XÂY DỰNG QUY TRÌNH TRỒNG NẤM HỒNG CHI *(GANODERMA LUCIDUM)* TRÊN MÔI TRƯỜNG BÃ MÍA VÀ MÙN CƯA HỖ TRỢ XÓA ĐÓI GIẢM NGHÈO TẠI XÃ TRUNG HÒA HUYỆN TRẢNG BOM TỈNH ĐỒNG NAI

Đoàn Thị Tuyết Lê, Lê Kiên Cường
Khoa Công Nghệ Sinh Học – Môi Trường, trường Đại Học Lạc Hồng

TÓM TẮT

Đề tài thực hiện với mục đích tăng tính đa dạng về thành phần môi trường trồng nấm Linh chi, góp phần giảm chi phí cho quá trình sản xuất nấm và giảm thiểu ô nhiễm môi trường do việc chôn lấp và đốt bã mía gây ra. Từ đó góp phần xây dựng mô hình hỗ trợ xóa đói giảm nghèo ở một số địa phương cụ thể là ở xã Trung Hòa huyện Trảng Bom tỉnh Đồng Nai.

Sau khi khảo sát tốc độ lan tơ, năng suất và kết quả phân tích dược tính, đề tài đã chọn được môi trường kết hợp mùn cưa và bã mía ở tỉ lệ 55% mùn cưa: 45% bã mía là môi trường tối ưu nhất trong tất cả các môi trường được khảo sát.

Kết quả của đề tài cũng cho thấy Nấm Hồng Chi trồng trên các môi trường kết hợp bã mía và mùn cưa với những tỉ lệ (100:0, 95:5; 90:10; 85:15; 80:20, 75:25; 70:30, 65:35; 60:40, 55:45; 50:50, 45:55; 40:60, 35:65; 30:70, 25:75; 20:80, 15:85; 10:90; 5:95; 0:100) đều có chứa các hợp chất alkaloid, saponin, polysaccharide, triterpenoid, acid hữu cơ.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Nấm Linh Chi trước đây thường được trồng trên môi trường mùn cưa truyền thống là chủ yếu [1][3]. Môi trường mùn cưa là một môi trường có hàm lượng xenlulose cao tuy nhiên hàm lượng đường và một số thành phần dinh dưỡng khác cần cho nấm phát triển lại rất thấp. Hiện nay đã có những nghiên cứu và đã nuôi trồng thành công nấm Linh chi trên giá thể môi trường làm từ bã mía. Đây là môi trường có hàm lượng các chất dinh dưỡng thích hợp cho nấm phát triển, tuy nhiên

hàm lượng xenlulose ở môi trường bã mía lại thấp hơn môi trường mùn cưa. Hơn nữa, xóa đói giảm nghèo là một chương trình lớn của Đảng và Nhà nước thực hiện trong nhiều năm. Chính vì những vấn đề trên mà đề tài được thực hiện

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu

- Giống nấm Hồng Chi (*Ganoderma Lucidum*) được cung cấp từ trại nấm Nola, Viện nghiên cứu Công nghệ sinh học và Môi trường, Đại học Nông Lâm thành phố Hồ Chí Minh.
- Mạt cưa cao su được lấy ở Dầu Tiếng, Bình Dương.
- Bã mía được lấy ở công ty Đường NIVL

2.3 Hóa chất, thiết bị, dụng, dụng cụ

Glucose, agar Việt Xô, DAP, vôi bột, H_2SO_4 đậm đặc, H_2SO_4 1%, cồn 96^0, cồn 80^0, cồn 70^0, NH_4OH đậm đặc, HCl 1%, HCl 6N, HCl 0,1N, $HgCl_2$, KI, $Bi(NO3)_3$, HNO_3 30%, NaOH 0,1N, Na_2CO_3 tinh thể, diethyl ether, anhydrid acetic, chloroform, nước cất; nồi hấp khử trùng Autoclave TOMY, tủ cấy vô trùng (hiệu Nguyên Anh – Cass Laminar), tủ sấy (Trung tâm Thắng Hưng – THG), cân điện tử, bếp điện (hiệu Gali), túi nilon, đèn cồn, ống nghiệm, pipet, bình tam giác, đũa khuấy, chén sứ, ống đong, Bercher, bóp cao su, giấy lọc

2.3 Phương pháp nghiên cứu

2.3.1 Thuần chủng giống nấm Hồng Chi (*Ganoderma lucidum*)

- *Giống cấp I :* Sử dụng môi trường thạch nghiêng PGA làm môi trường nuôi cấy giống cấp I. Nuôi ủ ở điều kiện nhiệt độ phòng (25 – 30^0C).
- *Giống cấp II :* Sử dụng môi trường hạt lúa có bổ sung cám gạo 5%. Ủ tối ở nhiệt độ phòng (25 – 30^0C) đợi tơ nấm lan hết bịch
- *Giống cấp III :* Sử dụng môi trường cọng mì làm môi trường nuôi cấy giống cấp III. Ủ khoảng 15 ngày là tơ nấm đã lan kín bịch và có thể đem đi cấy giống vào bịch phôi.

2.3.2 Tạo môi trường đơn và môi trường kết hợp để trồng nấm Hồng Chi

Môi trường được thiết kế dựa vào cách bố trí thí nghiệm. Cụ thể đề tài thiết kế 21 môi trường nghiệm thức khác nhau dựa vào tỷ lệ mùn cưa: bã mía, theo tỉ lệ như sau: 100:0; 95:5; 90:10; 85:15; 80:20; 75:25; 70:30; 65:35; 60:40; 55:45; 50:50; 45:55; 40:60 ; 35:65 ; 30:70 ; 25:75 ; 20:80 ; 15:85 ; 10:90 ; 5:95 ; 0:100. . Mỗi nghiệm thức lặp lại 5 lần. Khối lượng mỗi nghiệm thức là 5kg. Các giá thể môi trường trên chỉ khác nhau về tỉ lệ mùn cưa và bã mía còn các thành phần bổ sung vào (cám gạo 3%, DAP 3‰…) đều như nhau.

3.3.3 Cấy giống nấm và trồng thu quả thể nấm

- Phương pháp cấy giống nấm: Sử dụng phương pháp cấy giống trên cọng mì.
- Cách nuôi trồng, chăm sóc

Sau khi tơ lan kín bịch thì tiến hành mở nắp, treo bịch phôi lên giàn, chờ đón quả thể. Điều kiện nuôi trồng phải có độ ẩm từ 80 – 90%, ánh sáng 500 – 1200lux, nhiệt độ 27 – 28^0C.

3.3.4 Khảo sát tốc độ lan tơ của nấm Hồng Chi

Sau khi cấy giống, tơ trong bịch phôi sẽ lan từ trên đỉnh bịch phôi xuống đáy bịch. Cứ sau 3 ngày, ta tiến hành đo độ dài tơ lan xuống. Từ đó tính ra được tốc độ lan tơ trung bình của từng loại cơ chất.

3.3.5 Khảo sát năng suất thu hoạch của nấm Hồng Chi

3.3.5.1 Đo đường kính và độ dày quả thể

Sau khi quả thể nấm Hồng Chi ngừng sinh trưởng (khoảng 80 ngày từ ngày cấy giống), tiến hành thu hái quả thể nấm Hồng Chi. Sau đó tiến hành đo đường kính, độ dày của quả thể, độ dài cuống nấm.

3.3.5.2 Khảo sát trọng lượng nấm Hồng Chi

Cân trọng lượng tươi của quả thể, sau đó mang đi sấy đến trọng lượng không đổi, từ đó xác định lượng ẩm có trong nấm Hồng Chi thu hái được trên từng cơ chất.

3.3.6 Phân tích dược tính của nấm Hồng Chi sau khi thu hái

3.3.6.1 Định tính alkaloid

Bằng thuốc thử Mayer, Dragendorff

3.3.6.2 Xác định hợp chất saponin

Bằng thử nghiệm tính tạo bọt và thử nghiệm Fontan – Kaudel

3.3.6.3 Định tính triterpenoid

Sử dụng phản ứng Liebermann-Burchard

3.3.6.4 Định tính acid hữu cơ

Chiết GLPs ở nhiệt độ thấp, nhằm ổn định cấu trúc sinh học của các GLPs

3.3.6.5 Định lượng polysaccharide (GLPs) [4]

Sử dụng Na_2CO_3 tinh thể cho vào dịch chiết

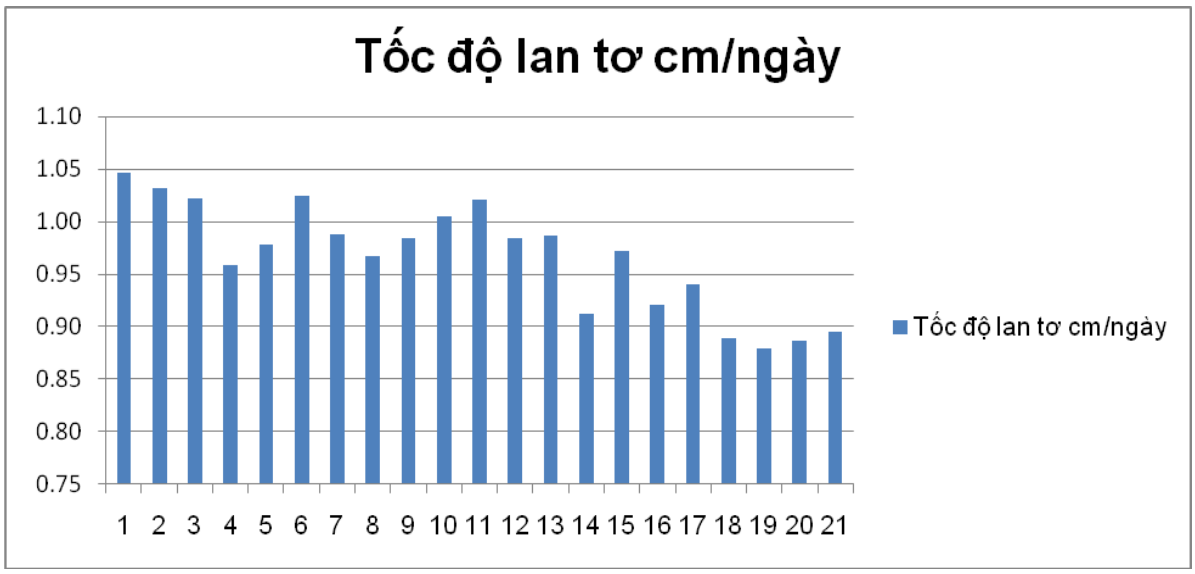
3.3.7 Thiết lập quy trình, hướng dẫn kỹ thuật, hỗ trợ nông dân cách trồng nấm Hồng Chi

Liên hệ địa phương -> được sự đồng thuận -> Tiếp cận và tư vấn cho một số Hộ nghèo -> Lựa chọn hộ làm thí điểm -> Hướng dẫn kỹ thuật theo từng công đoạn -> Theo dõi đánh giá kết quả -> Kết luận và định hướng triển khai.

KẾT QUẢ THẢO LUẬN

4.1 Kết quả khảo sát tốc độ lan tơ

Kết quả này được ghi nhận trong vòng 15 ngày, cứ 3 ngày đo tốc độ lan tơ một lần. Đơn vị đo là cm. Kết quả với 5 lần lặp lại ở mỗi nghiệm thức. Kết quả cụ thể được trình bày ở biểu đồ 4.1.



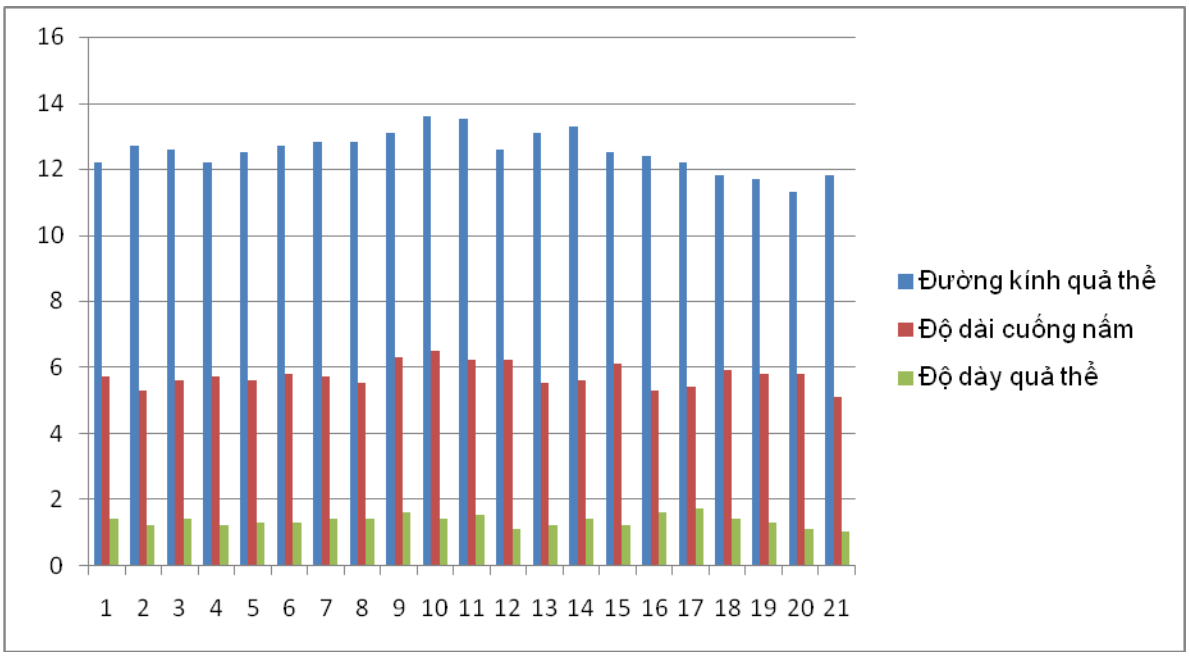
Biểu đồ 4.1: Tốc độ lan tơ trung bình

Từ biểu đồ 4.1 cho thấy nấm Hồng Chi lan tơ khá tốt và đều trên các môi trường nghiệm thức. Môi trường 100% mùn cưa là môi trường có tốc độ lan trung bình nhanh nhất và môi trường nghiệm thức 19 (tỉ lệ mùn cưa:bã mía 10:90) là môi trường có tốc độ lan tơ chậm nhất. Môi trường nghiệm thức 2, 3, 6, 10, 11 cho tốc độ lan tơ đồng đều và tương đối cao.

4.2 Kết quả khảo sát năng suất nấm Hồng Chi

4.2.1 Kết quả khảo sát kích thước nấm Hồng Chi

Kích thước của nấm Hồng Chi được đánh giá dựa vào những yếu tố sau: Đường kính quả thể ; độ dài cuống nấm; độ dày quả thể. Kết quả cụ thể được trình bày ở biểu đồ 4.2

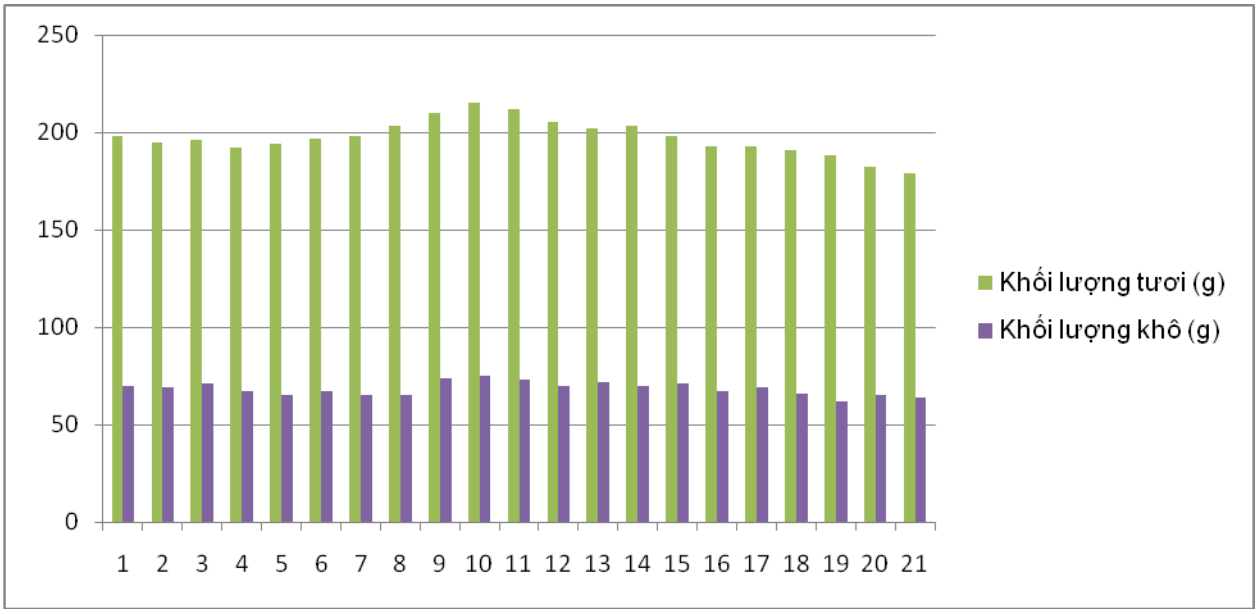


Biểu đồ 4.2 : Kết quả khảo sát kích thước quả thể nấm Hồng Chi

Qua dồ thị 4.2 cho thấy, nấm Hồng Chi được nuôi trồng trên môi trường nghiệm thức số 10 có kích thước tốt hơn so với những nghiệm thức còn lại về độ dài cuống và đường kính quả thể.

4.2.2 Kết quả khảo sát trọng lượng nấm Hồng Chi

Nấm Hồng Chi được thu hái trên 5 bịch phôi ở từng nghiệm thức. Sau đó được tiến hành thí nghiệm khảo sát trọng lượng. Kết quả thể hiện ở biểu đồ 4.3.

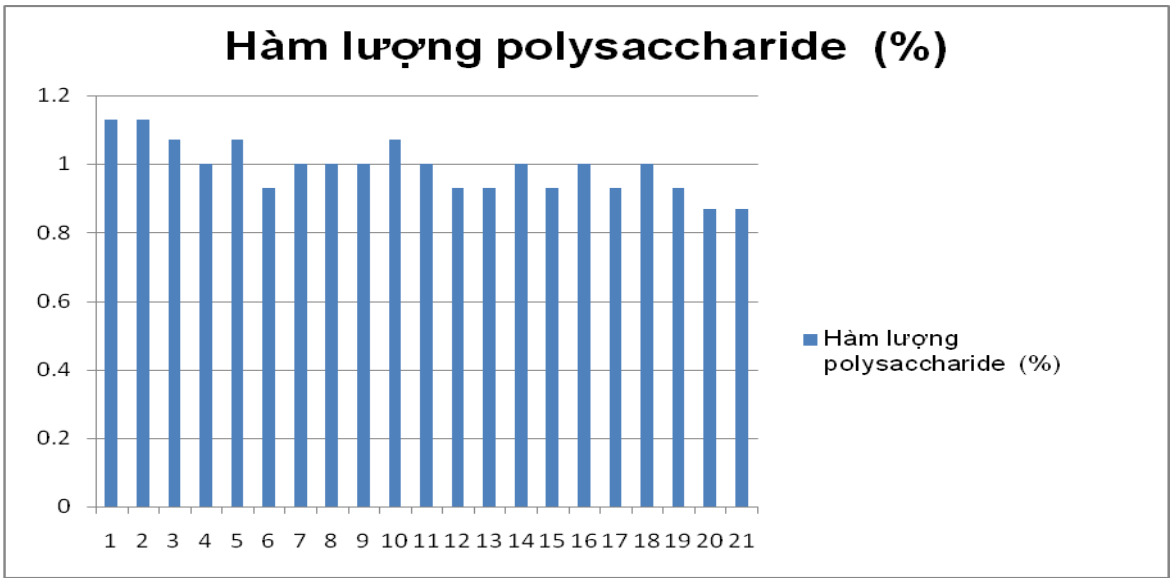


Biểu đồ 4.3: Kết quả khảo sát trọng lượng của nấm Hồng Chi

Từ kết quả ở biểu đồ 4.3 cho thấy trọng lượng khô của nấm Hồng Chi thu hái được cao ở nghiệm thức 10 (75 gam) và thấp nhất ở nghiệm thức 21 (64 gam). Hàm lượng nước có trong nấm Hồng Chi khá cao từ 64.2% – 69.4%. Giải thích cho kết quả này là do nấm Hồng Chi được thu hái ở giai đoạn 3 tuần tuổi, đây là giai đoạn nấm hút nước nhiều để sinh trưởng và tăng kích thước tai nấm.

4.3 Kết quả của quá trình khảo sát dược tính nấm Hồng Chi

Tiến hành thí nghiệm như mục 3.3.6 thu được kết quả như sau: Nấm Hồng Chi thu hái trên 21 môi trường nghiệm thức đều chứa alkaloid, saponin, triterpenoid, acid hữu cơ; lượng polysaccharide thu nhận được theo biểu đồ 4.4



Biểu đồ 4.4: Lượng polysaccharide thu nhận được

Từ kết quả ở bảng 4.4 và Biểu đồ 4.4 cho thấy hàm lượng polysaccharide trong nấm Hồng Chi trồng trên các môi trường thí nghiệm cao nhất ở nghiệm thức 1, 2 (1.13%), ở nghiệm thức 3, 5, 10 là khá cao (1,07%), thấp nhất ở nghiệm thức 21 (0,87%)

Như vậy, nấm Hồng Chi thu hái từ môi trường phối trộn mùn cưa : bã mía đã khảo sát thì môi trường có tỷ lệ mùn cưa : bã mía 2, 3, 5, 10 cho kết quả định lượng polysaccharide là cao nhất (1%).

Như vậy, qua những kết quả thu được khi trồng nấm Hồng Chi trên các môi trường kết hợp bã mía và mùn cưa cho thấy môi trường nghiệm thức số 10 (tỷ lệ phần khối lượng mùn cưa và bã mía là 55:45) cho những đặc tính tốt cả về tốc độ lan tơ, năng suất thu hoạch và hàm lượng polysacharide. Những nghiệm thức khác như nghiệm thức 2, 3, 5 đều cho lượng polysaccharide cao và bằng nghiệm thức 10 nhưng các đặc tính khác như về kích thước quả thể, trọng lượng thu hoạch thấp hơn so với nghiệm thức 10. Từ những kết quả trên nhóm tác giả chọn nghiệm thức 10.

4.4 Thiết lập quy trình, hướng dẫn kỹ thuật, hỗ trợ nông dân cách trồng nấm Hồng Chi

- Quy trình trồng nấm đã được khảo sát thành công tại phòng thí nghiệm.

- Đã liên hệ và nhận được sự đồng thuận của địa phương.

- Tìm kiếm tài trợ để triển khai trồng nấm.

- Hoàn thiện tài liệu kỹ thuật chi tiết phục vụ công tác tập huấn cho một số hộ nghèo thí điểm.

V. KẾT LUẬN

5.1 Kết luận

Từ những kết quả thu được, đề tài rút ra một số kết luận sau:

(1) Đã tìm ra được môi trường kết hợp giữa mùn cưa : bã mía tương ứng với tỉ lệ 55% mùn cưa: 45% bã mía.

(2) Nấm Hồng Chi thu hái được trên môi trường thí nghiệm có những đặc tính tốt tơ lan tốt, đều, phủ trắng giá thể; quả thể thu hái được có đường kính lớn và dày. Nấm Hồng Chi (Ganoderma lucidum) được trồng trên môi trường kết hợp 55% mùn cưa: 45% bã mía có đặc điểm sau:

- Tốc độ lan tơ trung bình: 1.00 cm/ngày.
- Đường kính quả thể ở 3 tuần tuổi: 13.6cm.
- Chiều dài cuống nấm: 6,5 cm.

- Độ dày quả thể: 1.4 cm.
- Lượng Polysaccharid thu được sau khi lọc, sấy khô: 0.16g chiếm 1,07 %
- Trọng lượng tươi nấm Hồng Chi thu hái là 215g.
- Cho kết quả dương tính khi định tính các chất alkaloid, triterpenoid, saponin, acid hữu cơ.

(3) Về dược tính, Nấm Hồng Chi trồng trên các môi trường kết hợp bã mía và mùn cưa với những các tỉ lệ 100:0; 95:5; 90:10; 85:15; 80:20; 75:25; 70:30; 65:35; 60:40; 55:45; 50:50; 45:55; 40:60 ; 35:65 ; 30:70 ; 25:75 ; 20:80 ; 15:85 ; 10:90 ; 5:95 ; 0:100, đều có chứa các hợp chất alkaloid, saponin, polysaccharide, triterpenoid, acid hữu.

(4) Nấm Hồng Chi này được Công ty Dược thảo Phúc Vinh khảo sát hướng tới sử dụng trong các sản phẩm dược phẩm.

(5) Bước đầu đạt được sự đồng thuận của UBND xã Tây Hoà triển khai cho một số hộ nghèo trồng thí điểm.

5.2 Đề nghị

(1) Khảo sát nhiều tỉ lệ mùn cưa: bã mía hơn nữa để chọn ra tỉ lệ tối ưu nhất.

(2) Tiến hành định lượng được nhiều thành phần dược tính hơn nữa như triterpenoid, alkaloid…

(3) Tiến hành phân tích hàm lượng Cacbon và Nitơ tổng trong từng môi trường nghiệm thức làm cơ sở cho giúp cho việc chọn môi trường kết hợp thích hợp thích hợp và chính xác hơn.

(4) Tiếp tục phối hợp với địa phương triển khai tới hộ nghèo theo đúng kế hoạch.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nguyễn Lân Dũng, 2001. Công nghệ nuôi trồng nấm, tập 1 và 2. Nhà xuất bản Nông nghiệp, Hà Nội.

2. Nguyễn Hữu Đống, Zani Federico, Đinh Xuân Linh, Nguyễn Thị Sơn, 2005. Nấm ăn – cơ sở khoa học và công nghệ nuôi trồng. Nhà xuất bản Nông nghiệp, Hà Nội.

3. Nguyễn Minh Khang, 2005. Khảo sát sinh trưởng nấm Linh Chi đen (Amauroderma subresinosum, Corner) phát hiện tại vùng núi Chứa Chan – Việt Nam. Khóa luận tốt nghiệp Kỹ sư Công nghệ Sinh học, Đại học Nông Lâm Tp. Hồ Chí Minh.

4. Trần Văn Mão, 2008. Sử dụng vi sinh vật có ích, tập 1. Nhà xuất bản Nông nghiệp, Hà Nội.

5. Trần Thị Lệ Minh, 2011. Giáo trình Hóa Dược Ứng Dụng. Bộ môn Công Nghệ Sinh Học, Đại học Nông Lâm Tp. Hồ Chí Minh.

6. Lê Xuân Thám, 1996. Nghiên cứu đặc điểm sinh học và đặc điểm hấp thu khoáng của nấm Linh Chi Ganodrema lucidum (Leyss. ex Fr). Karst. Luận án phó tiến sỹ khoa học sinh học, Đại học Khoa Học Tự Nhiên, Đại Học Quốc Gia Hà Nội.

7. Lê Duy Thắng, 2001. Kỹ thuật nuôi trồng nấm ăn, tập 1. Nhà xuất bản Nông nghiệp.

8. Phan Hữu Tín, 2011. Nghiên cứu sử dụng phụ phẩm nông nghiệp trồng nấm Linh chi Ganoderma lucidum. Khóa luận tốt nghiệp Kỹ sư Công nghệ Sinh học, Đại học Nông Lâm Tp. Hồ Chí Minh.