

NGHIÊN CỨU SẢN XUẤT MEO NẤM HOÀNG ĐẾ (*Calocybe indica*)

PHẠM XUÂN PHONG*

Tóm tắt

Nghiên cứu được tiến hành nhằm chuẩn hóa quá trình sản xuất meo nấm *Calocybe indica*. Thí nghiệm được bố trí theo thể thức hoàn toàn ngẫu nhiên, bốn nghiệm thức là các môi trường nuôi cấy (PDA, YPDA, SDA và BAP) và các tổ hợp cám kết hợp CaCO_3 (0,5% cám bắp + 0,5% CaCO_3 , 0,5% cám bắp + 1% CaCO_3 , 1% cám bắp + 0,5% CaCO_3 and 1% cám bắp + 1% CaCO_3). Kết quả thí nghiệm chỉ ra rằng tơ nấm phát triển tốt nhất trên môi trường YPDA (5 g yeast extract + 300 g potato + 20 g glucose + 15 g agar). Trên môi trường này hệ sợi nấm phát triển nhanh (0,38 cm/ngày). Trên cơ chất lúa bỏ sung 0,5% cám bắp và 0,5% CaCO_3 thì phù hợp cho hệ sợi nấm phát triển. Sợi nấm ăn giáp bịt meo vào ngày thứ 27 sau khi cấy (0,33 cm/ngày).

Từ khóa: *Calocybe indica*, sợi nấm, meo nấm

Abstract

The goal of this study is to standardize the production process to produce the spawn of Calocybe indica. The experiment was conducted in completely randomized design with four treatments of different medium (PDA, YPDA, SDA and BAP) and different combinations (0,5% corn bran + 0,5% CaCO₃, 0,5% corn bran + 1% CaCO₃, 1% corn bran + 0,5% CaCO₃ and 1% corn bran + 1% CaCO₃). The experiment results indicated that the mycelium grew best on YPDA (5 g yeast extract + 300 g potato + 20 g glucose + 15 g agar). On this medium, the mycelium grew fast (0,38 cm/day). Rice supplemented with 0,5% corn starch and 0,5% CaCO₃ was suitable for the mycelium growth. The mycelium development was completed on the 27th day of the incubation (0,33 cm/day).

Key words: *Calocybe indica, mycelium growth, spawn production*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Người dân Đồng Bằng Sông Cửu Long (ĐBSCL) đã rất quen thuộc với nấm rơm, nấm bào ngư, nấm mèo... nhưng nấm hoàng

* Khoa Nông nghiệp–Thủy sản, Trường đại học Cửu Long

đế, một loại nấm có nguồn gốc từ Ấn Độ vẫn còn rất mới mẻ. Nấm có nhiều đạm, khoáng chất, chất xơ, carbohydrate và axit amin thiết yếu (Alam *et al*, 2008). Ngoài ra, nấm hoàng đế còn là loại nấm chịu nhiệt, có thể phát triển tốt ở nhiệt độ 35°C (Doshi *et al*, 1997). Vì thế, việc nhân giống meo nấm hoàng đế, đưa loài nấm này ra sản xuất nhằm đa dạng hóa nguồn



nấm ăn khu vực ĐBSCL là vấn đề cấp thiết. Tuy nhiên, các nghiên cứu về nhân giống meo nấm hoàng đế có kết quả chưa đồng nhất. Theo Urmila et al (2012) thì môi trường thích hợp để tơ nấm phát triển là PDA nhưng theo Uddin et al (2012) thì môi trường tối ưu là YPDA.

Trước thực trạng trên đề tài “Nghiên cứu sản xuất meo nấm hoàng đế (*Calocybe indica*) được thực hiện.

1. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Khảo sát ảnh hưởng của 4 loại môi trường nuôi cấy lên sự phát triển của tơ nấm hoàng đế

Thí nghiệm được bố trí theo thể thức hoàn toàn ngẫu nhiên, 1 nhân tố (môi trường nuôi cấy), 4 nghiệm thức (4 loại môi trường), mỗi nghiệm thức có 10 lần lặp lại, mỗi lần lặp lại là 1 đĩa petri. Tổng số đơn vị thí nghiệm là $4 \times 10 = 40$ đĩa.

khoảng 0,2 x 0,2 cm, dùng kẹp gấp lấy từng mẫu nấm đặt ở vị trí tâm của đĩa đã được đánh dấu (4 mẫu nấm cho 4 đĩa môi trường khác nhau là PDA, BAP, SDA và YPDA). Lưu ý, bốn mẫu nấm phải được lấy trên cùng một tai nấm và cùng một vị trí. Ủ ở nhiệt độ phòng đến khi tơ ăn giáp mặt đĩa thì tiến hành cấy chuyển bố trí thí nghiệm.

Cách thức cấy chuyển, đĩa mẫu của loại môi trường nào sẽ cấy chuyển qua đĩa môi trường tương ứng. Tiến hành cấy chuyển, dùng ống nhôm đã khử trùng có đầu tròn với đường kính 0,3 cm chấn vào phần thạch có tơ nấm (sao cho các điểm chấn ở cạnh nhau và tạo thành một vòng tròn có bán kính 2 – 2,5 cm, tâm tính từ mẫu cấy) rồi dùng que cấy đưa mẫu cấy đặt vào tâm đĩa petri. Cấy chuyển xong đem đi ủ ở nhiệt độ phòng, và theo dõi tốc độ di chuyển của sợi tơ nấm lan trên đĩa để lấy chỉ tiêu. Lưu ý, phần mẫu cấy lấy ra từ đĩa môi

Nghiệm thức 1: (PDA) 20 g agar + 20 g glucose + 200 g khoai tây

Nghiệm thức 2: (BAP) 20 g agar + 20 g glucose + 20 g bột ngô + 1 g peptone + 1 g KH_2PO_4 + 0,5 g MgSO_4

Nghiệm thức 3: (SDA) 20 g agar + 40 g glucose + 20 g peptone

Nghiệm thức 4: (YPDA) 15 g agar + 20 g glucose + 300 g khoai tây + 5 g Yeast extract

Nước cất được bổ sung cho đủ 1000 ml vào mỗi công thức, các môi trường được hiệu chỉnh pH = 8

Chuẩn bị mẫu phân lập trên 4 loại môi trường: Dùng dao cắt một đường ngang phía dưới chân nấm, tách tai nấm ra làm hai, chỉ sử dụng phần trong của tai nấm (vùng chân nấm phía trên gần mũ nấm). Khử trùng dao cấy trên đèn cồn, để nguội dao rồi dùng dao cắt thành những mẫu nấm nhỏ hình vuông có kích thước

trường có sợi tơ nấm phải nằm trên vòng tròn, để đảm bảo các mẫu cấy đồng nhất với nhau.

Đo đường kính khuẩn lạc nấm sau khi cấy 3, 5, 7 và 9 ngày (cm)

2.2. Khảo sát ảnh hưởng của tỷ lệ cám bắp và CaCO_3 lên sự phát triển của tơ nấm hoàng đế

Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên, 1 nhân tố, 4 nghiệm thức, 5 lần lặp lại, mỗi lần lặp lại là một túi lúa. Tổng số đơn vị thí nghiệm là $4 \times 5 = 20$ túi.

Nghiệm thức 1: 0,5% cám bắp + 0,5% CaCO_3

Nghiệm thức 2: 0,5% cám bắp + 1% CaCO_3

Nghiệm thức 3: 1% cám bắp + 0,5% CaCO_3

Nghiệm thức 4: 1% cám bắp + 1% CaCO_3

Chuẩn bị các đĩa meo cấy 1 đồng nhất.

Chuẩn bị môi trường nhân giống cấp hai.

Chuẩn bị nguyên liệu: Cân thóc đủ cho

bố trí 20 túi (200 g/ túi), rửa nhiều lần để loại bỏ bụi và hạt lép. Ngâm thóc trong nước sạch 12 giờ, rửa sạch, loại bỏ chua và hạt lép còn sót lại. Sau đó cho vào nồi nấu cho đến khi hạt nứt nanh vỏ là vừa, vớt ra để ráo nước. Cân hàm lượng CaCO_3 và cám bắp theo tỷ lệ của nghiệm thức thí nghiệm rồi bổ sung cám bắp và CaCO_3 theo tỷ lệ của các nghiệm thức và trộn đều, tiếp tục cho hỗn hợp vào túi PE chịu nhiệt 200g/ túi, buột cổ nút, gắn nút bông, đậy nắp lại và đánh dấu rõ ràng từng nghiệm thức sau đó đem hấp khử trùng 121°C trong 30 phút.

Tiến hành cấy chuyên: Lau cồn 5 đĩa meo cấp 1 của môi trường tốt nhất ở thí nghiệm rồi để vào tủ cấy, vệ sinh tay, vệ sinh dụng cụ bằng đèn cồn. Hơ và mở nắp đĩa, dùng ống nhôm ấn xuống để lấy được các mẫu cấy đều nhau. Lấy túi lúa gỡ nắp, hơ nút bông trên ngọn lửa đèn cồn, dùng kẹp nhẹ nhàng lấy mẫu đặt sang môi trường hạt, đậy nút bông, đậy nắp lại. Làm

tương tự thao tác trên với những túi lúa khác nhau. Thao tác nhanh và khéo nhằm hạn chế sự nhiễm. Sau mỗi lần sử dụng ống nhôm và kẹp phải đốt qua đèn cồn. Tất cả các túi lúa sau khi cấy xong được đem nuôi ủ ở nhiệt độ phòng và theo dõi lấy chỉ tiêu.

Đo chiều dài lan tơ ở các ngày 7, 12, 17, 22 và 27 ngày sau khi cấy (cm).

2.4. Xử lý số liệu

Số liệu được xử lý bằng Excel và SPSS.

2. KẾT QUẢ THẢO LUẬN

3.1. Ảnh hưởng môi trường nuôi cấy lên sự phát triển của tơ nấm hoàng đế

Tốc độ lan tơ trên các môi trường khác nhau thì khác nhau. Chỉ tiêu theo dõi ở thí nghiệm này là bán kính lan tơ trên các môi trường ở 3, 5, 7 và 9 ngày sau khi cấy.

Bảng 1: Sinh trưởng tơ nấm hoàng đế trên bốn loại môi trường

Nghiệm thức	Môi trường	Bán kính lan tơ (cm)			
		ngày thứ 3 sau cấy	ngày thứ 5 sau cấy	ngày thứ 7 sau cấy	ngày thứ 9 sau cấy
1	PDA	0,68b	1,42b	1,85b	2,67b
2	BAP	0,58c	1,21c	1,65c	2,48c
3	SDA	0,65bc	1,34bc	1,73bc	2,58bc
4	YPDA	1,09a	1,78a	2,34a	3,44a
F		*	*	*	*
CV%		12,72	10,35	7,66	5,79

Chú thích: Trong cùng một cột, các giá trị trung bình có ký tự theo sau giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê, các giá trị trung bình có các ký tự theo sau khác nhau thì khác biệt có ý nghĩa thống kê. (*) là sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức 5%.

Kết quả thí nghiệm cho thấy YPDA là môi trường có tốc độ lan tơ nấm nhanh nhất trong thí nghiệm. Kết quả này phù hợp với kết quả nghiên cứu của Uddin và cộng sự, (2012).

Tuy nhiên bán kính lan tơ trên môi trường YPDA trong thí nghiệm này (3,44 cm/ 9 ngày) thấp hơn báo cáo của Uddin và cộng sự (4,67 cm/ 9 ngày). Kết quả ở 2 nghiên cứu khác nhau

có thể do sử dụng 2 dòng nấm khác nhau, hoặc do điều kiện nuôi ủ không giống nhau.

Trong nghiên cứu này, các nghiệm thức được nuôi ủ trong cùng 1 điều kiện, các mẫu cấy đồng nhất và được lấy từ 1 vị trí trên 1 tai nấm. Vì thế sự khác nhau ở bán kính lan tơ giữa các nghiệm thức là do thành phần và hàm lượng các chất trong các môi trường khác nhau.

Môi trường BAP tơ nấm sinh trưởng chậm nhất có thể do hàm lượng protein trong môi trường này quá thấp, chỉ khoảng 1,66 g protein và 1 g pepton trong 1 lít môi trường. Tương tự với môi trường PDA chỉ chứa khoảng 4 g protein trong 1 lít môi trường.

Ngược lại với môi trường SDA thì hàm lượng protein quá cao, 20 g peptone/lít. Có thể hàm lượng protein quá cao cũng ức chế sự sinh trưởng của tơ nấm.

Môi trường YPDA có khoảng 6 g protein

trưởng của tơ nấm hoàng đế, hay có thể giải thích rằng Yeast extract là nguồn nito phù hợp cho sự sinh trưởng của tơ nấm hoàng đế. Ngoài ra điểm khác biệt đáng chú ý nữa của YPDA với 3 môi trường còn lại là hàm lượng agar thấp hơn. Agar không đóng vai trò cung cấp dinh dưỡng, nhưng ảnh hưởng đến tính chất vật lý của môi trường (độ cứng, thể năng nước).

Màu sắc tơ nấm ở các môi trường có sự khác biệt, trên môi trường YPDA tơ nấm có màu trắng đục lớp tơ mọc dày, sinh khối tơ nhiều. Ở các môi trường còn lại màu sắc tơ nhạt hơn, lớp tơ mỏng và mọc sát mặt thạch, sinh khối tơ ít hơn.

3.2. Ảnh hưởng của tỷ lệ cám bắp và CaCO_3 lên sự phát triển của tơ nấm hoàng đế

Meo cấp hai nấm ăn thường được cấy trên các loại hạt ngũ cốc. Trong thí nghiệm

và 5 g Yeast extract trong 1 lít môi trường. Có này cơ chất nền là lúa hạt tròn, bổ sung cám thể hàm lượng nito này phù hợp cho sự sinh bấp và CaCO_3

Bảng 2: Chiều dài lan tơ nấm hoàng đế trên cơ chất lúa bổ sung cám bấp và CaCO_3

Nghiệm thức	Cám bấp (%)	CaCO_3 (%)	Chiều dài sợi tơ (cm)				
			7 NSC	12 NSC	17 NSC	22 NSC	27 NSC
1	0,5	0,5	2,41	3,35	4,80	7,10	8,86
2	0,5	1	2,27	3,83	5,09	6,57	8,66
3	1	0,5	2,58	3,58	4,84	6,64	8,79
4	1	1	2,22	3,31	4,88	7,00	8,82
Mức ý nghĩa			ns	ns	ns	ns	ns
CV%			13,34	11,01	7,18	5,57	1,61

ns: khác biệt không có ý nghĩa thống kê.

Kết quả thống kê cho thấy chiều dài lan tơ trung bình ở các nghiệm thức khác biệt không ý nghĩa thống kê tại 5 thời điểm khảo sát. Trong thí nghiệm này tỉ lệ cám bắp và CaCO_3 tăng hoặc giảm một nửa ở các nghiệm thức, có thể mức tăng giảm này là chưa đủ lớn để tạo nên sự khác biệt thống kê giữa các nghiệm thức.

Theo kinh nghiệm có được khi thực hiện thí nghiệm này là nếu tổng tỉ lệ cám bắp và CaCO_3 trên 1,5% thì sẽ rất khó để có thể phối trộn đồng đều các nguyên liệu với nhau. Nếu phối trộn không đồng đều thì tơ nấm sẽ phát triển không đồng nhất. Hơn nữa việc phối trộn nhiều cám bắp làm cho cơ chất sau khi hấp dễ bị nhão và chảy nước, giảm độ thông thoáng cho tơ nấm phát triển.

Vì thế, để giảm chi phí sản xuất và giảm tỉ lệ hao hụt do tạp nhiễm thì cơ chất lúa bổ sung 0,5% cám bắp và 0,5% CaCO_3 là phù hợp để nhân giống cấp 2 nấm hoàng đế.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Alam. N, Amin. R, Khan. A, Ara. I, Shim. M. J, Lee. M. W and Lee. T. S. 2008. Nutritional analysis of cultivated mushrooms in Bangladesh *Pleurotus ostreatus*, *Pleurotus sajor-caju*, *Pleurotus florida* and *Calocybe indica*. *Mycobiology*. 36, 228-232;
- [2] Doshi. A, Sharma. S.S and Trivedi. A. 1997. Cultivation of summer mushroom *Calocybe indica*. ICAR;
- [3] Nguyễn Lâm Dũng, *Công nghệ nuôi trồng nấm, tập 1*, Nhà Xuất bản Nông nghiệp Hà Nội, năm 2009;
- [4] Uddin. M.J, Nasiruddin. K.M, Haque. M.E, Biswas. A.K and Islam. M.S. 2012. Influence of different media variety and growth regulator on mycelial colony

3. KẾT LUẬN

Trong nhân giống cấp 1 nấm hoàng đế, môi trường YPDA (5 g yeast extract + 300 g potato + 20 g glucose + 15 g agar) hiệu chỉnh pH = 8 giúp tơ nấm mọc nhanh hơn, sợi tơ phân nhánh nhiều và mọc thẳng theo chiều phân nhánh.

Tỷ lệ dinh dưỡng phối trộn thích hợp trong môi trường nhân giống cấp 2 của nấm hoàng đế là lúa bổ sung 0,5% bột ngô và 0,5% CaCO₃.

proliferation of mushroom. J. Environ. Sci. & Natural resources, 5(1): 223 – 227;

- [5] Urmila Gupta Phutela and Phutela. RP. 2012. Effect of physical and chemical factors on growth of *Calocybe indica* (P & C). International Journal of Advanced Life Sciences (IJALS).

Ngày nhận bài: 20/01/2020

Ngày gửi phản biện: 07/10/2020

Ngày duyệt đăng: 06/01/2021