

## CHƯƠNG I: MỞ ĐẦU

### A. Tình hình nghiên cứu về nấm Linh Chi

Nấm Linh Chi, tên khoa học là *Ganoderma lucidum*, thuộc họ nấm lim (*Ganodermataceae*).

#### Phân loại khoa học

Giới (regnum)	Fungi
Ngành(phylum)	Basidiomycota
Lớp(class)	Agaricomycetes
Bộ(ordó)	Polyporales
Họ(familia)	Ganodermataceae
Chi(genus)	Ganoderma
Loài(species)	G.lucidum

Danh pháp hai phần : *Ganoderma lucidum*

Việc nuôi trồng nấm Linh Chi theo quy mô công nghiệp được bắt đầu vào năm 1936 với thành công của Giáo Sư Dật Kiến Vũ Hưng (Nhật). Năm 1971, Naoi Y nuôi trồng tạo được quả thể trên nguyên liệu là mùn cưa. Năm 1979, sản lượng nấm khô ở Nhật đạt 5 tấn/năm, thì đến năm 1995 sản lượng đã tăng 200 tấn/năm. Quy trình nuôi trồng của Nhật sử dụng chủ yếu là gỗ khúc và phủ đất, nên cho tai nấm to và năng suất cao, nhưng lại dễ bị sâu bệnh và cạn kiệt nguồn gỗ.

Ở Thượng Hải, người ta sử dụng mặt cưa và một số phế liệu của nông lâm nghiệp, là cải tiến lớn so với cách trồng của Nhật. Nguyên liệu được cho vào chai, lọ khử trùng rồi cấy giống. Các chai lọ được xếp lên nhau thành nhiều lớp trên mặt đất, để tưới và thu hái nấm.

Ở Việt Nam việc nuôi trồng nấm Linh Chi bắt đầu từ TP.Hồ Chí Minh vào năm 1987, sau đó lan ra cả nước. Tổng sản lượng nấm Linh Chi nuôi trồng trong nước khoảng 60-65 tấn khô/năm.

## **B. Lý do chọn đề tài :**

Theo y học cổ truyền, Linh Chi có rất nhiều công dụng như :

-Kiện não ( làm bộ óc tráng kiện), Bảo can (bảo vệ gan), Cường tâm ( tăng sức cho tim), Kiện vị ( củng cố dạ dày, hệ tiêu hóa), Cường phế( thêm sức cho phổi), Giải độc, Giải cảm, Trường sinh ( sống lâu , tăng tuổi thọ)

Nhận thấy sự cần thiết cũng như những lợi ích từ việc nuôi trồng nấm Linh Chi nhóm đã quyết định chọn đề tài để nghiên cứu làm tăng sự sinh trưởng của nấm thông qua môi trường cấp I

## **C. Mục tiêu của đề tài nghiên cứu :**

Nâng cao năng suất, chất lượng của nấm Linh Chi thông qua việc cải tiến môi trường cấp I.

## **D. Phương pháp nghiên cứu :**

1. Nghiên cứu và chọn ra 20 loại môi trường cấp I khác nhau.

- 1.1. Nuôi cấy nấm Linh Chi trên đĩa petri đối với từng loại môi trường cấp I.
- 1.2. Quan sát và nhận xét ảnh hưởng của từng loại môi trường cấp I.
- 1.3. Chọn 5 loại môi trường cấp I có sự sinh trưởng mạnh nhất, ổn định nhất.

2. Nuôi cấy nấm trên môi trường cấp II

2.1. Cấy từ đĩa petri chứa tơ nấm từ từng môi trường cấp I sang cùng 1 loại môi trường cấp II.

2.2. Quan sát và nhận xét ảnh hưởng của từng loại môi trường.

3. Cấy giống vào túi mật cưa

3.1. Cấy từng bình môi trường cấp II sang túi mùn cưa.

3.2. Quan sát và nhận xét ảnh hưởng của từng loại môi trường.

4. Đưa ra kết luận về sự thành công hoặc thất bại của đề tài, các hướng nghiên cứu tiếp theo.

## CHƯƠNG II: KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ PHÂN TÍCH

### A. Nuôi cấy tơ trên môi trường cấp I (môi trường nhân giống gốc)

Người ta thường dùng môi trường thạch đĩa, thạch nghiêng để phân lập, cấy chuyển và nhân giống cấp I. Có nhiều loại môi trường dùng để phân lập và nhân giống nấm cấp I các loại, có thể chia thành 3 nhóm môi trường: môi trường tự nhiên, môi trường bán tổng hợp, môi trường tổng hợp.

- *Môi trường tự nhiên*: là môi trường dựa trên các sản phẩm tự nhiên (khoai tây, cà rốt, giá đậu,...), các bộ phận của cây (rễ, lá, vỏ cây)... Môi trường này có thành phần hoá học thay đổi.
- *Môi trường bán tổng hợp*: có một hay nhiều nguồn đạm hữu cơ (pepton), đường, tinh bột,... Môi trường này thường được sử dụng, sợi nấm phát triển đều và tốt.
- *Môi trường tổng hợp*: gồm một số hoá chất nhất định. Hoá chất bổ sung vào môi trường nuôi cấy nấm chủ yếu là các nguyên tố khoáng như: K, P, Mg,... các chất này thường ở dạng muối như:  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ,  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ ,  $\text{MgSO}_4$ ,  $\text{KCl}$ ,  $\text{P}_2\text{O}_5$ ,... Nồng độ sử dụng từ 0,1 – 0,3%. Ngoài ra để giúp cho sự phát triển của nấm, có thể thêm vào các chất như: vitamin B<sub>1</sub> (thiamin), asparagin, axit glutamic,... với nồng độ rất nhỏ từ 0,002 – 0,005%. Trong một vài trường hợp người ta còn bổ sung một hoặc một vài loại kháng sinh để ngăn chặn các mầm bệnh, thường dùng là: streptomycin với nồng độ 30 mg/l, tetracyclin, terramycin với nồng độ 20mg/l.

CÁC CÔNG THỨC MÔI TRƯỜNG CẤP I ĐƯỢC SỬ DỤNG TRONG ĐỀ TÀI:

**1. Cao thịt – pepton vitamin**

Cao thịt	5g
Pepton	10g
NaCl	5g
Agar	20g
Vitamin B1	0,1g
Nước	1000 ml

**2. Môi trường thạch khoai tây**

Khoai tây	200ml
Giá- đậu xanh	200ml
Bột ngô- cám gạo	25g
Glucose	20g
Agar	20g
pH	7
Nước cất vừa đủ	1 lít

**3. Môi trường Raper**

Dịch chiết nấm men	2g
Pepton	2g
$\text{KH}_2\text{PO}_4$	0,46g
$\text{K}_2\text{HPO}_4$	1g
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,5g
Glucose	20g
Agar	20g
pH	6,5
Nước cất đủ	1 lít

**4. Môi trường Agaricus**

Khoai tây	200ml
Pepton	2g
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	2g
MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	0,5g
Glucose	20g
Agar	20g
pH	6,5
Nước cất đủ 1 lít	

**5. Môi trường Agaricus cải tiến**

Khoai lang	200ml
Pepton	2g
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	2g
MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	0,5g
Agar	20g
Dịch chiết nấm men	2g
Vitamin B1	0,01g
pH	6,5
Nước cất vừa đủ 1 lít	

**6. Môi trường Czapek –Dox**

Đường kính	30g
NaNO <sub>3</sub>	3g
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	1g
MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	0,5g
KCl	0,5g
FeSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	0,01g
Agar	20g
pH	6,5
Nước cất đủ 1 lít	

**7. Môi trường PGA (Potato glucose agar)**

Khoai tây	200ml
Glucose	20g
Agar	20g
Nước cất vừa đủ	1000ml

**8. Môi trường PGA + 10% nước dừa già**

Khoai tây	200ml
Glucose	20g
Agar	20g
Nước dừa	100ml
Nước cất vừa đủ	1000ml

**9. Môi trường PGA + 10% dịch chiết cà rốt**

Khoai tây	200ml
Glucose	20g
Agar	20g
Cà rốt	100ml
Nước cất vừa đủ	1000ml

**10. Môi trường Mizuno**

Pepton	10g
Glucose	25g
Maltose	50g
NaCl	5g
Agar	20g
pH	6 – 6,5
Nước cất vừa đủ	1 lít

**11. Môi trường Hansen**

Glucose	50g
$\text{KH}_2\text{PO}_4$	3g
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	2 – 5g
Agar	20g
Nước cất vừa đủ 1 lít	

**12. Môi trường Chan**

Agar	20g
Glucose	20g
Pepton	2g
$\text{KH}_2\text{PO}_4$	0,46g
$\text{K}_2\text{HPO}_4$	1g
$\text{MgSO}_4$	0,5g
Vitamin B1	0,01mg
Nước cất đủ 1 lít	

**13. Môi trường khoai tây – mía đường**

Khoai tây	200ml
Nước mía hoặc đường Dextrose	20g
Agar	20g
Nước cất đủ 1 lít	

**14. Môi trường MYPS**

Đường kính	10g
Maltose	4g
Pepton	6g
Cao nấm men	4g
Agar	20g
Nước cất đủ 1 lít	

**15. Môi trường PSA**

Sucrose	20g
Khoai tây	300ml
Agar	20g
Nước cất đủ 1 lít	

**16. Môi trường MPA**

Cao thịt bò	3g
Pepton	5g
Agar	17g
pH	6,8 – 7
Nước cất đủ 1 lít	

**17. Môi trường sắn – pepton**

Sắn	200ml
Pepton	2g
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	2g
MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	0,5g
FeSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	0,01g
Agar	20g
Dịch chiết nấm men	2g
Vitamin C	0,01g
pH	6,5
Nước cất đủ 1 lít	

**18. Môi trường bột cá – pepton**

Bột cá	3g
Pepton	10g
NaCl	5g
Agar	20g
Vitamin B12	0,01g
Nước cất đủ 1 lít	



**19. Môi trường nước táo**

Nước cốt táo	100ml
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	1g
Vitamin B1	0,01mg
MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	0,5g
FeSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	0,01g
Agar	20g
pH	6,5
Nước cất vừa đủ 1 lít	




**20. Môi trường chuối**




Dịch chiết chuối chín	100ml
Khoai tây	100ml
FeSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	0,01g
Agar	20g
pH	7
Nước cất đủ 1 lít	

Kết quả quan sát trên môi trường cấp I gồm 20 loại môi trường.




Ngày cấy 23-7-2013.





Sau 3 ngày cấy ( 26-7-2013).

MT	Hình ảnh	Nhận xét
1		<p>Tơ bắt đầu phát triển</p>
2		<p>Tơ phát triển được 0.5cm. 1 đĩa không phát triển do dùng tơ cấy không cấy bằng thạch</p>
3		<p>Tơ phát triển được 0.5cm. 1 đĩa bị nhiễm, 1 đĩa cấy bằng tơ</p>



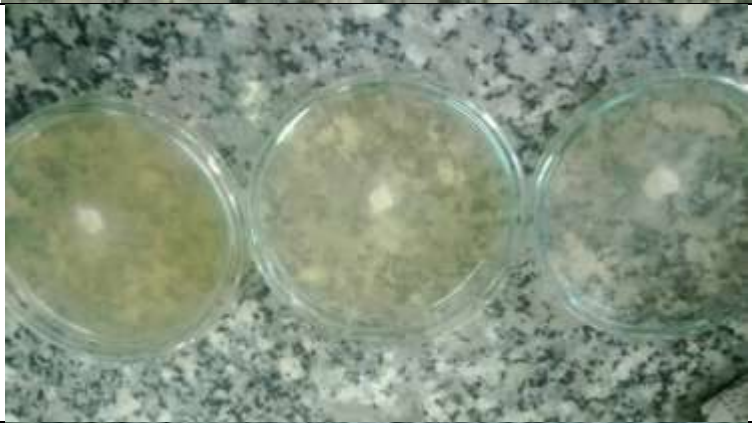
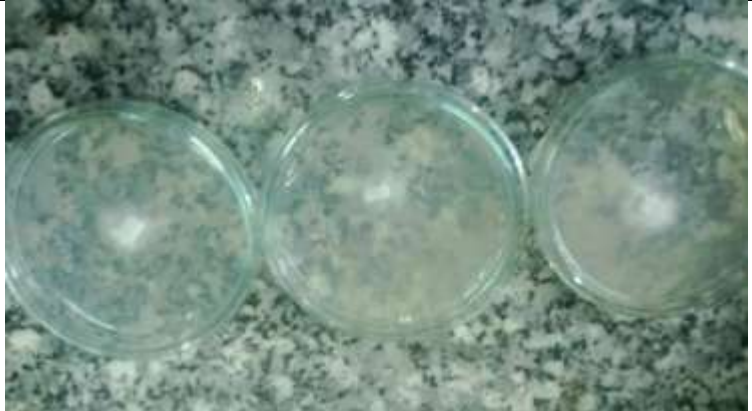
4		Tơ phát triển được 0.5cm
5		Tơ phát triển được 0.5cm. 1 đĩa không lên do cây bằng tơ
6		Tơ không phát triển






7		4 đĩa bị nhiễm. Những đĩa không nhiễm tơ phát triển còn ít
8		Tơ phát triển được 0.5cm
9		Tơ phát triển mạnh và tốt




10		Tơ bắt đầu lan ra xung quanh môi trường
11		Tơ hầu như không phát triển
12		Tơ phát triển yếu, gần như không thấy
13		Tơ phát triển được 0.5cm nhưng cấu trúc tơ mỏng






14		Tơ bắt đầu ăn ra môi trường
15		Tơ phát triển được 0.2cm
16		Tơ kém phát triển
17		Tơ phát triển được 0.2cm




18		Tơ không phát triển
19		Tơ phát triển yếu
20		Tơ ăn mạnh vào môi trường




Sau 7 ngày cấy ( 29-7-2013)




MT	Hình ảnh	Nhận xét
1		Tơ lan chậm, chỉ đạt 1/3 đĩa
2		Tơ lan đều dày đặc, phát triển tốt được 2/3 đĩa
3		Tơ phát triển theo bề dày, không đều và yếu






4		Tơ phát triển mạnh, đồng đều
5		Tơ phát triển đều mạnh và dày đặc
6		Tơ hầu như không phát triển

7	 A petri dish containing a culture medium with a small, central, light-colored inoculum. The mold has grown outwards in a uniform, circular pattern, covering most of the surface. The growth appears moderate in density and uniform in color.	Tơ phát triển trung bình, đồng đều
8	 A petri dish containing a culture medium with a small, central, light-colored inoculum. The mold has grown outwards in a uniform, circular pattern, covering most of the surface. The growth appears strong and uniform in color.	Tơ phát triển mạnh và đều
9	 A petri dish containing a culture medium with a small, central, light-colored inoculum. The mold has grown outwards in a uniform, circular pattern, covering most of the surface. The growth appears very strong, thick, and uniform in color.	Tơ phát triển cực mạnh, dày và đều

10		Tơ phát triển kém, mật độ mỏng và không đều
11		Tơ không phát triển. Môi trường không thích hợp nuôi cấy
12		Tơ phát triển kém, mật độ mỏng và không đều

13	 A petri dish containing a light-colored agar medium. A small, white, irregularly shaped piece of mold is visible in the center of the dish. The rest of the agar surface is clear and smooth.	Tơ phát triển mỏng
14	 A petri dish containing a light-colored agar medium. A large, circular, white, fuzzy mass of mold is growing in the center. The mold has a dense, cottony appearance and is surrounded by a thin, clear zone.	Tơ mọc dày đều nhưng phát triển chậm
15	 A petri dish containing a light-colored agar medium. A small, white, irregularly shaped piece of mold is visible in the center of the dish. The rest of the agar surface is covered with a thin, uniform layer of white mold.	Tơ phát triển mạnh đều mật độ tơ mỏng



16	 A petri dish containing a culture medium with a small, circular, white, fuzzy mold colony in the center. The growth is slow and uniform.	Tơ phát triển chậm nhưng đều
17	 A petri dish containing a culture medium with a small, circular, white, fuzzy mold colony in the center. The growth is good, uniform, and forms a thin layer.	Tơ phát triển tốt, đều, mật độ tơ mỏng
18	 A petri dish containing a culture medium with a small, circular, white, fuzzy mold colony in the center. The growth is poor and non-uniform.	Tơ phát triển kém, không đều

19		Tơ phát triển mạnh, đều nhưng mật độ tơ khá mỏng
20		Tơ phát triển mạnh, đều và mật độ tơ dày

Trong 20 loại môi trường trên nhóm chúng em chọn 5 môi trường là môi trường số 5,7,8,9,20 có tốc độ lan tơ nhanh cũng như sinh trưởng mạnh để cấy sang môi trường cấp II.

## B. Nuôi cấy tơ nấm trên môi trường cấp II:

Môi trường cấp II dùng để nhân giống với số lượng tăng dần. Giống cấp II thường được nhân trong các chai thủy tinh hay các túi nilon có miệng là nút nhựa và làm bằng nút bông. Môi trường cấp II có thể pha chế bằng nhiều công thức khác nhau, tất cả đều là môi trường xốp thường sử dụng với các loại nguyên liệu chính như: ngũ cốc, cám, mùn cưa. Với đề tài này nhóm thực hiện trên môi trường cấp II gồm: lúa và cám bắp.

Công thức:

Thóc luộc

Cám bắp 1%

Nước đủ ẩm



Kết quả quan sát trên môi trường cấp II của 5 môi trường.

Sau 5 ngày cấy ( ngày 5-8-2013).



Môi trường	Nhận xét
5 – bình 1	Tơ bắt đầu ăn mạnh và đều vào môi trường
5 – bình 2	Tơ ăn đều nhưng yếu hơn môi trường 1
7 – bình 1	Tơ phát triển đều
7 – bình 2	Tơ vẫn chưa phát triển
8 – bình 1	Tơ ăn mạnh về 1 phía
8 – bình 2	Tơ vẫn còn chưa phát triển
9 – bình 1	Tơ ăn đều và mạnh
9 – bình 2	Tơ kém phát triển
20 – bình 1	Tơ phát triển đều và mạnh
20 – bình 2	Tơ phát triển đều



Do tơ chỉ mới bắt đầu lan ra rất ít, không nhìn thấy rõ nên nhóm chúng em không chụp hình lại được.



Sau 7 Ngày (ngày 7-8-2013).

Môi trường	Hình ảnh	Nhận xét
5 – bình 1		<p>Tơ phát triển mạnh, nhanh, được ½ bình nhưng không đều. Dễ dàng nhận thấy tơ phát triển mạnh về 1 phía</p>
5 – bình 2		<p>Tơ phát triển đều nhưng vẫn còn yếu. Đã được 1/3 bình ở 1 mặt</p>



7 – bình 1		Tơ phát triển mạnh. Nhưng phát triển về 1 phía được 1/3 bình
7 – bình 2		Tơ vẫn chưa phát triển
8 – bình 1		Tơ phát triển mạnh về 1 phía. Tơ đạt 1/2 bình về 1 phía

8 – bình 2		Tơ phát triển đều nhưng chậm và yếu, chỉ đạt 1/5 bình
9 – bình 1		Tơ phát triển đều mật độ tơ không dày lắm nhưng được 1/2 bình
9 – bình 2		Tơ vẫn chưa phát triển


20 – bình 1		Tơ phát triển mạnh đều được 1/3 bình
20 – bình 2		Tơ phát triển mạnh về 1 phía được 1/3 bình

Sau 9 ngày ( 9-8-2013).

Môi trường	Hình ảnh	Nhận xét
5 – bình 1		Tơ phát triển mạnh được 2/3 bình
5 – bình 2		Tơ phát triển được ½ bình ở 1 phía



7 – bình 1		Tơ phát triển đều nhưng mạnh về 1 phía được ½ bình
7 – bình 2		Tơ vẫn chưa phát triển nhiều

8 – bình 1		Tơ phát triển mạnh về 1 phía được 2/3 bình
8 – bình 2		Tơ phát triển đều và mạnh nhưng chỉ được 1/3 bình

9 – bình 1		Tơ phát triển đều và mạnh được 2/3 bình
9 – bình 2		Tơ bắt đầu phát triển về 1 phía



20 – bình 1		Tơ phát triển mạnh và đều được ½ bình
20 – bình 2		Tơ phát triển khá đều được ½ bình



Sau 12 ngày ( 12-8-2013).

<b>Môi trường</b>	<b>Hình ảnh</b>	<b>Nhận xét</b>
5 – bình 1		Tơ phát triển đều gần hết bình được 4/5 bình
5 – bình 2		Tơ phát triển đều gần hết bình được 4/5 bình

7 – bình 1		Tơ phát triển mạnh đều được 4/5 bình
7 – bình 2		Tơ phát triển tốt được 1/5 bình

8 – bình 1		Tơ phát triển mạnh đều được 4/5 bình
8 – bình 2		Tơ phát triển đều được 3/5 bình

9 – bình 1		Tơ phát triển mạnh và đều được 4/5 bình
9 – bình 2		Tơ phát triển mạnh về 1 phía được 1/2 bình



20 – bình 1		Tơ phát triển đều và mạnh được 4/5 bình
20 – bình 2		Tơ phát triển đều gần hết ( 4/5 bình)

Ngày 14 ( 14-8-2013):

Hầu hết các bình 1 của 5 môi trường phát triển đều và mạnh tơ ăn kín môi trường.

Còn bình 2 của 5 môi trường thì giống như ngày 12-08-2013.

### **C. Nuôi cấy tơ nấm trên môi trường cấp III**

Môi trường nhân giống nấm cấp III cũng giống như thành phần môi trường nhân giống cấp II thường dùng môi trường hạt (thóc), môi trường xốp (mùn cưa, trấu, rơm rạ), môi trường que (que sắn, thân ngô) ,hiện nay người ta thường dùng cọng khoai mì để làm môi trường cấp III. Ngoài ra còn bổ sung thêm một số phụ gia, hoá chất khác để tăng hàm lượng dinh dưỡng cho sợi nấm phát triển: bột ngô, cám gạo, phân vô cơ (urê, sunfat, magie, DAP), bột nhẹ... Tỷ lệ thành phần các chất bổ sung trong môi trường nhân giống khác nhau tùy theo từng nguồn nguyên liệu chính ta sử dụng. Nhóm thực hiện không sử dụng môi trường cấp III vì thời gian thực hiện đề tài không đủ.

### **D. Cấy giống và nuôi ủ tơ nấm trên môi trường mùn cưa**

Nấm Linh Chi không chỉ sử dụng mạt cưa cao su mà còn có thể mọc trên nhiều dạng mạt cưa của nhiều loại gỗ khác nhau. Nhóm thực hiện trên môi trường mùn cưa với công thức sau:

Cám bắp	3%
Cám gạo	3%
MgSO <sub>4</sub>	0.2%
Mùn cưa	93%

Mỗi môi trường có 10 lần lặp lại, chọn ra 3/10 bình của mỗi môi trường có trạng thái tơ phát triển bình thường nhất.

Kết quả quan sát trên môi trường mùn cưa của 5 môi trường.

Ngày cấy đầu tiên: 14-08-2013.

Độ dài tơ phát triển tính theo vạch dọc màu xanh

Ngày quan sát: 23-08-2013.

MT	Hình ảnh	Nhận xét
5		<p>Tơ phát triển mạnh, mật độ tơ mỏng. Độ dài tơ phát triển: 13.8cm</p>
		<p>Tơ vừa mới phát triển, mật độ tơ dày. Độ dài tơ phát triển: 2.7cm</p>
		<p>Tơ phát triển tốt, mật độ tơ khá dày. Độ dài tơ phát triển: 4.5cm</p>

7		<p>Tơ phát triển tốt, mật độ tơ không dày. Độ dài tơ phát triển: 8cm</p>
		<p>Tơ phát triển tốt, mật độ tơ không dày. Độ dài tơ phát triển: 2.6cm</p>
		<p>Tơ phát triển tốt, mật độ tơ không dày. Độ dài tơ phát triển: 6.4cm</p>






9		<p>Tơ phát triển tốt, mật độ tơ không dày. Độ dài tơ phát triển: 5.4cm</p>
		<p>Tơ phát triển khá tốt, mật độ tơ khá dày. Độ dài tơ phát triển: 6.5cm</p>
		<p>Tơ phát triển tốt, mật độ tơ khá dày. Độ dài tơ phát triển: 7.1cm</p>


8		<p>Tơ phát triển kém, mật độ tơ mỏng. Độ dài tơ phát triển: 2.5cm</p>
		<p>Tơ phát triển kém, mật độ tơ mỏng. Độ dài tơ phát triển: 1.5cm</p>
		<p>Tơ phát triển kém, mật độ tơ mỏng. Độ dài tơ phát triển: 1.5cm</p>

20		<p>Tơ phát triển tốt, mật độ tơ dày. Độ dài tơ phát triển: 1cm</p>
		<p>Tơ phát triển tốt, mật độ tơ dày. Độ dài tơ phát triển: 2cm</p>
		<p>Tơ phát triển tốt, mật độ tơ dày. Độ dài tơ phát triển: 4.8cm</p>



Ngày quan sát: 26-08-2013.



<b>MT</b>	<b>Hình ảnh</b>	<b>Nhận xét</b>
5		<p>Tơ phát triển tốt, mật độ tơ mỏng. Độ dài tơ phát triển: 12.9cm</p>
		<p>Tơ vẫn phát triển tốt, mật độ tơ ngày càng dày. Độ dài tơ phát triển: 20.7cm</p>
		<p>Tơ phát triển tốt, mật độ tơ dày. Độ dài tơ phát triển: 10.1cm</p>

7		<p>Tơ phát triển tốt nhưng lan không đều, mật độ tơ dày. Độ dài tơ phát triển: 14cm</p>
		<p>Tơ phát triển tốt, mật độ tơ dày. Độ dài tơ phát triển: 14.5cm</p>
		<p>Tơ phát triển tốt, mật độ tơ dày. Độ dài tơ phát triển: 15.7cm</p>

9		<p>Tơ tiếp tục phát triển, mật độ tơ khá dày. Độ dài tơ phát triển: 17.3cm</p>
		<p>Tơ tiếp tục phát triển, mật độ tơ khá dày. Độ dài tơ phát triển: 15.4cm</p>
		<p>Tơ phát triển mạnh, mật độ tơ dày. Độ dài tơ phát triển: 15cm</p>

8		<p>Tơ phát triển rất mạnh, mật độ tơ dày. Độ dài tơ phát triển: 25.4cm</p>
		<p>Tơ phát triển rất mạnh, mật độ tơ dày. Độ dài tơ phát triển: 20.4cm</p>
		<p>Tơ phát triển khá tốt, mật độ tơ dày Độ dài tơ phát triển: 13.1cm</p>



20		<p>Tơ phát triển tốt, mật độ tơ ngày càng dày. Độ dài tơ phát triển: 9.5cm</p>
		<p>Tơ phát triển rất tốt, mật độ tơ dày. Độ dài tơ phát triển: 18.1cm</p>
		<p>Tơ phát triển tốt, mật độ tơ dày. Độ dài tơ phát triển: 13.8cm</p>



Ngày quan sát: 30-08-2013.



MT	Hình ảnh	Nhận xét
5		<p>Tơ vẫn tiếp tục phát triển nhưng chậm lại, mật độ tơ phát triển dày hơn. Độ dài tơ phát triển: 22cm</p>
		<p>Tơ phát triển rất mạnh, mật độ tơ dày, bịch sần chắc lại Độ dài tơ phát triển: 23cm</p>
		<p>Tơ phát triển tốt, mật độ tơ dày. Độ dài tơ phát triển: 18cm</p>

7		<p>Tơ tiếp tục phát triển tốt, mật độ tơ dày. Độ dài tơ phát triển: 21.3cm</p>
		<p>Tơ vẫn tiếp tục phát triển tốt, mật độ tơ ngày một dày hơn. Độ dài tơ phát triển: 22.2cm</p>
		<p>Tốc độ phát triển của tơ rất tốt. Mật độ tơ dày đều. Độ dài tơ phát triển: 25.5cm</p>

9		<p>Tơ vẫn tiếp tục phát triển đều. Mật độ tơ càng dày hơn. Độ dài tơ phát triển: 19.8cm</p>
		<p>Tơ vẫn tiếp tục phát triển đều. Mật độ tơ càng dày hơn. Độ dài tơ phát triển: 20.1cm</p>
		<p>Tơ phát triển gần hết bịch . Mật độ tơ càng dày hơn. Độ dài tơ phát triển: 29cm</p>

8		<p>Tơ phát triển gần hết bịch . Mật độ tơ càng dày hơn. Độ dài tơ phát triển: 29.5cm</p>
		<p>Tơ phát triển gần hết bịch . Mật độ tơ càng dày hơn. Độ dài tơ phát triển: 29cm</p>
		<p>Tơ phát triển chậm lại . Mật độ tơ càng dày hơn. Độ dài tơ phát triển: 21.7cm</p>



20		<p>Tơ vẫn tiếp tục phát triển tốt. Mật độ tơ dày. Độ dài tơ phát triển: 27.3cm</p>
		<p>Tơ vẫn tiếp tục phát triển tốt. Mật độ tơ không đều, chỗ dày, chỗ mỏng Độ dài tơ phát triển: 20.3cm</p>
		<p>Tơ vẫn tiếp tục phát triển tốt. Mật độ tơ không đều, chỗ dày, chỗ mỏng Độ dài tơ phát triển: 19.9cm</p>

Tỷ lệ nhiễm : 8%. (4/50)

Ngày 04-09-2013: chuyển tất cả ra trại nấm.



Ngày quan sát: 07-09-2013.




<b>MT</b>	<b>Hình ảnh</b>	<b>Nhận xét</b>
5		Xuất hiện quả thể
		Xuất hiện quả thể
		Xuất hiện quả thể

7		Xuất hiện tơ trên nút bông
		Xuất hiện quả thể
		Xuất hiện quả thể và cuống nấm

9		Xuất hiện quả thể
		Xuất hiện quả thể
		Xuất hiện quả thể

8		Xuất hiện quả thê
		Xuất hiện quả thê
		Xuất hiện quả thê









20		Xuất hiện tơ nấm trên nút bông
		Đang hình thành nụ nấm
		Xuất hiện tơ nấm trên nút bông







Ngày quan sát: 15-09-2013.

MT	Hình ảnh	Nhận xét
5		<p>Hình thành tai nấm và cuống nấm (<math>r = 2\text{cm}</math>)</p>
		<p>Hình thành tai nấm và cuống nấm nhưng bị chia 2 nhánh (<math>r = 2\text{cm}</math>)</p>
		<p>Hình thành tai nấm và cuống nấm (<math>r = 3\text{cm}</math>)</p>

7		<p>Hình thành tai nấm và cuống nấm nhưng bị chia 2 nhánh (<math>r = 3\text{cm}</math>)</p>
		<p>Hình thành tai nấm và cuống nấm nhưng bị chia 3 nhánh (<math>r = 2\text{cm}</math>)</p>
		<p>Hình thành tai nấm và cuống nấm nhưng bị chia 2 nhánh và phình cuống nấm (<math>r = 2\text{cm}</math>)</p>

9			<p>Hình thành tai nấm và cuồng nấm nhưng bị phình cuồng nấm (<math>r = 2\text{cm}</math>)</p>
			<p>Hình thành tai nấm và cuồng nấm (<math>r = 2.5\text{cm}</math>)</p>
			<p>Hình thành tai nấm và cuồng nấm nhưng bị chia 2 nhánh (<math>r = 2.5\text{cm}</math>)</p>

8			Đang hình thành tai nấm nhưng bị chia 2 nhánh
			Đang hình thành tai nấm nhưng bị chia 2 nhánh ( $r = 2.5\text{cm}$ )
			Hình thành tai nấm và cuống nấm đang phát triển ( $r = 1.5\text{cm}$ )




20		Chỉ xuất hiện các tơ nấm trên nút bông
		Quả thể đang phát triển
		Chỉ xuất hiện các tơ nấm trên nút bông





Ngày quan sát: 21-09-2013.

MT	Hình ảnh	Nhận xét
5		<p>Đang hình thành tai nấm nhưng bị chia 2 nhánh và cuống nấm phình to (<math>r = 2.5\text{cm}</math>)</p>
		<p>Cuống nấm đang dài ra và tai nấm phát triển (<math>r = 2.5\text{cm}</math>)</p>
		<p>Cuống nấm đang dài ra và tai nấm phát triển (<math>r = 2.5\text{cm}</math>)</p>

7		<p>Cuống nấm đang phình ra, hình thành tai nấm và nhưng bị chia 3 nhánh (<math>r = 2\text{cm}</math>)</p>
		<p>Cuống nấm đang dài ra, tai nấm phát triển nhưng bị chia 3 nhánh (<math>r = 2\text{cm}</math>)</p>
		<p>Tai nấm và cuống nấm đang phát triển (<math>r = 2\text{cm}</math>)</p>

9		<p>Tai nấm và cuống nấm phát triển hoàn chỉnh (<math>r = 2.5\text{cm}</math>)</p>
		<p>Tai nấm và cuống nấm đang phát triển (<math>r = 2\text{cm}</math>)</p>
		<p>Tai nấm chia làm 2 nhánh và cuống nấm đang phát triển (<math>r = 2\text{cm}</math>)</p>



8		Tai nấm và cuống nấm đang phát triển
		Tai nấm và cuống nấm đang phát triển ( $r = 2\text{cm}$ )
		Hình thành tai nấm hoàn chỉnh và đang phát triển ( $r = 2.5\text{cm}$ )

20		Quả thể đang phát triển
		Chỉ xuất hiện các tơ nấm trên nút bông
		Chỉ xuất hiện các tơ nấm trên nút bông



## E. Kết quả

Từ sau ngày 21/9/2013 nhóm đã dừng công việc quan sát trên trại nấm thực nghiệm trên Trường Đại Học Nông Lâm do trồng cùng trại nấm nên bị các anh trên trại thu hoạch nhầm vì vậy nhóm chỉ báo cáo đến ngày 21/9/2013.

Nhóm đã thành công trong việc tạo được nấm Linh Chi ở giai đoạn nấm có dạng tán.

Nhóm xác định được là môi trường cấp I có ảnh hưởng đến tốc độ lan tơ cũng như sự sinh trưởng của nấm.

### Đánh giá kết quả

- Khảo sát tốc độ lan tơ của nấm linh chi trên môi trường cấp I: chọn ra 5 môi trường là môi trường 5,7,8,9,20 lấy tơ nấm nuôi cấy trên môi trường cấp II.

#### **Nuôi cấy tơ nấm trên môi trường cấp II:**

- Sau 5 ngày cấy: các môi trường được cấy ở bình 2 tơ ăn không đều, yếu hơn, tơ phát triển chưa đều so với các môi trường được cấy ở bình 1, tơ ăn mạnh và phát triển đều.
- Sau 7 ngày cấy: đa số tơ nấm ở bình 1 của các môi trường phát triển mạnh về 1 phía, mọc dao động từ 1/2 tới 1/3 bình, tơ nấm ở bình 2 thì phát triển được 1/5 bình.
- Sau 9 ngày cấy: ở bình 1 tơ nấm phát triển mạnh và đều, dày hơn so với bình 2.
- Sau 12 ngày cấy: tơ nấm phát triển gần như hết bình ở cả bình 1 và bình 2.

#### **Cấy giống và nuôi ủ tơ nấm trên môi trường mùn cưa:**

- Ta thấy môi trường 5,9,20 mật độ tơ phát triển nhanh và dày.
- Còn môi trường 7,8 tơ phát triển kém, mật độ tơ mỏng.

#### **Chuyển tất cả ra trại nấm ( lúc này tơ đã ăn kín bịch)**

- Môi trường 5,7,8 mới xuất hiện quả thể.
- Môi trường 9,20 xuất hiện cuống nấm và tơ trên nút bông.
- Sau khi quan sát các môi trường cho ra tai nấm nhưng tai nấm bị dị dạng:
  - + Có thể là do thành phần môi trường dinh dưỡng quá nhiều sau khi chuyển sang môi trường ít dinh dưỡng hơn làm cuống và tai nấm bị dị dạng.
  - + Hoặc do trong quá trình nuôi ngoài trại, lượng oxi cung cấp cho nấm không đủ, CO<sub>2</sub> thải ra từ dàn nấm 3 tháng tuổi ảnh hưởng đến hướng mọc, hình dạng của nấm.

## CHƯƠNG III : KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

### A. Kết luận:

Sau quá trình khảo sát tốc độ lan tơ của nấm linh chi trên môi trường cấp 1 và sự tăng trưởng khác nhau đối với môi trường cấp 1 khác nhau ta có 1 số kết luận như sau:

- Tìm ra được các môi trường khác nhau để khảo sát tốc độ lan tơ của nấm.
- Nấm vững được các bước pha và đổ môi trường.
- Tìm hiểu được các thao tác cấy nấm từ môi trường này sang môi trường khác.
- Tìm hiểu được các trang thiết bị cần thiết cho việc cấy và trồng nấm.

Nấm linh chi thuộc loài nấm dược liệu, để đưa nấm Linh Chi đến tay người tiêu dùng và được người tiêu dùng chấp nhận, được chấp nhận rộng rãi thì phải có biện pháp tạo ra loại nấm tốt nhất, do đó chúng ta khảo sát tốc độ lan tơ của nấm Linh Chi trên môi trường cấp I và sự tăng trưởng khác nhau đối với môi trường cấp I khác nhau để có thể tìm ra môi trường thích hợp giúp nấm Linh Chi có thể ra tơ nấm tốt, mạnh tạo điều kiện thuận lợi cho việc cấy và nuôi trồng nấm Linh Chi. Đồng thời tạo môi trường cho nấm phát huy được tác dụng cao nhất làm tăng sự đa dạng sản phẩm trên thị trường, giúp người tiêu dùng có nhiều cơ hội lựa chọn.

### Kết luận rút ra từ các môi trường

Trong số 5 môi trường thì :

- Môi trường số 7: là môi trường đối chứng do môi trường này phổ biến hầu hết ở các trại trồng nấm
- Môi trường số 20: có tốc độ lan tơ trên đĩa ( môi trường cấp I) + bình ( môi trường cấp II) nhanh nhất, do môi trường này có chất dinh dưỡng dồi dào từ quả chuối, giúp tơ phát triển tốt, nhưng khi qua môi trường mùn cưa, sau khi tơ ăn kín bịt thì lại không ra nấm. Lý do có thể là thiếu oxi vì nhóm trồng chung trại nấm với Trường Đại Học Nông Lâm, hoặc khi chuyển từ môi trường giàu chất dinh dưỡng sang môi trường chất dinh dưỡng thấp, nấm không kịp thích nghi dẫn đến mất khả năng ra nấm. Hoặc có thể do thời gian gấp rút nên nhóm em đã bỏ qua giai đoạn nuôi tơ trên cọng mì nên nấm chưa thích nghi được môi trường nghèo dinh dưỡng nên mất khả năng ra nấm. Môi trường 20 sẽ tối ưu hơn môi trường số 7 nếu trong giai đoạn trồng nấm tạo ra được quả thể, vì những giai đoạn trước đó tơ nấm phát triển tốt hơn môi trường số 7.

- Thứ hai, là môi trường số 9. Ở môi trường này tơ nấm phát triển rất mạnh, tốc độ nhanh và mật độ tơ dày trong giai đoạn nuôi tơ cấp I vì trong môi trường có quả cà rốt rất giàu chất dinh dưỡng. Đây là môi trường cho thấy sự ổn nhất về tốc độ lan tơ cũng như sự phát triển của nấm vì khi cấy từ môi trường cấp I sang môi trường cấp II, môi trường cấp II sang bịch tơ nấm vẫn phát triển tốt, vẫn được sự ổn định cao. Đây là môi trường mà nấm ra quả thể sớm nhất, tai nấm phát triển to nhất trong 5 môi trường. Trong giới hạn của đề tài nghiên cứu này, nhóm có thể khẳng định môi trường số 9 tối ưu hơn môi trường số 7.
- Thứ ba, là môi trường số 8. Ở giai đoạn đầu nuôi tơ trong đĩa tơ nấm có phần phát triển chậm, mật độ tơ không dày nhưng dần dần tơ nấm đã phát triển nhanh hơn, mật độ tơ dày hơn khi cấy từ môi trường cấp I sang môi trường cấp II, môi trường cấp II sang bịch. Môi trường này cũng khá ổn định nhưng kém hơn môi trường số 9 và tương đương với môi trường số 7 vì sự phát triển tơ nấm, thời gian ra quả thể và độ lớn của tai nấm của 2 môi trường là bằng nhau.
- Cuối cùng là môi trường số 5. Sự lan tơ và tốc độ lan tơ trong các giai đoạn nuôi cấy của môi trường này rất tốt. Tơ phát triển dày với tốc độ đều. Đến giai đoạn trồng nấm ra quả thể sớm, phát triển tốt nhưng tai nấm không được to. Môi trường này cũng rất ổn định nhưng kém tối ưu hơn môi trường số 9 và tối ưu hơn môi trường số 7.

#### **Những đóng góp mới của đề tài:**

Đề tài nghiên cứu thực tiễn cho thấy tơ nấm Linh Chi mọc tốt trong 5/20 môi trường sau đây :

#### *5. Môi trường Agaricus cải tiến*

Khoailang	200ml
Pepton	2g
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	2g
MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	0,5g
Agar	20g
Dịch chiết nấm men	2g
Vitamin B1	0,01g
pH	6,5
Nước cất vừa đủ	1 lít

7. Môi trường PGA (*Potato glucose agar*)

Khoai tây	200ml
Glucose	20g
Agar	20g
Nước cất vừa đủ	1000ml

8. Môi trường PGA + 10% nước dừa già

Khoai tây	200ml
Glucose	20g
Agar	20g
Nước dừa	100ml
Nước cất vừa đủ	1000ml

9. Môi trường PGA + 10% dịch chiết cà rốt

Khoai tây	200ml
Glucose	20g
Agar	20g
Cà rốt	100ml
Nước cất vừa đủ	1000ml

20. Môi trường chuối

Dịch chiết chuối chín	100ml
Khoai tây	100ml
FeSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	0,01g
Agar	20g
pH	7
Nước cất vừa đủ	1 lít

- Trong 5 môi trường trên đều có khoai tây là thành phần dinh dưỡng cho nấm Linh Chi.
- Đề tài cho ta hướng nghiên cứu mới là:
  - + Phân tích thành phần khoai tây trong môi trường nuôi cấy nấm Linh Chi, khoai tây có ảnh hưởng gì tới tốc độ phát triển và hình dạng của nấm Linh Chi.
  - + Khoai tây có ảnh hưởng tới sự hấp thu chất dinh dưỡng của nấm Linh Chi là tăng các hoạt chất có lợi trong linh chi hay không?

### **Khả năng ứng dụng kết quả nghiên cứu:**

- Nếu nghiên cứu thành công thì có thêm nhiều môi trường nuôi trồng nấm Linh Chi có hiệu quả hơn.
- Nâng cao được năng suất, sự sinh trưởng của nấm Linh Chi

## **B. Kiến nghị**

Sau khi thực hiện xong đề tài này nhóm nhận thấy rằng thời gian để thực hiện đề tài là không đủ, do đó nhóm đề xuất là nên tăng thời gian thực hiện đề tài để thu được kết quả tối ưu nhất.

Năng suất nấm lệ thuộc bởi nhiều yếu tố, bao gồm:

- Giống nấm.
- Thành phần dinh dưỡng.
- Điều kiện cấy, nuôi ủ và chăm sóc nấm.
- Phòng bệnh.

Do đó cần có những biện pháp phù hợp để nâng cao năng suất nấm.

- Giống nấm: có phương pháp tuyển chọn giống thích hợp, giống phải thuần, không nhiễm.
- Thành phần dinh dưỡng: nghiên cứu nhiều công thức phối trộn khác nhau nhằm tìm ra tỷ lệ thành phần dinh dưỡng cho nấm phát triển tốt nhất.
- Điều kiện nuôi ủ và chăm sóc: thiết kế nhà ủ sao cho các điều kiện về nhiệt độ, độ ẩm có thể dễ dàng điều chỉnh nhằm tạo điều kiện thuận lợi nhất cho tơ nấm phát triển.



- Phòng trị bệnh: là vấn đề lớn hiện nay, nhất là phong trào trải rộng, nhà nhà trồng nấm. Với số lượng bịch nuôi trồng lớn và trồng quanh năm, nếu không có biện pháp phòng bệnh tốt, thì khó đạt được kết quả.

Việc phòng bệnh bao gồm:

- Chọn giống khỏe.
- Xử lý và khử trùng tốt nguyên liệu.
- Giữ môi trường nơi nuôi trồng nấm thật vệ sinh.
- Hạn chế sử dụng thuốc sát trùng trực tiếp lên nấm. Chỉ nên phun thuốc trừ sâu bệnh trước và sau khi trồng.
- Nên phun lô (bịch tốt, bịch xấu) để tiện chăm sóc.

Cơ sở vật chất:

- Xây nhà thực nghiệm để sinh viên có điều kiện nghiên cứu 1 cách dễ dàng và thuận tiện.
- Trang bị thêm tủ cấy vô trùng và các thiết bị cấy truyền nấm để tránh bị nhiễm và cho kết quả tối ưu.

**CHƯƠNG IV : CÁC THIẾT BỊ, VẬT DỤNG SỬ DỤNG TRONG QUÁ TRÌNH  
NGHIÊN CỨU**

**A. Thiết bị , vật dụng sử dụng khi nuôi cấy trên môi trường cấp I**

SỐ THỨ TỰ	TÊN THIẾT BỊ
1	Đĩa petri
2	Ống nghiệm
3	Que cấy
4	Đèn cồn
5	Bình tam giác 250ml
6	Bếp điện
7	Nồi hấp khử trùng Auto clave
8	Ống đong 1000ml

**B. Thiết bị, vật dụng sử dụng khi nuôi cấy trên môi trường cấp II**

SỐ THỨ TỰ	TÊN THIẾT BỊ
1	Chai thủy tinh
2	Bếp điện
3	Đèn cồn
4	Nồi hấp khử trùng Auto clave
5	Que cấy

**C. Thiết bị, vật dụng sử dụng khi nuôi cấy trên môi trường mùn cưa**

SỐ THỨ TỰ	TÊN THIẾT BỊ
1	Bịch polyme chịu nhiệt
2	Tủ cấy vô trùng
3	Đèn cồn
4	Kẹp gấp bằng sắt
5	Tủ hấp vô trùng

**Tài liệu tham khảo**

- [1] Lê Duy Thắng (2001), *Kỹ thuật trồng nấm – tập 1*, Nhà xuất bản Nông nghiệp, TP Hồ Chí Minh
- [2] Lê Duy Thắng, Trần Văn Minh (2005), *Sổ tay hướng dẫn trồng nấm*, Nhà xuất bản Nông nghiệp, TP.Hồ Chí Minh.
- [3] Nguyễn Hữu Đông, Đinh Xuân Linh, Nguyễn Thị Sơn, *Cơ sở khoa học và công nghệ nuôi trồng nấm*, Nhà xuất bản Nông nghiệp, Hà Nội.

