

NGHIÊN CỨU SỰ SINH TRƯỞNG, NĂNG SUẤT VÀ CHẤT LƯỢNG NẤM VÂN CHI (*Trametes versicolor*) TRỒNG TRÊN GỖ KHÚC KEO LÁ TRÀM (*Acacia auriculiformis*) TẠI ĐÀ NẴNG

Nguyễn Thị Bích Hằng¹, Phạm Thị Mỹ¹, Trần Ngọc Sơn¹

TÓM TẮT

Nghiên cứu nhằm đánh giá ảnh hưởng của cơ chất đến sinh trưởng, năng suất và chất lượng của nấm vân chi (*Trametes versicolor*). Thí nghiệm được tiến hành với 4 nghiệm thức khác nhau, ba lần lặp và được bố trí theo khối hoàn toàn ngẫu nhiên. Kết quả chọn được cơ chất là gỗ khúc keo lá tràm phối trộn với các chất phụ gia, gồm 2% cám gạo + 2% bột ngô + 0,5% bột nhẹ + 0,5% đường; rút ngắn thời gian sinh trưởng phát triển của nấm vân chi từ 17 - 20 ngày so với mùn cưa cao su; năng suất đạt được là 5,76%. Kích thước dọc mũ nấm đạt 9,42 cm, kích thước ngang mũ nấm 4,12 cm, tỷ lệ khô/tươi là 85%. Dịch chiết quả thể nấm vân chi thu hoạch có khả năng bắt gốc tự do ABTS với hiệu suất 83,66% ở nồng độ 500 µg/mL. Hàm lượng polysaccharide và triterpens tổng số trong quả thể nấm trồng trên que gỗ keo lá tràm lần lượt là 3,330,04%; 0,0170,0001 mg/g. Hàm lượng kim loại Cd trong mẫu nấm vân chi trồng trên gỗ keo và mùn cưa cao su lần lượt là 0,052 mg/kg và 0,043 mg/kg. Hàm lượng kim loại Pb trong mẫu nấm trồng trên gỗ keo và mùn cưa cao su lần lượt là 0,011 mg/kg và 0,013 mg/kg, cả Pb và Cd trong nấm đều thấp hơn giới hạn cho phép của QCVN 8-2:2011/BYT về giới hạn kim loại nặng trong thực phẩm.

Từ khóa: Nấm vân chi, keo lá tràm, gỗ khúc, sinh trưởng, năng suất

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Nấm vân chi (*Trametes versicolor*) (trước đây còn gọi là *Coriolus versicolor*) có tên tiếng Anh là Turkey tail (đuôi gà tây), được sử dụng trong y học Trung Quốc dưới tên “Yunzhi” (có nghĩa là loại nấm có hình dạng như mây) và có vị trí đặc biệt trong các loại nấm dược liệu. Các báo cáo từ những năm 1960 đã cho thấy lợi ích về sức khỏe trong điều trị ung thư dạ dày khi uống trà “Saruno-koshikake” có chứa nấm vân chi. Nghiên cứu đã chỉ ra rằng nấm này có hoạt tính kháng khuẩn, kháng virus và kháng khối u (Hayakawa *et al.*, 1997). Ngày nay, vân chi được nghiên cứu và công bố với nhiều công dụng chữa bệnh mới, trong đó được sử dụng như một loại dược liệu trong hỗ trợ điều trị trầm cảm và chống oxy hóa thần kinh trung ương (Hossen *et al.*, 2021).

Trong nấm vân chi có chứa các hợp chất polysaccharides liên kết với protein, gồm hai loại chính: PSP (polysaccharide peptide) và PSK (polysaccharide krestin). PSK được tách chiết lần đầu tiên ở Nhật Bản vào cuối thập kỷ 60, trong khi đó PSP được phân lập tại Trung Quốc vào năm 1983. Tác dụng chung của PSP và PSK là hoạt hóa, tăng cường sự sản sinh và bảo vệ các tế bào của hệ miễn dịch (Li *et al.*, 2011), kháng u (Standish *et al.*, 2008) và kháng vi rút (Teplyakova *et al.*, 2012). PSP phân lập từ nấm vân chi đã được chứng minh có khả năng chống lại ung thư (Fisher *et al.*, 2002). Trong Y học cổ truyền Trung Quốc, nấm vân chi được sử dụng giảm đau, chữa bệnh rối loạn phổi, tăng cường thể lực, tăng năng lượng, có ích với các bệnh mãn tính.

Các bác sĩ Trung Quốc xem đây như một loại thuốc hữu hiệu điều trị nhiễm trùng, viêm đường hô hấp, tiết niệu và đường ruột. Ở Nhật Bản, PSP chiết xuất từ nấm vân chi đã được chứng minh có khả năng kéo dài thời gian sống thêm năm năm hoặc hơn cho các bệnh nhân ung thư thuộc nhiều loại: ung thư dạ dày, ung thư đại tràng, ung thư vòm họng, ung thư phổi... (Moon *et al.*, 2009).

Hiện nay, các nghiên cứu về cơ chất nuôi trồng nấm vân chi vẫn được các nhà khoa học quan tâm nghiên cứu. Ở miền Trung, nấm vân chi chưa được nuôi trồng phổ biến, nguyên liệu trồng nấm tại miền Trung chủ yếu trên nguồn cơ chất truyền thống - mùn cưa cao su, nguồn nguyên liệu này tập trung ở Tây Nguyên và phía Nam, dẫn đến tổn chi phí vận chuyển và khan hiếm nguồn nguyên liệu. Tuy nhiên, tại Việt Nam cây keo lá tràm phân bố và được trồng nhiều ở các tỉnh từ Bắc Trung Bộ cho đến Nam Trung Bộ và Tây Nguyên. Đặc tính của keo lá tràm là loại cây sinh trưởng nhanh và thích nghi rộng. Thế nên, keo lá tràm tạo ra giá trị kinh tế cao và được chính phủ Việt Nam chú trọng trong chính sách phát triển trồng rừng keo lá tràm để phủ xanh đất trống đồi trọc, và cũng là để cải tạo đất sản xuất lâm nghiệp và làm nguyên liệu cho ngành chế biến gỗ cũng như nguyên liệu làm giấy. Tuy nhiên, gỗ keo, cành, lá của nó có tiềm năng trong việc ứng dụng làm cơ chất nuôi trồng nấm ăn và nấm dược liệu. Vì vậy, mở rộng hướng ứng dụng của cây keo lá tràm tiến tới ổn định nguồn nguyên liệu trồng nấm tại Đà Nẵng nói riêng và miền Trung nói chung là vấn đề cần thiết.

¹ Trường Đại học Sư phạm, Đại học Đà Nẵng

Nghiên cứu được thực hiện nhằm tận dụng nguyên liệu tại chỗ, thay thế, đa dạng nguồn cơ chất và hoàn thiện quy trình trồng nấm vân chi trên gỗ keo lá tràm xử lí dạng khúc đạt năng suất chất lượng tại Đà Nẵng.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Chúng giống gốc nấm vân chi được cung cấp bởi Trung tâm Ứng dụng Khoa học và Công nghệ tỉnh

Lâm Đồng. Sau đó, được nhân giống tại phòng thí nghiệm Công nghệ Sinh học nấm, khoa Sinh - Môi trường, Đại học Sư phạm Đà Nẵng.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp bố trí thí nghiệm

Nhằm so sánh hiệu quả của việc trồng nấm vân chi trên cơ chất mới so với cơ chất mùn của cao su truyền thống, thí nghiệm được bố trí theo 4 công thức theo bảng 1.

Bảng 1. Bố trí thí nghiệm

Ký hiệu nghiệm thức	Thành phần và tỷ lệ phối trộn
CT1 (Đối chứng)	Mùn của cao su + 2% cám gạo + 2% bột ngô + 0,5% bột nhẹ + 0,5% đường
CT2	Mùn của cao su: Mùn của gỗ keo lá tràm (1 : 1) + 2% cám gạo + 2% bột ngô + 0,5% bột nhẹ + 0,5% đường
CT3	Mùn của gỗ keo lá tràm + 2% cám gạo + 2% bột ngô + 0,5% bột nhẹ + 0,5% đường
CT4	Que (khúc) gỗ keo lá tràm + 2% cám gạo + 2% bột ngô + 0,5% bột nhẹ + 0,5% đường

2.2.2. Phương pháp xử lý nguyên liệu

- Xử lý gỗ khúc keo lá tràm: xử lý thân cây gỗ keo lá tràm thành khúc có chiều dài từ 12 - 15 cm, đường kính 1 - 2 cm. Gỗ keo lá tràm sau khi chẻ thành khúc nhỏ tiến hành ngâm với nước sôi với tỷ lệ 1 - 1,5%; sau 2 - 3 ngày, vớt gỗ ra để ráo nước. Tiến hành phối trộn với các chất phụ gia, đóng vào các túi nilong có kích thước khoảng 17 × 35 cm và mỗi bịch nguyên liệu có khối lượng là 1,1 kg. Khử trùng bằng nồi hấp áp lực trong 12 h. Sau khi hấp bịch để nguội 1 ngày rồi cấy giống với một lượng như nhau vào mỗi bịch (20 g).

- Xử lý mùn của cao su: Tạo ẩm mùn của bằng nước sôi 1%, độ ẩm đạt 60 - 75%, sau đó ủ đông khoảng 5 - 7 ngày. Mùn của sau khi xử lý được phối trộn với các chất phụ gia và đóng vào các túi nilon có kích thước khoảng 17 × 35 cm và mỗi bịch nguyên liệu có khối lượng 1,1 kg. Khử trùng bằng nồi hấp áp lực trong 12 h. Sau khi hấp để bịch nguội rồi cấy giống với một lượng như nhau vào mỗi bịch (20 g).

- Theo dõi sự sinh trưởng và phát triển của nấm Vân chi ở các điều kiện như nhau: nhiệt độ cho sự sinh trưởng hệ sợi là 26 - 30°C, nhiệt độ sinh trưởng của quả thể 20 - 25°C, độ ẩm không khí lúc ương sợi từ 65 - 70%, độ ẩm ra quả thể là 80 - 95%.

2.2.3. Phương pháp đánh giá sự sinh trưởng, phát triển, năng suất, hình thái nấm vân chi

Sau khi cấy giống nấm vào bịch cơ chất đã được hấp khử trùng tiến hành theo dõi các chỉ tiêu sinh trưởng.

- Thời gian hoàn thành pha sợi: Tính từ khi cấy giống đến khi hệ sợi phủ kín bịch nguyên liệu (ngày).
- Thời gian xuất hiện mầm quả thể: Tính từ khi cấy giống đến khi xuất hiện quả thể đầu tiên (ngày).
- Hiệu suất sinh học của nấm vân chi được tính theo công thức sau đây:

$$\frac{\text{Khối lượng nấm tươi}}{\text{Khối lượng nguyên liệu}} \times 100$$

- Phương pháp đánh giá tỷ lệ nhiễm bệnh:

$$\frac{\text{Số bịch phôi bị nhiễm bệnh}}{\text{Tổng số bịch phôi cấy giống}} \times 100$$

- Theo dõi các yếu tố cấu thành năng suất nấm vân chi: Khối lượng quả thể (gram/quả thể), kích thước dọc mũ nấm (cm), kích thước ngang mũ nấm (cm).

2.2.4. Phương pháp đánh giá hoạt tính kháng oxy hóa

Hoạt động loại bỏ gốc tự do được xác định bằng phương pháp khử màu ABTS.+ (Nikolaos *et al.*, 2004). Dung dịch ABTS.+ được chuẩn bị bằng cách cho 2 mL dung dịch ABTS 7 mM và 2 mL dung dịch K₂S₂O₈ 2,45 mM. Ủ dung dịch trong bóng tối 16h, sau đó pha loãng bằng ethanol (khoảng 50 lần), điều chỉnh độ hấp thụ của dung dịch ở bước sóng 734 nm có mật độ quang là 0,7 ± 0,05. Tiến hành khảo sát hoạt động trung hòa gốc tự do ABTS.+ bằng cách cho 990 µL dung dịch ABTS.+ vào 10 µL cao chiết PS nấm Vân chi ở nồng độ 500 µg/mL. Hỗn hợp phản ứng được ủ trong thời gian 6 phút. Sau đó, đo độ hấp thụ quang phổ ở bước sóng 734 nm (Nikolaos *et al.*, 2004). Chất đối chứng dương được sử dụng

là vitamin C. Hiệu suất phần trăm ức chế (I%) được tính theo công thức.

$$I\% = [(A0 - Ai)/A0] \times 100.$$

Trong đó: A0 là giá trị mật độ quang của mẫu trắng.

Ai là giá trị mật độ quang của mẫu thử.

2.2.5. Phương pháp định lượng Polysaccharide và triterpens tổng số

Mẫu nấm vân chi trồng trên cơ chất mùn của cao su (CT1) và cơ chất gỗ khúc keo (CT4) được gửi mẫu phân tích hàm lượng polysaccharide và triterpens tổng số tại viện Dược liệu - Bộ Y tế.

2.2.6. Phương pháp xác định kim loại nặng

Hàm lượng Cadimi được xác định dựa trên TCVN 7603:2007 - Xác định hàm lượng Cadimi bằng phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử.

Hàm lượng chì xác định theo TCVN 7602:2007 - Xác định hàm lượng chì bằng phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử.

2.2.7. Phương pháp xử lý số liệu

Tất cả các thí nghiệm đều được thực hiện lặp lại 3 lần. Các số liệu được phân tích thống kê bằng phần mềm Microsoft Excel 2010 và phần mềm SPSS 20 (Statistical Package for the Social Sciences).

2.3. Thời gian và địa điểm nghiên cứu

Nghiên cứu thực hiện từ 04/2020 đến 03/2021 tại Bộ môn Công nghệ Sinh học, Khoa Sinh - Môi trường, trường Đại học Sư phạm, Đại học Đà Nẵng.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Đánh giá sự sinh trưởng, năng suất nấm vân chi trên các nguyên liệu khác nhau

Thời gian sinh trưởng của hệ sợi nấm rất quan trọng, có tính chất quyết định đến sự phát triển của quả thể và năng suất của nấm vân chi. Kết quả theo dõi sự sinh trưởng, phát triển của nấm vân chi trên các công thức thí nghiệm được thể hiện ở bảng 2.

Bảng 2. Ảnh hưởng của nguyên liệu nuôi trồng đến thời gian sinh trưởng, phát triển và năng suất của nấm vân chi

Công thức	Thời gian hoàn thành pha sợi (ngày)	Thời gian xuất hiện quả thể (ngày)	Hiệu suất sinh học (%)	Tỷ lệ nhiễm bệnh (%)
CT1 (ĐC)	35,2 ± 0,37 ^a	56,8 ± 1,22 ^a	4,89 ± 0,10 ^a	5,780,58 ^a
CT2	33,6 ± 0,42 ^b	54,3 ± 0,76 ^b	4,08 ± 0,14 ^b	6,030,53 ^a
CT3	30,01 ± 0,66 ^c	54,8 ± 0,3 ^b	4,15 ± 0,27 ^b	6,150,25 ^a
CT4	18,5 ± 0,34 ^d	36,33 ± 0,33 ^c	5,76 ± 0,20 ^c	0

Ghi chú: Các chữ cái khác nhau trong bảng biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa theo cột của các nghiệm thức khảo sát theo kiểm định Tukey ở độ tin cậy 95%.

Kết quả bảng 2 cho thấy nấm vân chi được trồng trên gỗ khúc keo lá trà có thời gian sinh trưởng phát triển ngắn hơn so với nấm được trồng trên cơ chất mùn của cao su và mùn của gỗ trà. Thời gian hoàn thành pha sợi, thời gian xuất hiện quả thể, thời gian thu hoạch ở CT4 ngắn hơn so với CT1 từ 17 - 20 ngày, điều này cho thấy gỗ keo được xử lý dạng khúc giúp rút ngắn thời gian sinh trưởng của sợi nấm vân chi. Việc sử dụng gỗ keo dạng que để trồng nấm giúp tăng năng suất lên 17% so với đối chứng, năng suất lần lượt là 4,89% và 5,76% trên cơ chất khúc gỗ keo và mùn của cao su. Theo Nguyễn Việt Cường và cộng tác viên (2008), hàm lượng cellulose, lignin ở gỗ keo lá trà 76,7% cũng gần tương đương với mùn của cao su 71,2% (Nguyễn Việt Cường và *ctv.*, 2008), điều đó cho thấy phương thức xử lý cơ chất ảnh hưởng đáng kể đến thời gian sinh trưởng và năng suất nấm vân chi. Trồng nấm

trên mùn của gỗ keo cho kết quả thấp nhất, điều này được lý giải là do độ mịn của mùn của gỗ keo làm giảm độ thoáng khí nên ảnh hưởng đến năng suất nấm. Kết quả này phù hợp với nghiên cứu của Trần Đức Tường và cộng tác viên (2019), nhóm tác giả cũng chứng minh rằng công thức phối trộn chứa 50% cùi bắp và 50% mùn của cây cao su không bổ sung dinh dưỡng được xem là cơ chất phù hợp nhất cho sự sinh trưởng, phát triển của nấm vân chi do đạt năng suất cao (Trần Đức Tường và *ctv.*, 2019). Điều này cho thấy việc trồng nấm trên gỗ dạng khúc hay dạng que có những khoảng trống giúp sợi nấm hô hấp dễ và lan sợi nhanh, tiết các enzyme ngoại bào phân giải cơ chất nhanh hơn so với dạng bột mịn. Kết quả mở ra triển vọng tận dụng các phế phụ phẩm cây keo lá trà như cành và vỏ tại địa phương để trồng nấm vân chi nhằm chủ động nguồn nguyên liệu tại chỗ cũng như tăng hiệu suất trồng nấm.

Trong nuôi trồng nấm nói chung và nấm dược liệu nói riêng thì tỷ lệ nhiễm bệnh đóng vai trò quan trọng ảnh hưởng đến năng suất. Việc các bệnh nấm bị nhiễm sau khi cấy giống làm tổn thất nguyên liệu, công nuôi trồng và xử lý bệnh nhiễm. Kết quả nghiên cứu cho thấy việc trồng nấm trên que gỗ trầm hoàn toàn không có bệnh nhiễm qua các lần thí nghiệm, trong khi tỷ lệ bệnh nhiễm khi trồng trên các CT1,

CT2, CT3 từ 5,78 - 6,15%. Chứng tỏ rằng khi sợi nấm được cấy trên cơ chất gỗ khúc keo lá trầm thích hợp về mặt dinh dưỡng cũng như trạng thái nguyên liệu làm cho sợi nấm dễ dàng sử dụng dinh dưỡng nên phát triển nhanh, mạnh và khi đó chiếm ưu thế trong bệnh hạn chế được sự xâm nhập hoặc bùng phát của các vi sinh vật gây bệnh.



Hình 1. Quả thể nấm vân chi trồng trên nguyên liệu khác nhau

3.2. Đánh giá kích thước và khối lượng trung bình quả thể nấm vân chi trên các nguyên liệu khác nhau

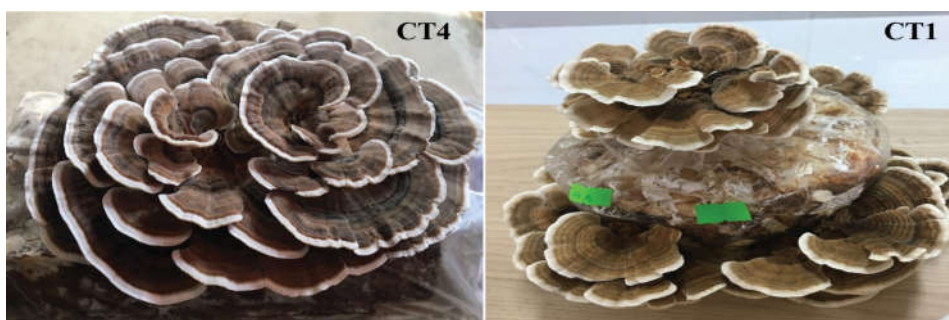
Kích thước quả thể nấm không chỉ ảnh hưởng đến năng suất nấm mà còn ảnh hưởng đến giá trị cảm quan cũng như thị hiếu của người tiêu dùng. Bên cạnh việc khảo sát đánh giá năng suất nấm thì

việc đánh giá, so sánh hình thái nấm giữa các công thức nghiên cứu cũng rất quan trọng để chọn lựa cơ chất thích hợp nhất trong việc nuôi trồng nấm hiệu quả. Quả thể nấm vân chi trưởng thành sau khi được thu hoạch tiến hành đo cân, đo kích thước và sấy 55°C về độ ẩm an toàn. Kết quả nghiên cứu được thể hiện ở bảng 3.

Bảng 3. Kích thước mũ nấm và khối lượng trung bình quả thể nấm vân chi nuôi trồng trên nguyên liệu khác nhau

Công thức	Kích thước ngang mũ nấm (cm)	Kích thước dọc mũ nấm (cm)	Khối lượng tươi (g/quả)	Khối lượng khô (g/quả)	Tỷ lệ khô/tươi (%)
CT1(ĐC)	3,61 ± 0,15 ^a	9,31 ± 0,26 ^a	12,7 ± 0,27 ^a	10,8 ± 0,2 ^a	85,0 ^a
CT2	3,38 ± 0,34 ^a	9,28 ± 0,35 ^a	11,02 ± 0,35 ^b	9,46 ± 0,3 ^b	84,5 ^a
CT3	3,58 ± 0,25 ^a	9,02 ± 0,29 ^a	11,14 ± 0,68 ^b	9,43 ± 0,5 ^b	84,6 ^a
CT4	4,12 ± 0,12 ^b	9,42 ± 0,22 ^a	14,6 ± 0,61 ^c	12,41 ± 0,5 ^c	85,0 ^a

Ghi chú: Các chữ cái a, b, c trong cùng cột thể hiện sự sai khác ở mức ý nghĩa $p < 0,05$ với giá trị bằng giá trị trung bình ± SD ($n = 3$).



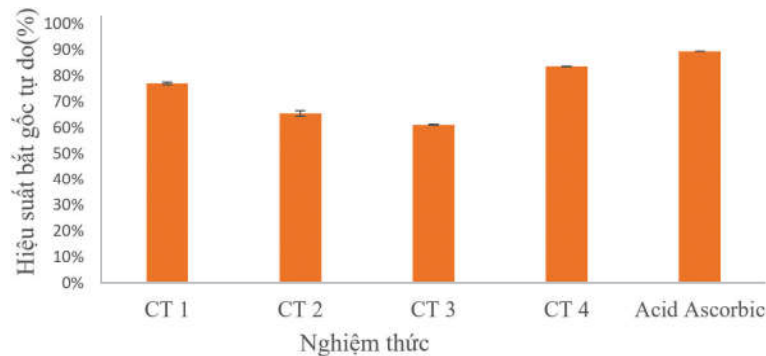
Hình 2. Hình thái quả thể nấm vân chi trồng trên nguyên liệu khác nhau

Kết quả bảng 3 cho thấy, quả thể nấm vân chi thu được trên các nguyên liệu nuôi trồng khác nhau có kích thước chiều dọc mũ giao động từ 9,02 đến 9,42 cm, kích thước ngang mũ nấm dao động từ 3,38 đến 4,12 cm. Kích thước mũ quả thể nấm nuôi trồng trên CT4 lớn nhất (4,12 × 9,42 cm), các CT1, CT2, CT3 cho thấy không có sự khác biệt có ý nghĩa về kích thước mũ quả thể nấm. Sự khác nhau về kích thước không làm ảnh hưởng đến tỷ lệ nấm khô và tươi, điều này cho thấy sự tích lũy chất khô của nấm thành phẩm ở các công thức nghiên cứu tương đương nhau. Kích thước nấm vân chi nghiên cứu thấp hơn so với kết quả nghiên cứu của Vũ Tuấn Minh và cộng tác viên (2017), nhưng tỷ lệ khô/tươi của quả thể nấm thì cao hơn. Kết quả cho thấy,

không có sự khác biệt giữa hình thái và kích thước quả thể nấm vân chi khi nuôi trồng trên các công thức khác nhau; nhưng có sự khác biệt về khối lượng trung bình quả thể, đặc biệt là khi nuôi trồng trên gỗ khúc keo lá tràm thì khối lượng trung bình quả thể tươi (14,6 g/quả thể) vượt trội hơn so với các công thức cùng nghiên cứu.

3.3. Kết quả đánh giá khả năng kháng oxy hóa của nấm vân chi

Hoạt tính bắt gốc ABTS.+ tự do là một trong các khảo sát hoạt tính kháng oxy hóa hiệu quả, nhanh chóng và đơn giản. Kết quả khảo sát hiệu quả bắt gốc tự do của dịch chiết nấm vân chi của các nghiệm thức được thể hiện ở hình 3.



Hình 3. Hiệu suất bắt gốc tự do của dịch chiết nấm vân chi từ các nghiệm thức

Từ kết quả ở hình 3 cho thấy dịch chiết nấm vân chi nuôi trồng trên các công thức nghiên cứu đều có khả năng bắt gốc tự do ABTS.+ . Trong đó nấm vân chi trồng trên gỗ keo có hoạt tính kháng oxy hóa cao nhất (83,66%), tuy nhiên vẫn thấp hơn so với vitamin C (89,47%). Kết quả nghiên cứu này cao hơn so với nghiên cứu của Kamiyama (2013) về hoạt động chống oxy hóa và chống viêm cũng như là thành phần hóa học của cao chiết nấm vân chi. Trong số các chiết xuất thu được, chiết xuất acetone thể hiện hoạt tính chống oxy hóa cao nhất (50,9%), tiếp theo là các chiết xuất từ methanol (33,9%), n-hexane (29,5%) và chloroform (15,2%) ở nồng độ 500µg/mL (Kamiyama, 2013). Như vậy, cao chiết của quả thể nấm vân chi trồng trên cơ chất gỗ khúc keo lá tràm có hoạt tính chống oxy hóa, chứng tỏ trong mẫu có chứa các hợp chất có khả năng nhường hydrogen hoặc chuyển các electron cho các gốc tự do một cách trực tiếp, tạo thành các sản phẩm ổn định hơn, do đó có khả năng kết thúc phản ứng chuỗi điện tử tự do. Hoạt tính này cũng là một trong những cơ sở để đánh giá dược tính của nấm cho chúng ta thêm cơ sở khoa học để phát triển nuôi trồng nấm trên cơ chất gỗ keo và phụ phẩm cây keo.

3.4. Phân tích hàm lượng polysaccharide và triterpens tổng số của quả thể nấm vân chi

Nấm vân chi trồng trên cơ chất gỗ khúc keo lá tràm có năng suất cao hơn và rút ngắn thời gian nuôi trồng so với đối chứng và cả CT2, CT3. Tuy nhiên, để đánh giá toàn diện hiệu quả trồng nấm dược liệu thì việc phân tích chất lượng nấm là yếu tố quyết định hiệu quả của cách thức nuôi trồng. Vì vậy, quả thể nấm vân chi trồng trên CT4 được lấy mẫu gửi đi phân tích hàm lượng polysaccharide và triterpens tổng số so với đối chứng tại viện Dược liệu. Kết quả thu được trình bày ở bảng 4.

Kết quả bảng cho thấy hàm lượng polysaccharide và triterpens tổng số của nấm vân chi trồng trên gỗ khúc keo lá tràm cao hơn so với đối chứng. Điều này cho thấy gỗ khúc keo lá tràm là cơ chất hoàn toàn thích hợp cho sự tăng năng suất và chất lượng nấm vân chi. Hàm lượng polysaccharide trong nấm vân chi trồng trên CT1 và CT4 lần lượt là 3,170,03% và 3,330,04%. Kết quả này thấp hơn nghiên cứu của Zheng và cộng tác viên (2014) (7,490,14%), sự khác nhau này là do giống nấm và do nuôi trồng ở các điều kiện sinh thái khác nhau.

Bảng 4. Hàm lượng polysaccharide và triterpens tổng số trong quả thể nấm Vân chi

Công thức	Polysaccharide (%)	Triterpens (mg/g)
CT1	3,170,03 ^a	0,0110,0003 ^a
CT4	3,330,04 ^b	0,0170,0001 ^b

Ghi chú: Các chữ cái a, b trong cùng cột thể hiện sự sai khác ở mức ý nghĩa $p < 0,05$ với giá trị bằng giá trị trung bình \pm SD ($n = 3$).

Triterpens là một nhóm chất rất đa dạng, chúng được phân bố rộng rãi trong nhiều loài động vật, thực vật khác nhau. Triterpens có tác dụng sinh học trong giảm nguy cơ ung thư, giảm cholesterol, giúp máu lưu thông tốt, làm giảm huyết áp, nếu dùng lâu dài được coi như là chất kháng sinh tự nhiên, chống oxy hóa. Hàm lượng triterpens trong nấm vân chi nghiên cứu không cao (0,0170,0001 mg/g) nhưng cũng đủ cơ sở khoa học để khẳng định nấm vân chi có nhiều hợp chất có hoạt tính sinh học. Kết quả này phù hợp với kết quả nghiên cứu của Leliebre-Lara và cộng tác viên (2015), quả thể nấm vân chi chiết bằng dung môi ethanol cho thấy sự hiện diện của các hợp chất thứ cấp như triterpenes, steroid, flavonoid, alkaloid và một lượng nhỏ cardenolide (Leliebre-Lara, *et al.*, 2015).

3.5. Kết quả đánh giá hàm lượng kim loại nặng của quả thể nấm vân chi

Nấm được xem là sinh vật có khả năng hấp thụ kim loại nặng, vì vậy việc sử dụng cơ chất nuôi trồng nấm có nhiễm kim loại nặng là một trong những nguyên nhân làm cho nấm hấp thụ và tích lũy kim loại nặng trong quả thể, dẫn đến một số loại nấm ăn và nấm dược liệu nuôi trồng thường có hàm lượng kim loại nặng vượt quá giới hạn cho phép. Trong nghiên cứu này, ngoài việc đánh giá sự sinh trưởng, phát triển, chất lượng nấm vân chi khi được trồng trên cơ chất gỗ khúc keo lá trà và mùn cưa cao su, chúng tôi còn tiến hành phân tích hàm lượng kim loại nặng mà cụ thể là chì (Pb) và cadimi (Cd), kết quả phân tích được thể hiện ở bảng 5.

Bảng 5. Kết quả phân tích kim loại nặng của nấm vân chi

Mẫu	Cd (mg/kg)	Pb (mg/kg)
CT1	0,0430,002	0,0130,001
CT4	0,0520,003	0,0110,002
QCVN (mg/kg)	0,2	0,3

Kết quả bảng 5 cho thấy hàm lượng Pb trong mẫu nấm được trồng trên gỗ keo thấp hơn mẫu trồng trên cơ chất mùn cưa cao su, ngược lại hàm lượng

Cd trong mẫu nấm trồng trên cơ chất mùn cưa cao su thấp hơn trên cơ chất gỗ keo. Tuy nhiên, theo QCVN 8-2:2011/BYT về giới hạn ô nhiễm kim loại nặng trong thực phẩm thì kết quả của hai mẫu nấm vân chi trồng trên mùn cưa và gỗ keo có hàm lượng cadimi và chì đều nằm dưới giới hạn cho phép.

Như vậy, việc sử dụng các loại cơ chất gỗ keo trồng nấm để thu hoạch quả thể cho thấy hàm lượng các kim loại nặng được phân tích trong mẫu nấm vân chi không vượt quá giới hạn cho phép. Trong tương lai việc sử dụng gỗ keo với các phương pháp xử lý khác nhau giúp giảm thời gian nuôi trồng, tăng năng suất đồng thời đạt tiêu chuẩn về sự tích lũy kim loại nặng trong nấm là xu hướng có triển vọng nhằm giảm sự phụ thuộc vào nguồn nguyên liệu mùn cưa cao su như hiện nay.

IV. KẾT LUẬN

Nấm vân chi trồng trên gỗ keo lá trà được xử lý dạng que hoặc khúc có khả năng sinh trưởng, phát triển và năng suất, chất lượng quả thể nấm tốt hơn khi trồng trên cơ chất mùn cưa cao su truyền thống cũng như mùn cưa gỗ trà:

Trồng nấm vân chi trên gỗ khúc keo lá trà rút ngắn được 20 ngày/chu kỳ nuôi trồng so với trồng trên mùn cưa cao su truyền thống;

Năng suất tăng 17% khi trồng nấm vân chi trên gỗ khúc keo lá trà so với trồng trên cơ chất mùn cưa cao su truyền thống; hiệu suất bắt gốc tự do ABTS.+ của dịch chiết nấm vân chi trồng trên gỗ keo với nồng độ 500 μ g/mL đạt 83,66%;

Hàm lượng polysaccharide và triterpens tổng số trong quả thể nấm vân chi trồng trên gỗ khúc keo lá trà cao hơn so với đối chứng, lần lượt là 3,330,04% và 0,0170,0001 mg/g.

Nấm vân chi trồng trên gỗ khúc keo lá trà có hàm lượng kim loại nặng Pb, Cd đều dưới giới hạn cho phép so với QCVN 8-2:2011/BYT về giới hạn ô nhiễm kim loại nặng trong thực phẩm.

LỜI CẢM ƠN

Xin chân thành cảm ơn sở Khoa học và Công nghệ thành phố Đà Nẵng đã tài trợ cho nghiên cứu này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Nguyễn Việt Cường, Phạm Đức Tuấn, Nguyễn Xuân Quát, 2008. *Cây trà Việt Nam từ nghiên cứu đến sản xuất - Sinh thái - công dụng - chọn giống - lai tạo giống và kỹ thuật gây trồng*. NXB Nông nghiệp.
- Vũ Tuấn Minh, Lê Thị Thu Hường, 2017. Nghiên cứu sự sinh trưởng, phát triển và năng suất nấm vân chi (*Trametes Versicolor* (L.) Pilat) Trồng trên các loại giá

- thể tại Thừa Thiên Huế. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ nông nghiệp*, ISSN: 2588-1256: 77-86.
- QCVN 8-2:2011/BYT - Quy chuẩn kỹ thuật quốc gia đối với giới hạn ô nhiễm kim loại nặng trong thực phẩm.
- TCVN 7603:2007 - Xác định hàm lượng Cadimi bằng phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử.
- TCVN 7602:2007 - Xác định hàm lượng chì bằng phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử.
- Trần Đức Tường, Võ Thị Thu Duyên, Dương Xuân Chũ, Bùi Thị Minh Diệu, 2019. Hiệu quả của thay thế mùn cưa cây cao su bằng vỏ tràm trong nuôi trồng nấm Vân chi đỏ (*Pycnoporus sanguineus* (L.: FR.) MURRILL). *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*, tập 55, số chuyên đề Công nghệ sinh học (2): 74-80.
- Fisher, M., Yang, L.X., 2002. Anticancer effects and mechanisms of polysaccharide-K (PSK): implications of cancer immunotherapy. *Anticancer Res.* 22: 1737-1754.
- Li, F., Wen, H., Zhang, Y., Aa, M., Liu, X., 2011. Purification and characterization of a novel immunomodulatory protein from the medicinal mushroom *Trametes versicolor*. *Sci. China Life Sci.* 54: 379-85.
- Hayakawa K., Mitsunashi N., Saito Y., Nakayama Y., Furuta M., Nakamoto S., Kawashima M., and Niibe H, 1997. Effect of Krestin as adjuvant treatment following radical radiotherapy in non-small cell lung cancer patients. *Cancer Detection and Prevention* 21(1): 71-7, January-February.
- Kamiyama, M., 2013. Antioxidant/Anti-Inflammatory Activities and Chemical Composition of Extracts from the Mushroom *Trametes Versicolor*. *International Journal of Nutrition and Food Sciences*, 2(2): 85 pp.
- Moon, J.K., Shibamoto, T., 2009. Antioxidant assays for plant and food components. *J. Agric. Food Chem.* 57: 1655-1666.
- Hossen, S.M.M., Akramul, M., Tanim, H., Hossain, M.S., Sami, S.A., & Emon, N.U., 2021. Deciphering the CNS anti-depressant, antioxidant and cytotoxic profiling of methanol and aqueous extracts of *Trametes versicolor* and molecular interactions of its phenolic compounds. *Saudi Journal of Biological Sciences*, <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2021.07.016>
- Nikolaos, Wang, L.F., Tsimidou, M., & Zhang, H.Y., 2004. Estimation of scavenging activity of phenolic compounds using the ABTS.+ assay. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(15): 4669-4674
- Standish, L.J., Wenner, C.A., Sweet, E.S., Bridge, C., Nelson, A., Martzen, M., Novack, J., Torkelson, C., 2008. *Trametes versicolor* mushroom immune therapy in breast cancer. *J. Soc. Integr. Oncol.* 6: 122-128.
- Tepliyakova, T.V., Psurtseva, N.V., Kosogova, T.A., Mazurkova, N.A., Khanin, V.A., Vlasenko, V.A., 2012. Antiviral activity of polyporoid mushrooms (higher Basidiomycetes) from Altai Mountains (Russia). *Intern. J. Med. Mushrooms* 14: 37-45.
- Leliebre-Lara V., M. García, C. Nogueiras, L. Monzote, 2015. Qualitative analysis of an ethanolic extract from *Trametes versicolor* and biological screening against *Leishmania amazonensis*. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 27(7): 592-595
- Zheng, Y., Li, Y., & Wang, W.D., 2014. Optimization of ultrasonic-assisted extraction and in vitro antioxidant activities of polysaccharides from *Trametes orientalis*. *Carbohydrate Polymers*, 111: 315-323.

Study on mycelial growth, yield and quality of *Trametes versicolor* cultivated on wood logs of *Acacia auriculiformis* in Da Nang city

Nguyen Thi Bich Hang, Pham Thi My, Tran Ngoc Son

Abstract

The study was conducted to investigate the effect of substrates on mycelia growth, yield and quality of *Trametes versicolor*. The experiment was conducted with 4 different treatments, 3 replications and arranged in a completely randomized block design. The results showed that *T. versicolor* cultivation on wood logs of *Acacia auriculiformis* mixed with additives, including 2% rice bran + 2% corn flour + 0.5% light flour + 0.5% sugar reduced growth time by 17 - 20 days compared to on rubber sawdust with the obtained yield of 4.8%. The height of fungal fruit reached about 9.42 cm while the diameter reached 4.12 m. The extract from ethanol of fruiting body was examined for antioxidant with the efficiency of 83.66% at the concentration of 500 µg/mL. The total polysaccharide and triterpens content in *T. versicolor* grown on wood logs of *Acacia auriculiformis* was 3.330.04%; 0.0170.0001 mg/g, respectively. The Cd and Pb metal concentration of *Trametes versicolor* cultivated on the acacia wood logs were 0.052 mg/kg and 0.031 mg/kg, respectively which meet the standards of the National technical regulation on the limits of heavy metals contamination in food QCVN 8-2: 2011/BYT.

Keywords: *Trametes versicolor*, *Acacia auriculiformis*, wood logs, growth, yield

Ngày nhận bài: 22/4/2021

Ngày phản biện: 20/5/2021

Người phản biện: TS. Nguyễn Thị Bích Thùy

Ngày duyệt đăng: 04/6/2021

PHÂN LẬP, TUYỂN CHỌN VÀ ĐỊNH DANH VI KHUẨN HÒA TAN LÂN, CỐ ĐỊNH ĐẠM VÀ TỔNG HỢP IAA VÙNG RỄ CÂY ĐÌNH LĂNG (*Polyscias fruticosa*)

Nguyễn Quốc Khương¹, Trần Ngọc Hữu¹, Lê Vinh Thúc¹,
Lê Thị Mỹ Thu¹, Nguyễn Hồng Huế¹, Trần Chí Nhân²,
Phạm Duy Tiến², Lý Ngọc Thanh Xuân²

TÓM TẮT

Mục tiêu của nghiên cứu là xác định được vi khuẩn có khả năng hòa tan lân, cố định đạm và tổng hợp IAA vùng rễ cây đình lăng. Mười ba mẫu đất vùng rễ đình lăng thu thập tại huyện Tri Tôn, tỉnh An Giang được sử dụng để phân lập vi khuẩn hòa tan lân trên môi trường NBRIP. Kết quả nghiên cứu xác định được 30 dòng vi khuẩn hòa tan lân, trong đó 15 dòng có khả năng chịu đựng được môi trường chua và dòng vi khuẩn ký hiệu AC10L2 có hoạt tính hòa tan lân cao nhất, đạt hàm lượng lân tan 20,5 mg P L⁻¹. Dòng vi khuẩn AC10L2 cũng có khả năng cố định đạm và tổng hợp IAA, với hàm lượng lần lượt là 63,2 mg P L⁻¹ và 0,81 mg IAA L⁻¹. Dòng vi khuẩn AC10L2 được định danh là *Bacillus subtilis* bằng kỹ thuật 16S rDNA.

Từ khóa: Đình lăng (*Polyscias fruticosa* L. Harms), vi khuẩn cố định đạm, vi khuẩn hòa tan lân, vi khuẩn tổng hợp IAA, *Bacillus subtilis*

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Đình lăng là một loài thuộc họ Araliaceae, có nguồn gốc từ Ấn Độ. Cây phát triển tốt nhất ở nhiệt độ từ 19 - 29°C và nhạy cảm với nhiệt độ cao (Pandya *et al.*, 2020). Theo Nguyen và cộng tác viên (2020), đình lăng là cây thảo dược có tác dụng trong y học, đặc biệt là chống oxy hóa, chống viêm và hạ sốt. Lân (P) đóng một vai trò quan trọng trong quá trình sinh trưởng và phát triển của cây trồng. Tuy nhiên, nhiều loại đất được xác định nghèo P hữu dụng cho cây trồng vì bị cố định bởi sắt, nhôm và canxi để tạo thành các hợp chất không tan cây trồng không thể hấp thu được (Weil and Brady, 2017), P tổng số có thể vẫn cao (Nussaume *et al.*, 2011). Lân tham gia vào một số chức năng trong cây trồng như quang hợp, hô hấp, tổng hợp acid nucleic, tạo năng lượng, một phần không thể thiếu của phosphoprotein và phospholipid (Cordell *et al.*, 2011). Đạm (N) có thể bổ sung từ nhiều nguồn khác nhau như khoáng hóa, cố định khí N₂ và phân bón (Zhang *et al.*, 2017). Tuy nhiên, sau thời gian dài bón phân hóa học, tình trạng thoái hóa và ô nhiễm đất ngày càng trầm trọng (Gurdeep and Reddy, 2015), đồng thời gia tăng phát thải khí nhà kính gây ô nhiễm môi trường (Nguyễn Quốc Khương, Ngô Ngọc Hưng, 2014). Indole-3-acetic acid (IAA), đóng vai trò quan trọng trong việc điều hòa sinh trưởng cây trồng (Jin *et al.*, 2021). Wei và cộng tác viên (2018) cho biết, các vi sinh vật trong đất góp phần gia tăng lượng lân hữu dụng trong đất cho cây trồng. Ngoài ra, vi khuẩn cũng đóng vai trò cung cấp đạm cho cây trồng (Nguyễn Quốc Khương

và *ctv.*, 2019). Nghiên cứu của Singh và cộng tác viên (2016) cũng cho biết, vi khuẩn vùng rễ đã được sử dụng để tăng cường sinh trưởng, phát triển cây trồng. Mục tiêu của nghiên cứu là tuyển chọn vi khuẩn vùng rễ cây đình lăng có khả năng hòa tan lân, cố định đạm và tổng hợp IAA.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Mẫu đất cho phân lập vi khuẩn được thu tại ba xã thuộc huyện Tri Tôn, tỉnh An Giang.

Môi trường NBRIP (g/L) gồm: 10 g glucose, 5 g Ca₃(PO₄)₂, 2,5 g MgCl₂·6H₂O, 0,25 g MgSO₄·7H₂O, 0,2 g KCl, 0,1 g (NH₄)₂SO₄, được sử dụng để phân lập vi khuẩn vùng rễ.

Môi trường Burk's (g/L) gồm: 10 sucrose, 0,41 KH₂PO₄, 0,52 KH₂PO₄, 0,05 Na₂SO₄, 0,2 CaCl₂, 0,1 MgSO₄·7H₂O, 0,005 FeSO₄·7H₂O, 0,0025 Na₂MoO₄·2H₂O và 20 agar, được sử dụng để nuôi các dòng vi khuẩn và đánh giá khả năng cố định đạm.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Thu thập và phân tích mẫu đất

Mười ba mẫu đất vùng rễ được thu tại các vị trí xung quanh gốc của cây đình lăng 02 năm tuổi, với khối lượng 500 g/mẫu, được tư liệu hóa, trữ lạnh và phân tích các chỉ tiêu pH_{H₂O}, pH_{KCl}, lân tổng số, lân dễ tiêu theo phương pháp được mô tả bởi Sparks và cộng tác viên (1996) tại trong phòng thí nghiệm của

¹ Bộ môn Khoa học cây trồng, Khoa Nông nghiệp, Trường Đại học Cần Thơ

² Trường Đại học An Giang; Trường Đại học Quốc gia thành phố Hồ Chí Minh