



DOI:10.22144/ctu.jsi.2019.051

KHẢO SÁT ẢNH HƯỞNG NGUỒN DINH DƯỠNG ĐẾN SINH TRƯỞNG VÀ PHÁT TRIỂN CỦA NẤM CHÂN DÀI *Panus giganteus* (BERK.) CORNER

Trần Thị Trúc¹, Đỗ Tấn Khang^{2*}, Bùi Thị Minh Diệu² và Trần Nhân Dũng²

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

²Viện 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: 19/03/2019

Ngày duyệt đăng: 12/04/2019

Title:

Effects of nutritional sources on growth and development of mushroom *Panus giganteus* (Berk.) Corner

Từ khóa:

Bã mía, hạt gạo lức, mật ứa, nấm chân dài, *Panus giganteus* (Berk.) Corner

Keywords:

Baggase, brown rice seed, *Panus giganteus* (Berk.) Corner, sawdust

ABSTRACT

This study was conducted to examine factors affecting the growth and development of mushroom (*Panus giganteus* (Berk.) Corner) by using the available sources of materials in Mekong Delta. *P. giganteus* was isolated in Mizuno, PDA and PDA supplied 20% coconut water. Seed medium included brown rice seed, corn seed and rice seed supplied with nutrients consisting of 3% rice bran, 3% corn flour and 1% lime powder. Substrates for culturing fruit body were rubber sawdust, coconut fiber, bagasse and straw combined with different ratio. The results showed that mycelium of *P. giganteus* grew fast on Mizuno medium (7.95 cm) compared to PDA (6.18 cm) and PDA supplied 20% coconut water (7.71 cm) after 10 days. The mycelium showed the best growth on brown rice seed (12.12 cm), following by corn seed (11.77 cm) and rice seed (8.70 cm) after 24 days. The best productivity of fruit body was shown in 70% bagasse combined 30% straw (127.92 g fresh weight/bag (400 g substrate), biological efficiency 79.75%), following is 100% bagasse (123.16 g/bag, biological efficiency 76.98%). However, polysaccharide contents of the treatments were not statically different at 5%.

TÓM TẮT

Nghiên cứu được thực hiện nhằm khảo sát các yếu tố ảnh hưởng đến sự sinh trưởng và phát triển của nấm chân dài (*Panus giganteus* (Berk.) Corner) trên một số nguồn nguyên liệu có sẵn ở Đồng bằng sông Cửu Long. Nấm được phân lập trên môi trường Mizuno, PDA và PDA có bổ sung 20% nước dừa. Môi trường hạt bao gồm hạt gạo lức, hạt bắp và hạt lúa kết hợp với dinh dưỡng bổ sung là 3% cám gạo, 3% bột bắp và 1% vôi bột. Cơ chất trồng quả thể là mật ứa cao su, mụn dừa, bã mía và rơm được phối trộn theo các tỉ lệ khác nhau. Kết quả nghiên cứu cho thấy, tơ nấm lan nhanh nhất trên môi trường phân lập Mizuno (7,95 cm) so với môi trường PDA (6,18 cm) và PDA bổ sung 20% nước dừa (7,71 cm) ở ngày thứ 10. Đối với môi trường hạt, tơ nấm cho thấy sự phát triển tốt nhất trên môi trường hạt gạo lức (12,20 cm), tiếp đến là hạt bắp (11,77 cm) và hạt lúa (8,70 cm) sau 24 ngày. Năng suất nấm cao nhất đối với cơ chất trồng nấm là 70% bã mía bổ sung 30% rơm (127,92 g nấm tươi/bịch (400 g nguyên liệu), hiệu suất sinh học đạt 79,75%), tiếp theo là 100% bã mía (123,16 g/bịch, hiệu suất sinh học đạt 76,98%). Tuy nhiên, hàm lượng polysaccharide giữa các thí nghiệm khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở mức 5%.

Trích dẫn: Trần Thị Trúc, Đỗ Tấn Khang, Bùi Thị Minh Diệu và Trần Nhân Dũng, 2019. Khảo sát ảnh hưởng nguồn dinh dưỡng đến sinh trưởng và phát triển của nấm chân dài *Panus giganteus* (Berk.) Corner. Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ. 55(Số chuyên đề: Công nghệ Sinh học)(2): 110-118.

1 GIỚI THIỆU

Nhiều giống nấm hiện nay có nguồn gốc từ nước ngoài cũng được nhập nội và nuôi trồng thành công. Hầu hết các loại nấm này có giá trị kinh tế cao, ăn ngon và được dùng làm dược liệu như: nấm hương (*Lentinus edodes*), nấm chân dài (*Panus giganteus*), nấm mỡ (*Agaricus bisporus*), linh chi (*Ganoderma lucidum*),... (Phan Quốc Nam, 2016). Trong đó, nấm chân dài là loài nấm mới có phẩm chất ngon, cho năng suất cao, là một loại thực phẩm có giá trị dinh dưỡng cao, cung cấp một lượng đáng kể chất đạm, đường bột, nhiều vitamin và khoáng chất, đồng thời là dược liệu quý giá phòng chống một số bệnh (Ngô Xuân Nghiễn và Nguyễn Thị Bích Thùy, 2016).

Vùng Đồng bằng sông Cửu Long là vùng phát triển nông nghiệp với nguồn phụ phẩm giàu chất xơ (cellulose) và chất gỗ (lignin) phong phú và đa dạng gồm nhiều loại như rơm rạ, bã mía, mặt cưa, mụn dừa, lõi bắp, lá chuối,... Các nguồn nguyên liệu này nếu không được sử dụng tốt thì sẽ là nguồn gây ô nhiễm môi trường. Hiện nay, nấm chân dài được trồng trên cơ chất mặt cưa cao su là phổ biến nhất vì cho năng suất và chất lượng khá cao. Nguyễn Thị Bích Thùy và *ctv.* (2009) đã trồng thành công nấm chân dài trên cơ chất mặt cưa cao su và bông phế liệu. Tuy nhiên, nguồn cơ chất này chỉ tập trung ở một số vùng như miền Đông Nam Bộ không thể đáp ứng đủ cho sự phát triển của nghề trồng nấm trong cả nước nên giá thành cao. Trong khi đó, bã mía và rơm được xem là nguồn cơ chất kỳ vọng cao vì là nguồn phụ phẩm nông nghiệp dồi dào, giá rẻ lại sẵn có tại nhiều địa phương trên cả nước. Ngoài ra, trong các giai đoạn sinh trưởng và phát triển của nấm chân dài còn chịu ảnh hưởng của nguồn dinh dưỡng khác nhau. Vì thế, việc thử nghiệm quy trình trồng nấm chân dài nhằm xác định nguồn dinh dưỡng phù hợp cho môi trường nhân giống cấp I, môi trường nhân giống cấp II và môi trường nhân giống cấp III (bịch phôi) là rất cần thiết. Nghiên cứu được thực hiện với mục tiêu xác định nguồn dinh dưỡng và tỉ lệ phối trộn cơ chất thích hợp để trồng nấm chân dài, nhằm xây dựng quy trình trồng nấm đạt năng suất cao và giảm chi phí sản xuất.

2 PHƯƠNG TIỆN VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1 Nguyên vật liệu

Quả thể nấm chân dài thuần được cung cấp từ Trung tâm Nghiên cứu Ứng dụng và Dịch vụ Khoa học Công nghệ Tiền Giang.

Môi trường phân lập nấm: Môi trường PDA: Khoai tây (200g), D-glucose (20g), agar (20g) trong 1 lít nước (Nguyễn Lâm Dũng, 2007); Môi trường

Mizuno: Yeast extract (1g), pepton (1g), D-glucose (20g), agar (20g), khoai tây (300g) trong 1 lít nước; Môi trường PDA bổ sung 20% nước dừa.

2.2 Phương pháp nghiên cứu

2.2.1 Nhận diện nấm Chân dài

Nuôi cấy tơ nấm: Thân nấm được cắt một phần nhỏ (1 cm vuông) chuyển vào giữa đĩa Petri nuôi cấy có chứa môi trường PDA (Nguyễn Lâm Dũng, 2007). Các đĩa Petri được ủ ở nhiệt độ 25-30°C và được kiểm tra mỗi ngày. Khi tơ nấm mọc lan ra từ tổ chức tơ nấm đã cấy, tiến hành cấy chuyển và kiểm tra độ thuần của khuẩn lạc, kiểm tra tốc độ lan tơ của nấm. Khi tơ nấm đạt độ thuần nhất tiến hành cấy chuyển sang đĩa Petri chứa môi trường PDA bổ sung 20% nước dừa, Mizunno và PDA (mỗi nghiệm thức lặp lại 30 lần), ủ ở 15-25°C. Ghi nhận lại số ngày tơ nấm (cm). Khi tơ mọc đầy 100% đĩa thì trữ ở 4°C, cứ sau mỗi 1 tháng cấy chuyển lại một lần.

Phân tích trình tự vùng ITS của nấm chân dài: DNA được trích theo quy trình của Gardes and Burns (1993). Vùng trình tự ITS được khuếch đại với cặp mồi ITS1 (5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3') và ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') (White *et al.*, 1990). Sản phẩm PCR (Polymerase Chain Reaction) được gửi giải trình tự bằng phương pháp Sanger tại Công ty Macrogen Hàn Quốc bằng máy giải trình tự ABI 3130XL (Applied Biosystem). Trình tự được so sánh với các trình tự trên ngân hàng gen sử dụng công cụ BLASTN để xác định tên loài của mẫu nấm khảo sát.

2.2.2 Chọn môi trường thích hợp để nuôi trồng nấm chân dài

Quy trình trồng nấm chân dài được thực hiện như sau: Khi khuẩn lạc đạt độ thuần, tơ nấm được cấy chuyển sang đĩa Petri chứa môi trường nhân giống cấp I. Sau đó, tơ nấm tiếp tục được cấy chuyển sang môi trường nhân giống cấp II và đến môi trường nhân giống cấp III (bịch phôi). Bịch phôi đã tạo độ ẩm cơ chất 60%, đóng bịch 18×20 cm, hấp 120°C trong 3 giờ. Sau đó, bịch phôi được đưa vào buồng vô trùng, khử trùng đèn cực tím 20-30 phút và tiến hành cấy giống. Bịch phôi được đưa vào nhà thoáng, mát, nhiệt độ 25-30°C, theo dõi đến khi sợi nấm mọc kín và chuyển sang phòng nuôi quả thể. Khi sợi nấm mọc kín bịch phôi, nút bông được tháo ra đồng thời kéo miệng túi xuống khoảng ½ bịch, phủ đất dày 3-5 cm (đất sét pha, bằm nhỏ, xử lý vôi 2 ngày). Khu vực trồng nấm được tưới phun sương tạo độ ẩm đạt 80-90%, 3 lần/ngày (8, 13, 17 giờ). Nhiệt độ được giữ trong khoảng 25-30°C và giữ thoáng khí. Chăm sóc và thu hoạch lúc quả thể nấm hình thành dạng phễu (Nguyễn Thị Bích Thùy và *ctv.*, 2009).

a. *Khảo sát môi trường nhân giống cấp I*

Thí nghiệm này có tổng cộng 3 nghiệm thức (môi trường PDA, môi trường PDA bổ sung 20% nước dừa và môi trường Mizuno), mỗi nghiệm thức 30 lần lặp lại.

Chỉ tiêu theo dõi: Xác định tốc độ lan tơ trên các môi trường theo chiều rộng giữa các nghiệm thức ở các mốc thời gian 4, 6, 8, 10, 12 ngày sau khi cấy (cm). Xác định tốc độ lan tơ trung bình (cm/ngày).

b. *Khảo sát môi trường nhân giống cấp II*

Thí nghiệm này có tổng cộng 3 nghiệm thức (môi trường hạt lúa, môi trường gạo lức và môi trường hạt bắp), mỗi nghiệm thức được lặp lại 30 lần.

Chỉ tiêu theo dõi: Xác định tốc độ lan tơ trên các môi trường theo chiều sâu giữa các nghiệm thức ở các mốc thời gian 4, 8, 12, 16, 20, 24, 28 ngày sau khi cấy (cm), xác định tốc độ lan tơ trung bình (cm/ngày).

c. *Xác định tỉ lệ phối trộn cơ chất phù hợp để trồng nấm Chân dài*

Thí nghiệm này tổng cộng 7 nghiệm thức với mỗi nghiệm thức 30 lần lặp lại.

Bảng 1: Bố trí nghiệm thức phối trộn cơ chất

Nghiệm thức phối trộn cơ chất	Cám (%)
Nghiệm thức 1: 100% hạt gạo cao su	8,99
Nghiệm thức 2: 100% mụn dừa	14,31
Nghiệm thức 3: 100% bã mía	7,42
Nghiệm thức 4: 70% bã mía + 30% rơm	9,93
Nghiệm thức 5: 50% bã mía + 50% rơm	10,11
Nghiệm thức 6: 30% bã mía + 70% rơm	13,27
Nghiệm thức 7: 100% rơm	15,77

Các cơ chất trộn với nước vôi 2% tạo ẩm độ 60%, vun thành đồng để ủ trong 48 giờ. Trộn với cám gạo cho vào bịch chịu nhiệt (mỗi bịch 400 g). Bịch cơ chất đưa vào nồi hấp khử trùng ở 121°C trong 120 phút, lấy ra để nguội 1 ngày.

Tiến hành cấy giống cấp II vào bịch cơ chất. Lượng meo giống cấy vào với tỉ lệ 2% so với nguyên liệu ẩm (cho vào mỗi bịch khoảng 30 hạt lúa có tơ nấm mọc), dùng bông gòn không thấm (đã được khử trùng) đậy lại. Bịch phối được ủ ở 26-28°C trong điều kiện thoáng khí cho đến khi tơ nấm lan đầy bịch. Nơi ủ tơ lan đầy bịch nguyên liệu, đặt bịch phối nơi thông thoáng, kín gió, sát trùng xung quanh. Khi tơ nấm lan khắp khối cơ chất, nút nhựa trên cổ bịch được tháo ra và bắt đầu tưới. Mỗi ngày, các bịch phối được tưới 3 lần (7, 12 và 17 giờ). Khi tưới dùng bình nước phun ra dạng sương. Nhiệt độ trong giai đoạn này được giữ khoảng 26-28°C.

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: $N_{bs} = N_{35} - N_{cơ\ chất}$ và $N_{35} = C/35$

C: lượng carbon tổng số (%) được xác định trong cơ chất

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

N_{35} : lượng đạm tổng số (%) cần thiết phải có để đạt $C/N = 35$

N_{bs} : lượng đạm (%) cần bổ sung thêm để có N_{35}

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

Chỉ tiêu theo dõi: Theo dõi sinh trưởng hệ tơ nấm, chọn nghiệm thức tơ nấm phát triển tốt nhất, chọn nghiệm thức nấm cho năng suất cao nhất.

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. Tiến hành đo chiều sâu độ lan tơ (đo từ cổ bịch phối xuống) ở các giai đoạn 10, 15, 20, 25, 30 ngày sau khi cấy (cm).

Chỉ tiêu trong nuôi trồng: Đo kích thước chiều dài-rộng của tai nấm, tính tỉ lệ (ngang/dọc) và nhận dạng về hình dạng của quả thể. Đo kích thước tai nấm (cm) trên mỗi nghiệm thức. Đồng thời quan sát khả năng hình thành quả thể nấm trên các loại cơ chất.

Thời gian bắt đầu và thời gian kết thúc thu hoạch quả thể nấm đợt 1 trên từng nghiệm thức: Tính từ thời gian thu hoạch bịch thứ nhất đến bịch thứ 30 ở mỗi nghiệm thức khác nhau (đơn vị là ngày).

Chỉ tiêu về năng suất: Cân trọng lượng nấm tươi thu được trên mỗi bịch (g/bịch). Tính hiệu suất sinh học (%): năng suất nấm tươi/kg cơ chất khô (Chang, 1990).

Chỉ tiêu về phẩm chất tai nấm: Tiến hành sấy đến trọng lượng không đổi (70°C trong 48 giờ) và tính phần trăm trọng lượng khô của nấm trên các nghiệm thức.

Chỉ tiêu về hàm lượng polysaccharide: Khảo sát và so sánh hàm lượng polysaccharide từ quả thể nấm Chân dài. Quá trình ly trích tinh sạch polysaccharide từ quả thể nấm Chân dài được tiến hành theo phương pháp phenol-sulfuric acid (PSA).

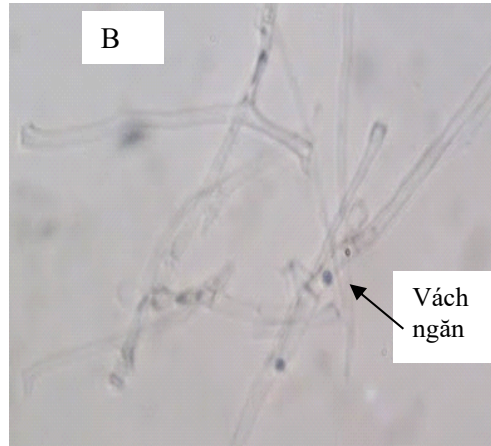
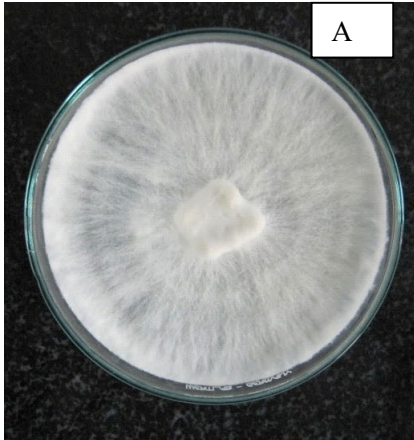
2.2.3 Phân tích số liệu

Số liệu được nhập và tính trung bình bằng Microsoft excel 2007. Số liệu thu thập được xử lý thống kê để phân tích phương sai (ANOVA) và phân tích thống kê bằng phần mềm Statgraphics 16.

3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1 Phân lập và định danh nấm chân dài

Kết quả đã phân lập được giống thuần nấm chân



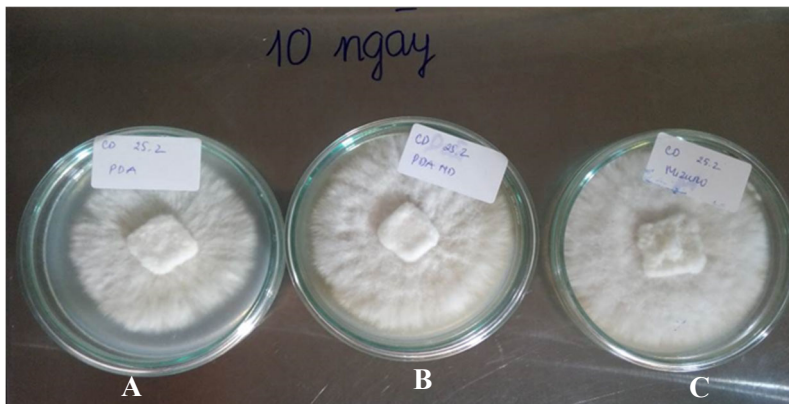
Hình 1: (A) Hệ sợi nấm chân dài; (B) Sợi tơ nấm dưới kính hiển vi (400X)

Trình tự vùng ITS của nấm chân dài được so sánh với các trình tự trên ngân hàng gen NCBI cho thấy trình tự này đồng hình với loài *Panus giganteus* với tỉ lệ 99%.

3.2 Tuyển chọn môi trường thích hợp để nuôi trồng nấm chân dài

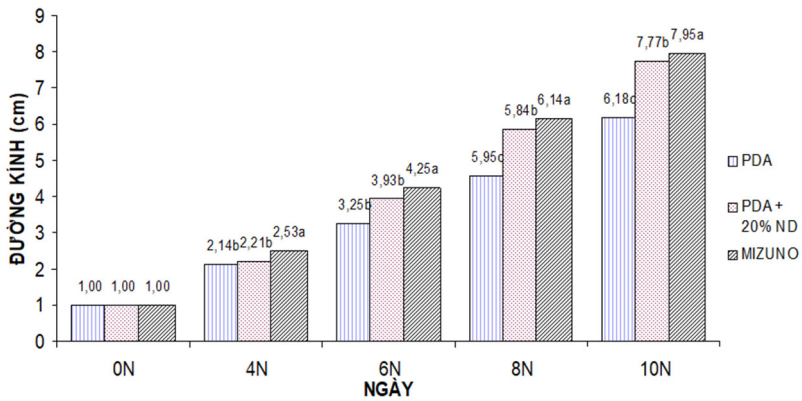
3.2.1 Môi trường nhân giống cấp I

Giống nấm thuần được chuyển sang các môi trường: PDA, PDA sủ sung 20% nước dừa, Mizuno. Mỗi môi trường với 30 đĩa petri. Kết quả thể hiện ở Hình 2.



Hình 2: Hình thái tơ nấm Chân dài trên 3 môi trường vào ngày thứ 10

(A) Môi trường PDA; (B) Môi trường PDA + 20% nước dừa; (C) Môi trường Mizuno



Hình 3: Tốc độ lan tơ của nấm chân dài trên môi trường thạch qua các ngày

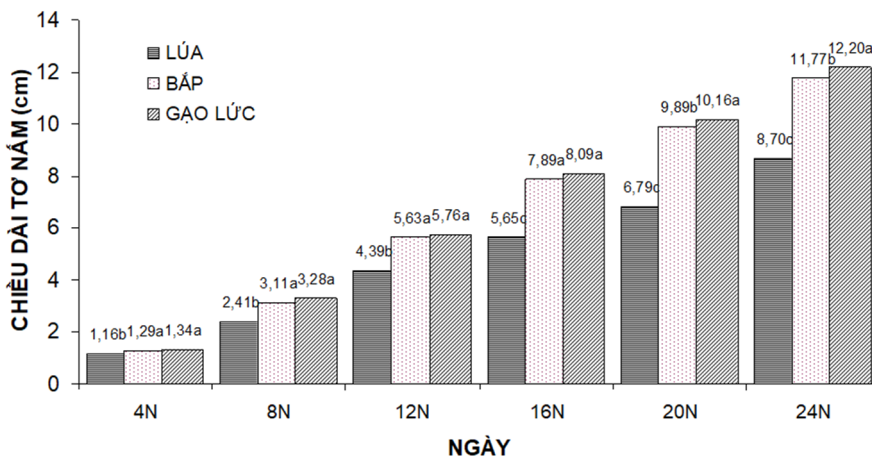
Kết quả cho thấy sự tăng trưởng và phát triển của tơ nấm giữa các môi trường thạch PDA, PDA bổ sung 20% nước dừa, Mizuno trong cùng một ngày khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức 5%. Môi trường Mizuno tơ nấm có tốc độ lan tơ nhanh nhất. Trong 4 ngày đầu tơ nấm phát triển tương đối chậm ở cả 3 môi trường sau đó tăng trưởng nhanh hơn. Ngày thứ 4 tốc độ lan tơ ở trên môi trường Mizuno bắt đầu nhanh dần, tơ nấm dài hơn từ 0,32 cm đến 0,39 cm so với môi trường PDA + 20% nước dừa (2,22 cm) và PDA (2,14 cm). Ngày thứ 6, ở môi trường Mizuno tơ nấm trung bình đo được là 4,25 cm, dài hơn từ 0,32 đến 1,00 cm so với môi trường PDA + 20% nước dừa (3,93 cm) và PDA (3,25 cm).

Nguyên nhân có thể là thành phần dinh dưỡng trong môi trường Mizuno có thêm pepton và yeast extract so với các thành phần dinh dưỡng trong 2 môi trường PDA bổ sung 20% nước dừa và PDA do đó tơ nấm sử dụng dinh dưỡng trong môi trường Mizuno này cao hơn và tăng trưởng nhanh hơn. Trong môi trường PDA bổ sung 20% nước dừa có bổ sung thêm nước dừa chứa các muối khoáng, đường và đặc biệt thành phần cytokinin phù hợp sự

sinh trưởng tơ nấm nên tơ nấm có tốc độ lan tơ nhanh trên môi trường PDA. Kết quả này tương tự với kết luận của Adenipekun and Gbolagade (2006), sự phát triển của tơ nấm đòi hỏi phải được cung cấp thêm các dưỡng chất khác: glucose, đạm, vitamin và khoáng. Như vậy, tuyển chọn được môi trường Mizuno để nhân giống cấp I với tốc độ lan tơ nhanh nhất so với hai môi trường còn lại có khác biệt ý nghĩa thống kê ở mức 5%.

3.2.2 Môi trường nhân giống cấp II

Sau khi chọn tơ nấm từ đĩa petri chứa giống nấm phát triển tốt nhất (môi trường Mizuno) trên môi trường nhân giống cấp I vào từng ống nghiệm (đường kính 0,9 cm, chiều dài môi trường 13 cm) của 3 môi trường: hạt lúa, gạo lức và bắp đã bổ sung dinh dưỡng. Quan sát và theo dõi tốc độ lan tơ và quá trình sinh trưởng của hệ sợi nấm trên từng môi trường hạt ở ống nghiệm có thu được kết quả môi trường hạt gạo lức tốc độ lan tơ trung bình nhanh nhất, kế đến là môi trường hạt bắp, chậm nhất là trên môi trường hạt lúa (Hình 4).



Hình 4: Tốc độ lan tơ trung bình của tơ nấm trên môi trường hạt

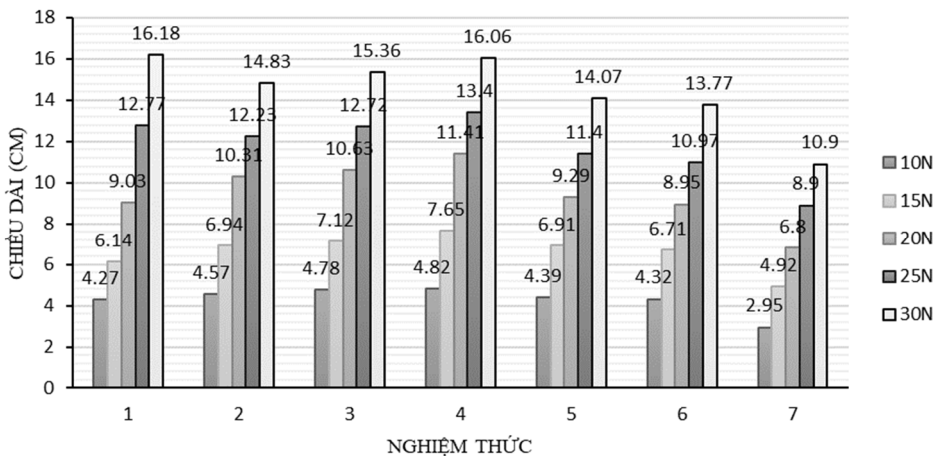
Hình 4 cho thấy trong 8 ngày đầu sau khi cấy sự tăng trưởng chậm sau đó nhanh dần hơn. Ngày thứ 16 độ dài tơ nằm trên môi trường gạo lức dài hơn 0,2 cm khác biệt không ý nghĩa thống kê so với môi trường hạt bắp và dài hơn 2,44 cm so với môi trường hạt lúa (khác biệt ý nghĩa thống kê). Tuy nhiên, ngày thứ 20 và thứ 24 cả ba môi trường cho thấy có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về chiều dài tơ nằm. Ở ngày thứ 20 tốc độ lan tơ trên môi trường hạt gạo lức vượt hơn 0,27 cm so với môi trường hạt bắp, 3,37 cm so với môi trường hạt lúa. Ngày thứ 24 tơ nằm tăng trưởng đạt 12,20 cm ở môi trường gạo lức, cao hơn 0,43 cm so với môi trường hạt bắp và 3,5 cm so với môi trường hạt lúa. Tốc độ lan tơ trung bình trên các môi trường, nhanh nhất ở môi trường gạo lức trung bình 0,51 cm/ngày, giữa là môi trường hạt bắp trung bình 0,49 cm/ngày, chậm nhất là môi trường hạt lúa 0,36 cm/ngày.

Quá trình quan sát mật độ tơ nằm của môi trường hạt lúa thưa, màu trắng nhạt và 2 môi trường còn lại thì mật độ hệ sợi nằm dày hơn và có màu trắng sáng hơn. Có thể kết luận tơ nằm chân dài sinh trưởng và phát triển tốt khi nuôi cấy trên môi trường gạo lức, kể đến là môi trường bắp và lan tơ chậm trên môi trường hạt lúa. Nguyên nhân có thể là do dinh dưỡng

ở môi trường hạt gạo lức cao (tinh bột, protein, chất xơ, các vitamin B,...) và đặc biệt gạo lức không có lớp vỏ trấu bao bọc như hạt lúa nên tơ nằm dễ sử dụng dinh dưỡng bên trong hơn. Khi đó hạt lúa có lớp vỏ trấu cứng bao bọc bên ngoài tạo nên diện tích tiếp xúc lớn hơn hạt gạo lức, hạt bắp nên tơ nằm khó sử dụng thành phần dinh dưỡng bên trong hạt lúa trong giai đoạn ủ tơ. Do đó, sự tốc độ lan tơ nhanh nhất trên môi trường gạo lức và chậm nhất trên môi trường hạt lúa. Ngoài ra, đối với mỗi loài nấm khác nhau sẽ thích hợp với môi trường nhân giống khác nhau. Như vậy, môi trường nhân giống cấp II là môi trường gạo lức cho kết quả lan tơ nhanh nhất và mật độ tơ nằm dày nên được chọn để nhân giống cấp III (bịch phôi).

3.2.3 Ảnh hưởng của thành phần cơ chất đến sự tăng trưởng của tơ nằm theo thời gian.

Kết quả thí nghiệm cho thấy nghiệm thức 1 (100% mật cưa cao su), nghiệm thức 4 (phối trộn 70% bã mía + 30% rom) lan tơ nhanh nhất. Phân tích thống kê hai nghiệm thức này khác biệt không có ý nghĩa ở mức 5% nhưng khác biệt với các nghiệm thức còn lại và chậm nhất ở nghiệm thức 7 (100% rom) (Hình 5).



Hình 5: Chiều dài tăng trưởng trung bình của tơ nằm qua các ngày ở các nghiệm thức

Ghi chú: 1: Nghiệm thức 100% mật cưa cao su; 2: Nghiệm thức 100% mụn dừa; 3: Nghiệm thức 100% bã mía; 4: Nghiệm thức phối trộn 70% bã mía + 30% rom; 5: Nghiệm thức phối trộn 50% bã mía + 50% rom; 6: Nghiệm thức phối trộn 30% bã mía + 70% rom; 7: Nghiệm thức 100% rom. 10N:10 ngày; 15N:15 ngày; 20N:20 ngày; 25N:25 ngày; 30N:30 ngày

Ở ngày thứ 10 thì nghiệm thức 3, nghiệm thức 4 có tốc độ lan tơ nhanh nhất, kế đến là nghiệm thức 2, nghiệm thức 1 và 5, nghiệm thức 6 và cuối cùng là nghiệm thức 7. Qua ngày thứ 15 tơ nằm ở nghiệm thức 1 (100% mật cưa) bắt đầu tăng trưởng nhanh trong khi các nghiệm thức còn lại vẫn tăng trưởng chậm. Đến ngày thứ 30 thì mức tăng trưởng tơ nằm thay đổi rõ rệt giữa các nghiệm thức, nghiệm thức 1

(100% mật cưa cao su) (16,18 cm) có sự lan tơ nhanh tương đương nghiệm thức 4 (16,06 cm), kế đến là nghiệm thức 3 (15,36 cm). Tăng trưởng của tơ nằm giữa các ngày thì ở giai đoạn đầu tơ nằm tăng trưởng chậm, cụ thể là ngày thứ 10 sau khi cấy chiều dài tơ nằm dao động từ 2,95 đến 4,27 cm, nhưng khi qua ngày thứ 15 thì bắt đầu tăng trưởng nhanh hơn

từ 4,92 đến 9,03 cm và đến ngày thứ 30 thì tăng trưởng tơ nấm đạt từ 10,90 đến 16,16 cm.

Nguyên nhân có thể là do dinh dưỡng trong mật cưa cao su nấm dễ sử dụng hơn mụn dừa, bã mía và khó sử dụng nhất là trong rơm, đồng thời cấu trúc của mật cưa, mụn dừa khá nhỏ, diện tích tiếp xúc lớn nên trong quá trình ủ nguyên liệu mật cưa cao su, mụn dừa hệ enzyme của nấm, xạ khuẩn,... dễ tiếp xúc và dễ phân hủy cellulose, lignin, hemicellulose trong mật cưa, mụn dừa thành các phân tử đường đơn giản, nhưng thành phần dinh dưỡng trong mụn dừa ít nên vẫn tăng trưởng chậm hơn mật cưa, bã mía và nhanh hơn đối với rơm. Trong khi đó cấu trúc sợi rơm to hơn hẳn so với mật cưa, mụn dừa, bã mía. Nghiệm thức 100% bã mía, phối trộn thành phần bã mía thì nấm sử dụng trực tiếp lượng đường có sẵn trong bã mía khoảng 3-8% (Trần Thị Thanh Hương, 2009) để tăng trưởng và phát triển. Khi phối trộn 70% bã mía và 30% rơm tạo đặc tính xốp trong điều kiện đóng bịch nên làm tăng thể tích oxy bên trong bịch phối. Khi phối trộn từ 50% rơm, 70% rơm và 100% rơm thì tơ nấm phát triển chậm. Có thể kết luận nghiệm thức 100% mật cưa cao su và nghiệm thức cơ chất phối trộn 70% bã mía và 30% rơm tơ nấm sinh trưởng tốt vì thành phần dinh dưỡng và khả năng giữ ẩm của cơ chất.

Thời gian bắt đầu và kết thúc thu hoạch quả thể nấm đợt 1 không tương thích với kết quả tốc độ lan tơ. Cụ thể là nghiệm thức phối trộn 30% bã mía + 30% rơm có thời gian bắt đầu và kết thúc sớm nhất và kết thúc trong vòng 16 ngày. Cùng có tốc độ lan tơ nhanh với nghiệm thức trên nhưng nghiệm thức 100% mật cưa cao su lại có thời gian bắt đầu thu hoạch là ngày thứ 76 và kết thúc thu hoạch là ngày thứ 95, kết thúc chậm so với các nghiệm thức còn lại (kéo dài 19 ngày). Trong khi đó, nghiệm thức 50% bã mía + 50% rơm và 30% bã mía + 70% rơm có thời gian bắt đầu và kết thúc thu hoạch tương tự nhau (kéo dài 15 và 16 ngày). Nghiệm thức 100% mụn dừa bắt đầu thu hoạch sớm (ngày thứ 72) và kết thúc trùng ngày với nghiệm thức 70% bã mía + 30% rơm. Nghiệm thức 100% bã mía thì thời gian bắt đầu thu hoạch lâu hơn và kéo dài khoảng 17 ngày kết thúc thu hoạch đợt 1.

Nghiệm thức 100% mật cưa cao su có tốc độ lan tơ nhanh nhất nhưng bắt đầu và kết thúc thu hoạch đợt 1 chậm có thể là 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.

Bảng 2: Ảnh hưởng của thành phần cơ chất đến sự phát triển và năng suất quả thể

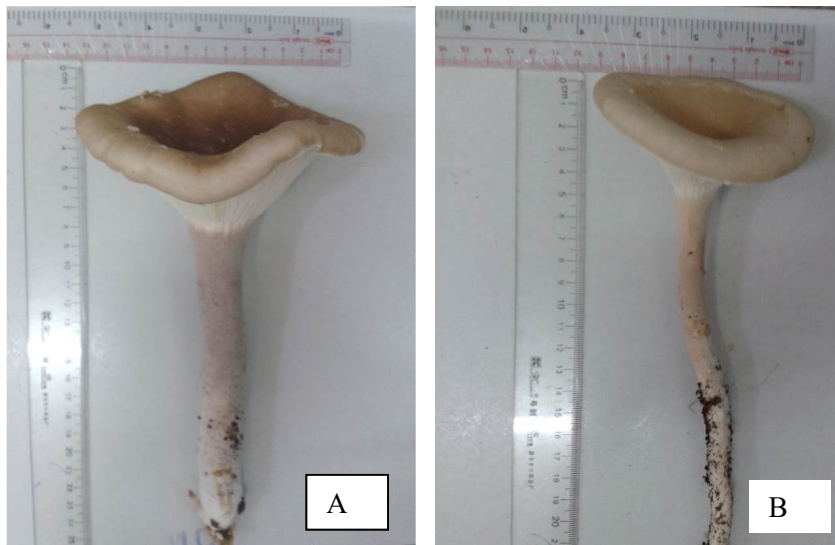
Nghiệm thức	Thời gian thu hoạch (ngày)		Tỉ lệ ngang/dọc của tai nấm	Kích thước trung bình tai nấm (cm)	Năng suất tươi/bịch phối (g)	Hàm lượng polysaccharide (%)	Hiệu suất sinh học (%)
	Bắt đầu	Kết thúc					
100% mật cưa	76	95	1,90 ^b	10,67 ^{ab}	114,72 ^b	34,18	71,68 ^a
100% mụn dừa	72	85	2,25 ^a	7,67 ^d	80,61 ^d	32,83	50,19 ^{bc}
100% bã mía	76	93	1,96 ^{ab}	10,50 ^{ab}	123,16 ^{ab}	36,64	76,98 ^a
70% bã mía+30%rơm	69	85	1,99 ^{ab}	11,90 ^a	127,92 ^a	34,40	79,75 ^a
50% bã mía+50%rơm	73	88	2,02 ^{ab}	9,57 ^{bc}	90,68 ^c	31,79	56,75 ^b
30% bã mía+70%rơm	73	89	2,03 ^{ab}	8,03 ^{cd}	77,57 ^{de}	30,76	48,36 ^{bc}
100% rơm	84	100	2,07 ^{ab}	7,77 ^{cd}	69,56 ^c	30,29	43,27 ^c

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

Tuy kích thước của tai nấm trồng trên các nghiệm thức có thể lớn nhỏ khác nhau, nhưng tai nấm vẫn chủ yếu ở dạng phễu, chân nấm dài do đó tỉ lệ dọc/ngang đều lớn hơn 1,90 và tỉ lệ này là khác biệt không có ý nghĩa thống kê. Khác biệt có ý nghĩa ở mức 5% tìm được qua phân tích thống kê ở nghiệm thức là 100% mật cưa cao su (1,90) so với nghiệm thức 100% mụn dừa (2,25). Vì thế, có thể kết luận rằng tai nấm vẫn giữ được hình dạng đặc

trung của nấm bào chân dài khi trồng trên các cơ chất khác nhau.

Tuy nhiên, qua khảo sát thành phần cơ chất ảnh hưởng đến đường kính trung bình của tai nấm thì nghiệm thức 70% bã mía + 30% rơm, 100% mật cưa cao su và nghiệm thức 100% bã mía có đường kính lớn nhất (11,90 cm, 10,67 cm và 10,50 cm). Nghiệm thức 100% mụn dừa, 100% rơm là hai nghiệm thức có đường kính nhỏ nhất (7,67 cm và 7,77 cm) (Hình 6).



Hình 6: Kích thước đường kính của tai nấm ở nghiệm thức (A) 70% bã mía + 30% rơm và (B) 100% mụn dừa

Kích thước đường kính chiều ngang trung bình của tai nấm dao động trong khoảng 7,69 đến 11,90 cm. Nghiệm thức 4, nghiệm thức 1 và nghiệm thức 3 có đường kính lớn nhất, kế đến là nghiệm thức 5, nghiệm thức 6 và cuối cùng là nghiệm thức 2 và nghiệm thức 7. Nguyên nhân là do dinh dưỡng trong cơ chất khác nhau nên ở nghiệm thức 4, nghiệm thức 1 và nghiệm thức 3 tai nấm to và mũ nấm rộng. Các nghiệm thức còn lại nên tai nấm không to và kích thước đường kính mũ nấm nhỏ hơn. Bên cạnh, có thể do thời điểm thu hoạch không đồng loạt giữa các nghiệm thức nên đường kính tai nấm khác nhau. Như vậy, để đạt được kích thước, năng suất, phẩm chất của quả thể nấm như mong muốn và xu hướng của thị trường mà ta chọn thời điểm thu hoạch quả thể nấm thích hợp.

Năng suất trung bình 2 đợt của nấm ở các nghiệm thức khác biệt có ý nghĩa qua phân tích thống kê. Năng suất cao nhất là ở nghiệm thức 4 (127,92 g/bịch), kế đến nghiệm thức 3, nghiệm thức 1, nghiệm thức 5, nghiệm thức 2, nghiệm thức 6 và thấp nhất là ở nghiệm thức 7 (69,56 g/bịch). Năng suất nấm ở nghiệm thức 3 và 1 khá cao (123,16 g/bịch và 114,72 g/bịch), đặc biệt năng suất ở nghiệm thức 4 và 3 (70% bã mía + 30% rơm và 100% bã mía) (127,92 g/bịch và 123,16 g/bịch) cao hơn cả nghiệm thức đối chứng 100% mật cưa cao su (nghiệm thức 1) (114,72 g/bịch). Kết quả cho thấy năng suất nấm trồng trên cơ chất mụn dừa, phối trộn rơm trên 50% cho năng suất thấp hơn nghiệm thức đối chứng (100% mụn dừa, 50% bã mía + 50% rơm, 30% bã mía + 70% rơm và 100% rơm) (80,61 g/bịch, 90,68 g/bịch, 77,57 g/bịch và 69,56 g/bịch). Nhìn chung, năng suất nấm chân dài trồng trên các

loại cơ chất mật cưa cao su, bã mía, phối trộn bã mía và rơm cho năng suất cao.

Nguyên nhân có thể là sự phụ thuộc vào đặc tính của từng loại và dinh dưỡng khác nhau có trong cơ chất. Cơ chất phù hợp trồng nấm chân dài là bã mía, mật cưa. Thêm vào đó, việc phối trộn thành phần bã mía với 30% rơm sẽ tạo được độ xốp cho cơ chất và cung cấp thành phần vi lượng vừa đủ trong bã mía sẽ tốt hơn là 1 cơ chất riêng lẻ. Vì vậy, mà nấm có thể phát triển tốt và cho năng suất cao như ở nghiệm thức 4. Mặt khác, do sợi rơm to các hệ enzyme khó phân giải tạo dinh dưỡng cho tơ nấm nên tơ nấm hình thành trên rơm mảnh, thưa, không tích lũy nhiều sinh khối nên không thu được năng suất cao. Theo Nguyễn Thị Thu Hà (2003) thì đặc điểm nhiều lignin và tanin là yếu tố hạn chế của mụn dừa. Kết quả thí nghiệm trồng nấm chân dài trên cơ chất mật cưa tương đương với kết quả thí nghiệm trên cơ chất mật cưa (trung bình 290 g/bịch 900g). Như vậy, môi trường nhân giống cấp III tuyển chọn được cơ chất phối trộn 70% bã mía + 30% rơm và 100% bã mía để nuôi trồng nấm vì đạt năng suất cao, bã mía và rơm có sẵn ở nhiều địa phương.

Hiệu suất sinh học (BE) giữa các nghiệm thức có sự khác biệt qua phân tích thống kê ở mức 5%. BE cao nhất trên cơ chất phối trộn 70% bã mía phối trộn 30% rơm, 100% bã mía, 100% mật cưa cao su (79,75%, 76,98% và 71,68%) khác biệt ý nghĩa thống kê với nghiệm thức 5 (56,75%), nghiệm thức 2 (50,19%), nghiệm thức 6 (48,36%) và thấp nhất ở nghiệm thức 7 (43,27%). Cơ chất 100% bã mía, 70% bã mía phối trộn 30% rơm, và 100% mật cưa cao su cho BE tương đương nhau và cao hơn so với mụn dừa và phối trộn 50% rơm, 70% rơm và 100% rơm.

Kết quả này tương tự với nghiên cứu của Mane *et al.* (2007), Arun and Anita (2010), chỉ số BE 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 loại và dinh dưỡng khác nhau có trong từng loại cơ chất.

Phần trăm trọng lượng khô của tai nấm ở các nghiệm thức khác nhau không có sự khác biệt qua thống kê. Hàm lượng chất khô của tai nấm chiếm 11,59%-12,67% ở các thành phần cơ chất khác nhau. Như vậy, hàm lượng nước trong tai nấm ở mức cao khoảng 87,33% đến 88,41%. Kết quả này khác với so với nấm bào ngư xám vì theo Patil *et al.* (2010) thì có sự khác biệt về phần trăm trọng lượng khô khi trồng nấm bào ngư xám (*Pleurotus ostreatus*). Tuy nhiên, tác giả này cũng nhận định rằng sự khác biệt này là do đặc tính của loài là chủ yếu chứ không phải do cơ chất tác động.

Hàm lượng polysaccharide trong tai nấm khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở mức 5% giữa các nghiệm thức. Như vậy, có thể hàm lượng polysaccharide ly trích từ tai nấm không phụ thuộc vào các loại cơ chất khi nuôi trồng, nhưng giữa các nghiệm thức hàm lượng polysaccharide có chênh lệch dao động từ 30,29% đến 36,64%.

4 KẾT LUẬN

Kết quả nghiên cứu đề xuất quy trình hiệu quả để trồng nấm chân dài được xác định như sau: Môi trường nhân giống cấp I là môi trường Mizuno.; môi trường nhân giống cấp II là môi trường gạo lức; và môi trường nhân giống cấp III là cơ chất phối trộn 70% bã mía + 30% rơm và 100% bã mía là phù hợp nhất vì chỉ tiêu năng suất và hiệu suất sinh học cao nhất.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Adenipekun, C.O. and Gbolagade, J.S., 2006. Nutritional requyrament of *Pleurotus florida* (Mont.) Singer, A Nigerian mushroom, Pakistan Journal of Nutrition. 5(6): 597-600.

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

Chang, S.T., 1990. Future trends in cultivation of alternative mushrooms. Mush. J. 215: 422-423.

Garder, M. and Bruns T., 1993. ITS primer with enhanced speificity for basidiomycetes - application to the identification of mycorrhizae and rust. Mol. Ecol. 2: 113 - 118.

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.

Ngô Xuân Nghiễn và Nguyễn Thị Bích Thùy, 2016. Nghiên cứu nhân giống nấm chân dài (*Clitocybe maxima* (Gartn. Ex Mey.:Fr.) Quesl. Dang dịch thể. Tạp chí KH Nông nghiệp Việt Nam. 14(11): 1817-1824.

Nguyễn Lâm Dũng, 2007. Công nghệ trồng nấm - Tập 2. Nxb Nông nghiệp Hà Nội, tr. 215 - 220.

Nguyễn Thị Bích Thùy, Ngô Xuân Nghiễn, Cồ Thị Thùy Vân và Trịnh Tam Kiệt, 2009. Nghiên cứu sự mọc và hình thành quả thể nấm cốc lớn *Clitocybe maxima* (Gartn. Ex mey.: fr) Quel, 5: 43 - 45.

Nguyễn Thị Thu Hà, 2003. Nghiên cứu tận dụng mặt dứa để trồng nấm bào ngư (*Pleurotus sajor-caju*), Luận văn tốt nghiệp Cử nhân Khoa học ngành Vi sinh-Sinh học Phân tử, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, thành phố Hồ Chí Minh, tr. 34-38.

Patil, S.S. Ahmed, S.A., Telang, S.M., and Baig, M.M.V., 2010. The nutritional value of *Pleurotus ostreatus* cultivated on different lignocellulose Agro-waste, Innovative Romanian Food Biotechnology, 7: 66-76.

Phan Quốc Nam, 2016. Nghiên cứu quy trình trồng thử nghiệm nấm chân dài trên cơ chất bã mía. Tạp chí khoa học Trường đại học Trà Vinh. 22: 114-119.

Trần Thị Thanh Hương, 2009. Khảo sát chỉ số C/N ở nguyên liệu trồng nấm phổ biến hiện nay đối với nấm bào ngư *Pleurotus*, Luận văn tốt nghiệp Đại học, Trường Đại học Tôn Đức Thắng, 61 trang.

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. 315-322.