



TỐI ƯU HÓA MỘT SỐ ĐIỀU KIỆN ĐỂ NUÔI TRỒNG NẤM LINH CHI (*Ganoderma lucidum*) SỪNG HƯƠNG TRÊN MÙN CƯA

Nguyễn Thị Kim Cúc^{1,*}, Nguyễn Thị Diễm¹, Nguyễn Thị Oanh¹,
Nguyễn Văn Phú², Nguyễn Mạnh Tuấn³

¹ Viện công nghệ sinh học, Đại học Huế, Tỉnh Lộ 10, Phú Vang, Thừa Thiên Huế, Việt Nam

² Khoa Khoa học, Đại học Charles, Cộng hòa Séc

³ Viện Khoa học Sự sống, Đại học Thái Nguyên, Tp. Thái Nguyên, Thái Nguyên, Việt Nam

* Tác giả liên hệ: Nguyễn Thị Kim Cúc <ntkcuc.huib@hueuni.edu.vn>

(Ngày nhận bài: 30-9-2020; Ngày chấp nhận đăng: 18-11-2020)

Tóm tắt. Nấm linh chi (*Ganoderma lucidum*) sừng hương đã được nuôi trồng thành công ở một số quốc gia trên thế giới, nhưng ở Việt Nam hiện nay vẫn chưa có những công bố liên quan tới việc nghiên cứu sản xuất tạo quả thể nấm linh chi dạng sừng hương. Trong nghiên cứu này, chúng tôi đã tối ưu hóa được điều kiện cơ chất cho sự phát triển của hệ sợi nấm linh chi gồm mùn cưa keo phối trộn với 5% cám ngô, 5% cám gạo, 1% bột nhẹ và 3% bột đậu tương. Kết quả cho thấy quả thể nấm linh chi có hình quả thận ở điều kiện nuôi trồng thông thường (CT1) đã chuyển sang dạng sừng hương trong điều kiện thiếu sáng (CT2), và dạng sừng hương điển hình trong điều kiện thiếu khí và có sáng (CT3) hoặc thiếu khí và tối (CT4). Ở điều kiện CT3 và CT4, quả thể nấm linh chi không sinh bào tử, có màu nâu đỏ và bóng. Ở dạng sừng hương, nấm linh chi có năng suất khô của quả thể cao nhất khi trồng trong điều kiện CT3 với chiều dài quả thể đạt 33 cm và năng suất đạt 28,02 g/bịch cơ chất. Tuy nhiên, hàm lượng polysaccharide tan trong nước lại đạt cao nhất khi nấm được trồng trong điều kiện CT4 (0,47 mg glucose/g polysaccharide tổng số tan trong nước).

Từ khoá: nấm linh chi sừng hương, *Ganoderma lucidum*, polysaccharide

Optimal conditions for producing antler-type fruiting bodies of *Ganoderma lucidum* on sawdust substrate

Nguyen Thi Kim Cuc^{1*}, Nguyen Thi Diem¹, Nguyen Thi Oanh¹,
Nguyen Van Phu², Nguyen Manh Tuan³

¹ Institute of Biotechnology, Hue University, Road No. 10, Phu Vang, Thua Thien Hue, Vietnam

² Faculty of Science, Charles University, Czech Republic

³ Institute of Life Science, Thai Nguyen University, Thai Nguyen City, Thai Nguyen, Vietnam

* Correspondence to Nguyen Thi Kim Cuc <ntkcuc.huib@hueuni.edu.vn>

(Received: September 30, 2020; Accepted: November 18, 2020)

Abstract. Antler-type fruiting bodies of *Ganoderma lucidum* have been cultivated successfully in several countries worldwide. In Vietnam, there is little information related to this product. In this study, we found optimal substrate conditions for developing antler-type fruiting bodies: sawdust with 5% corn bran, 5% rice bran, 1% calcium carbonate, and 3% bean flour. The results show that the kidney-shaped reishi fruiting bodies under normal culture (CT1) changed to antler-type fruiting bodies formed under dark conditions (CT2), and typical antler-type fruiting bodies under light and airless conditions (CT3) or under dark and airless conditions (CT4). In CT3 and CT4 conditions, reishi mushroom bodies did not produce spores and were reddish-brown and shiny. In the form of antler-type fruiting bodies, *Ganoderma* has the highest dry yield in CT3 conditions, with a fruiting body length of 33 cm and a yield of 28.02 g/bag. However, the content of water-soluble polysaccharides was highest when the fungus was grown under the CT4 conditions, reaching 0.47 mg glucose/g of crude water-soluble polysaccharides.

Keywords: Antler-type fruiting bodies, *Ganoderma lucidum*, polysaccharide

1 Đặt vấn đề

Nấm linh chi (*Ganoderma lucidum*) là một giống nấm dược liệu được sử dụng nhiều ở các quốc gia trên thế giới, đặc biệt ở các nước châu Á như Trung Quốc, Hàn Quốc, Đài Loan, Nhật Bản và Việt Nam [1]. Tuy nhiên, hiện nay nguồn cung cấp nấm tự nhiên không đáp ứng được nhu cầu của người tiêu dùng nên ngành nuôi trồng nấm công nghiệp đã có những phát triển đáng kể. Nấm linh chi thường được trồng nhân tạo trên nguyên liệu tự nhiên (khúc gỗ) hoặc phụ phẩm nông nghiệp (mùn cưa), bổ sung thêm một số thành phần dinh dưỡng khác như đạm và carbon [2]. Hiện nay, hệ sợi nấm linh chi còn được nuôi trong môi trường dinh dưỡng lỏng nhằm giảm bớt thời gian nuôi trồng và tăng hàm lượng một số hoạt chất sinh học [3]. Tuy nhiên, việc nuôi trồng trong môi trường lỏng cũng có một số hạn chế như nguy cơ tạp nhiễm cao, khả năng vốn cục làm hạn chế khả năng phát triển của hệ sợi [4]. Do đó, việc tìm kiếm những giải pháp nhằm nâng cao hiệu quả sản xuất hoạt chất sinh học trong nấm linh chi vẫn được các nhà khoa học quan tâm. Gần đây, một số nhóm nghiên cứu từ các quốc gia khác nhau đã gợi ý rằng, việc kiểm soát cường độ sáng và hàm lượng CO₂ khi trồng nấm linh chi có thể làm thay đổi hình thái quả thể và làm tăng hàm lượng các hoạt chất trong nấm [5–7]. Một trong những nghiên cứu theo hướng này đã tiến hành kiểm soát điều kiện ánh sáng và hàm lượng CO₂ để làm thay đổi hàm lượng các hoạt chất [6]. Nghiên cứu này đã chỉ ra rằng, trong điều kiện có hàm lượng CO₂ cao và thiếu ánh sáng đã có sự thay đổi hình thái của nấm linh chi từ hình quả thận thành hình dạng sừng hươu đồng thời các hoạt chất sinh học trong nấm linh chi tăng đáng kể, đặc biệt là hàm lượng phenol tổng số, hàm lượng flavonoid, hàm lượng polysaccharide tan trong nước, ganoderic acid. Thêm vào đó, một nghiên cứu khác cũng chỉ ra rằng nấm linh chi trồng trong điều kiện thiếu sáng sẽ có dạng quả thể hình sừng hươu [5]. Gần đây, López-Peña và cs. cũng đưa ra một số bằng chứng để kết luận rằng chiếu sáng với cường độ cao ở giai đoạn phát triển quả thể sẽ tạo ra nấm linh chi có dạng sừng hươu [7]. Khi phân tích thành phần và hàm lượng các chất trong

nấm linh chi sùng hươu thì thấy rằng các chất có hoạt tính sinh học cao gấp khoảng hai lần so với nấm linh chi hình quả thận [6]. Việc tăng cường tổng hợp các hoạt chất sinh học có giá trị trong nấm linh chi là hết sức có ý nghĩa trong nghiên cứu ứng dụng đặc biệt như polysaccharide và triterpenoid có khả năng điều hòa miễn dịch, chống ung thư, chống lão hóa, chống giảm chức năng vận động và giải độc gan [3, 4, 8–10].

Ở Việt Nam, linh chi đỏ là giống nấm được trồng nhiều nhất với sản phẩm là quả thể có dạng hình quả thận điển hình. Đối với giống nấm này đã có những nghiên cứu nhằm tối ưu hóa điều kiện nuôi trồng linh chi trên giá thể mùn cưa hay trên gỗ để tăng năng suất, chất lượng nấm [11–14]. Ngoài việc tối ưu các điều kiện nuôi trồng, các nghiên cứu về tách chiết các thành phần hoạt chất có giá trị trong nấm linh chi cũng đã được thực hiện [12, 15]. Tuy nhiên, đến hiện nay vẫn chưa có những công bố liên quan tới việc nghiên cứu sản xuất tạo quả thể nấm linh chi dạng sùng hươu, một biến thể của nấm linh chi hình quả thận để phục vụ nghiên cứu và sản xuất. Do đó, nhóm chúng tôi thực hiện nghiên cứu này bằng phương pháp thử nghiệm một số điều kiện nuôi trồng để có thể tạo được sản phẩm nấm linh chi dạng sùng hươu.

2 Nguyên liệu và phương pháp

2.1 Nguyên liệu

Giống nấm linh chi (*Ganoderma lucidum*) cấp 2 được cung cấp từ công ty trách nhiệm hữu hạn một thành viên Healthy Fungi (H-fun), Đà Nẵng. Giống được sản xuất trên môi trường thóc hạt và được chuyển tới Viện Công nghệ sinh học, Đại học Huế, khi sợi nấm đã phát triển đến đáy bịch cơ chất; khối lượng 500 g/bịch cơ chất.

2.2 Phương pháp

Chuẩn bị cơ chất

Mùn cưa keo được mua từ xưởng sản xuất gỗ keo trên địa bàn thôn Liên Bằng, xã Hương Thọ, Thị xã Hương Trà, Thừa Thiên Huế. Mùn cưa sau đó được vận chuyển về và xử lý tại Viện Công nghệ sinh học, Đại học Huế.

Mùn cưa keo được ủ với dung dịch nước vôi với nồng độ 1,5% và độ ẩm 65–70%. Đống ủ được quây nylon và bạt để duy trì nhiệt độ giữa đống khoảng 65–70 °C trong vòng 20 ngày; đảo trộn đống ủ sau mỗi 7 ngày. Mùn cưa sau khi ủ được phối trộn với 5% cám gạo, 5% cám ngô, 1% bột nhẹ và bột đậu tương với tỷ lệ 0, 1, 3 và 5% để tạo thành cơ chất nuôi trồng nấm. Cơ chất sau đó được đưa vào túi nylon chuyên dụng, nén chặt; mỗi bịch cơ chất có khối lượng 1,5 kg. Các bịch cơ chất được lấp cổ nhựa và đậy bằng nút bông không thấm nước, bọc nylon trên miệng trước khi đưa vào khử trùng ở 121 °C trong 150 phút. Sau khi khử trùng, các bịch cơ chất được để nguội đến nhiệt độ phòng trước khi cấy giống. Lượng giống cấy cho mỗi bịch là $20 \pm 0,1$ g. Các bịch cơ

chất sau cấy giống được ủ trong điều kiện nhiệt độ trung bình 22 ± 2 °C cho tới khi sợi nấm phủ kín được 90% bề mặt cơ chất.

Bố trí thí nghiệm và chỉ tiêu theo dõi

Các bịch cơ chất đã được phủ kín sợi nấm sẽ được bố trí ngẫu nhiên trong các điều kiện nuôi trồng khác nhau.

CT1 (Đối chứng): Nuôi trồng trong điều kiện ánh sáng 350–400 lux, nhiệt độ 28 ± 2 °C, độ ẩm 80–85% [5, 7].

CT2: Nuôi trồng trong điều kiện phòng tối; nhiệt độ 28 ± 2 °C, độ ẩm 80–85%.

CT3: Nuôi trồng trong điều kiện sáng có hạn chế không khí bằng thùng giấy có độ dày 1 cm, kích thước 80 cm × 50 cm × 100 cm (dài × rộng × cao), mỗi thùng chứa 10 bịch cơ chất và che mặt thùng bằng nilon trong suốt để ánh sáng (350–400 lux) xuyên qua từ trên xuống; nhiệt độ 28 ± 2 °C, độ ẩm được duy trì bằng việc đặt các bình nước mở nắp trong thùng nuôi cấy (2 bình/thùng, mỗi bình 1 lít).

CT4: Nuôi trồng trong điều kiện tối có hạn chế không khí với điều kiện tương tự CT3 và các bịch cơ chất trong thùng được che tối hoàn toàn bằng nilon đen.

Tất cả các thí nghiệm đều được bố trí ngẫu nhiên với ba lần lặp lại; mỗi thí nghiệm có 30 bịch cơ chất.

Khi quả thể của công thức đối chứng có màu nâu phủ kín rìa tán nấm, bào tử phủ kín tán nấm và bắt đầu phát tán ra môi trường xung quanh (bào tử được quan sát bằng mắt thường, bào tử có màu nâu, bám ra bề mặt quả thể và môi trường xung quanh) thì tiến hành thu quả thể. Quả thể nấm linh chi trong các công thức thí nghiệm còn lại cũng được thu hoạch để tiến hành phân tích các chỉ tiêu theo dõi cùng thời điểm với quả thể nấm ở công thức đối chứng.

Chỉ tiêu theo dõi bao gồm tỷ lệ nhiễm của cơ chất, khả năng sinh trưởng của hệ sợi nấm, hình thái quả thể, màu sắc quả thể, số nhánh/cuống, đường kính tán, chiều dài sừng và hàm lượng polysaccharide tan trong nước.

Trong đó, các chỉ tiêu tỷ lệ nhiễm của cơ chất, hình thái quả thể, số nhánh/cuống và màu sắc quả thể được quan sát bằng mắt thường, đo đếm và thu thập; chỉ tiêu khả năng sinh trưởng của hệ sợi nấm, đường kính tán và chiều dài sừng được đo bằng thước dây. Quả thể nấm sau khi thu hoạch được phơi khô ở 40–50 °C trong vòng 10 giờ trước khi cân bằng cân điện tử để xác định khối lượng.

Phân tích hàm lượng polysaccharide tan trong nước

Nấm linh chi sau khi thu hoạch được sấy khô ở 50 °C trong tủ sấy sau đó được nghiền mịn để đánh giá hàm lượng polysaccharide tan trong nước. Quy trình tách chiết polysaccharide tan trong nước được tiến hành theo Sudheer và cs. [6]. Cụ thể, 5 g bột linh chi khô được cho vào 200 mL nước cất trong chai thủy tinh duran và duy trì ở 80 °C trên máy khuấy từ trong 5 giờ. Sau đó dung dịch bột linh chi khô chứa polysaccharide được lọc qua giấy lọc Whatman No. 4. Dịch lọc sau đó được tạo kết tủa với cồn lạnh với liều lượng là 150 mL dịch lọc: 600 mL cồn 95%, để qua đêm ở 4 °C trước khi li tâm ở 13000 rpm/15 phút. Chiết xuất thô của polysaccharide sau đó được sấy ở 50 °C để loại bỏ nước, cồn và thu polysaccharide thô tổng số. Sau đó, hòa tan lại polysaccharide trong nước cất với nồng độ 1 mg/mL. 1 mL dịch chứa polysaccharide thô sau đó được trộn đều với 1 mL phenol 0,5%, tiếp đó cho nhỏ giọt 5 mL acid sulfuric vào hỗn hợp trên và để ở nhiệt độ phòng trong 10 phút trước khi đo hàm lượng ở bước sóng 490 nm. Đường chuẩn được xây dựng bằng D-glucose với nồng độ 0,2–1,0 mg/mL. Kết quả được thể hiện bằng mg glucose/g polysaccharide thô tổng số tan trong nước. Mỗi công thức thí nghiệm có ba mẫu lặp lại, mỗi mẫu chứa 5 g bột linh chi khô.

Xử lý số liệu

Các số liệu thí nghiệm được xử lý trên phần mềm Excel office 365 (phiên bản 16.36) và phần mềm xử lý SPSS ($p < 0,05$).

2.3 Thời gian và địa điểm

Các thí nghiệm được tiến hành ở Phòng thí nghiệm Tế bào, Viện Công nghệ sinh học, Đại học Huế, từ tháng 8/2019 đến tháng 6/2020.

3 Kết quả và thảo luận

3.1 Ảnh hưởng của thành phần bột đậu tương tới sự sinh trưởng của hệ sợi nấm

Cơ chất sau khi ủ đã được trộn đều với 5% cám ngô, 5% cám gạo, 1% bột nhẹ và bột đậu tương với tỷ lệ 0, 1, 3 và 5% trước khi mang hấp khử trùng để cấy giống. Sau khi cấy giống, chúng tôi nghiên cứu sự phát triển của hệ sợi ở các công thức khác nhau (Bảng 1).

Kết quả cho thấy, bột đậu tương hầu như không có tác dụng hỗ trợ đến sự sinh trưởng của hệ sợi nấm nếu sử dụng với tỷ lệ 1%, nhưng khi tăng hàm lượng ở tỷ lệ 3 và 5% thì nó có ảnh hưởng nhất định tới sự sinh trưởng của hệ sợi nấm. Mặc dù sử dụng bột đậu tương với tỷ lệ 3 và 5% không có sự khác biệt đáng kể về mặt thống kê đối với sự sinh trưởng của hệ sợi nấm, việc dùng bột này ở tỷ lệ 5% làm tăng tỷ lệ nhiễm nấm mốc xanh, cụ thể tăng từ 4,4% (3% bột đậu tương) lên 7,8% (5% bột đậu tương).

Bảng 1. Ảnh hưởng của bột đậu tương tới sự sinh trưởng của hệ sợi nấm linh chi

Chỉ tiêu	Bột đậu tương (%)			
	0	1	3	5
Hệ sợi phát triển sau 30 ngày (cm)	20,5 ^b	20,6 ^b	22,4 ^a	22,2 ^a
Tỷ lệ nhiễm (%)	3,3 ^c	4,4 ^b	4,4 ^b	7,8 ^a

Chú thích: Giá trị là trung bình ± SEM, $n = 90$. Các công thức được dán nhãn cùng một chữ cái trên cùng một hàng là không có sự khác biệt ý nghĩa đáng kể ở mức thống kê $p < 0,05$ (Tukey HSD).

Có thể thấy rằng tỷ lệ nhiễm mốc trong các thí nghiệm này là không quá cao so với nuôi trồng nấm đại trà (2,8–34,3% tùy mùa [16]). Tuy nhiên, trong thí nghiệm này, việc bổ sung 5% bột đậu tương vừa làm tăng tỷ lệ nhiễm vừa làm tăng giá thành sản xuất nên chúng tôi chọn sử dụng 3% bột đậu tương cho các thí nghiệm tiếp theo.

3.2 Ảnh hưởng của điều kiện trồng tới hình thái quả thể nấm linh chi

Các bịch cơ chất nấm sau khi hệ sợi phát triển phủ kín được 90% thì đồng loạt được nói lỏng nút bông và đưa vào các điều kiện thí nghiệm như đã trình bày ở phần phương pháp bố trí thí nghiệm. Kết quả được trình bày ở Bảng 2.

Điều kiện trồng ảnh hưởng trực tiếp đến hình thái, màu sắc, sự hình thành bào tử cũng như số nhánh/cuống và tỷ lệ nhiễm mốc trên quả thể. Trong điều kiện được chiếu sáng và có sự thông khí (CT1) thì quả thể nấm linh chi có dạng hình quả thận; đây là hình thái chung của nấm trồng đại trà hiện nay (Hình 1). Sau khi có sự thay đổi về điều kiện nuôi trồng bằng cách hạn chế ánh sáng và sự thông khí thì quả thể của nấm linh chi đã hình thành ở dạng sừng hươu (CT2, CT3, và CT4; Hình 1). Tuy nhiên, để đánh giá chất lượng của quả thể nấm thì một số chỉ tiêu khác cũng cần được phân tích.

Giá trị là trung bình ± SEM, $n = 90$. Các công thức được dán nhãn với cùng một chữ cái trên cùng một cột là không có sự khác biệt ý có ý nghĩa đáng thống kê ($p < 0,05$) (Tukey HSD); ghi

Bảng 2. Ảnh hưởng của điều kiện nuôi trồng tới hình thái quả thể nấm linh chi

Điều kiện nuôi trồng	Hình thái quả thể	Màu sắc quả thể	Bào tử	Số nhánh/cuống	Tỷ lệ nhiễm mốc trên quả thể* (%)
CT1	Hình quả thận	Nâu	Có	1,7 ^c	3,7 ^d
CT2	Sừng hươu	Nâu hơi vàng	Có rất ít	3,8 ^b	5,0 ^c
CT3	Sừng hươu	Nâu đỏ bóng	Không có	6,3 ^a	7,9 ^b
CT4	Sừng hươu	Nâu đỏ bóng	Không có	6,5 ^a	8,8 ^a

* *Chú thích:* Tính từ thời điểm chuyển sang điều kiện trồng tạo quả thể

chú này cũng được sử dụng cho Bảng 3.

Màu sắc của quả thể nấm linh chi khác nhau rõ rệt giữa CT1 với các công thức còn lại. Cụ thể, quả thể nấm linh chi ở CT1 có màu nâu so với quả thể nấm này ở CT2 là màu nâu vàng và màu nâu đỏ bóng ở CT3 và CT4. Kết quả này cho thấy điều kiện nuôi trồng nấm ở CT2, CT3 và CT4 là có sự khác biệt về hình thái và màu sắc nấm so với CT1. Tỷ lệ bào tử bị phát ra ngoài cao nhất ở CT1, ít hơn ở CT2 và không có ở CT3 và CT4. Việc phát ra bào tử có thể là một trong những nguyên nhân làm giảm hàm lượng các hoạt chất sinh học trong tán nấm. Theo Ma và cs. và Zhao và cs., bào tử nấm linh chi chứa nhiều thành phần hoạt chất sinh học có giá trị, điển hình như triterpenoid, polysaccharide và alkaloid, nên việc phóng bào tử có thể làm giảm hoạt tính sinh học của tán nấm [17, 18]. Do đó, việc trồng ra quả thể nấm sừng hươu không phát ra bào tử trong nghiên cứu này có thể là tối ưu cho việc tổng hợp các hoạt chất sinh học trong tán nấm.

Trong các điều kiện khác nhau, số nhánh phát sinh từ phôi nấm là khác nhau. Số nhánh/cuống của quả thể ở CT3 và CT4 đạt cao nhất (6,3 và 6,5 nhánh/cuống); trong khi đó, CT2 chỉ đạt 3,8 nhánh/cuống và CT1 chỉ đạt 1,7 nhánh/cuống. Tuy nhiên, trong điều kiện có hạn chế không khí, điều kiện môi trường không có sự thông thoáng làm cho tỷ lệ quả thể bị nhiễm nấm mốc cao hơn so với quả thể nấm được nuôi trồng trong điều kiện thoáng khí. Cụ thể, tỷ lệ quả thể bị nhiễm nấm mốc cao nhất ở CT4 với 8,8% và sau đó ở CT3 là 7,9%. Ngược lại, tỷ lệ này giảm đáng kể ở CT2 (5,0%) và CT1 (3,7%). Chỉ tiêu này được phân tích trong thí nghiệm này bởi vì nó là một trong những chỉ tiêu quan trọng để đánh giá năng suất, chất lượng của sản phẩm nấm, nhưng các nghiên cứu liên quan tới sản xuất nấm linh chi sừng hươu trước đây chưa thực hiện. Tuy nhiên, trong nghiên cứu này chúng tôi chỉ đánh giá tỷ lệ nhiễm mốc trên quy mô thí nghiệm nhỏ. Do đó, để có một kết luận chính xác và có thể khuyến cáo thì cần có những thử nghiệm trên quy mô lớn hơn và sử dụng các thiết bị hỗ trợ phù hợp để kiểm soát chặt chẽ độ ẩm, hàm lượng CO₂ trong các lô thí nghiệm, đặc biệt là CT3 và CT4.



Hình 1. Hình thái quả thể nấm linh chi nuôi trong các điều kiện khác nhau

3.3 Ảnh hưởng của điều kiện nuôi trồng tới năng suất

Bảng 3 cho thấy quả thể nấm ở dạng hình quả thận (CT1) có năng suất cao nhất (đạt 30,7 g/bịch cơ chất) so với quả thể nấm ở dạng sừng hươu. Do quả thể hình thành với hình dạng khác nhau nên chỉ số đường kính tán đo được là 9,89 cm ở CT1. So với kết quả nghiên cứu của nhóm Lê Đình Hoài Vũ và Trần Đăng Hoà thì đường kính tán của quả thể trong thí nghiệm này nhỏ hơn đường kính tán của giống này *Ganoderma lucidum* L. có nguồn gốc từ Trung Quốc (11,7 cm), nhưng lại lớn hơn đường kính tán của giống này là *Ganoderma lucidum* DL, nguồn gốc Đà Lạt (8,06 cm) [19].

Đối với ba công thức còn lại, chiều dài sừng lớn nhất đạt 33 cm ở quả thể sừng hươu CT3; ở CT4 là 28 cm và CT2 là 18 cm. Chiều dài tương quan tỉ lệ thuận đến khối lượng của quả thể ở mỗi công thức thu được. Khối lượng khô của quả thể đạt cao nhất ở CT3 với 28,02 g/bịch cơ chất; ở CT4 chỉ đạt 22,86 g/bịch cơ chất và CT2 19,98 g/bịch cơ chất.

Bảng 3. Ảnh hưởng của điều kiện nuôi trồng tới hiệu quả sinh học

Điều kiện nuôi trồng	Đường kính tán (cm)*	Chiều dài sừng (cm)*	Khối lượng khô quả thể (g/bịch cơ chất)
CT1	9,89	-	30,70 ^a
CT2	-	18 ^c	19,98 ^d
CT3	-	33 ^a	28,02 ^b
CT4	-	28 ^b	22,86 ^c

3.4 Ảnh hưởng của điều kiện nuôi cấy đến hàm lượng polysaccharide trong quả thể

Polysaccharide, đặc biệt là thành phần polysaccharide tan trong nước, có vai trò quan trọng trong việc đánh giá chất lượng của quả thể nấm linh chi do hiện nay phương thức sử dụng nấm linh chi chủ yếu là hãm trong nước. Do đó, hàm lượng polysaccharide tan trong nước của nấm linh chi thu được ở các công thức khác nhau đã được phân tích (Bảng 4).

Hàm lượng polysaccharide (mg glucose/g polysaccharide thô tổng số tan trong nước) của quả thể nấm dạng sừng hươu đạt cao nhất ở CT4 với 0,47 mg glucose/g polysaccharide thô tổng số tan trong nước. Chỉ số này cao hơn so với công thức đối chứng (0,32 mg glucose/g polysaccharide thô tổng số tan trong nước) và các công thức còn lại. Hàm lượng polysaccharide của quả thể ở cơ chất CT3 đạt 0,39 mg mg glucose/g polysaccharide thô tổng số tan trong nước. Chỉ số này không có sự khác biệt đáng kể ở mức thống kê so với CT2 (0,34 mg glucose/g polysaccharide thô tổng số tan trong nước). Vì vậy, trong thí nghiệm này, có thể nhận thấy quả thể nấm sừng hươu không phát tán bào tử thì có hàm lượng polysaccharide được tổng hợp cao hơn, đặc biệt khi được nuôi trồng trong điều kiện tối có hạn chế không khí.

Kết quả phân tích thành phần polysaccharide tan trong nước của nấm linh chi trong nghiên cứu này có một số khác biệt so với công bố trước đây của Shuheer và cs. [8]. Nguyên nhân của sự khác biệt này có thể là do Shuheer và cs. đã tiến hành nghiên cứu trong điều kiện kiểm soát nghiêm ngặt hàm lượng CO₂ trong các thí nghiệm để đánh giá hàm lượng polysaccharide tan trong nước. Ngược lại, trong nghiên cứu này, chúng tôi chủ yếu tập trung khảo sát điều kiện ban đầu để tạo ra nấm linh chi có dạng sừng hươu. Do đó, các nghiên cứu chuyên sâu hơn cần được thực hiện để xác định chính xác điều kiện tối ưu cho sản xuất nấm linh chi sừng hươu trên quy mô lớn hơn.

Bảng 4. Hàm lượng polysaccharide tan trong nước

Điều kiện nuôi trồng	Hàm lượng polysaccharide tan trong nước (mg glucose/g polysaccharide thô tổng số tan trong nước)
CT1	0,32 ^c
CT2	0,34 ^{bc}
CT3	0,39 ^b
CT4	0,47 ^a

* *Chú thích:* Giá trị là trung bình ± SEM, $n = 15$. Các công thức được dán nhãn cùng một chữ cái trên cùng một cột là không có sự khác biệt ý nghĩa đáng kể ở mức thống kê $p < 0,05$ (Tukey HSD).

4 Kết luận

Hệ sợi nấm linh chi phát triển nhanh nhất trên cơ chất bao gồm mùn cưa đã ủ trộn với 5% cám ngô, 5% cám gạo, 1% bột nhẹ và 3% bột đậu tương và đạt 22,4 cm sau 30 ngày.

Trong điều kiện môi trường thiếu ánh sáng, hình dạng của nấm linh chi đã có sự thay đổi sang dạng sừng hươu, nhưng điều kiện hạn chế không khí (có sáng và không sáng) tạo ra quả thể nấm linh chi dạng sừng hươu rõ nét, không có bào tử và có màu sắc khác biệt; chiều dài của sừng hươu trong hai điều kiện trên đạt 33 và 28 cm.

Đối với năng suất khô của nấm linh chi trồng trong điều kiện thông thường, dạng quả thể hình quả thận cho năng suất cao nhất (30,7 g/phôi), nhưng hàm lượng polysaccharide đạt cao nhất ở quả thể trồng trong điều kiện tối có hạn chế không khí với 0,47 mg glucose/g polysaccharide thô tổng số tan trong nước.

Tài liệu tham khảo

1. Lai T., Gao Y., Zhou S. (2004), Global marketing of medicinal Ling Zhi mushroom *Ganoderma lucidum* (W. Curt.: Fr.) Lloyd (Aphyllphoromycetidae) products and safety concerns, *International journal of medicinal mushrooms*, 6(2).
2. Boh B., Berovic M., Zhang J., Zhi-Bin L. (2007), *Ganoderma lucidum* and its pharmaceutically active compounds, *Biotechnology annual review*, 13, 265–301.
3. Hu G., Zhai M., Niu R., Xu X., Liu Q., Jia J. (2018), Optimization of culture condition for ganoderic acid production in *Ganoderma lucidum* liquid static culture and design of a suitable bioreactor, *Molecules*, 23(10), 2563.
4. Chen T. Q., Wu J. G., Kan Y. J., Yang C., Wu Y. B., Wu J. Z. (2018), Antioxidant and hepatoprotective activities of crude polysaccharide extracts from lingzhi or reishi medicinal mushroom, *Ganoderma lucidum* (Agaricomycetes), by ultrasonic-circulating extraction, *International journal of medicinal mushrooms*, 20(6).
5. Jo E. Y., Cheon J. L., Ahn J. H. (2013), Effect of food waste compost on the antler-type fruiting body yield of *Ganoderma lucidum*, *Mycobiology*, 41(1), 42–6.
6. Sudheer S., Taha Z., Manickam S., Ali A., Cheng P. G. (2018), Development of antler-type fruiting bodies of *Ganoderma lucidum* and determination of its biochemical properties, *Fungal biology*, 122(5), 293–301.
7. López-Peña D., Samaniego-Rubiano C., Morales-Estrada I., Gutierrez A., Gaitán-Hernández R., Esqueda M. (2019), Morphological characteristics of wild and cultivated *Ganoderma subincrustatum* from Sonora, Mexico. *Scientia Fungorum*, 49, 1213.
8. Zhao C., Fan J., Liu Y., Guo W., Cao H., Xiao J. (2019), Hepatoprotective activity of *Ganoderma*

- lucidum* triterpenoids in alcohol-induced liver injury in mice, an iTRAQ-based proteomic analysis, *Food chemistry*, 271, 148–56.
9. Benkeblia N. (2015), *Ganoderma lucidum* polysaccharides and Terpenoids: profile and health benefits, *J Food Nutr Diet*, 1, 1–6.
 10. Xu Z., Chen X., Zhong Z., Chen L., Wang Y. (2011), *Ganoderma lucidum* polysaccharides: immunomodulation and potential anti-tumor activities, *The American Journal of Chinese medicine*, 39(1), 15–27.
 11. Vũ Thị Phương Thảo, Bùi Thị Tươi, Phạm Văn Hưng, Nguyễn Thị Hồng Gấm (2016), *Kỹ thuật nuôi trồng nấm linh chi đỏ (Ganoderma lucidum) trên thân cây gỗ*, Hội nghị khoa học công nghệ tuổi trẻ các trường Nông Lâm nghiệp và Thủy sản.
 12. Nguyễn Ngọc Trai (2015), *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*, Báo cáo đề tài, Đại học Trà Vinh.
 13. Trần Thị Nguyên Đăng, Trần Lê Tuyết Châu, Trần Phi Hoàn Yến (2018), Điều chế hệ tiêu phân nano chứa cao linh chi (*Ganoderma lucidum* (Leyss. ex Fr.) Karst.) hướng tác dụng kháng cholinesterase, *Tạp chí Dược học*, 58(9), 76–9.
 14. Đinh Xuân Linh, Thân Đức Nhã, Nguyễn Hữu Đồng, Nguyễn Thị Sơn (2008), *Kỹ thuật trồng, chế biến nấm ăn và nấm dược liệu*, Nxb. Nông nghiệp.
 15. Lê Trung Hiếu (2001), *Nghiên cứu tách chiết và định lượng hoạt chất polysaccharide và triterpenoid trong nấm linh chi (Ganoderma lucidum)*, Luận văn thạc sĩ, Đại học Huế.
 16. Biswas M. K. (2014), *Microbial contaminants in oyster mushroom (Pleurotus ostreatus) cultivation their management and role of meteorological factors*, In: Proceedings of 8th International Conference on Mushroom Biology and Mushroom Products (ICMBMP8), New Delhi, India, 567–75.
 17. Zhao H., Zhang Q., Zhao L., Huang X., Wang J., Kang X. (2012), *Spore powder of Ganoderma lucidum improves cancer-related fatigue in breast cancer patients undergoing endocrine therapy: a pilot clinical trial*, *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. doi: 10.1155/2012/809614.
 18. Ma B., Ren W., Zhou Y., Ma J., Ruan Y., Wen C. N. (2011), Triterpenoids from the spores of *Ganoderma lucidum*, *North American journal of medical sciences*, 3(11), 495.
 19. Lê Đình Hoài Vũ, Trần Đăng Hoà (2008), *Đặc điểm sinh học và năng suất của một số giống chủng nấm linh chi (Ganoderma lucidum) nuôi trồng ở Thừa Thiên Huế*, 49, 209–216.