Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ
Số chuyên đề: Công nghệ Sinh học
website: sj.ctu.edu.vn

DOI:10.22144/ctu.jsi.2019.052

ẢNH HƯỞNG CỦA NGUỒN DINH DƯỠNG ĐẾN SINH TRƯỞNG VÀ PHÁT TRIỂN CỦA NẤM HẦU THỦ (*Hericium erinaceus*)

Vũ Kim Thảo[1], Đỗ Tấn Khang[2*], Bùi Thị Minh Diệu[2] và Trần Nhân Dũng[2]

[1]*Học viên cao học K19, ngành Công nghệ sinh học, Trường Đại học Cần Thơ*

[2]*Viện Nghiên cứu và Phát triển Công nghệ Sinh học, Trường Đại học Cần Thơ*

**Người chịu trách nhiệm về bài viết: Đỗ Tấn Khang (email: dtkhang@ctu.edu.vn)*

Thông tin chung:
Ngày nhận bài: 13/11/2018
Ngày nhận bài sửa: 21/03/2019
Ngày duyệt đăng: 12/04/2019

Title:
Effects of nutrient sources on growth and development of Hericium erinaceus mushroom

Từ khóa:
Hericium erinaceus, hiệu suất sinh học, nấm Hầu thủ, polysaccharide

Keywords:
Biological efficiency, Hericium erinaceus, monkey head mushroom, polysaccharide

ABSTRACT

This study was conducted to determine the procedure for culturing monkey head mushroom (Hericium erinaceus) by using sources of substrate provided from agricultural production. The culture media included Mizuno, PDA and PDA supplied 20% coconut water. The media for mycelium growth were rice seeds, brown rice seeds and maize seeds. Substrates for culturing fruiting body were rubber sawdust, bagasse, straw and coconut fiber that combined with different ratio. The results showed that the culture media PDA supplied 20% coconut water and Mizuno were better than the PDA medium in term of mycelium development. Rice seed and maize seed media were optimal for the growth of mycelia (0.39 cm/day). Regarding the culturing substrates, the combination of 70% bagasse and 30% straw was the best medium for collecting fruiting bodies (94.03 g/bag (400 g ingredient)) and it was not significantly different from the medium with 100% bagasse. Polysaccharide content ranged from 18.0 to 26.23% dry weight in various substrate sources. The substrate with 100% bagasse had the highest polysaccharide content (26.23%). Based on the productivity and quality of mushroom, the combination of 70% bagasse and 30% straw was the best appropriate subtrate for cultivating Hericium erinaceus mushroom.

TÓM TẮT

Nghiên cứu được thực hiện nhằm tìm ra quy trình trồng nấm hầu thủ (Hericium erinaceus) bằng tận dụng các nguồn cơ chất là sản phẩm của ngành nông nghiệp. Môi trường phân lập nấm là môi trường Mizuno, PDA và PDA có bổ sung 20% nước dừa. Môi trường hạt bao gồm hạt lúa, hạt gạo lức và hạt bắp. Cơ chất trồng quả thể nấm bao gồm mạt cưa cao su, bã mía, rơm và mụn dừa được kết hợp ở nhiều tỉ lệ khác nhau. Kết quả nghiên cứu cho thấy môi trường PDA có bổ sung 20% nước dừa và môi trường Mizuno cho kết quả lan tơ nhanh hơn môi trường PDA. Môi trường hạt lúa và hạt bắp cho khả năng lan tơ nhanh (0,39 cm/ngày). Về cơ chất để sản xuất quả thể, nghiệm thức kết hợp 70% bã mía và 30% rơm cho kết quả tốt nhất (94,03 g/bịch, 400 g cơ chất) khác biệt không có ý nghĩa thống kê với nghiệm thức 100% bã mía. Hàm lượng polysaccharide dao động từ 18,00 đến 26,2% khối lượng khô trên các cơ chất khác nhau, trong đó nghiệm thức 100% bã mía cho hàm lượng polysaccharide cao nhất (26,23%). Dựa trên các chỉ tiêu năng suất và hàm lượng polysaccharide cho thấy nghiệm thức 70% bã mía và 30% rơm là phù hợp nhất.

Trích dẫn: Vũ Kim Thảo, Đỗ Tấn Khang, Bùi Thị Minh Diệu và Trần Nhân Dũng, 2019. Ảnh hưởng của nguồn dinh dưỡng đến sinh trưởng và phát triển của nấm hầu thủ (*Hericium erinaceus*). Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ. 55(Số chuyên đề: Công nghệ Sinh học)(2): 119-125.

1 ĐẶT VẤN ĐỀ

Những năm gần đây trồng nấm nhận được sự quan tâm của rất nhiều nông dân và các nhà đầu tư. Vì vậy, trồng nấm đang là một hướng sản xuất đầy hứa hẹn và trở thành phong trào rộng khắp. Việt Nam có nguồn tài nguyên về nấm phong phú, đa dạng, nhiều loài đã được phân lập và nuôi trồng chủ động. Bên cạnh đó, nhiều giống nấm có nguồn gốc từ nước ngoài cũng được nhập nội và nuôi trồng thành công. Nấm đã được sử dụng làm nguồn thực phẩm từ rất lâu trên thế giới vì đây là nguồn thức ăn rất giàu đạm, trong đó có chứa hầu hết các a-xit amin thiết yếu, vitamin, khoáng chất,… Nấm còn được xem như là loại "rau sạch" và "thịt sạch", và được sử dụng ngày càng rộng rãi trong các bữa ăn của con người (Lê Duy Thắng, 2006). Ngoài ra, một số loài còn chứa nhiều hoạt chất sinh học, góp phần ngăn ngừa và điều trị bệnh cho con người, vì hầu như các loài nấm ăn đều có tác dụng phòng ngừa u bướu (Nguyễn Lân Dũng, 2007). Các loại nấm này có giá trị kinh tế cao như nấm đông cô (*Lentinus edodes*), nấm mỡ (*Agaricus bisporus*), linh chi (*Ganoderma lucidum*), hầu thủ (*Hericium erinaceum*),… Trong đó, nấm hầu thủ (*Hericium erinaceum*) là một loại nấm mới, có giá trị rất cao về dinh dưỡng và dược liệu, đã bước đầu được nhiều nước trồng thành công (Nhật Bản, Trung Quốc, Đài Loan, Hàn Quốc) (Hồ Thị Thu Ba, 2010). Nhiều cơ sở trong nước cũng đã đưa nấm hầu thủ vào nuôi trồng đại trà. Tuy nhiên, việc hoàn thiện quy trình trồng nấm hầu thủ ở qui mô công nghiệp vẫn còn nhiều vấn đề cần nghiên cứu. Trong đó, tận dụng nguồn cơ chất là các phụ phẩm nông nghiệp cho việc nuôi trồng nấm hầu thủ chất lượng và năng suất cao cũng là vấn đề cần quan tâm.

2 PHƯƠNG TIỆN VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1 Phương tiện nghiên cứu

Thí nghiệm được tiến hành tại Phòng thí nghiệm Xí nghiệp dược Hậu Giang và Phòng thí nghiệm Sinh học Phân tử thực vật, Viện Nghiên cứu và Phát triển Công nghệ Sinh học, Trường Đại học Cần Thơ.

2.2 Đối tượng nghiên cứu

Quả thể nấm hầu thủ (*Hericium erinaceus)* nhận từ Phòng thí nghiệm Trung tâm Nghiên cứu Ứng dụng và Dịch vụ Khoa học Công nghệ Tiền Giang.

2.3 Phương pháp nghiên cứu

2.3.1 Định danh nấm Hầu thủ

Phân lập

Tơ nấm được chuyển vào giữa đĩa Petri nuôi cấy có chứa môi trường phân lập PDA (Nguyễn Lân Dũng, 2007).

Các đĩa Petri này được đem ủ ở nhiệt độ trong khoảng 25 – 30ºC và được kiểm tra mỗi ngày. Khi tơ nấm mọc lan ra từ tơ nấm đã cấy, tiến hành cấy chuyền và kiểm tra độ thuần của khuẩn lạc, kiểm tra tốc độ lan tơ của nấm.

Phương pháp kiểm tra khuẩn lạc: Quan sát độ đồng nhất của khuẩn lạc bằng mắt thường. Khi quan sát bằng mắt thường, loại bỏ các đĩa xuất hiện các khuẩn ty, khuẩn lạc có hình dạng và màu sắc không đồng đều. Các đĩa còn lại được kiểm tra độ thuần dưới kính hiển vi. Dùng kim cấy vô trùng lấy một mẫu khuẩn ty từ khuẩn lạc đưa vào giọt nước cất vô trùng trên miếng lam, đậy bằng lamen và quan sát mẫu dưới kính hiển vi. Nếu thấy khuẩn ty bị nhiễm sợi nấm lạ, nấm men, vi khuẩn thì tiến hành cấy chuyển phân lập nấm sang các đĩa khác cho đến khi dòng nấm trở nên thuần nhất.

Phân tích trình tự vùng ITS các dòng nấm phân lập

Mỗi mẫu DNA được trích theo quy trình Gardes và Burns (1993).

Phản ứng PCR khuếch đại vùng trình tự ITS: Sau khi ly trích và kiểm tra sản phẩm DNA đạt chất lượng thì tiến hành thực hiện phản ứng PCR với cặp mồi (White *et al*., 1990).

ITS1 (5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3')

ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3')

Giải trình tự đoạn gen đã khuếch đại: Sản phẩm được gửi giải trình tự tại Viện Pasteur thành phố Hồ Chí Minh bằng máy giải trình tự tự động CEQ 8.000 (Beckman Coulter) bằng phương pháp Sanger.

Phân tích dữ liệu: Từ kết quả giải trình tự, so sánh trình tự thu được với ngân hàng gene trên trang web http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi để xác định loài của mẫu nấm khảo sát.

2.3.2 Xác định tỷ lệ cơ chất phối trộn tốt nhất để trồng nấm Hầu thủ

a. Môi trường nhân giống cấp một

Thí nghiệm được thực hiện với 3 nghiệm thức (môi trường Mizuno, môi trường PDA và môi trường PDA bổ sung 20% nước dừa), mỗi nghiệm thức được lặp lại 30 lần với 30 đĩa.

Chỉ tiêu theo dõi: Theo dõi sự lan tơ ở các môi trường nhân giống. Ghi nhận thời gian tơ nấm, sau 2, 4, 6, 8, 10 và 12 ngày sau khi cấy và ghi nhận thời gian lan đầy đĩa Petri. Sau đó môi trường nhân giống tốt nhất (tơ nấm phát triển nhanh nhất) được chọn.

b. Môi trường nhân giống cấp hai

Thí nghiệm được thực hiện với 3 nghiệm thức (hạt lúa, hạt bắp và gạo lức), mỗi nghiệm thức được thực hiện với 30 bịch.

Chỉ tiêu theo dõi: Theo dõi sự lan tơ ở các môi trường nhân giống. Ghi nhận thời gian tơ nấm, sau 2, 4, 6, 8, 10 và 12 ngày sau khi cấy và ghi nhận thời gian lan đầy ống nghiệm. Sau đó, môi trường nhân giống tốt nhất (tơ nấm phát triển nhanh nhất) được chọn.

c. Xác định tỷ lệ phối trộn cơ chất phù hợp để sản xuất bịch phôi

Thí nghiệm gồm 7 nghiệm thức được trình bày trong Bảng 1.

Phương pháp tiến hành:

Tơ nấm từ thí nghiệm thứ 2 được chọn để cấy chuyền sang môi trường mạt cưa, bã mía, mụn dừa và rơm có bổ sung bột dinh dưỡng hiệu chỉnh tỷ lệ C/N=30 thích hợp với nấm Hầu thủ (Ahmed *et al*., 2008).

Cách tính toán để bổ sung dinh dưỡng:

Lượng dinh dưỡng cần bổ sung (X) sẽ là:

$$X(\%)=\frac{N_{bs}\ *100}{N_{dd}}$$

Trong đó: $N_{bs} = N_{30} - N_{giá\ thể}$ và $N_{30} = C/30$

C: lượng carbon tổng số (%) được xác định trong giá thể

$N_{giá\ thể}$: lượng đạm tổng số (%) được xác định trong giá thể

N_{30}: lượng đạm tổng số (%) cần thiết phải có để đạt C/N = 30

N_{bs}: lượng đạm (%) cần bổ sung thêm để có N_{30}

N_{dd}: hàm lượng đạm tổng số (%) trong loại dinh dưỡng bổ sung

Khảo sát trên các cơ chất theo bảng sau đây :

Bảng 1: Tỷ lệ phối trộn cơ chất

	Cơ chất	Cám gạo bổ sung (%)
Nghiệm thức 1	Rơm (R)	20,35
Nghiệm thức 2	Bã mía (BM)	10,00
Nghiệm thức 3	Mụn dừa (MD)	17,28
Nghiệm thức 4	70% Rơm + 30% bã mía	17,25
Nghiệm thức 5	50% Rơm + 50% bã mía	15,18
Nghiệm thức 6	30% Rơm + 70% bã mía	13,11
Nghiệm thức 7	Mạt cưa cao su	11,49

Các cơ chất được trộn với nước vôi tạo ẩm độ 60%, vun thành đống để ủ trong 48 giờ. Trộn đều đống ủ với nước có phân DAP để đạt ẩm độ 65 – 70% ẩm độ cơ chất, vun đống ủ trong 24 giờ. Trộn với cám gạo và cho vào bịch hấp thanh trùng.

Bịch phôi sau khi cấy giống ủ lan tơ ở phòng thoáng khí, khô ráo, nhiệt độ 25 - 30°C. Khi tơ lan đầy bịch, mang vào nhà trồng thông thoáng kín gió, được sát trùng bằng vôi, treo trên dây, mở nút bông và tưới phun sương ngày 3 lần (8, 13, 17 giờ). Nhiệt độ phòng tưới 25 - 30°C, độ ẩm 80-90%, ánh sáng mắt thường có thể đọc sách. Khi quả thể ngã màu vàng nhạt thì thu hoạch.

Các chỉ tiêu theo dõi:

Sự lan tơ của nấm

Trong thời gian ủ tơ, thường xuyên quan sát tơ nấm lan trên mỗi bịch của từng cơ chất cho đến khi tơ nấm lan đầy bịch.

Thời gian tơ nấm lan kín bịch phôi: Tính từ ngày cấy nấm đến khi 50% số bịch ở mỗi lặp lại của nghiệm thức có tơ nấm lan kín bịch phôi.

Quan sát tơ nấm, đánh giá độ dày tơ lúc tơ nấm phát triển kín bịch (thưa, trung bình, và dày).

Một số chỉ tiêu trong nuôi trồng

Đếm và tính số quả thể trung bình và trọng lượng trung bình của chùm quả thể qua các lần thu hoạch.

Chỉ tiêu về năng suất

Cân trọng lượng nấm thu được trên mỗi bịch (g/bịch).

Tính hiệu suất sinh học (%): Năng suất nấm tươi/kg cơ chất khô (Chang *et al*., 1999)

Ảnh hưởng của thành phần cơ chất đến thời gian bắt đầu thu hoạch quả thể

Thời gian bắt đầu cho thu hoạch: Tính từ ngày bịch đầu tiên được thu hoạch đến ngày thu hoạch bịch thứ 30 của mỗi nghiệm thức.

Định lượng polysaccharide thô ly trích từ nấm Hầu thủ (phương pháp phenol-sulfuric acid).

Polysaccharide nội bào được trích từ sinh khối khô của nấm Hầu thủ (0,1g) bằng 100 mL nước nóng 90ºC trong 3 giờ. Ly tâm 7.000 rpm trong 20 phút. Phần trong phía trên được dùng để đo hàm lượng polysaccharide.

Mẫu (2 mL) được cho vào ống nghiệm, sau đó thêm vào mỗi ống nghiệm 0,05 mL dung dịch phenol 80%. Hỗn hợp được trộn đều bằng máy vortex. Phản ứng được tiếp tục với 5 mL sulfuric acid. Dung dịch sau phản ứng được đo ở bước sóng 490 nm. Hàm lượng polysaccharide được tính dựa vào đường chuẩn D-Glucose được đo ở cùng bước sóng với dãy nồng độ từ 0 đến 60 mg/L.

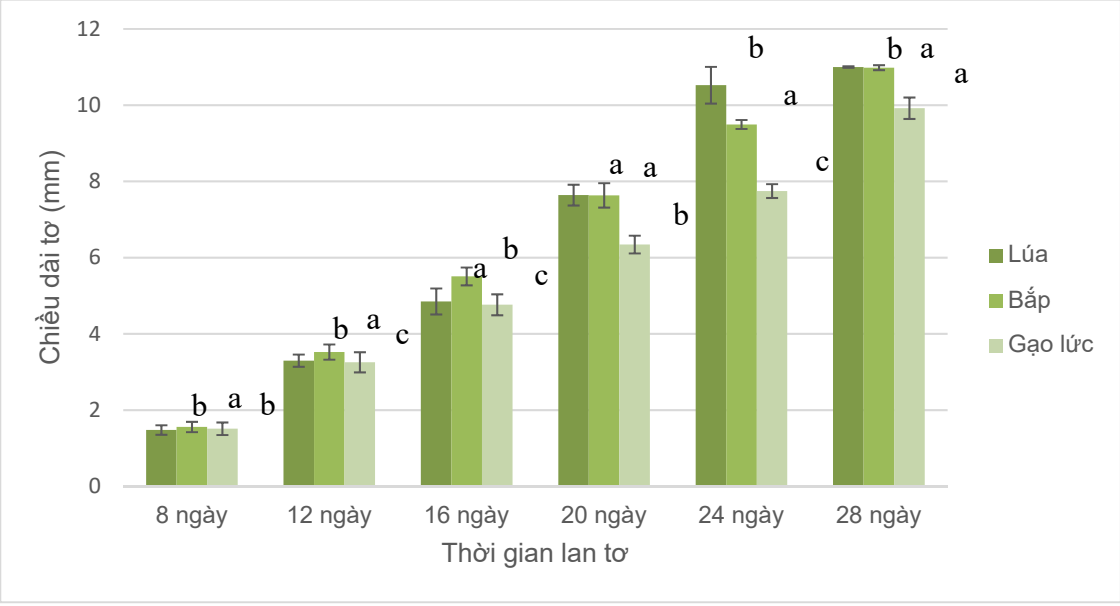
2.4 Phân tích số liệu

Số liệu thu thập được xử lý thống kê để phân tích phương sai (ANOVA) bằng phần mềm Statgraphics XVI.II. Sử dụng kiểm định LSD 0,05 để tìm ra sự khác biệt giữa các nghiệm thức.

3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1 Môi trường nhân giống cấp một

Kết quả cho thấy sự tăng trưởng của tơ nấm giữa các nghiệm thức trong cùng một mốc thời gian khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức 5%. Trong 8 ngày đầu tốc độ lan tơ nhanh, ngày 8 – 12 tốc độ lan tơ chậm dần (Hình 1). Nguyên nhân có thể do ban đầu môi trường giàu chất dinh dưỡng nhưng đến ngày thứ 8 tơ nấm đã lan hơn 2/3 đĩa nấm và chất dinh dưỡng trên đĩa thạch đã được sử dụng rất nhiều và lúc này tơ nấm cũng đã già hơn. Môi trường PDA bổ sung 20% nước dừa qua các mốc thời gian là nhanh nhất, môi trường Mizuno ở 10 ngày đầu là môi trường lan tơ chậm nhất nhưng độ dày của tơ nấm là rất dày so với môi trường PDA, đến ngày thứ 12 thì phát triển hơn môi trường PDA vì lúc này tơ nấm đã sử dụng phần lớn dinh dưỡng trong môi trường PDA còn trong Mizuno do được bổ sung dinh dưỡng nhiều hơn nên ở ngày 12 hàm lượng dinh dưỡng trong môi trường vẫn còn cao giúp tơ nấm phát triển vẫn bình thường.



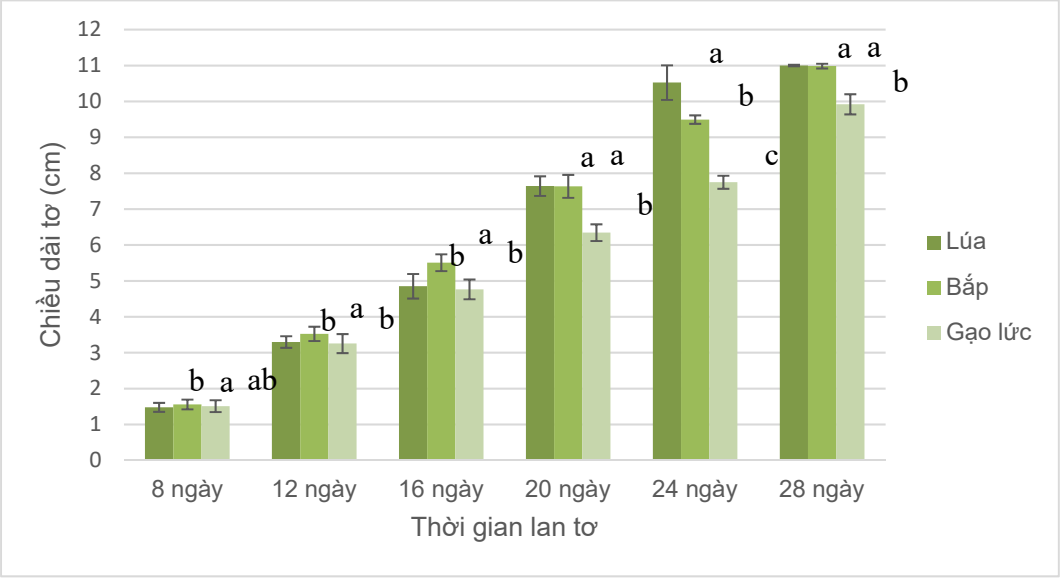
Hình 1: Biểu đồ chiều dài lan tơ của nấm trên môi trường thạch

Các giá trị trung bình có ký tự theo sau giống nhau trong cùng thời điểm thể hiện sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở mức 5%

Trong 3 môi trường được khảo sát môi trường PDA có bổ sung 20% nước dừa là tốt nhất, sợi tơ phát triển nhanh nhất độ dày của tơ là dày nhất, sau đó là môi trường Mizuno và cuối cùng là môi trường PDA. Nguyên nhân chính là do môi trường PDA bổ sung nước dừa có chứa hàm lượng khoáng: Ca, Fe, Na, K, P... và thành phần cytokinin sẽ giúp tơ nấm phát triển nhanh và mạnh hơn hai môi trường còn lại. Môi trường Mizuno chứa hàm lượng dinh dưỡng nhiều hơn PDA nên Mizuno phát triển nhanh thứ hai và cuối cùng là môi trường PDA. Chiều dài tơ nấm trung bình môi trường PDA 0,62 cm/ngày, Mizuno và PDA bổ sung nước dừa là 0,66 cm/ngày (Hình 1). Như vậy môi trường PDA có và không bổ sung 20% nước dừa có thể được chọn làm môi trường nhân giống cấp 1 là tốt nhất vì dễ kiếm, giá thành rẻ và cho tơ nấm phát triển tốt, tiết kiệm hơn môi trường Mizuno.

3.2 Môi trường nhân giống cấp hai (môi trường hạt)

Kết quả khảo sát môi trường nhân giống cấp hai (môi trường hạt) cho thấy sự tăng trưởng của tơ nấm giữa các nghiệm thức trong cùng một mốc thời gian khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức 5%. Trong 24 ngày đầu tốc độ lan tơ nhanh, ngày thứ 24 - 28 tốc độ lan tơ chậm dần (Hình 2). Điều này có thể do ban đầu môi trường giàu chất dinh dưỡng nhưng đến ngày thứ 24 tơ nấm đã lan tơ hơn 2/3 ống nghiệm môi trường hạt và chất dinh dưỡng trên môi trường hạt đã được sử dụng rất nhiều và lúc này tơ nấm cũng đã già hơn. Môi trường hạt lúa và hạt bắp qua các mốc thời gian là nhanh nhất (0,39 cm/ngày), cuối cùng là môi trường gạo lức là chậm nhất (0,35 cm/ngày). Kết quả này tương ứng với kết quả nghiên cứu của Hồ Thị Thu Ba (2010) môi trường hạt bắp có thời gian nhân giống nhanh nhất.



Hình 2: Biểu đồ biểu diễn chiều dài lan tơ trên môi trường hạt

Các giá trị trung bình có ký tự theo sau giống nhau trong cùng thời điểm thể hiện khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở mức 5%

Như vậy môi trường hạt bắp và lúa có thể được chọn làm giống cấp 2, nhưng kiến nghị nên sử dụng hạt lúa vì hạt lúa dễ thao tác khi cấy vào bịch phôi.

3.3 Chọn môi trường cơ chất sản xuất (bịch meo)

Ảnh hưởng của thành phần cơ chất đến thời gian bắt đầu và kết thúc thu hoạch quả thể

Kết quả ghi nhận thời gian bắt đầu và thời gian kết thúc thu hoạch quả thể nấm đợt 1 trên từng nghiệm thức cho thấy nghiệm thức mụn dừa kết thúc thu hoạch nhanh nhất (6 ngày), kế đến là nghiệm thức rơm (9 ngày), các nghiệm thức gồm 70% bã mía + 30% rơm, 50% bã mía + 50% rơm, 30% bã mía + 70% rơm, 100% bã mía cho thời gian thu hoạch gần bằng nhau (11-14 ngày) và thời gian thu hoạch lâu nhất là nghiệm thức mạt cưa cao su (16 ngày) (Bảng 2).

Thời gian bắt đầu và kết thúc thu hoạch quả thể nấm đợt 1 không tương thích với kết quả thời gian tơ nấm lan khắp khối cơ chất. Cấu tạo và khối lượng riêng của từng loại cơ chất khác nhau nên trong quá trình cho cơ chất vào bịch phôi đồng loạt 500 g sẽ cho chiều dài bịch phôi của từng loại cơ chất khác nhau. Cơ chất rơm có cấu trúc xốp nhẹ nên chiều dài bịch phôi có rơm sẽ dài hơn, ngược lại cấu trúc hạt mịn của mạt cưa cao su và trọng lượng riêng nặng nên chiều dài bịch phôi ngắn nhất. Nghiệm thức mạt cưa cao su có thời gian tơ lan khắp khối cơ chất nhanh nhất nhưng bắt đầu và kết thúc thu hoạch đợt 1 chậm nhất (16 ngày) có thể là do chiều dài bịch phôi ngắn và do trong quá trình phát triển, tơ nấm được cung cấp đầy đủ các dưỡng chất có sẵn nên phát triển nhanh nhưng tơ nấm không lan sâu vào trong khối cơ chất, khi đó hệ sợi tơ không đủ dày để kết chặt lại với nhau tạo quả thể nấm. Các nghiệm thức 100% bã mía, 70% bã mía + 30% rơm, 50% bã mía + 50% rơm, 30% bã mía + 70% rơm có khoảng thời gian thu hoạch giảm dần (14 – 11 ngày) cho thấy cơ chất càng nhiều bã mía khoảng thời gian thu hoạch càng ngắn.

Năng suất nấm tươi trên bịch phôi

Kết quả nghiên cứu cho thấy khối lượng tươi quả thể nấm ở nghiệm thức 70% bã mía + 30% rơm và

100% bã mía là cho khối lượng trung bình quả thể qua 2 lần thu hoạch là cao nhất (89,85 – 94,03 g/bịch phôi) (Bảng 2). Khối lượng quả thể giảm dần khi tỷ lệ phối trộn bã mía giảm dần trong ở các nghiệm thức 70% bã mía + 30% rơm, 50% bã mía + 50% rơm, 30% bã mía + 70% rơm. Trong cơ chất bã mía có sẵn 1 hàm lượng đường sucrose nhất định điều này tạo điều kiện cho quả thể nấm phát triển tốt hơn. Kết quả nghiệm thức mạt cưa cao thứ hai và tương đương với nghiệm thức 50% bã mía + 50% rơm. Các nghiệm thức phân tích khác biệt ý có ý nghĩa thống kê ở mức 5%. Có thể giải thích mạt cưa cây cao su là loại giá thể có thể được nấm phân giải và sử dụng tốt hơn, trong khi đặc tính hạt mịn làm giảm độ thoáng khí cùng với đặc điểm nhiều lignin và tanin là yếu tố hạn chế của mụn dừa. Cơ chất 100% rơm cho kết quả khối lượng quả thể thấp và thấp nhất là cơ chất mụn dừa (50,99 g/bịch phôi). Nguyên nhân do tơ nấm hình thành trên rơm và mụn dừa mảnh, thưa, không tích lũy được nhiều sinh khối nên không thu được năng suất cao. Trên bã mía và mạt cưa tơ dày, sợ tơ phân nhánh nhiều, tích lũy được nhiều sinh khối nên năng suất cao.

Bảng 2: Ảnh hưởng của thành phần cơ chất đến các yếu tố năng suất quả thể

Nghiệm thức	Thời gian thu hoạch (ngày)		Năng suất tươi/bịch phôi	Phần trăm trọng lượng khô	Hàm lượng polysacharide (%)	Hiệu suất sinh học (%)
	Bắt đầu	Kết thúc				
100% mạt cưa	75	91	16,32ab	67,87b	24,80a	38,41d
100% mụn dừa	52	58	10,44c	44,03e	21,08b	29,30f
70% bã mía+30% rơm	68	82	14,07ab	94,03a	24,67a	56,21a
50% bã mía+50%rơm	63	76	14,54ab	71,16b	24,03a	44,21c
30% bã mía+70%rơm	63	74	18,66a	58,41c	18,00c	37,30d
100% bã mía	72	85	12,07bc	89,58a	26,23a	51,40b
100% rơm	59	68	16,36ab	50,99d	19,59bc	33,80e

Các giá trị trung bình trong cùng một cột có ký tự theo sau giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở mức 5%

Năng suất và chất lượng của tai nấm phụ thuộc vào tình trạng dinh dưỡng từ nguồn giá thể như: tỉ lệ C/N, các vitamin, các khoáng vi và đa lượng. Vì vậy, nguyên nhân có thể là do dinh dưỡng trong cơ chất mạt cưa cao su nấm dễ sử dụng vì chứa nhiều cellulose, ít hemicellulose và lignin. Ngoài ra, khả năng giữ ẩm của mạt cưa cao su khá tốt nên trong quá trình ủ, nhiệt độ và độ ẩm không khí của nhà trồng thay đổi không làm ảnh hưởng nhiều đến độ ẩm của cơ chất. Do đó, cơ chất mạt cưa cao su giúp tơ nấm tích lũy nhiều sinh khối và tơ nấm dày hơn. Riêng về bã mía vẫn còn một lượng đường sucrose cao (khoảng 3-8%, nhiều cellulose, ít hemicellulose và lignin), nhờ lượng đường thấp còn sót lại sẽ cung cấp năng lượng cho tơ nấm bắt tơ vào khối cơ chất tốt hơn, vì thế tơ nấm sẽ phát triển tốt hơn. Vì vậy, 2 loại cơ chất này cung cấp nguồn dinh dưỡng dồi dào và thích hợp hơn nên độ dày của tơ nấm dày hơn, và tích lũy sinh khối được nhiều hơn nên lan tơ chậm hơn. Kết quả nghiên cứu của Gibriel *et al.* (1996) và Rehana *et al.* (2007) cũng nhận định: môi trường dinh dưỡng có đường và vi lượng sẽ giúp khuẩn ty nấm phát triển tốt và cho tiềm năng năng suất cao.

Trong thực tế sản xuất nấm hầu thủ có thể chọn cơ chất 70% bã mía + 30% rơm để sản xuất vì hai nguyên liệu này dễ tìm, giá thành rẻ, cho năng suất lại cao, khi phối trộn với thành phần trên do độ mềm của rơm sẽ hạn chế nhiễm, cơ chất mụn dừa không thích hợp để trồng nấm hầu thủ.

Phần trăm khối lượng khô

Ngoại trừ nghiệm thức 100% mụn dừa cho hàm lượng chất khô thấp, các nghiệm thức còn lại khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p>0,05$).

Hàm lượng polysacchride

Hàm lượng phần trăm polysacchride so với khối lượng khô của các nghiệm thức khác biệt có ý nghĩa thống kê. Hàm lượng polysaccharide có sự khác biệt không ý nghĩa giữa các nghiệm thức mạt cưa, 100% bã mía, 70% bã mía + 30% rơm, và 70% bã mía + 30% rơm. Bốn nghiệm thức đều cho hàm lượng polysaccharide cao nhất (24,03 – 26,23 %). Hàm lượng polysaccharide thấp nhất đo được ở nghiệm thức 30% bã mía + 70% rơm (18%).

Hiệu suất sinh học

Hiệu suất sinh học cao nhất trên cơ chất 70% bã mía + 30% rơm (56,21%), kế đến là nghiệm thức 100% bã mía (51,40%). Khi bổ sung càng nhiều rơm trong các nghiệm thức 70% bã mía + 30% rơm, 50% bã mía + 50% rơm, 30% bã mía + 70% rơm và 100% rơm thì hiệu suất sinh học có xu hướng giảm dần và thấp nhất là nghiệm thức mụn dừa (29,30%). Hiệu suất sinh học cho kết quả phân tích tương đồng với năng suất nấm tươi thu được (Bảng 2).

Kết quả ghi nhận của Hassan (2007) cho kết quả hiệu suất sinh học khoảng 30,9–50,3%, tương đương với kết quả trong nghiên cứu này. Nghiên cứu của Mane *et al.* (2007), Arun and Anita (2010), chỉ số hiệu suất sinh học có tương quan thuận đến sự phát triển của tơ nấm (độ dày và tốc độ lan tơ của nấm), phụ thuộc vào đặc tính của từng loài và dinh dưỡng khác nhau có trong giá thể. Nghiên cứu nấm bào ngư trắng (*Pleurotus floria)* của Sharma and Madan (1993) cũng đồng quan điểm khi kết quả chỉ số sinh học có sự khác biệt khi được trồng trên các giá thể khác nhau.

Như vậy, xét theo cả 4 chỉ tiêu về năng suất và phẩm chất, nghiệm thức phối trộn 70% bã mía + 30% rơm đều cho giá trị cao nhất.

Phân tích trình tự vùng ITS của nấm hầu thủ

Từ kết quả giải trình tự vùng ITS của nấm hầu thủ như trên so sánh với các trình tự trên ngân hàng gen NCBI cho thấy đồng hình với loài *Hericium erinaceus* tỉ lệ 99%.

4 KẾT LUẬN

Kết quả nghiên cứu xác định được quy trình trồng nấm hầu thủ là môi trường nhân giống cấp 1 là môi trường PDA bổ sung 20% nước dừa; và môi trường nhân giống cấp 2 là hạt lúa. Chỉ tiêu quan trọng nhất là năng suất và chất lượng thì nghiệm thức 70% bã mía + 30% rơm là cơ chất bịch phôi (giống cấp 3) phù hợp trồng nấm hầu thủ.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Ahmed, I., Jayasinghe, C., Lee, G.W., Shim, M.J., Rho, H.S., Lee, H.S., et al., 2008. Vegetative growth of four strains of Hericium erinaceus collected from different habitats. The Korean Society of Mycology. 36(2): 88-92.

Arun I., and Anita, R., 2010. Studies cultivation and biological efficiency of mushrooms grown on different agro-residues. Innovative Romanian Food Biotechnology. 6: 25-28.

Chang, S.T., Buswell, J.A., and Miles, P.G., 1999. Genetics and breeding of mushrooms. Gordon and Breach Science Publishers. 1: 29 –300.

Garders, M. and Bruns, T., 1993. ITS primer with enhanced specificity for basidiomycetes - application to the identification of mycorrhizae and rust. Mol. Ecol. 2: 113 - 8.

Gibriel, A.Y., Ahmed, M., Rasmy, N., Rizk, I. and Abdel-Rehem, N.S., 1996. Cultivation of Oyster mushroom: Evaluation of different media and ogranic substrate, mushroom biology and mushroom product. Penn State Univesity. 1: 1-3.

Hassan, F.R.H., 2007. Cultivation of the monkey head mushroom (Hericium erinaceus) in Egypt. Journal of Applied Sciences Research. 3(10): 1229-1233.

Hồ Thị Thu Ba. 2010. Nghiên cứu quy trình nuôi trồng một số loài nấm mới (Hầu thủ, Trân Châu, Thái Dương) có giá trị kinh tế cao. Luận văn tốt nghiệp Thạc sĩ chuyên ngành Công nghệ Sinh học, Trường Đại học Cần Thơ.

Lê Duy Thắng. 2006. Kỹ thuật trồng nấm. Nxb Nông nghiệp thành phố Hồ Chí Minh, tr. 6 -19.

Mane, V.P., Patil, S.S., Syed. A.A., and Baig. M.M.V., 2007. Bioconversion of low quality lignocellulosic agricultural waste into edible protein by Pleurotus sajor-caju (Fr.) Singer. J. Zhejiang Univ Sci B. 8(10): 745-51.

Nguyễn Lân Dũng. 2007. Công nghệ trồng nấm - Tập 1. Nxb Nông nghiệp Hà Nội, tr. 13 - 49.

Rehana, A., Muhammad, T. and Tahi, R., 2007. Propagation of Pleurotus sajor-caju (Oyster mushroom) though tissue culture. Park J. 39(4): 1383-1386.

Sharma, S. and Madan, M., 1993. Microbial protein from leguminous and non-leguminous substrates. Acta Biotechnologica. 13: 131–139.

White, T.J., Bruns, T., Lee, S., and Taylor, J.W., 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications, eds. Innis, M.A., D.H. Gelfand, J.J. Sninsky, and T.J. White. Academic Press, Inc., New York. 5: 315 - 322.