ lệ polysaccharide/vck cao hơn trồng trên giá thể chỉ là mùn cưa hoặc bã mía bổ sung dinh dưỡng. Quả thể giống nấm này trồng trên giá thể 12 cho tỷ lệ polysaccharide/vck là cao nhất (0,79%), trên giá thể 2 là thấp nhất (0,52%). Kết quả kiểm nghiệm tại Viện thực phẩm chức năng cũng cho thấy rằng tỷ lệ polysaccharide/vck của mẫu nấm linh chi Hàn trên giá thể 12 là 0,725% và tỷ lệ triterpenoid/vck là 0,075%. Mặc dù giống nấm linh chi Hàn có hàm lượng polysaccharide cao hơn nấm linh chi Nhật 1,41 lần nhưng hàm lượng triterpenoid lại thấp hơn 2,23 lần.

Từ kết quả trên cho thấy rằng, để trồng hai giống nấm linh chi Nhật và Hàn việc bổ sung mùn cưa cao su vào bã mía là cần thiết. Giá thể: Mùn cưa cao su 83,5%:5% cám gạo:10% Cám bắp:1,3% CaCO<sub>3</sub>:0,4% DAP là phù hợp để sản xuất phôi nấm linh chi Nhật trong khi giá thể Mùn cưa 41,75%: bã mía 41,75%: 5% cám gạo:10% Cám bắp:1,3% CaCO<sub>3</sub>, 0,4% DAP là phù hợp nhất để sản xuất phôi giống nấm linh chi Hàn.

#### **2.4. Thí nghiệm 4. Khảo sát ảnh hưởng của khối lượng giá thể đến kích thước mũ nấm và năng suất của từng giống.**

##### **2.4.1. Mục đích thí nghiệm:**

Nhằm tìm ra khối lượng giá thể phù hợp để trồng từng giống nấm Linh chi thí nghiệm cho năng suất cao, kích thước nấm lớn.

#### **2.4.2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu**

- Đối tượng nghiên cứu: hai giống nấm linh chi Nhật và Hàn trên giá thể tốt nhất đối với từng giống được chọn từ thí nghiệm 3.

- Phương pháp thực hiện: giá thể được xử lý và vô bịch phôi ứng với 4 mức trọng lượng được trình bày trong bảng 15. Sau đó giá thể được khử trùng và chủng giống, đem nuôi trồng ở nhà trồng tại khu thực nghiệm.

**Bảng 15. Khối lượng giá thể bịch phôi ở các nghiệm thức nghiên cứu**

Nghiệm thức	Khối lượng giá thể (kg)
1	1,5
2	3,0
3	4,5
4	1,2

#### **Chỉ tiêu theo dõi:**

##### **a. Một số đặc điểm sinh học từng giống nấm**

- Thời gian hình thành quả thể (NSC): khi chỗ nút bông xuất hiện mầm nấm màu trắng to bằng hạt ngô.

- Thời gian thu hoạch quả thể nấm (NSC): khi mũ nấm phóng thích bào tử.

- Chiều rộng trung bình quả thể.

##### **b. Năng suất nấm**

- Nấm sau khi thu hoạch ở mỗi nghiệm thức khác nhau được phân ra riêng và tiến hành sấy ngay ở nhiệt độ 60°C cho đến khi độ ẩm đạt từ  $\leq 13\%$  (thường 3 kg nấm tươi sau sấy thu được 1 kg nấm khô)

- Cân trọng lượng nấm khô ở từng nghiệm thức.

- Năng suất nấm đối với từng nghiệm thức (kg/1000 bịch phôi) = Tổng khối lượng quả khô thể thu được trên mỗi nghiệm thức/90 x 1000.

**- Đối với giống nấm linh chi Nhật**

Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên gồm 1 nhân tố 4 nghiệm thức mỗi nghiệm thức 30 bịch phôi, 3 lần lặp lại.

**- Đối với giống nấm linh chi Hàn**

Thí nghiệm được bố trí và tiến hành với các nghiệm thức tương tự như đối với giống nấm linh chi Nhật.

**2.4.3. Kết quả thí nghiệm**

**a. Đối với giống nấm linh chi Nhật**

**Bảng 16. Ảnh hưởng của khối lượng giá thể lên đặc điểm sinh trưởng và năng suất của giống nấm linh chi Nhật**

Nghiệm thức	Thời gian hình thành mầm nấm (NSC)	Thời gian thu hoạch (NSC)	Năng suất nấm khô (kg/1000 phôi)	Đường kính mũ nấm (cm)	Tỷ lệ mầm nấm không chuyên hóa thành mũ nấm (%)
1	21,2	110,24	17,11a	8,31	0,0a
2	20,8	109,82	13,84ab	7,96	36,32b
3	21,61	110,54	11,53b	7,99	51,23c
4	21,01	110,86	16,92a	8,38	0,0a
<b>Trung bình</b>	<b>21,16</b>	<b>110,36</b>	<b>14,85</b>	<b>8,16</b>	<b>21,88</b>
<b>F</b>	<b>ns</b>	<b>ns</b>	<b>**</b>	<b>ns</b>	<b>**</b>
<b>CV (%)</b>	<b>2,23</b>	<b>3,67</b>	<b>2,74</b>	<b>0,58</b>	<b>23,74</b>

*Ghi chú: các số trung bình trong cùng một cột có ít nhất một chữ cái theo sau giống nhau thì khác biệt không ý nghĩa thống kê qua kiểm định LSD. (\*\*) khác biệt ở mức ý nghĩa 1%. (ns) khác biệt không ý nghĩa.*

Sự tăng hoặc giảm khối lượng giá thể bịch phôi không ảnh hưởng đến thời gian xuất hiện mầm nấm và thời gian thu hoạch nấm cũng như đường kính mũ nấm (bảng 16). Tuy nhiên năng suất nấm giữa các nghiệm thức có sự khác biệt ý nghĩa thống kê ở mức 1% thông qua phép thử LSD. Nghiệm thức 1 (1,5 kg/bịch phôi) có năng suất nấm cao nhất (17,11 kg/1000 bịch phôi) trong khi nghiệm thức 3 có năng suất thấp nhất chỉ 11,53 kg/1000 phôi. Kết quả thí nghiệm cho thấy rằng việc tăng khối lượng giá thể/bịch phôi làm giảm một cách đáng kể năng suất giống nấm linh chi Nhật. Khi tăng khối lượng giá thể làm cho mầm nấm hình thành to hơn nhưng tỷ

lệ mầm nấm không chuyên hóa thành mũ nấm rất cao. Nghiệm thức 1 và 4 tỷ lệ này bằng 0 nhưng ở nghiệm thức 2 và 3 tỷ lệ này lần lượt là 36,32% và 51,23 %.

### b. Đối với giống nấm linh chi Hàn

**Bảng 17. Ảnh hưởng của khối lượng giá thể lên đặc điểm sinh trưởng và năng suất của giống nấm linh chi Hàn**

Nghiệm thức	Thời gian hình thành mầm nấm (NSC)	Thời gian thu hoạch (NSC)	Năng suất nấm khô (kg/1000 phôi)	Đường kính mũ nấm (cm)
1	22,93	109,67	17,34	9,71
2	23,78	108,82	17,57	9,37
3	23,13	109,66	16,97	9,58
4	23,25	109,35	17,28	9,65
<b>Trung bình</b>	<b>23,27</b>	<b>109,37</b>	<b>17,29</b>	<b>9,58</b>
<b>F</b>	<b>ns</b>	<b>ns</b>	<b>ns</b>	<b>ns</b>
<b>CV (%)</b>	<b>2,41</b>	<b>3,53</b>	<b>1,76</b>	<b>4,75</b>

*Ghi chú: các số trung bình trong cùng một cột có ít nhất một chữ cái theo sau giống nhau thì khác biệt không ý nghĩa thống kê qua kiểm định LSD. (ns) khác biệt không ý nghĩa.*

Không giống nấm linh chi Nhật, việc tăng khối lượng giá thể/bịch phôi không gây ra hiện tượng mầm nấm không chuyên hóa thành mũ nấm, tuy nhiên giữa các nghiệm thức có khối lượng giá thể khác nhau thì năng suất nấm vẫn không khác biệt ý nghĩa thống kê qua phép thử LSD. Có thể do đặc tính giống nên thời gian xuất hiện mầm nấm cũng như thời gian thu hoạch nấm giữa các nghiệm thức cũng không có sự khác biệt (bảng 16).

Qua kết quả thí nghiệm 4 có thể kết luận được rằng đối với hai giống nấm linh chi Nhật và Hàn, trọng lượng giá thể 1,2 kg/bịch phôi là phù hợp để trồng ở quy mô lớn vì ở lượng giá thể này các đặc điểm sinh trưởng và năng suất nấm không khác biệt so với trọng lượng 1,5 kg/bịch phôi và sẽ mang lại hiệu quả kinh tế hơn.

Từ các kết quả nghiên cứu trên có thể khái quát quy trình trồng hai giống nấm linh chi Nhật và Hàn như sau:

### ***Quy trình trồng nấm linh chi Nhật:***

#### ***Bước 1: Chuẩn bị nguyên liệu và meo giống***

- Mùn cưa cao su được phơi khô loại bỏ dăm bào Tưới nước vôi có pH 12 - 13 lên nguyên liệu, đảo đều đến khi độ ẩm nguyên liệu đạt khoảng 60 - 65%. ủ 1 ngày.

- Môi trường nhân giống cấp 1: Môi trường thạch – khoai tây – muối khoáng có thành phần: khoai tây 200 g, glucoza 20 g, 20 g agar ,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  3 g,  $\text{MgSO}_4.7\text{H}_2\text{O}$  1, 5 g, vitamin B1 10 mg) và bổ sung nước vừa đủ 1000 ml.

- Môi trường nhân giống cấp 2: môi trường lúa bổ sung 10% cám bắp được chuẩn bị như sau: Chọn loại lúa tốt (lúa Tài nguyên), nấu cho vừa nứt nanh, vớt ra để ráo sau đó bổ sung vôi bột 0,5%, mạch nha 0,5%, trộn đều, thêm nước sạch để đạt đến độ ẩm khoảng  $65 \pm 2$  % và cho vào bịch PP chịu nhiệt, khử trùng  $121^\circ\text{C}$  trong 20 phút, để nguội, chủng giống.

#### ***Bước 2: Nhân giống cấp 1 và cấp 2***

Giống gốc được cấy trên môi trường nhân giống cấp 1 nêu trên. Sau 10 ngày giống cấp 1 được cấy sang môi trường nhân giống cấp 2 (Môi trường lúa + 10% cám bắp). Để 15 ngày trong điều kiện nhiệt độ phòng. Khi tơ nấm lan đầy bịch sử dụng cấy sang bịch phôi

#### ***Bước 3. Phối trộn giá thể***

Với tỷ lệ: 83,5% :5% cám gạo:10% Cám bắp:1,3%  $\text{CaCO}_3$ :0,4% DAP, đóng vào các bịch PP chịu nhiệt, mỗi bịch chứa 1,2 kg nguyên liệu. Đóng bịch lại bằng nút và bông không thấm, dùng giấy bịch cổ nút. Hấp thanh trùng giá thể. Để nguội.

#### ***Bước 4. Chủng giống***

Meo giống được chủng vào bịch phôi với lượng khoảng 3 muỗng cà phê/bịch phôi.

#### ***Bước 5: Chăm sóc và thu hoạch***

- Sau khi cấy giống vào, các bịch phôi được ủ nằm ngang trên các kệ trong nhà trồng có hệ thống phun sương: giai đoạn nuôi tơ có độ ẩm khoảng 60 - 70% ở giai đoạn này chỉ tưới nước dưới nền nhà trồng để tạo ẩm độ, tuyệt đối không dùng hệ thống phun sương. Giai đoạn đầu hình thành quả thể: khi chỗ nút bông xuất hiện

mầm nấm tiến hành tháo giấy và nút bông và tiếp tục tưới nước dưới nền nhà, sau 4 ngày tiến hành kết hợp phun sương và tưới nền để tạo độ ẩm 90 - 95%. Giai đoạn quả thể phát triển tạo độ ẩm nhà trồng từ 85 - 95% bằng cách kết hợp tưới phun sương và tưới nền nhà trồng.

- Sau khi mũ nấm già (Rìa mũ nấm không còn đường viền trắng và phóng thích bào tử khoảng 1 tuần) tiến hành thu hoạch bằng cách nhổ cả mũ nấm lẫn cuống nấm. Sau đó phơi nắng đến khi độ ẩm khoảng 11-13% (3kg nấm tươi được 1 kg nấm khô). Bảo quản sản phẩm nơi khô ráo.

- Sau khi thu đợt 1 tiến hành tưới phun sương và tạo ẩm nhà trồng để đón nấm và thu hoạch đợt 2.

### ***Quy trình trồng nấm linh chi Hàn:***

#### ***Bước 1: Chuẩn bị nguyên liệu và meo giống***

- Mùn cưa cao su được phơi khô loại bỏ dăm bào, bã mía được phơi khô và làm tơi ra. Tưới nước vôi có pH 12 - 13 lên nguyên liệu (các nguyên liệu được xử lý riêng). Thời gian ủ mùn cưa cao su là 1 ngày. Riêng đối với bã mía được đảo đều đến khi độ ẩm nguyên liệu đạt khoảng 60 - 65%, ủ khoảng 5 ngày. Sau đó đảo đều đồng ỉ, bổ sung nước (nếu có) để đạt độ ẩm 60 - 65% ủ tiếp 5 ngày.

- Môi trường nhân giống cấp 1: Môi trường thạch – khoai tây – muối khoáng có thành phần: khoai tây 200 g, glucoza 20 g, 20 g agar ,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  3 g,  $\text{MgSO}_4.7\text{H}_2\text{O}$  1,5 g, vitamin B1 10 mg) và bổ sung nước vừa đủ 1000 ml.

- Môi trường nhân giống cấp 2: môi trường lúa bổ sung 10% cám bắp được chuẩn bị như sau: Chọn loại lúa tốt (lúa Tài nguyên), nấu cho vừa nứt nanh, vớt ra để ráo sau đó bổ sung vôi bột 0,5%, mạch nha 0,5%, trộn đều, thêm nước sạch để đạt đến độ ẩm khoảng  $65 \pm 2$  % và cho vào bịch PP chịu nhiệt, khử trùng  $121^\circ\text{C}$  trong 20 phút, để nguội, chủng giống.

#### ***Bước 2: Nhân giống cấp 1 và cấp 2***

Giống gốc được cấy trên môi trường nhân giống cấp 1 nêu trên. Sau 10 ngày giống cấp 1 được cấy sang môi trường nhân giống cấp 2 (Môi trường lúa + 10%



cám bắp). Để 15 ngày trong điều kiện nhiệt độ phòng. Khi tơ nấm lan đầy bịch sử dụng cây sang bịch phôi

### ***Bước 3. Phối trộn giá thể***

Với tỷ lệ: 41,75%: bã mía 41,75%: 5% cám gạo: 10% Cám bắp : 1,3% CaCO<sub>3</sub>: 0,4% DAP, đóng vào các bịch PP chịu nhiệt, mỗi bịch chứa 1,2 kg nguyên liệu. Đóng bịch lại bằng nút và bông không thấm, dùng giấy bịch cố nút. Hấp thanh trùng giá thể. Để nguội.

### ***Bước 4. Chủng giống***

Meo giống được chủng vào bịch phôi với lượng khoảng 3 muỗng cà phê/bịch phôi.

### ***Bước 5: Chăm sóc và thu hoạch***

- Sau khi cấy giống vào, các bịch phôi được ủ nằm ngang trên các kệ trong nhà trồng có hệ thống phun sương: giai đoạn nuôi tơ có độ ẩm khoảng 60 - 70% ở giai đoạn này chỉ tưới nước dưới nền nhà trồng để tạo ẩm độ, tuyệt đối không dùng hệ thống phun sương. Giai đoạn đầu hình thành quả thể: khi chỗ nút bông xuất hiện mầm nấm tiến hành tháo giấy và nút bông và tiếp tục tưới nước dưới nền nhà, sau 4 ngày tiến hành kết hợp phun sương và tưới nền để tạo độ ẩm 90 - 95%. Giai đoạn quả thể phát triển tạo độ ẩm nhà trồng từ 85 - 95% bằng cách kết hợp tưới phun sương và tưới nền nhà trồng.

- Sau khi mũ nấm già (Rìa mũ nấm không còn đường viền trắng và phóng thích bào tử khoảng 1 tuần) tiến hành thu hoạch bằng cách nhổ cả mũ nấm lẫn cuống nấm. Sau đó phơi nắng đến khi độ ẩm khoảng 11-13% (3kg nấm tươi được 1 kg nấm khô). Bảo quản sản phẩm nơi khô ráo.

- Sau khi thu đợt 1 tiến hành tưới phun sương và tạo ẩm nhà trồng để đón nấm và thu hoạch đợt 2.

Nhóm thực hiện đề tài đã tổ chức Hội thảo “**Nấm linh chi đỏ (*Ganoderma lucidum*)-nguồn dược liệu quý và tiềm năng phát triển tại Trà Vinh**” tại Trường Đại học Trà Vinh ngày 03 tháng 4 năm 2015 với hơn 50 đại biểu tham dự là các chuyên gia trồng trọt từ khoa Nông nghiệp - Thủy sản, Trung tâm Khuyến nông -

Khuyến ngư tỉnh Trà Vinh, Trạm Khuyến nông - Khuyến ngư Thành phố Trà Vinh, cán bộ các phòng nông nghiệp, Liên minh Hợp tác xã tỉnh Trà Vinh mà đặc biệt là các hộ nông dân trồng nấm linh chi tại tỉnh Trà Vinh (phôi nấm được mua từ ngoài tỉnh Trà Vinh). Các Đại biểu tham dự hội thảo đánh giá cao về kết quả nghiên cứu, tuy nhiên đa số các đại biểu đề nghị nghiên cứu nuôi trồng nấm linh chi ở các mùa vụ khác nhau để đánh giá toàn diện về khả năng sinh trưởng và đặc tính giống mà đặc biệt là năng suất. Đa số các đại biểu mong rằng trong thời gian tới trường Đại học Trà Vinh có thể bán phôi nấm cho nông dân với giá hợp lý và hỗ trợ kỹ thuật, thu mua sản phẩm để người dân trồng nấm có được lợi nhuận nhằm phát triển loài nấm dược liệu quý này tại tỉnh Trà Vinh qua đó nhằm nâng cao sức khỏe của người dân và góp phần xóa đói, giảm nghèo nâng cao đời sống người dân.

Qua các kết quả nghiên cứu cũng như qua Hội thảo cho thấy triển vọng để phát triển hai giống nấm linh chi đỏ này tại tỉnh Trà Vinh là rất lớn. Đó cũng là thành công bước đầu của đề tài cũng như niềm động viên đối với cán bộ tham gia thực hiện đề tài.



**Hình 11. Hội thảo về nấm linh chi đỏ được tổ chức tại trường Đại học Trà Vinh**

## **CHƯƠNG 3. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ**

### **3.1. KẾT LUẬN**

- Đã xác định được môi trường nhân giống cấp 1 và cấp 2 cho cả hai giống nấm là môi trường thạch - khoai tây - muối khoáng (nhân giống cấp 1) và lúa bổ sung 10% cám bắp (nhân giống cấp 2).

- Trọng lượng giá thể/bịch phù hợp để sản xuất phôi cho cả hai giống nấm là 1,2 kg/bịch phôi. Quả thể của hai giống nấm trồng trên 12 loại giá thể đều chứa saponin, triterpenoid và polysaccharide. Tuy nhiên, đối với giống nấm linh chi Nhật giá thể phù hợp là 83,5% :5% cám gạo:10% Cám bắp:1,3% CaCO<sub>3</sub>:0,4% DAP trong khi thành phần giá thể thích hợp để trồng giống nấm linh chi Hàn là 41,75%: bã mía 41,75%: 5% cám gạo: 10% Cám bắp : 1,3% CaCO<sub>3</sub> : 0,4% DAP.

### **3.2. ĐỀ NGHỊ**

- Tiếp tục nghiên cứu ảnh hưởng của thời vụ trồng đến khả năng sinh trưởng, năng suất và chất lượng của hai giống nấm linh chi.

- Nghiên cứu ảnh hưởng của thời gian thu hoạch đến hàm lượng polysaccharide và triterpenoid trong quả thể từng giống nấm.

- Xác định hàm lượng triterpenoid trên quả thể hai giống nấm được trồng trên các giá thể có năng suất tương đương với giá thể được chọn.

- Nghiên cứu ảnh hưởng các loại giá thể mới để trồng nấm linh chi như: mùn cưa keo lai, mùn cưa bằng nhót và các chất bổ sung: cám gạo, cám bắp, bột đậu nành đến năng suất và chất lượng nấm linh chi.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

### Tiếng Việt

- [1] Nguyễn Lâm Dũng. 2001. Công nghệ nuôi trồng nấm, tập 1 và 2. Nhà xuất bản Nông nghiệp, Hà nội.
- [2] Nguyễn Hữu Đông. 2003. Nuôi trồng chế biến nấm ăn và nấm làm thuốc chữa bệnh. Nhà xuất bản Nông nghiệp, Hà nội.
- [3] Trần Hùng, 2004. Phương pháp nghiên cứu dược liệu. Đại học Y Dược TP.HCM.
- [4] Nguyễn Minh Khang. 2001. Khảo sát sinh trưởng nấm Linh chi đen (*Amauroderma subresinosum*, Corner) phát hiện tại vùng núi Chứa Chan - Việt Nam. Luận văn tốt nghiệp Đại học. đại học Nông Lâm Thành phố Hồ Chí Minh.
- [5] Nguyễn Vũ Duy Khánh, 2009. Xây dựng quy trình sản xuất sinh khối sợi nấm *Ganoderma lucidum*. Luận văn tốt nghiệp. Trường Đại Học Tôn Đức Thắng TP Hồ Chí Minh.
- [6] Trần Văn Mão, 2004. Nuôi trồng chế biến nấm ăn và nấm làm thuốc chữa bệnh. Nhà xuất bản Nông nghiệp, Hà nội.
- [7] Lý Thị Bé Nghi. 2013. Khảo sát ảnh hưởng của môi trường nhân giống và giá thể đến năng suất nấm Hoàng chi (*Ganoderma colossum*). Luận văn tốt nghiệp Thạc sĩ. đại học Nông Lâm Thành phố Hồ Chí Minh.
- [8] Cao Đăng Nguyên, 2010. Nghiên cứu một số thành phần hợp chất cơ bản trong nấm Xích chi (*Ganoderma lucidum*) và Hoàng chi (*Ganoderma colossum*)- loài quý hiếm vừa mới phát hiện ở Thừa Thiên Huế. Trường Đại Học Huế
- [9] Lê Xuân Thám. 1996. Nấm Linh chi - dược liệu quý ở việt nam. Nhà xuất bản mùi cà mau.
- [10] Lê Xuân Thám. 1996. Nghiên cứu đặc điểm sinh học và đặc điểm hấp thu khoáng nấm Linh chi *Ganoderma lucidum* (*Leyss.ex Fr*).*Karst*. Luận án phó

tiến sỹ khoa học sinh học, Đại học Khoa Học Tự Nhiên, Đại học Quốc Gia Hà nội, Việt nam.

- [11] Lê Xuân Thám, 2005. Nấm Linh chi vàng - nấm Hoàng chi. Báo khoa học phổ thông, số 31/05 (1154).
- [12] Lê Duy Thắng, 2001. Kỹ thuật nuôi trồng nấm ăn, tập 1. Nhà xuất bản Nông nghiệp.

### **Tiếng Anh**

- [1] Chang, S.T.; Buswell, J.A. *Ganoderma lucidum* (Curt.: Fr.) P. Karst. (Aphyllophoromycetidae)— *a mushrooming medicinal mushroom*. Int. J. Med. Mushrooms 1999, 1 (2), 139–146.
- [2] Chen, A.W., Cultivation of the medicinal mushroom *Ganoderma lucidum* (Curt: Fr) P, Karst. (Reishi). IJMM 1: 263-282.
- [3] Cui Yue-Hua và Ke-Chang Zhang. 2011. Effect of metal ions on the growth and metabolites production of *Ganoderma lucidum* in submerged culture. African Journal of Biotechnology Vol. 10(56), pp. 11983-11989.
- [4] Eo, S.K.; Kim, Y.S.; Lee, C.K.; Han, S.S. Antiherpetic activities of various protein bound polysaccharides isolated from *Ganoderma lucidum*. J. Ethnopharmacol. 1999, 68, 175–181.
- [5] Gao, Y.; Zhou, Sh.; Huang, M.; Xu, A. Antibacterial and antiviral value of the genus *Ganoderma* P. Karst. species (Aphyllophoromycetidae): a review. Int. J. Med. Mushrooms 2003, 5 (3), 235–246.
- [6] Gurung, O. K.; U. Budathoki and G. Parajuli. 2012. Effect of different substrates on the production of *Ganoderma lucidum* (Curt.: Fr.) Karst. Our nature 2012, 10: 191-198
- [7] Hobbs, Ch. *Medicinal Mushrooms: An Exploration of Tradition, Healing, and Culture*, 2<sup>nd</sup> Ed.; Botanica Press, Inc.: Santa Cruz, CA, USA, 1995.
- [8] Jong, S.C.; Birmingham, J.M. Medicinal benefits of the mushroom *Ganoderma*. Adv. Appl. Microbiol. 1992, 37, 101–134. Translated.

- [9] Liu, G.T. Recent advances in research of pharmacology and clinical applications of *Ganoderma* P. Karst. species (Aphyllphoromycetidae) in China. *Int. J. Med. Mushrooms* 1999, 1 (1), 63–68.
- [10] McKenna, D.J.; Jones, K.; Hughes, K. *Reishi Botanical Medicines*. The Desk reference for Major Herbal Supplements, 2nd Ed.; The Haworth Herbal Press: New York, London, Oxford, 2002; 825–855.
- [11] Moncalvo, J.-M.; Ryvarden, L. A Nomenclatural study of the Ganodermataceae Donk; *Synopsis Fungorum* 11; *Fungiflora*: Oslo, Norway, 1997; 114.
- [12] Mueller, A.; Raptis, J.; Rice, P.J.; Kalbfleisch, J.H.; Stout, R.D.; Ensley, H.E.; Browder, W.; Williams, D.L. The influence of glucan polymer structure and solution conformation on binding to (1,3)-beta-D-glucan receptors in a human monocyte-like cell line. *Glycobiology* 2000, 10, 339–346.
- [13] Ooi, V.E.C.; Liu, F. Immunomodulation and anti-cancer activity of polysaccharide–protein complexes. *Curr. Med. Chem.* 2000, 7, 715–729.
- [14] Petra Maszlavér, 2008. Cultivatiion possibilities for production of Reishi *Ganoderma lucidum* (*Curt.FR.*) Karst in Hungary. Corvinus University of Budapest, Hungary.
- [15] Smith, J.; Rowan, N.; Sullivan, R. *Medicinal Mushrooms. Their Therapeutic Properties and Current Medical Usage with Special Emphasis on Cancer Treatment*; Special Report Commissioned by Cancer Research UK; The University of Strathclyde in Glasgow, 2002; 256.
- [16] Toth, J.O.; Luu, B.; Ourisson, G. Ganoderic acid T and Z: cytotoxic triterpenes from *Ganoderma lucidum* (*Polyporaceae*). *Tetrahedron Lett.* 1983, 24, 1081–1084.
- [17] Wasser, S.P.; Weis, A.L. *Medicinal Mushrooms. Ganoderma lucidum*, (Curtis: Fr.), P. Karst; Nevo, E., Eds.; Peledfus Publ House: Haifa, Israel, 1997; 39.

- [18] Zhou, Sh.; Gao, Y. The immunomodulating effects of *Ganoderma lucidum* (Curt.: Fr.) P. Karst. (Ling Zhi, reishi mushroom) (Aphyllophoromycetidae). Int. J. Med. Mushrooms 2002, 4 (1), 1–11.
- [19] Wang, Y.Y.; Khoo, K.H.; Chen, S.T.; Lin, C.C.; Wong, C.H.; Lin, C.H. Studies on the immunomodulating and antitumor activities of *Ganoderma lucidum* (Reishi) polysaccharides: functional and proteomic analyses of a fucosecontaining glycoprotein fraction responsible for the activities. Bioorg. Med. Chem. 2002, 10, 1057–1062.
- [20] Wasser, S.P. Medicinal mushrooms as a source of antitumor and immunomodulating polysaccharides. Appl. Microbiol. Biotechnol. 2002, 60, 258–274.
- [21] Yihuai Gao, Guoliang Chen, Jin Lan, He Gao and Shufeng Zhou. 2001. Extractoin of Ganoderma polysaccharides at relatively low temperature. Froc Int Symposium Ganoderma Sci, Auckland

**Trang web**

- [1] <http://www.namlinhchihq.com/tin-tuc/trong-nam-linh-chi-tren-ba-mia.html>
- [2] <http://www.khoahoc.com.vn/m/ung-dung/45612.aspx>
- [3] <http://www.dongtrunglinhchi.com/cac-loai-linh-chi-quy-luc-bao-linh-chi/>
- [4] <http://www.vinhphucdost.gov.vn/index.php?mode=14&id=23262&strContent=29&strShow=261>