

# ẢNH HƯỞNG CỦA ĐIỀU KIỆN NUÔI CẤY ĐẾN SINH TRƯỞNG HỆ SỢI VÀ QUẢ THỂ CỦA CHỦNG NẤM VÂN CHI *Trametes versicolor* Tra-6

Nguyễn Văn Giang<sup>2</sup>, Nguyễn Duy Trinh<sup>1</sup>, Nguyễn Thị Phương<sup>2</sup>, Trần Thu Hà<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Trung tâm Nghiên cứu và Phát triển Nấm, Viện Di truyền Nông nghiệp

<sup>2</sup>Học viện Nông nghiệp Việt Nam

\*Tác giả liên hệ: tranthuhapt@gmail.com

Ngày nhận bài: 03.10.2023

Ngày chấp nhận đăng: 25.12.2023

## TÓM TẮT

Nấm Vân chi (*Trametes versicolor*) là loài nấm dược liệu được sử dụng như dược phẩm tăng cường sức khỏe, kéo dài tuổi thọ và hỗ trợ điều trị cho các bệnh nhân ung thư. Hệ sợi và quả thể nấm Vân chi chứa các hợp chất có hoạt tính sinh học như polysaccharide, glucans, phenolic, flavonol, coumarin, isoflavonoid, triterpenoid và sterol. Nghiên cứu này thực hiện với mục đích lựa chọn được các điều kiện như pH, nhiệt độ, môi trường dinh dưỡng và thành phần giá thể phù hợp với sinh trưởng hệ sợi, quả thể của chủng nấm Vân chi Tra-6 thu thập tại Lào Cai, Việt Nam. Các yếu tố thí nghiệm được thực hiện khảo sát riêng lẻ theo khối ngẫu nhiên hoàn chỉnh (RCBD). Kết quả nghiên cứu cho thấy hệ sợi chủng nấm Vân chi Tra-6 sinh trưởng tốt nhất trên môi trường MCM, YEA; pH 8 và nhiệt độ  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ . Sucrose, cao nấm men,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , KCl và  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  lần lượt là các nguồn dinh dưỡng cacbon, nitơ, muối khoáng thích hợp cho sinh trưởng của chủng nấm này. Chủng nấm Vân chi Tra-6 có khả năng hình thành quả thể trên giá thể là các phụ phẩm nông nghiệp, năng suất nấm đạt cao nhất (44,4kg nấm khô/tấn nguyên liệu) khi trồng trên giá thể gồm 55% mùn cưa, 24% lõi ngô nghiền, 20% cám gạo và 1% bột nhẹ  $\text{CaCO}_3$ .

Từ khóa: Nấm Vân chi, *Trametes versicolor*, hệ sợi, quả thể, giá thể.

## Effects of Culture Conditions on Mycelial Growth and Fruiting Bodies of *Trametes versicolor* Mushroom Tra-6 Strain

### ABSTRACT

Turkey tail mushroom (*Trametes versicolor*) is a medicinal mushroom used as a health-promoting pharmaceutical, extending life, and adjuvant therapy for cancer patients. The mycelia and fruiting bodies of the Turkey tail mushroom contain various biologically active compounds such as polysaccharides, glucans, phenolics, flavonols, coumarins, isoflavonoids, triterpenoids, and sterols. This study was carried out to choose the optimal culture conditions, including culture pH, temperature, medium, and substrate composition, for the growth of the mycelia and fruiting bodies of the *T. versicolor* mushroom Tra-6 strain, collected in Lao Cai, Vietnam. The experimental factors were examined individually in a randomized complete block design. Research results show that the mycelia of the Turkey tail mushroom Tra-6 strain quickly grew on MCM and YEA media at pH 8 and  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ . Sucrose, yeast extract,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , KCl, and  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  were the optimal carbon, nitrogen, and mineral salt sources for this strain, respectively. Tra-6 strain had the ability to form fruiting bodies when growing on substrate from agricultural by-products. The highest yield of 44.4kg dry mushroom per ton of dry substrate was obtained on a substrate consisting of 55% sawdust, 24% crushed corncobs, 20% rice bran, and 1%  $\text{CaCO}_3$  powder.

Keywords: Turkey tail, *Trametes versicolor*, mycelium, fruiting body, substrate.

### 1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Nấm Vân chi (Turkey tail mushroom) tên khoa học là *Trametes versicolor*, *Polyporus versicolor* hoặc *Coriolus versicolor* là loài nấm

dược liệu khá phổ biến trên thế giới (Elkhateeb & cs., 2020). Y học cổ truyền Trung Quốc và Nhật Bản đã sử dụng nấm Vân chi như loại dược phẩm với mục đích tăng cường sức khỏe, kéo dài tuổi thọ. Trong y học hiện đại, các sản phẩm từ nấm

Vân chi được sử dụng như một liệu pháp hỗ trợ cho các bệnh nhân ung thư (He & cs., 2022). Ngoài các hợp chất chính như protein, carbohydrate và lipid, nấm Vân chi còn có chứa các hợp chất chuyển hóa thứ cấp có hoạt tính sinh học cao, trong đó thành phần glucans phân lập từ hệ sợi và quả thể nấm được chứng minh là có hoạt tính dược liệu, hỗ trợ điều trị một số bệnh rất hiệu quả (Habtemariam, 2020). Bằng các kỹ thuật hiện đại như sắc ký lỏng khối phổ (Liquid Chromatography - Mass Spectrometry/LC-MS) và quang phổ cộng hưởng từ hạt nhân (Nuclear Magnetic Resonance/NMR) các nhà nghiên cứu đã xác định được các hợp chất thứ cấp trong nấm Vân chi bao gồm axit phenolic, flavonol, flavon, coumarin, isoflavonoid và bioflavonoid, triterpenoid, sterol, ribonucleotide, glycoside và feron (Bains & cs., 2021).

Nấm Vân chi có phạm vi phân bố rộng, ở châu Âu, châu Mỹ, châu Á. Loài nấm này cũng được tìm thấy ở những vùng có khí hậu mát, lạnh của Việt Nam (Nguyễn Thị Bích Thùy & Trịnh Tam Kiệt, 2010). Ở nước ta, nấm Vân chi vẫn là loại nấm dược liệu chưa được phổ biến. Các nghiên cứu về chọn giống và cũng như tối ưu điều kiện nhân nuôi loài nấm này còn khá hạn hẹp. Việc khai thác nguồn gen nấm Vân chi bản địa cũng như nuôi trồng thương mại loài nấm này mới chỉ được thực hiện với quy mô nhỏ lẻ. Số lượng chủng giống nấm Vân chi chất lượng tốt phục vụ sản xuất đại trà trong cơ cấu giống nấm hiện nay còn rất khiêm tốn, chưa thực sự đáp ứng được thực tiễn sản xuất. Vì vậy, nghiên cứu

thu thập, tuyển chọn nguồn vật liệu khởi đầu phục vụ cho công tác chọn tạo giống nấm Vân chi có năng suất, hàm lượng dược chất cao là rất cần thiết. Sinh trưởng phát triển của các loài nấm được quy định bởi yếu tố di truyền và chịu sự tác động bởi các yếu tố môi trường sống như dinh dưỡng, pH, nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng, nồng độ khí CO<sub>2</sub> (Trịnh Tam Kiệt, 2012). Các nghiên cứu của Jo & cs. (2010), Veena & Pandey (2012) và Nguyen & cs. (2021a, 2021b) cũng đã chỉ ra ảnh hưởng của môi trường nuôi cấy, nguồn cacbon, nitơ, vitamin, muối khoáng, pH, nhiệt độ đến khả năng sinh trưởng hệ sợi, quả thể của các chủng nấm Vân chi *T. versicolor*. Nghiên cứu này được thực hiện nhằm tối ưu hóa một số điều kiện cho sinh trưởng, phát triển hệ sợi và quả thể của chủng nấm Vân chi *T. versicolor* Tra-6 mới thu thập tại Sapa - Lào Cai. Kết quả nghiên cứu là cơ sở để xây dựng quy trình nhân giống, nuôi trồng chủng nấm Vân chi Tra-6 áp dụng trong thực tiễn sản xuất.

## 2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Chủng giống nấm

Đối tượng nghiên cứu là chủng nấm Vân chi *T. versicolor* Tra-6 được thu thập vào tháng 12/2021 tại Sapa - Lào Cai, Việt Nam (GPS: 22°19'18.7"N 103°52'09'.5"E). Hệ sợi chủng nấm Vân chi Tra-6 được lưu trữ trên môi trường PDA và bảo quản ở nhiệt độ 4°C tại Trung tâm Nghiên cứu và Phát triển Nấm, Viện Di truyền Nông nghiệp.



(A)



(B)

Ghi chú: A: Quả thể nấm Vân chi Tra-6 ngoài tự nhiên; B: Hệ sợi nấm Vân chi Tra-6 trên môi trường PDA.

**Hình 1. Đặc điểm sinh học của chủng nấm Vân chi Tra-6**

## 2.2. pH môi trường

Chủng nấm Vân chi Tra-6 được nhân nuôi trên môi trường PDA (gồm: dịch chiết từ 200g khoai tây/l, dextrose 20 g/l và agar 20 g/l). Sử dụng dung dịch NaOH 1N hoặc HCl 1N để hiệu chỉnh giá trị pH môi trường nhân giống trước khi hấp khử trùng bằng 5, 6, 7, 8, 9. Môi trường PDA được chuẩn bị theo phương pháp được mô tả trong báo cáo của Nguyễn Văn Giang & cs. (2021) và hấp khử trùng ở nhiệt độ 121°C, thời gian 20 phút. Mỗi đĩa petri ( $\varnothing = 8\text{cm}$ ) chứa 20ml môi trường và được cấy 01 miếng giống nấm Vân chi Tra-6 (5 ngày tuổi) có kích thước  $5 \times 5\text{mm}$  tại vị trí trung tâm. Nuôi sợi nấm Vân chi Tra-6 trong tủ bảo ôn Memmert IF110 ở nhiệt độ  $25 \pm 1^\circ\text{C}$  và quan sát sự phát triển của hệ sợi nấm trên đĩa thạch.

## 2.3. Nhiệt độ nuôi sợi

Chủng nấm Vân chi Tra-6 được nhân nuôi trên môi trường PDA ở 4 ngưỡng nhiệt độ khác nhau  $20 \pm 1^\circ\text{C}$ ,  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ ,  $30 \pm 1^\circ\text{C}$  và  $35 \pm 1^\circ\text{C}$  (Jo & cs., 2010). Quan sát sự phát triển của hệ sợi nấm trên đĩa thạch theo thời gian.

## 2.4. Môi trường nuôi cấy

Sự sinh trưởng của hệ sợi nấm Vân chi Tra-6 được khảo sát trên 4 loại môi trường khác nhau gồm PDA, YEA, Czapek và MCM. Thành phần dinh dưỡng của các môi trường nhân giống cụ thể như sau: Môi trường PDA: dịch chiết từ 200g khoai tây/l, dextrose 20 g/l, agar 20 g/l; Môi trường YEA: glucose 10 g/l, cao nấm men 5 g/l, agar 20 g/l; Môi trường Czapek: sucrose 30 g/l;  $\text{NaNO}_3$  3 g/l;  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0,5 g/l; KCl 0,5 g/l;  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0,01 g/l;  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  1,0 g/l;  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  1,0 g/l, agar 20 g/l; Môi trường MCM (g/l): glucose 20 g/l, peptone 2,0 g/l, cao nấm men 2,0 g/l,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0,5 g/l,  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  1,0 g/l,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0,5 g/l, agar 20 g/l (Jo & cs., 2010).

## 2.5. Nguồn cacbon

Nuôi hệ sợi chủng nấm Vân chi Tra-6 trên môi trường Mushroom minimal media (MMM) gồm  $\text{MgSO}_4$  0,5 g/l,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0,46 g/l,  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  1,0 g/l, asparagine 2 g/l, thiamine-HCl 120  $\mu\text{g/l}$

và agar 20 g/l và bổ sung 1 trong 5 nguồn cacbon (sucrose, glucose, fructose, sorbitol và maltose) với hàm lượng 20 g/l.

## 2.6. Nguồn nitơ

Nuôi hệ sợi chủng nấm Vân chi Tra-6 trên môi trường MMM sử dụng 20 g/l nguồn cacbon thích hợp và bổ sung 1 trong 5 nguồn nitơ (cao nấm men, peptone, urea, ammonium chloride ( $\text{NH}_4\text{Cl}$ ) và sodium nitrate ( $\text{NaNO}_3$ )) với hàm lượng 2 g/l.

## 2.7. Nguồn muối khoáng

Hệ sợi chủng nấm Vân chi Tra-6 được nuôi cấy trên môi trường YM (gồm peptone 5,0 g/l, cao nấm men 3,0 g/l, malt extract 3,0 g/l, dextrose 10 g/l và agar 20 g/l) có bổ sung các loại muối khoáng khác nhau ( $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ; KCl;  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ ;  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) với hàm lượng 1,0 g/l (Jo & cs., 2010).

## 2.8. Thành phần giá thể

Chủng nấm Vân chi Tra-6 được trồng trên giá thể gồm mùn cưa, cám gạo và bột nhẹ  $\text{CaCO}_3$  với các tỷ lệ phối trộn khác nhau: Giá thể I: 89% mùn cưa, 10% cám gạo, 1% bột nhẹ  $\text{CaCO}_3$ ; Giá thể II: 79% mùn cưa, 20% cám gạo, 1% bột nhẹ  $\text{CaCO}_3$ ; Giá thể III: 55% mùn cưa, 24% lõi ngô nghiền, 20% cám gạo, 1% bột nhẹ  $\text{CaCO}_3$ . Mùn cưa, lõi ngô nghiền được tạo ẩm bởi bằng nước vôi trong (4kg vôi : 1.000 lít nước), ủ trong thời gian 7 ngày (Nguyen & cs., 2021b). Giá thể sau khi phối trộn các thành phần dinh dưỡng, hiệu chỉnh độ ẩm đạt 65% được đóng vào các túi nilon chịu nhiệt PE có kích thước  $19 \times 37\text{cm}$ , khối lượng 1,4 kg/túi. Hấp khử trùng giá thể ở nhiệt độ 121°C trong thời gian 180 phút. Giai đoạn sinh trưởng hệ sợi, chủng nấm Vân chi Tra-6 được ương nuôi ở nhiệt độ  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ , không có ánh sáng. Giai đoạn hình thành và phát triển quả thể, nuôi ở nhiệt độ  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ , độ ẩm không khí  $85 \pm 5\%$ , ánh sáng từ 300-800lux.

## 2.9. Chỉ tiêu theo dõi

Tốc độ sinh trưởng hệ sợi (mm/giờ) được theo dõi định kỳ sau 48, 72, 96 và 120 giờ nuôi

sợi. Tốc độ sinh trưởng hệ sợi sẽ được tính theo công thức là  $V = D/T$ , trong đó: V là tốc độ sinh trưởng hệ sợi (mm/giờ); D là bán kính hệ sợi (mm); T là thời gian nuôi sợi (giờ) (Bich Thuy Thi Nguyen & cs., 2019). Mật độ hệ sợi là mức độ phân bố của hệ sợi trên môi trường nhân giống, được đánh giá theo mô tả trong nghiên cứu của Jo & cs. (2010) gồm: hệ sợi dày, phân bố đều (C/Compact); hệ sợi dày, phân bố không đều (SC/somewhat compact); hệ sợi hơi mỏng, phân bố không đều (ST/somewhat thin) và hệ sợi mỏng (T/thin). Thời gian sinh trưởng hệ sợi (ngày) là thời gian được xác định từ khi cấy giống đến khi hệ sợi nấm phát triển kín toàn bộ giá thể. Thời gian hình thành quả thể (ngày) là thời gian được xác định từ khi cấy giống đến khi mầm quả thể nấm đầu tiên xuất hiện. Năng suất (kg/tấn nguyên liệu) là khối lượng nấm khô (kg) thu được trên 1.000kg giá thể khô (Vũ Tuấn Minh & Lê Thị Thu Hương, 2017).

## 2.10. Xử lý số liệu

Kết quả nghiên cứu được xử lý thống kê bằng phần mềm Excel 2016 và Graphpad Prism 9.1. Sự khác biệt giữa các công thức được đánh giá bằng phân tích phương sai ANOVA một chiều (one-way) hoặc hai chiều (two-way) và so sánh nhiều nhóm theo chuẩn Tukey ở mức ý nghĩa  $P < 0,05$ .

## 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

### 3.1. Ảnh hưởng của pH môi trường

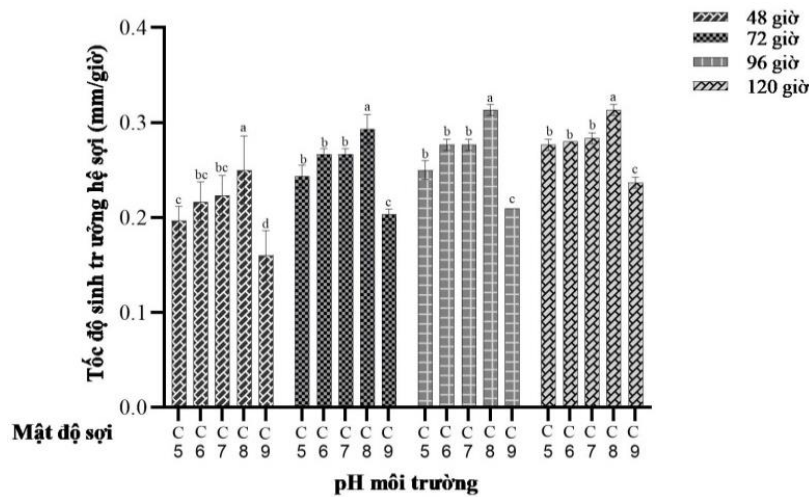
Kết quả nghiên cứu ở hình 2a và 2b cho thấy, hệ sợi chủng nấm Vân chi Tra-6 có thể sinh trưởng trong khoảng pH từ 5 đến 9 ( $P < 0,05$ ) và sinh trưởng thuận lợi nhất trên môi trường có pH 8. Trên môi trường pH 8, tốc độ sinh trưởng của hệ sợi của chủng nấm Tra-6 tăng dần và đạt giá trị cao nhất tại thời điểm 96 và 120 giờ nuôi (0,31 mm/giờ). Trên môi trường pH 5-7, tốc độ sinh trưởng hệ sợi của chủng nấm tại thời điểm 48, 72 và 96 giờ nuôi sợi không sai khác ( $P < 0,05$ ), trung bình đạt 0,19 đến 0,28 mm/giờ. Trên môi trường với pH 9, tốc độ mọc sợi của chủng Tra-6 chậm nhất, chỉ đạt từ 0,16 đến 0,24 mm/giờ.

Các enzyme ngoại bào của mỗi loài nấm thường hoạt động trong một phạm vi pH nhất định và ảnh hưởng đến quá trình hấp thụ, chuyển hóa các chất dinh dưỡng của nấm (Miles & Chang, 1997). Nghiên cứu của Veena & Pandey (2012) khẳng định nấm Vân chi *T. versicolor* có thể phát triển trong phổ pH rộng, từ 4 đến 9. Sukrit & cs. (2020) báo cáo hệ sợi nấm *T. versicolor* phát triển nhanh nhất ở pH 7, tốc độ sinh trưởng trung bình đạt 0,28 mm/giờ, tại các giá trị pH 4 và pH 6 hệ sợi nấm Vân chi sinh trưởng chậm hơn với tốc độ 0,08 mm/giờ (tại pH 4) đến 0,20 mm/giờ (tại pH 6). Như vậy, có thể thấy môi trường nuôi cấy có tính kiềm là phù hợp hơn với chủng nấm Vân chi Tra-6 mới thu thập được.

### 3.2. Ảnh hưởng của nhiệt độ

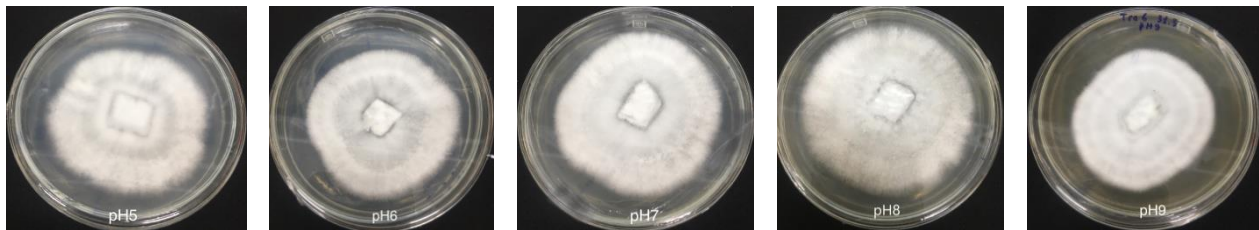
Hệ sợi nấm Vân chi Tra-6 sinh trưởng nhanh nhất ở nhiệt độ  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ , tốc độ sinh trưởng hệ sợi sau 48, 72, 96 và 120 giờ nuôi sợi đạt trung bình lần lượt là 0,28; 0,29; 0,30 và 0,31 mm/giờ; mật độ hệ sợi dày, phân bố đều (Hình 3b). Ở nhiệt độ  $20 \pm 1^\circ\text{C}$ , tốc độ mọc sợi của nấm Vân chi Tra-6 chậm hơn so với tốc độ mọc sợi tại nhiệt độ  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ , mật độ hệ sợi dày. Ở nhiệt độ  $30 \pm 1^\circ\text{C}$ , tốc độ sinh trưởng hệ sợi của chủng Tra-6 chậm, trung bình đạt từ 0,25 đến 0,29 mm/giờ; mật độ hệ sợi dày, nhưng phân bố không đều (SC). Ở nhiệt độ  $35 \pm 1^\circ\text{C}$ , hệ sợi nấm Vân chi Tra-6 sinh trưởng chậm nhất, tốc độ mọc hệ sợi sau 48, 72, 96 và 120 giờ nuôi đạt 0,13; 0,14; 0,15 và 0,16 mm/giờ; mật độ hệ sợi dày, phân bố đều.

Nhiệt độ ảnh hưởng trực tiếp đến quá trình hô hấp và trao đổi chất của tế bào hệ sợi nấm (Ta & cs., 2021). Nghiên cứu của Sagar & cs. (2020) cho biết trên môi trường rắn nấm *T. versicolor* hệ sợi sinh trưởng nhanh nhất ở nhiệt độ  $30^\circ\text{C}$  với tốc độ 0,30 mm/giờ, ở nhiệt độ  $25^\circ\text{C}$  với tốc độ 0,20 mm/giờ và tốc độ mọc chậm nhất được quan sát thấy ở nhiệt độ  $15^\circ\text{C}$ . Các nghiên cứu của Kunamnenie & cs. (2007), Jo & cs. (2010) và Nguyen & cs. (2021a) cũng cho thấy nhiệt độ tối ưu cho sự phát triển của nấm Vân chi *T. versicolor* là từ 25 đến  $30^\circ\text{C}$ .



Ghi chú: C: Hệ sợi dày, phân bố đều.

**Hình 2a.** Tốc độ sinh trưởng hệ sợi của chủng nấm Vân chi Tra-6 trên môi trường PDA tại các giá trị pH khác nhau (nhiệt độ 25°C)



**Hình 2b.** Hình thái hệ sợi chủng nấm Vân chi Tra-6 sau 96 giờ trên môi trường PDA tại các giá trị pH khác nhau (nhiệt độ 25°C)

### 3.3. Ảnh hưởng của môi trường nuôi cấy

Sinh trưởng hệ sợi của chủng nấm Vân chi Tra-6 trên các môi trường PDA, YEA và MCM được ghi nhận nhanh hơn so với môi trường Czapek ( $P < 0,05$ ). Khả năng sinh trưởng hệ sợi của chủng nấm Vân chi Tra-6 trên môi trường PDA, YEA và MCM tại thời điểm 96 và 120 giờ nuôi không sai khác thống kê ( $P < 0,05$ ), tốc độ mọc sợi sau 120 giờ nuôi đạt lần lượt là 0,31; 0,32 và 0,32 mm/giờ. Tuy nhiên, trên môi trường YEA và MCM mật độ hệ sợi của chủng nấm Tra-6 dày và phân bố đều hơn so với trên môi trường PDA (Hình 4b). Trên môi trường Czapek, khả năng sinh trưởng hệ sợi của chủng Tra-6 rất chậm, tốc độ mọc sợi tăng dần từ 48, 72 đến 96 giờ và có xu hướng giảm sau 120 giờ nuôi, đạt lần lượt là 0,23, 0,24, 0,25 và 0,23 mm/giờ; mật độ hệ sợi mỏng (Hình 4b).

Môi trường nuôi cấy luôn là yếu tố quan trọng quyết định khả năng sinh trưởng của các chủng nấm (Nguyen & Ranamukhaarachchi, 2020). Jo & cs. (2010) cho biết hệ sợi của nấm *T. versicolor* có thể sinh trưởng thuận lợi ở các môi trường PDA, MEA, chiết xuất mạch nha và sinh trưởng kém hơn khi được nhân nuôi trên các môi trường Czapek, Glucose Peptone và Hennerberg. Chauhan (2016) quan sát thấy tốc độ tăng trưởng hệ sợi chủng nấm Vân chi *T. versicolor* thu thập tại Palampua, India trên hai môi trường Brown's-II và Glucose Peptone nhanh hơn so với môi trường Czapek. Nguyen & cs. (2021a) ghi nhận chủng nấm Vân chi VNUA và BV sinh trưởng thuận lợi trên môi trường PGA và khẳng định môi trường Czapek không phù hợp cho sinh trưởng hệ sợi của các chủng nấm Vân chi nghiên cứu. Pasailiuk & cs. (2019)

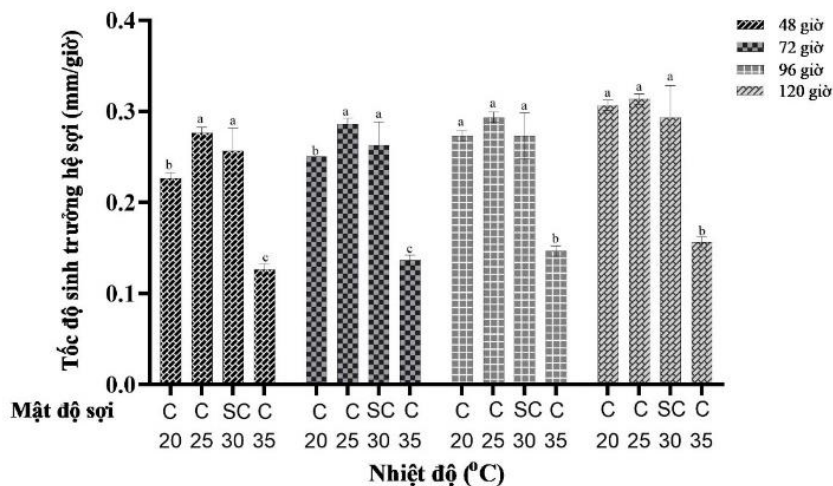
cho biết môi trường Czapek là môi trường nghèo dinh dưỡng và được đánh giá là không phù hợp cho sự sinh trưởng hệ sợi của nhiều loài nấm *Hericium coralloides* (Pasaliuk & cs., 2019), nấm Rơm *Volvariella volvacea* (Shroff & cs., 2022), nấm Sò *Pleurotus sapidus* (Mahadevan & Shanmugasundaram, 2018).

### 3.4. Ảnh hưởng của nguồn cacbon

Kết quả nghiên cứu (Hình 5a) cho thấy chủng nấm Vân chi Tra-6 có thể sử dụng cả 5 nguồn cacbon gồm glucose, sucrose, fructose, sorbitol và maltose. Tốc độ sinh trưởng hệ sợi của chủng Tra-6 trên môi trường bổ sung glucose, sucrose, fructose, sorbitol và maltose không có sự sai khác thống kê ( $P < 0,05$ ), tốc độ mọc sợi được ghi nhận là nhanh nhất sau 120 giờ nuôi và đạt trung bình từ 0,25 đến 0,29 mm/giờ. Tuy nhiên, hệ sợi của chủng nấm

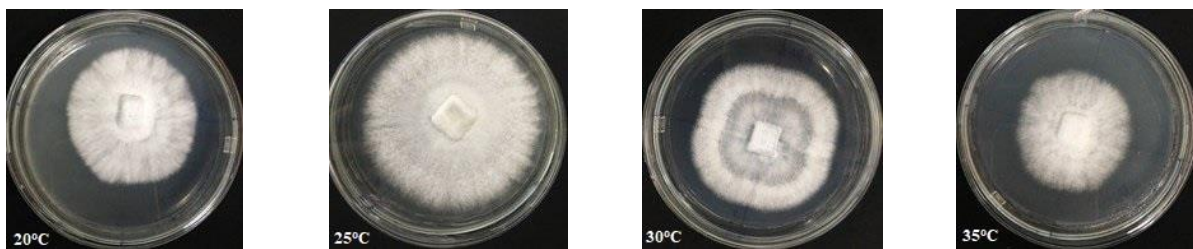
Vân chi Tra-6 trên môi trường sử dụng sucrose được quan sát ở mức độ dày, phân bố đều; ngược lại trên môi trường sử dụng glucose, fructose, sorbitol và maltose hệ sợi nấm phân bố không đều (Hình 5b).

Cacbon là thành phần tham gia vào cấu trúc của các hợp chất cấu trúc nên tế bào và có vai trò quan trọng trong sự phát triển của hệ sợi nấm (Nguyen & cs., 2021b). Ảnh hưởng của nguồn cacbon đến sinh trưởng của nấm phụ thuộc rất nhiều vào bản chất sinh học của loài, điều kiện nuôi cấy (Ito & Reshi, 2014). Jo & cs. (2010) đã chứng minh nguồn cacbon hiệu quả cho sự phát triển sợi nấm của nấm *T. versicolor* là dextrin, fructose và mannose. Nguyen & cs. (2021b) dựa trên khả năng sinh trưởng hệ sợi và tính khả thi về mặt kinh tế đã xác định fructose là nguồn cacbon có lợi nhất cho sự phát triển sợi của nấm Vân chi chủng VT1.



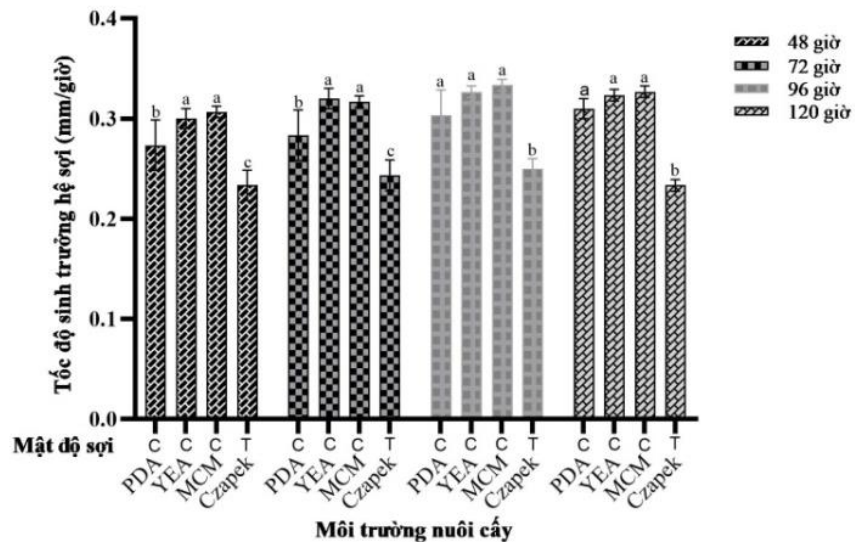
Ghi chú: C: Hệ sợi dày, phân bố đều; SC: hệ sợi dày, phân bố không đều.

Hình 3a. Tốc độ sinh trưởng hệ sợi của chủng nấm Vân chi Tra-6 trên môi trường PDA tại các nhiệt độ sinh trưởng khác nhau (pH8)



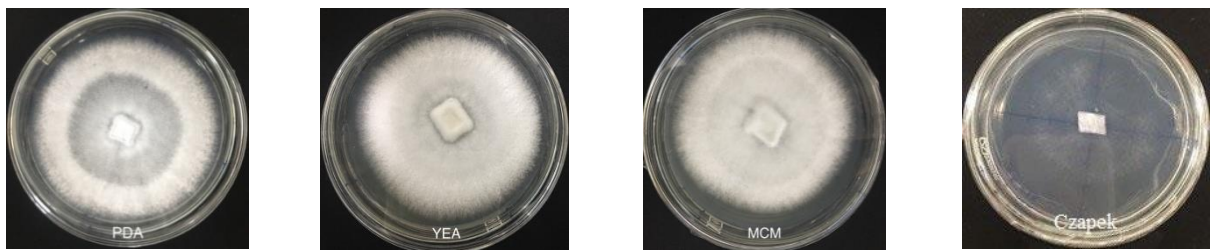
Hình 3b. Hình thái hệ sợi chủng nấm Vân chi Tra-6 sau 96 giờ nuôi trên môi trường PDA tại các nhiệt độ nuôi sợi khác nhau (pH8)

Ảnh hưởng của điều kiện nuôi cấy đến sinh trưởng hệ sợi và quả thể của chủng nấm vân chi *Trametes versicolor* Tra-6

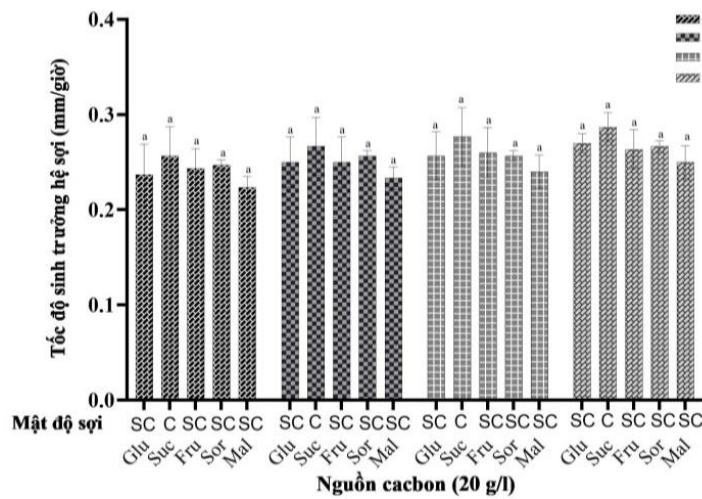


Ghi chú: C: Hệ sợi dày, phân bố đều; T: Hệ sợi mỏng.

Hình 4a. Tốc độ sinh trưởng hệ sợi của chủng nấm Vân chi Tra-6 trên các môi trường nuôi cấy khác nhau (pH8, nhiệt độ  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ )

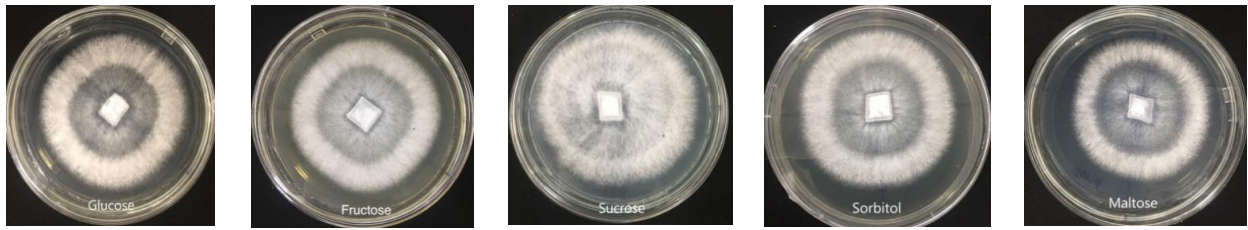


Hình 4b. Hình thái hệ sợi chủng nấm Vân chi Tra-6 sau 96 giờ nuôi trên các môi trường nuôi cấy khác nhau (pH8, nhiệt độ  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ )

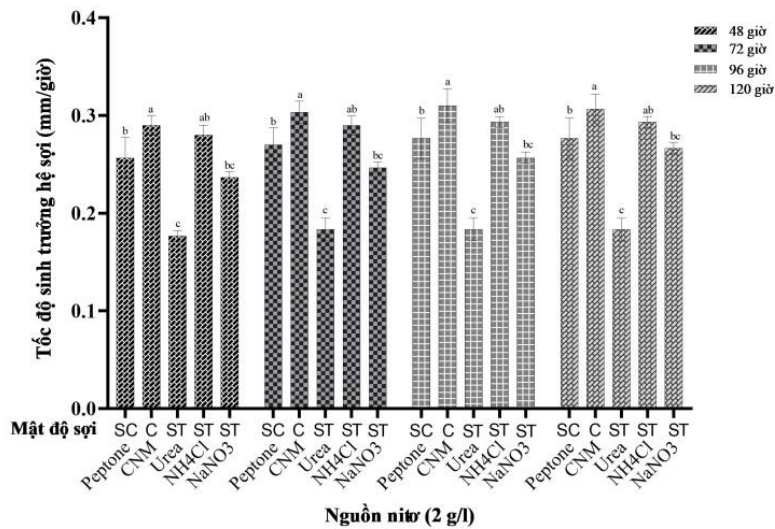


Ghi chú: C: Hệ sợi dày, phân bố đều; SC: Hệ sợi dày, phân bố không đều.

Hình 5a. Tốc độ sinh trưởng hệ sợi của chủng nấm Vân chi Tra-6 trên môi trường MMM bổ sung các nguồn carbon khác nhau



**Hình 5b. Hình thái hệ sợi chủng nấm Vân chi Tra-6 sau 96 giờ nuôi trên môi trường MMM bổ sung các nguồn carbon khác nhau (pH8, nhiệt độ  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ )**



Ghi chú: C: Hệ sợi dày, phân bố đều; SC: Hệ sợi dày, phân bố không đều; ST: Hệ sợi hơi mỏng, phân bố không đều.

**Hình 6a. Sinh trưởng hệ sợi của chủng nấm Vân chi Tra-6 trên môi trường bổ sung các nguồn nitơ khác nhau (pH8, nhiệt độ  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ )**



**Hình 6b. Hình thái hệ sợi chủng nấm Vân chi Tra-6 sau 96 giờ nuôi trên môi trường MMM bổ sung các nguồn nitơ khác nhau (pH8, nhiệt độ  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ )**

### 3.5. Ảnh hưởng của nguồn nitơ

Chủng nấm Vân chi Tra-6 có khả năng sinh trưởng nhanh nhất trên môi trường có bổ sung cao nấm men ( $P < 0,05$ ) (Hình 6a). Tốc độ mọc sợi của chủng nấm Tra-6 trên môi trường cao nấm men tại 48, 72, 96 và 120 giờ nuôi là 0,29; 0,30; 0,31 và 0,31 mm/giờ. Ngược lại, hệ sợi

của chủng nấm Vân chi Tra-6 sinh trưởng kém trên môi trường bổ sung ure, tốc độ mọc sợi trung bình đạt 0,18 mm/giờ. Trên môi trường bổ sung cao nấm men mật độ hệ sợi chủng nấm Tra-6 dày nhất, phân bố đều; môi trường bổ sung peptone mật độ hệ sợi dày, phân bố không đều; môi trường bổ sung các các nguồn nitơ còn lại, mật độ hệ sợi mỏng, phân bố không đều (Hình 6b). Dựa trên kết



quả về đặc điểm sinh trưởng hệ sợi, cao nấm men được xác định là nguồn nitơ phù hợp cho chủng nấm Vân chi Tra-6.

Kết quả nghiên cứu cũng cho thấy nguồn nitơ vô cơ không thuận lợi cho sự sinh trưởng hệ sợi của chủng nấm Vân chi Tra-6, nhận định này phù hợp với nghiên cứu của Jo & cs. (2010). Hầu hết các loài nấm sử dụng tốt các nguồn nitơ hữu cơ hơn các nguồn nitơ vô cơ (Nguyễn Văn Giang & cs., 2021). Các nguồn nitơ hữu cơ như peptone, cao nấm men đã được nhiều tác giả nhận định là phù hợp với nấm Vân chi *T. versicolor* và các loài nấm khác như *Tremella fuciformis*, *Ganoderma sinense*, *Pleurotus* spp. và *Hericiium* spp. (Nguyen & cs., 2021b; Nguyễn Văn Giang & cs., 2021; Luyen & cs., 2023; Luarsen, 2018; Gonkhom & cs., 2022). Ngược lại, nguồn nitơ vô cơ không tăng cường sự sinh trưởng, phát triển của sợi nấm là do nitơ vô cơ không thể sử dụng cho quá trình sinh tổng hợp các axit amin thiết yếu của nấm (Petre, 2016).

### 3.6. Ảnh hưởng của nguồn muối khoáng

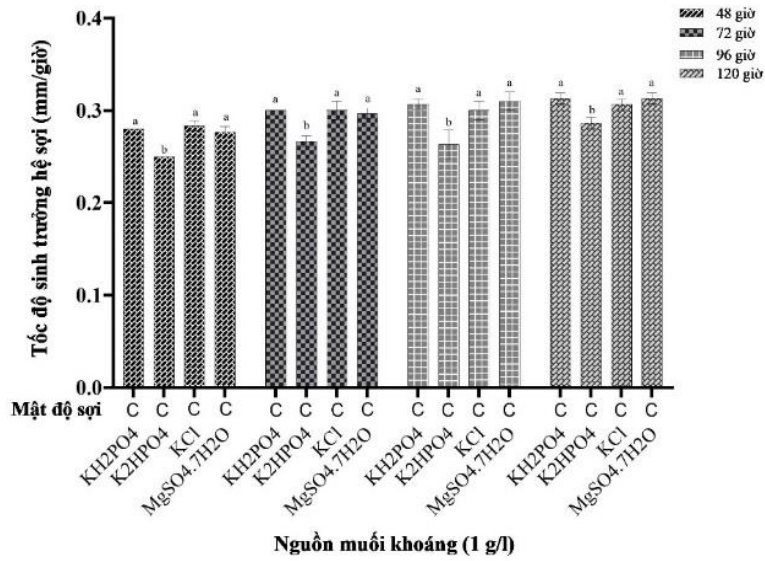
Kết quả nghiên cứu (Hình 7a và 7b) cho thấy hệ sợi nấm chủng nấm Vân chi Tra-6 sinh trưởng thuận lợi trên các môi trường bổ sung 4 loại muối khoáng  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ , KCl,  $K_2HPO_4$  và  $KH_2PO_4$ . Trong đó môi trường bổ sung  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ , KCl và  $KH_2PO_4$  được ghi nhận là phù hợp hơn so với môi trường bổ sung  $K_2HPO_4$ . Tốc độ sinh trưởng hệ sợi của chủng nấm Vân chi Tra-6 trên môi trường bổ sung  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ , KCl và  $KH_2PO_4$  sau 120 giờ nuôi cấy đạt lần lượt là 0,31; 0,30 và 0,31 mm/giờ và đạt 0,28 mm/giờ trên môi trường bổ sung  $K_2HPO_4$ . Mật độ hệ sợi nấm chủng Tra-6 trên các môi trường bổ sung 4 loại muối khoáng dày và phân bố đều (Hình 7b). Kết quả nghiên cứu này là phù hợp với nghiên cứu của Jo & cs. (2010) khi tác giả này nhận định  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ , KCl và  $KH_2PO_4$  là 3 nguồn muối khoáng phù hợp hơn cho sự phát triển hệ sợi của chủng nấm *Coriolus versicolor*.

### 3.7. Ảnh hưởng của thành phần giá thể

Các loài nấm khác nhau yêu cầu thành phần giá thể nuôi trồng khác nhau để hình thành và phát triển quả thể (Miles & Chang, 2004). Ba công thức giá thể đã được thử

thử nghiệm để xác định khả năng hình thành quả thể của chủng nấm Tra-6. Các thành phần giá thể nuôi trồng khác nhau đã ảnh hưởng đến sự sinh trưởng hệ sợi của chủng nấm Vân chi Tra-6 ( $P < 0,05$ ) (Hình 8a). Hệ sợi chủng Tra-6 sinh trưởng tốt trên cả 3 loại giá thể với tốc độ mọc sợi nhanh, mật độ hệ sợi dày. Trong đó, tốc độ sinh trưởng hệ sợi của chủng nấm Vân chi Tra-6 nhanh nhất được ghi nhận trên giá thể GT3 với thời gian trung bình để hệ sợi ăn kín bịch là 28,6 ngày; tốc độ mọc sợi chậm nhất trên giá thể GT1 với thời gian sinh trưởng hệ sợi trung bình 33,0 ngày. Khả năng hình thành và phát triển quả thể của chủng nấm Vân chi Tra-6 tại các công thức giá thể cũng có sự khác biệt đáng kể ( $P < 0,05$ ). Chủng nấm Vân chi Tra-6 có thời gian hình thành quả thể ngắn nhất (35,3 ngày) trên giá thể GT3 và dài nhất trên giá thể GT1 (42,0 ngày). Năng suất của chủng nấm Vân chi Tra-6 cao nhất khi được trồng trên giá thể GT3, đạt 44,4 kg/tấn nguyên liệu; tiếp theo trên giá thể GT2, đạt 37,7kg và thấp nhất trên giá thể GT1, đạt 33,4kg (Hình 8b).

Các kết quả thí nghiệm cho thấy, giá thể GT2 và GT3 thích hợp hơn giá thể GT1 trong nuôi trồng nấm Vân chi chủng Tra-6. Sự phong phú về thành phần cũng như hàm lượng dinh dưỡng của giá thể GT2, GT3 đã tạo điều kiện cho hệ sợi nấm Vân chi Tra-6 sinh trưởng nhanh, tích lũy dinh dưỡng, thúc đẩy hình thành và phát triển quả thể tạo năng suất. Nguyen & cs. (2021b) cũng đã công bố kết quả tương tự khi tiến hành nuôi trồng nấm Vân chi chủng VT1 và cho rằng việc kết hợp nhiều loại nguyên liệu trong thành phần giá thể có thể làm gia tăng năng suất nấm (Nguyen & cs., 2021b). Guerrero & cs. (2011) cũng nhận thấy hiệu suất sinh học (BE%) của nấm *T. versicolor* trồng trên giá thể mùn cưa bổ sung 10% hạt cao lương, 10% bột mì và 2% thạch cao (gypsum) gấp khoảng 7 lần so với nấm Vân chi trồng trên giá thể mùn cưa đơn thuần. Ngoài ra, Vũ Tuấn Minh & Lê Thị Thu Hoàng (2017) ghi nhận năng suất của chủng nấm Vân chi *T. versicolor* đạt 38,64 gram nấm khô/kg nguyên liệu khô khi nuôi trồng trên giá thể mùn cưa cao su phối trộn với 2% cám gạo, 2% bột ngô, 0,5% bột nhẹ  $CaCO_3$  và 0,5% đường sucrose.

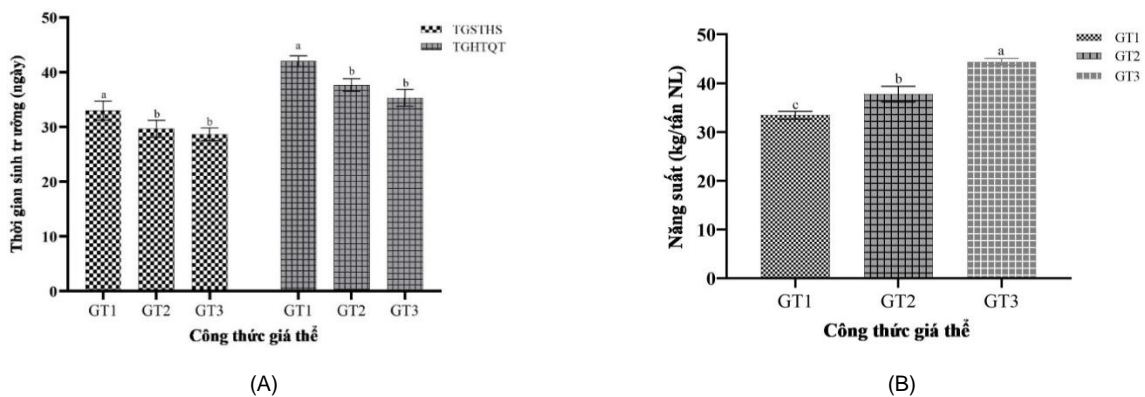


Ghi chú: C: Hệ sợi dày, phân bố đều

**Hình 7a. Tốc độ sinh trưởng hệ sợi của chủng nấm Vân chi Tra-6 trên môi trường YM bổ sung các nguồn muối khoáng khác nhau (pH8, nhiệt độ 25 ± 1°C)**



**Hình 7b. Hình thái hệ sợi chủng nấm Vân chi Tra-6 sau 120 giờ nuôi trên môi trường YM bổ sung các nguồn muối khoáng khác nhau (pH8, nhiệt độ 25 ± 1°C)**



Ghi chú: TGSTHS: Thời gian sinh trưởng hệ sợi (ngày); TGHTQT: Thời gian hình thành quả thể (ngày); NL: Nguyên liệu.

**Hình 8a. Thời gian sinh trưởng (A), năng suất (B) của chủng nấm Vân chi Tra-6 trồng trên các công thức giá thể khác nhau**



**Hình 8b. Hình thái quả thể của chủng nấm Vân chi Tra-6 trồng trên các công thức giá thể khác nhau**

#### 4. KẾT LUẬN

Hệ sợi chủng nấm Vân chi Tra-6 sinh trưởng tốt nhất trên môi trường YEA hoặc MCM với pH 8 và nuôi ở nhiệt độ  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ , sau 120 giờ nuôi tốc độ mọc sợi của chủng Tra-6 đạt tương ứng là 0,32 mm/giờ, mật độ hệ sợi dày, phân bố đều. Sucrose, cao nấm men,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , KCl và  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  là các nguồn dinh dưỡng carbon, nitơ và muối khoáng phù hợp thúc đẩy tăng trưởng của hệ sợi nấm Vân chi Tra-6. Chủng nấm Vân chi Tra-6 có khả năng hình thành và phát triển quả thể trên giá thể là các phụ phẩm nông nghiệp như mùn cưa, lõi ngô nghiền. Năng suất của chủng nấm đạt giá trị cao nhất khi trồng trên giá thể gồm 55% mùn cưa, 24% lõi ngô nghiền, 20% cám gạo và 1% bột nhẹ  $\text{CaCO}_3$  đạt 44,4 kg nấm khô/tấn nguyên liệu. Kết quả này sẽ là cơ sở cho các nghiên cứu lựa chọn các cơ chất phù hợp để sản xuất thương mại chủng nấm này với quy mô lớn hơn trong điều kiện sản xuất ở nước ta.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Bains A., Chawla P., Kaur S., Najda A., Fogarasi M. & Fogarasi S. (2021). Bioactives from Mushroom: Health Attributes and Food Industry Applications. *Materials*. 14: 2-16.
- Chauhan R. (2016). Optimization of physical parameters for the growth of a white rot fungus- *Trametes versicolor*. *International Journal Of Information Research And Review*. 3(11): 3125-3128.
- Eikhateeb W.A., Elnahas M.O., Thomas P.W & Daba G.M. (2020). *Trametes Versicolor* and *Dictyophora Indusiata* Champions of Medicinal Mushrooms. *Open Access Journal of Pharmaceutical Research*. 4(1): 1-7.
- Gonkhom D., Luangharn T., Hyde K.D., Stadler M. & Naritsada Thongklang N. (2022). Optimal conditions for mycelial growth of medicinal mushrooms belonging to the genus *Hericium*. *Mycological Progress*. 21: 82.
- Guerrero D.G., Martinez V.E. & De La Almaraz R.T. (2011). Cultivation of *Trametes versicolor* in Mexico. *Michael Fajardo - Logistics Analyst*. 23: 55-58.
- He Z., Lin J., He Y. & Liu. S. (2022). Polysaccharide-Peptide from *Trametes versicolor*: The Potential Medicine for Colorectal Cancer Treatment. *Biomedicines*. 10(11): 2841.
- Ito Z.A. & Reshi Z.A. (2014). Effect of different nitrogen and carbon sources and concentrations on the mycelial growth of ectomycorrhizal fungi under *in-vitro* conditions. *Scandinavian Journal of Forest Research*. 29: 619-628.
- Jo W.S., Kang M.J., Choi S.Y., Yoo Y.B., Seok S.J. & Jung H.Y. (2010). Culture conditions for mycelial growth of *Coriolus versicolor*. *Mycobiology*. 38: 195-202.
- Kunamneni A., Ballesteros A., Plou F.J. & Alcalde M. (2007). Fungal laccase versatile enzyme for biotechnological applications. *Communicating current research and educational topics and trends in applied microbiology*. 1: 233-45.
- Laursen A. (2018). The Effect of Different Nitrogen Sources on Mycelial Growth of Oyster Mushroom, *Pleurotus ostreatus*. Bachelor Project in Biology. SLU- Department of Biosystems and Technology. 61p.
- Luyen N.T., Ve V.L., Nguyen B.T.T., Nguyen H.T.T., Tran A.D., Ngo N.X. (2023). Optimization of mycelial growth and cultivation of wild Ganoderma sinense. *Journal of Biotechnology, Computational Biology and Bionanotechnology*. 104(1): 65-74.
- Mahadevan K. & Shanmugasundaram K. (2018). Comparative effect of different culture media on mycelial growth performance of *Pleurotus sapidus*.

- Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry. 7(4): 874-878
- Mallikarjuna S.E., Ranjini A., Haware D.J., Vijayalakshmi M.R., Shashirekha M.N. & Rajarathnam S. (2013). Mineral Composition of Four Edible Mushrooms. Journal of Chemistry. pp. 1-5.
- Miles P.G. & Chang S.T. (1997). Mushroom biology: Concise basics and current developments. In: Miles, PG, editor. Mushroom Biology: Concise Basics and Current Developments. Singapore: World Scientific Publishing Company. 41.
- Miles P.G. & Chang S.T. (2004) Mushrooms: Cultivation, Nutritional Value, Medicinal Effect, and Environmental Impact. 2<sup>nd</sup> ed. Boca Raton, Florida: CRC Press.
- Nguyễn Thị Bích Thùy & Trịnh Tam Kiệt (2010). Nghiên cứu đặc điểm sinh học và Kỹ thuật nuôi trồng nấm Vân chi *Trametes versicolor* (Linnaeus. Fries) Pilat. Tạp chí Di truyền học và Ứng dụng. 6: 55-58.
- Nguyễn Văn Giang, Nguyễn Thị Phương Thảo, Trần Thu Hà & Nguyễn Duy Trình (2021). Ảnh hưởng của một số nguồn cacbon, nitơ và muối khoáng đến sinh trưởng hệ sợi nấm ngân nhĩ *Tremella fuciformis* Tre-1. Tạp chí Khoa học Nông nghiệp Việt Nam. 19(11): 1522-1530.
- Nguyen B.T.T, Le V.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 Journal of Biological Sciences. 24: 374-382.
- Nguyen B.T.T., Le V.V, Nguyen H.T.T., Nguyen L.T., Tran T.T.Y. & Ngo N.X. (2021b). Nutritional requirements for the enhanced mycelial growth and yield performance of *Trametes versicolor*. Journal of Applied Biology and Biotechnology. 9(1): 1-7
- Nguyen T.M. & Ranamukhaarachchi S.L. (2020). Effect of different culture media, grain sources and alternate substrates on the mycelial growth of *Pleurotus eryngii* and *Pleurotus ostreatus*. Pakistan Journal of Biological Sciences. 23: 223-230
- Pasailiuk M.V., Sukhomlyn M.M. & Gryganskyi A.P. (2019). Patterns Of *Hericium Coralloides* Growth With Competitive Fungi. Czech Mycology. 71(1): 49-63.
- Petre M. (2016). Mushroom Biotechnology Developments and Applications. 1<sup>st</sup> ed. Cambridge, Massachusetts: Academic Press.
- Sagar S., Thakur M., Sharma I. & Tripathi A. (2020). Optimization of mycelia growth parameters for Wild white rot fungi *Trametes elegans* and *Trametes versicolor*. Asia Life Sciences. 12(1): 4-17.
- Shroff S., Tiwari P.K., Kotasthane A.S. & Lakpale R. (2022). Effect of different media on mycelial growth & Chlamydospore production of paddy straw mushroom (*Volvariella volvacea*). The Pharma Innovation Journal. 11(6): 1932-1938.
- Ta K., Vyu B. & As. S. (2021) Review of the basic cultivation conditions influence on the growth of basidiomycetes. Current Research in Environmental & Applied Mycology. 11(1): 494-531.
- Trịnh Tam Kiệt (2012). Nấm lớn ở Việt Nam (Tập 2). Nhà xuất bản Khoa học Tự nhiên và Công nghệ, Hà Nội. 412tr.
- Veena S.S. & Pandey M. (2012). Physiological and cultivation requirements of *Trametes versicolor*, a medicinal mushroom to diversify Indian mushroom industry. The Indian Journal of Agricultural Sciences. 82: 672-675.
- Vũ Tuấn Minh & Lê Thị Thu Hường (2017). Nghiên cứu sự sinh trưởng, phát triển và năng suất nấm Vân chi (*Trametes versicolor* (L.) Pilat) trồng trên các loại giá thể tại Thừa Thiên Huế. Tạp chí Khoa học và Công nghệ. 1(1): 77-86.