

NGHIÊN CỨU TRỒNG NẤM VÂN CHI (*Trametes versicolor* L. pilat) BẰNG GIỐNG DỊCH THỂ THAY THẾ GIỐNG HẠT TRUYỀN THỐNG TẠI THÀNH PHỐ ĐÀ NẴNG

Đoạn Chí Cường^{1,*}, Nguyễn Thị Bích Hằng¹, Cao Thị Ái Vân², Trần Ngọc Quang²

Tóm tắt. Nấm Vân chi (*Trametes versicolor* L. Pilat) là một trong những loại nấm có giá trị dược liệu quý được sử dụng ngày càng nhiều. Trong nấm Vân chi có chứa các hợp chất polysaccharide liên kết với protein đó là polysaccharide peptide (PSP) và polysaccharide krestin (PSK) có tác dụng ức chế nhiều loại tế bào ung thư như các tế bào ung thư biểu mô (carcinoma) và tế bào ung thư máu (leukemia). Trong nghiên cứu của chúng tôi về nuôi trồng nấm Vân chi bằng giống dịch thể cho thấy giống dịch thể phát triển tốt nhất trên môi trường PD cải tiến: khoai tây 200 g, glucose 20 g, peptone 2 g, cao nấm men 2 g. Thời gian nuôi hoàn thiện giống cho nuôi trồng quả thể là 9 ngày. Tỷ lệ cấy giống dịch thể với tỷ lệ 60 mL/bịch phôi 1500g cho kết quả nấm Vân chi sinh trưởng, phát triển và năng suất tốt nhất với thời gian ươm bịch là 20,9 ngày; thời gian ra quả thể đầu tiên là 28,97 ngày và tỷ lệ nhiễm bệnh 0 %, năng suất nấm đạt 58,7 g/kg nguyên liệu khô sau 75 ngày cấy giống. Sử dụng giống nấm dịch thể trong nuôi trồng nấm Vân chi có thể rút ngắn được chu kỳ mùa vụ từ 10-15 ngày/chu kỳ.

Từ khóa: Hệ sợi nấm, lên men chìm, nấm Vân chi, nấm dược liệu, nuôi trồng giống lỏng.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Nấm loại thảo dược thiên nhiên, là phần quan trọng của nền y học nhân loại, không những được ứng dụng trong hỗ trợ và điều trị bệnh, nấm được xem là nguồn tài nguyên dược liệu giá trị không thể thiếu trong cuộc sống hiện đại (Dennis, 2012). Trên thế giới có khoảng 2000 loại nấm có thể ăn và làm thuốc, ngoài nguồn nấm thu hái từ thiên nhiên, người ta đã trồng được hơn 60 loại theo phương pháp thủ công, bán công nghiệp, công nghiệp với hiệu quả và năng suất cao (Nguyễn Thị Chính, 2011; Nguyễn Lâm Dũng, 2002). Nhiều nhà khoa học cho rằng nấm sẽ là một trong những thực phẩm rất quan trọng và thông dụng của con người trong tương lai (Nguyễn Hữu Đống, 2000).

Nấm vân chi (*Trametes versicolor* L. Pilat) là một loại nấm có giá trị dược liệu tốt, đã và đang được người tiêu dùng ở các nước như Trung Quốc, Nhật Bản, các nước châu Âu, châu Mỹ ưa chuộng. Trong nấm Vân chi có chứa các hợp chất polysaccharide liên kết với protein, gồm hai loại chính là PSP và PSK. Chúng có tác dụng ức chế nhiều loại tế bào ung thư như các tế bào ung thư biểu mô (carcinoma), các tế bào ung thư máu (leukemia). Các chất này được coi là có khả năng chữa trị ung thư, tăng miễn dịch cơ thể, chống các

¹ Trường Đại học Sư phạm, Đại học Đà Nẵng

² Trường Đại học Thể dục Thể thao Đà Nẵng

* Email: dccuong@ued.udn.vn

phản ứng phụ của xạ trị và hoá trị, ức chế sự nhân lên của HIV (Nguyễn Thị Bích Thùy, 2014). Tuy nhiên, hiện nay ở Việt Nam chưa có nhiều nghiên cứu về nấm Vân chi và ngành trồng nấm Vân chi chưa phát triển rộng rãi. Trong khi đó ở Nhật Bản và các nước khác đã có rất nhiều sản phẩm thương mại từ Vân chi. Theo báo cáo của Tổ chức Nông lương Thế giới (FAO, 2015), các biệt dược bào chế từ nấm Vân chi đứng đầu trong 10 loại thuốc hỗ trợ điều trị ung thư được tiêu thụ mạnh nhất tại thị trường Nhật Bản, với doanh số năm hàng năm đạt tới 358 triệu USD.

Tuy có những giá trị đáng quý như vậy nhưng việc nuôi trồng nấm Vân chi để thu quả thể với năng suất cao vẫn còn là bài toán khó đối với nhiều nhà sản xuất nấm. Vì nuôi trồng nấm phụ thuộc rất nhiều vào nguồn giống, yếu tố thời tiết, môi trường, côn trùng gây hại và thời gian để thu hoạch quả thể tiêu tốn thời gian dài. Bên cạnh đó, để tạo ra quả thể nấm đạt chất lượng tốt cần được thực hiện với quy trình công nghệ hiện đại, kỹ thuật cao. Để khắc phục những nhược điểm của nuôi trồng thu quả thể hiện nay người ta đã tiếp cận với cách nuôi trồng mới là nuôi sinh khối nấm trong môi trường dịch thể và sử dụng giống lỏng để thay thế giống hạt truyền thống nhằm rút ngắn thời gian nuôi trồng, giảm tỉ lệ nhiễm các bệnh thường trong giai đoạn ươm bịch phôi, không đòi hỏi những điều kiện khắt khe như phương pháp truyền thống, đặc biệt là giảm chi phí do không phải sử dụng một khối lượng lớn hạt ngũ cốc, dễ dàng áp dụng thiết bị trong sản xuất giống và cấy giống vào các túi giá thể (Nguyễn Duy Lâm, 2013). Do đó, đây là một phương pháp đầy triển vọng thay thế cho phương pháp nuôi trồng truyền thống (Cồ Thị Thùy Vân, 2015; Fang, 2002). Trong nghiên cứu này, chúng tôi tiến hành khảo sát điều kiện thích hợp để nhân giống dịch thể nấm Vân chi từ đó ứng dụng nuôi trồng nấm tại Đà Nẵng nhằm đánh giá sự sinh trưởng phát triển của nấm so với giống hạt truyền thống.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Giống nấm Vân chi (*Trametes versicolor* L. Pilat) sử dụng trong nghiên cứu này có nguồn gốc từ Phòng Nấm thuộc Khoa Sinh - Môi trường, Trường Đại học Sư phạm - Đại học Đà Nẵng.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Khảo sát sự tăng trưởng của hệ sợi nấm Vân chi trong các môi trường dinh dưỡng lỏng.

Tiến hành khảo sát trên 5 loại môi trường dịch thể đã loại bỏ agar: Môi trường PD cải tiến: khoai tây: 200 g; glucose: 20 g; peptone: 2,5 g; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$: 0,5 g; KH_2PO_4 : 1 g; cao nấm men (CNM): 2,5 g. Môi trường Chang: glucose: 20 g; peptone: 2 g; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$: 0,5 g; KH_2PO_4 : 0,46 g; K_2HPO_4 : 1 g. Môi trường Agaricus: khoai tây: 200 g; glucose: 20g; peptone: 2 g; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$: 0,5 g; Na_2HPO_4 : 1 g. Môi trường Raper: peptone: 2 g; CNM: 2 g; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$: 0,5 g; K_2HPO_4 : 1 g; KH_2PO_4 : 0,46 g. Môi trường Czapek: glucose: 30 g; $MgSO_4$: 0,5 g; KCl: 0,5 g; $NaNO_3$: 3 g. Các loại môi trường này được chuẩn bị trong thể tích 1 L.

Cho 50 mL môi trường vào chai thủy tinh cùng đường kính. Mỗi môi trường được thực hiện 10 bình, hấp khử trùng ở 121 °C trong 20 phút. Để nguội sau đó cấy giống từ

môi trường thạch, mỗi bình cấy một miếng thạch 0,5 cm³ cắt từ ống nghiệm giống cấp 1. Ủ ở nhiệt độ phòng (từ 25 - 30 °C), tiến hành thu và cân sinh khối sau 15 ngày. Sau đó chọn ra môi trường có sự tăng trưởng hệ sợi nấm Vân chi tốt nhất. Thí nghiệm khảo sát sự tăng trưởng của hệ sợi nấm này được tiến hành trên môi trường nuôi cấy tĩnh (không nuôi trong điều kiện lắc).

Khảo sát ảnh hưởng của thời gian thu sinh khối giống

Bố trí thí nghiệm với 10 bình tam giác 100 mL chứa môi trường PD cải tiến (PD⁺) bao gồm khoai tây 200 g, glucose 20 g, peptone 2 g, cao nấm men 2 g, nước cất đủ 1000 mL.

Khử trùng môi trường bằng nồi Autoclave 121 °C trong 20 phút. Sau khi môi trường nguội, cấy giống từ môi trường thạch, mỗi chai cấy 1 miếng thạch 0,5 cm³ cắt từ ống nghiệm giống cấp 1. Nuôi cấy lắc 120 vòng/phút ở nhiệt độ phòng (25±2 °C). Sau các khoảng thời gian 3, 5, 7, 9, 12 ngày tiến hành thu sinh khối và cân sấy, sau đó lựa chọn ra thời gian thu sinh khối tốt nhất.

Nuôi trồng thử nghiệm (Nguyễn Duy Lâm, 2013)

Thí nghiệm nuôi trồng được tiến hành trên cùng một loại giá thể truyền thống là mùn cưa cao su với tỷ lệ phối trộn: 89 % mùn cưa cao su, 5 % bột cám gạo, 5 % bột cám bắp, 1 % bột nhẹ. Thí nghiệm được bố trí theo phương pháp khối hoàn toàn ngẫu nhiên với 3 lần lặp lại, mỗi nghiệm thức với số lượng 15 bịch. Bịch nấm cấy giống xong được nuôi trong phòng ở điều kiện tối, nhiệt độ 27±2 °C. Theo dõi sự phát triển của tơ nấm và quả thể ở mỗi nghiệm thức.

Bảng 1. Các nghiệm thức trong nghiên cứu

TT	Nghiệm thức (NT)	Hàm lượng giống/1500 g giá thể
1	Đ/C (Đối chứng) (n = 15)	50 g giống hạt
2	NT1 (n = 15)	30 mL
3	NT2 (n = 15)	45 mL
4	NT3 (n = 15)	60 mL
5	NT4 (n = 15)	75 mL
6	NT5 (n = 15)	90 mL

Đánh giá năng suất sinh học của nấm Vân chi và tỉ lệ nhiễm nấm dại (Nguyễn Duy Lâm, 2013, Liang, 2009)

Năng suất sinh học của nấm được tính theo công thức (1):

$$\frac{\text{Khối lượng nấm tươi}}{\text{Khối lượng nguyên liệu}} \times 100 \quad (1)$$

So sánh hiệu quả của việc sử dụng giống dạng lỏng và dạng hạt thông qua các chỉ tiêu: thời gian hoàn thành pha sợi, thời gian hình thành quả thể, sản lượng nấm trung bình từng túi và hiệu suất sinh học sau 3 đợt thu hái kết thúc ở ngày thứ 30 từ lúc thu hái đợt thứ nhất.

Tỷ lệ nhiễm được xác định qua công thức (2):

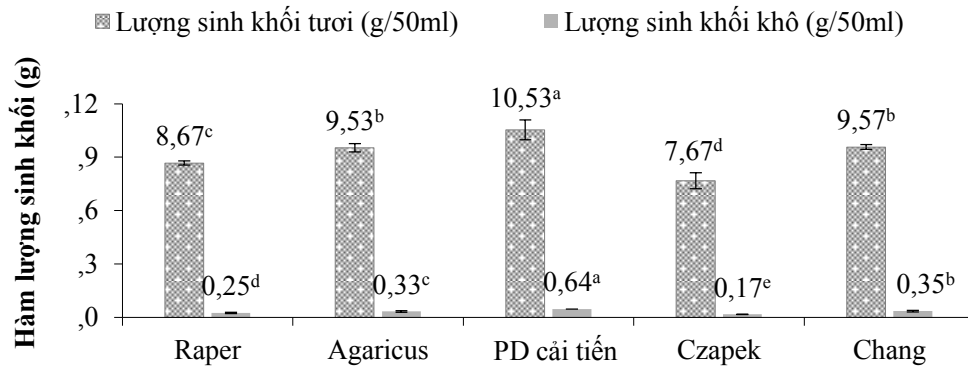
$$\frac{\text{Tổng số bịch phôi bị nhiễm}}{\text{Tổng số bịch phôi nuôi cấy được}} \times 100 \quad (2)$$

Số liệu thu thập được phân tích phương sai và kiểm định LSD ở mức ý nghĩa 5 % để so sánh sự khác biệt giữa các giá trị bằng chương trình thống kê Microsoft Excel 365.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Ảnh hưởng của môi trường dinh dưỡng đến sinh khối hệ sợi nấm Vân chi

Dinh dưỡng là yếu tố quan trọng ảnh hưởng đến quá trình sinh trưởng của hệ sợi nấm. Đặc biệt trong việc sản xuất giống nấm dịch thể, môi trường dinh dưỡng làm tăng mật độ hệ sợi nấm trên một đơn vị thể tích là lợi thế lớn.

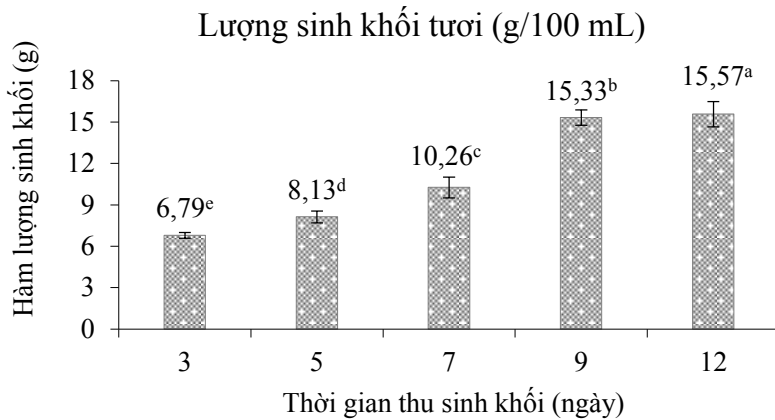


Hình 1. Hàm lượng sinh khối tươi của hệ sợi nấm Vân chi thu được trên 50 mL ở các môi trường nuôi cấy

Kết quả ở Hình 1 cho thấy, môi trường PD cải tiến cho sinh khối hệ sợi cao nhất đạt 10,53 g/50 mL sinh khối tươi và 0,64 g/50 mL sinh khối khô. Điều này cho thấy môi trường PD cải tiến có đầy đủ nguồn dinh dưỡng cung cấp cho hệ sợi nấm để tổng hợp các chất hữu cơ: protein, purin cho vách tế bào đảm bảo sợi phát triển tốt. Ở các môi trường Raper và Czapek cũng tạo ra lượng sinh khối tương đối thấp, lần lượt là 8,67g/50 mL và 0,25 g/50 mL (sinh khối tươi), 7,67 g/50 mL và 0,17 g/50 mL (sinh khối khô) do không chứa các nguồn dinh dưỡng tự nhiên nên hệ sợi phát triển kém, sinh khối thu được rất thấp. Theo nghiên cứu Bolla (2010) bổ sung vào môi trường nuôi cấy sinh khối hệ sợi nấm Vân chi bằng tám nguồn đạm, kết quả chứng minh casein và cao nấm men là nguồn đạm cho sinh khối hệ sợi nấm vân chi cao đáng kể sau 7 ngày nuôi cấy. Từ kết quả này cho thấy ở hàm lượng nhất định thì cao nấm men và peptone là nguồn đạm giúp sinh khối sợi tăng trưởng đáng kể và các nguồn dinh dưỡng bổ sung tự nhiên từ khoai tây cũng rất thích hợp cho hệ sợi nấm phát triển. Nitơ hữu cơ được sử dụng rộng rãi nhất cho hầu hết các loại nấm và cho hiệu quả sinh trưởng của hệ sợi nấm trong môi trường dịch thể cao hơn nguồn vô cơ. Ngoài ra, nghiên cứu khác của Shih (2007), Elisashvili (2012) khẳng định nitơ hữu cơ phù hợp cho sinh trưởng của hệ sợi nấm.

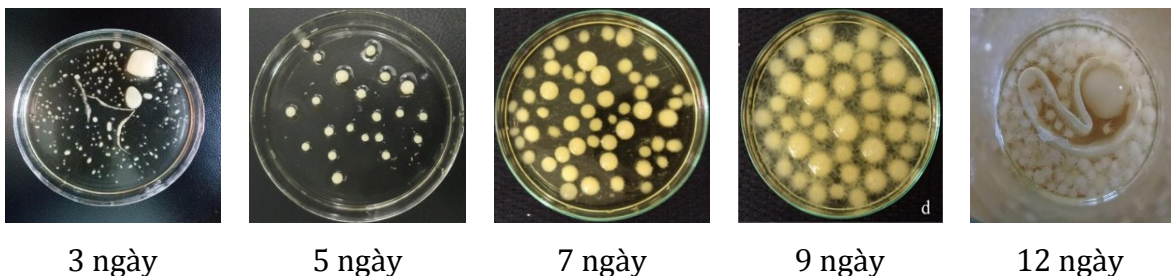
3.2. Ảnh hưởng của thời gian lên men đến sự sinh trưởng hệ sợi nấm Vân chi

Trong quá trình phát triển của hệ sợi nấm, thời gian sinh trưởng là yếu tố quan trọng trong việc thu sinh khối của hệ sợi nấm, ảnh hưởng đến hiệu quả của phương pháp sản xuất giống về mật độ và thời gian hoàn thiện giống thương phẩm của giống dịch thể và giống truyền thống như giống hạt, giống dạng que. Vì vậy, để đánh giá ảnh hưởng của thời gian nuôi cấy đến sinh trưởng của hệ sợi nấm Vân chi, chúng tôi tiến hành lên men hệ sợi nấm Vân chi ở điều kiện 120 vòng/phút sau thời gian 3, 5, 7, 9, 12 ngày tiến hành thu sinh khối.



Hình 2. Ảnh hưởng của thời gian nuôi cấy đến sinh khối hệ sợi nấm

Lượng sinh khối thu được ở các thời điểm có sự khác nhau (Hình 2). Trong đó, lượng sinh khối khô thu được tăng dần từ ngày thứ 3 đến ngày thứ 12. Vì thời gian đầu cần phải thích nghi với môi trường nên hệ sợi nấm chưa phát triển mạnh do đó sinh khối khô thu được còn thấp nhưng lượng sinh khối thu được tăng dần từ ngày thứ 3 đến ngày thứ 7. Ngày thứ 9 thì sinh khối đạt 15,33 g/100 mL tăng đáng kể so với ngày thứ 7 do hệ sợi nấm đã thích nghi tốt với môi trường dinh dưỡng. Lên đến ngày thứ 12 lượng sinh khối tăng cao nhất đạt 15,57 g/100 mL nhưng sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê so với lượng sinh khối thu được ở ngày thứ 9.



Hình 3. Hình dạng hệ sợi nấm Vân chi bằng nuôi cấy lắc qua các khoảng thời gian 3, 5, 7, 9, và 12 ngày

Hình thái hệ sợi nấm Vân chi có sự thay đổi về hình dạng và kích thước theo thời gian nuôi cấy. Những ngày đầu, hệ sợi nấm bắt đầu phát triển thành hạt nhỏ li ti và có màu trắng đục. Sau 7 ngày sợi tăng về kích thước. Đến ngày thứ 9 xuất hiện tua nhỏ xung quanh, kích thước sợi tăng nhanh. Ngày thứ 12, hệ sợi có nhiều tua dài mọc xung quanh,

kích thước sợi tăng. Sau 12 ngày, các tua có dấu hiệu bắt đầu đứt gãy, tại thời điểm này dịch nuôi cấy có màu trong và gần như cạn kiệt dinh dưỡng. Do đó sợi ngừng tăng về kích thước và khối lượng. Như vậy, kết quả cho thấy rằng thu sinh khối nấm Vân chi tại thời điểm sau 9 ngày nuôi cấy lác là tốt nhất để nuôi trồng nấm vân chi, tại đây hệ sợi phân tán đều, chưa kết mảng sẽ giúp hệ sợi nấm dễ dàng thấm qua cơ chất để hút chất dinh dưỡng thuận lợi cho sự sinh trưởng, phát triển.

3.3. Ảnh hưởng của tỉ lệ tiếp giống đến tốc độ lan tơ của hệ sợi nấm Vân chi

Nghiên cứu tỉ lệ tiếp giống ảnh hưởng đến tốc độ sinh trưởng phát triển của hệ sợi nấm Vân chi trên giá thể nuôi trồng có ý nghĩa rất quan trọng trong việc xác định hàm lượng giống thích hợp để thời gian hoàn thiện bịch phôi nhanh nhất rút ngắn được chu kì nuôi trồng cho một mùa vụ. Kết quả thí nghiệm ảnh hưởng tỉ lệ tiếp giống đến tốc độ lan tơ của hệ sợi nấm Vân chi ở các nghiệm thức được trình bày ở Bảng 2. Có sự khác nhau về tốc độ lan tơ ở thí nghiệm sử dụng giống dạng hạt và giống dịch thể.

Bảng 2. Tốc độ lan tơ hệ sợi nấm Vân chi trên các nghiệm thức

Nghiệm thức	Tốc độ lan tơ (cm)			
	5 ngày	10 ngày	15 ngày	20 ngày
ĐC	0,93 ^d ± 0,16	1,76 ^d ± 0,15	2,65 ^d ± 0,16	5,24 ^d ± 0,14
NT1	1,25 ^c ± 0,14	4,23 ^c ± 0,18	6,90 ^c ± 1,01	9,70 ^c ± 0,25
NT2	1,83 ^b ± 0,05	4,94 ^b ± 0,13	8,08 ^b ± 0,2	10,45 ^b ± 0,19
NT3	2,13 ^a ± 0,04	6,57 ^a ± 0,3	9,28 ^a ± 0,2	11,26 ^a ± 0,10
NT4	1,76 ^b ± 0,06	5,12 ^b ± 0,27	7,96 ^b ± 0,05	11,21 ^a ± 0,11
NT5	0	0	0	0

Chi chú: Các chữ cái khác nhau trên cùng một cột chỉ sự sai khác có ý nghĩa thống kê với $p = 0,05$.

Nhìn chung các nghiệm thức được tiếp giống dịch thể có tốc độ lan tơ nhanh hơn với giống dạng hạt. NT3 với tỉ lệ tiếp giống 60 mL/bịch có tốc độ lan tơ nhanh nhất sau 20 ngày, nhanh gần gấp đôi ở nghiệm thức ĐC giống dạng hạt. Ở NT4 tỉ lệ tiếp giống 75 mL/bịch không làm tốc độ lan tơ ở bịch phôi nhanh hơn NT3, cả 2 nghiệm thức có tốc độ lan tơ gần như xấp xỉ nhau. NT2 và NT1 (tỉ lệ tiếp giống dịch thể 45 mL/bịch và 30 mL/bịch) có tốc độ lan tơ sau 20 ngày lần lượt là 10,45 cm và 9,7 cm. Cuối cùng là nghiệm thức ĐC được giống dạng hạt có tốc độ lan tơ chậm nhất đến ngày thứ 20 mà chỉ đạt 5,24 cm. Còn NT5 với tỉ lệ tiếp giống 90 mL/bịch, hàm lượng nước bổ sung vào bịch phôi nhiều dẫn đến hiện tượng úng bịch phôi nên hệ sợi nấm Vân chi không thể lan trên giá thể nuôi trồng được. Như vậy, xét trên các phương diện tốc độ lan tơ, tiết kiệm giống và tránh bổ sung quá nhiều nước vào giá thể thì tỉ lệ tiếp giống 60 mL/bịch ở NT3 là nên sử dụng để nuôi trồng nấm Vân chi bằng giống dịch thể với khối lượng giá thể 1500 g/bịch phôi.

3.4. Ảnh hưởng của giống dịch thể đến khả năng sinh trưởng và phát triển của quả thể nấm Vân chi

Nghiên cứu của nhiều tác giả về việc so sánh ưu nhược điểm của giống dịch thể và giống dạng hạt, trong đó nghiên cứu của Kawai (1995) cho thấy nuôi trồng nấm Hương

(*Lentinula edodes*) bằng giống dịch thể giúp giảm thời gian ủ sợi xuống còn 30 ngày. Nghiên cứu của Nguyễn Duy Lâm (2013) về trồng nấm Sò trắng (*Pleurotus pulmonarius*) bằng giống dịch thể, thời gian lan hệ sợi được hoàn thiện bịch phôi giảm 5 ngày so với giống dạng hạt. Nghiên cứu của Ngô Xuân Nghiễn (2016) về việc sử dụng giống dịch thể trong nuôi trồng nấm Chân dài (*Clitocybe maxima*) thì thời gian hoàn thiện bịch phôi rút ngắn 12 ngày/chu kỳ so với giống dạng hạt. Hay nghiên cứu của Phạm Thị Thu (2018) trong ứng dụng giống dịch thể nuôi trồng nấm Sò vàng (*Pleurotus citrinopileatus*) đã giúp rút ngắn thời gian sinh trưởng hệ sợi xuống 4-5 ngày, với tỉ lệ nhiễm giảm 1,5 % và thời gian ra quả thể ngắn hơn 3-4 ngày so với giống nấm dạng hạt. Như vậy, nhìn chung ngoài khả năng giúp cho hệ sợi nấm có khả năng lan nhanh trên giá thể, giống nấm dịch thể giúp cho các loại nấm có thời gian ra quả thể nhanh hơn và hạn chế được tỉ lệ nhiễm bệnh tốt hơn so với giống nấm dạng hạt.

Trong nghiên cứu của chúng tôi, khi so sánh khả năng phát triển quả thể nấm Vân chi bằng nuôi trồng giống nấm dịch thể và giống hạt, kết quả nghiên cứu cho thấy thời gian ươm sợi của giống nấm dịch thể nhanh hơn từ 8-13 ngày so với giống dạng hạt (Bảng 3). Trong đó NT3 với tỉ lệ tiếp giống dịch thể ở 60 mL/bịch cho thời gian ươm sợi nhanh nhất (20,9 ngày). Về tỉ lệ nhiễm bệnh, nhìn chung khả năng nhiễm bệnh của nuôi trồng bằng giống nấm dịch thể cao hơn so với giống dạng hạt. Tuy nhiên, kết quả từ Bảng 3 cho thấy tỉ lệ nhiễm của NT3 là 0 % giống như nuôi trồng bằng giống dạng hạt, NT1 và NT2 chỉ chiếm 6 %, ở hai nghiệm thức còn lại ở có tỉ lệ nhiễm cao (40 % và 100 %) so với giống dạng hạt. Về thời gian hình thành quả thể, tất cả các nghiệm thức nuôi trồng bằng giống dịch thể có thời gian hình thành mầm quả thể sớm hơn giống dạng hạt từ 9-17 ngày. Như vậy NT3 với tỉ lệ tiếp giống 60 mL/bịch có khả năng sinh trưởng, phát triển tốt nhất về thời gian ươm bịch, ra quả thể và tỉ lệ nhiễm mầm bệnh so với các nghiệm thức còn lại, đặc biệt so với nghiệm thức nuôi trồng bằng giống dạng hạt truyền thống.

Bảng 3. Thời gian sinh trưởng và phát triển của hệ sợi nấm Vân chi

Nghiệm thức	Chi tiêu đánh giá		
	Thời gian hệ sợi phủ kín bịch nguyên liệu (ngày)	Thời gian xuất hiện mầm quả thể (ngày)	Tỷ lệ nhiễm nấm dại (%)
ĐC	33,67 ^a ± 0,14	45,54 ^a ± 0,27	0
NT1	25,33 ^b ± 0,31	36,50 ^b ± 0,05	6
NT2	23,00 ^c ± 0,06	31,07 ^c ± 0,19	6
NT3	20,90 ^d ± 0,82	28,97 ^d ± 0,03	0
NT4	22,73 ^c ± 0,36	30,62 ^c ± 0,12	40
NT5	0	0	100

Chi chú: Các chữ cái khác nhau trên cùng một cột chỉ sự sai khác có ý nghĩa thống kê với $p = 0,05$.

3.5. Kích thước và năng suất của quả thể nấm Vân Chi khi được nuôi trồng bằng giống dịch thể và giống dạng hạt

Kích thước ngang tán của của nấm Vân chi nuôi trồng bằng giống dịch thể lớn hơn 3,38 cm; kích thước dọc không có sự khác biệt so với giống dạng hạt (Bảng 4). Năng suất

nấm Vân chi được nuôi trồng bằng giống nấm dịch thể đạt 58,7 g và giống nấm dạng hạt 61,2 g nhưng sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê. Nghiên cứu của chúng tôi có kết quả tương tự với nghiên cứu của Ngô Xuân Nghiễn (2016) trên nấm Chân dài, năng suất nuôi trồng ở hai dạng giống là như nhau. Ngoài ra, trong nghiên cứu Phạm Thị Thu (2018) trên nấm Sò vàng cũng không có sự khác biệt về năng suất ở giống nấm dịch thể và giống nấm dạng hạt. Tuy nhiên màu sắc của nấm Sò vàng nuôi trồng bằng giống dịch thể có màu nhạt hơn nhưng kích thước tán đồng đều hơn so với giống dạng hạt.

Bảng 4. Kích thước và năng suất nấm Vân chi nuôi bằng giống dạng hạt và dạng dịch thể

Nghiệm thức	Kích thước dọc	Kích thước ngang	Khối lượng nấm tươi/kg NL khô (g)	Khối lượng nấm khô/kg NL khô (g)
Đối chứng	3,95 ^a ± 0,68	6,87 ^b ± 1,32	63,7 ^a ± 0,94	61,2 ^a
NT3	3,2 ^a ± 0,31	10,25 ^a ± 1,48	61,9 ^a ± 0,89	58,7 ^a

Ghi chú: Các chữ cái khác nhau trên cùng một cột chỉ sự sai khác có ý nghĩa thống kê với $p = 0,05$.



(A) Mẫu đối chứng

(B) Mẫu NT4

Hình 4. Kích thước quả thể nấm Vân chi mẫu đối chứng (A) và mẫu NT3 (B)

4. KẾT LUẬN

Kết quả nghiên cứu cho thấy có thể sử dụng giống dạng dịch thể thay thế giống dạng hạt truyền thống để nuôi trồng nấm Vân chi để nâng cao hiệu suất trồng nấm Vân chi tại Đà Nẵng.

Môi trường PD cải tiến là môi trường thích hợp để nhân giống dịch thể Vân chi, sau 9 ngày nuôi cấy giống Vân chi có thể dùng để nuôi trồng. Với tỉ lệ tiếp giống 60 mL/bịch phôi (1500 g) cho thời gian hoàn thiện bịch phôi nhanh nhất (20,9 ngày) và tỉ lệ nhiễm 0 %.

Quả thể nấm Vân chi nuôi trồng thử nghiệm bằng giống dịch thể kích thước lớn hơn so với quả thể Vân chi nuôi trồng bằng giống hạt. Năng suất sinh học thu được ở cả 2 loại giống nuôi trồng không có sự khác biệt.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Nguyễn Thị Chính, 2011. Hoàn thiện công nghệ sản xuất nấm dược liệu theo hướng công nghiệp để tạo thực phẩm chức năng hỗ trợ điều trị bệnh viêm gan, tiểu đường, khối u ung thư, nâng cao sức khỏe, Báo cáo tổng kết dự án khoa học công nghệ, Bộ Khoa học Công nghệ.

Nguyễn Lâm Dũng, 2002. Công nghệ nuôi trồng nấm, Tập 2, Nhà xuất bản Nông nghiệp, Hà Nội.

- Nguyễn Hữu Đồng, 2000. Nấm ăn - Cơ sở khoa học và công nghệ nuôi trồng, Nhà xuất bản Nông nghiệp, Hà Nội.
- Nguyễn Duy Lâm, Vũ Thị Nhi, 2013. Nghiên cứu sản xuất giống nấm Sò *Pleurotus florida* dạng lỏng nhằm thay thế giống dạng hạt truyền thống. *Tạp chí Nông nghiệp & Phát triển Nông thôn*, 2: 25-31.
- Ngô Xuân Nghiễn, Nguyễn Thị Bích Thùy, 2016. Nghiên cứu nhân giống nấm Chân dài (*Clitocybe maxima* Gartn. ex Mey.: Fr. Quél) dạng dịch thể, *Tạp chí KH Nông nghiệp Việt Nam*, 14(11): 1817-1824.
- Phạm Thị Thu, Lê Văn Vẻ, Trần Thu Hà, Nguyễn Duy Trình, 2018. Công nghệ nhân giống dịch thể, ứng dụng trong nuôi trồng nấm sò vàng (*Pleurotus citrinopileatus*), *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Việt Nam*, 60(5): 27-33.
- Nguyễn Thị Bích Thùy, 2014. Nghiên cứu một số đặc tính sinh học và công nghệ thích hợp để nhân giống và nuôi trồng một số loại nấm ăn và nấm dược liệu ở Việt Nam, Luận án tiến sĩ, Viện Khoa học Nông nghiệp Việt Nam, 37-40.
- Cô Thị Thùy Vân, 2015. Nguyên cứu quy trình phân lập, nhân giống dạng dịch thể để nuôi trồng nấm đầu khỉ (*Hericium erinaceus* (Bull.: FR) PERS.) và tách chiết một số polysaccharide có hoạt tính sinh học, Luận án tiến sĩ, Đại học Bách khoa Hà Nội.
- Bolla K., Gopinath B.V., Shaheen S.Z., Charya M.A.S., 2010. Optimization of carbon and nitrogen sources of submerged culture process for the production of mycelial biomass and exopolysaccharides by *Trametes versicolor*, *International Journal for Biotechnology and Molecular Biology Research*, 1(2): 15-21.
- Dennis J. M., Kenneth J., Kerry H., 2011. Botanical Medicines - The Desk Reference for Major Herbal Supplements - 2nd edition. Routledge Taylor & Francis Group.
- Elisashvili V., 2012. Submerged cultivation of medicinal mushrooms: bioprocesses and products (review). *International Journal of Medicinal Mushrooms*, 14(3): 211-239.
- Fang Q. H., Zhong J.J., 2002. Two-stage culture process for improved production of ganoderic acid by liquid fermentation of higher fungus *Ganoderma lucidum*. *Biotechnology Progress*, 18(1): 51-54.
- FAO (2015). Wild edible fungi, a global overview of their use and importance to people. Non-wood Forest Products Series, 17, 147 pp.
- Kawai G., Kobayashi H., Fukushima Y., Ohsaki K., 1995. Liquid culture induces early fruiting in shiitake (*Lentinula edodes*). Mushroom science XIV, *Proceedings of the 14th International Congress on The Science and Cultivation of Edible Fungi*, Oxford, UK, 2: 825-832.
- Liang Z., Wu C., Shieh Z., Cheng S., 2009. Utilization of grass plants for cultivation of *Pleurotus citrinopileatus*. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 63: 509-514.

Shih I.L., Tsai K., Hsieh C., 2007. Effects of culture conditions on the mycelial growth and bioactive metabolite production in submerged culture of *Cordyceps militaris*. *Biochemical Engineering Journal*, 33: 193-201.

STUDY ON *Trametes versicolor* L. pilat CULTIVATION BY LIQUID SPAWN REPLACE FOR TRADITIONAL TYPE IN DA NANG CITY

Doan Chi Cuong^{1*}, Nguyen Thi Bich Hang¹, Cao Thi Ai Van², Tran Ngoc Quang²

Abstract. *Trametes versicolor* L. Pilat is one of the mushrooms with valuable medicinal value that are used more popular. This mushroom contains polysaccharide compounds that bind to proteins called polysaccharide peptide (PSP) and polysaccharide krestin (PSK) which have inhibitory effect on many types of cancer cells such as carcinoma and leukemia. In our study on the cultivation of *T. versicolor*, it was found that the liquid spawn grew best on improved-PD medium (1 liter) containing 200 g potato, 20 g glucose, 2 g peptone, 2 g yeast extract. The time for finishing commercial spawn was 9 days; *T. versicolor* grew, developed, and got the best yield when inoculating 60 mL of liquid spawn on a 1500 g bag with incubation time of 20.9 days; the time for first carpophore was 28,97 days with infection rate was 0 %. The yield reached 58,7 g/kg (dry weight) after 75 days. Using liquid spawn on the cultivation of *T. versicolor* could shorten the growing period by 10-15 days per cycle.

Keywords: Liquid spawn cultivation, medicinal mushrooms, mycelium, submerged fermentation, *Trametes versicolor*.

¹ University Science and Education, The University of Da Nang

² Da Nang Sport University

* Email: dccuong@ued.udn.vn