

KẾT QUẢ NUÔI TRỒNG NẤM LINH CHI TẦNG *Ganoderma applanatum* PHÁT HIỆN Ở TỈNH BIÊN, AN GIANG

Hồ Thị Thu Ba¹, Trần Nhân Dũng²,
Trịnh Tam Kiệt³, Trương Trần Thuận²

TÓM TẮT

Nấm linh chi tầng được phát hiện ở xã An Hảo, Tỉnh Biên, tỉnh An Giang được xác định là loài *Ganoderma applanatum* bằng phương pháp truyền thống và dẫn liệu ITS với độ tương đồng 97% so với GenBank. Môi trường nhân giống cấp 1 tốt nhất là Rapper trong 4 ngày tơ lan đầy ống nghiệm; môi trường gạo lức là môi trường nhân giống cấp 2 tối ưu trong 11 ngày trên bình nuôi cấy; môi trường tạo thể quả thích hợp nhất là môi trường 90% mật của cao su + 5% cám + 5% bắp trong 25 ngày. Thu quả thể sau 55 ngày tơ ăn trắng bạch và hiệu suất sinh học đạt 0,94%. Xác định hàm lượng polysaccharide và triterpenoid trong nấm nhận thấy quy trình nuôi trồng đã xây dựng không ảnh hưởng tới hàm lượng 2 chất này trong quả thể.

Từ khóa: Môi trường nhân giống, nấm linh chi tầng, *Ganoderma applanatum*, nấm vùng Thất Sơn, polysaccharide, triterpenoid

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Chi nấm *Ganoderma* hay còn gọi là chi nấm linh chi, là một trong những chi nấm dược liệu quan trọng. Nấm linh chi *Ganoderma* sp. được ghi chép từ lâu trong các thư tịch cổ của Trung Hoa như Thần Nông bản thảo hay Bản thảo cương mục của Lý Thời Trân thời Minh với các tác dụng: giải độc, kéo dài tuổi thọ... Thần Nông bản thảo còn xếp nấm linh chi vào loại thượng phẩm hơn cả nhân sâm: “Linh chi là thuốc kết tinh được cái quý của mây mưa trên núi cao, cái tinh của ngũ hành trong ngày đêm mà khoe năm sắc nên có thể giữ sức khỏe cho các bậc đế vương” (Yong, 2008). Ngày nay, các nghiên cứu đã chứng minh tác dụng “thần kì” của nấm linh chi đa phần là do tác động của các polysaccharide và triterpenoid đối với cơ thể sinh vật sử dụng (Yong, 2008).

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Nguồn mẫu: Nấm linh chi tầng *G. Applanatum* thu được tại xã An Hảo, Tỉnh Biên, An Giang.

Môi trường phân lập PDA (Nguyễn Lâm Dũng, 2003) 200 g khoai tây, 20 g dextrose, nước cất 1000 mL.

Môi trường nhân giống cấp 1 Raper (Nguyễn Lâm Dũng, 2003): 2 g Pepton, 2 g yeast extract, 0,5 g $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 1 g K_2HSO_4 , 20 g Glucose, 1000 mL nước cất.

Môi trường nhân giống cấp 2 gạo lức nấu vừa nở.

Môi trường ra quả thể trên mùn của cao su bổ sung 5% cám và 5% bột bắp.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp định danh

Phân tích hình thái: Dựa trên đặc điểm hình thái mô tả về *Ganoderma applanatum* của Trịnh Tam Kiệt (2011). Phân tích rRNA với cặp môi ITS1-ITS4 (White *et al.*, 1990).

ITS1: 5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3'

ITS 4: 5'-TCCTCCGCTTATTG ATATGC-3'

Sau đó kết quả được so sánh với trình tự chuẩn trong GenBank.

2.2.2. Tách phân lập và nhân giống nấm

Mẫu nấm được tách phân lập và thuần khiết giống, khảo sát hệ sợi trên môi trường PDA, nhân giống cấp I, cấp II theo Nguyễn Lâm Dũng (2003).

2.2.3. Nuôi trồng

Bịch phơi sau khi cấy giống đưa vào nhà ủ tơ 26 - 28°C, tối, thoáng. Sau khi hệ sợi lan kín bịch, đưa vào nhà trồng mở nút cổ nhiệt độ 24 - 28°C, độ ẩm không khí 85 - 90%.

2.2.4. Đánh giá hiệu suất sinh học

Thu hái nấm cân trọng lượng khô, xác định năng suất sinh học sơ bộ qua đợt thu hái đầu tiên sau khi tơ lan đầy bịch khoảng 60 đến 70 ngày.

2.2.5. Định lượng triterpenoid

- Được tiến hành theo phương pháp của Dnyaneshwar Madkukar Nagmoti và Archana Ramesh Juvekar (2013).

2.2.6. Định lượng polysaccharide

- Bằng phương pháp Phenol Sulfuric Acid (PSA) (Foster and Cornelia, 1961).

¹ Đại học An Giang; ² Đại học Cần Thơ

³ Viện Vi sinh vật và Công nghệ sinh học

2.2.7. Phương pháp xử lý số liệu

Số liệu được xử lý bằng chương trình Microsoft Excel 2010 và phần mềm thống kê Minitab 17.0.

2.3. Địa điểm và thời gian nghiên cứu

Nghiên cứu được thực hiện từ tháng 8/2016 đến tháng 4/2017 tại Phòng thí nghiệm Công nghệ Sinh học, Đại học An Giang và Phòng thí nghiệm sinh học phân tử, Viện Nghiên cứu và phát triển Công nghệ Sinh học, Trường Đại học Cần Thơ.



Hình 1. Mẫu quả thể nấm linh chi khổng lồ thu tại An Giang

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Định danh mẫu nấm

3.1.1. Mô tả nấm

Nấm Linh chi tầng là loại nấm sống ở trên một số loại thân cây đã chết, có hệ tơ len lỏi trong mô cây chủ, chưa thu nhận được bào tử. Nấm có nhiều tầng, quả thể có hình quạt hay hình tròn, đường kính từ 60 - 100 cm, dày từ 3 - 8 cm, không có vỏ bóng trên mặt mũ nấm, không cuống, màu từ nâu đất đến nâu đen, nâu sẫm, các vân tầng trường đồng tâm có thể nổi rõ hoặc không tạo thành những mẫu lõi gỗ ghề trên mặt mũ nấm, hóa gỗ, hóa sừng, sần sùi tạo nên vẻ cũ kỹ, mép nấm màu đen giống mũ nấm và uốn lượn chiều dày từ 0,5 - 1 cm. Hàng năm vào mùa mưa, nấm tiếp tục tăng trưởng rộng ra lớp thụ tầng mới được tạo thành nằm dưới lớp thụ tầng cũ, đồng hướng hoặc không. Bỏ dọc từ mặt trên xuống dưới đếm các lớp thụ tầng có thể biết được tuổi của nấm. Dựa vào những đặc điểm về hình thái quả thể của nấm Linh Chi Tầng, cho thấy loại nấm này có đặc điểm tương đồng với loại nấm Cổ Linh Chi có tên khoa học *Ganoderma applanatum* được tác giả Trịnh Tam Kiệt mô tả trong sách *Nấm lớn ở Việt Nam*, còn gọi là linh chi đa niên nhiều tầng.

3.1.2. Kết quả trình tự nấm linh chi tầng

Trình tự ITS của *Ganoderma applanatum* được khuếch đại bằng cặp môi ITS1- ITS4:

```
CGRAAAGGGGGTTTTTTTGTGTGATGG-
GTGKACTGGCTTCCAGSAGGGCCGCCCT-
GCTCTCCATCTACACCTGKGCACCTACT-
GTGGGTTTACGGGTCGTGAAACGGGCTC-
GYTYKTCGGGCTTGTYGAGCGCACTTGTG-
CCTGCGTTTATCACAACTCTRTAAAGTAT-
CATAATGTGTATTGCGATGTAACGCATC-
TATATACAACTTTCAGCAACGGATCTCTTG-
GCTCTCGCATCGATGAAGAACGCACGAAAT-
GCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAAATTCAGT-
GAATCATCGAATCTTTGAACGCACCTTG-
CGCTCCTTGGTATTCCGAGGAGCATGCCT-
GTTTGAGTGTTCATGAAATCTTCAATCTA-
CAAACCTTCTTATGGGGCTTGTAGGCTTG-
GACTTGGAGGCTTGTTCGGTCCYTTTACAAG-
GTCGGCTCCYCTTAAATGCATTAGCTTG-
GTTCCCTTGC GGATCGGCTTGTTCGGTGTGA-
TAATGTCTACGCCGCGACCGTGAAGCGT-
GTTTGGGCGAGCTTCTAATCGTCTCGTTA-
CAGAGACAACCTTTATGACCTCTGACCT-
CAAATCAGGTAGGACTACCCCGCTGAACT-
TAAGCATATCATAAGCGGAGRAGAAAAT
```

Kết quả được so sánh với cơ sở dữ liệu trên Ngân hàng gen NCBI.

Description	Max score	Total score	Query cover	E value	Ident	Accession
<input type="checkbox"/> Ganoderma applanatum voucher UOC BIB MB13 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence	989	989	91%	0.0	97%	KR867655.1
<input type="checkbox"/> Ganoderma applanatum strain FCL261 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence	961	961	91%	0.0	96%	JN008873.1

Ganoderma applanatum voucher UOC BIB MB13 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence
Sequence ID: [KR867655.1](#) Length: 716 Number of Matches: 1

Hình 2. Mức độ tương đồng của trình tự nấm thu thập với loài *Ganoderma applanatum* trên cơ sở dữ liệu NCBI

Đoạn gen của nấm linh chi tăng dài 631 bps có tỷ lệ đồng hình 97% , độ phủ 91% với trình tự ITS của *Ganoderma applanatum* (Accession: KR867655.1)

Từ mô tả hình thái theo Trịnh Tam Kiệt (2011) kết hợp giám định rRNA 18S có thể khẳng định rằng mẫu nấm thu được ở An Giang là loài nấm *Ganoderma applanatum*

3.2. Khảo sát phát triển hệ sợi nấm

3.2.1. Xác định môi trường nhân giống nấm cấp I

Khi phân lập nấm trên môi trường PDA nhận thấy tơ nấm sinh trưởng khá mạnh, hệ sợi đồng đều, tơ bong dày đặc. Ở môi trường cấp I, các nghiệm thức PSA, PSA bổ sung nước dừa và PSA bổ sung nước giá đậu xanh, tơ nấm lan chậm hệ sợi tơ nấm mảnh, nhỏ, lan thưa và sợi nấm yếu. Nghiệm thức PGA và Raper tơ nấm trên bề mặt môi trường lan nhanh, hệ sợi đồng đều, tơ bong dày đặc. Tuy nhiên so sánh giữa các nghiệm thức, kết quả cho thấy ở môi trường Raper bán kính lan tơ khác biệt có ý nghĩa ở mức xác suất 95%, ở cả 3 trạng thái sau 4, 6 và 8 ngày (Bảng 1).

Bảng 1. Kết quả khảo sát môi trường nhân giống cấp I

Nghiệm thức	Môi trường	Bán kính lan tơ (cm)		
		Ngày 4	Ngày 6	Ngày 8
1	PGA	1,2 ^b	2,12 ^b	3,85 ^b
2	PSA	0,86 ^c	2,07 ^{bc}	3,59 ^c
3	PSA + nước dừa	0,94 ^c	1,99 ^{bc}	3,68 ^{bc}
4	PSA + nước giá đậu xanh	0,91 ^c	1,89 ^c	3,67 ^{bc}
5	Raper	1,40 ^a	2,45 ^a	4,45 ^a
CV(%)		21	13,7	9,6

Ghi chú: Bảng 1, 2, 3, 4, 5, 6: Các giá trị trung bình trong cùng một cột theo sau có các mẫu tự giống nhau biểu thị sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở mức xác suất tin cậy 95%.

3.2.2. Xác định môi trường nhân giống nấm cấp II

Ở môi trường nhân giống cấp II, thời gian lan tơ trong gạo lức rất nhanh (11 ngày) so với trong lúa và bắp là 17 ngày. Gạo lức chứa nhiều thành phần dinh dưỡng thích hợp cho hệ sợi tơ phát triển. Kết quả giữa các nghiệm thức cho thấy, ở môi trường gạo lức sự lan tơ nhanh nhất và có sự khác biệt rõ ràng ở mức xác suất tin cậy 95% (Bảng 2).

3.2.3. Xác định môi trường nhân nuôi quả thể

Môi trường nuôi trồng ra quả thể được chọn là môi trường mật cửa cao su bổ sung 5% cám và 5% bột bắp với thời gian lan tơ đầy bịch là 25 ngày (Bảng 3).

Bảng 2. Kết quả khảo sát môi trường nhân giống cấp II

STT	Môi trường	Thời gian lan tơ (ngày)	
		50%	100%
1	Lúa	7,5 ^b	17 ^b
2	Gạo lức	5,4 ^a	11,6 ^a
3	Bắp	7,4 ^b	17 ^b
CV(%)		19,6	19,4

Bảng 3. Kết quả khảo sát môi trường nuôi trồng

Nghiệm thức	Môi trường	Thời gian lan tơ (ngày)	
		50%	100%
1	100% mật cửa	17,5 ^a	27,5 ^a
2	95% mật cửa + 5% cám	16,2 ^{bc}	26,7 ^a
3	95% mật cửa + 5% bắp	16,8 ^{ab}	27,1 ^a
4	90% mật cửa + 5% cám + 5% bắp	15,2 ^c	25,5 ^b
CV(%)		8,4	5,3

Đánh giá hiệu suất sinh học đạt được cho thấy môi trường mật cửa cao su bổ sung 5% cám và 5% bột bắp đạt hiệu suất sinh học cao nhất.

Bảng 4. Đánh giá hiệu suất sinh học

Nghiệm thức	Môi trường	Khối lượng nấm (gram)	Hiệu suất sinh học (%)
1	100% mật cửa	10,08 ^b	0,84
2	95% mật cửa + 5% cám	10,72 ^{ab}	0,893
3	95% mật cửa + 5% bắp	10,39 ^b	0,865
4	90% mật cửa + 5% cám + 5% bắp	11,35 ^a	0,945
CV(%)		7,9	



Hình 3. Tơ nấm trên môi trường cấp I và môi trường cấp II



Hình 4. Tơ nấm sau 24 ngày và quả thể nấm nuôi trồng

3.3. Đánh giá hàm lượng triterpenoid và polysaccharide

Kết quả hàm lượng triterpenoid trong hai loại mẫu nấm linh chi tăng, thu được trong tự nhiên và nuôi trồng, khác biệt không có ý nghĩa về mặt thống kê với độ tin cậy là 95%. Chứng tỏ quy trình nuôi trồng không ảnh hưởng tới hàm lượng triterpenoid.

Bảng 5. Hàm lượng triterpenoid của quả thể nấm

STT	Loại mẫu	Lượng triterpenoid trung bình đo được (ppm)	Tỷ lệ trong mẫu (%)
1	Mẫu thu tự nhiên	5,4526	1,0905 ^a
2	Mẫu nuôi trồng	5,4336	1,0867 ^a

Kết quả hàm lượng polysaccharide trong hai loại mẫu nấm linh chi tăng, thu được trong tự nhiên và nuôi trồng, khác biệt không có ý nghĩa về mặt thống kê với độ tin cậy là 95%. Chứng tỏ quy trình nuôi trồng không ảnh hưởng tới hàm lượng polysaccharide.

Bảng 6. Hàm lượng polysaccharide của quả thể nấm

STT	Loại mẫu	Lượng polysaccharide trung bình đo được (µg/ml)	Tỷ lệ trong mẫu (%)
1	Mẫu thu tự nhiên	80,7803	0,8078 ^a
2	Mẫu nuôi trồng	79,3255	0,7932 ^a

IV. KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

4.1. Kết luận

Nấm linh chi tăng khổng lồ được phát hiện ở An Hảo, Tịnh Biên, tỉnh An Giang được định danh là loài *Ganoderma applanatum*. Môi trường nhân

giống cấp 1 tốt nhất là Rapper trong 4 ngày tơ lan đầy ống nghiệm, môi trường gạo lức là môi trường nhân giống cấp 2 tối ưu trong 11 ngày và môi trường tạo thể quả thích hợp nhất là môi trường 90% hạt của cao su + 5% cám + 5% bắp trong 25 ngày. Thu quả thể sau 55 ngày tơ ăn trắng bạch và hiệu suất sinh học đạt 0,945%. Quy trình nuôi trồng không ảnh hưởng tới hàm lượng triterpenoid và polysaccharide hiện diện trong nấm.

4.2. Kiến nghị

Tiếp tục nghiên cứu xây dựng quy trình nuôi trồng tối ưu để nấm đạt giá trị dược tính cao nhất.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Nguyễn Lâm Dũng, 2003. *Công nghệ nuôi trồng nấm*. NXB Nông nghiệp. Hà Nội.
- Trịnh Tam Kiệt, 2011. *Nấm lớn Việt Nam*. NXB Khoa học tự nhiên và Công nghệ. Hà Nội.
- Dnyaneshwar Madhukar Nagmoti and Archana Ramesh Juvekar, 2013. *In vitro* inhibitory effects of *Pithecellobium dulce* (Roxb.) Benth. seeds on intestinal α -glucosidase and pancreatic α -amylase. *J Biochem Tech*. Vol 4(3): 616-621.
- Foster D. S and Cornelia T. S., 1961. *Colorimetric Method of Analysis*. Nostrand Company Inc. Princeton. New Jersey, 08, pp. 162.
- Yong-Tae Jeong, Byung-Keun Yang, Sang-Chul Jeong, Sang-Min Kim and Chi-Hyun Song, 2008. *Ganoderma applanatum*: a promising mushroom for antitumor and immunomodulating activity. *Phytotherapy*, Volume 22, Issue 5: 614 - 619.
- White, T. J., T. D. Bruns, S. B. Lee, and J. W. Taylor, 1990. *Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA Genes for phylogenetics*. In: PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications. Academic Press. US. 482pp.

Propagation of *Ganoderma applanatum* mushroom originated from Tinh Bien, An Giang

Ho Thi Thu Ba, Tran Nhan Dung,
Trinh Tam Kiet, Truong Tran Thuan

Abstract

A giant mushroom which was found in Tinh Bien, An Giang province, was determined as *Ganoderma applanatum* by observing the morphological characteristics and comparing ITS sequences with 97% similarity in Genbank. The best medium for the first propagation was Rapper and the hyphae filled up invitro tube in 4 days. The best medium for the second propagation was brown rice and the hyphae filled up invitro tube in 11 days. The medium which was appropriate for giving high yield of fruiting bodies was 90% rubber sawdust + 5% rice bran + 5% corn flour in 25 days and fruiting bodies could be harvested after 55 days with the biological efficiency of about 0.94%. The content of polysaccharide, triterpenoid of fruit body was not affected by the studied media.

Key words: *Ganoderma applanatum*, mushroom in Tinh Bien, polysaccharide, triterpenoid

Ngày nhận bài: 11/7/2017

Ngày phản biện: 18/7/2017

Người phản biện: TS. Hoàng Thị Lan Hương

Ngày duyệt đăng: 27/7/2017

NGHIÊN CỨU ĐIỀU KIỆN NHÂN SINH KHỐI NẤM THƯỢNG HOÀNG VÀNG (*Phellinus baumii*)

Trần Thị Lua¹, Vũ Văn Hạnh²

TÓM TẮT

Nhân nuôi sợi nấm trong môi trường lỏng cho năng suất cao, tốn ít thời gian và không gian hơn khi nuôi cấy sợi nấm trên môi trường rắn. Bài báo trình bày kết quả nghiên cứu và lựa chọn thành phần môi trường nuôi cấy để thu sinh khối sợi nấm có hiệu quả nhất. Môi trường PGB cải tiến (thành phần (g/l): Khoai tây 200; Glucose 20; Yeast extract 10; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0,5). Các điều kiện nuôi cấy được xác định như sau: nhiệt độ 28 °C; pH ban đầu 6,0; và tốc độ lắc 150 rpm. Với thành phần môi trường và điều kiện nuôi cấy này, sinh khối tế bào tối đa đạt được là 17,9 g /l.

Từ khóa: Nấm thượng hoàng vàng, *Phellinus baumii*, sinh khối sợi nấm

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Nấm thượng hoàng vàng (*Phellinus*) họ Hymenochaetaceae, thuộc chi *Phellinus* gồm có một số loài *P. linteus*, *P. ribis*, *P. igniarius* và *P. Baumii*. Trên thế giới hiện chỉ có 4 nước trồng thành công loài nấm này là Hàn Quốc, Trung Quốc, Nhật Bản và Thái Lan. Chúng được sử dụng nhiều trong hỗ trợ điều trị các bệnh ung thư, đái tháo đường, bệnh truyền nhiễm do vi khuẩn, virus, bệnh tim, tiểu đường, cao huyết áp cũng như các bệnh viêm loét (Lee, 2007). Dịch chiết từ nấm có tác dụng an thần, giảm hưng phấn của thần kinh trung ương, chữa trị chứng bí tiểu, bổ thận khí, chữa trị đau nhức khớp xương, gân cốt, loét dạ dày, rối loạn tiêu hoá kéo dài (Kim, 2010).

Ở Việt Nam, nghiên cứu về nấm thượng hoàng chưa nhiều, nghiên cứu của Phạm Quang Thu (2016) xác định môi trường nuôi cấy thích hợp cho nấm *P. linteus* thu được từ tự nhiên là PDA, nhiệt độ thích hợp là 25°C và độ ẩm là 95%. Nấm thượng hoàng là nấm dược liệu quý, trong tự nhiên không đủ để khai thác. Với mục tiêu phát triển và nhân giống nấm thượng hoàng thương mại hiện nay, nhằm nhân nhanh số lượng nấm đáp ứng nhu cầu của thực tế. Bài báo trình bày kết quả nghiên cứu đánh giá ảnh hưởng của một số yếu tố dinh dưỡng, pH, nhiệt độ... đến khả năng nhân sinh khối của nấm thượng hoàng.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Chủng nấm thượng hoàng (*P. baumii*) được phòng Các chất chức năng sinh học - Viện Công nghệ Sinh học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam cung cấp, ký hiệu là Pb.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

- Giống nấm được bảo quản trên môi trường PGA (200 g khoai tây + 20 g glucose + 12 g thạch + 1000 ml nước cất) ở 4°C. Trước các thí nghiệm, giống nấm cần được làm mới bằng cách cấy giống nấm trên đĩa petri chứa 15 - 20 ml môi trường PGA, đậy nắp kín đĩa để dùng trong các nghiên cứu.

- Chuẩn bị môi trường PGB: Khoai tây gọt vỏ, rửa sạch, thái nhỏ, đun sôi 20 phút, lọc lấy nước trong, lên thể tích 1000 ml rồi bổ sung 20 g glucose. Môi trường được rót 100 ml vào bình tam giác 250 ml, hấp khử trùng ở 121°C trong thời gian 15 phút. Sau khi khử trùng, đậy môi trường nguội rồi cấy giống nấm thượng hoàng, mỗi bình cấy một miếng thạch có chứa sợi nấm đã chuẩn bị trong các đĩa petri. Các thí nghiệm được thực hiện từ tháng 4 - 10 năm 2016 tại phòng các hoạt chất chức năng, Viện Công nghệ sinh học.

- Nấm thượng hoàng được nuôi cấy lắc trong bình tam giác dung tích 250 ml chứa 100 ml môi trường PGB cải tiến, lần lượt thay thế glucose bằng sucrose, maltose, lactose với lượng 2%, pH 6,5, thời gian nuôi cấy 15 ngày, đánh giá sinh khối sợi nấm đối với các nguồn cacbon khác nhau.

- Bổ sung vào môi trường PGB các nguồn nitơ lần lượt là pepton, cao nấm men, cao man với nồng độ 1% và $NaNO_3$, NH_4Cl , $(NH_4)_2SO_4$, NH_4NO_3 , KNO_3 với nồng độ 0,05%. Đánh giá sinh khối sợi nấm đối với các nguồn nitơ khác nhau sau 15 ngày nuôi cấy.

- Bổ sung vào môi trường PGB các loại muối khoáng là KH_2PO_4 , $FeSO_4$ với nồng độ 0,1% và $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, KCl , $CaCl_2$ nồng độ 0,05%. Đánh giá sinh khối của sợi nấm sau 15 ngày nuôi cấy.

- Nấm thượng hoàng được nuôi cấy trên môi trường có pH là 5; 6; 6,5; 7, sử dụng NaOH hoặc H_2SO_4 1 N để chỉnh pH môi trường. Đánh giá sinh

¹ Viện Thổ nhưỡng Nông hóa, Trường Đại học Khoa học và Công nghệ Hà Nội - Viện Hàn lâm KH và CN Việt Nam

² Viện Công nghệ sinh học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ CN Việt Nam