

NGHIÊN CỨU ĐỊNH DANH VÀ KHẢ NĂNG SINH TRƯỞNG HỆ SỢI CỦA CÁC GIỐNG NẤM BÀO NGƯ THƯƠNG MẠI TRÊN MỘT SỐ MÔI TRƯỜNG DINH DƯỠNG

Bùi Ngọc Trang¹, Ngô Thùy Trâm^{2,4},
Phạm Văn Lộc^{3,4}, Hồ Bảo Thùy Quyên^{1*}

TÓM TẮT

Ở Việt Nam, nấm bào ngư là một trong những loại nấm ăn được nuôi trồng phổ biến. Trong quy trình nuôi trồng nấm, giai đoạn nuôi cấy hệ sợi có vai trò hết sức quan trọng. Môi trường dinh dưỡng là một yếu tố ảnh hưởng đến sự phát triển của hệ sợi. Nghiên cứu này đã thu thập và phân lập được 12 mẫu nấm bào ngư từ các trại trồng và sản xuất meo nấm ở Đồng Nai, Bà Rịa - Vũng Tàu, thành phố Hồ Chí Minh, Long An, Bến Tre, Đồng Tháp và Vĩnh Long. Dựa vào kết quả phân tích vùng trình tự ITS, các mẫu nấm được định danh là: *Pleurotus cf. djamor*, *Pleurotus cf. citrinopileatus*, *Pleurotus cf. ostreatus*, *Pleurotus cf. pulmonarius*. Kết quả khảo sát khả năng phát triển trên 4 môi trường dinh dưỡng bao gồm: khoai tây, cà rốt, giá đỗ và Sabouraud Dextrose cho thấy, hệ sợi của các mẫu nấm đều có thể sinh trưởng trên các môi trường đã chọn, ở dạng nuôi cấy lỏng hoặc thạch. Đối với môi trường rắn, hầu hết các mẫu nấm đều phát triển tốt nhất trên môi trường BGA, với diện tích khuẩn lạc sau 9 ngày nuôi cấy đạt 12,81 – 60,59 cm². Riêng chủng *Pleurotus cf. citrinopileatus* VTM1 có hệ sợi lan tỏa tốt nhất trên môi trường SDA. Trong khi đó, đối với môi trường lỏng, sinh khối của tất cả các chủng nấm đều đạt kết quả cao nhất khi nuôi cấy trên môi trường nước chiết giá đậu xanh hoặc SDB.

Từ khóa: Nấm bào ngư, nhân giống hệ sợi, nuôi trồng nấm.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Với hơn 20 loài được nuôi trồng trên toàn thế giới, chi *Pleurotus* là một trong những nhóm nấm trồng đa dạng nhất. Theo Chang và Miles (2004) thì chi *Pleurotus* gồm khoảng 50 loài. Các loài được nuôi trồng phổ biến trên thế giới bao gồm: *P. ostreatus*, *P. pulmonarius*, *P. citrinopileatus*, *P. djamor*, *P. cystidiosus*, *P. eryngii*... Xét về sản lượng nuôi trồng, nấm bào ngư cho sản lượng cao trong các loài nấm được nuôi trồng trên thế giới và cũng là một trong các loài nấm trồng phổ biến tại Việt Nam đặc biệt tại các tỉnh phía Nam. Các loại nấm bào ngư trồng truyền thống là bào ngư xám, bào ngư trắng, bào ngư Nhật. Gần đây có thêm nhiều loại nấm thương mại như nấm hoàng kim (bào ngư vàng), nấm tiểu yến, nấm đùi gà (bào ngư vua), bào ngư hồng. Với yêu cầu tiêu chuẩn hóa quá trình sản xuất và tạo tiền đề cho các nghiên cứu về các giống nấm rất cần định danh chính xác các giống nấm nuôi trồng thương

mại. Việc định danh các giống nấm hiện nay chủ yếu dựa trên phân tích hình thái theo các khóa phân loại phù hợp (Largent, 1977; Largent *et al.*, 1977). Tuy nhiên một số đặc điểm hình thái như kích thước, màu sắc quả thể dễ biến đổi ở các điều kiện môi trường nuôi trồng. Để định danh chính xác loài nấm cần thiết có sự hỗ trợ của các phương pháp phân loại dựa trên tính tương hợp loài và các dữ liệu phân tử (trình tự và cấu trúc của các gen bảo tồn; các izozymes, allozymes, laccase ngoại bào) (Hibbett và Donoghue, 1998). Tại Việt Nam bước đầu đã có các nghiên cứu trong định danh giống nấm bào ngư bằng phân tích dữ liệu sinh học phân tử (Ngô Thị Phương Dung và cs, 2011; Tran Thi Ngọc My và cs, 2017).

Trong kỹ thuật trồng nấm bào ngư, giai đoạn chuẩn bị giống nấm cấp 1 trên môi trường thạch đóng vai trò quan trọng. Tốc độ lan tỏa nhanh trên môi trường nhân giống cấp 1 và sinh khối tơ nấm cao giúp rút ngắn thời gian sản xuất. Các môi trường sử dụng thành phần tự nhiên gồm các loại dịch chiết rau củ, cao nấm men, pepton. Trong đó môi trường PDA (potato dextrose agar) là môi trường phổ biến nhất. Ngoài ra, một số môi trường khác cũng được sử dụng trong nhân giống cấp 1 nấm bào ngư (Ghazala

¹ Trường Đại học Mở thành phố Hồ Chí Minh

*Email: quyen.hbt@ou.edu.vn

² Viện Nấm và Công nghệ sinh học

³ Trường Đại học Công nghiệp Thực phẩm thành phố Hồ Chí Minh

⁴ Học viện Khoa học và Công nghệ

et al., 2001; Nguyen và Ranamukhaarachchi, 2020). Hiện nay nấm bào ngư cũng được nhân giống trên môi trường lỏng. Nghiên cứu này khảo sát sự sinh trưởng của các giống nấm bào ngư thương mại trên các môi trường khác nhau. Đồng thời, các giống nấm được định danh bằng kỹ thuật sinh học phân tử.

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Nghiên cứu này khảo sát một số mẫu nấm bào ngư được thu thập từ các trang trại trồng và sản xuất meo nấm ở các tỉnh phía Nam, Việt Nam (Bảng 1).

Bảng 1. Danh sách các mẫu nấm bào ngư được khảo sát

TT	Tên địa phương	Địa điểm thu mẫu	Số lượng mẫu thu
1	Nấm bào ngư xám	5	25
2	Nấm bào ngư trắng	4	20
3	Nấm tiểu yến	1	5
4	Nấm bào ngư vàng	1	5
5	Nấm bào ngư hồng	1	5

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Thu thập và định danh các mẫu nấm bào ngư

- *Thu thập mẫu*: Tiến hành thu thập các mẫu nấm bào ngư *Pleurotus* spp. được nuôi trồng phổ biến tại một số trang trại trồng và sản xuất meo nấm ở các tỉnh phía Nam. Theo công bố của Đinh Minh Hiệp và cs (2020), các cơ sở nuôi trồng ở khu vực này trồng nhiều nhất là giống nấm bào ngư xám, kế đó là giống nấm bào ngư trắng. Ngoài ra, hầu hết các trại trồng nấm ở các tỉnh chủ yếu nhập meo giống từ cùng một lò sản xuất meo. Do đó, tại mỗi địa điểm thu mẫu, nhóm nghiên cứu tiến hành thu đại diện ở

một trại nuôi trồng, số lượng 5 mẫu/trại. Riêng đối với mẫu bào ngư vàng và mẫu bào ngư hồng chỉ ghi nhận có nuôi trồng tại tỉnh Vĩnh Long, mẫu nấm tiểu yến chỉ được trồng ở thành phố Hồ Chí Minh ở mô hình nhà nuôi trồng có kiểm soát nhiệt độ.

Mẫu nấm tươi sau khi thu thập được bảo quản trong các túi giấy, phân lập trên môi trường PDA (Potato dextrose agar) và làm thuần qua vài lần cấy chuyển.

- *Định danh các chủng nấm bào ngư dựa trên vùng trình tự ITS và LSU*: Mẫu nấm được tiến hành tách chiết DNA bộ gene bằng dung dịch CTAB, sử dụng các cặp mồi định dạng loài: ITS (ITS1-TCC GTA GGT GAA CCT GCG G; ITS4-TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC), LSU (LR0R-ACC CGC TGA ACT TAA GC; LR5- TCC TGA GGG AAA CTT CG) (James *et al.*, 2006) để chạy PCR và xác định trình tự theo phương pháp Sanger. Kết quả giải trình tự được so sánh với các dữ liệu có trên GenBank thông qua chương trình Blast của NCBI. Phân tích tương đồng và xây dựng cây phát sinh loài bằng phần mềm Mega 7.

2.2.2. Khảo sát ảnh hưởng của môi trường đến sự sinh trưởng của hệ sợi nấm bào ngư trên môi trường rắn

Thí nghiệm sử dụng 4 loại môi trường với thành phần theo bảng 2. Các giống nấm được chuẩn bị trên đĩa petri chứa môi trường PDA sau 7 ngày nuôi cấy được đục lỗ tròn có diện tích 20 mm² tại rìa tầng trưởng của tơ nấm. Các miếng thạch có tơ nấm sau đó được chuyển vào petri đường kính 90 cm chứa 20 ml môi trường của từng nghiệm thức đã được chuẩn bị. Đo diện tích tơ nấm sau 9 ngày nuôi cấy. Diện tích tơ nấm xử lý bằng phần mềm Image J (National Institutes of Health, Hoa Kỳ).

Bảng 2. Thành phần môi trường rắn

TT	Môi trường	Kí hiệu	Thành phần môi trường
1	Thạch khoai tây	PDA (Potato dextrose agar)	Potato extract 4 g/L, glucose 20 g/L, agar 15 g/L
2	Thạch Sabouraud Dextrose	SDA (Sabouraud Dextrose Agar)	Pepton 10 g/L, glucose 40 g/L, agar 15 g/L
3	Thạch cà rốt	CGA (Carrot Glucose Agar)	Cà rốt 200 g/L, glucose 20 g/L, agar 15 g/L
4	Thạch giá đỗ	BGA (Beansprouts Glucose Agar)	Giá đỗ 200 g/L, glucose 20 g/L, agar 15g/L

2.2.3. Khảo sát ảnh hưởng môi trường đến sinh khối của nấm bào ngư trong điều kiện lỏng

Thí nghiệm thực hiện tương tự như thí nghiệm ở trên môi trường rắn. Thành phần môi trường được trình bày theo bảng 3. Mỗi bình nuôi cấy có thể tích

100 ml chứa 40 ml môi trường đã được chuẩn bị. cấy được thu nhận và được sấy khô ở nhiệt độ 60°C. Nuôi cấy điều kiện lỏng tĩnh. Hệ sợi sau 14 ngày nuôi đến khối lượng không đổi để xác định khối lượng.

Bảng 3. Thành phần môi trường lỏng

STT	Môi trường	Kí hiệu	Thành phần môi trường
1	Dịch chiết khoai tây	PDB (Potato Dextrose Broth)	Potato extract 4 g/L, glucose 20 g/L
2	Sabouraud Dextrose	SDB (Sabouraud Dextrose Broth)	Pepton 10 g/L, glucose 40 g/L
3	Dịch chiết cà rốt	CGB (Carrot Glucose Broth)	Cà rốt 200 g/L, glucose 20 g/L
4	Dịch chiết giá đỗ	BGB (Beansprouts Glucose Broth)	Giá đỗ 200 g/L, glucose 20 g/L

2.2.4. Điều kiện thí nghiệm, bố trí thí nghiệm và xử lý số liệu

Các thí nghiệm tiến hành ở điều kiện nhiệt độ phòng nuôi cấy là 25°C, tối hoàn toàn. Thí nghiệm được bố trí theo thể thức hoàn toàn ngẫu nhiên (CRD) với 3 lần lặp lại. Số liệu được phân tích bằng phần mềm Minitab 19, sử dụng bằng phương pháp so sánh Turkey với độ tin cậy 95%.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Kết quả thu thập và định danh

3.1.1. Kết quả thu thập và phân lập các mẫu nấm bào ngư

Nghiên cứu đã thu thập được 60 mẫu nấm bào ngư và phân lập được 12 chủng nấm từ các mẫu này. Trong đó có 5 chủng thuộc giống nấm bào ngư xám (XTM 4, 6, 10, 11, 13), 4 chủng thuộc giống nấm bào ngư trắng (TTM 1, 3, 4, 5), 1 chủng thuộc giống nấm bào ngư vàng (VTM1), 1 chủng thuộc giống nấm bào

ngư hồng (HTM1) và 1 chủng thuộc giống nấm bào ngư yến (YTM1). Các mẫu phân lập có tên địa phương và số lượng được thể hiện ở bảng 4, hình thái quả thể đặc trưng được thể hiện ở hình 1.



Hình 1. Hình thái mẫu quả thể nấm bào ngư thu thập được

a: XTM10; b: XTM13; c: XTM11; d: XTM4; e: XTM6; f: TTM4; g: TTM3; h: TTM5; i: TTM1; k: YTM1; l: VTM1; m: HTM1

Bảng 4. Danh sách các mẫu nấm bào ngư *Pleurotus* spp. thu thập được

STT	Tên địa phương	Số lượng chủng phân lập được	Kí hiệu	Địa điểm thu mẫu
1	Nấm bào ngư xám	1	XTM 4	Đồng Nai
		1	XTM 6	Vũng Tàu
		1	XTM 10	Bến Tre
		1	XTM 11	Vĩnh Long
		1	XTM 13	Long An
2	Nấm bào ngư trắng	1	TTM 1	Đồng Nai
		1	TTM 3	Vĩnh Long
		1	TTM 4	Bến Tre
		1	TTM 5	Đồng Tháp
3	Nấm tiểu yến	1	YTM 1	Thành phố Hồ Chí Minh
4	Nấm bào ngư vàng	1	VTM 1	Vĩnh Long
5	Nấm bào ngư hồng	1	HTM 1	Vĩnh Long

Các mẫu nấm sau khi đã làm thuần được giữ trong ống thạch nghiêng MYA (Malt yeast agar) và bảo quản ở 4°C.

3.1.2. Kết quả định danh dựa trên vùng trình tự ITS và LSU

Các phân tích trình tự từ vùng ITS và LSU cho thấy các chủng nấm định danh đều thuộc chi *Pleurotus* với mức độ tương đồng cao, đều trên 99% (Bảng 5). Trong đó, 5 mẫu XTM4, XTM6, XTM10, XTM11 và XTM13 được định danh là *Pleurotus cf. pulmonarius*, 5 mẫu TTM1, TTM3, TTM4, TTM5, YTM1 là *Pleurotus cf. ostreatus*, VTM1 là *Pleurotus cf. citrinopileatus*, HTM1 là *Pleurotus cf. djamor*.

Cây phát sinh loài Maximum Likelihood (ML) theo mô hình Kimura 2 yếu tố được xây dựng bằng trình tự ITS và LSU giúp khẳng định lại lần nữa các kết quả so sánh với dữ liệu từ NCBI.

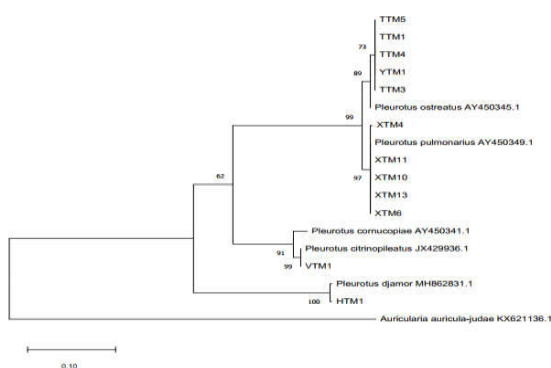
Với cây phát sinh loài sử dụng kết quả giải trình tự ITS (Hình 2), các chủng phân lập XTM4, XTM6, XTM10, XTM11 và XTM13 được xác định là *Pleurotus pulmonarius* tập hợp thành một nhánh với chỉ số bootstrap là 97% cùng với trình tự tham chiếu

Pleurotus pulmonarius AY450349.1. Các mẫu nấm có quả thể màu trắng là TTM1, TTM3, TTM4, TTM5 và mẫu nấm tiểu yếm YTM1 tạo thành một phân nhánh khác với chỉ số bootstrap đạt 89% với trình tự *Pleurotus ostreatus* AY450345.1. VTM1 được xếp chung nhánh với *Pleurotus citrinopileatus* AY450341.1 và *Pleurotus cornucopiae* JX429936.1. Nhánh còn lại chứa HTM1 và *Pleurotus djamor* MH862831.1.

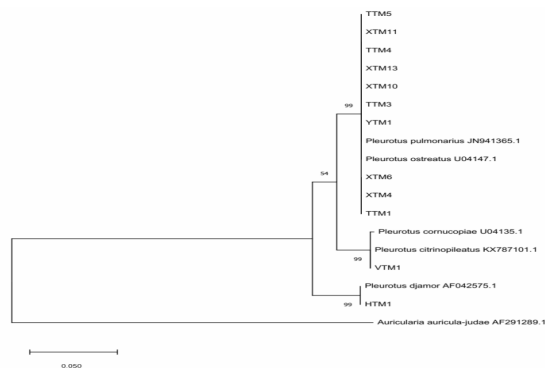
Kết quả tương tự cũng thu được khi xây dựng cây phát sinh loài Maximum Likelihood với dữ liệu từ vùng LSU (Hình 3). Tuy nhiên, vùng trình tự này vẫn chưa xác định được rõ ràng mối quan hệ giữa các loài trong nhóm do các mẫu thuộc *Pleurotus ostreatus* và *Pleurotus pulmonarius* vẫn còn nằm chung trong một nhánh với tỷ lệ bootstrap khá cao (99%).

Bảng 5. So sánh trình tự vùng ITS và LSU của các mẫu nấm bào ngư với dữ liệu Genbank

STT	Tên mẫu	Độ bao phủ (%) (ITS/LSU)	Độ tương đồng (%) (ITS/LSU)	Tên loài tương đồng
1	XTM4	100/100	99,54/100	<i>Pleurotus pulmonarius</i>
2	XTM6	99/99	100/100	<i>Pleurotus pulmonarius</i>
3	XTM10	100/100	100/100	<i>Pleurotus pulmonarius</i>
4	XTM11	100/100	100/100	<i>Pleurotus pulmonarius</i>
5	XTM13	100/100	100/100	<i>Pleurotus pulmonarius</i>
6	TTM1	100/99	100/100	<i>Pleurotus ostreatus</i>
7	TTM3	100/100	100/100	<i>Pleurotus ostreatus</i>
8	TTM4	100/100	99,00/100	<i>Pleurotus ostreatus</i>
9	TTM5	100/100	99,56/99,89	<i>Pleurotus ostreatus</i>
10	VTM1	100/99	100/100	<i>Pleurotus citrinopileatus</i>
11	HTM1	100/99	99,02/100	<i>Pleurotus djamor</i>
12	YTM1	100/99	100/100	<i>Pleurotus ostreatus</i>



Hình 2. Cây phát sinh loài ITS theo phương pháp Maximum Likelihood (ML) theo mô hình Kimura 2 yếu tố của các chủng *Pleurotus* spp. (bootstrap lặp lại 1.000 lần)



Hình 3. Cây phát sinh loài LSU theo phương pháp Maximum Likelihood (ML) theo mô hình Kimura 2 yếu tố của các chủng *Pleurotus* spp. (bootstrap lặp lại 1.000 lần)

3.2. Ảnh hưởng của môi trường đến sự sinh trưởng của hệ sợi nấm bào ngư trên môi trường rắn

Sau 9 ngày nuôi cấy diện tích hệ sợi nấm được trình bày trong bảng 6.

Bảng 6. Diện tích hệ sợi nấm sau 9 ngày nuôi cấy trên các môi trường rắn

Chủng nấm	Diện tích hệ sợi nấm sau 9 ngày nuôi cấy trên các môi trường dinh dưỡng (cm ²)			
	CGA	BGA	PDA	SDA
HTM1	27,23 ^{bcd} ± 1,82	34,42 ^c ± 4,85	24,07 ^{abcd} ± 14,82	23,73 ^{bc} ± 3,01
TTM1	8,33 ^f ± 1,01	12,81 ^d ± 2,38	12,30 ^d ± 3,13	7,51 ^d ± 1,69
TTM3	10,92 ^{ef} ± 1,42	33,12 ^c ± 2,26	15,68 ^{cd} ± 1,05	24,45 ^{bc} ± 5,52
TTM4	22,98 ^{bcd} ± 7,75	35,54 ^c ± 2,31	21,42 ^{cd} ± 1,14	18,55 ^{bcd} ± 1,56
TTM5	17,32 ^{def} ± 8,47	35,16 ^c ± 1,28	11,54 ^d ± 0,96	14,34 ^{cd} ± 4,62
VTM1	14,71 ^{def} ± 3,25	11,65 ^d ± 5,70	7,81 ^d ± 5,54	20,00 ^{bcd} ± 3,04
XTM10	39,24 ^{ab} ± 11,82	51,74 ^{ab} ± 0,53	32,74 ^{abc} ± 9,21	25,24 ^{bc} ± 11,77
XTM11	50,47 ^a ± 5,79	40,31 ^{bc} ± 1,32	20,24 ^{bcd} ± 5,98	57,86 ^a ± 2,25
XTM13	51,07 ^a ± 8,10	60,59 ^a ± 0,59	39,29 ^{ab} ± 2,39	20,82 ^{bcd} ± 1,48
XTM4	35,39 ^{abc} ± 2,82	51,61 ^{ab} ± 1,26	34,82 ^{abc} ± 10,82	15,55 ^{cd} ± 4,43
XTM6	25,07 ^{bcd} ± 6,17	42,69 ^{bc} ± 9,97	41,86 ^a ± 3,46	18,05 ^{bcd} ± 2,96
YTM1	30,24 ^{bcd} ± 5,99	35,90 ^c ± 4,45	24,64 ^{abcd} ± 3,53	30,52 ^b ± 5,93

Ghi chú: Các chữ cái khác nhau biểu diễn mức độ sai biệt có ý nghĩa (theo cột) ở độ tin cậy 95%.

Kết quả cho thấy các chủng nấm đều phát triển trên các môi trường được khảo sát. Các môi trường này cũng được Nguyễn Lâm Dũng (2005), Trần Văn Mão (2011) đề nghị sử dụng để phân lập và giữ giống nấm. Trong nghiên cứu này, môi trường CGA chủng nấm có hệ sợi sinh trưởng tốt nhất là XTM11 và XTM13; trên môi trường BGA là XTM13; trên môi trường PDA là XTM6; trên môi trường SDA là XTM11. Khi xử lý số liệu chung cho thấy giống XTM11 và XTM13 cho tăng trưởng cao nhất, thấp nhất là giống TTM1. Khi xử lý số liệu so sánh giữa các môi trường cho thấy môi trường BGA cho hệ sợi tơ tăng trưởng cao hơn các môi trường còn lại. Theo Nguyễn Lâm Dũng (2005), môi trường có giá đỗ hoặc cà rốt cũng phù hợp để nuôi cấy một số nấm ăn và nấm dược liệu. Tuy nhiên vẫn chưa có công bố khoa học về số liệu sinh trưởng của hệ sợi nấm bào ngư trên hai môi trường này.

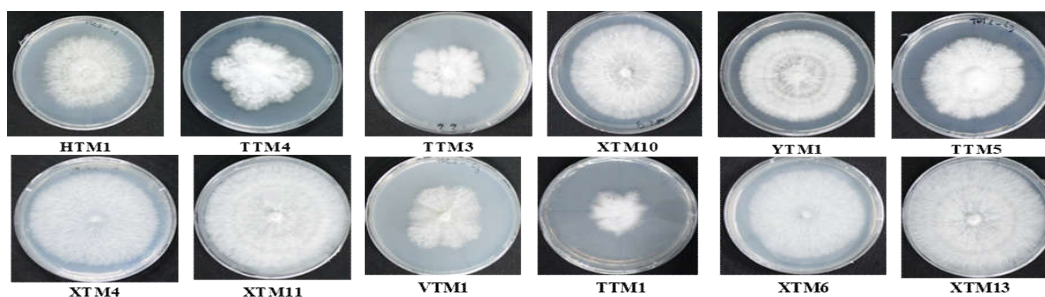
Trên nhóm nấm bào ngư xám, nghiên cứu của Hồ Bảo Thùy Quyên và cs (2019) trên các môi trường PDA, MYA (Malt Yeast extract Agar), SDA, CGA và BGA cho thấy các chủng nấm phát triển tốt trên môi trường BGA và phát triển chậm trên môi trường SDA. Nghiên cứu của Nabeela và Farhat (2018) cho thấy đường kính vòng lan tơ trên môi trường PDA của loài *P. pulmonarius* ở ngày thứ 8 là

4,01 cm (tương đương 12,63 cm²), thấp hơn các chủng của nghiên cứu này.

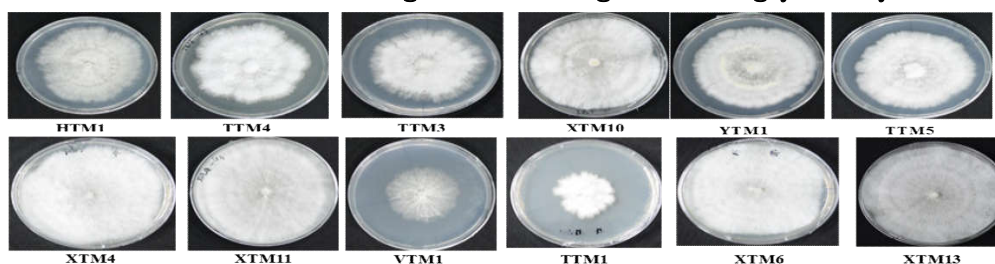
Trên nhóm nấm bào ngư trắng, Hà Thị Hoa và Chun – Li Wang (2015) nghiên cứu tơ nấm *P. ostreatus* lan đầy petri đường kính 9 cm sau 8 ngày cấy (tương đương 63,59 cm²). Theo nghiên cứu của Nguyen và Ranamukhaarachchi (2020), *P. ostreatus* trên môi trường PDA đã lan được 32,46 cm² ở ngày thứ 7. Như vậy, các chủng nấm bào ngư trắng của nghiên cứu này có tốc độ lan tơ trên PDA thấp hơn so với các nghiên cứu đã công bố trước.

Trên nhóm nấm bào ngư vàng, nghiên cứu của Nguyễn Hoàng Thanh và cs (2019) cho thấy diện tích khuẩn lạc *P. citrinopileatus* là 4,52 cm² sau 8 ngày nuôi cấy, thấp hơn nghiên cứu này. Nghiên cứu này cũng chỉ ra rằng môi trường PDA có bổ sung nước dừa hay các muối như KH₂PO₄ (3 g/l), MgSO₄ (1,5 g/l) làm gia tăng tốc độ lan tơ rõ rệt.

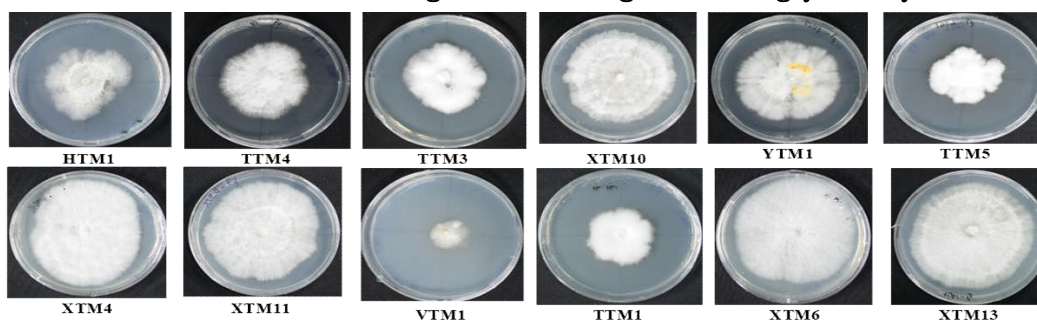
Trên nhóm nấm bào ngư hồng, nghiên cứu của Satpal và Gopal (2018) cho thấy ngày thứ 8 loài *P. djamor* có đường kính lan tơ là 65,67 mm (tương đương diện tích 33,85 cm²), cao hơn nghiên cứu này. Nghiên cứu này còn chỉ ra một số môi trường thay thế khác có khả năng đẩy nhanh tốc độ lan tơ của *P. djamor* như môi trường cao yến mạch, cao lúa mạch...



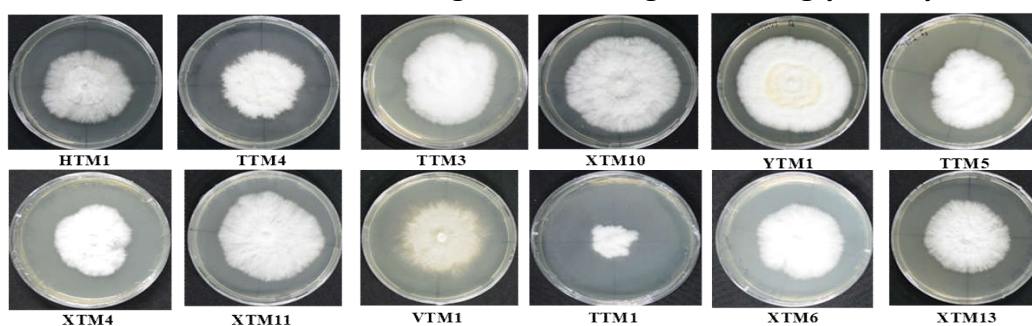
Hình 4. Tơ nấm các mẫu bào ngư trên môi trường CGA sau 9 ngày nuôi cấy



Hình 5. Tơ nấm các mẫu bào ngư trên môi trường BGA sau 9 ngày nuôi cấy



Hình 6. Tơ nấm các mẫu bào ngư trên môi trường PDA sau 9 ngày nuôi cấy



Hình 7. Tơ nấm các mẫu bào ngư trên môi trường SDA sau 9 ngày nuôi cấy

3.3. Ảnh hưởng môi trường đến sinh khối của nấm bào ngư trong điều kiện lỏng

Kết quả thí nghiệm được trình bày trong bảng 7 cho thấy sợi nấm tăng trưởng tốt trên các môi trường được sử dụng trong khảo sát sau 14 ngày. Trong đó, môi trường giá đỗ (BGB) và môi trường Sabouraud Dextrose (SDB) cho sinh khối cao hơn môi trường

cà rốt (CGB) và khoai tây (PDB). Khối lượng khô của hệ sợi nấm nuôi cấy trên môi trường SDB có lượng sinh khối cao nhất, tiếp theo là môi trường BGB. Thành phần của hai môi trường này có hàm lượng dinh dưỡng cao hơn các môi trường còn lại. Trong 100 g giá đỗ có chứa 5,1 g glucid (nguồn C), 5,5 g protein (nguồn N) và nhiều vitamin, khoáng chất (Viện Dinh dưỡng, 2007) cần thiết cho sự phát

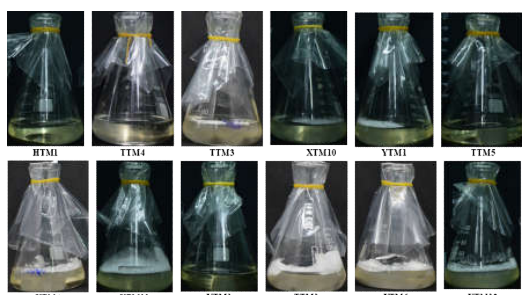
triển của hệ sợi. Các chủng nấm bào ngư phát triển chậm trên môi trường CGB có thể do trong môi trường này có tỉ lệ C/N thấp (7,8 g glucid và 1,5 g protein) thấp hơn so với nghiên cứu của Bellettini *et al.* (2016) (tỉ lệ C/N thích hợp từ 28 - 30% đối với các bon và 1% đối với nito).

Theo Chanida *et al.* (2020), nấm bào ngư trắng (*P. ostreatus*) sau 7 ngày nuôi cấy trên môi trường PDB thu được 3,76 g/l sinh khối khô tương ứng với 150,4 mg/40 ml. Trong khi đó, các chủng bào ngư trắng trong thí nghiệm này phải cần 14 ngày mới cho sinh khối tương đương.

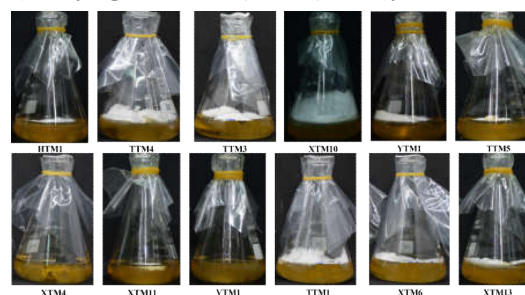
Bảng 7. Sinh khối sợi tơ nấm trên các môi trường lỏng

Chủng nấm	Sinh khối nấm khô trên các môi trường dinh dưỡng (mg)			
	CGB	BGB	PDB	SDB
HTM1	63,3 ^{cd} ± 10,7	326,7 ^a ± 63,7	66,4 ^c ± 19,1	286,9 ^{abc} ± 26,7
TTM1	195,9 ^{ab} ± 27,2	256,6 ^{ab} ± 35,5	147,9 ^{bcd} ± 30,4	355,0 ^{ab} ± 62,0
TTM3	167,4 ^{abc} ± 76,4	233,8 ^b ± 38,9	144,6 ^{bcd} ± 16,2	283,7 ^{abc} ± 26,0
TTM4	109,7 ^{abcd} ± 46,8	265,1 ^{ab} ± 27,8	118,5 ^{cde} ± 13,6	358,5 ^{ab} ± 12,5
TTM5	93,9 ^{bcd} ± 49,0	304,0 ^{ab} ± 11,3	94,8 ^{de} ± 42,8	290 ^{abc} ± 49,4
VTM1	30,5 ^d ± 12,4	330,8 ^a ± 28,4	87,4 ^{de} ± 11,6	181,8 ^{bc} ± 45,8
XTM10	130,8 ^{abcd} ± 54,4	289,7 ^{ab} ± 16,0	116,0 ^{cde} ± 20,1	315,5 ^{ab} ± 11,6
XTM11	159,5 ^{abc} ± 11,1	294,3 ^{ab} ± 20,5	93,1 ^{de} ± 12,5	246,0 ^{bc} ± 53,9
XTM13	99,4 ^{abcd} ± 41,7	135,9 ^c ± 27,8	231,1 ^a ± 15,9	306,0 ^{ab} ± 49,5
XTM4	125,2 ^{abcd} ± 13,6	221,8 ^{bc} ± 28,8	170,6 ^{abc} ± 25,3	151,4 ^c ± 83,3
XTM6	211,7 ^a ± 12,5	232,4 ^b ± 29,7	199,3 ^{ab} ± 18,2	383,7 ^a ± 71,7
YTM1	91,5 ^{bcd} ± 23,7	263,5 ^{ab} ± 7,1	123,1 ^{cde} ± 23,6	336,1 ^{ab} ± 22,6

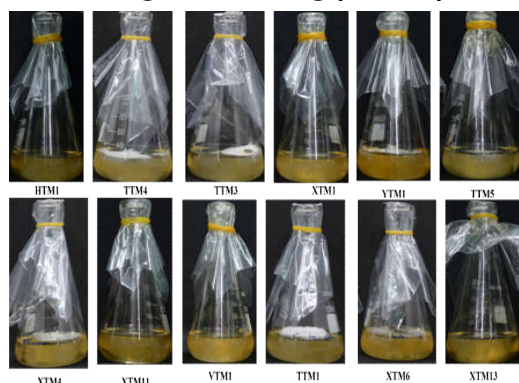
Ghi chú: Các chữ cái khác nhau biểu diễn mức độ sai biệt có ý nghĩa (theo cột) ở độ tin cậy 95%



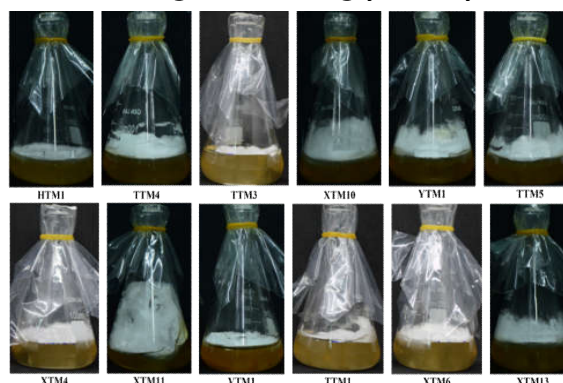
Hình 8. Hệ sợi của các chủng nấm bào ngư trên môi trường CGB sau 14 ngày nuôi cấy



Hình 10. Hệ sợi của các chủng nấm bào ngư trên môi trường SDB sau 14 ngày nuôi cấy



Hình 9. Hệ sợi của các chủng nấm bào ngư trên môi trường PDB sau 14 ngày nuôi cấy



Hình 11. Hệ sợi của các chủng nấm bào ngư trên môi trường BGB sau 14 ngày nuôi cấy

4. KẾT LUẬN

Dựa vào kết quả phân tích vùng trình tự ITS, các chủng nấm khảo sát được định danh là: *Pleurotus cf. djamor*, *Pleurotus cf. citrinopileatus*, *Pleurotus cf. ostreatus* và *Pleurotus cf. pulmonarius* đều thuộc chi *Pleurotus*. Tất cả các chủng này đều phát triển trên 4 môi trường dinh dưỡng bao gồm môi trường cà rốt, giá đỗ xanh, khoai tây và Sabouraud Dextrose. Sau 9 ngày nuôi cấy trên môi trường rắn, kết quả cho thấy các chủng nấm phát triển tốt nhất trên môi trường giá đỗ BGA (chủng XTM13 và XTM11 cho diện tích khuẩn lạc cao nhất, thấp nhất là chủng TTM1). Trong môi trường lỏng, sinh khối thu được từ môi trường giá đỗ và môi trường Sabouraud Dextrose của các chủng nấm (trừ XTM4 và XTM13) cao hơn so với sinh khối thu từ 2 môi trường còn lại.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được tài trợ bởi nhiệm vụ khoa học công nghệ cấp cơ sở năm 2019 thuộc Chương trình phát triển nông nghiệp ứng dụng công nghệ cao của Ban Quản lý Khu Nông nghiệp Công nghệ cao thành phố Hồ Chí Minh – “Thu thập, định danh, bước đầu hình thành bộ giống các loài nấm bào ngư (*Pleurotus* spp.) và nấm rơm (*Volvariella* spp.) ở các tỉnh phía Nam Việt Nam”.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Chang S. T., Miles P. G. (2004). *Mushrooms: cultivation, nutritional value, medicinal effect and environmental impact - second Ed.* CRC Press, Florida, USA.
2. Bellettini M. B., Fiorda F. A., Maievas H. A., Teixeira G. L., Ávila S., Hornung P. S., Júnior A. M., Ribani R. H. (2016). Factors affecting mushroom *Pleurotus* spp. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 26 (4): 633 - 646.
3. Chanida K., Araya R., Seksan M., Chompoonuch K. and Sumalee M. (2020). Effects of natural carbon sources and temperature on mycelium cultivations of *Lentinus squarrosulus* (Mont.), *Lentinus polychrous* Lev., *Pleurotus ostreatus* (Jacq.ex Fr.) P. Kumm. and *Volvariella volvacea* (Bull.) Singer., *Thai Journal of Science and Technology*, 9 (4): 540 - 553.
4. Đình Minh Hiệp, Lê Thanh Nhân, Trần Tài (2020). Nhu cầu và định hướng phát triển giống nấm phục vụ nghiên cứu và sản xuất ở phía Nam, Việt

Nam. *Báo cáo Hội nghị Nấm học toàn quốc lần thứ III năm 2020*, Đắk Lắk, 28 - 29/11/2020.

5. Ngô Thị Phương Dung, Đặng Bích Tuyền, Phạm Hồng Quang (2011). Đặc tính hình thái, di truyền và điều kiện nuôi cấy meo giống của nấm bào ngư. *Tạp chí Khoa học - Trường Đại học Cần Thơ*, 18b: 146 - 156.
6. Nguyễn Lân Dũng (2005). *Công nghệ nuôi trồng nấm - tập 1 (tái bản)*. NXB Nông nghiệp, Hà Nội.
7. Ghazala N., Shahid H. M., Rukhsana B., Afzal M. and Salman W. M. (2001). Effect of three different culture media on mycelial growth of oyster and Chinese mushrooms. *Journal of Biological Sciences*, 1: 1130 -1133.
8. Hibbett D. S., Donoghue M. J. (1998). Integrating phylogenetic analysis and classification in fungi. *Mycologia*, 90: 347 - 356.
9. Hoa H. T., 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.
10. James T. Y., Kauff F., Schoch C. L., Matheny P. B., [...], Vilgalys R. (2006). Reconstructing the early evolution of Fungi using a six - gene phylogeny. *Nature*, 443: 818 - 822.
11. Largent D. (1977). *How to Identify Mushrooms to Genus I: Macroscopic Features*. Mad River Press, United State of America.
12. Largent D., Johnson D., Watling R...(1977). *How to Identify Mushrooms to Genus III: Microscopic Features*. Mad River Press, United State of America.
13. Trần Văn Mão (2011). *Sử dụng vi sinh vật có ích - tập 1 (tái bản lần 3)*. NXB Nông nghiệp, Hà Nội.
14. Tran Thi Ngoc My, Ho Bao Thuy Quyen, Pham Nguyen Duc Hoang (2017). Isolating the monokaryon collection of *Pleurotus* spp. *Journal of Science and Technology*, 55 (1B): 75 - 92.
15. Nabeela I., Farhat A. A. (2018). Analysis of physicochemical parameters to evaluate the mycelia growth of *Pleurotus pulmonarius*. *Annual Research & Review in Biology*, 25 (2): 1 - 13.

16. Nguyen M. T., Ranamukhaarachchi S. L. (2020). Effect of different culture media, grain sources and alternate substrates on the mycelial growth of *Pleurotus eryngii* and *Pleurotus ostreatus*. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 23 (3): 223 - 230.
17. Hồ Bảo Thùy Quyên, Ngô Thùy Trâm, Lê Quang Anh Tuấn, Bùi Thị Như Quỳnh, Nguyễn Hòa Minh Tuấn, Cổ Đức Trọng (2019). Khả năng sinh trưởng của hệ sợi của các chủng nấm bào ngư xám (*Pleurotus* sp.) trên một số môi trường thạch dinh dưỡng. *Tạp chí Di truyền và Ứng dụng* (Chuyên san Nấm và Công nghệ sinh học): 112 - 118.
18. Satpal S., Gopal S. (2018). Effect of different pH, temperature and media on radial growth of oyster mushrooms (*Pleurotus djamor*). *Bulletin of Environment, Pharmacology and Life Sciences*, 7 (11): 73 - 77.
19. Nguyễn Hoàng Thanh, Đỗ Tấn Khang, Nguyễn Tường Vi, Trần Nhân Dũng (2019). Nghiên cứu môi trường và giá thể phù hợp để sản xuất nấm hoàng kim (*Pleurotus citrinopileatus* Singer). *Tạp chí Khoa học - Trường Đại học Cần Thơ*, 55 (Số chuyên đề: Công nghệ sinh học) (2): 95 - 102.
20. Viện Dinh dưỡng (2007). *Bảng thành phần thực phẩm dinh dưỡng Việt Nam*. NXB Y học, Hà Nội.

IDENTIFICATION AND MYCELIUM GROWTH ON NUTRITION MEDIA OF COMMERCIAL OYSTER MUSHROOM STRAINS

Bui Ngoc Trang, Ngo Thuy Tram,
Pham Van Loc, Ho Bao Thuy Quyen

Summary

In Vietnam, oyster mushroom is one of edible mushrooms that is popularly cultured. Culturing mycelium has important role in mushroom cultivation. Nutrition media is a factor that effect mycelial growth. In this study, 12 strains of oyster mushrooms were collected from mushroom farms in Dong Nai, Vung Tau, HCMC, Long An, Ben Tre, Dong Thap, Vinh Long. Based on the analysis of ITS sequences, they were identified as *Pleurotus cf. djamor*, *Pleurotus cf. citrinopileatus*, *Pleurotus cf. ostreatus* and *Pleurotus cf. pulmonarius*. All strains were cultured on nutrition media. The survey results showed that mycelia of all strains could grow on broth and agar media of Sabouraud Dextrose, potato extract, carrot extract and green bean sprout extract. Most strains grew best on green bean sprout extract agar medium, with the mycelial area after 9 cultured days of 12.81 – 60.59 cm². Only *Pleurotus cf. citrinopileatus* VTM1 strain had the best mycelium growth on SDA. Moreover, the highest dry biomass of all strains were obtained on broth medium of green bean extract or SDB.

Keywords: *Mushroom cultivation, mycelial growth, oyster mushroom.*

Người phản biện: PGS.TS. Nguyễn Văn Đồng

Ngày nhận bài: 27/4/2021

Ngày thông qua phản biện: 28/5/2021

Ngày duyệt đăng: 4/6/2021