

ẢNH HƯỞNG CỦA MÔI TRƯỜNG NUÔI CẤY LÊN SỰ HÌNH THÀNH QUẢ THỂ NẤM TUYẾT TRÙNG THẢO

Phạm Thị Diệu Thiên⁽¹⁾, Lê Thị Ngọc⁽¹⁾, Huỳnh Nhật Toàn⁽¹⁾
Lê Anh Duy⁽¹⁾, Nguyễn Thị Ngọc Nhi⁽¹⁾

(1) Trường Đại học Thủ Dầu Một

Ngày nhận bài 20/03/2019; Ngày gửi phản biện 26/03/2019; Chấp nhận đăng 28/04/2019

Email: nhintn@tdmu.edu.vn

Tóm tắt

Kết quả nghiên cứu tác động của môi trường nuôi cấy lên sự hình thành quả thể nấm tuyết trùng thảo (*Isaria tenuipes*) cho thấy, môi trường hữu cơ thích hợp bao gồm gạo lứt tẻ (tỉ lệ gạo lứt: dịch nước là 1:1,5), saccarose (35g/l), đậu nành 200g/l, và thời gian thu quả thể nấm cho năng suất cao là 40 ngày. Đây là quá trình sản xuất nấm tuyết trùng thảo bằng môi trường hoàn toàn hữu cơ từ các nguồn nguyên liệu phổ biến và rẻ tiền nhưng vẫn cho năng suất cao. Kết quả này là cơ sở cho quá trình sản xuất tuyết trùng thảo trên quy mô lớn.

Từ khóa: đậu nành, gạo lứt, quả thể, tuyết trùng thảo

Abstract

THE EFFECT OF CULTURE MEDIA ON THE FORMATION FRUIT BODY OF *ISARIA TENUIPES*

The results of the study of the effect of culture media on the formation fruit body of *Isaria tenuipes* showed that the appropriate organic environment includes brown rice (brown rice: water is 1:1,5). Saccarose (35g/l), soy beans 200g/l, and the time top high yielding mushrooms is 40 days. This is the production process of *Isaria tenuipes* by cultures organic, form popular materials and inexpensive materials but still high yield. This result is the communication for *Isaria tenuipes* production process on a large scale.

1. Mở đầu

Nấm ký sinh côn trùng *Isaria tenuipes* (Peck) Samson (*Paecilomyces tenuipes* Peck) thuộc ngành Ascomycota, lớp Ascomycetes, bộ Onygenales (Sung và cs., 2007). Theo kết quả nghiên cứu của Kikuchi và cs., (2004) cho thấy, trong sinh khối nấm *I. tenuipes* chứa adenosine, manitol, paecilomycine A, B và C là các chất có hoạt tính sinh học cao. Ở Trung Quốc, Nhật Bản, Hàn Quốc đã sử dụng loài nấm này làm thực phẩm chức năng hỗ trợ điều trị nhiều loại bệnh khác nhau như phế quản, hen suyễn, viêm phổi, bệnh thận và ung thư (Zhu và cs., 1998a, b). Các hoạt chất Ergosterol peroxide và Acetoxyscirpenediol tách chiết từ nấm *I. tenuipes* nuôi cấy nhân tạo có khả năng ức chế các dòng tế bào ung thư ở người như tế bào khối u dạ dày, tế bào ung thư gan, tế bào ung thư ruột kết - ruột thẳng. Hoạt tính của Acetoxyscirpenediol mạnh hơn Cisplatin là hoạt chất đang được dùng điều trị cho các bệnh nhân ung thư hiện nay là 4 đến 6,6 lần (Hong và cs., 2007).

Hiện nay, nhu cầu dùng nấm tuyết trùng thảo để sản xuất thực phẩm chức năng đang rất cao. Chính vì vậy, việc tìm ra môi trường nuôi cấy nấm hoàn toàn hữu cơ nhưng vẫn cho năng suất cao là việc hết sức thiết thực nhằm đảm bảo sức khỏe người tiêu dùng.

2. Phương pháp nghiên cứu

Nguyên liệu: Giống nấm được cung cấp từ phòng thí nghiệm Trường Đại học Thủ Dầu Một; khoai tây, nhộng tằm, đậu nành, trứng, gạo lứt tẻ (gà), gạo lứt tím than, gạo lứt huyết rồng.

Thiết bị: tủ sấy, nồi hấp tiệt trùng, tủ cấy vô trùng, dụng cụ nuôi cấy.....

Hóa chất: Agar, Glucose, Saccarose, ri đường, cồn 90°, cồn 70°, peptone (Ấn Độ), yeast extract (Ấn Độ).

Phương pháp:

Phương pháp cấy chuyền và giữ giống: Sử dụng môi trường PDA (khoai tây 200g/l, Glucose 20g/l, agar 20g/l). Công việc cấy chuyền được lặp lại sau 30 ngày giữ giống.

Phương pháp chuẩn bị nguồn giống: Sử dụng môi trường SDAY (Glucose 20g/l, Pepton 5g/l, Yeast extract 5g/l) để nhân giống chủng dạng lỏng thuần thiết tạo nguồn giống bố trí các thí nghiệm tiếp theo.

Phương pháp xác định trọng lượng khô quả thể: Phần quả thể đem sấy khô đến khối lượng không đổi, dùng cân phân tích để xác định trọng lượng quả thể.

Bố trí các thí nghiệm: Các thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên theo kiểu thừa số 2 nhân tố. Mỗi thí nghiệm được lặp lại 3 lần, tổng cộng có 27 đơn vị thí nghiệm. Sau mỗi thí nghiệm chọn nghiệm thức có kết quả tốt nhất để tiến hành khảo sát thêm các yếu tố tiếp theo.

Phương pháp xử lý số liệu: Các số liệu thô được nhập liệu, xử lý và vẽ biểu đồ bằng phần mềm Excell 2013. Phần mềm Minitab 16 được sử dụng để phân tích phương sai (ANOVA). Từ đó, đưa ra kết luận về sự sai biệt giữa các giá trị trung bình. Các giá trị trung bình được so sánh bằng phép thử Tukey.

3. Kết quả và thảo luận

3.1. Ảnh hưởng các loại gạo lứt và thời gian nuôi trồng đến sự hình thành quả thể nấm tuyết trùng thảo

Dựa vào kết quả nuôi cấy nấm tuyết trùng thảo trong môi trường nhân tạo cho thấy, nấm có thể phát triển và hình thành quả thể trong 3 loại gạo lứt khác nhau (gạo lứt tẻ, gạo lứt huyết rồng, gạo lứt tím than). Trong 2 nhân tố được khảo sát là các loại gạo lứt và thời gian nuôi cấy cả hai đều có tác động lên sự hình thành quả thể nấm tuyết trùng thảo. Trong đó nhân tố các loại gạo lứt có tác động đến sự hình thành quả thể lớn hơn so với nhân tố thời gian nuôi trồng. Bên cạnh tác động riêng lẻ của từng nhân tố còn có sự tác động tương tác giữa nhân tố các loại gạo lứt và ngày thu lên khối lượng quả thể nấm (bảng 1).

Các loại gạo lứt trong thí nghiệm có thành phần dinh dưỡng tương đối giống nhau trong đó tinh bột chiếm tỉ lệ lớn 72,8 – 77,7%. Tuy nhiên trong gạo lứt tẻ hàm lượng protein, lipid và khoáng nhiều hơn so với hai loại gạo lứt còn lại (Nguyễn Công Khẩn và cs., 2007). Đặc biệt khi hấp khử

trùng cơ chất gạo lứt tẻ có độ nở nhiều giúp oxi khuếch tán đều vào cơ chất. Vì vậy môi trường gạo lứt tẻ cho kết quả tốt nhất với khối lượng quả thể khô đạt từ 7,926 – 8,810 g/100g cơ chất. Khối lượng quả thể khô thu được từ môi trường gạo lứt huyết rồng đạt 6,256 – 6,996 g/100g cơ chất. Gạo lứt tím than cho năng suất thấp nhất 4,116 – 5,750 g/100g cơ chất. Điều này cho thấy gạo lứt tẻ là môi trường thích hợp cho sự hình thành quả thể tuyệt trùng thảo so với gạo lứt huyết rồng và tím than (Hình 1).

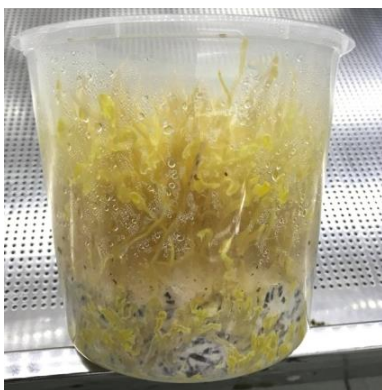
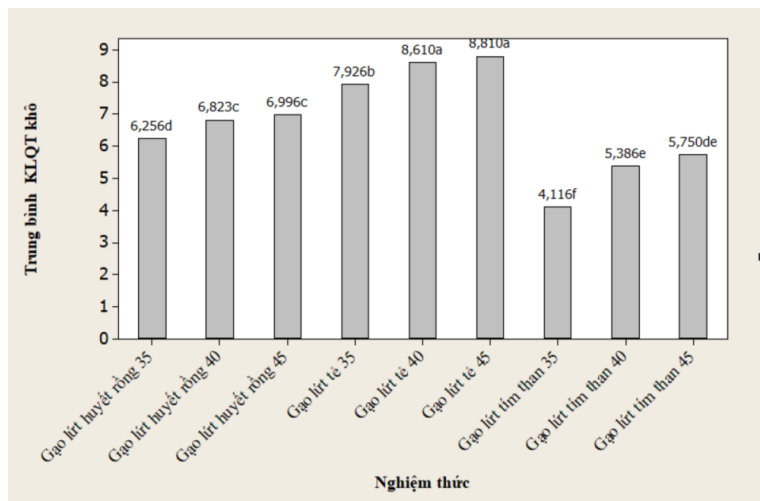
Bảng 1. Kết quả phân tích ANOVA tác động của các loại gạo lứt và thời gian nuôi trồng đến sự hình thành quả thể nấm tuyệt trùng thảo

Nguồn tác động	F	P
Các loại gạo lứt	691.70	0.000
Ngày thu	79.16	0.000
Tương tác giữa các loại gạo lứt và ngày thu	5.02	0.006

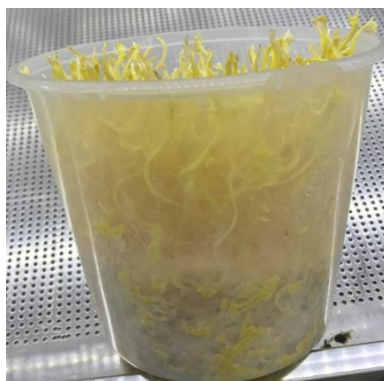
Kết quả nghiên cứu cho thấy thời gian thu quả thể trong môi trường gạo lứt tẻ đạt khối lượng cao nhất là 45 ngày. Tuy nhiên khối lượng quả thể thu được ở ngày thứ 40 và 45 không có sự khác biệt về mặt thống kê ở mức ý nghĩa 5% (Hình 1) nên thu hoạch ở ngày 40 là thích hợp để đảm bảo giá trị dinh dưỡng, được tính của nấm và giảm chi phí sản xuất.

Hình 1. Ảnh hưởng của các loại gạo lứt và thời gian nuôi cấy lên sự hình thành quả thể nấm tuyệt trùng thảo (*I. tenuipes*)

Ghi chú: Các cột không cùng ký tự thì có sự khác biệt về mặt thống kê ở mức ý nghĩa 5%.



A



B



C

Hình 2. Quả thể tuyệt trùng thảo trên 3 loại gạo lứt

A. Gạo lứt tím than

B. Gạo lứt huyết rồng

C. Gạo lứt tẻ (lứt gà)

3.2. Tác động của các loại đường và nồng độ đến sự hình thành quả thể nấm tuyết trùng thảo

Kết quả khối lượng quả thể nấm tuyết trùng thảo sau 40 ngày nuôi cấy trong môi trường có bổ sung các loại đường khác nhau cho thấy nấm tuyết trùng thảo có thể phát triển trong 3 loại đường (glucose, saccarose, ri đường) với 3 nồng độ (35 g/l, 45 g/l, 55 g/l). Nguyên nhân nấm tuyết trùng thảo có thể sử dụng nhiều nguồn carbohydrat khác nhau là do trong nấm có hệ enzyme chuyển hóa carbohydrat. Điều này được biểu hiện rõ qua khối lượng quả thể khô thu được trong các nghiệm thức từ dao động từ 6,956 – 8,823 g/100 cơ chất.

Trong 2 nhân tố được khảo sát là các nguồn carbon và nồng độ các nguồn carbon thì cả hai đều có tác động lên sự hình thành quả thể nấm tuyết trùng thảo. Trong đó nhân tố nồng độ các nguồn carbon ít tác động lên sự hình thành quả thể so với nhân tố các nguồn carbon. Bên cạnh tác động riêng lẻ của từng nhân tố còn có sự tác động tương tác giữa các nguồn carbon và nồng độ lên khối lượng quả thể (Bảng 2).

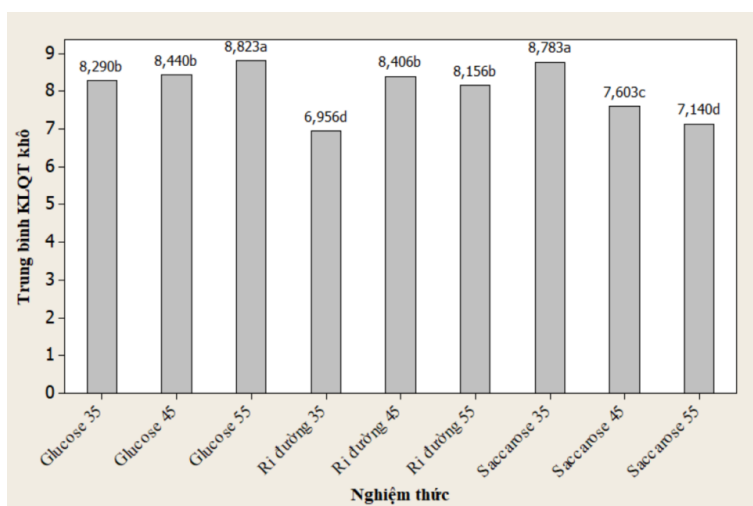
Bảng 2. Kết quả phân tích ANOVA tác động của các loại đường và nồng độ đến sự hình thành quả thể nấm tuyết trùng thảo

Nguồn tác động	F	P
Các nguồn Carbon	118.19	0.000
Nồng độ	4.21	0.032
Tương tác giữa các nguồn Carbon và nồng độ	177.86	0.000

Nhân tố các nguồn Carbon tác động lớn đến sự hình thành quả thể nấm tuyết trùng thảo. Trong 3 loại đường Glucose, Saccarose, ri đường có hàm lượng Carbohydrat khác nhau nên tác động đến khả năng hình quả thể khác nhau. Môi trường bổ sung đường Glucose cho năng suất cao hơn môi trường bổ sung đường Saccarose và môi trường bổ sung ri đường cho năng suất thấp nhất.

Hình 3. Ảnh hưởng của loại đường và nồng độ lên sự hình thành quả thể nấm tuyết trùng thảo (*I. tenuipes*)

Ghi chú: Các cột không cùng ký tự thì có sự khác biệt về mật thống kê ở mức ý nghĩa 5%.



Nghiệm thức bổ sung đường Glucose nồng độ 55g/l cho năng suất cao nhất đạt 8,823g/100g cơ chất và Saccarose nồng độ 35g/l năng suất đạt 8,783g/100g cơ chất. So về giá trị kinh tế thì việc sử dụng đường Saccarose với nồng độ 35g/l đem lại lợi nhuận cao hơn đường Glucose 55 g/l. Khi tăng nồng độ đường Saccarose từ 35 -55g/l tơ nấm phát triển mạnh trên bề mặt cơ chất ngăn cản oxi

khuyếch tán vào cơ chất làm ức chế sự hình thành quả thể nên năng suất giảm dần. Môi trường bổ sung ri đường với nồng độ 45 – 55 g/l so với môi trường bổ sung Glucose 35 – 45 g/l không có sự khác biệt về mặt thống kê ở mức ý nghĩa 5% (Hình 3).

Vấn đề an toàn thực phẩm cũng được chú trọng trong sản xuất nấm ăn và nấm dược liệu nên chúng tôi không khuyến cáo dùng ri đường để nuôi trồng nấm tuyệt trùng thảo vì thành phần các chất trong ri đường rất khó kiểm soát và hầu như không dùng trong chế biến thực phẩm cho người.

Hình 3 cho thấy, năng suất quả thể nấm tuyệt trùng thảo cao nhất ở môi trường bổ sung đường Glucose với nồng độ 55g/l và môi trường bổ sung đường Saccarose với nồng độ 35g/l. Vì vậy việc sử dụng đường Saccarose với nồng độ 35g/l đem lại lợi nhuận cao hơn.

3.3. Ảnh hưởng của các nguồn Nito và nồng độ đến sự hình thành quả thể nấm tuyệt trùng thảo

Khảo sát khối lượng quả thể nấm tuyệt trùng thảo được cấy trong môi trường có bổ sung các nguồn Nito khác nhau cho thấy nấm tuyệt trùng thảo có thể phát triển và hình thành quả thể trong cả 3 nguồn Nito (nhộng tằm, trứng, đậu nành) với 3 nồng độ (100g/l, 150g/l, 200g/l). Khối lượng quả thể thu được có sự sai khác lớn giữa các nghiệm thức dao động 5,134 – 9,580g/100g cơ chất.

Trong 2 nhân tố được khảo sát là các nguồn Nito nồng độ các nguồn Nito thì nhân tố các nguồn Nito có tác động lên lớn đến sự hình thành quả thể nấm tuyệt trùng thảo, nhân tố nồng độ các loại đạm tác động không đáng kể đến sự hình thành quả thể nấm tuyệt trùng thảo. Bên cạnh tác động riêng lẻ của từng nhân tố còn có sự tác động tương tác giữa các loại đạm và nồng độ các loại đạm lên khối lượng quả thể nấm tuyệt trùng thảo (bảng 3).

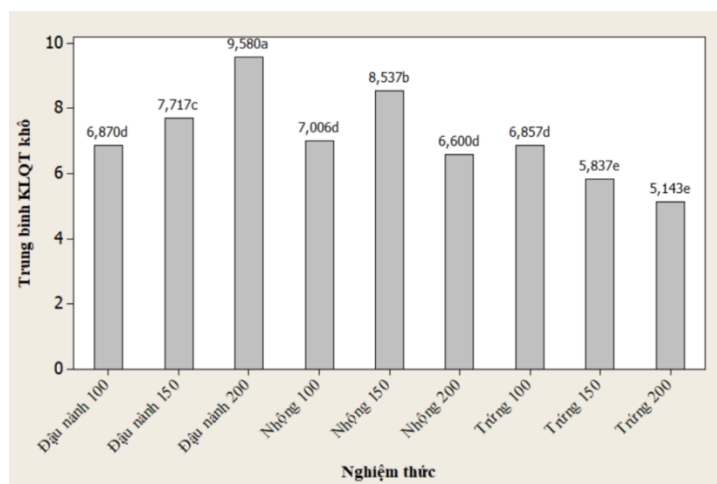
Bảng 3. Kết quả phân tích ANOVA tác động của các nguồn Nito và nồng độ đến sự hình thành quả thể nấm tuyệt trùng thảo

Nguồn tác động	F	P
Các nguồn Nito	175.99	0.000
Nồng độ	7.79	0.004
Tương tác giữa các loại đạm và nồng độ	89.75	0.000

Quả thể nấm tuyệt trùng thảo hình thành và phát triển trên môi trường bổ sung đạm từ trứng nhưng cho năng suất không cao dao động từ 5,143 – 6,857g/100g cơ chất. Nghiệm thức bổ sung nhộng tằm cho năng suất cao nhất ở nồng độ 150g/l. Khi tăng nồng độ nhộng tằm lên 200g/l thì tơ nấm phát triển mạnh trên bề mặt cơ chất nhưng không ăn sâu vào cơ chất gây ức chế sự hình thành quả thể làm năng suất giảm xuống còn 6,600g/100g cơ chất. Khối lượng quả thể thu được khi bổ sung đậu nành nồng độ 200g/l là 9,580 g/100g cơ chất và đây là nghiệm thức cho năng suất cao nhất. Nguồn Nito từ đậu nành tác động tốt lên sự hình thành quả thể hơn đạm từ nhộng tằm trong phương pháp nuôi trồng nấm tuyệt trùng thảo hiện nay. Nồng độ trứng càng cao trong các nghiệm thức thì năng suất quả thể giảm dần. Nguyên nhân giảm khối lượng quả thể khi tăng nồng độ trứng lên là do trứng có tính kết dính cao khi hấp chín ngăn cản oxi đi vào cơ chất ức chế tơ nấm hấp thụ dinh dưỡng dẫn đến năng suất quả thể thấp. Hình 4 cho thấy, môi trường nuôi cấy bổ sung đậu nành với nồng độ 200g/l thu năng suất quả thể cao nhất. So với nguồn Nito từ nhộng tằm trong phương pháp trồng nấm tuyệt trùng thảo phổ biến hiện nay thì sử dụng đậu nành vừa chủ động được nguồn nguyên liệu vừa giúp giảm chi phí sản xuất.

Hình 4. Ảnh hưởng của các nguồn nitơ và nồng độ lên sự hình thành quả thể nấm tuyệt trùng thảo (*I. tenuipes*)

Ghi chú: Các cột không cùng ký tự thì có sự khác biệt về mặt thống kê ở mức ý nghĩa 5%.



Hình 5. Quả thể nấm tuyệt trùng thảo trồng trên cơ chất đậu nành

A. NT đậu nành 150g/l

B. NT đậu nành 200g/l

4. Kết luận

Cơ chất thích hợp trong nuôi trồng nấm tuyệt trùng thảo là gạo lứt tẻ (gạo lứt gà) với thời gian thu quả là 40 ngày. Trong đó nghiệm thức bổ sung Glucose nồng độ 55g/l và Saccarose nồng độ 35g/l cho năng suất cao nhất. Tuy nhiên để giảm chi phí sản xuất nên sử dụng đường Saccarose với nồng độ 35g/l. Với nguồn Nitơ như nhộng, trứng, đậu nành có tác động khác nhau đến sự hình thành quả thể nấm tuyệt trùng thảo trong đó đậu nành với nồng độ 200g/l cho năng suất quả thể nấm tuyệt trùng thảo cao nhất.

TÀI LIỆU KHAM KHẢO

- [1] Hong, I. P., Nam, S. H., Sung, G. B., Chung, I. M., Hur, H., Lee, M. W., ... & Guo, S. X. (2007). Chemical components of *Paecilomyces tenuipes* (peck) Samson. *Mycobiology*, 35(4), 215-218.
- [2] Kikuchi, H., Miyagawa, Y., Sahashi, Y., Inatomi, S., Haganuma, A., Nakahata, N., & Oshima, Y. (2004). Novel Spirocyclic Trichothecanes, Spirotenuipesine A and B, Isolated from

- Entomopathogenic Fungus, *Paecilomyces tenuipes*. *The Journal of organic chemistry*, 69(2), 352-356.
- [3] Nguyễn Công Khẩn và Đào Thị Anh Đào (2007). *Bản thành phần thực phẩm Việt Nam*. NXB. Y học, trang 15-18.
- [4] Nguyễn Mậu Tuấn, Nguyễn Thái Huy, Trương Phi Hùng (2011). Kết quả nghiên cứu thành phần sinh hóa nấm Đông trùng hạ thảo tằm dâu *Paecilomyces tenuipes*. Báo cáo khoa học Hội nghị côn trùng toàn quốc lần thứ 7. NXB Nông Nghiệp.
- [5] Sung, G. H., Sung, J. M., Hywel-Jones, N. L., & Spatafora, J. W. (2007). A multi-gene phylogeny of Clavicipitaceae (Ascomycota, Fungi): Identification of localized incongruence using a combinational bootstrap approach. *Molecular phylogenetics and evolution*, 44(3), 1204-1223.
- [6] Tidke, G., & Rai, M. K. (2006). Biotechnological potential of mushrooms: drugs and dye production. *International Journal of Medicinal Mushrooms*, 8(4).
- [7] Zhu, J. S., Halpern, G. M., & Jones, K. (1998a). The scientific rediscovery of a precious ancient Chinese herbal regimen: *Cordyceps sinensis* Part II. *The Journal of Alternative and Complementary Medicine*, 4(4), 429-457.
- [8] Zhu, J. S., Halpern, G. M., & Jones, K. (1998b). The scientific rediscovery of an ancient Chinese herbal medicine: *Cordyceps sinensis* Part I. *The Journal of alternative and complementary medicine*, 4(3), 289-303.