

ẢNH HƯỞNG MÔI TRƯỜNG NUÔI CÂY ĐẾN SINH TRƯỞNG HỆ SỢI CỦA CHỦNG NẤM *Phellinus* PHE67

Nguyễn Văn Giang¹, Tạ Thị Huệ¹, Trần Đông Anh¹,
Nguyễn Duy Trinh², Lê Thanh Uyên², Trần Thu Hà²

TÓM TẮT

Chi nấm *Phellinus* spp. là một chi nấm có giá trị dược liệu cao được sử dụng nhiều trong các nghiên cứu y khoa. Ở Việt Nam, nghiên cứu về nấm *Phellinus* mới chỉ dừng lại ở phân lập, tuyển chọn. Các nghiên cứu cơ bản về tối ưu hóa các điều kiện nuôi cấy còn rất sơ khai. Nghiên cứu này được tiến hành nhằm đánh giá ảnh hưởng của yếu tố dinh dưỡng đến sinh trưởng hệ sợi của chủng nấm *Phellinus* PHE67 được thu thập tại Hà Nội. Môi trường nuôi cấy thuần khiết thích hợp cho hệ sợi nấm PHE67 là PGA (200 g/l khoai tây, 20 g/l glucose, 15 g/l agar). Trong số các nguồn dinh dưỡng cacbon nghiên cứu, fructose là phù hợp nhất cho sự sinh trưởng hệ sợi nấm PHE67, tốc độ phát triển hệ sợi đạt 2,96 mm/ngày. Sinh trưởng của *Phellinus* PHE67 kém nhất ở nguồn dinh dưỡng lactose. Dinh dưỡng NH₄NO₃ cho hiệu quả kích thích tăng trưởng hệ sợi nấm PHE67 cao nhất với tốc độ 3,52 mm/ngày, hệ sợi nấm dày. MgSO₄ cũng được xác định là nguồn dinh dưỡng khoáng tối ưu nhất cho chủng PHE67.

Từ khóa: Nguồn cacbon, nguồn nitơ, *Phellinus* spp.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Chi nấm *Phellinus* thuộc họ Hymenochaetaceae được biết đến với khoảng 220 loài khác nhau [10, 19]. Lee và cs. (1996) cho biết nhiều loài nấm thuộc chi *Phellinus* có tác dụng trong y học [8]. Trong tổng số 70 loài nấm thuộc chi *Phellinus* được mô tả ở Trung Quốc, có 26 loài có đặc tính chữa bệnh [10]. Gần 20 chức năng y học của nấm *Phellinus* cũng đã được mô tả, bao gồm giảm sốt nhiễm trùng, kháng khuẩn, chống viêm, chống oxy hóa, kháng u, tăng cường hệ miễn dịch....[2, 15]. Trong số các loài thuộc chi *Phellinus* thì *P. linteus*, *P. baumii* và *P. gilvus* được xem là những loài phổ biến nhất do có hoạt tính kháng u cao [3]. Ba loài này hiện nay đã và đang được nuôi trồng thành công ở Hàn Quốc và có khả năng phát triển thành ngành công nghiệp thực phẩm chức năng trong tương lai gần [19].

Việt Nam là nước có sự đa dạng về tài nguyên nấm lớn nói chung và chi nấm *Phellinus* nói riêng [17]. Ngô Anh (2006) đã xác định được 20 loài nấm thuộc chi *Phellinus* tại Vườn Quốc gia Bạch Mã, tỉnh Thừa Thiên - Huế và 01 loài nấm thuộc chi *Phellinus* tại khu hệ nấm lớn thuộc huyện Xuyên Mộc, tỉnh Bà Rịa - Vũng Tàu [11, 12]. Phạm Thị Hà Giang và

Alexandrova (2012) ghi nhận được loài *Phellinus gilvus* (Fr.) Pat. tại Vườn Quốc gia Chư Yang Sin, Đắk Lắk có giá trị dược liệu cao [14]. PHE67 là chủng nấm *Phellinus* mới được thu thập tại Công viên Bách Thảo, Hà Nội. Vì vậy, nghiên cứu xác định các điều kiện nuôi cấy thích hợp cho chủng nấm PHE67 là điều rất cần thiết. Kết quả của nghiên cứu sẽ góp phần hoàn thiện quy trình nhân giống, nuôi trồng nấm *Phellinus* ở Việt Nam. Nghiên cứu này tập trung lựa chọn nguồn dinh dưỡng phù hợp cho sự sinh trưởng, phát triển của chủng nấm *Phellinus* PHE67.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu

Chủng nấm *Phellinus* PHE67 được thu thập từ Công viên Bách Thảo, Hà Nội và đang được lưu giữ tại Trung tâm Đào tạo, Nghiên cứu và Phát triển nấm ăn và nấm dược liệu, Khoa Công nghệ sinh học, Học viện Nông nghiệp Việt Nam ở nhiệt độ 4°C trên môi trường PDA.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Lựa chọn môi trường nuôi cấy

Ba loại môi trường dinh dưỡng đã được nhóm nghiên cứu chuẩn bị để tìm ra môi trường phù hợp cho sự sinh trưởng hệ sợi của chủng giống PHE67 gồm PGA (Potato glucose agar) được pha chế từ dịch chiết 200 g khoai tây, 20 g glucose, 15 g agar và 1.000 ml nước cất); SPGA (Sweet potato glucose agar) được chuẩn bị từ dịch chiết 200 g khoai lang, 20 g

¹ Học viện Nông nghiệp Việt Nam

² Trung tâm Nghiên cứu và Phát triển Nấm. Viện Di truyền Nông nghiệp

Email: nvgiang@vnua.edu.vn

glucose, 15 g agar và 1.000 ml nước cất; YGA (Yam glucose agar) được pha bằng dịch chiết từ 200 g khoai sọ với 20 g glucose, 15 g agar và 1.000 ml nước cất. Môi trường được hấp khử trùng ở 121°C trong thời gian 20 phút và được chia vào các đĩa petri vô trùng (Ø = 9,0 cm). Mỗi đĩa petri chứa 20 ml môi trường và được cấy 01 miếng giống gốc PHE67 có kích thước 0,5 x 0,5 cm tại vị trí trung tâm đĩa.

Ảnh hưởng của nguồn dinh dưỡng cacbon

Chủng nấm *Phellinus* PHE67 được nhân nuôi trên các đĩa petri chứa môi trường PA (dịch chiết từ 200 g/l khoai tây, 15 g/l agar) và có bổ sung các nguồn cacbon khác nhau (glucose, D-fructose, maltose, sucrose, xylose, α-lactose, dextrin) với nồng độ 20 g/l.

Ảnh hưởng của nguồn dinh dưỡng nitơ

Chủng nấm *Phellinus* PHE67 được nuôi trên môi trường PFA (dịch chiết từ 200 g/l khoai tây, 20 g/l fructose, 15 g/l agar) được bổ sung thêm 7 nguồn nitơ khác nhau là amoni clorua (NH₄Cl), amoni sunfat ((NH₄)₂SO₄), amoni nitrat (NH₄NO₃), casein, pepton, natri nitrat (NaNO₃), kali nitrat (KNO₃). Mỗi nguồn nitơ được sử dụng với hàm lượng 2 g/l.

Ảnh hưởng của dinh dưỡng khoáng

Chủng nấm *Phellinus* PHE67 được cấy trên môi trường khoai tây, fructose, amoni nitrat (NH₄NO₃) và có bổ sung một trong 4 loại muối khoáng sau: kali sunfat (K₂SO₄), kẽm sunfat (ZnSO₄), magie sunfat (MgSO₄), mangan sunfat (MnSO₄) với hàm lượng 0,5 g/l.

Điều kiện nuôi sợi nấm

Chủng nấm *Phellinus* PHE67 trong các thí nghiệm trên được nuôi cấy trong điều kiện nhiệt độ 30°C, độ ẩm không khí 65-70%, không cần ánh sáng trong thời gian 12 ngày [19].

Các chỉ tiêu theo dõi

Theo dõi khả năng sinh trưởng của hệ sợi chủng nấm *Phellinus* PHE67 thông qua các thông số sau: Đường kính hệ sợi (mm): Là đường kính phần tán nấm sinh trưởng trên bề mặt môi trường thạch sau 12 ngày nuôi. Thời gian hệ sợi sinh trưởng kín đĩa (ngày): thời gian tính từ khi cấy sợi nấm *Phellinus* PHE67 vào đĩa môi trường tới khi hệ sợi của nấm này ăn lan kín bề mặt đĩa. Mật độ hệ sợi: Quan sát hệ sợi nấm và đánh giá mật độ hệ sợi theo phương pháp của Jo và cs. (2006): C: compact/sợi dày, bám chặt; SC:

somewhat/sợi phân bố không đều; T: thin/sợi nấm mỏng [19]. Tốc độ sinh trưởng hệ sợi của chủng nấm PHE67 được đánh giá theo phương pháp của Nguyễn Thị Bích Thủy và cs. (2016), đơn vị tính mm/ngày [13].

Phương pháp xử lý số liệu

Kết quả nghiên cứu được xử lý thống kê bằng phần mềm Excel 2010 và phân tích Anova bằng phần mềm IRRISTAT 5.0 tại mức ý nghĩa $P < 0,05$ cho thí nghiệm một nhân tố. Các giá trị trung bình mang chữ cái khác nhau trong cùng một cột hay một hàng là khác nhau có ý nghĩa thống kê.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Ảnh hưởng của môi trường nuôi cấy

Dinh dưỡng là nhân tố hàng đầu ảnh hưởng đến sinh trưởng, phát triển của nấm. Khi được nuôi trên môi trường dinh dưỡng thích hợp, sợi nấm phát triển nhanh, bám chắc vào môi trường nuôi cấy sẽ tăng cường khả năng cạnh tranh dinh dưỡng với các loài vi sinh vật khác. Sử dụng các môi trường SPGA, PGA và YGA để nuôi cấy chủng nấm *Phellinus* PHE67 với mục đích tìm được môi trường nhân giống cấp I thích hợp với chủng nấm này. Kết quả thí nghiệm được trình bày tại bảng 1.

Bảng 1. Hệ sợi nấm PHE67 sinh trưởng trên các môi trường khác nhau

Môi trường	ĐKHS (mm)	TĐMS (mm/ngày)	TKĐ (ngày)	MĐS
SPGA	40,04 ^a	2,46 ^b	17,56 ^{ab}	SC
PGA	40,67 ^a	2,70 ^a	16,00 ^b	C
YGA	38,49 ^a	2,22 ^b	19,44 ^a	T
LSD _{0,05}	6,8	0,33	2,42	
CV%	7,6	6,1	5,9	

Ghi chú: ĐKHS: Đường kính hệ sợi (mm). TĐMS: Tốc độ sinh trưởng hệ sợi (mm/ngày). TKĐ: Thời gian hệ sợi sinh trưởng kín đĩa (ngày). MĐS: Mật độ hệ sợi. C: - compact/sợi dày, bám chặt. SC- somewhat compact/sợi phân bố không đều. T - thin/sợi nấm mỏng. Các chữ cái trong cùng một cột ứng với mỗi giá trị sai khác giữa các giá trị trung bình tại mức ý nghĩa $P < 0,05$.

Đường kính hệ sợi nấm PHE67 trên môi trường SPGA, PGA, YGA sau 12 ngày nuôi lần lượt là 40,04; 40,67 và 38,49 mm. Tốc độ mọc sợi của chủng PHE67 có sự khác nhau trên các môi trường dinh dưỡng nghiên cứu. Sợi nấm PHE67 mọc nhanh nhất trên

môi trường PGA (2,7 mm/ngày), chậm dần trên môi trường SPGA (2,46 mm/ngày) và chậm nhất trên môi trường YGA (2,22 mm/ngày). Tương tự, trên môi trường PGA, thời gian hệ sợi chủng giống PHE67 nấm mọc kín đĩa môi trường là ngắn nhất (16,0 ngày). Thời gian hệ sợi nấm PHE67 mọc kín đĩa thạch môi trường SPGA và YGA lần lượt là 17,56 ngày và 19,44 ngày. Mật độ hệ sợi của chủng PHE67 cũng được đánh giá là dày nhất trên môi trường PGA. Môi trường SPGA và YGA hệ sợi PHE67 mỏng và phân bố không đều (Hình 2). Tốc độ sinh trưởng và thời gian sinh trưởng hệ sợi có sự khác biệt thống kê ở mức ý nghĩa $P < 0,05$.

Dinh dưỡng là một trong các yếu tố quan trọng ảnh hưởng đến sự phát triển hệ sợi nấm. Ảnh hưởng của thành phần dinh dưỡng đối với nấm *Phellinus* đã được mô tả rộng rãi [16]. Hur và cs. (2008) nhân nuôi 7 chủng nấm *Phellinus* trên 9 công thức môi trường dinh dưỡng khác nhau cũng nhận thấy rằng môi trường dịch chiết khoai tây được bổ sung đường glucose là thích hợp cho các chủng nấm *Phellinus* sinh trưởng, phát triển hệ sợi [5]. Ngoài ra, Gorka và cs. (2017) khi so sánh sự phát triển hệ sợi của một số loài *Phellinus* (*P. igniarius*, *P. pini*, *P. pomaceus*, *P. robustus* và *P. torulosus*) trên 4 loại môi trường là PDA (potato dextrose agar), MEA (chiết xuất mạch nha, agar), WA (lúa mì, agar) và SWA (mùn cưa, lúa mì, agar) đã kết luận hệ sợi của các chủng nấm *Phellinus* sinh trưởng tốt nhất trên môi trường PDA [9].

3.2. Ảnh hưởng của nguồn dinh dưỡng cacbon

Nguồn cacbon đóng vai trò quan trọng trong quá trình sinh trưởng và sản xuất các hợp chất có hoạt tính sinh học của nấm đảm (Basidiomycetes) [6]. Dinh dưỡng cacbon ảnh hưởng đến sinh trưởng hệ sợi và mật độ hệ sợi của nấm *Phellinus* spp [19]. Kết quả thí nghiệm này cho thấy trên môi trường được bổ sung glucose, fructose, sucrose, maltose hệ sợi nấm *Phellinus* PHE67 có đường kính lớn nhất, đạt từ 42,84 đến 44,96 mm. Đường kính hệ sợi của nấm PHE67 thấp nhất khi được nhân nuôi trên môi trường chứa đường dextrin (37,79 mm) (Bảng 2). Tốc độ mọc sợi của nấm *Phellinus* PHE67 cũng được ghi nhận từ 2,08 đến 2,96 mm/ngày. Sợi nấm mọc nhanh nhất trên môi trường được bổ sung fructose và maltose (2,96 và 2,9 mm/ngày), chậm nhất trên môi trường có sử dụng lactose (2,08 mm/ngày). Kết quả này sai khác có ý nghĩa thống kê tại $P < 0,05$.

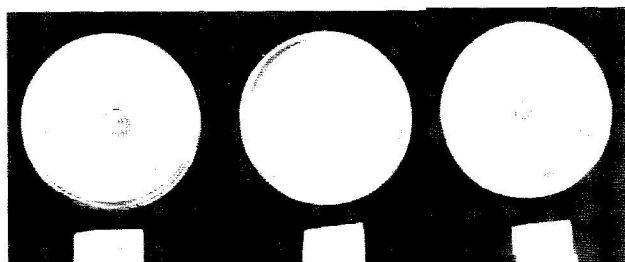
Bảng 2. Sinh trưởng hệ sợi của nấm PHE67 trên các nguồn cacbon khác nhau

Nguồn C (20 g/l)	ĐKHS (mm)	TĐMS (mm/ngày)	TKĐ (ngày)	MĐS
Glucose	42,84 ^a	2,62 ^{bc}	16,44 ^{bc}	C
Fructose	44,96 ^a	2,96 ^a	14,56 ^f	C
Sucrose	43,37 ^a	2,31 ^{cd}	18,67 ^b	T
Maltose	43,57 ^a	2,90 ^a	14,89 ^{ef}	SC
Dextrin	37,79 ^b	2,45 ^c	17,78 ^{bc}	SC
Xylose	38,89 ^b	2,67 ^b	16,11 ^{cd}	T
Lactose	44,5 ^a	2,08 ^d	20,67 ^a	T
<i>LSD</i> _{0,05}	2,61	0,18	1,37	
<i>CV</i> %	3,5	3,9	4,5	

Ghi chú: ĐKHS: Đường kính hệ sợi (mm). TĐMS: Tốc độ sinh trưởng hệ sợi (mm/ngày). TKĐ: Thời gian hệ sợi sinh trưởng kín đĩa (ngày). MĐS: Mật độ hệ sợi. C: - compact/sợi dày, bám chặt). SC: somewhat compact/sợi phân bố không đều). T - thin/sợi nấm mỏng. Các chữ cái trong cùng một cột ứng với mỗi giá trị sai khác giữa các giá trị trung bình tại mức ý nghĩa $P < 0,05$.

Thời gian hệ sợi mọc kín bề mặt đĩa môi trường được bổ sung fructose và maltose là ngắn nhất, lần lượt là 14,56 và 14,89 ngày do có tốc độ mọc sợi nhanh. Trên môi trường chứa lactose, thời gian hệ sợi sinh trưởng kín đĩa dài nhất (20,67 ngày). Mật độ hệ sợi nấm *Phellinus* PHE67 khi được nuôi trên môi trường sử dụng fructose, glucose dày, hệ sợi bám

Hình 1. Tốc độ sinh trưởng hệ sợi nấm *Phellinus* PHE67 trên các môi trường nuôi cấy

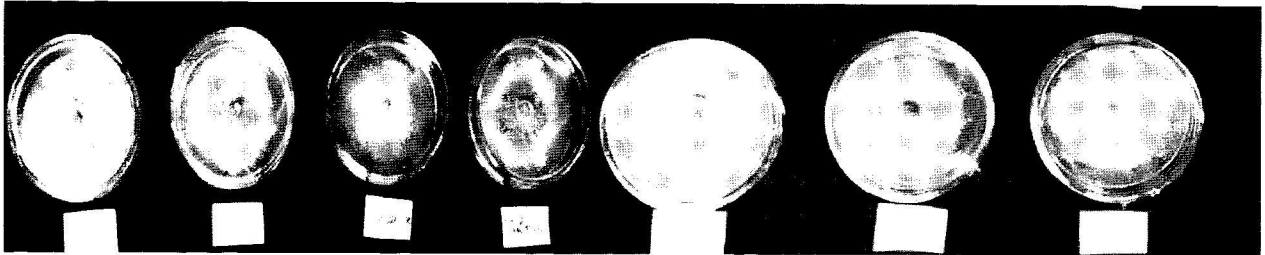


Hình 2. Hình thái hệ sợi nấm PHE67 trên các môi trường sau 12 ngày nuôi ở nhiệt độ 30°C

chặt (C). Ngược lại hệ sợi nấm *Phellinus* PHE67 trên môi trường sucrose, xylose, lactose có mật độ mỏng (T) (Hình 3). Như vậy, có thể kết luận, các loại đường đơn là nguồn cacbon thích hợp để nuôi sợi nấm *Phellinus* PHE67.

Theo Xu và cs. (2017), chủng nấm *Phellinus* spp. có khả năng sử dụng tốt nhiều nguồn cacbon khác nhau và đồng thời glucose là nguồn cacbon có khả năng thúc đẩy quá trình tạo sinh khối hệ sợi nấm

Phellinus cao nhất [1]. Li và cs. (2008) kết luận glucose, galactose, manose, arabinose và fructose có thể sử dụng trong nhân giống nấm *Phellinus* spp [20]. Nghiên cứu tối ưu hóa nguồn dinh dưỡng cacbon cho chủng nấm *P. linteus* ATCC 26710 của Hur (2008) ghi nhận rằng sucrose là nguồn oligosaccharide duy nhất hỗ trợ sự tăng trưởng hệ sợi của nấm *Phellinus* ATCC 26710, tiếp đến là mannose, glucose và fructose [4].



Hình 3. Hình thái hệ sợi nấm PHE67 trên môi trường chứa các nguồn cacbon khác nhau sau 12 ngày nuôi ở nhiệt độ 30°C

3.3. Ảnh hưởng của nguồn dinh dưỡng nitơ

Bảng 3. Hệ sợi chủng nấm PHE67 sinh trưởng trên môi trường chứa các nguồn nitơ khác nhau

Nguồn N (2,0 g/l)	ĐKHS (mm)	TĐMS (mm/ngày)	TKĐ (ngày)	MĐS
NH ₄ Cl		3,63 ^a	11,89 ^e	SC
NH ₄ NO ₃	54,22 ^b	3,52 ^a	12,22 ^d	C
(NH ₄) ₂ SO ₄	53,83 ^{bc}	3,48 ^b	12,44 ^d	T
NaNO ₃	38,46 ^c	2,51 ^d	17,11 ^a	SC
KNO ₃	36,62 ^f	2,48 ^d	17,33 ^a	SC
Pepton	45,8 ^d	2,27 ^e	15,89 ^b	T
Casein	52,89 ^c	3,12 ^c	13,78 ^c	C
LSD _{0,05}	1,16	0,12	0,63	
CV%	1,3	2,2	2,4	

(56,74 mm) khi được nuôi trên môi trường có sử dụng NH₄Cl. Khi nuôi trên môi trường NH₄NO₃ và (NH₄)₂SO₄, đường kính hệ sợi PHE67 lần lượt là 54,22 và 53,83 mm/ngày. Trên môi trường sử dụng nguồn nitơ là KNO₃ đường kính tản nấm *Phellinus* PHE67 là nhỏ nhất (36,62 mm/ngày). Tốc độ sinh trưởng hệ sợi của chủng *Phellinus* PHE67 đạt từ 2,27 mm/ngày đến 3,63 mm/ngày. Tốc độ mọc sợi nhanh nhất trên môi trường có bổ sung 2 g/l NH₄Cl (3,63 mm/ngày) và NH₄NO₃ (3,52 mm/ngày), sợi nấm PH67 nuôi trên môi trường sử dụng dinh dưỡng peptone mọc chậm nhất (2,27 mm/ngày).

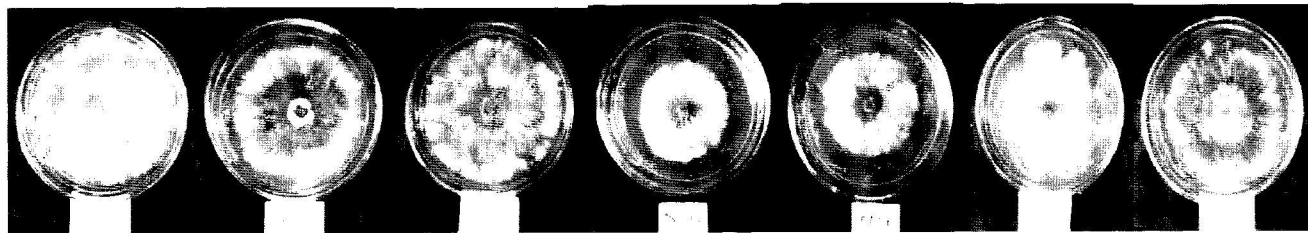
Thời gian hệ sợi nấm PHE67 mọc kín bề mặt đĩa petri ngắn nhất khi được nuôi trên môi trường có bổ sung NH₄Cl và NH₄NO₃ (11,89 và 12,22 ngày). Ngược lại, trên môi trường bổ sung NaNO₃ và KNO₃ thời gian hệ sợi mọc kín đĩa môi trường dài nhất (17,11 và 17,33 ngày).

Hình 4 cho thấy hệ sợi nấm PHE67 trên môi trường có bổ sung NH₄Cl, (NH₄)₂SO₄ và pepton rất mỏng, thưa. Trên môi trường có sử dụng NH₄NO₃, mật độ hệ sợi nấm PHE67 dày, sợi nấm bám chặt vào môi trường và phân bố đều. Kết quả nghiên cứu này tương đối phù hợp với kết luận của Hur (2008) khi ông cho rằng nguồn dinh dưỡng nitơ ảnh hưởng đến tốc độ phát triển của hệ sợi nấm *P. linteus* và phát triển tốt nhất trên môi trường bổ sung kali nitrat, tiếp theo là natri nitrat và amoni nitrat (NH₄NO₃). Đặc biệt không có sự sai khác nào ở khả năng sinh

Ghi chú: ĐKHS: Đường kính hệ sợi (mm). TĐMS: Tốc độ sinh trưởng hệ sợi (mm/ngày). TKĐ: Thời gian hệ sợi sinh trưởng kín đĩa (ngày). MĐS: Mật độ hệ sợi. C:- compact/sợi dày, bám chặt). SC: somewhat compact/sợi phân bố không đều). T: - thin/sợi nấm mỏng. Các chữ cái trong cùng một cột ứng với mỗi giá trị sai khác giữa các giá trị trung bình tại mức ý nghĩa $P < 0,05$.

Dinh dưỡng nitơ có ảnh hưởng đến khả năng sinh tổng hợp các hợp chất của nấm nói chung và nấm *Phellinus* nói riêng. Nitơ liên quan trực tiếp đến quá trình sinh tổng hợp protein, các axit amin, không có protein sự mọc của nấm không diễn ra [18]. Kết quả thí nghiệm (Bảng 3) cho thấy, đường kính hệ sợi nấm PHE67 sau 12 ngày nuôi sợi đạt giá trị cực đại

trường hệ sợi nấm *P. linteus* khi có được bổ sung natri nitrit (NaNO_2) [4].



Hình 4. Hình thái hệ sợi nấm PHE67 trên môi trường chứa các nguồn nitơ khác nhau sau 12 ngày nuôi ở nhiệt độ 30°C

3.4. Ảnh hưởng của nguồn dinh dưỡng khoáng

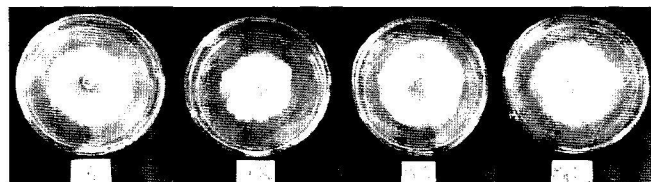
Các nguyên tố khoáng đóng vai trò quan trọng trong việc hoạt hóa enzyme cũng như tổng hợp vitamin và các chất giúp cho sự phát triển của hệ sợi và quả thể nấm diễn ra bình thường [18]. Kết quả đánh giá về đường kính hệ sợi, tốc độ và thời gian sinh trưởng hệ sợi của chủng nấm *Phellinus* PHE67 trên môi trường bổ sung 4 loại muối khoáng gồm kali sunfat (K_2SO_4), kẽm sunfat (ZnSO_4), magie sunfat (MgSO_4), mangan sunfat (MnSO_4) được trình bày ở bảng 4.

Bảng 4. Sinh trưởng hệ sợi của chủng nấm PHE67 trên các nguồn dinh dưỡng khoáng

Nguồn khoáng (0,5 g/l)	ĐKHS (mm)	TĐMS (mm/ngày)	TKĐ (ngày)	MĐS
K_2SO_4	38,44 ^b	2,51 ^b	17,33 ^a	T
ZnSO_4	38,12 ^b	2,46 ^b	17,56 ^a	T
MgSO_4	44,97 ^a	2,94 ^a	14,67 ^b	C
MnSO_4	35,7 ^c	2,59 ^b	16,67 ^a	SC
LSD _{0,05}	2,62	0,20	1,39	
CV%	3,3	3,8	4,2	

Ghi chú: ĐKHS: Đường kính hệ sợi (mm). TĐMS: Tốc độ sinh trưởng hệ sợi (mm/ngày). TKĐ: Thời gian hệ sợi sinh trưởng kín đĩa (ngày). MĐS: Mật độ hệ sợi. C: -compact/sợi dày, bám chặt). SC: -somewhat compact/sợi phân bố không đều). T: -thín/sợi nấm mỏng. Các chữ cái trong cùng một cột ứng với mỗi giá trị sai khác giữa các giá trị trung bình tại mức ý nghĩa $P < 0,05$.

Số liệu ở bảng 4 cho thấy, khi chủng nấm *Phellinus* PHE67 được nuôi trên môi trường có sử dụng MgSO_4 , đường kính tán nấm đạt giá trị lớn nhất (44,97mm). Đường kính hệ sợi nhỏ nhất tại công thức có sử dụng nguồn khoáng là MnSO_4 (35,7mm).



Hình 5. Hình thái hệ sợi nấm *Phellinus* PHE67 trên các nguồn dinh dưỡng khoáng sau 12 ngày nuôi ở nhiệt độ 30°C

Tốc độ mọc sợi của nấm *Phellinus* PHE67 khi nuôi trên môi trường có sử dụng MgSO_4 nhanh nhất, đạt 2,94 mm/ngày, hệ sợi nấm dày, bám chặt (Hình 5). Ngược lại, tốc độ mọc sợi của PHE67 chậm nhất trên môi trường sử dụng ZnSO_4 (2,46 mm/ngày), hệ sợi nấm mỏng. Do đó thời gian hệ sợi nấm PHE67 mọc kín đĩa môi trường bổ sung MgSO_4 là ngắn nhất (14,67 ngày) và dài nhất trên môi trường bổ sung K_2SO_4 và ZnSO_4 , lần lượt là 17,33 và 17,56 ngày. Kết quả nghiên cứu này sai khác có ý nghĩa thống kê ở mức ý nghĩa $P < 0,05$ và phù hợp với công bố của Jo và cs. (2006) và Chi và cs. (1996) [7, 19].

4. KẾT LUẬN

Chủng nấm *Phellinus* PHE67 có thể sinh trưởng, phát triển tốt trên môi trường PGA, SPGA và YGA. Trên môi trường PGA, tốc độ mọc của sợi nấm, thời gian hệ sợi nấm *Phellinus* PHE67 mọc kín bề mặt đĩa đều vượt trội, hệ sợi nấm rất dày, chắc, sợi bám chặt vào môi trường nuôi. Các nguồn đường đơn đều thích hợp dùng để nhân nuôi sợi nấm *Phellinus* PHE67, trong đó fructose là nguồn dinh dưỡng phù hợp nhất cho sự tăng trưởng hệ sợi nấm PHE67, tốc độ phát triển hệ sợi đạt 2,96 mm/ngày. Đường lactose không tạo được sự sai khác đối với sinh trưởng của hệ sợi nấm PHE67. Sử dụng NH_4NO_3 với hàm lượng 2 g/l và bổ sung thêm 0,5 g/l muối MgSO_4 hệ sợi chủng nấm PHE67 sinh trưởng tốt nhất so với các nguồn dinh dưỡng khác được sử dụng trong thí nghiệm này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. C. Xu, J. Yu, S. Zhao, S. Wu, P. He, X. Jia, Y. Liu and D. Mao (2017). *Effect of carbon source on production, characterization and bioactivity of exopolysaccharide produced by Phellinus vaninii Ljup. An Acad Bras Cienc*, 89(3), pp.2033-2041.
2. C. J. Lin, H. M. Lien, H. J. Lin, C. L. Huang, M. C. Kao, Y. A. Chen, C. K. Wang, H. Y. Chang, Y. K. Chang, H. S. Wu and C. H. Lai (2016). *Modulation of T cell response by Phellinus linteus. J.Biosci. Bioeng*, 121, pp.84-88.
3. H. Chen, T. Ting Tian, H. Miao and Y. Y. Zhao (2016). *Traditional uses, fermentation, phytochemistry and pharmacology of Phellinus linteus: A review. Fitoterapia*, 113, pp.6-26.
4. H. Hur (2008). *Cultural characteristics and logmediated cultivation of the medicinal mushroom, Phellinus linteus. Mycobiology*, 36(2), pp.81-87.
5. H. Hur, A. Imtiaj, M. W. Lee, T. S. Lee (2008). *Suitable conditions for mycelial growth of Phellinus spp. Mycobiology*, 36(3), pp.152-156.
6. H. Vahidi, F. Mojab and N. Taghavi (2006). *Effects of Carbon Sources on Growth and Production of Antifungal Agents by Gymnopilus Spectabilis. Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 3, pp.219-222.
7. J. H. Chi, T. M. Ha, Y. H. Kim and Y. D. Ryo (1996). *Studies on the main factors affecting the mycelial growth of Phellinus linteus. Kor. J. Mycol*, 24, pp.214-222.
8. J. H. Lee, S. M. Cho, H. M. Kim, N. D. Hong and I. D. Yoo (1996). *Immunostimulating activity of polysaccharides from mycelia of Phellinus linteus grown under different culture conditions. J. Microbiol*, 6, pp.52-55.
9. K. Gorka, A. P. Stachowiak, A. Stala, D. Miran and S. Sokol (2017). *Comparison of the mycelial growth of some Phellinus spp. Isolates on different agar media. Fragmenta naturae*, 50, pp.18-27.
10. M. Soković, J. Glamočlija, A. Ćirić, J. Petrović and D. Stojković (2018). *Mushrooms as Sources of Therapeutic Foods. Therapeutic Foods*, pp.141-178.
11. Ngô Anh (2006). *Sự đa dạng của khu hệ nấm lớn ở Vườn Quốc gia Bạch Mã, tỉnh Thừa Thiên - Huế. Tạp chí Nghiên cứu và Phát triển*, 54(1), tr.46-52.
12. Ngô Anh và Trần Thị Bích Thủy (2011). *Nghiên cứu khu hệ nấm lớn ở huyện Sơn Mộc, tỉnh Bà Rịa - Vũng Tàu. Hội nghị khoa học toàn quốc về sinh thái và tái nguyên sinh vật lần thứ 4*, tr.37-43.
13. Nguyễn Thị Bích Thủy, Ngô Xuân Nghiễn, Nguyễn Thế Thắng, Trần Đông Anh, Nguyễn Xuân Cảnh, Nguyễn Văn Giang, Trần Thị Đào (2016). *Đánh giá sinh trưởng và năng suất của nấm sò vua (Pleurotus eryngii) (DC.:Fr.) Quel) trên nguyên liệu nuôi trồng khác nhau. Tạp chí Khoa học Nông nghiệp Việt Nam*, 14, tr.816-823.
14. Phạm Thị Hà Giang và Alexandrova, A. V (2012). *Kết quả nghiên cứu thành phần loài khu hệ nấm lớn Vườn Quốc gia Chư Yang Sin, tỉnh Đắk Lắk. Hội nghị khoa học toàn quốc về sinh thái và tái nguyên sinh vật lần thứ 5*, tr.58-64.
15. S. J. Wu, C. C. Liaw, S. Z. Pan, H. C. aHsing-ChiaYang and L. TeikNg (2013). *Phellinus linteus polysaccharides and their immunomodulatory properties in human monocytic cells. Journal of Functional Foods*, 2(5), pp.679-688.
16. S. W. Kim, H. J. Hwang, J. P. Park, Y. J. Cho, C. H. Song and J. W. Yun (2002). *Mycelial growth and exo-biopolymer production by submerged culture of various edible mushrooms under different media. Letters in Applied Microbiology*, 34(1). pp.56-61.
17. Trịnh Tam Kiệt (2011). *Nấm lớn ở Việt Nam. Tập I. Nhà xuất bản Khoa học Tự nhiên và Công nghệ Hà Nội*.
18. Trịnh Tam Kiệt (2012). *"Nấm lớn ở Việt Nam", tập II, Nhà xuất bản Khoa học Tự nhiên và Công nghệ Hà Nội*.
19. W. S. Jo, Y. H. Rew, S. G. Choi, G. S. Seo, J. M. Sung, J. Y. Uhm (2006). *The culture conditions for the mycelial growth of Phellinus spp. Mycobiology*, 34(4), pp.200-205.
20. X. Li, L. Jiao, X. Zhang, W. Tian, S. Chen and L. Zhang (2008). *Structure of polysaccharides from mycelium and culture medium of Phellinus nigricans using submerged fermentation. Science in China Series C: Life Sciences*, 51(6), pp.513-519.

EFFECTS OF CULTURE MEDIUM ON THE MYCELIAL GROWTH OF *Phellinus* PHE67 STRAIN

Nguyen Van Giang, Ta Thi Hue, Tran Dong Anh,
Nguyen Duy Trinh, Le Thanh Uyen, Tran Thu Ha

Summary

Phellinus spp. is the genus which has a great medicinal value and was applied in massive medicinal research. In Vietnam, researches on *Phellinus* have just been only in the step of isolation and selection of new strains from nature, while the fundamental researches in optimizing the cultural conditions, time of incubation, and effects of the mineral on mycelial growth have still lacked. This study aims to investigate the influence of nutritional factors on mycelium growth of mushroom *Phellinus* PHE67 which was collected in Bach Thao park of Hanoi. The results show that the suitable medium for growth of PHE67's mycelia is PGA containing extracts of 200 g/l of potatoes, 20 g/l glucose and 15 g/l of agar. Among the carbon sources, fructose was seemed to be the most appropriate for growing of PHE67's mycelia, the growth was recorded at 2.96 mm/day while the slowest growth of PHE67's mycelia was observed in the case of lactose source. NH_4NO_3 is demonstrated to stimulate the highest growth of PHE67, at 3.52 mm/day. On this media the mycelia are thick, compact and evenly growing in all directions. Furthermore, the most optimal mineral source for PHE67 is MgSO_4 .

Keywords: Carbon source, nitrogen source, *Phellinus* spp.

Người phản biện: PGS.TS. Lê Như Kiều

Ngày nhận bài: 25/8/2020

Ngày thông qua phản biện: 25/9/2020

Ngày duyệt đăng: 02/10/2020