

## ẢNH HƯỞNG CỦA MỘT SỐ NGUỒN CACBON, NITƠ VÀ MUỐI KHOÁNG ĐẾN SINH TRƯỞNG HỆ SỢI NẤM NGÂN NHỈ *Tremella fuciformis* Tre-1

Nguyễn Văn Giang<sup>1\*</sup>, Nguyễn Thị Phương Thảo<sup>1</sup>, Trần Thu Hà<sup>2\*</sup>, Nguyễn Duy Trình<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Học viện Nông nghiệp Việt Nam

<sup>2</sup>Trung tâm NC&PT nấm, Viện Di truyền Nông nghiệp

\*Tác giả liên hệ: tranthuhapt@gmail.com/nvgiang@vnua.edu.vn

Ngày nhận bài: 09.06.2021

Ngày chấp nhận đăng: 30.08.2021

### TÓM TẮT

Nấm ngân nhĩ *Tremella fuciformis* là một loại nấm ăn có giá trị cao. Các hợp chất polysaccharides có trong nấm *T. fuciformis* có nhiều hoạt tính sinh học như cải thiện hệ miễn dịch, chống oxy hóa, chống viêm, chống khối u. Nghiên cứu này được tiến hành với mục đích khảo sát ảnh hưởng của các nguồn dinh dưỡng cacbon (glucose, fructose, lactose, maltose, sucrose), nguồn dinh dưỡng nitơ (cao nấm men, peptone,  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ ,  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ,  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$  và  $\text{NH}_4\text{Cl}$ ) và nguồn muối khoáng ( $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  và  $\text{ZnSO}_4$ ) đến sinh trưởng hệ sợi của chủng nấm ngân nhĩ *T. fuciformis* Tre-1. Hệ sợi nấm ngân nhĩ Tre-1 được nuôi trên môi trường PA bổ sung 20 g/l các nguồn cacbon gồm glucose, lactose, maltose, fructose, sucrose để đánh giá ảnh hưởng của nguồn carbon tới sinh trưởng và phát triển của hệ sợi nấm ngân nhĩ, tương tự như vậy để khảo sát ảnh hưởng của nguồn nitơ đến hệ sợi nấm ngân nhĩ, các thí nghiệm được tiến hành trên môi trường PA bổ sung 20 g/l glucose và 1,0 g/l nguồn nitơ khác nhau, gồm cao nấm men, peptone,  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ ,  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ,  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$  và  $\text{NH}_4\text{Cl}$ . Ảnh hưởng của tỷ lệ glucose/peptone, nguồn khoáng tới sinh trưởng của hệ sợi nấm ngân nhĩ được đánh giá dựa trên các kết quả thí nghiệm nuôi sợi nấm ngân nhĩ trên môi trường PA chứa 1 g/l peptone được bổ sung lần lượt 15, 20, 25, 30, 35, 40 g/l glucose và 0,25 g/l muối khoáng  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ,  $\text{ZnSO}_4$ . Nguồn cacbon và nitơ phù hợp nhất cho sinh trưởng hệ sợi nấm Tre-1 là glucose và peptone; tỉ lệ glucose/peptone tối ưu của môi trường nuôi cấy trong khoảng từ 20:1 đến 25:1. Muối khoáng cũng là yếu tố dinh dưỡng quan trọng ảnh hưởng đến tăng trưởng hệ sợi nấm Tre-1 và  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  được xác định là nguồn khoáng vô cơ hữu hiệu nhất; đường kính khuẩn lạc đạt 8,07cm với tốc độ phát triển hệ sợi 1,35 cm/ngày; mật độ hệ sợi nấm dày.

Từ khóa: Hệ sợi nấm, nấm ngân nhĩ (*Tremella fuciformis*), nguồn dinh dưỡng carbon, nitơ, muối khoáng.

### Effects of Carbon and Nitrogen Sources and Mineral Salts on the Mycelium Growth of Snow Mushroom *Tremella fuciformis* Strain Tre-1

### ABSTRACT

Snow mushroom (*Tremella fuciformis*) is a high-value edible mushroom. Polysaccharide compounds from *T. fuciformis* exhibited various biological activities such as improving the immune system and antioxidant, anti-tumor, and anti-inflammatory activity. This study was carried out to investigate the effects of different carbon sources (glucose, fructose, lactose, maltose, sucrose) and nitrogen sources (yeast extract, peptone,  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ ,  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ,  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$  and  $\text{NH}_4\text{Cl}$ ) and mineral salts ( $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  and  $\text{ZnSO}_4$ ) on the mycelium growth of the snow mushroom strain Tre-1. Snow mushroom Tre-1 was grown on PA medium supplemented with 20 g/l of different carbon sources, including glucose, lactose, maltose, fructose, sucrose, to evaluate the effect of carbon source on the growth and development of mycelium. Similarly, to investigate the effect of nitrogen source on snow mushroom mycelia, experiments were carried out on PA medium supplemented with 20 g/l glucose and 1.0 g/l different nitrogen sources, including yeast extract, peptone,  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ ,  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ,  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$  and  $\text{NH}_4\text{Cl}$ . The effect of glucose/peptone ratio and a mineral source on the growth of mycelia of Tre-1 mushroom was evaluated based on the experimental results of growing Tre-1 mycelia on PA medium containing 1 g/l of peptone added 15, 20, 25, 30, 35 and 40 g/l glucose respectively, and 0.25 g/l mineral salts  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  and  $\text{ZnSO}_4$ . Results indicated that the optimal carbon and nitrogen sources for the mycelial growth of *T. fuciformis* strain Tre-1 were glucose and

peptone, respectively. The optimum glucose/peptone ratio was in the range of 20:1 to 25:1.  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  was identified as the most effective source.

Keywords: Carbon and nitrogen sources, mineral salts, mycelium growth, snow mushroom (*Tremella fuciformis*).

## 1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Nấm ngân nhĩ *T. fuciformis* đã phát triển như một loại nấm ăn chủ lực và được nuôi trồng rộng rãi ở Trung Quốc và một số nước khác ở châu Á (Li & cs., 2020). Trung Quốc là quốc gia đầu tiên nuôi trồng thành công loại nấm này, sản lượng nấm ngân nhĩ *T. fuciformis* năm 2018 của Trung Quốc đạt 360.000 tấn, chiếm hơn 90% tổng sản lượng thế giới (Li & cs., 2020). Ngoài tên gọi là nấm ngân nhĩ, *T. fuciformis* còn được biết đến với nhiều tên gọi khác như nấm tuyết (snow mushroom), nấm mộc nhĩ trắng (white auricularia), nấm thạch trắng (white jelly mushroom) (Li & cs., 2020). Theo Wu & cs. (2019) quả thể nấm *T. fuciformis* giàu protein, polysaccharides, chất xơ và ít chất béo. Nấm *T. fuciformis* có chứa nhiều loại khoáng chất, các nguyên tố vi lượng và các loại vitamin, do vậy chúng được xem như là một loại thực phẩm phổ biến ở các nước châu Á (Zhao & cs., 2011). Các polysaccharides thu được từ *T. fuciformis* gồm có xylose, mannose, axit glucuronic và một lượng nhỏ fucose có nhiều hoạt tính sinh học như cải thiện khả năng miễn dịch (Zhou & cs., 2018), giảm lượng đường trong máu, hạ mỡ máu, chống lão hóa (Wen & cs., 2016), chống viêm (Lee & cs., 2016; Yang & cs., 2018). Các hợp chất polyphenol có nguồn gốc từ *T. fuciformis* cũng được chứng minh là có hoạt tính chống oxy hóa cao (Chen, 2010; Ma & cs., 2021).

Dinh dưỡng và các yếu tố vật lý như nhiệt độ, ánh sáng, độ ẩm là các nhân tố chính ảnh hưởng đến sinh trưởng hệ sợi và quả thể nấm (Liu & cs., 2018). Các nguồn cacbon, nitơ, muối khoáng thích hợp với sự sinh trưởng hệ sợi nấm *T. fuciformis* đã được xác định là glucose, mannitol, tryptone, ammonium nitrate,  $NH_4H_2PO_4$ , malt extract,  $CaCl_2$ ,  $KH_2PO_4$  và  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  (Chang & cs., 2008; Hou & cs., 2011; Lee & cs., 2019). Tuy nhiên, các nghiên cứu về khảo sát, đánh giá ảnh hưởng của các điều kiện môi trường nuôi sợi tới sinh trưởng

của hệ sợi của nấm *T. fuciformis* không nhiều. Ở Việt Nam, nghiên cứu về loại nấm này chỉ dừng lại ở việc thu thập, đánh giá sự đa dạng thành phần loài trong khu hệ nấm lớn như nghiên cứu của Đoàn Văn Vệ & Trịnh Tam Kiệt (2008) xác định được 07 chi và 16 loài thuộc bộ này; Trần Thị Phú (2018) ghi nhận 02 loài nấm ngân nhĩ là *T. fuciformis* và *T. mesenterica* ở núi Ngọc Linh, Quảng Nam. Nghiên cứu của này nhằm khảo sát ảnh hưởng của một số nguồn dinh dưỡng cacbon, nitơ, muối khoáng đến khả năng sinh trưởng hệ sợi chủng nấm ngân nhĩ Tre-1. Kết quả nghiên cứu sẽ góp phần làm sáng tỏ các điều kiện nhân nuôi nấm *T. fuciformis* tại Việt Nam, bổ sung thêm cơ sở dữ liệu về loài nấm này và là nền tảng quan trọng để tiến hành các nghiên cứu tiếp theo.

## 2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Giống nấm và môi trường nhân giống

Chủng giống nấm ngân nhĩ *T. fuciformis* Tre-1 được nhập nội từ năm 2020 từ Trung Quốc và đang được lưu giữ tại Trung tâm Nghiên cứu và Phát triển Nấm, Viện Di truyền Nông nghiệp ở nhiệt độ 4°C trên môi trường PDA (Hou & cs., 2011).

Môi trường nền sử dụng để nhân nuôi sợi nấm ngân nhĩ Tre-1 là môi trường PA gồm dịch chiết từ 200 g/l khoai tây và 20 g/l agar (Nguyễn Văn Giang & cs., 2021). Dịch chiết khoai tây được chuẩn bị theo mô tả của Bích Thủy Thi Nguyen & cs. (2019); các nguồn cacbon, nitơ, muối khoáng được sản xuất bởi Công ty Merck KgaA, được hòa tan và thêm vào dịch chiết cùng với agar. Sử dụng dung dịch NaOH 1N và HCl 1N để điều chỉnh pH môi trường bằng 6,0 (Hou & cs., 2011). Môi trường PA được hấp khử trùng ở nhiệt độ 121°C trong thời gian 20 phút, sau khi nhiệt độ môi trường hạ tới 50°C tiến hành chia môi trường vào các đĩa Petri ( $\varnothing = 9,0\text{cm}$ ). Mỗi đĩa Petri chứa 20ml môi trường và được cấy 01 miếng giống gốc chủng nấm Tre-1 (kích thước

Ảnh hưởng của một số nguồn cacbon, nitơ và muối khoáng đến sinh trưởng hệ sợi nấm ngân nhĩ *Tremella fuciformis* Tre-1

0,5 × 0,5cm) tại vị trí trung tâm đĩa trong điều kiện vô trùng (Nguyễn Văn Giang & cs., 2021).

## 2.2. Ảnh hưởng của nguồn dinh dưỡng cacbon

Hệ sợi nấm ngân nhĩ Tre-1 được nuôi trên môi trường PA được bổ sung thêm 20 g/l các nguồn dinh dưỡng cacbon gồm glucose, lactose, maltose, fructose, sucrose (Hou & cs., 2011).

## 2.3. Ảnh hưởng của nguồn dinh dưỡng nitơ

Các nguồn dinh dưỡng nitơ khảo sát gồm cao nấm men, peptone,  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ ,  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ,  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$  và  $\text{NH}_4\text{Cl}$ . Môi trường nhân giống là môi trường PA bổ sung 20 g/l glucose và 1,0 g/l nguồn nitơ (Lee & cs., 2019).

## 2.4. Ảnh hưởng của tỉ lệ glucose/ peptone

Sau khi thu được kết quả nguồn cacbon và nitơ thích hợp là peptone và glucose, sử dụng 1,0 g/l peptone và điều chỉnh hàm lượng glucose lần lượt là 15, 20, 25, 30, 35 và 40 g/l để xác định tỉ lệ glucose/peptone thích hợp nhất cho sinh trưởng hệ sợi nấm Tre-1 (Jo & cs., 2014).

## 2.5. Ảnh hưởng của nguồn muối khoáng

Để lựa chọn loại muối khoáng phù hợp với sự phát triển hệ sợi của nấm ngân nhĩ Tre-1, thí nghiệm được thực hiện trên môi trường gồm 200 g/l dịch chiết khoai tây, 20 g/l glucose, 1,0 g/l peptone, 20 g/l agar và có bổ sung 0,25 g/l một trong 03 loại muối khoáng  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  và  $\text{ZnSO}_4$  (Hou & cs., 2011).

Các thí nghiệm được thực hiện lặp lại ba lần, mỗi lần lặp lại gồm 10 mẫu cho 01 công thức nghiên cứu.

## 2.6. Chỉ tiêu theo dõi

Nuôi sợi nấm ngân nhĩ Tre-1 trong tủ bảo ôn Memmert IF110, nhiệt độ 25°C, độ ẩm không khí 65% và định kỳ quan sát tốc độ sinh trưởng hệ sợi và mật độ hệ sợi của chủng nấm sau 48 giờ (Jo & cs., 2014; Bích Thủy Thi Nguyễn & cs., 2019). Đường kính khuẩn lạc (cm) là phần đường kính hệ sợi nấm mọc trên bề mặt môi trường thạch sau 2, 4, 6 ngày nuôi sợi. Tốc độ phát triển của sợi nấm (cm/ngày) là tốc độ sinh

trưởng hệ sợi của chủng nấm ngân nhĩ Tre-1 được đánh giá theo phương pháp của Bích Thủy Thi Nguyễn & cs. (2019). Mật độ sợi nấm được quan sát và đánh giá theo 03 mức độ gồm dày (C/compact), trung bình (SC/some what) và mỏng (T/thin) (Jo & cs., 2014).

## 2.7. Xử lý số liệu

Kết quả nghiên cứu được xử lý thống kê bằng phần mềm Graphpad prism 9.1. Kết quả nghiên cứu được phân tích thống kê bằng phần mềm Graphpad prism 9.1. Sự khác biệt giữa các giá trị trung bình được đánh giá bằng phương pháp phân tích phương sai hai chiều (two-way ANOVA) và so sánh nhiều nhóm (Tukey's multiple comparisons test) tại mức ý nghĩa  $P < 0,05$  (Bích Thủy Thi Nguyễn & cs., 2019).

## 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

### 3.1. Ảnh hưởng của nguồn cacbon

Môi trường nhân giống được xem là yếu tố quan trọng nhất trong quá trình sản xuất nấm (Bích Thủy Thi Nguyễn & cs., 2021), trong đó nguồn cacbon thích hợp đóng một vai trò thiết yếu trong quá trình tăng sinh khối sợi nấm (Gusman & Lin, 2014). Cacbon là thành phần quan trọng tham gia vào cấu trúc của các monosaccharides, disaccharides và polysaccharides, nguồn cung cấp năng lượng chính cho sinh trưởng của tế bào (Nguyễn Văn Giang & cs., 2021). Trong nghiên cứu này, chủng giống nấm ngân nhĩ Tre-1 được nhân nuôi trên môi trường có bổ sung 05 nguồn cacbon. Trên môi trường có bổ sung glucose, fructose, sucrose đường kính khuẩn lạc Tre-1 sau 2, 4 và 6 ngày nuôi không có sự sai khác ( $P < 0,05$ ) (Hình 1). Đường kính khuẩn lạc của chủng nấm Tre-1 trên môi trường sử dụng glucose, fructose và sucrose tại ngày nuôi sợi thứ 6 lần lượt là 7,36, 7,39 và 7,27cm tương ứng với tốc độ phát triển hệ sợi trung bình lần lượt là 1,22, 1,23 và 1,21 cm/ngày. Mật độ hệ sợi nấm dày, bám chắc vào môi trường nuôi cấy. Ngược lại, lactose và maltose tác động không thực sự hiệu quả tới tăng trưởng của hệ sợi nấm Tre-1, mật độ hệ sợi mỏng. Do đó, glucose được

lựa chọn làm nguồn cacbon thích hợp nhất cho các thí nghiệm tiếp theo.

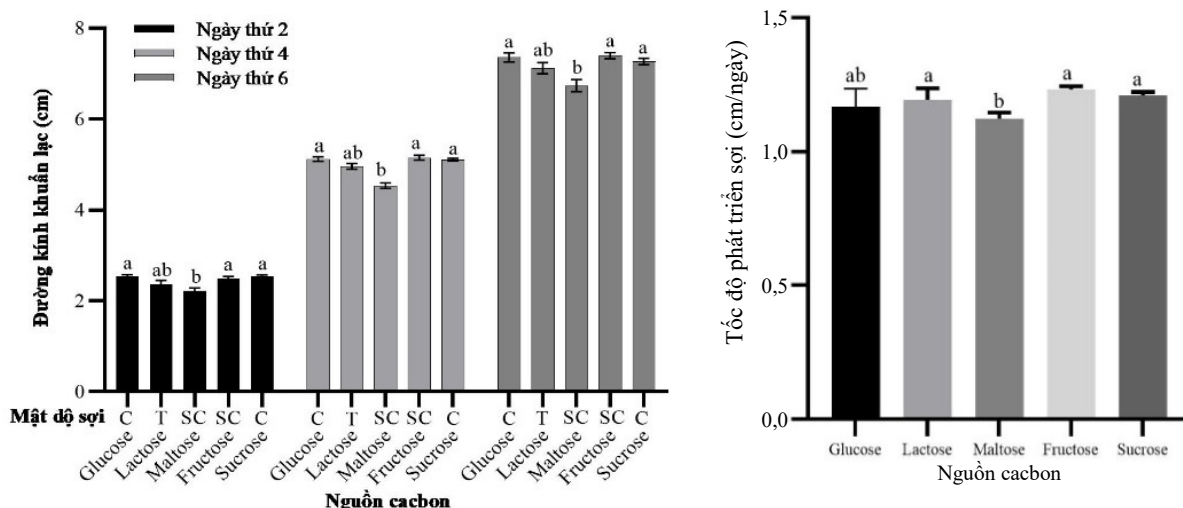
Ảnh hưởng của nguồn cacbon đến sự sinh trưởng hệ sợi của nấm *T. fuciformis* đã được các nhà nghiên cứu nấm khảo sát và đánh giá. Chang & cs. (2008) và Ma & cs. (2021) đã chứng minh glucose và galactose là nguồn cacbon hiệu quả để tăng sinh hệ sợi nấm *T. fuciformis*. Hou & cs. (2011) khẳng định nguồn cacbon có ảnh hưởng đến quá trình chuyển đổi hình thái của sợi nấm, các tác giả đã ghi nhận glucose là chất cảm ứng hiệu quả nhất cho sự phát triển và chuyển đổi thái sợi ở nấm *T. fuciformis* T8 và T3.

### 3.2. Ảnh hưởng của nguồn nitơ

Nitơ cung cấp nguyên liệu cho tế bào tổng hợp các amino acid, protein và chitin của thành tế bào sợi nấm. Nấm có thể sử dụng nhiều nguồn nitơ vô cơ và hữu cơ khác nhau. Trong thí nghiệm này, sợi nấm ngân nhĩ Tre-1 được nuôi trên môi trường chứa các nguồn nitơ gồm cao nấm men (CNM), peptone,  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ ,  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ,  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$  và  $\text{NH}_4\text{Cl}$ . Miles & Chang (1977) báo cáo rằng nitơ là nguồn dinh dưỡng quan trọng thứ hai sau cacbon trong quá trình nhân nuôi sợi nấm. Hệ sợi nấm ngân nhĩ Tre-1 phát triển tốt nhất khi được nuôi trên môi trường bổ sung peptone, tốc độ phát triển trung bình của hệ sợi là 1,27 cm/ngày, đường kính khuẩn lạc

sau 06 ngày nuôi đạt 7,62cm. Ở các môi trường bổ sung cao nấm men,  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ ,  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ,  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$  và  $\text{NH}_4\text{Cl}$  không cho thấy sự sai khác về tốc độ phát triển hệ sợi của chủng nấm Tre-1 ( $P < 0,05$ ) (Hình 3). Mật độ hệ sợi của chủng nấm Tre-1 chỉ ở mức trung bình khi được nuôi cấy trên môi trường  $\text{NH}_4\text{Cl}$  và dày khi nuôi cấy trên môi trường được bổ sung các nguồn nitơ là cao nấm men, peptone,  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ ,  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ,  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$  (Hình 4).

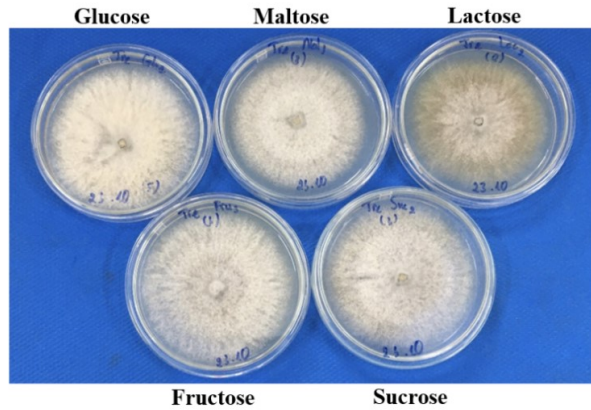
Nguồn dinh dưỡng nitơ hữu cơ và nitơ vô cơ đã thể hiện sự khác biệt trong việc hỗ trợ phát triển của hệ sợi nấm (Jo & cs., 2010; Bích Thuy Thi Nguyen & cs., 2021). Đa số các loại nấm sử dụng tốt các nguồn nitơ phức tạp, như cao nấm men, peptone (cao chiết xuất từ thịt bò). Peptone được ghi nhận là nguồn nitơ tối ưu cho sinh trưởng của nấm Đông trùng hạ thảo *Cordyceps sinensis* (Dong & Yao, 2005); cao nấm men phù hợp nhất với nấm vân chi *Trametes versicolor* (Bích Thuy Thi Nguyen & cs., 2021) hay maltose (tinh chất mạch nha) phù hợp nhất với nấm mộc nhĩ *Auricularia auricula-judae* (Jo & cs., 2014). Nghiên cứu của Chang & cs. (2008) trên chủng nấm *T. fuciformis* đã ghi nhận tryptone, một loại peptide được hình thành do sự thủy phân casein bởi trypsin protease, là dinh dưỡng nitơ tối ưu nhất cho sinh trưởng hệ sợi của nấm.



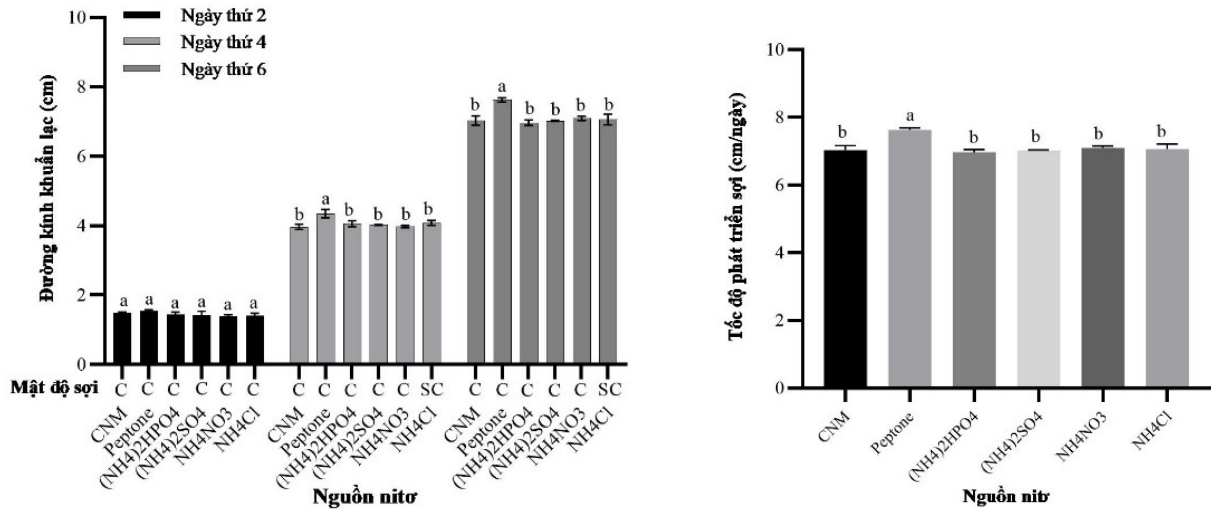
Ghi chú: C: Mật độ sợi dày; SC: Mật độ sợi trung bình; T: Mật độ sợi mỏng; các chữ cái khác nhau ứng với mỗi giá trị sai khác giữa các giá trị trung bình tại mức ý nghĩa ( $P < 0,05$ ).

Hình 1. Ảnh hưởng của nguồn cacbon đến sinh trưởng hệ sợi Tre-1 ở 25°C, pH6

Ảnh hưởng của một số nguồn cacbon, nitơ và muối khoáng đến sinh trưởng hệ sợi nấm ngân nhĩ *Tremella fuciformis* Tre-1

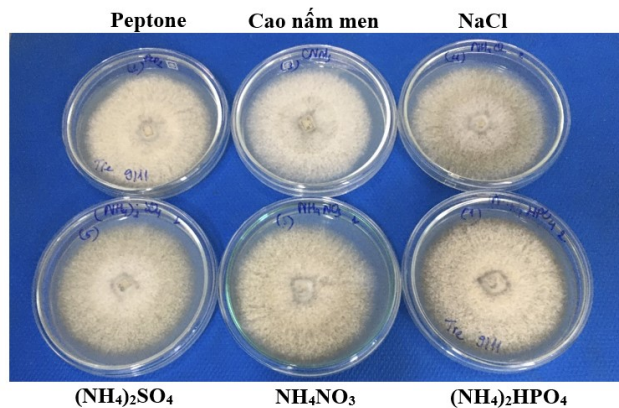


Hình 2. Hình thái hệ sợi nấm Tre-1 sau 06 ngày nuôi trên môi trường bổ sung các nguồn cacbon ở 25°C, pH6



Ghi chú: C: Mật độ sợi dày; SC: Mật độ sợi trung bình; T: Mật độ sợi mỏng; các chữ cái khác nhau ứng với mỗi giá trị sai khác giữa các giá trị trung bình tại mức ý nghĩa ( $P < 0,05$ ).

Hình 3. Ảnh hưởng của nguồn nitơ đến sinh trưởng hệ sợi Tre-1 ở 25°C, pH6

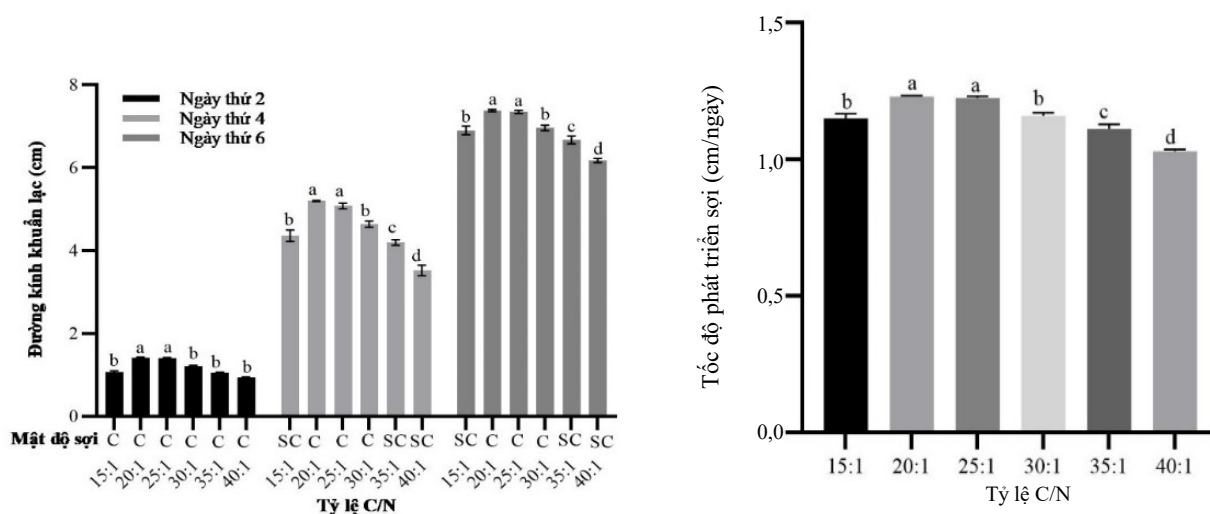


Hình 4. Hình thái hệ sợi nấm Tre-1 sau 06 ngày nuôi trên môi trường bổ sung các nguồn nitơ ở 25°C, pH6

### 3.3. Ảnh hưởng của tỷ lệ glucose/peptone

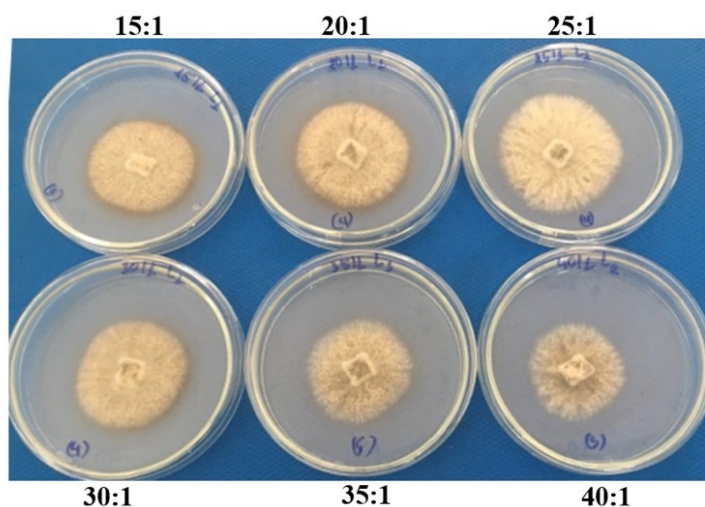
Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cho thấy tỉ lệ glucose/peptone có ảnh hưởng đến tốc độ phát triển và đặc điểm của hệ sợi nấm ngân nhĩ *T. fuciformis* Tre-1 (Hình 5). Tốc độ phát triển hệ sợi của chủng nấm ngân nhĩ Tre-1 nhanh nhất khi tỉ lệ glucose/peptone của môi trường là 20:1 và 25:1; lần lượt là 1,27 cm/ngày và 1,23 cm/ngày; đường kính khuẩn lạc sau 06 ngày nuôi đạt 7,6cm và 7,34cm; mật độ hệ sợi dày, đồng nhất.

Khi tỉ lệ glucose/peptone của môi trường nuôi cấy trong khoảng từ 35:1 đến 40:1 hệ sợi nấm Tre-1 phát triển chậm (1,02 đến 1,11 cm/ngày), mật độ hệ sợi trung bình. Như vậy, sinh trưởng hệ sợi của chủng nấm Tre-1 thuận lợi nhất khi tỉ lệ glucose/peptone của môi trường nhân giống từ 20:1 đến 25:1. Kết quả của nghiên cứu này hoàn toàn phù hợp với báo cáo của Chang (1997), cho rằng tỉ lệ C/N nhỏ hơn 20:1 sẽ ức chế sự phát triển của nấm *T. fuciformis*.



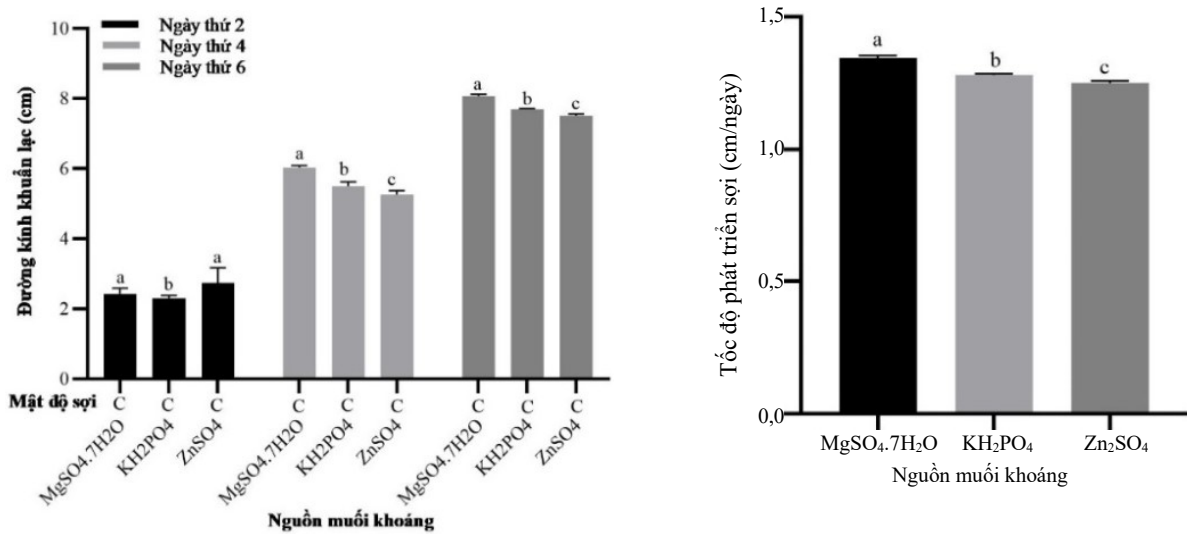
Ghi chú: C: Mật độ sợi dày; SC: Mật độ sợi trung bình; T: Mật độ sợi mỏng; các chữ cái khác nhau ứng với mỗi giá trị sai khác giữa các giá trị trung bình tại mức ý nghĩa ( $P < 0,05$ ).

Hình 5. Ảnh hưởng của tỉ lệ glucose/peptone (C/N trong hình) đến sinh trưởng hệ sợi Tre-1 ở 25°C, pH6



Hình 6. Hình thái hệ sợi Tre-1 sau 04 ngày nuôi trên môi trường có tỷ lệ C/N khác nhau ở 25°C, pH6

Ảnh hưởng của một số nguồn cacbon, nitơ và muối khoáng đến sinh trưởng hệ sợi nấm ngân nhĩ *Tremella fuciformis* Tre-1



Ghi chú: C: Mật độ sợi dày; SC: Mật độ sợi trung bình; T: Mật độ sợi mỏng; các chữ cái khác nhau ứng với mỗi giá trị sai khác giữa các giá trị trung bình tại mức ý nghĩa ( $P < 0,05$ ).

**Hình 7. Ảnh hưởng của nguồn muối khoáng đến sinh trưởng hệ sợi Tre-1 ở 25°C, pH6**



**Hình 8. Hình thái hệ sợi nấm Tre-1 sau 04 ngày nuôi trên môi trường bổ sung các nguồn muối khoáng ở 25°C, pH6**

Trong chu kỳ sinh trưởng, nấm cần tỉ lệ giữa cacbon và nitơ thích hợp trong môi trường, tỉ lệ C/N của chất nền ảnh hưởng tới khả năng sinh trưởng của sợi nấm (Jo & cs., 2014). Tỉ lệ C/N thấp nghĩa là hàm lượng nitơ trong môi trường cao sẽ ảnh hưởng đến sự phân hủy các hợp chất carbohydrate, cản trở sự phát triển của sợi nấm (El-Nour & Ibraheim, 2021) hoặc do các sản phẩm phụ tạo ra từ quá trình chuyển hóa nitơ sẽ gây ức chế sự phát triển của sợi nấm (Letti & cs., 2018). Ngược lại, tỉ lệ C/N cao tương ứng với nồng độ glucose trong môi trường cao,

khi đó áp suất thẩm thấu tạo ra bởi nồng độ glucose này có thể gây bất lợi cho sinh tổng hợp và chuyển hóa các chất của sợi nấm (Ha Thi Hoa & Wang, 2015). Tỉ lệ C/N tối ưu cho sự phát triển của sợi nấm có thể thay đổi tùy theo loài (Bich Thuy Thi Nguyen & cs., 2021). Tỉ lệ C/N thích hợp với sự sinh trưởng hệ sợi của nấm *T.versicolor* (Bich Thuy Thi Nguyen & cs., 2021), nấm *Ganoderma applanatum* (Jo & cs., 2009), nấm *Oudemansiella radicata* (Kim & cs., 2005) và nấm *Phellinus* spp. (Jo & cs., 2006) lần lượt là 10:1, 3:1, 20:1, 2:10 và 10:1. Jo & cs.

(2014) ghi nhận đường kính hệ sợi của nấm mộc nhĩ *Auricula-judae* cao nhất khi nuôi trên môi trường có tỉ lệ C/N 5:1 đến 10:1.

### 3.4. Ảnh hưởng của nguồn muối khoáng

Ba loại muối khoáng gồm  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ ,  $KH_2PO_4$ ,  $ZnSO_4$  đã được bổ sung vào môi trường nhân giống và  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  được ghi nhận là phù hợp nhất đối với sự phát triển hệ sợi của nấm Tre-1, tốc độ phát triển hệ sợi nhanh nhất 1,35 cm/ngày, mật độ hệ sợi dày. Trên các môi trường có bổ sung  $KH_2PO_4$  và  $ZnSO_4$  tốc độ phát triển hệ sợi của nấm Tre-1 giảm, lần lượt là 1,28 và 1,25 cm/ngày (Hình 7).

Khả năng hấp thụ chất khoáng của nấm phụ thuộc vào chủng nấm, giai đoạn phát triển của nấm (Schmitt, 1977; Kala, 2010; Mallikarjuna & cs., 2013). Chang & cs. (2008) trong nghiên cứu của mình đã kết luận  $K_2HPO_4$  và  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  là nguồn cung cấp dinh dưỡng khoáng để nhân sinh khối nấm *T. fuciformis*. Lee & cs. (2019) khẳng định  $CaCl_2$  là muối vô cơ thích hợp nhất cho phát triển hệ sợi của chủng nấm *T. fuciformis* KMCC04674 và  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ ,  $KH_2PO_4$  là hai nguồn khoáng khá phù hợp cho chủng nấm này.

## 4. KẾT LUẬN

Hệ sợi nấm ngân nhĩ Tre-1 phát triển tốt nhất trên môi trường có sử dụng 20 g/l glucose, 1,0 g/l peptone và 0,25 g/l  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  như là nguồn cung cấp dinh dưỡng cacbon, nitơ và khoáng chất; hệ sợi nấm Tre-1 sinh trưởng với tốc độ nhanh nhất, mật độ hệ sợi dày.

Tỉ lệ C/N là yếu tố quan trọng ảnh hưởng đến sự phát triển hệ sợi nấm *T. fuciformis*, tỉ lệ C/N bằng 20:1 đến 25:1 được xác định là tối ưu nhất đối với sự sinh trưởng hệ sợi của chủng nấm *T. fuciformis* Tre-1. Khi tăng tỉ lệ C/N trong môi trường nuôi sợi, tốc độ sinh trưởng của sợi nấm ngân nhĩ Tre-1 giảm.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

Bich Thuy Thi Nguyen, Nghien Xuan Ngo, Ve Van Le, Luyen Thi Nguyen, Ry Kana & Huy Duc Nguyen

(2019). Optimal culture conditions for mycelial growth and fruiting body formation of Ling Zhi mushroom *Ganoderma lucidum* strain GA<sub>3</sub>. Journal of Science, Technology and Engineering. 61(1): 62-67.

Bich Thuy Thi Nguyen, Ve Van Le, Huyen Trang Thi Nguyen, Luyen Thi Nguyen, Thuy Trang Thi Tran & Nghien Xuan Ngo (2021). Nutritional requirements for the enhanced mycelial growth and yield performance of *Trametes versicolor*. Journal of Applied Biology and Biotechnology. 9(1): 1-7.

Chang H.U, Lee C., Choi S.W. & Yun J.W. (2008). Liquid culture condition of *Tremella fuciformis* mycelia. Journal of Mushroom Science and Production. 6(1): 27-31.

Chang H.Y. (1997). Artificial cultivation of *Tremella fuciformis* Berk. using associated fungus, *Hypoxylon* sp. [dissertation]. Chuncheon, Korea: Kangwon National University.

Chen B. (2010). Optimization of extraction of *Tremella fuciformis* polysaccharides and its antioxidant and antitumor activities *in vitro*. Carbohydrate Polymers. 81(2): 420-424.

Đoàn Văn Vệ & Trịnh Tam Kiệt (2008). Nghiên cứu thành phần loài nấm ngân nhĩ *Tremella* của Việt Nam. Tạp chí Di truyền học và Ứng dụng. 4: 52-55

Dong C.H. & Yao Y.J. (2005). Nutritional requirements of mycelial growth of *Cordyceps sinensis* in submerged culture. Journal of Applied Microbiology. 99: 483-92.

El-Nour H.H.A. & Ibraheim A.M. (2021). Effect of some Organic Applications on Biological Efficiency and Productivity of Mushroom (*Pleurotus columbines*) Grown under Uncontrolled Conditions. Journal of Plant Production. 12(5): 495-503.

Gusman J.K., Lin C.Y. & Shih Y.C. (2014). The Optimum Submerged Culture Condition of the Culinary-Medicinal White Jelly. International Journal of Medicinal Mushrooms. 6(3): 293-302.

Ha Thi Hoa & Wang C.L. (2015). The effects of temperature and nutritional conditions on mycelium growth of two oyster mushrooms (*Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus cystidiosus*). Mycobiology. 43(1): 14-23.

Hou L., Chen Y., Ma C., Liu J., Chen L. & Maa, A. (2011). Effects of environmental factors on dimorphic transition of the jelly mushroom *Tremella fuciformis*. Mycologie. 32(4): 421-428.

Jo W.S., Cho Y.J., Cho D.H., Park S.D., Yoo Y.B. & Seok S.J. (2009). Culture conditions for the mycelial growth of *Ganoderma applanatum*. Mycobiology. 37: 94-102.

Jo W.S., Kang M.J., Choi S.Y., Yoo Y.B., Seok S.J. & Jung H.Y. (2010). Culture conditions for mycelial



- growth of *Coriolus versicolor*. Mycobiology. 38: 195-202.
- Jo W.S., Kim D.G., Seok S.J., Jung H.Y. & Park S.C. (2014). The culture conditions for the mycelial growth of *Auricularia auricula-judae*. Journal of Mushrooms. 12(2): 88-95.
- Jo W.S., Rew Y.H., Choi S.G., Seo G.S., Sung J.M. & Uhm J.Y. (2006). The Culture Conditions for the Mycelial Growth of *Phellinus* spp. The Korean Journal of Mycology. 34(4): 200-205.
- Kalač P. (2010). Trace element contents in European species of wild growing edible mushrooms: a review for the period 2000-2009. Food Chemistry. 122(1): 2-15.
- Kim S.B., Kim S.H., Lee K.R., Shim J.O., Lee M.W., Shim M.J., Lee U.Y. & Lee T.S. (2005). The optimal culture conditions for the mycelial growth of *Oudemansiella radicata*. Mycobiology. 33(4): 230-234.
- Lee E.J, Park H.S., Lee C.J., Kong W.S. & Koo C.D. (2019). Suitable Conditions for Mycelial Culture of *Tremella fuciformis*. The Korean Journal of Mycology. 47: 1-12.
- Lee J., Ha S.J., Lee H.J., Kim M.J., Kim J.H., Kim Y.T., Song K.M., Kim Y.J., Kim H.K. & Jung S.K. (2016). Protective effect of *Tremella fuciformis* Berk extract on LPS-induced acute inflammation via inhibition of the NF-KB and MAPK pathways. Food & Function. 7(7): 3263-3272.
- Letti L.A., Vítola F.M., Pereira G.V., Karp S.G., Medeiros A.B., Costa E.S., Lucas B. & Calos R.S. (2018). Solid-state fermentation for the production of mushrooms. Current Developments in Biotechnology and Bioengineering. pp. 285-318.
- Li Y., Chen J., Lai P., Tang B. & Wu L. (2020). Influence of drying methods on the physicochemical properties and nutritional composition of instant *Tremella fuciformis*. Food Science and Technology. 40(3): 741-748.
- Liu F., Xiang M., Guo Y., Wu X., Lu G., Yang Y. Xingzhong Liu X., Chen S., Zhang G. & Shi W. (2018). Culture conditions and nutrition requirements for the mycelial growth of *Isaria farinosa* (Hypocreales: Cordycipitaceae) and the altitude effect on its growth and metabolome. Scientific Report. 8(1): 1-15.
- Ma X., Yang M., He Y., Zhai C. & Li C. (2021). A review on the production, structure, bioactivities and applications of *Tremella* polysaccharides. International Journal of Immunopathology and Pharmacology. 35: 1-14.
- Mallikarjuna S.E., Ranjini A., Haware D.J., Vijayalakshmi M.R., Shashirekha M.N. & Rajarathnam S. (2013). Mineral Composition of Four Edible Mushrooms. Journal of Chemistry. pp. 1-5.
- Miles P.G. & Chang S.T. (1997). Mushroom biology: Concise basics and current developments. In: Miles, PG, editor. Mushroom Biology: Concise Basics and Current Developments. Singapore: World Scientific Publishing Company. p. 41.
- Nguyễn Văn Giang, Nguyễn Thị Bích Thùy, Vũ Thị Khánh Linh, Nguyễn Duy Trinh & Trần Thu Hà (2021). Ảnh hưởng của điều kiện nuôi cấy đến sinh trưởng hệ sợi của nấm *Phellinus linteus*. Tạp chí Khoa học và Công nghệ Việt Nam. 63(2): 39-43.
- Schmitt J.A., Meisch H.U. & Reinle W. (1977). Heavy metals in higher fungi, II, manganese and iron. Zeitschri fur Naturforschung C. 32(9-10): 712-723.
- Trần Thị Phú (2018). Nghiên cứu thành phần loài nấm lớn thuộc ngành Myxocota, Ascomycota, Basidiomycota ở núi Ngọc Linh, tỉnh Quảng Nam. Luận án tiến sĩ Thực vật học. Học viện Khoa học và Công nghệ. 266tr.
- Wen L., Gao Q., Ma C.W., Ge Y., You L., Liu R.H., Fu X. & Liu D. (2016). Effect of polysaccharides from *Tremella fuciformis* on UV-induced photoaging. Journal of Functional Foods. 20: 400-410.
- Wu Y.J., Wei Z.X., Zhang F.M., Linhardt R.J., Sun P.L. & Zhang A.Q. (2019). Structure, bioactivities and applications of the polysaccharides from *Tremella fuciformis* mushroom: a review. International Journal of Biological Macromolecules. 121: 1005-1010.
- Yang R., Jin Z., Shen T., Pu L. & Li H. (2018). *Tremella fuciformis* polysaccharides attenuate oxidative stress and inflammation in macrophages through miR-155. Analytical Cellular Pathology. pp. 8316-8324.
- Zhao X., Hu Y., Wang D., Guo L., Yang S., Fan Y., Zhao B., Wang Y. & Abula S. (2011). Optimization of sulfated modification conditions of *Tremella* polysaccharide and effects of modifiers on cellular infectivity of NDV. International Journal of Biological Macromolecules. 49(1): 44-49.
- Zhou Y., Chen X., Yi R., Li G., Sun P., Qian Y. & Zhao X. (2018). Immunomodulatory effect of *Tremella* polysaccharides against cyclophosphamide - Induced immunosuppression in mice. Molecules. 23(2): 239.