

ĐÁNH GIÁ SỰ SINH TRƯỞNG CỦA HỆ SỢI CHŨNG NẤM HƯƠNG (*Lentinula* sp.) STRAIN LeCT TRONG CÁC ĐIỀU KIỆN NUÔI CẤY KHÁC NHAU

Nguyễn Thị Huyền Trang¹, Lê Phương Thanh², Nguyễn Thị Thúy Hạnh²
Nguyễn Thị Luyện^{1,2}, Ngô Xuân Nghiễn^{1,2}, Nguyễn Thị Bích Thùy^{1,2*}

¹*Viện Nghiên cứu Phát triển nấm ăn, nấm dược liệu, Học viện Nông nghiệp Việt Nam*
²*Khoa Công nghệ sinh học, Học viện Nông nghiệp Việt Nam*

*Tác giả liên hệ: ntbthuy.cnsh@vnua.edu.vn

Ngày nhận bài: 07.08.2024

Ngày chấp nhận đăng: 16.10.2024

TÓM TẮT

Nấm hương là loại nấm ngon và bổ dưỡng bởi nó chứa thành phần dinh dưỡng đa dạng cùng các hoạt chất dược liệu quý. Hiện nay, nguồn giống phục vụ để nuôi trồng nấm hương tại Việt Nam chủ yếu là nguồn giống nhập từ Trung Quốc, Hàn Quốc hay Nhật Bản. Việc thu thập và nghiên cứu các nguồn gen nấm hương bản địa tại Việt Nam có ý nghĩa vô cùng lớn đối với công tác bảo tồn nguồn gen. Chủng nấm LeCT là chủng nấm hương tự nhiên được thu thập tại vườn quốc gia Cát Tiên (Việt Nam). Mục đích của nghiên cứu nhằm xác định điều kiện thích hợp cho sinh trưởng của hệ sợi nấm hương LeCT. Hệ sợi chủng nấm được nuôi cấy ở các điều kiện nhiệt độ, pH môi trường, nguồn carbon, nguồn muối khoáng và cơ chất nhân giống khác nhau. Kết quả nghiên cứu cho thấy, nhiệt độ thích hợp nhất để hệ sợi nấm sinh trưởng là $25^{\circ}\text{C} \pm 2$, môi trường nuôi cấy có giá trị pH6 cho kết quả sinh trưởng hệ sợi tốt nhất. Glucose và $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ là các nguồn carbon và muối khoáng phù hợp đối với sinh trưởng hệ sợi nấm. Cơ chất nhân giống bao gồm 77% thóc luộc, 20% lõi ngô, 2% cám mạch và 1% CaCO_3 cho kết quả sinh trưởng hệ sợi tốt nhất.

Từ khóa: Nhiệt độ, nguồn muối khoáng, cơ chất nhân giống, pH môi trường, *Lentinula edodes*.

Evaluating Mycelial Growth of the Shiitake Mushroom *Lentinula* sp. Strain LeCT Cultured under Different Conditions

ABSTRACTS

Shiitake mushroom is a delicious and nutritious mushroom because it contains diverse nutritional components and valuable medicinal active ingredients. Currently, the source of spawn for cultivation of shiitake mushroom in Vietnam is mainly imported from China, Korea or Japan. Collecting and researching native shiitake mushroom genetic resources in Vietnam is so meaningful for the conservation genetic resources. The LeCT mushroom strain is a native shiitake strain which collected in Cat Tien National Park (Vietnam)... The purpose is to find the most suitable conditions for the mycelial growth of shiitake strain LeCT. Mycelial of strain were cultured in different temperature levels, media pH values, carbon sources, mineral salt sources and spawning substrates. The findings show that the most optimal temperature for mycelial growth is $25^{\circ}\text{C} \pm 2$, the culture medium with pH value of 6 gives the best mycelial growth results. Glucose and $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ are the best sources of carbon and mineral salts for mycelial growth. Substrate includes 77% boiled rice, 20% corn cob, 2% barley bran and 1% CaCO_3 performs the best mycelial growth results.

Keywords: Temperature, mineral salt sources, spawning substrates, pH, *Lentinula edodes*.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Nấm hương hay còn gọi là Shiitake, tên khoa học là *Agaricus edodes* (Berkeley, 1877).

Tuy nhiên, vào năm 1975, Pegler đã đặt loài nấm này vào chi *Lentinula*. Trong tự nhiên, nấm hương được tìm thấy trên các cành mục nát của gỗ cây sồi, cây phong, cây dẻ... ở các vùng

Đánh giá sự sinh trưởng của hệ sợi chủng nấm hương (*Lentinula sp.*) strain LeCT trong các điều kiện nuôi cấy khác nhau

khí hậu nóng ẩm như Đông Nam Á (Wasser, 2004). Hiện nay, nấm hương được trồng phổ biến bằng phương pháp nuôi trồng trên gỗ khúc hoặc bịch mùn cưa và nuôi ở điều kiện nhân tạo tương tự với điều kiện trong tự nhiên của nó (Vane, 2003).

Nấm hương là loại nấm ăn ngon, bổ dưỡng, chứa thành phần dinh dưỡng phong phú. Trong quả thể nấm hương, ngoài những thành phần đa lượng như carbohydrate, protein, chất xơ còn chứa các thành phần vi lượng tốt cho sức khỏe như phospho, magie, canxi, kẽm, đồng cùng nhiều loại vitamin như vitamin B, vitamin D... Nhờ thành phần dinh dưỡng đa dạng nên việc sử dụng nấm hương rất tốt cho sức khỏe con người. Ngoài ra, trong quả thể nấm hương còn chứa nhiều hợp chất polysaccharide mang tính dược liệu, các axit amin thiết yếu. Hợp chất lentinan trong nấm hương có khả năng chống lại sự phát triển của tế bào ung thư. Polysaccharide eritadenine trong quả thể nấm hương có tác dụng hạ lipid trong huyết tương (Takashima & cs., 1974).

Việc tìm kiếm và nghiên cứu các loài nấm mới luôn nhận được sự quan tâm rất lớn từ các nhà nấm học. Một trong những phương pháp hiệu quả để bảo tồn nguồn gen trong tự nhiên đó là thu thập quả thể, phân lập và nuôi trồng nhân tạo (Nguyen & cs., 2021a). Nghiên cứu các đặc điểm sinh trưởng của hệ sợi, cũng như sự hình thành và phát triển quả thể của loài mới là công việc vô cùng quan trọng và cần thiết. Nhờ việc nghiên cứu này, các nhà nghiên cứu mới xây dựng được cơ sở khoa học để phát triển loài mới. Chủng nấm LeCT là chủng nấm hương được phát hiện sinh trưởng tự nhiên tại vườn quốc gia Cát Tiên. Do vậy, nhiệm vụ nghiên cứu đặc điểm sinh trưởng hệ sợi của chủng nấm hương mới LeCT có ý nghĩa vô cùng thực tiễn.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu

Chủng nấm hương *Lentinula sp.* LeCT có nguồn gốc từ vườn quốc gia Cát Tiên, được lưu trữ và bảo quản ở nhiệt độ 10°C tại Viện Nghiên cứu và Phát triển nấm ăn, nấm dược liệu, Học viện Nông nghiệp Việt Nam.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Sinh trưởng hệ sợi chủng nấm hương LeCT tại các khoảng nhiệt độ khác nhau

Hệ sợi chủng nấm hương LeCT được nuôi cấy trên nền môi trường PGA cải tiến. Mỗi đĩa petri chứa 25ml môi trường và được cấy một miếng giống nấm gốc có kích thước 4mm × 4mm tại chính giữa đĩa. Sau đó, hệ sợi chủng nấm được nuôi tại 5 mức nhiệt độ khác nhau (15°C ± 2, 20°C ± 2, 25°C ± 2, 30°C ± 2 và 35°C ± 2). Độ dài trung bình của hệ sợi được theo dõi 3 ngày một lần. Tốc độ trung bình của hệ sợi được đo sau 9 ngày nuôi cấy.

Phương pháp đánh giá đặc điểm sinh trưởng và hình thái hệ sợi được mô tả theo Nguyễn Thị Luyện (2020) và Trịnh Tam Kiệt (2012). Mật độ hệ sợi được đánh giá và biểu thị theo ba mức độ: thưa, trung bình và dày.

Tốc độ sinh trưởng trung bình hệ sợi (mm/ngày) = Độ dài hệ sợi trong thời gian sinh trưởng (mm)/thời gian hệ sợi sinh trưởng được độ dài đó (ngày)

* Công thức môi trường PGA cải tiến (thành phần và hàm lượng sử dụng cho 1 lít môi trường) bao gồm: dịch chiết 200g khoai tây, dịch chiết 200g giá đỗ, 20g glucose và 15g agar.

2.2.2. Ảnh hưởng của pH môi trường đến sự sinh trưởng hệ sợi chủng nấm hương LeCT

Môi trường nuôi cấy PGA cải tiến được chuẩn độ pH giá trị từ 5 đến 12 (trước khi trùng). Sau đó, hệ sợi chủng nấm hương LeCT được nuôi cấy trên các môi trường ở nhiệt độ 25°C ± 2, độ dài trung bình của hệ sợi được đo 3 ngày một lần. Tốc độ trung bình của hệ sợi được đo sau 9 ngày nuôi cấy

Phương pháp đánh giá hệ sợi và đo tốc độ sinh trưởng trung bình hệ sợi giống như thí nghiệm 1.

2.2.3. Ảnh hưởng của các nguồn carbon khác nhau đến sự sinh trưởng hệ sợi chủng nấm hương LeCT

Các nguồn carbon được bổ sung (hàm lượng sử dụng 20 g/l) vào môi trường nền PA cải tiến (dịch chiết 200g khoai tây, dịch chiết 200g giá

đỗ và 15g agar/l môi trường), pH môi trường bằng 6 để khảo sát mức độ sinh trưởng hệ sợi chủng nấm hương LeCT bao gồm: glucose, fructose, tinh bột tan, lactose và saccharose. Hệ sợi chủng nấm được nuôi ở nhiệt độ $25^{\circ}\text{C} \pm 2$, độ dài trung bình của hệ sợi được đo 3 ngày một lần. Tốc độ trung bình của hệ sợi được đo sau 9 ngày nuôi cấy.

Phương pháp đánh giá hệ sợi và đo tốc độ sinh trưởng trung bình hệ sợi giống như thí nghiệm 1.

2.2.4. Sinh trưởng hệ sợi chủng nấm hương LeCT trên môi trường bổ sung các nguồn muối khoáng khác nhau

Hệ sợi chủng nấm hương LeCT được nuôi cấy trên môi trường PGA cải tiến, pH môi trường bằng 6 bổ sung thêm 5 nguồn muối khoáng khác nhau (hàm lượng mỗi loại 2 g/l) bao gồm KCl, KNO_3 , K_2HPO_4 , KH_2PO_4 và $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$. Các đĩa thí nghiệm được đặt nuôi ở nhiệt độ $25^{\circ}\text{C} \pm 2$, độ dài trung bình của hệ sợi được theo dõi 3 ngày một lần. Tốc độ trung bình của hệ sợi được đo sau 9 ngày nuôi cấy.

Phương pháp đánh giá hệ sợi và đo tốc độ sinh trưởng trung bình hệ sợi giống như thí nghiệm 1.

2.2.5. Ảnh hưởng của thành phần nguyên liệu đến quá trình sinh trưởng hệ sợi chủng nấm hương LeCT trên môi trường nhân giống cấp 2

Trong thí nghiệm này, hệ sợi chủng nấm hương LeCT được cấy vào 7 công thức môi trường nhân giống khác nhau. Hệ sợi chủng nấm được nuôi ở điều kiện nhiệt độ $25^{\circ}\text{C} \pm 2$. Quá trình sinh trưởng của hệ sợi chủng nấm được theo dõi định kỳ 1 ngày/lần tại cùng thời điểm trong ngày. Độ dài trung bình của hệ sợi được đo sau 30 ngày nuôi cấy. Thành phần môi trường nuôi cấy bao gồm thóc tẻ luộc chín, lõi ngô và cám mạch, bột CaCO_3 được trộn với tỷ lệ khác nhau.

CT1: 99% thóc luộc + 1% CaCO_3

CT2: 77% thóc luộc + 20% lõi ngô + 2% cám mạch + 1% CaCO_3

CT3: 55% thóc luộc + 40% lõi ngô + 4% cám mạch + 1% CaCO_3

CT4: 33% thóc luộc + 60% lõi ngô + 6% cám mạch + 1% CaCO_3

CT5: 11% thóc luộc + 80% lõi ngô + 8% cám mạch + 1% CaCO_3

CT6: 89% lõi ngô + 10% cám mạch + 1% CaCO_3

CT7: 99% lõi ngô + 1% CaCO_3

Phương pháp đánh giá hệ sợi và đo tốc độ sinh trưởng trung bình hệ sợi giống như thí nghiệm 1.

2.3. Xử lý số liệu

Kết quả nghiên cứu được thu thập và xử lý bằng phần mềm Exel 2010 và phần mềm xử lý thống kê Irristat 5.0, sử dụng phương pháp phân tích phương sai một yếu tố Blance Anova. So sánh cặp đôi các giá trị trung bình theo $\text{LSD}_{0,05}$ với độ tin cậy 95%.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Khả năng sinh trưởng của hệ sợi chủng nấm hương LeCT ở các nhiệt độ khác nhau

Tại 5 mức nhiệt độ thí nghiệm, hệ sợi chủng nấm hương LeCT sinh trưởng nhanh nhất khi nuôi ở nhiệt độ $25^{\circ}\text{C} \pm 2$, tốc độ sinh trưởng trung bình đạt 4,24 mm/ngày. Trong điều kiện nhiệt độ thấp ($15^{\circ}\text{C} \pm 2$ và $20^{\circ}\text{C} \pm 2$), khả năng sinh trưởng của hệ sợi kém hơn. Sau 3 ngày nuôi cấy, hệ sợi có dấu hiệu bắt đầu sinh trưởng. Trong khoảng thời gian 3-5 ngày đầu, hệ sợi sinh trưởng rất chậm, sang ngày thứ 6, hệ sợi chủng nấm bắt đầu sinh trưởng nhanh hơn. Tuy nhiên, tốc độ sinh trưởng trung bình hệ sợi ghi nhận tại hai mức nhiệt độ này tương đối thấp, đạt lần lượt 1,78 mm/ngày ($15^{\circ}\text{C} \pm 2$) và 2,10 mm/ngày ($20^{\circ}\text{C} \pm 2$). Tương tự, khi nuôi cấy hệ sợi ở nền nhiệt độ cao ($> 30^{\circ}\text{C}$), quá trình sinh trưởng hệ sợi của chủng nấm diễn ra rất chậm, sự ức chế sinh trưởng đã xảy ra khi nhiệt độ nuôi đạt 35°C . Cụ thể, tại ngưỡng nhiệt $30^{\circ}\text{C} \pm 2$, hệ sợi chủng nấm sinh trưởng chậm, tốc độ sinh trưởng trung bình đạt 1,60 mm/ngày. Trong khi đó, tại nền nhiệt độ $35^{\circ}\text{C} \pm 2$, dấu hiệu sinh trưởng của hệ sợi chủng nấm chỉ được quan sát

Đánh giá sự sinh trưởng của hệ sợi chủng nấm hương (*Lentinula sp.*) strain LeCT trong các điều kiện nuôi cấy khác nhau

thấy trên miếng giống cấy chuyển, sau đó hệ sợi ngừng sinh trưởng, không ghi nhận được sự sinh trưởng của hệ sợi trên bề mặt môi trường (Bảng 1). Như vậy, trong ngưỡng nhiệt độ từ $15^{\circ}\text{C} \pm 2$ đến $25^{\circ}\text{C} \pm 2$, tốc độ sinh trưởng chủng nấm phát triển theo hướng tuyến tính với độ tăng của nền nhiệt. Khi ngưỡng nhiệt độ lên cao đạt $30^{\circ}\text{C} \pm 2$, tốc độ sinh trưởng hệ sợi giảm dần và bị ức chế hoàn toàn khi nhiệt độ đạt $35^{\circ}\text{C} \pm 2$.

Mật độ hệ sợi của chủng nấm khi được nuôi cấy tại các mức nhiệt độ khác nhau không có sự khác biệt lớn. Tại 3 mức nhiệt độ $15^{\circ}\text{C} \pm 2$, $20^{\circ}\text{C} \pm 2$ và $30^{\circ}\text{C} \pm 2$, hệ sợi sinh trưởng chậm nhưng mật độ hệ sợi dày. Khi nuôi cấy tại mức nhiệt độ $25^{\circ}\text{C} \pm 2$, hệ sợi chủng nấm sinh trưởng nhanh, hệ sợi trắng mượt, nhưng mật độ hệ sợi trung bình (Hình 1). Riêng tại mức nhiệt độ $35^{\circ}\text{C} \pm 2$, hệ sợi bị ức chế, ngừng sinh trưởng. Như vậy, căn cứ vào kết quả về tốc độ sinh trưởng trung bình hệ sợi và mật độ hệ sợi, $25^{\circ}\text{C} \pm 2$ là ngưỡng nhiệt độ tối thích nhất để hệ sợi chủng nấm hương LeCT sinh trưởng.

Nhiệt độ là yếu tố ngoại cảnh quan trọng, ảnh hưởng trực tiếp đến quá trình sinh trưởng

hệ sợi nấm (Nguyen & cs., 2019). Thực tế có rất nhiều nghiên cứu chứng minh sự tác động của nhiệt độ đến sự sinh trưởng hệ sợi nấm hương. Varunesh & cs. (2019), đã báo cáo rằng hệ sợi chủng nấm hương Le-17-04 sinh trưởng tốt nhất khi nhiệt độ ương sợi đạt 24°C . Hệ sợi hai chủng nấm hương có nguồn gốc từ Nhật Bản J1 và J2 đều sinh trưởng tốt nhất tại ngưỡng nhiệt độ $25^{\circ}\text{C} \pm 2$ và bị ức chế sinh trưởng khi nhiệt độ đạt ngưỡng $30^{\circ}\text{C} \pm 2$ (Nguyen Thi Huyen Trang & cs., 2023). Như vậy, kết quả của thí nghiệm tương đồng với nhiều nghiên cứu trước đó.

3.2. Ảnh hưởng của pH môi trường nuôi cấy (trước khử trùng) đến sự sinh trưởng hệ sợi của chủng nấm hương LeCT

Kết quả thí nghiệm cho thấy, tốc độ sinh trưởng trung bình của hệ sợi chủng nấm hương LeCT có tương quan tỷ lệ nghịch với giá trị pH (đối với các công thức môi trường có giá trị pH từ 6 đến 12). Hệ sợi chủng nấm sinh trưởng nhanh nhất trên nền môi trường có giá trị pH 6, tốc độ trung bình hệ sợi ghi nhận đạt 4,27 mm/ngày.

Bảng 1. Khả năng sinh trưởng của hệ sợi chủng nấm tại các mức nhiệt độ khác nhau

| Ngưỡng nhiệt độ | Độ dài hệ sợi (mm) | | | Tốc độ sinh trưởng của hệ sợi (mm/ngày) |
|----------------------------|--------------------|--------|--------|---|
| | 3 ngày | 6 ngày | 9 ngày | |
| $15^{\circ}\text{C} \pm 2$ | 1,79 | 10,59 | 16,00 | 1,78bc |
| $20^{\circ}\text{C} \pm 2$ | 3,21 | 13,88 | 18,88 | 2,10b |
| $25^{\circ}\text{C} \pm 2$ | 8,29 | 23,67 | 38,17 | 4,24a |
| $30^{\circ}\text{C} \pm 2$ | 3,71 | 9,96 | 14,38 | 1,60c |
| $35^{\circ}\text{C} \pm 2$ | 0,00 | 0,00 | 0,00 | KXĐ |
| CV% | 6,8 | 3,8 | 1,8 | 1,8 |
| LSD _{0,05} | 0,44 | 0,83 | 0,61 | 0,67 |



Hình 1. Hệ sợi chủng nấm hương LeCT sau 7 ngày nuôi cấy tại các điều kiện nhiệt độ khác nhau

**Bảng 2. Tốc độ sinh trưởng trung bình
 của hệ sợi trên các môi trường có giá trị pH khác nhau**

| Giá trị pH | Độ dài hệ sợi (mm) | | | Tốc độ sinh trưởng của hệ sợi (mm/ngày) |
|---------------------|--------------------|------------|------------|--|
| | Sau 3 ngày | Sau 6 ngày | Sau 9 ngày | |
| pH 5 | 7,15 | 20,25 | 34,88 | 4,04b |
| pH 6 | 7,96 | 22,30 | 38,54 | 4,27a |
| pH 7 | 6,88 | 20,38 | 36,00 | 4,00bc |
| pH 8 | 6,79 | 20,13 | 34,84 | 3,87c |
| pH 9 | 5,85 | 16,54 | 29,54 | 3,28d |
| pH 10 | 5,29 | 13,88 | 24,38 | 2,71e |
| pH 11 | 5,00 | 10,25 | 17,38 | 1,93f |
| pH 12 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00g |
| CV% | 4,00 | 5,40 | 4,40 | 1,90 |
| LSD _{0,05} | 0,46 | 1,67 | 2,41 | 0,12 |

Chủng nấm sinh trưởng rất chậm trên nền môi trường có giá trị pH 11 và không có dấu hiệu sinh trưởng khi giá trị pH môi trường đạt 12. Khi nuôi cấy trên các nền môi trường có giá trị pH 7 đến 11, tốc độ trung bình hệ sợi giảm dần, lần lượt ghi nhận đạt 4,00 mm/ngày; 3,87 mm/ngày; 3,28 mm/ngày; 2,71 mm/ngày và 1,93 mm/ngày. Riêng đối với môi trường có giá trị pH 5, hệ sợi chủng nấm sinh trưởng tương đối nhanh, tốc độ trung bình hệ sợi đạt 4,04 mm/ngày (Bảng 2). Như vậy, hệ sợi chủng nấm hương LeCT sinh trưởng tốt trên nền môi trường axit yếu đến trung tính (giá trị pH từ 5 đến 7) và sinh trưởng chậm hơn trên nền môi trường kiềm (giá trị pH từ 8 đến 11).

Bên cạnh tốc độ sinh trưởng trung bình, mật độ hệ sợi cũng là một trong những yếu tố quan trọng mà các nhà nghiên cứu quan tâm. Hệ sợi nấm hấp thu chất dinh dưỡng qua thành tế bào thông qua quá trình thẩm thấu. Do đó, khi mật độ hệ sợi dày, khả năng hấp thu dinh dưỡng sẽ tăng lên. Kết quả tại hình 2 cho thấy sự khác biệt rõ rệt về mật độ hệ sợi giữa các môi trường khác nhau. Rõ ràng, mật độ hệ sợi chủng nấm có tương quan tỷ lệ nghịch với tốc độ sinh trưởng trung bình hệ sợi. Trên nền môi trường có giá trị pH từ 9 đến 11, hệ sợi chủng nấm sinh trưởng chậm nhưng tia sợi phát triển rất dày, mật độ hệ sợi dày. Ngược lại, khi nuôi cấy trên nền môi trường có giá trị pH từ 5 đến 8, hệ sợi chủng nấm sinh trưởng nhanh nhưng mật độ hệ

sợi trung bình, không quá dày. Căn cứ vào kết quả ghi nhận được về tốc độ sinh trưởng trung bình cũng như mật độ hệ sợi, có thể kết luận môi trường có giá trị pH 6 phù hợp nhất đối với quá trình sinh trưởng hệ sợi của chủng nấm LeCT.

Giá trị pH môi trường nuôi cấy đóng vai trò nhất định trong quá trình kích thích sự phát triển của hệ sợi nấm (Zeeshan & cs., 2015). Tại giá trị pH tối ưu, hệ sợi nấm sẽ hấp thu được tối đa dinh dưỡng trong môi trường (Sarker & cs., 2007). Theo Khan & cs. (2013), hầu hết hệ sợi các loài nấm đều sinh trưởng tốt nhất trên nền môi trường có giá trị trung tính. Trong một nghiên cứu của Zeeshan & cs. (2015) đã báo cáo rằng chủng nấm hương thí nghiệm sinh trưởng nhanh và khỏe nhất trên nền môi trường pH 6. Đối với chủng nấm hương Le-17-04, hệ sợi sinh trưởng tốt nhất khi nuôi cấy trên nền môi trường pH 5 hoặc pH 6 (Varunesh & cs., 2019).

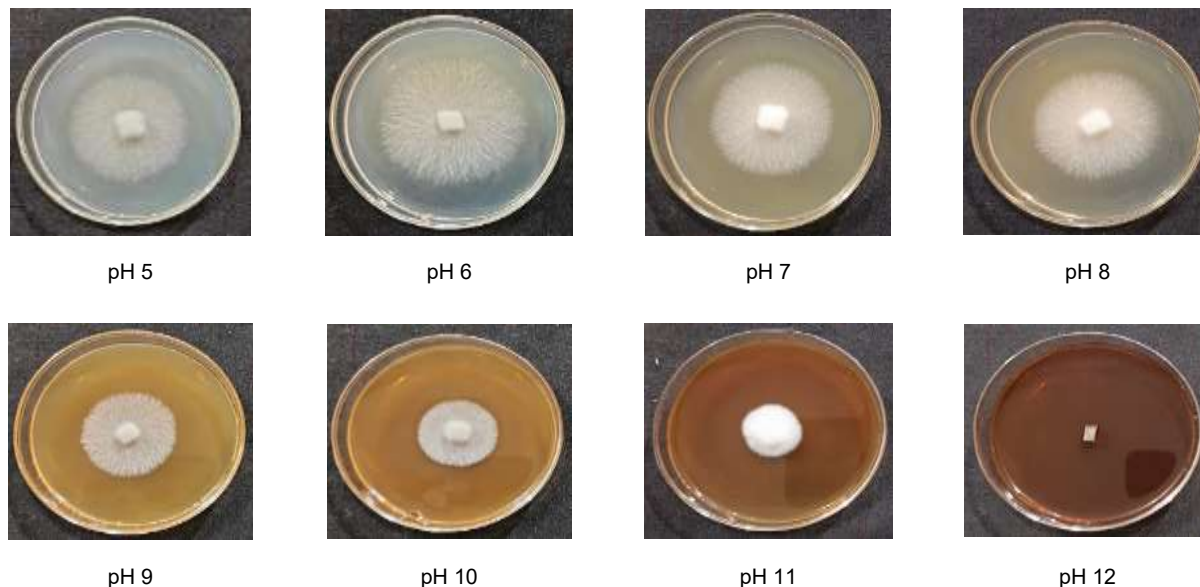
3.3. Khả năng sinh trưởng hệ sợi chủng nấm hương LeCT trên môi trường bổ sung các nguồn carbon khác nhau

Trong 5 nguồn carbon thí nghiệm, hệ sợi chủng nấm sinh trưởng nhanh nhất trên nền môi trường bổ sung glucose, tốc độ trung bình hệ sợi đạt 4,30 mm/ngày. Với tốc độ sinh trưởng trung bình đạt 3,41 mm/ngày, lactose là nguồn carbon kém phù hợp nhất đối với sự sinh trưởng của chủng nấm hương LeCT. Trên nền môi

Đánh giá sự sinh trưởng của hệ sợi chủng nấm hương (*Lentinula sp.*) strain LeCT trong các điều kiện nuôi cấy khác nhau

trường bổ sung saccharose, fructose và tinh bột tan, hệ sợi chủng nấm sinh trưởng khá nhanh, đồng đều, tốc độ trung bình hệ sợi ghi nhận lần lượt đạt 4,03 mm/ngày; 3,98 mm/ngày và

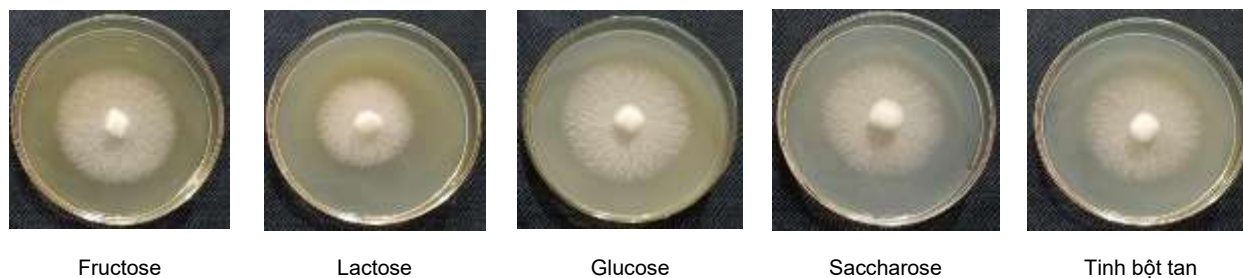
3,87 mm/ngày. Như vậy, hệ sợi chủng nấm hương LeCT sinh trưởng tốt, có sự sai khác không đáng kể về khả năng sinh trưởng trên môi trường có bổ sung 5 nguồn carbon.



Hình 2. Hệ sợi chủng nấm sau 7 ngày nuôi cấy trên các môi trường có giá trị pH khác nhau

Bảng 3. Tốc độ sinh trưởng hệ sợi trên các môi trường bổ sung nguồn carbon khác nhau

| Nguồn carbon | Độ dài hệ sợi (mm) | | | Tốc độ sinh trưởng của hệ sợi (mm/ngày) |
|---------------------|--------------------|--------|--------|---|
| | 3 ngày | 6 ngày | 9 ngày | |
| Glucose | 8,38 | 23,67 | 38,67 | 4,30a |
| Fructose | 7,90 | 22,92 | 35,79 | 3,98bc |
| Saccharose | 8,09 | 21,67 | 36,25 | 4,03b |
| Lactose | 7,25 | 16,34 | 30,71 | 3,41d |
| Tinh bột tan | 7,59 | 22,09 | 34,84 | 3,87c |
| CV% | 3,0 | 1,8 | 1,4 | 1,4 |
| LSD _{0,05} | 0,45 | 0,74 | 0,94 | 0,10 |



Hình 3. Hệ sợi chủng nấm sau 7 ngày nuôi cấy trên các môi trường bổ sung nguồn carbon khác nhau

Mật độ và hình thái hệ sợi giữa các công thức môi trường khác nhau không có sự khác biệt rõ ràng. Khi nuôi cấy trên 5 công thức môi trường, hệ sợi chủng nấm đều sinh trưởng đồng đều, hệ sợi trắng mượt, không có dấu hiệu bị ức chế, không có sự xuất hiện của sợi khí sinh. Trên tất cả các môi trường, tia sợi nấm sinh trưởng không quá mạnh nhưng cũng không thưa, mật độ hệ sợi quan sát được ở mức độ trung bình. Dựa vào kết quả về tốc độ sinh trưởng và mật độ hệ sợi, có thể kết luận rằng nguồn carbon thích hợp nhất đối với sự sinh trưởng hệ sợi chủng nấm hương LeCT là glucose.

Carbon là thành phần thiết yếu, tham gia vào quá trình trao đổi chất, cung cấp năng lượng và xây dựng cấu trúc thành tế bào (Nguyen & cs., 2019). Tùy thuộc vào loại carbon được bổ sung, các đặc tính như độ nhạy cảm, thành phần hóa học trong môi trường nuôi cấy sẽ thay đổi (Krupodorova & cs., 2021). Vì vậy, cần bổ sung nguồn carbon thích hợp để hệ sợi nấm mỗi loài sinh trưởng tốt nhất. Rất nhiều công bố nghiên cứu cho kết quả tương đồng với nghiên cứu này về ảnh hưởng của nguồn carbon

đến sinh trưởng hệ sợi nấm hương. Với tổng sinh khối sợi thu được lớn nhất đạt 6,8 g/l, glucose được kết luận là nguồn carbon phù hợp nhất đối với sinh trưởng chủng nấm hương IBK 2541 (Nina & cs., 2020). Kết luận này tương đồng với kết luận của Feng & cs. (2010) và Krupodorova & cs. (2019).

3.4. Ảnh hưởng của các nguồn muối khoáng khác nhau đến sinh trưởng hệ sợi chủng nấm hương LeCT

Trong các môi trường bổ sung 5 nguồn muối khoáng, hệ sợi chủng nấm hương LeCT sinh trưởng nhanh nhất khi bổ sung $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, tốc độ trung bình hệ sợi đạt 3,73 mm/ngày. Hệ sợi chủng nấm sinh trưởng trên nền môi trường bổ sung KCl, KH_2PO_4 và KNO_3 tương đối tốt, tốc độ trung bình hệ sợi nhanh, đạt lần lượt 3,50 mm/ngày; 3,43 mm/ngày và 3,40 mm/ngày. Với tốc độ hệ sợi ghi nhận đạt 3,16 mm/ngày, hệ sợi chủng nấm sinh trưởng kém nhất trên nền môi trường sử dụng nguồn muối khoáng K_2HPO_4 (Bảng 4).

Bảng 4. Tốc độ sinh trưởng hệ sợi trên các môi trường bổ sung nguồn muối khoáng khác nhau

| Nguồn muối khoáng | Độ dài hệ sợi (mm) | | | Tốc độ sinh trưởng của hệ sợi (mm/ngày) |
|----------------------|--------------------|--------|--------|---|
| | 3 ngày | 6 ngày | 9 ngày | |
| KCl | 8,04 | 18,71 | 31,63 | 3,50b |
| KNO_3 | 7,63 | 18,34 | 30,63 | 3,40c |
| KH_2PO_4 | 7,59 | 18,46 | 30,90 | 3,43bc |
| K_2HPO_4 | 7,25 | 16,38 | 28,46 | 3,16d |
| $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ | 8,59 | 20,71 | 33,71 | 3,73a |
| CV% | 4,20 | 2,60 | 1,70 | 1,60 |
| LSD _{0,05} | 0,62 | 0,89 | 0,98 | 0,10 |



Hình 4. Hệ sợi chủng nấm sau 7 ngày nuôi cấy trên các môi trường bổ sung nguồn muối khoáng khác nhau

Hệ sợi chủng nấm sinh trưởng trắng mượt, đồng đều, tia sợi phát triển khỏe, mật độ hệ sợi dày trên tất cả 5 môi trường. Nhìn chung, không ghi nhận được sự khác biệt quá lớn về mật độ và hình thái hệ sợi giữa các công thức môi trường. Căn cứ vào kết quả về tốc độ sinh trưởng trung bình hệ sợi và mật độ hệ sợi, có thể kết luận rằng $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ là nguồn muối khoáng phù hợp nhất đối với sinh trưởng hệ sợi chủng nấm hương LeCT.

Bên cạnh các thành phần cơ bản gồm carbon và nitơ, muối khoáng cũng đóng vai trò quan trọng đối với sinh trưởng hệ sợi các chủng nấm. Các nguyên tố khoáng rất cần thiết cho các phản ứng trao đổi chất khác nhau (Assemie & Abaya, 2022). Do đó, cần tìm kiếm nguồn muối khoáng thích hợp bổ sung vào môi trường nuôi cấy nhằm giúp hệ sợi nấm sinh trưởng tốt. Tuy nhiên, sự tác động của muối khoáng đến quá trình sinh trưởng hệ sợi nấm còn phụ thuộc vào môi trường nuôi cấy, chủng loại nấm và giai đoạn phát triển của loài nấm (Kala, 2010; Mallikarjuna & cs., 2013). Chẳng hạn, chủng nấm linh chi *G. applanatum* sinh trưởng rất tốt trên nền môi trường YM có bổ sung $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ và KH_2PO_4 nhưng bị ức chế sinh trưởng khi môi trường bổ sung $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ (Woo-Sik Jo & cs., 2009). Trong khi đó, hệ sợi chủng nấm hoàng chi *Tomophagus cattienensis* sinh trưởng tốt nhất trên nền môi trường PGA bổ sung K_2HPO_4 (Nguyễn Thị Huyền Trang & cs., 2023).

3.5. Ảnh hưởng của cơ chất nhân giống khác nhau đến quá trình sinh trưởng của hệ sợi chủng nấm hương LeCT

Hiện nay, cơ chất nhân giống dạng rắn tại Việt Nam chủ yếu sử dụng các loại hạt như thóc tẻ, hạt kê, đại mạch (Đình Xuân Linh & cs., 2012). Nhằm mục đích tăng cường sự đa dạng cơ chất nhân giống cũng như tăng tính hiệu quả trong công tác nhân giống, việc nghiên cứu các cơ chất mới là vô cùng thiết thực. Trong 7 cơ chất thí nghiệm, hệ sợi chủng nấm hương LeCT sinh trưởng nhanh nhất trên nền CT2, tốc độ sinh trưởng hệ sợi trung bình ghi nhận 2,54 mm/ngày. Trong khi đó, trên nền cơ chất CT7, hệ sợi chủng nấm không sinh trưởng, tốc độ trung bình hệ sợi

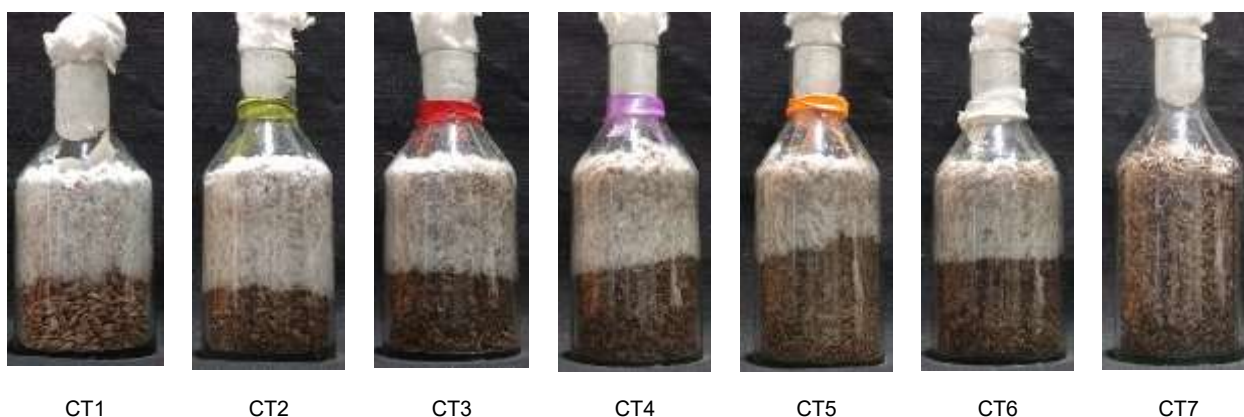
không xác định được. Khi nuôi cấy trên các nền cơ chất khác, nhìn chung hệ sợi chủng nấm sinh trưởng tốt. Trên nền cơ chất CT3 và CT1, hệ sợi chủng nấm sinh trưởng nhanh, tốc độ trung bình hệ sợi lần lượt đạt 2,38 mm/ngày và 2,34 mm/ngày. Hệ sợi chủng nấm sinh trưởng chậm hơn trên nền công thức CT5 và CT6, tốc độ trung bình đạt 1,80 mm/ngày và 1,88 mm/ngày (Bảng 5). Nhìn chung, trong 15 ngày sau cấy giống, hệ sợi chủng nấm hương LeCT sinh trưởng yếu, hệ sợi thưa mảnh, sau đó hệ sợi mới bắt đầu sinh trưởng mạnh, mật độ hệ sợi dày. Nguyên nhân do thời gian đầu hệ sợi chủng nấm phải thích nghi với điều kiện cơ chất mới, quá trình sinh trưởng chưa phát triển mạnh.

Sự khác nhau về tốc độ sinh trưởng hệ sợi giữa các công thức có thể xuất phát từ nguyên nhân về dinh dưỡng và độ xốp của cơ chất. Dinh dưỡng trong cơ chất cung cấp các thành phần thiết yếu giúp hệ sợi sinh trưởng. Trong khi đó, nếu độ xốp cơ chất tốt, sự lưu thông không khí trong khối cơ chất tốt hơn, hệ sợi tiếp nhận được nhiều oxy giúp quá trình trao đổi chất thuận lợi hơn. Cơ chất CT7 chỉ bao gồm lõi ngô và bột nhẹ, độ xốp cơ chất tốt nhưng hàm lượng dinh dưỡng thấp, do đó hệ sợi chủng nấm không sinh trưởng. Các công thức bổ sung thóc lứt và lõi ngô, độ xốp cơ chất rất tốt, điều này giúp hệ sợi trao đổi chất và sinh trưởng tốt hơn. Nhưng tỷ lệ thóc lứt, lõi ngô và cám mạch bổ sung khác nhau dẫn đến hàm lượng dinh dưỡng khác nhau. Như vậy, hệ sợi chủng nấm sinh trưởng nhanh nhất khi nuôi cấy trên nền CT2 nguyên nhân do độ xốp cơ chất tốt và hàm lượng dinh dưỡng thích hợp.

Có nhiều công trình nghiên cứu chứng minh rằng hệ sợi nấm hương sinh trưởng tốt nhất trên nền cơ chất nhân giống đảm bảo được cả hai yếu tố về dinh dưỡng và độ xốp. Nguyễn Thị Huyền Trang & cs. (2023) đã báo cáo rằng cơ chất nhân giống thích hợp nhất cho hai chủng nấm hương Nhật Bản J1, J2 bao gồm 74% thóc lứt, 25% mùn cưa và 1% $CaCO_3$. Một nghiên cứu khác của Nguyễn Thị Luyện & cs. (2020) kết luận rằng cơ chất nhân giống bao gồm 9% thóc lứt, 90% mùn cưa và 1% $CaCO_3$ là cơ chất tốt nhất cho hệ sợi chủng nấm hương Le1 sinh trưởng, tốc độ sinh trưởng trung bình nhanh nhất ghi nhận được đạt 3,59 mm/ngày.

Bảng 5. Tốc độ sinh trưởng trung bình hệ sợi chủng nấm trên các cơ chất nhân giống khác nhau

| CT | Độ dài hệ sợi (mm) | | Tốc độ sinh trưởng của hệ sợi (mm/ngày) |
|---------------------|--------------------|---------|---|
| | 15 ngày | 30 ngày | |
| CT1 | 22,58 | 70,33 | 2,34b |
| CT2 | 20,50 | 76,00 | 2,54a |
| CT3 | 16,58 | 71,42 | 2,38ab |
| CT4 | 17,08 | 60,50 | 2,02c |
| CT5 | 17,58 | 54,25 | 1,80d |
| CT6 | 12,58 | 56,25 | 1,88cd |
| CT7 | 0,00 | 0,00 | 0,00e |
| CV% | 5,80 | 4,20 | 4,20 |
| LSD _{0,05} | 5,82 | 4,92 | 0,16 |



Hình 5. Hệ sợi chủng nấm sau 30 ngày nuôi cấy trên các cơ chất nhân giống khác nhau

4. KẾT LUẬN

Chủng nấm hương LeCT sinh trưởng tốt khi được nuôi ở điều kiện nhiệt độ $25^{\circ}\text{C} \pm 2$. Giá trị pH môi trường (trước khử trùng) thích hợp để hệ sợi chủng nấm hương LeCT sinh trưởng là pH 6. Glucose và $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ là những nguồn carbon và muối khoáng thích hợp đối với sinh trưởng của hệ sợi chủng nấm hương LeCT. Chủng nấm hương LeCT sinh trưởng tốt trên nhiều công thức cơ chất nhân giống cấp 2 khác nhau nhưng cơ chất bao gồm 77% thóc lứt, 20% lõi ngô, 2% cám mạch và 1% CaCO_3 cho kết quả tốc độ hệ sợi sinh trưởng nhanh và mạnh nhất.

LỜI CẢM ƠN

Để hoàn thành nghiên cứu này, nhóm tác giả xin trân trọng cảm ơn sự hỗ trợ kinh phí từ

Học viện Nông nghiệp Việt Nam cho đề tài mã số T2024 -12 -46.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Assemie A. & Abaya G. (2022). The effect of edible mushroom on health and their biochemistry. *Int. J. Microbiol.* pp. 1-7.
- Berkeley M.J. (1877). Enumeration of the fungi collected during the Expedition of H.M.S. 'Challenger', 1874-75 (Third notice). *Botanical Journal of the Linnean Society.* 16(89): 38-54.
- Đình Xuân Linh, Thân Đức Nhã, Nguyễn Hữu Đồng, Nguyễn Thị Sơn, Nguyễn Duy Trinh & Ngô Xuân Nghiễn (2012). Kỹ thuật trồng, chế biến nấm ăn, nấm dược liệu. Nhà xuất bản Nông nghiệp.
- Feng Y.L., Li W.Q., Wu X.Q., Cheng J.W. & Ma S.Y (2010). Statistical optimization of media for mycelial growth and exo-polysaccharide production by *Lentinula edodes* and a kinetic

Đánh giá sự sinh trưởng của hệ sợi chủng nấm hương (*Lentinula* sp.) strain LeCT trong các điều kiện nuôi cấy khác nhau

- model study of two growth morphologies. *Biochem. Eng. J.* 49: 104-112.
- Kala P. (2010). Trace element contents in European species of wild growing edible mushrooms: a review for the period 2000-2009. *Food chemistry.* 122(1): 2-15.
- Khan M.W., Ali M.A., Khan N.A., Khan M.A., Rehman A. & Javed N. (2013). Effect of different levels of lime and pH on mycelial growth and production efficiency of oster mushroom (*Pleurotus* spp.). *Pak. J. Bot.* 45: 297-302
- Krupodorova T.A., Barshteyn V.Y. & Sekan A.S. (2021). Review of the basic cultivation conditions influence on the growth of basidiomycetes. *Current research in Environmental and Applied Mycology.* 11(1): 491-531.
- Krupodorova T.A., Barshteyn V. Yu., Kizitska T.O. & Pokas E.V. (2019). Effect of cultivation conditions on mycelial growth and antibacterial activity of *Lentinula edodes* and *Formitopsis betulina*. *Czech Mycol.* 71(2): 167-186.
- Mallikarjuna S.E., Ranjini A, Haware D.J., Vijaylakshmi M.R., Shashirekha M.N. & Rajarathnam S. (2013). Mineral composition of four edible mushrooms. *Journal of chemistry.* pp. 1-5.
- Nguyen B.T.T., Ngo N.X., Le V.V., Nguyen L.T., Kana R & Nguyen H.D. (2019). Optimal culture conditions for mycelial growth and fruiting body formation of Ling Zhi mushroom *Ganoderma lucidum* Ga3. *Vietnam Journal of Science, Technology and Engineering.* 61(1): 62-67.
- Nguyễn Thị Luyện, Nguyễn Thị Bích Thủy, Trần Đông Anh, Khổng Thị Kim Tiên, Trần Thị Thùy Trang, Nguyễn Thị Mơ, Lê Văn Vê & Nguyễn Thị Huyền Trang (2020). Ảnh hưởng của một số cơ chất đến sinh trưởng hệ sợi và hình thành quả thể nấm hương. *Tạp chí Khoa học Công nghệ Nông nghiệp Việt Nam.* 4(113): 49-55.
- Nguyễn Thị Huyền Trang, Ngô Xuân Nghiễn, Trần Đông Anh, Nguyễn Thị Luyện & Nguyễn Thị Bích Thủy (2023). Nghiên cứu đặc điểm sinh trưởng hệ sợi và ảnh hưởng của tỷ lệ cám mạch đến sự hình thành, phát triển quả thể của nấm hoàng chi (*Tomophagus cattienensis*). *Tạp chí Khoa học Nông nghiệp Việt Nam.* 21(12): 1581-1691.
- Nguyen Thi Huyen Trang, Nguyen Thi Bích Thủy, Nguyen Thi Mo, Nguyen Thi Luyen & Ngo Xuan Nghien (2023). Optimal culture conditions for the enhanced mycelial growth and cultivation of shiitake mushroom (*Lentinula edodes*). *Vietnam Journal of Agricultural sciences.* 6(4): 1958-1968
- Nguyen B.T.T., Van Le V., Nguyen H.T.T., Nguyen L. T., Tran A.D. & Ngo N.X. (2021a). Successful rescue of wild *Trametes versicolor* strains using sawdust and rice husk-based substrate. *Pakistan J. Biol. Sci.* 24: 374-382.
- Nina Bisko, Kairat Mustafin, Galeb Al-Maali, Zhanara Suleimenova, Margarita Lomberg, Zhanaar Narmuratova, Oksana Mykchaylova, Nadiya Mytropolska & Aigerim Zhakipbekova (2020). "Effect of cultivation parameters on intracellular polysaccharide production in submerged culture of the edible medicinal mushroom *Lentinula edodes*". *Czech Mycology.* 72(1): 1-17.
- Pegler D. (1975). The classification of the genus *Lentinus* Fr (Basidiomycota). *Kavaka.* 3: 11-20.
- Sarker N.C., Hossain M.M., Sultana N., Milan I.H., Karim A.J.M.S. & Amin S.M.R. (2007). Effect of different levels of pH on the growth and yield of *Pleurotus ostreatus*. *Bang. J. Mush.* 1: 57-62.
- Takashima K., Sato C., Sasaki Y., Takashi M. & Shigeyuki T. (1974). Effect of eritadenine on cholesterol metabolism in the rat. *Biochem. Pharmacol.* 23: 433-438.
- Vane CH (2003). Monitoring decay of black gum wood (*Nyssa sylvatica*) during growth of the Shiitake mushroom (*Lentinula edodes*) using diffuse reflectance infrared spectroscopy. *Applied Spectroscopy.* 57(5): 514-517.
- Varunesh Kumar, Mishra S.K. & Manpreet Kaur (2019). Effect of different media, temperature and pH on radial mycelial growth of *Lentinula edodes* strain Le-17-04. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry.* 8(1).
- Wasser S. (2004). Shiitake (*Lentinula edodes*). In Coates P.M., Blackman M., Cragg G.M., White J.D., Moss J., Levine M.A. (eds.). *Encyclopedia of Dietary Supplements.* CRC Press: 653-64.
- Woo-Sik Jo, Yun-Ju Cho, Doo-Hyun Cho, So-Deuk Park, Young-Bok Yoo & Soon-Ja Seok (2009). Culture conditions for the mycelial growth of *Ganoderma applanatum*. *Mycobiology.* 37(2): 94-102.
- Zeeshan Arif, Najma Y. Zahid, Nadeem A. Abbasi & Sheikh Muhammad Iqbal (2015). Effect of different culture medium and pH on the mycelial growth of shiitake mushroom. *Mycopath.* 13(1): 25-28.