

**BỘ TÀI NGUYÊN VÀ MÔI TRƯỜNG
TRƯỜNG ĐẠI HỌC TÀI NGUYÊN VÀ MÔI TRƯỜNG HÀ NỘI**

BÁO CÁO TỔNG HỢP

**ĐỀ TÀI KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ
CẤP CƠ SỞ HỖ TRỢ KINH PHÍ NĂM 2024
PHÂN LẬP VÀ NGHIÊN CỨU ĐẶC ĐIỂM SINH HỌC CỦA LOÀI
NẤM DƯỠC LIỆU *Pleurotus tuber-regium* TẠI KHU BẢO TỒN
THIÊN NHIÊN THƯỢNG TIẾN, TỈNH HÀ BÌNH**

Mã số: 13.01.24.K01

Tổ chức chủ trì: Trường Đại học Tài nguyên và Môi trường Hà Nội

Chủ nhiệm đề tài: Lê Thanh Huyền

Hà Nội - 2024

BỘ TÀI NGUYÊN VÀ MÔI TRƯỜNG
TRƯỜNG ĐẠI HỌC TÀI NGUYÊN VÀ MÔI TRƯỜNG HÀ NỘI

BÁO CÁO TỔNG HỢP

ĐỀ TÀI KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ
CẤP CƠ SỞ HỖ TRỢ KINH PHÍ NĂM 2024
PHÂN LẬP VÀ NGHIÊN CỨU ĐẶC ĐIỂM SINH HỌC CỦA LOÀI
NẤM DƯỠC LIỆU *Pleurotus tuber-regium* TẠI KHU BẢO TỒN
THIÊN NHIÊN THƯỢNG TIẾN, TỈNH HÒA BÌNH

Mã số: 13.01.24.K01

CHỦ NHIỆM ĐỀ TÀI

(ký, ghi rõ họ tên)



Lê Thanh Huyền

TRƯỜNG ĐẠI HỌC
TÀI NGUYÊN VÀ MÔI TRƯỜNG HÀ NỘI
KT. HIỆU TRƯỞNG
PHÓ HIỆU TRƯỞNG



Lê Thị Trinh

Hà Nội - 2024

THÔNG TIN KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

1. Thông tin chung:

- Tên đề tài: **Phân lập và nghiên cứu đặc điểm sinh học của loài nấm dược liệu *Pleurotus tuber-regium* tại Khu bảo tồn thiên nhiên Thượng Tiến, tỉnh Hòa Bình**
- Mã số: 13.01.24.K01
- Chủ nhiệm đề tài: Lê Thanh Huyền
- Tổ chức chủ trì: Trường Đại học Tài nguyên và Môi trường Hà Nội
- Thời gian thực hiện: năm 2024

2. Mục tiêu:

- Phân lập được nấm dược liệu *Pleurotus tuber-regium* từ Khu bảo tồn thiên nhiên Thượng Tiến, tỉnh Hòa Bình.
- Nghiên cứu các đặc điểm sinh học, định danh loài nấm *Pleurotus tuber-regium*.

3. Tính mới và sáng tạo:

Pleurotus tuber-regium là một loài nấm quý hiếm và có giá trị cao về cả dinh dưỡng hay tác dụng cùng với giá trị kinh tế khá lớn. Tuy nhiên, ở Việt Nam hiện nay cũng chưa có một đề tài nào phân lập và nghiên cứu đặc điểm sinh học của nấm *Pleurotus tuber-regium* một cách đầy đủ và chi tiết, đặc biệt là nấm có nguồn gốc từ rừng của Việt Nam, bên cạnh đó nghiên cứu về việc bảo vệ và phát triển loại nấm dược liệu này cũng là một trong những yếu tố cần thiết để phục vụ cho việc bảo tồn loài giống tự nhiên của Việt Nam.

Đề tài nghiên cứu có ý nghĩa trong thực tiễn, đảm bảo giống bản địa phục vụ nghiên cứu và nuôi trồng sâu hơn đối với loài nấm này, định hướng nghiên cứu về các hoạt chất, y dược, và đồng thời giúp cho việc bảo tồn và phát triển nguồn nấm ăn và nấm dược liệu của Việt Nam. Đặc biệt đây là loài nấm dược liệu *Pleurotus tuber-regium* mới ghi nhận cho Việt Nam.

4. Kết quả nghiên cứu:

- Đã phân lập được thuần chủng nấm dược liệu *Pleurotus tuber-regium* tại Khu bảo tồn thiên nhiên Thượng Tiến, tỉnh Hòa Bình
- Phân tích được đặc điểm sinh học, định danh chính xác loài nấm *Pleurotus tuber-regium*: Phân tích các đặc điểm sinh học: hình thái hiển vi, hình thái giải phẫu, kích thước bào tử; Giải trình tự sinh học phân tử đối với loài nấm dược liệu *Pleurotus tuber-regium*
- Đề xuất các thành phần môi trường tối ưu cho việc nuôi cấy hệ sợi nấm phục vụ trồng nấm dược liệu *Pleurotus tuber-regium*

5. Sản phẩm:

- Hướng dẫn 01 khóa luận tốt nghiệp: Sinh viên Bùi Phương Anh, đề tài khóa luận: “Nghiên cứu đặc điểm sinh học và thành phần dinh dưỡng của *Pleurotus tuber-regium* thu thập từ khu bảo tồn thiên nhiên Thượng Tiến, tỉnh Hoà Bình”
- Hướng dẫn 01 đề tài nghiên cứu khoa học sinh viên: “Nghiên cứu hoàn thiện quy trình nuôi trồng nấm dược liệu *Pleurotus tuber-regium*” đạt loại xuất sắc, và giải nhì cấp trường.
- 01 bài hội thảo phát triển hạ tầng đô thị xanh thông minh của trường Đại học Kiến trúc: “Bước đầu nghiên cứu việc tái sử dụng chất thải nông nghiệp làm cơ chất nuôi trồng nấm *Pleurotus tuber-regium*”
- 01 bài Tạp chí Xây dựng số 10 năm 2024, Bước đầu nghiên cứu xử lý chất thải nông nghiệp nông thôn làm cơ chất nuôi trồng nấm *Pleurotus tuber-regium*.

6. Phương thức chuyển giao, địa chỉ ứng dụng, tác động và lợi ích mang lại của kết quả nghiên cứu:

Phương thức chuyển giao:

- Kết quả của đề tài chuyển giao đến Khoa Môi trường, sử dụng trong việc giảng dạy và nghiên cứu phục vụ cho giảng viên và sinh viên có các cơ sở lý thuyết và thực tiễn trong việc thực hành, thực tập các môn học có liên quan.
- Kết quả của đề tài sẽ được chuyển giao toàn bộ cho học phần Công nghệ trồng nấm ngành Sinh học ứng dụng, học phần Điều tra đánh giá đa dạng sinh học ngành Quản lý tài nguyên và Môi trường của Khoa Môi trường, Trường Đại học Tài nguyên và Môi trường Hà Nội để phục vụ cho việc đào tạo và các nhiệm vụ khác có liên quan.
- Sản phẩm của đề tài sẽ được chuyển toàn bộ cho thư viện để lưu trữ và làm tài liệu tham khảo cho cán bộ giảng viên và người học.

Tác động và lợi ích mang lại của kết quả nghiên cứu:

- Đối với lĩnh vực KH&CN có liên quan: Số liệu, kết quả của báo cáo có thể là tài liệu tham khảo cho các Viện nghiên cứu cũng như giảng viên và sinh học đại học ngành Quản lý tài nguyên và môi trường, ngành Sinh học ứng dụng và ngành Đảm bảo chất lượng và an toàn thực phẩm trong việc học tập và nghiên cứu khoa học, là tài liệu giảng dạy cho học phần Công nghệ trồng nấm ngành Sinh học ứng dụng, học phần Điều tra đánh giá đa dạng sinh học ngành Quản lý tài nguyên và Môi trường.
- Đối với tổ chức chủ trì và các cơ sở ứng dụng kết quả nghiên cứu: Hiệu quả kết quả của báo cáo là tài liệu cho giảng viên và sinh học đại học ngành Quản lý tài nguyên và môi trường, ngành Sinh học ứng dụng và ngành Đảm bảo chất

lượng và an toàn thực phẩm trong việc học tập và nghiên cứu khoa học. Đóng góp vào nghiên cứu của nhóm nghiên cứu tiềm năng của Khoa Môi trường.

- Đối với kinh tế - xã hội và môi trường: Phục vụ cho việc nuôi trồng nấm và kinh doanh nấm dược liệu và nấm ăn.

INFORMATION ON RESEARCH RESULTS

1. General information:

- Project title: **Isolation and study of biological characteristics of the medicinal mushroom *Pleurotus tuber-regium* in Thuong Tien Nature Reserve, Hoa Binh Province.**
- Code number: 13.01.24.K01
- Coordinator: Le Thanh Huyen
- Implementing institution: Ha Noi University of Natural Resources and Environment
- Duration: 2024

2. Objective(s):

- Isolated the medicinal mushroom *Pleurotus tuber-regium* from Thuong Tien Nature Reserve, Hoa Binh province.
- Study of biological characteristics, identification of *Pleurotus tuber-regium* fungus species

3. Creativeness and innovativeness:

Pleurotus tuber-regium is a rare and highly valuable mushroom in terms of both nutrition and effects along with considerable economic value. However, in Vietnam, there is currently no topic to isolate and study the biological characteristics of *Pleurotus tuber-regium* in detail, especially mushrooms originating from the forests of Vietnam, besides research on the protection and development of this medicinal mushroom is also one of the necessary factors to serve for the conservation of Vietnam's natural species.

The research topic is meaningful in practice, ensuring that indigenous varieties serve further research and cultivation of this mushroom, orient research on active ingredients, medicine, and at the same time help the conservation and development of edible mushrooms and medicinal mushrooms of Vietnam. In particular, this is the new medicinal mushroom species *Pleurotus tuber-regium* recorded for Vietnam

4. Research results:

- Pure strains of the medicinal mushroom *Pleurotus tuber-regium* have been isolated in Thuong Tien Nature Reserve, Hoa Binh Province
- Analyze the biological characteristics, accurately identify the species *Pleurotus tuber-regium*: Analyze the biological characteristics: microscopic morphology, anatomical morphology, spore size; Molecular biosequencing of the medicinal fungus *Pleurotus tuber-regium*

- Proposal of optimal environmental components for mycelium culture for the cultivation of medicinal mushrooms *Pleurotus tuber-regium*

5. Products:

- Guidance for 01 graduation thesis: Student Bui Phuong Anh, thesis topic: "Research on biological characteristics and nutritional composition of *Pleurotus tuber-regium* collected from Thuong Tien Nature Reserve, Hoa Binh Province"
- Guiding 01 scientific research project for students: "Research to improve the cultivation process of medicinal mushrooms *Pleurotus tuber-regium*' won the excellent grade, and the second prize at the school level.
- 01 article on the development of the smart green city of the University of Architecture: "Preliminary investigation on the treatment of rural agriculture waste as a substrate mushrooms cultivation of *Pleurotus tuber-regium*"
- 01 article on the Journal of construction, Preliminary investigation on the treatment of rural agriculture waste as a substrate mushrooms cultivation of *Pleurotus tuber-regium* .

6. Transfer alternatives, application institutions, impacts and benefits of research results:

Transfer method:

- The results of the project transferred to the Faculty of Environment, used in teaching and research to serve lecturers and students with theoretical and practical bases in practicing and practicing related subjects.
- The results of the project will be transferred to the Mushroom Cultivation Technology module in Applied Biology, the Biodiversity Assessment Survey module in Natural Resources and Environment Management of the Faculty of Environment, Hanoi University of Natural Resources and Environment to serve the training and other related tasks.
- The products of the project will be transferred to the library for storage and as a reference for lecturers and learners.

Impact and benefits of the study results:

- For the relevant field of science and technology: The data and results of the report can be used as a reference for research institutes as well as lecturers and university biology majors in Natural Resources and Environment Management, Applied Biology and Food Quality and Safety Assurance in learning and scientific research, it is a teaching material for the Mushroom Cultivation Technology module in Applied

Biology, the Biodiversity Assessment Survey module in Natural Resources and Environment Management.

- For the presiding organization and institutions applying research results: The effectiveness of the report results is a document for lecturers and undergraduate biology majors in Natural Resources and Environment Management, Applied Biology and Food Quality and Safety Assurance in learning and scientific research. Contribute to the research of the potential research team of the Faculty of Environment.

- For socio-economic and environmental purposes: For mushroom cultivation and trading of medical mushrooms and edible mushrooms.

MỤC LỤC

CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN VỀ VẤN ĐỀ NGHIÊN CỨU	3
1.1. Tổng quan tình hình nghiên cứu trong nước và ngoài nước	3
1.1.1. Tình hình nghiên cứu trong nước.....	3
1.1.2. Tổng quan tình hình nghiên cứu ngoài nước	3
1.2. Giới thiệu về chi nấm <i>Pleurotus</i>	5
1.3. Giá trị và vai trò của nấm <i>Pleurotus tuber-regium</i>	7
1.3.1. Giá trị dinh dưỡng của nấm <i>Pleurotus tuber-regium</i>	7
1.3.2. Lợi ích và vai trò của nấm <i>Pleurotus tuber-regium</i>	8
1.3.3. Hoạt chất chống oxy hóa trong nấm	9
1.4. Khái quát đặc điểm Khu bảo tồn thiên nhiên Thượng Tiến, tỉnh Hòa Bình	10
1.4.1. Điều kiện tự nhiên của Khu bảo tồn thiên nhiên Thượng Tiến	10
1.4.2. Điều kiện kinh tế - xã hội	14
CHƯƠNG 2	15
ĐỐI TƯỢNG, PHẠM VI VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU	15
2.1. Phạm vi nghiên cứu của đề tài	15
2.2. Đối tượng nghiên cứu của đề tài	16
2.3. Phương pháp nghiên cứu và kỹ thuật sử dụng	16
CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN	29
3.1. Kết quả phân lập thuần chủng nấm dược liệu <i>Pleurotus tuber-regium</i> tại Khu bảo tồn Thiên nhiên Thượng Tiến, tỉnh Hòa Bình	29
3.2. Đặc điểm sinh học nấm dược liệu <i>Pleurotus tuber-regium</i>	31
3.3. Kết quả giải trình tự sinh học phân tử nấm dược liệu <i>Pleurotus tuber-regium</i>	33
3.4. Đề xuất các thành phần môi trường tối ưu để nuôi cấy hệ sợi nấm phục vụ trồng nấm dược liệu <i>Pleurotus tuber-regium</i>	35

3.5. Kết quả thử nghiệm nuôi trồng nấm dược liệu <i>Pleurotus tuber-regium</i> quy mô phòng thí nghiệm.....	39
KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ	44
TÀI LIỆU THAM KHẢO	44
PHỤ LỤC	49

DANH MỤC CÁC KÝ HIỆU, CÁC CHỮ VIẾT TẮT

BTTN	Bảo tồn thiên nhiên
KVNC	Khu vực nghiên cứu
sp.	Species (Loài thuộc chi nhưng chưa được định danh)
VQG	Vườn quốc gia

DANH MỤC CÁC BẢNG BIỂU

Bảng 3.1. Kết quả phân lập hệ sợi nấm dược liệu	30
Bảng 3.2. Kết quả so sánh trình tự nucleotide vùng ITS của chủng nấm E03TT24 trên Genbank.....	33
Bảng 3.3: Sinh trưởng hệ sợi nấm <i>P. tuber-regium</i> trên các loại môi trường nuôi cấy	35
Bảng 3.4. Kết quả ảnh hưởng của pH đối với quá trình lan hệ sợi.....	36
Bảng 3.5. Kết quả theo dõi quá trình lan hệ sợi ở các điều kiện nhiệt độ khác nhau	37

DANH MỤC CÁC HÌNH VẼ, ĐỒ THỊ

Hình 1. 1. Các giai đoạn phát triển của quả thể nấm	6
Hình 1.1. Bản đồ quy hoạch ba loại rừng Khu bảo tồn thiên nhiên Thượng Tiến, tỉnh Hòa Bình giai đoạn 2017 - 2025	12
Hình 2.1. Tuyến đường thu mẫu tại Khu BTTN Thượng Tiến.....	15
Hình 2. 2. Thóc sau khi luộc	21
Hình 2. 3.Thóc được phối trộn và cấy giống	21
Hình 2. 4. Cấy truyền môi trường cấp 2 (Môi trường thóc)	21
Sơ đồ quy trình nuôi trồng giống nấm cấp 3.....	22
Hình 2. 5. Phơi khô bã mía.....	23
Hình 2. 6. Ủ đông bã mía	23
Hình 2. 7. Ủ đông mùn cưa	24
Hình 2. 8.Cơ chất sau khi phối trộn với nguyên liệu được đóng bịch	27
Hình 2. 9. Hấp thanh trùng môi trường cấp 3	28
Hình 2. 10. Cấy truyền môi trường cấp 3	28
Hình 3.1: Nấm dược liệu <i>Pleurotus tuber-regium</i>	29
(A. Khu vực thu mẫu; B. Mẫu thu được).....	29
Hình 3.2: Kết quả sinh trưởng hệ sợi nấm	31
Hình 3.3. Các đặc điểm vi thể của mẫu nấm <i>Pleurotus tuber-regium</i>	32
Hình 3.4. Cây phả hệ phân tử Maximum Likelihood dựa trên vùng trình tự ITS (bootstrap trên 50%).....	34
Hình 3.5. Hệ sợi nấm nuôi trên môi trường có dải pH khác nhau.....	36
Hình 3.6. Quy trình nuôi trồng nấm dược liệu <i>Pleurotus tuber-regium</i>	39
Hình 3.7. Hệ sợi ở pH6.5 sau 10 ngày	40
Hình 3.8. Hệ sợi ở 25oC sau 10 ngày	40
Hình 3.9. Hệ sợi trên môi trường thóc sau 5 ngày	41
Hình 3.8. Hệ sợi môi trường cấp 3 sau 5 ngày.....	42
Hình 3.9. Hệ sợi môi trường cấp 3 sau 10 ngày.....	42
Hình 3.11. Quả thể sau 7 ngày rạch bịch	43
Hình 3.12. Quả thể sau 10 ngày rạch bịch	43

MỞ ĐẦU

Nấm ăn và nấm dược liệu có ý nghĩa quan trọng trong đời sống cũng như trong nghiên cứu khoa học. Nấm ăn được coi là nguồn thực phẩm sạch, có giá trị dinh dưỡng và giá trị kinh tế cao. Không chỉ vậy, một số loài nấm còn có khả năng sinh hoạt chất sinh học trong ngăn ngừa và chữa trị một số bệnh như: tiểu đường, huyết áp, tim mạch, béo phì, chống ung thư, tăng cường miễn dịch. Bên cạnh đó theo Sharma A. và Jandaik S. (2017) là loài nấm có khả năng kháng virus, chống oxy hóa. Sukumar D. và cộng sự (2020) xác nhận là loài nấm không có độc tính hay gây độc khi thử nghiệm trên chuột đồng thời là loài nấm có khả năng làm giảm cholesterol trong máu và khi sử dụng *P. tuber-regium* có lợi cho sức khỏe và có thể ngăn ngừa các bệnh liên quan đến tăng cholesterol máu và duy trì sức khỏe sinh sản nam tốt [23,25].

Pleurotus tuber-regium (Syn. *Lentinus tuber-regium*), là loài nấm nhiệt đới, phân hủy gỗ, có thể trồng ở nhiều loại cơ chất khác nhau. Quả thể nấm phát triển tại các khu vực có điều kiện ẩm và nhiều chất xơ. Loài nấm này được phân bố các khu vực gần xích đạo như: Châu Phi, Madagascar, Ấn Độ, Sri Lanka, Đông Nam Châu Á, Papua New Guinea, và phía Bắc của nước Úc [16].

Hiện nay, ở Việt Nam có nhiều nghiên cứu về các nhóm nấm nhằm tăng cường hiểu biết và ứng dụng của nấm ăn và nấm dược liệu trong lĩnh vực nông nghiệp và y học. Các nhóm nấm ăn và nấm dược liệu được nuôi trồng ở Việt Nam cũng như phổ biến trên thị trường rất nhiều như: nấm Sò trắng, nấm Sò tím, nấm Sò vàng, nấm Sò hồng, nấm Đùi gà, nấm Hải sản, nấm Kim châm trắng, Kim châm vàng, nấm Mỡ, nấm Hương, nấm Linh chi, nấm Vân chi, nấm Linh chi sừng hươu, nấm Lim xanh, nhưng chưa có nghiên cứu đến nấm Sõ hổ *Pleurotus tuber-regium*. Nấm *Pleurotus tuber-regium* vừa là nấm ăn vừa là nấm dược liệu, đã thu hút sự quan tâm của nhiều nhà nghiên cứu trên thế giới. Có thể nói nấm *Pleurotus tuber-regium* là một loài nấm quý hiếm và có giá trị cao về cả dinh dưỡng hay tác dụng cùng với giá trị kinh tế khá lớn. Thành phần dinh dưỡng của nấm bao gồm các chất dinh dưỡng cơ bản như protein, carbohydrate, lipid, vitamin và khoáng chất, cùng với các hợp chất sinh học đặc biệt như polysaccharide, triterpenoid và flavonoid. Hiểu rõ về thành phần dinh dưỡng này không chỉ giúp tăng cường kiến thức về giá trị dinh dưỡng của nấm mà còn mở ra cơ hội trong việc phát triển các sản phẩm chức năng và các liệu pháp điều trị bệnh mới. Chính vì vậy, đã có một vài nghiên cứu trên thế giới

nghiên cứu nuôi trồng nấm này như J.A. Okhuoya và F.O. Okogbo (1991), đây chính là loài nấm có nhiều tiềm năng cho thực phẩm và dược liệu [2,17].

Tuy nhiên, ở Việt Nam hiện nay cũng chưa có đề tài nào nghiên cứu đặc điểm sinh học và thành phần dinh dưỡng của nấm *Pleurotus tuber-regium* một cách đầy đủ và chi tiết, đặc biệt là nấm có nguồn gốc từ rừng ở Việt Nam. Bên cạnh đó, khu Bảo tồn thiên nhiên Thượng Tiến là nơi có đầy đủ các điều kiện tự nhiên cũng như hệ sinh thái rừng tự nhiên rất tốt cho các nhóm loài động thực vật phát triển đồng thời là nơi đa dạng sinh học các loài nấm ăn được và nấm dược liệu phát triển rất phong phú, là nơi lý tưởng cho sự phát triển của loại nấm *Pleurotus tuber-regium*. Với mong muốn, thông qua nghiên cứu tìm hiểu sâu hơn về loài nấm này, có thể đóng góp vào việc khai thác giống nấm bản địa, nuôi trồng và sử dụng hiệu quả nguồn tài nguyên nấm quý báu này, đồng thời mở ra những cơ hội mới trong không chỉ trong dinh dưỡng mà còn trong lĩnh vực y học, chính vì vậy tôi lựa chọn đề tài: **“Phân lập và nghiên cứu đặc điểm sinh học của loài nấm dược liệu *Pleurotus tuber-regium* tại Khu bảo tồn thiên nhiên Thượng Tiến, tỉnh Hòa Bình”**. Đề tài nhằm nghiên cứu về đặc điểm sinh học và một số điều kiện sinh trưởng và phát triển hệ sợi của *Pleurotus tuber-regium* từ khu vực này không chỉ mang lại thông tin quý giá về tính chất của loài nấm mà còn đóng góp vào việc bảo vệ và tận dụng tài nguyên thiên nhiên.

CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN VỀ VẤN ĐỀ NGHIÊN CỨU

1.1. Tổng quan tình hình nghiên cứu trong nước và ngoài nước

1.1.1. Tình hình nghiên cứu trong nước

Nấm *Pleurotus tuber-regium* ở Việt Nam còn khá là mới mẻ, chủ yếu các nhà khoa học sử dụng chúng dưới dạng tài liệu tham khảo hoặc giá trị để so sánh với các loài nấm phổ biến khác. Hiện nay, chưa có một công bố cụ thể, rõ ràng nào về đặc điểm hình thái sinh học, các thành phần dinh dưỡng, quy trình trồng và khả năng tiềm tàng của nấm *P.tuber-regium* một cách đầy đủ và chi tiết, đặc biệt là nấm có nguồn gốc từ rừng của Việt Nam. Bên cạnh đó việc nghiên cứu, bảo vệ và phát triển loại nấm dược liệu này cũng là một trong những yếu tố cần thiết để phục vụ cho việc bảo tồn các giống loài tự nhiên của Việt Nam.

Nấm *Pleurotus tuber-regium* được thu thập tại khu Bảo tồn thiên nhiên Thượng Tiến tọa lạc tại xã Thượng Tiến, Huyện Kim Bôi, tỉnh Hòa Bình. Với diện tích rộng lớn được bao bọc bởi núi đồi cùng với phù sa màu mỡ của dòng sông Bôi và điều kiện khí hậu, địa lí, thổ nhưỡng phù hợp giúp cho Khu bảo tồn thiên nhiên Thượng Tiến là một trong những khu dự trữ tài nguyên thiên nhiên phong phú, đa dạng bậc nhất của tỉnh. Nơi đây có đầy đủ các yếu tố về điều kiện tự nhiên cũng như hệ sinh thái rừng tự nhiên rất tốt cho các nhóm loài động thực vật phát triển đồng thời là nơi đa dạng sinh học các loài nấm ăn được và nấm dược liệu phát triển rất phong phú. Tuy nhiên, lại chưa có nhiều nghiên cứu cụ thể về đặc điểm hình thái sinh học, các giá trị dinh dưỡng của nấm *Pleurotus tuber-regium* thu thập tại nơi đây. Chính vì vậy, nghiên cứu này sẽ phân lập, nghiên cứu các đặc điểm sinh học, phân loại chính xác loài và một số thành phần dinh dưỡng có trong nấm *Pleurotus tuber-regium* thu thập tại khu bảo tồn thiên nhiên Thượng Tiến.

1.1.2. Tổng quan tình hình nghiên cứu ngoài nước

Pleurotus tuber-regium có tên tiếng Việt là nấm Sữa hổ (hay có nơi còn gọi là nấm Củ Vua), là một loài nấm ăn được có nguồn gốc từ vùng nhiệt đới, bao gồm Châu Phi, Châu Á và Châu Úc [16].

Nấm dược liệu là loại nấm có công dụng làm thuốc chữa bệnh, được sử dụng nhiều trong nghiên cứu y học. Nấm dược liệu bao gồm những loại nấm ăn được và những loại nấm không ăn được. Nấm dược liệu không chỉ chứa nhiều thành phần dinh dưỡng bồi bổ cơ thể mà còn có các thành phần dưỡng chất giúp cơ thể phòng chống sự xâm nhập của vi khuẩn, virus, hỗ trợ sức khỏe,... Nấm dược liệu có lịch sử lâu đời và phong phú, chủ yếu được sử dụng trong các phương thức y học truyền thống, cổ xưa. Chúng đã được sử dụng trong nhiều thế kỷ như là phương thuốc chữa các bệnh viêm nhiễm, mệt mỏi, chất tăng cường hệ miễn dịch,... Tuy nhiên, việc bổ sung các loại nấm chức năng này đang trở nên phổ biến ở phương Tây. Nấm dược liệu chủ yếu có nguồn gốc từ Châu Á, nhưng chúng cũng xuất hiện và được trồng ở các nơi khác trên thế giới, đặc biệt là Nam Mỹ, Bắc Mỹ, Siberia và Địa Trung Hải. Nấm dược liệu không được tiêu thụ như nấm thông thường do vị đắng của chúng. Trên thị trường, nấm dược liệu được bán thông qua các cửa hàng y học cổ truyền, các doanh nghiệp trồng nấm dược liệu hay các viện nghiên cứu. Nấm dược liệu không chỉ mang đến những lợi ích về mặt dinh dưỡng và sức khỏe, chúng cũng mang lại tiềm năng phát triển kinh tế của đất nước. Hiện nay, ở Việt Nam có rất nhiều loại nấm dược liệu phổ biến được mọi người biết đến, nuôi trồng và sử dụng rộng rãi như: nấm Linh Chi (*Ganoderma lucidum*), nấm Hàu Thỏ (*Hericium erinaceus*), nấm Vân Chi (*Trametes versicolor*), hay đông trùng hạ thảo (*Cordyceps*),...

Các nhà khoa học đã đưa ra một số nghiên cứu về vai trò, lợi ích cũng như giá trị dinh dưỡng của nấm *Pleurotus tuber-regium* như sau:

- Sinha, S. D. (2015) đã nghiên cứu khảo sát hoạt tính chống oxy hóa và kháng vi khuẩn của *Pleurotus tuber-regium*. Kết quả cho thấy nấm này có khả năng chống oxy hóa cao và có hoạt tính kháng vi khuẩn đối với một số loài vi khuẩn gây bệnh [24].

- Shaoling L. Và cộng sự (2020) đã chỉ ra rằng các chất dinh dưỡng và thành phần hoạt tính sinh học của *Pleurotus tuber-regium* góp phần vào các hoạt động chống ung thư, cholesterol máu, huyết áp, chống oxy hóa,... cho thấy *Pleurotus tuber-regium* là một loại thực phẩm chức năng và dược phẩm đầy hứa hẹn [22].

- Theo Akindahunsi A.A. và Oyetayo F.L. (2006) đã nhấn mạnh dinh dưỡng của *Pleurotus tuber-regium* có đầy đủ các thành phần protein ở cuống nấm và mũ nấm [6].

- Adebayo E.A. và cộng sự (2018) đã nghiên cứu, so sánh về đặc tính chống oxy hóa và kháng khuẩn của 04 loại nấm ăn *Pleurotus levis*, *P. ostreatus*, *P. pulmonarius* and *P. tuber-regium* thuộc họ *Pleurotaceae* [8].

- Mariappan Senthilkumar (2025) đã nghiên cứu sàng lọc các hoạt chất sinh học từ nấm ăn hoẵng đã *P. ostreatus* [14].

- Nachshol Cohen và cộng sự (2014), đã nghiên cứu thành phần dinh dưỡng và giá trị y học của 15 loại nấm dược liệu. Nhóm nghiên cứu này đã xác định các thành phần dinh dưỡng chính trong quả thể nấm, hệ sợi của nấm và cũng đã khảo sát hiệu quả y học của nó trong điều trị một số bệnh như: giảm cholesterol, kiểm soát huyết áp, chống oxy hóa, kháng khuẩn, kháng virus [15].

Các nghiên cứu trên cho thấy các nhà khoa học rất quan tâm đến giá trị y dược cũng như dinh dưỡng của nấm dược liệu nhằm nghiên cứu để ứng dụng vào thực tế.

1.2. Giới thiệu về chi nấm *Pleurotus*

Trong hệ thống phân loại nấm, chi nấm *Pleurotus* thuộc nhóm sau:

Giới nấm (Kingdom): *Mycota (Fungi)*

Ngành nấm đảm (Phylum): *Basidiomycota*

Lớp (Class): *Agaricomycetes*

Bộ (Order): *Agaricales*

Họ (Family): *Pleurotaceae*

Chi (Genus): *Pleurotus* (Fr.) P. Kumm., 1871

Pleurotus là nhóm nấm loại hoại sinh được tìm thấy trên gỗ mục. Khi nấm phân giải gỗ, nó tạo ra một mạng hệ sợi nấm hoặc dạng củ dự trữ bên trong gỗ hoặc trong lớp đất bên dưới. Đa số các loài nấm thuộc chi nấm *Pleurotus* có các thuộc tính cảm quan, giá trị dinh dưỡng cao và các đặc tính y học quan trọng. Đây là chi nấm có nhiều loài nấm ăn được dùng trong thực phẩm nhiều nhất.

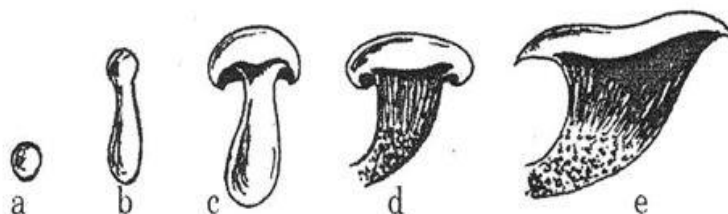
Loài nấm *Pleurotus tuber-regium* đã được chứng minh là một loài riêng biệt không có khả năng lai tạo và loại bỏ phát sinh gen khỏi các loài *Pleurotus*

khác. Những hạch nấm này có hình tròn, màu nâu sẫm với nội thất màu trắng và rộng tới 30cm. Quả thể sau đó sẽ nổi lên từ hạch nấm. Cả hạch nấm và quả thể đều có thể ăn được.

Pleurotus tuber-regium có lịch sử quan trọng về kinh tế ở Châu Phi với vai trò là thực phẩm và nấm dược liệu. Một số nghiên cứu đã chỉ ra rằng *P. tuber-regium* có thể được trồng trên các chất thải hữu cơ như ngô, mùn cưa. Sự phát triển của sợi nấm xảy ra trong khoảng từ 15°C đến 40°C với tốc độ tăng trưởng tối ưu ở 35°C. Tuy nhiên, giống như các loài nấm *Pleurotus* khác, *Pleurotus tuber-regium* khá thích nghi với nhiều loại nguyên liệu khi được trồng cẩn thận ở nhiệt độ và điều kiện thích hợp [18].

Một số hình thái các loài thuộc chi nấm *Pleurotus* như sau:

- Dạng san hô: quả thể mới tạo thành, dạng sợi mảnh hình chum.
- Dạng dùi trống: mũ xuất hiện dưới dạng khối tròn, còn cuống phát triển theo cả chiều ngang và chiều dài nên đường kính cuống và mũ không khác nhau bao nhiêu.
- Dạng phễu: mũ mở rộng, trong khi cuống còn ở giữa (giống cái phễu).
- Dạng bán cầu lệch: cuống lớn nhanh một bên và bắt đầu lệch so với vị trí trung tâm của mũ.
- Dạng lá lục bình: cuống ngừng tăng trưởng, trong khi mũ vẫn tiếp tục phát triển, bìa mép thẳng đến dợn sóng.
- Từ giai đoạn phễu sang bán cầu lệch có sự thay đổi về chất (giá trị dinh dưỡng tăng), còn từ giai đoạn bán cầu lệch sang giai đoạn lá có sự nhảy vọt về khối lượng (trọng lượng tăng), sau đó giảm dần. Vì vậy, thu hái nấm nên chọn lúc tai nấm vừa chuyển sang dạng lá



Hình 1. 1. Các giai đoạn phát triển của quả thể nấm

a) Dạng san hô b) Dạng dùi trống c) Dạng phễu

d) Dạng bán cầu lệch e) Dạng lá lục bình

Đặc điểm sinh trưởng chi nấm Pleurotus

Giống nấm *Pleurotus tuber-regium* phân bố rộng khắp và thường được tìm thấy ở các vùng đất có khí hậu nhiệt đới và cận nhiệt đới. Nấm thường mọc trong các vùng rừng, đồng cỏ và các khu vực có đất dồi dào chất hữu cơ. Môi trường sống lý tưởng cho giống nấm *Pleurotus tuber-regium* là đất ẩm ướt có nhiều chất hữu cơ, pH trung tính và ánh sáng yếu. Điều kiện môi trường này tạo điều kiện thuận lợi cho sự phát triển và sinh trưởng của nấm *Pleurotus tuber-regium*, đồng thời giúp nấm phát triển nhanh chóng và tăng năng suất trồng nấm [18].

Nhóm nấm này phát triển tốt nhất ở nhiệt độ từ 20 đến 25°C. Nhiệt độ tối thiểu để nấm phát triển là 20°C và nhiệt độ tối đa là 30°C; Độ ẩm: Trong giai đoạn tăng trưởng, độ ẩm nguyên liệu yêu cầu từ 50-60%, độ ẩm không khí không được nhỏ hơn 70%. Độ ẩm không khí ở khoảng 70% cho quả thể nhỏ, dưới 60% không ra quả thể, nếu nấm ở giai đoạn phôi lệch hoặc lá thì sẽ bị khô mặt và cháy vàng rìa mũ nấm. Nhưng nếu độ ẩm không khí trên 95% thì tai nấm sẽ bị nhũn và rũ xuống; Ánh sáng: yếu tố này chỉ cần thiết trong giai đoạn ra quả thể nhằm kích thích nụ nấm phát triển. Ánh sáng yếu sẽ làm chân nấm dài ra và mũ hẹp; Đặc biệt quá trình nảy mầm của bào tử và tăng trưởng của tơ nấm có liên quan đến nồng độ CO₂ phải giảm và lượng oxy tăng lên. Nếu không mũ nấm sẽ bị hẹp lại trong khi chân nấm sẽ dài ra, dẫn đến tai nấm bị biến dạng; Chất dinh dưỡng: nấm *Pleurotus tuber-regium* cần nhiều chất dinh dưỡng để phát triển. Nấm có thể phát triển trên nhiều loại giá thể khác nhau, bao gồm rơm rạ, dăm bào, mùn cưa, vỏ bông và phân compost. Giá thể cần được bổ sung các chất dinh dưỡng như nitơ, photpho và kali để nấm phát triển tốt nhất [15,17].

1.3. Giá trị và vai trò của nấm *Pleurotus tuber-regium*

1.3.1. Giá trị dinh dưỡng của nấm *Pleurotus tuber-regium*

Pleurotus tuber-regium chứa nhiều dinh dưỡng quan trọng. Nó là nguồn dưỡng chất phong phú, cung cấp protein và các axit amin cần thiết cho cơ thể. Bên cạnh đó, nó còn có khả năng cung cấp năng lượng cho hoạt động hàng ngày nhờ chứa một lượng đáng kể carbohydrate. *P.tuber-regium* cũng giàu chất xơ, giúp tăng cường chức năng tiêu hóa và duy trì sự khỏe mạnh của ruột. Nấm

còn chứa các chất chống oxy hóa như polyphenol và flavonoid, có khả năng ngăn chặn sự tổn thương của các gốc tự do trong cơ thể [6,15].

Pleurotus tuber-regium không chỉ là một nguồn dinh dưỡng quan trọng mà nó còn có thể mang lại nhiều lợi ích đối với sức khỏe con người. *Pleurotus tuber-regium* là một loại nấm dược liệu ăn được đang thu hút sự quan tâm ngày càng tăng gần đây vì các đặc tính cảm quan, giá trị dinh dưỡng cao và đặc tính chữa bệnh quan trọng của nó. Đây là loài nấm giàu polysaccharides hoạt tính sinh học, protein với các axit amin thiết yếu, axit béo thiết yếu, chất xơ, khoáng chất và vitamin. Các nghiên cứu hiện tại đã chỉ ra rằng các chất dinh dưỡng và thành phần hoạt tính sinh học của loài nấm này góp phần vào các hoạt động chống ung thư, hạ cholesterol máu, hạ huyết áp, chống béo phì, bảo vệ gan, kháng khuẩn, chống oxy hóa và prebiotic, cho thấy đây là một loại thực phẩm chức năng và dược phẩm dinh dưỡng đầy hứa hẹn. Hiện nay trên thế giới loài nấm *Pleurotus tuber-regium* là một loại nấm ẩm thực có giá trị kinh tế cao.

1.3.2. Lợi ích và vai trò của nấm *Pleurotus tuber-regium*

Nấm *Pleurotus tuber-regium* chứa nhiều beta-glucan, một loại polysaccharide có khả năng giúp tăng cường miễn dịch, chống lại sự lây nhiễm của virus, vi khuẩn và vi sinh vật gây bệnh. Beta-glucan có nguồn gốc từ *P. tuber-regium* có thể gây ra apoptosis chống lại các tế bào ung thư và tăng cường các hoạt động miễn dịch và chống khối u. Nấm *Pleurotus tuber-regium* còn chứa nhiều hợp chất bioactives như lovastatin, pleurotin đều có tác dụng chống ung thư. Việc tiêu thụ nấm *Pleurotus* ở mức độ cao có thể làm giảm nguy cơ ung thư và các bệnh khác [8].

Một hợp chất có tác dụng hạ cholesterol có trong nấm *Pleurotus tuber-regium* đó chính là lovastatin. Lovastatin giúp ức chế hoạt động của enzyme HMG-CoA reductase, enzyme này tham gia vào quá trình tổng hợp cholesterol trong cơ thể.

Nấm *Pleurotus tuber-regium* chứa rất ít chất béo. Đây là nhóm nấm chứa nhiều khoáng chất kali giúp điều hòa huyết áp, chất xơ giúp giảm nguy cơ mắc các bệnh tim mạch, thúc đẩy nhu động ruột và ngăn ngừa táo bón. Ngoài ra nấm này cũng chứa nhiều enzyme tiêu hóa, giúp hỗ trợ tiêu hóa thức ăn.

Có thể nói nấm *Pleurotus tuber-regium* là một nguồn thực phẩm lành mạnh với nguồn protein, cacbohydrate, vitamin và khoáng chất dồi dào. Nấm có thể được chế biến thành nhiều món ăn ngon và bổ dưỡng. Không chỉ đóng vai trò là nguồn thực phẩm tốt cho sức khỏe, nấm *Pleurotus tuber-regium* còn là nguồn dược liệu quý báu cho con người. Nấm có thể sử dụng làm thuốc chữa bệnh như tăng cường hệ miễn dịch, chống ung thư, hạ cholesterol, giảm huyết áp, tốt cho hệ tiêu hóa và tốt cho sức khỏe tim mạch.

Hiện nay, các nhà khoa học đã chứng minh, trong nấm có polyphenol và L-ergothioneine, là các chất chống oxy hóa cần thiết cho cơ thể con người. Polyphenol là một trong những hoạt chất tự nhiên có nhiều tác dụng như chống oxy hóa, kháng viêm, kháng khuẩn, chống dị ứng và chống lão hóa cho con người. Trong nấm *Pleurotus tuber-regium* còn chứa flavonoid, có khả năng tạo phức với các ion kim loại nên có tác dụng như chất xúc tác ngăn cản các phản ứng oxy hóa. Do đó, các chất flavonoid có tác dụng bảo vệ cơ thể, ngăn ngừa xơ vữa động mạch, tai biến mạch, lão hóa,... Flavonoid còn có tác dụng bảo vệ hệ tim mạch, giảm nguy cơ tử vong do các bệnh lý tim mạch như thiếu máu cơ tim, đau thắt ngực, nhồi máu cơ tim, ... nhờ khả năng chống oxy hóa không hoàn toàn cholesterol.

Nấm *Pleurotus tuber-regium* còn có thể có khả năng phân hủy các chất độc hại trong môi trường, xử lý rác thải ô nhiễm.

1.3.3. Hoạt chất chống oxy hóa trong nấm

Chất chống oxy hóa (hay chất kháng oxy hóa) là chất trực tiếp hoặc gián tiếp ngăn cản, trung hòa, loại bỏ tác dụng có hại của các gốc tự do với cơ thể. Những chất kháng oxy hoá ngoài tác dụng trung hoà các gốc tự do bằng cách nhường một điện tử của mình cho chúng, qua đó có thể cắt đứt phản ứng dây chuyền, ngăn chặn tổn thương DNA do các độc chất gây ra; chúng còn có thể khống chế sự phát triển của các tế bào ung thư.

Các hoạt chất chống oxy hóa có trong nấm luôn thu hút sự chú ý nghiên cứu của các nhà khoa học. Ngô Xuân Mạnh và cộng sự (2014) đã nghiên cứu về hàm lượng polyphenol và khả năng chống oxi hóa của chúng trong một số loại nấm ăn đã chứng minh hoạt tính chống oxi hóa trong 05 loại nấm nghiên

cứu (nấm Sò trắng, nấm Sò tím, nấm Đùi gà, nấm Ngọc châm, nấm Mỡ): cũng khác nhau về hoạt tính chống oxy hóa của từng thành phần của cây nấm như thân, mũ, rễ,... Hoạt tính chống oxy hóa trong mũ, thân, rễ nấm Mỡ cũng là cao nhất (mũ nấm $337,9 \pm 4,2 \mu\text{mol TE}/100\text{g}$, thân nấm $284,0 \pm 1,5 \mu\text{mol TE}/100\text{g}$, PPP nấm $135,2 \pm 1,8 \mu\text{mol TE}/100\text{g}$ trong khi các chỉ tiêu đó thấp nhất ở nấm Ngọc châm [2].

1.4. Khái quát đặc điểm Khu bảo tồn thiên nhiên Thượng Tiến, tỉnh Hòa Bình

1.4.1. Điều kiện tự nhiên của Khu bảo tồn thiên nhiên Thượng Tiến

Ban Quản lý Khu Bảo tồn Thiên nhiên Thượng Tiến được thành lập theo Quyết định số 1242/QĐ-UB của UBND tỉnh Hòa Bình ngày 09/10/2000. Diện tích Khu BTTN Thượng Tiến được quy hoạch bảo tồn và phát triển bền vững với tổng diện tích 6304,7 ha bao gồm ba phân khu:

- Phân khu bảo vệ nghiêm ngặt: 1496,0 ha
- Phân khu phục hồi sinh thái: 4745,96 ha
- Phân khu dịch vụ hành chính: 62,81 ha

a. Vị trí địa lý

Vị trí địa lý: Khu Bảo tồn Thiên nhiên Thượng Tiến nằm ở phía Tây của tỉnh Hòa Bình và nằm trong vùng địa lý sinh học Tây Bắc Việt Nam. Tọa độ địa lý: $20^{\circ}30' - 20^{\circ}40'$ độ vĩ Bắc, $105^{\circ}20' - 105^{\circ}30'$ độ kinh Đông. Thượng Tiến nằm trên ranh giới hành chính của 3 xã là Quý Hòa (huyện Lạc Sơn), Kim Tiến và Thượng Tiến (huyện Kim Bôi). Phía Đông giáp xã Hạ Bì, Kim Tiến huyện Kim Bôi; Phía Tây giáp các xã Xuân Phong, Yên Thượng, Yên Lập huyện Cao Phong; Phía Nam giáp xã Quý Hoà huyện Lạc Sơn; Phía Bắc giáp các xã Hợp Đồng, Đông Bắc, Vĩnh Tiến huyện Kim Bôi.

b. Đặc điểm địa hình

Địa hình của Khu Bảo tồn Thiên nhiên Thượng Tiến đặc trưng bởi hệ núi có độ cao trung bình từ 300 - 1.000 m so với mực nước biển. Điểm cao nhất trong Khu Bảo tồn đạt 1.073 m, đây cũng là núi cao nhất trong Khu Bảo tồn. Diện tích rừng của Khu Bảo tồn chủ yếu nằm trên các vùng có độ dốc lớn, bị hai dãy núi Cột Ca và Cột Cờ chia cắt, chỉ có một ít diện tích rừng tương đối bằng nằm xen giữa hai xã Thượng Tiến và Quý Hòa. Khu Bảo tồn nằm trên vùng núi

đất cao nhất của hai huyện Lạc Sơn và Kim Bôi, thổ nhưỡng chủ yếu là các loại đất feralit vàng và xám, hình thành trên các đá mẹ Sa Thạch và Bazich. Ở khu vực Đồi Thung thuộc xã Quý Hoa, đá granit tương đối phổ biến ở các vùng thung lũng và suối lớn. Đây cũng là khu vực phân bố chính của loại đất feralit vàng với thành phần cát pha lớn dễ bị xói mòn và rửa trôi khi mất thảm thực vật che phủ bề mặt [1].

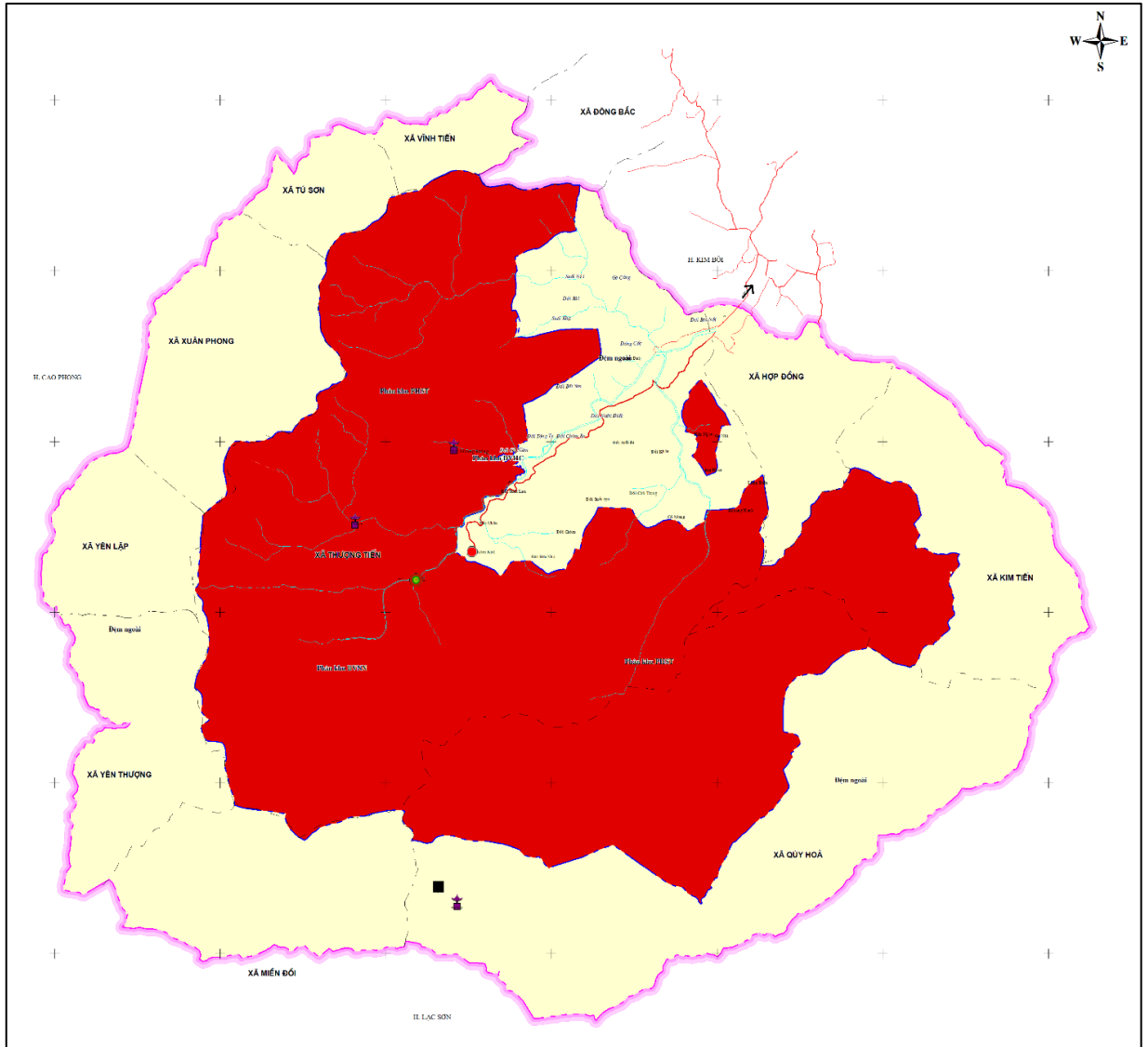
Tóm lại, địa hình tại Khu Bảo tồn Thiên nhiên Thượng Tiến đa số có độ cao vừa phải, độ dốc không quá lớn và điều kiện thổ nhưỡng phù hợp cho các hệ sinh thái rừng lá rộng thường xanh phát triển. Độ che phủ rừng tương đối cao với nhiều cây gỗ lớn phát triển giúp chắn ánh sáng lớn và tạo môi trường có độ ẩm cao, rất phù hợp cho sự phát triển của nấm lớn.

c. Khí hậu và thủy văn

Khu Bảo tồn Thiên nhiên Thượng Tiến nằm thuộc vùng khí hậu nhiệt đới gió mùa có mùa đông lạnh, mưa nhiều mùa hè, thời kỳ khô từ 2 đến 3 tháng. Đây là một trong các vùng có lượng mưa lớn của tỉnh Hòa Bình và là vùng đầu nguồn của thượng lưu sông Bôi và sông Bưởi. Các số liệu quan trắc tại Trạm Khí tượng Thủy văn Kim Bôi cho thấy, mùa mưa kéo dài từ tháng 4 đến tháng 10, tập trung tới 90,38% tổng lượng mưa của cả năm.

Gió mùa Đông Bắc thịnh hành vào mùa đông, làm cho Khu Bảo tồn không có mùa khô rõ rệt như Tây Bắc và đồng thời tạo nên nền nhiệt thấp, độ ẩm không khí cao và có mưa phùn. Gió mùa Tây Nam gây khô nóng vào đầu mùa hạ và mưa vào thời gian sau đó. Gió mùa Đông Nam thổi từ Biển Đông vào, thịnh hành trong các tháng cuối hạ đầu thu, gây mưa chủ yếu cho Khu Bảo tồn.

Độ ẩm trung bình của khu vực đạt 85%, với độ ẩm tối cao là 89% và tối thấp là 80%. Nhiệt độ bình quân của khu vực là 23° C, với nhiệt độ cao nhất là 29° C, thấp nhất là 10° C. Ở các đỉnh cao như Cột Ca, đồi Thung có thể có băng giá hình thành trong một thời gian ngắn vào các ngày đại hàn.



CHÚ GIẢI

---	Ranh giới tỉnh	QUY HOẠCH BA LOẠI RỪNG
---	Ranh giới huyện	 Rừng phòng hộ
---	Ranh giới xã	 Rừng đặc dụng
---	Đường ô tô	 Rừng sản xuất
---	Đường đất lớn	
	Sông, suối	
	Thác nước	
	Cầu, trường học	
	Trụ sở UBND xã	
	Trụ sở BQL khu bảo tồn	
	Trạm Kiểm Lâm	
	Đình Bàng	

Hình 1.1. Bản đồ quy hoạch ba loại rừng Khu bảo tồn thiên nhiên Thượng Tiến, tỉnh Hòa Bình giai đoạn 2017 - 2025

Phần lớn hệ thủy của Khu BTTN Thượng Tiến, tỉnh Hòa Bình là các nhánh của sông Bôi; con sông chạy theo hướng Đông – Nam trước khi đổ vào sông Đáy. Hệ thủy của Thượng Tiến có 4 chi lưu và với hệ suối nhỏ chằng chịt, có nước quanh năm, với suối Thượng Tiến chảy vào sông Bôi theo hướng Đông Nam. Có một số suối nhỏ khác chảy về huyện Lạc Sơn ở phía Nam của Khu Bảo tồn [1].

Nhận xét: Khu Bảo tồn Thiên nhiên Thượng Tiến thuộc kiểu khí hậu đặc trưng của miền Bắc Việt Nam với 4 mùa xuân, hạ, thu, đông, trong đó mùa hạ dài. Điều kiện khí hậu tương đối ôn hòa rất phù hợp với sự sinh trưởng của và phát triển của thực vật và cho sự tái sinh rừng. Đặc biệt là khoảng thời gian từ tháng 4 đến tháng 10 có lượng mưa lớn là mùa phát triển mạnh mẽ của nấm lớn.

d. Tài nguyên động - thực vật

Theo kết quả điều tra đánh giá tài nguyên sinh vật của khu bảo tồn đã xác định được:

- Về thực vật: có 648 loài, 397 chi , 144 họ, 4 ngành, trong đó có: có tới 39 loài có tên trong các văn bản pháp quy về bảo tồn, gồm Sách Đỏ Việt Nam (24 loài), Nghị định 32/2006 (8 loài) và Danh lục Đỏ IUCN (13 loài). Trong đó có các loài nguy cấp như: Thiên tuế lá chè, hoa tiên, gù hương, Đinh vàng, dây mối, bình bôi, nghiêng đất, lan quế,...

- Về động vật: có 59 loài động vật có vú, 21 họ, 8 bộ, trong đó có: 18 loài trong sách đỏ Việt Nam, 23 loài thuộc Nghị định số 32, 36 loài danh lục đỏ IUCN: Các loài cu li, Cây mực, cây gắm, cây hương, mèo rừng, sóc bay,...

- Về chim: Có 128 loài, 37 họ, 13 bộ, trong đó có các loài trong sách đỏ Việt Nam như: Diều hoa miền điện, Ưng ấn độ, cắt lưng hung, cú mèo hoang cổ, cú vọ mặt trắng,...

- Lớp bò sát, lưỡng cư: Có 53 loài, 14 họ, 4 bộ, trong đó có các loài quý hiếm như: Rắn sọc rùa, rắn cạp nong, tắc kè, ếch gai, ếch vạch,... [10].

Bên cạnh đó, theo Danh mục các loài thực vật Việt Nam (phần Nấm – Trịnh Tam Kiệt và các tác giả khác, 2001) gồm 2250 loài trong đó có 1250 loài nấm lớn; thì hiện chưa có danh mục nấm lớn nói chung và chi *Polyporus* nói riêng tại khu vực tỉnh Hòa Bình. Như vậy, việc thực hiện nghiên cứu chi

Polyporus sẽ góp phần đánh giá đa dạng nấm lớn, bổ sung cho danh mục nấm tại Hòa Bình, Việt Nam.

1.4.2. Điều kiện kinh tế - xã hội

Về dân số, với diện tích khu bảo tồn nằm trong ranh giới hành chính 3 xã thuộc 2 huyện có tổng số 2.316 hộ , 11.515 nhân khẩu.

Cơ cấu dân tộc bao gồm dân tộc Mường chiếm đa số (vào khoảng hơn 95%), còn lại là các dân tộc Kinh, Thái và Tày. Đồng bào thường định cư tại các thung lũng rộng và gần các con suối để thuận tiện cho việc canh tác cũng như sinh sống [10].

Nằm trong vùng lõi là xóm Khú, chủ yếu là dân tộc Mường với 39 hộ dân. Những người dân tại xóm Khú là lực lượng thường xuyên phối hợp với cán bộ kiểm lâm giám sát, bảo vệ khu vực vùng lõi của Khu bảo tồn Thiên nhiên Thượng Tiến.

Nhìn chung, dựa vào đặc điểm điều kiện tự nhiên, kinh tế - xã hội của Khu BTTN Thượng Tiến, tỉnh Hòa Bình cho thấy khu vực này có tiềm năng đa dạng sinh học cao. Do nơi đây có lượng địa hình cũng như điều kiện tự nhiên phù hợp cho sự phát triển của các loài nấm lớn nói chung và nấm nhỏ nói riêng [1].

CHƯƠNG 2.

ĐỐI TƯỢNG, PHẠM VI VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Phạm vi nghiên cứu của đề tài

- Khu Bảo tồn Thiên nhiên Thượng Tiến, tỉnh Hòa Bình.
- Phòng thí nghiệm trường Đại học Tài nguyên và Môi Trường Hà Nội
- Khu vực thu mẫu tại Khu bảo tồn thiên nhiên Thượng Tiến, tỉnh Hòa

Bình là nơi có địa hình hiểm trở, nhiều suối và đồi núi. Khu vực đi khảo sát là khu vực đi qua khu suối thuộc xã Hợp Tiến, huyện Kim Bôi



Hình 2.1. Tuyến đường thu mẫu tại Khu BTTN Thượng Tiến

Dựa trên bản đồ địa hình của Khu bảo tồn thiên nhiên Thượng tiến và hướng dẫn của cán bộ kiểm lâm để lập tuyến thu mẫu điều tra. Thu mẫu theo tuyến màu xanh: Đi xóm Khú, xã Hợp Tiến qua suối Múc, hướng Cao Phong.

Tuyến điều tra được thực hiện tại vùng lõi của Khu BTTN Thượng Tiến, tỉnh Hòa Bình. Tuyến thu mẫu dài hơn 2 km đi qua nhiều dạng sinh cảnh khác nhau, trên tuyến có các tuyến phụ hình xương cá dài 100 – 200m. Sau đó đi lên khu vực có quả đồi đất, nơi có nhiều loài thực vật và sinh cảnh khác nhau.

Trong quá trình thu mẫu theo tuyến, chú ý tập trung tại những nơi có bóng râm và nhiều gỗ mục như bìa rừng, ven suối... là nơi tập trung nhiều loài nấm lớn.

Thời gian nghiên cứu tháng 1-10/2024.

2.2. Đối tượng nghiên cứu của đề tài

Nấm *Pleurotus tuber-regium* thu thập ở khu bảo tồn thiên nhiên Thượng Tiến, tỉnh Hòa Bình.

2.3. Phương pháp nghiên cứu và kỹ thuật sử dụng

2.3.1. Phương pháp thu mẫu và phân lập nấm dược liệu *Pleurotus tuber-regium*

Mẫu nấm thu tại khu Bảo tồn Thiên nhiên Thượng Tiến, tỉnh Hòa Bình. Nấm phát triển bằng bào tử, bào tử nấm phát tán trong không khí từ nơi này sang nơi khác và theo nhiều hướng khác nhau, vì vậy nấm sẽ phát triển một cách ngẫu nhiên, không cố định ở một đặc điểm địa hình nào. Do đó mẫu sẽ được tìm kiếm và thu thập một cách ngẫu nhiên dọc theo tuyến đường thu mẫu.

Đối với những mẫu sống trên thân gỗ lớn, phải dùng dao nhọn để tách chúng ra khỏi thân cây. Khi tách cần lấy cả một phần nhỏ giá thể mà nấm sống, ghi chép nhanh các thông tin (đặc điểm hình thái, màu sắc, ngày thu, vị trí, độ cao), vị trí các địa điểm thu mẫu được ghi lại theo số liệu kinh độ, vĩ độ và độ cao. Mỗi mẫu thu được để riêng trong một hộp, có ký hiệu riêng và được bảo quản trong hộp đựng mẫu riêng hoặc gói riêng trong tờ giấy bạc (không để chung mẫu để tránh các bào tử nấm lẫn lộn vào nhau).

Mẫu được phân lập trên môi trường PDA, nuôi cấy hệ sợi và tách hệ sợi thuần không lẫn tạp hệ sợi nấm mốc và các vi sinh vật khác, phân lập đến khi quan sát thấy các khuẩn lạc hệ sợi riêng rẽ và đồng nhất. Kiểm tra dưới kính hiển vi để xem có lẫn hệ sợi nấm khác hay không, đến khi đạt ở mức thuần đồng nhất sẽ được cấy chuyển thuần sang môi trường ống nghiệm để lưu giữ giống. Sau đó sử dụng các môi trường PCA, MEA, MCM, khác nhau để nghiên cứu đặc điểm hệ sợi thích nghi trên các môi trường đó.

2.3.2. Phương pháp phân tích đặc điểm sinh học mẫu nấm

Đặc điểm hình thái rất quan trọng để phân loại đến chi và loài. Mẫu thu được sẽ được mô tả hình thái bên ngoài các đặc điểm cơ bản (mũ nấm, phiến nấm, cuống nấm, màu sắc,...) và sấy ở nhiệt độ 40-45°C. Sau đó được quan sát trực tiếp dưới kính hiển vi Olympus CX21, chụp ảnh và mô tả đặc điểm bào tử, hệ sợi ghi nhận khi quan sát.

Mẫu vật được phân tích tại phòng thí nghiệm của trường Đại học Tài nguyên và Môi trường Hà Nội. Các bước thực hiện phân tích mẫu vật bao gồm:

- *Mô tả đặc điểm hình thái bên ngoài*

+ Các thông tin cần mô tả: Mũ nấm (pileus): Kích thước, hình dạng, bề mặt, màu sắc; Thịt nấm (context): Độ dày và màu sắc; Phiến nấm (lamellae): Cách đính, khoảng cách, độ rộng, màu sắc; Cuống nấm (stipe): kích thước, hình dạng, bề mặt, màu sắc ở đỉnh và ở chân, các đính ở rễ; Mùi; Vị; Cách mọc và chất nền; Địa điểm thu mẫu

- *Mô tả đặc điểm hình thái hiển vi*

Mẫu được phân tích tốt nhất là mẫu tươi ngay sau khi thu mẫu, hoặc phân tích ngay sau 24h thu mẫu, và soi kính hiển vi:

+ Trước hết ta cắt 1 phần quả thể nấm gồm một phần mũ và thể sinh sản (phiến, ống), sau đó cắt lát dọc và ngang.

+ Với nấm phiến tách khoảng 2-3 phiến với cả phần mũ rồi dùng dao cạo cắt theo chiều vuông góc với phiến (song song với chiều thẳng đứng của quả thể); Với nấm lỗ, ngoài các lát cắt dọc, không thể thiếu được các lát cắt ngang vuông góc với ống. Ngoài ra, để quan sát rõ hơn hệ thống sợi nấm rồi để trên lam, dùng hai kim nhọn tách nhỏ sợi nấm ra mà quan sát dọc theo chiều dài của sợi.

+ Cắt một mảnh thật nhỏ và mỏng từng bộ phận của nấm như lá nấm, mũ nấm và cuống nấm để soi các cấu trúc hiển vi. Thường dùng vật kính phóng 100x để soi mẫu.

+ Bào tử nấm thường được tìm thấy khi soi lá nấm, ta có thể thấy hình dạng phóng to của chúng khi soi kính 100x.

+ Lá nấm, mũ nấm, thân nấm thường được soi để xem cấu trúc cấu tạo (Hình 1, 2, 3).

+ Những mẫu tươi được cắt mỏng và thường được quan sát trong nước cất. Khi mẫu nấm quá bé và khô lại, trước khi cắt có thể ngâm vào trong nước để dễ dàng cho việc cắt và soi. Khi soi tại vật kính 100x phải dùng dầu soi kính, sau khi sử dụng xong dùng isopropanol để lau sạch kính hiển vi, phiến kính và lam kính được rửa bằng nước xà phòng tại phòng thí nghiệm.

2.3.3. Phương pháp PCR và giải trình tự

+ *Phân tích tách chiết DNA*: Cho 0.4 g bột sinh khối nấm (thu nhận từ canh trường nấm sau 5 ngày nuôi cấy nghiền trong nito lỏng) vào ống eppendorf 2ml, bổ sung 1,6 ml dung dịch đệm chiết: 100mM Tris-HCl pH 8,5; 20mM EDTA (pH 8,5); 2% CTAB; 1,5M NaCl; 2% PVP-40; 10mM NaHSO₃; 1% 2-mercaptoethanol. Ủ hỗn hợp ở nhiệt độ 65°C trong 15 phút, ly tâm 10000 vòng/phút. Hút 800 µl dịch nổi cho vào ống eppendorf 2ml chứa 800 µl hỗn hợp CIAA. Trộn đều và ly tâm 10000 vòng trong 5 phút. Hút 350 µl dịch nổi cho vào ống eppendorf chứa 700 µl isopropanol, đảo trộn đều và ly tâm 10000 vòng trong 15 phút. Đổ dịch nổi và rửa kết tủa bằng 1000 µl ethanol 70%. Hòa tan DNA trong 50 µl dung dịch đệm TE 1X. Giữ DNA ở -20°C.

+ *Phân tích PCR*: Thành phần phản ứng PCR bao gồm: 5 µl đệm (20 mM Tris-HCl; 20 mM KCl; 5 mM (NH₄)₂SO₄; 1,5 mM MgCl₂, pH 8,3), 4 µl dNTP, 2 µl mỗi mỗi loại, 2 µl Taq DNA polymease (Fermentas), 2 µl khuôn DNA. Chu trình nhiệt bao gồm: 94°C trong 3 phút, nhân gen trong 27 chu trình: 94°C trong 30 giây, 58°C trong 30 giây, và 72°C trong 30 giây. Bước cuối cùng: kéo dài chuỗi ở 72°C trong 5 phút. Sản phẩm PCR thiết kế có kích thước 500 bp. Kiểm tra sản phẩm bằng điện di trên 1% gel agarose.

+ *Giải trình tự ITS*: gửi mẫu giải trình tự (hỗ trợ từ dự án của Viện Nấm và Công nghệ sinh học) để hỗ trợ xác định định danh mẫu nấm.

Sản phẩm PCR được tinh sạch qua cột PureLink™ PCR Purification Kit (Invitrogen). Kiểm tra độ sạch của sản phẩm PCR trên gel agarose và gửi giải trình tự. Trình tự thu được được so sánh với các trình tự ITS trên ngân hàng Genbank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast/>), qua đó, định tên nấm: <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>

Trình tự nucleotide vùng ITS của chủng E03TT24 được phân tích và so sánh với các trình tự nucleotide vùng ITS của các loài nấm lớn khác bằng công cụ BLASTn trên Genbank để xác định loài tương đồng. Cây phát sinh loài được phân tích dựa trên phương pháp Maximum likelihood bằng công cụ MEGA X với hệ số bootstrap 1000 lần lặp lại để đánh giá độ mức độ ủng hộ nhánh của cây (Kumar & cs., 2018) [11].

2.3.4. Phương pháp thử nghiệm các điều kiện thành phần môi trường nuôi cấy hệ sợi nấm đảm bảo sinh trưởng và phát triển của hệ sợi nấm được liệu

- Ảnh hưởng của môi trường nuôi cấy: nuôi hệ sợi trên các môi trường nuôi cấy khác nhau như MEA (Malt Extract Agar), PDA (Potatoes Dextrose Agar), CZ (Czapek) [3,12].

- Ảnh hưởng của pH: Sau khi tìm điều kiện môi trường thích hợp, nấm được thử nghiệm pH tối ưu thông qua các giá trị pH 6 – 6,5 – 7 [4].

- Ảnh hưởng của nhiệt độ: nhiệt độ tối ưu cho sự sinh trưởng của hệ sợi nấm được liệu *Pleurotus tuber-regium* sẽ được nuôi thử nghiệm trên môi trường thích hợp ở nhiệt độ 20°C, 25°C, 30°C và 35°C [9,10].

a. Điều kiện môi trường

- Nấm *Pleurotus tuber-regium* là loại nấm ưa nhiệt, thích nghi tốt với khí hậu nhiệt đới và cận nhiệt đới. Nhiệt độ thích hợp cho nấm *Pleurotus tuber-regium* sinh trưởng và phát triển là từ 25-30°C, độ ẩm tương đối 60-80%^[3].

- Khi nhiệt độ thấp hơn 20°C hoặc cao hơn 35°C, nấm sẽ chậm phát triển hoặc ngừng phát triển. Khi độ ẩm thấp hơn 60%, nấm *Pleurotus tuber-regium* sẽ bị nhăn nheo, khô héo.

b. Chất dinh dưỡng

- Nấm *Pleurotus tuber-regium* là loại nấm dị dưỡng, cần có nguồn dinh dưỡng đầy đủ để sinh trưởng và phát triển. Chất dinh dưỡng chủ yếu cho nấm *Pleurotus tuber-regium* là mùn, chất hữu cơ, cellulose, hemicellulose, lignin, ...

- Nấm *Pleurotus tuber-regium* có thể sinh trưởng trên nhiều loại giá thể khác nhau, như: rơm rạ, mùn cưa, bã mía, ... Tuy nhiên, giá thể tốt nhất cho nấm *Pleurotus tuber-regium* là giá thể có hàm lượng cellulose cao, độ pH từ 6-7 [4].

c. Chăm sóc

- Chăm sóc nấm *Pleurotus tuber-regium* đúng kỹ thuật giúp nâng cao năng suất và chất lượng của nấm. Các biện pháp chăm sóc nấm *Pleurotus tuber-regium* bao gồm: tưới nước, điều chỉnh nhiệt độ, pH, ... [4].

- Nấm *Pleurotus tuber-regium* cần được tưới nước thường xuyên để đảm bảo độ ẩm thích hợp cho nấm phát triển. Nhiệt độ và độ ẩm trong nhà trồng nấm *Pleurotus tuber-regium* cần được duy trì ổn định trong khoảng 25-30°C và 60-80%.

d. Thời gian thu hoạch

- Thời gian thu hoạch nấm *Pleurotus tuber-regium* là khi nấm có đường kính trung bình 3-5 cm. Nếu thu hoạch muộn, nấm sẽ bị già, cứng và giảm chất lượng [4].

e. Phương pháp thu hoạch

- Nấm *Pleurotus tuber-regium* được thu hoạch bằng cách hái cả cụm gồm cả phần chân nấm sau đó cắt bỏ phần cuống nấm cách gốc khoảng 2-3 cm. Nấm sau khi thu hoạch cần được bảo quản ở nơi thoáng mát, tránh ánh nắng trực tiếp [4].

2.3.5 Phương pháp xử lý số liệu

Kết quả nghiên cứu được xử lý thống kê bằng phần mềm Excel 2019 và Graphpad Prism 9.1 để biên tập, tính toán, xử lý, đánh số các số liệu thu thập và xây dựng biểu đồ phân tích.

2.3.6. Phương pháp nuôi trồng thử nghiệm

a. Nuôi trồng môi trường cấp 1

Hóa chất, dụng cụ, thiết bị: Nguyên liệu, hoá chất, dụng cụ thiết bị cho môi trường nuôi cấy cấp 1.

- Thành phần môi trường cấp 1: Khoai tây : 200g; Agar : 20g; Dextrose/Glucose: 20 gam; Nước cất: 1000mL; chỉnh pH bằng NaOH 10%;

- Dụng cụ: Đĩa petri; Ống nghiệm dài; Bình tam giác 250ml; Nồi, Đèn cồn; que cấy; ...

- Thiết bị: Bếp điện; Nồi hấp thanh trùng; Tủ cấy; Tủ sấy; Cân điện tử; Tủ lạnh

b. Nuôi trồng môi trường cấp 2

Hóa chất, dụng cụ, thiết bị: Nguyên liệu, hoá chất, dụng cụ thiết bị cho môi trường nuôi cấy cấp 2.

- Thành phần môi trường cấp 2: thóc: 400 gam, cám gạo: 25 gam, cám ngô: 25 gam.

- Hóa chất: Cồn, nước cất

- Dụng cụ: que cấy, ống nghiệm, bình thủy tinh, nồi, đèn cồn

- Thiết bị: Bếp điện; nồi hấp thanh trùng; tủ cấy; tủ sấy; cân điện tử; tủ lạnh



Hình 2. 1. Thóc sau khi luộc



Hình 2. 2. Thóc được phối trộn và cấy giống



Hình 2. 3. Cấy truyền môi trường cấp 2 (Môi trường thóc)

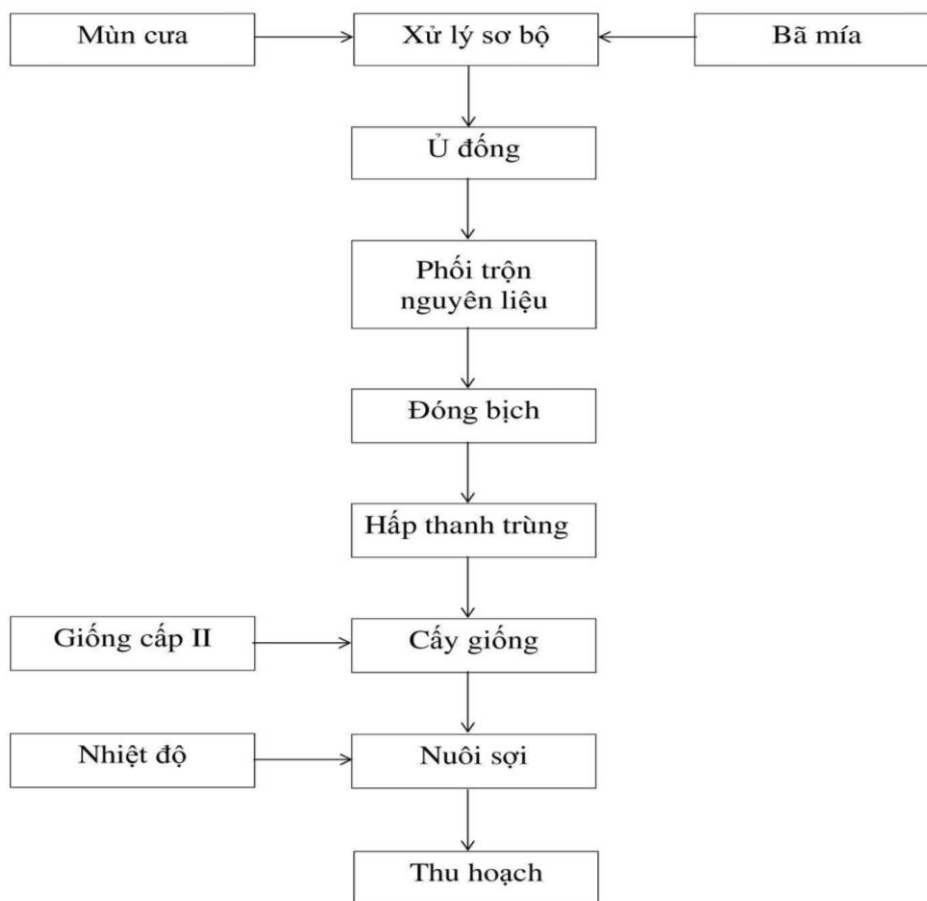
c. Nuôi trồng môi trường cấp 3

Hóa chất, dụng cụ, thiết bị: Nguyên liệu, hoá chất, dụng cụ thiết bị cho môi

trường nuôi cấy cấp 3.

- Nguyên liệu: Mùn cưa, cám gạo, cám ngô, bã mía,
- Dụng cụ: que cấy, đèn cồn
- Thiết bị: cân, nồi hấp thanh trùng, tủ cấy

Quy trình thực hiện



Sơ đồ quy trình nuôi trồng giống nấm cấp 3

a. Chuẩn bị môi trường cấp 3 (Cơ chất nuôi trồng)

* Xử lý sơ bộ bã mía

Bước 1: Bã mía sau khi được lấy về cần băm nhỏ kích thước khoảng 2-4cm. Sau đó rửa sạch với nước nhiều lần và ngâm nước ít nhất 12 tiếng để loại bỏ bớt đường có trong bã mía. Thực hiện liên tục trong 48 tiếng.

Bước 2: Sau thời gian ngâm để loại bỏ đường, vớt ra để ráo nước rồi đem

phơi khô bã mía.

Bước 3: Ủ đống bã mía với nước vôi tỉ lệ 20% trộn đều. Chú ý: Bóp chặt bã mía trong tay thấy ướt kẽ tay là đạt yêu cầu, không được quá khô hay quá ướt. Lúc này, độ ẩm của bã mía khoảng 75%.

Bước 4: Sau 1-2 ngày nên đảo đống bã mía để tránh bã mía quá nóng cũng như lượng ẩm không đều. Ủ đống từ 4-7 ngày ta thu được cơ chất bã mía.



Hình 2. 4. Phơi khô bã mía



Hình 2. 5. Ủ đống bã mía

*** Xử lí sơ bộ mùn cưa**

Bước 1: Mùn cưa sau khi lấy về chỉ cần ủ đống tương tự như bã mía với vôi 20%, lượng nước ẩm kẽ tay.

Bước 2: Đảo đống sau 1-2 ngày giúp bã mía quá nóng cũng như làm đều lượng ẩm trong mùn cưa. Ủ đống từ 4-7 ngày ta thu được cơ chất mùn cưa.



Hình 2. 6. Ủ đông mùn cưa

* Quy trình đóng bịch và cấy truyền với môi trường cấp 3:

Bước 1: Cơ chất sau khi được ủ đông với vôi được đem đi phối trộn với tỉ lệ nguyên liệu theo các công thức sau:

Công thức có nguồn dinh dưỡng là cám gạo

1. **Mùn cưa:** Công thức phối trộn mùn cưa với cám gạo

STT	Công thức 1 (%)	Công thức 2 (%)	Công thức 3 (%)	Đối chứng (%)
Mùn cưa	75	79	83	99
Cám gạo	24	20	16	0
Bột nhẹ CaO	1	1	1	1

2. **Bã mía:** Công thức phối trộn bã mía với cám gạo

STT	Công thức 1 (%)	Công thức 2 (%)	Công thức 3 (%)	Đối chứng (%)
Bã mía	75	79	83	99

STT	Công thức 1 (%)	Công thức 2 (%)	Công thức 3 (%)	Đối chứng (%)
Cám gạo	24	20	16	0
Bột nhẹ CaO	1	1	1	1

3. **Mùn cưa và bã mía:** Công thức phối trộn mùn cưa và bã mía với cám gạo

STT	Công thức 1 (%)	Công thức 2 (%)	Công thức 3 (%)	Đối chứng (%)
Mùn cưa và bã mía	75	79	83	99
Cám gạo	24	20	16	0
Bột nhẹ CaO	1	1	1	1

Công thức có nguồn dinh dưỡng là cám gạo và cám ngô

1. **Mùn cưa:** Công thức phối trộn mùn cưa với cám gạo và cám ngô

STT	Công thức 1 (%)	Công thức 2 (%)	Công thức 3 (%)	Đối chứng (%)
Mùn cưa	75	79	83	99
Cám gạo + Cám ngô	24	20	16	0
Bột nhẹ CaO	1	1	1	1

2. **Bã mía:** Công thức phối trộn bã mía với cám gạo và cám ngô

STT	Công thức 1 (%)	Công thức 2 (%)	Công thức 3 (%)	Đối chứng (%)
Bã mía	75	79	83	99
Cám gạo + Cám ngô	24	20	16	0
Bột nhẹ CaO	1	1	1	1

3. Mùn cưa và bã mía: Công thức phối trộn mùn cưa và bã mía với cám gạo và cám ngô

STT	Công thức 1 (%)	Công thức 2 (%)	Công thức 3 (%)	Đối chứng (%)
Mùn cưa và bã mía	75	79	83	99
Cám gạo + Cám ngô	24	20	16	0
Bột nhẹ CaO	1	1	1	1

Bổ sung thêm bột nhẹ CaO (vôi bột) là một cách giúp bịch nấm tránh nhiễm khuẩn từ môi trường bên ngoài gây hư hỏng bịch nấm.

Bước 2: Đóng bịch với từng tỉ lệ như trên, mỗi bịch có trọng lượng 1kg. Dùng bông không thấm nước và dây chun để đóng miệng túi, bọc giấy báo lên đầu nút bông giúp thấm nước khi mang đi hấp thanh trùng.

Bước 3: Hấp thanh trùng môi trường cấp 3 ở 121°C trong 60 phút. Khi nồi hấp hạ hoàn toàn áp suất mới mở nồi. Chờ cho đến khi môi trường nguội hoàn toàn mới tiến hành cấy truyền môi trường cấp 3.

Bước 4: Dùng que cấy đã được thanh trùng và để nguội lấy hệ sợi trong môi trường cấp 2 (môi trường thóc) cấy truyền sang lần lượt các bịch.

Bước 5: Nuôi trồng hệ sợi trong môi trường cấp 3 khoảng 10-15 ngày trong nhiệt độ 25-30°C, hệ sợi lan trắng toàn bộ cơ chất.

Bước 6: Khi hệ sợi đã lan hết, tiến hành rạch bịch nấm. Chú ý: dùng dao lam đã thanh trùng để rạch bịch, rạch các đường từ 3-5cm, mỗi đường cách nhau 5-7cm để quả thể nấm được phát triển ra bên ngoài.

Bước 7: Sau khi rạch bịch tiến hành tưới đón nấm. Tưới phun sương xung quanh bịch mỗi ngày 2 lần.

Bước 8: Sau 3-5 ngày, quả thể sẽ phát triển ra bên ngoài thành cụm, sau 10-15 ngày có thể thu hoạch. Khi thu hoạch cần ngắt cả cụm, tránh để lại chân nấm làm hỏng bịch nấm.



Hình 2. 7. Cơ chất sau khi phối trộn với nguyên liệu được đóng bịch

A. Cơ chất bã mía

B. Cơ chất mùn cưa



Hình 2. 8. Hấp thành trùng môi trường cấp 3



Hình 2. 9. Cấy truyền môi trường cấp 3

CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Kết quả phân lập thuần chủng nấm dược liệu *Pleurotus tuber-regium* tại Khu bảo tồn Thiên nhiên Thượng Tiến, tỉnh Hòa Bình

3.1.1. Đánh giá đặc điểm điều kiện tự nhiên tại khu vực nghiên cứu

Kết quả nghiên cứu tại KBTTN Thượng Tiến, tỉnh Hòa Bình sau 2 lần đi khảo sát và thu mẫu thực địa, nhóm nghiên cứu nhận thấy do địa hình khu vực Thượng Tiến còn nhiều khó khăn, không thể tiến sâu vào trung tâm vùng lõi. Cùng với điều kiện thời tiết không thuận lợi, cụ thể là có mưa lớn trong rừng nên việc tiếp cận loài nấm dược liệu *Pleurotus tuber-regium* không đơn giản. Vào thời điểm lấy mẫu ngày 1/6/2024 là khoảng thời gian khoảng một tuần sau mưa, đây là điều kiện thuận lợi cho các nhóm nấm phát triển mạnh. Thời điểm đi thu mẫu lúc này trời nắng gắt, khô ráo thu được mẫu nấm *Pleurotus tuber-regium*.



Hình 3.1: Nấm dược liệu *Pleurotus tuber-regium*
(A. Khu vực thu mẫu; B. Mẫu thu được)

Qua quá trình điều tra, thu thập các mẫu nấm lớn tại khu BTTN Thượng Tiến, tỉnh Hòa Bình cho thấy điều kiện tự nhiên, môi trường ở tuyến đi lấy mẫu có nền nhiệt thấp, độ ẩm không khí cao, độ phủ thảm thực vật dày xem kẽ giữa các nhóm cây bụi, cây thấp và cây gỗ lớn. Đây chính là điều kiện thích hợp cho sự phát triển của nấm lớn tại đây, mặc dù là nắng nóng toàn bộ khu vực miền

Bắc, nhưng tại khu vực lấy mẫu vẫn có độ ẩm tương đối cao do khu vực lấy mẫu gần suối và xung quanh cây to nhiều thực vật che phủ các tầng. Kết quả nghiên cứu tại khu BTTN Thượng Tiến, tỉnh Hòa Bình sau khi đi điều tra và thu mẫu thực địa đã thu được mẫu nấm được liệu *Pleurotus tuber-regium* (E03TT24) tại khu vực nghiên cứu (hình 3.1).

3.1.2. Phân lập chủng nấm được liệu *Pleurotus tuber-regium*

Mẫu thu được quả thể còn tươi đang phát triển trên cây đổ nằm ngay gốc cây. Mẫu E03TT24 thu được ở độ cao 400m, vĩ độ 20.28.37,58' và kinh độ 105.25.59,07''.

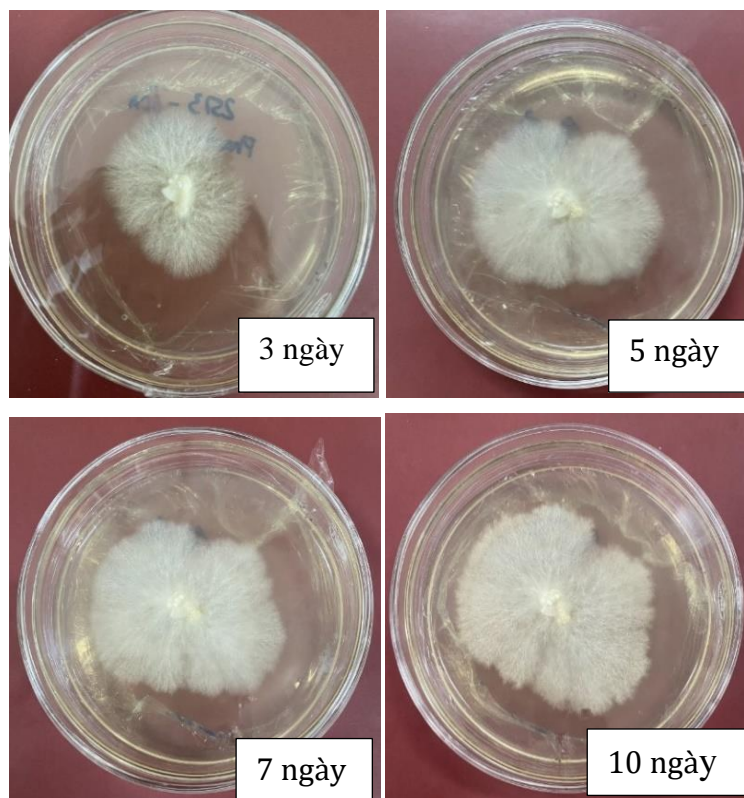
Mẫu được phân lập trên môi trường PDA, quan sát quá trình sinh trưởng của hệ sợi ở nhiệt độ 30°C, kết quả phân lập được thể hiện ở bảng 3.1.

Bảng 3.1. Kết quả phân lập hệ sợi nấm được liệu

Mẫu	Sinh trưởng hệ sợi (mm)					Đặc điểm hệ sợi
	3 ngày	5 ngày	7 ngày	10 ngày		
E03TT24	34±0,0	46 ±0,6	53±0,0	58±0,0	Sợi mọc đều, nhanh	

Bảng 1 cho thấy sợi nấm *Pleurotus tuber-regium* có màu trắng, mọc đều, tỏa tia tròn, nhìn rõ sợi. Quan sát theo ngày cho thấy hệ sợi mọc dày dần theo thời gian nuôi cấy, bề mặt sợi mịn, xốp, tạo các tia theo đường kính hình tròn. Ở ngày nuôi cấy thứ 5, cho thấy rõ hình ảnh dạng sợi của nấm mỏng, hệ sợi lan theo các nhánh tua giống như rễ cây theo hình tròn. Từ sau ngày nuôi cấy thứ 5 đến ngày thứ 7, kết quả cho thấy hệ sợi nấm lan thành các lớp chồng lên nhau, đường kính hệ sợi tiếp tục tăng dần. Đến ngày nuôi cấy thứ 10, xuất hiện các vòng tròn đồng tâm từ nhỏ đến lớn, đây là các lớp sợi nấm mọc chồng lên nhau và lớn dần lên, trung tâm hệ sợi nấm dần ngả sang màu vàng. Tốc độ tăng trưởng của hệ sợi nấm *Pleurotus tuber-regium* được thể hiện rõ trong hình 3.2.

Khi hệ sợi lan hết đĩa petri sẽ xuất hiện quá trình sinh trưởng của quả thể ngay bên trong đĩa petri. Điều này chứng tỏ mẫu nấm dược liệu phát triển tốt ở điều kiện nuôi cấy trên môi trường đĩa petri (Phụ lục).

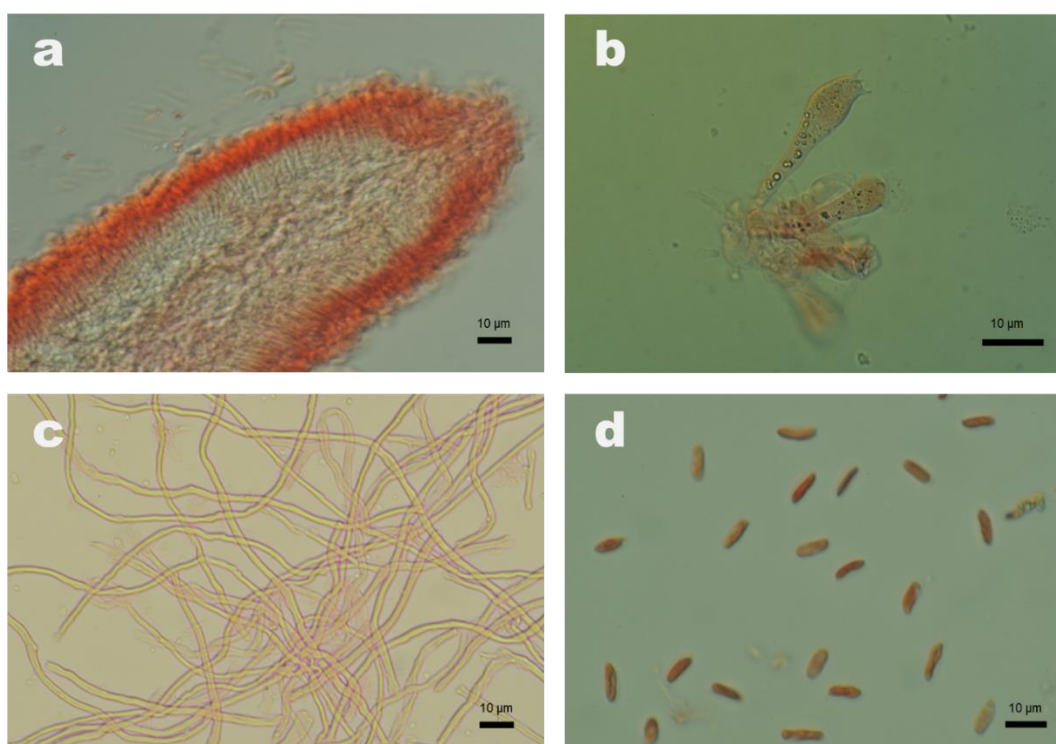


Hình 3.2: Kết quả sinh trưởng hệ sợi nấm

3.2. Đặc điểm sinh học nấm dược liệu *Pleurotus tuber-regium*

Quả thể nấm *Pleurotus tuber-regium* có dạng phễu lệch với tâm phiến nấm. Mũ nấm (pileus) có đường kính 20-50 mm, viền mũ nấm không đồng đều, có lông ngắn phủ bên trên mũ nấm và thưa dần khi quả thể nấm trưởng thành, có màu kem sáng, đôi khi có màu nâu sáng. Thịt nấm ở mũ nấm có màu trắng sữa, có kích thước khoảng 5 mm; Phiến nấm khi còn non có kem sáng, và màu nâu kem ở quả thể trưởng thành, các lá nấm xếp sát nhau và có kích thước 0,5-1mm. Cuống nấm có kích thước dao động 20-50 mm x 5-15 mm, cuống nấm gần gốc có lớp lông ngắn, mịn, khi còn non có màu kem sáng ở sát phiến nấm và đậm dần đến màu vàng nâu từ giữa cuống nấm đến sát chân nấm, khi trưởng thành màu sẽ dần sáng hơn. Quả thể nấm có mùi thơm của nấm đặc trưng, khá giống mùi nấm sò và dai chắc hơn nấm sò, có vị ngọt dịu.

Quan sát dưới kính hiển vi bằng 2 loại thuốc thử Melzer và Công đỏ cho thấy: hệ sợi có kích thước nhỏ, thành mỏng, sợi dài, phân nhánh đan xen (hình 3.3a). Hệ sợi bắt màu thuốc nhuộm hơi vàng, bề mặt sợi nhẵn được cấu tạo bởi các tế bào nấm có vách tế bào mỏng (hình 3.3c). Bào tử có kích thước nhỏ. Bào tử hình bầu dục hoặc elip dài, tròn 2 đầu. Bào tử không bắt màu thuốc thử Melzer, bắt màu hơi vàng nâu. Bào tử có một vách tế bào kép, gồm vách tế bào nguyên sinh và vách tế bào thứ cấp (hình 3.3d). Đảm có đặc điểm hình chùy dài có đầy đủ 4 công đỉnh bào tử (hình 3.3b).



Hình 3.3. Các đặc điểm vi thể của mẫu nấm *Pleurotus tuber-regium*
a-lát cắt ngang trama ; b-tế bào đảm ; c-hệ sợi trama ; d-bào tử đảm

Từ các đặc điểm nghiên cứu về hình thái hiển vi và các hình thái quả thể nấm (hình 3.3) cho thấy các đặc điểm của mẫu nấm E03TT24 cho thấy tương đồng với mô tả của B.A. Oso (2018) như bào tử hình elip, hệ sợi trong, cấu trúc đan xen [18].

3.3. Kết quả giải trình tự sinh học phân tử nấm dược liệu *Pleurotus tuber-regium*

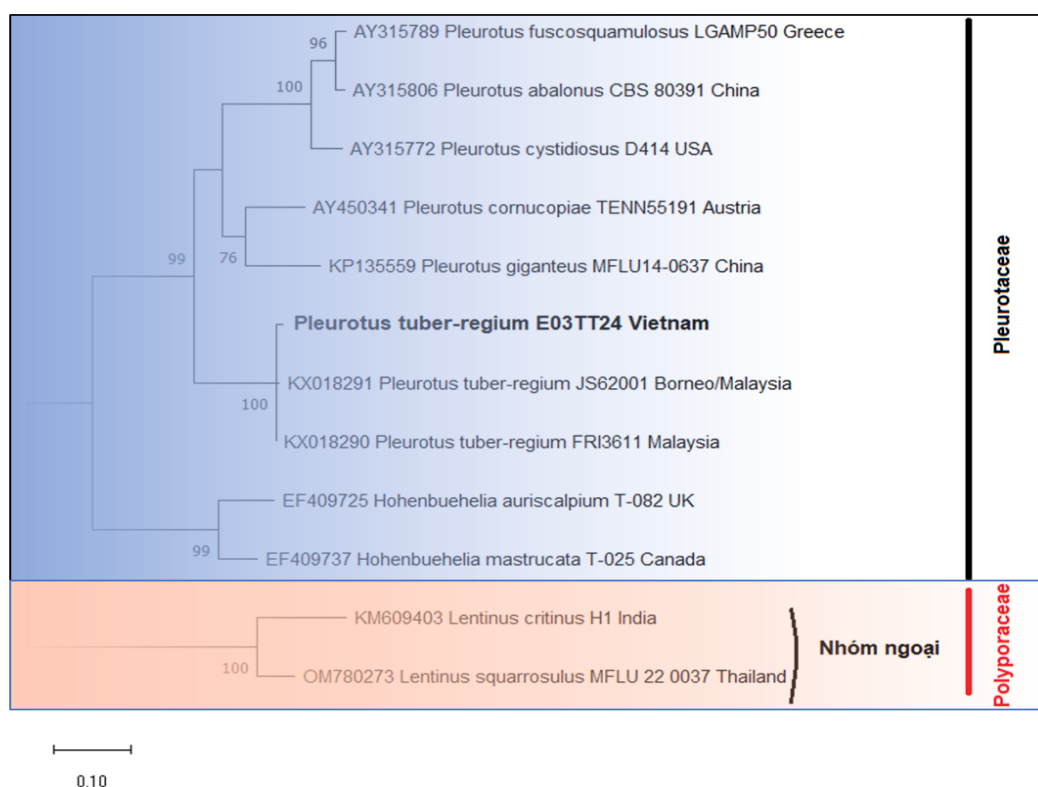
Để đánh giá một cách chính xác loài nấm dược liệu, ngoài việc phân tích đặc điểm hình thái bên ngoài và hiển vi của nấm. Nhóm nghiên cứu muốn khẳng định loài nấm dược liệu bản địa có đúng là loài nấm *Pleurotus tuber-regium* mong muốn hay không chúng tôi đã thực hiện tách chiết mẫu nấm và gửi mẫu giải trình tự.

Trình tự nucleotide vùng ITS của chủng nấm dược liệu E03TT24 có độ dài 534bp, kết quả so sánh với các trình tự tham chiếu đã được công bố trên Genbank cho thấy, E03TT24 có độ tương đồng cao (99,63% và 100%) với các loài *Pleurotus tuber-regium* như KX018291, KX018290 (Bảng 1).

Bảng 3.2. Kết quả so sánh trình tự nucleotide vùng ITS của chủng nấm E03TT24 trên Genbank

Loài	Mã trình tự	Mã mẫu nấm	Chiều dài (bp)	Độ tương đồng (%)	Độ bao phủ %	Nguồn gốc
<i>Pleurotus fuscusquamulosus</i>	AY315789	LGAMP50	663	85,77	95	Greece
<i>Pleurotus abalonus</i>	AY315806	CBS 80391	654	85,33	95	China
<i>Pleurotus cystidiosus</i>	AY315772	D414	643	89,08	88	USA
<i>Pleurotus cormucopiae</i>	AY450341	TENN55191	1568	87,66	81	Austria
<i>Pleurotus gigateus</i>	KP135559	MFLU14-0637	668	90,66	61	China
<i>Pleurotus tuber-regium</i>	KX018291	JS62001	675	99,63	100	Bomeo/ Malaysia
<i>Pleurotus tuber-regium</i>	KX018290	FRI3611	675	100	100	Malaysia
<i>Hohenbuehelia auriscalpium</i>	EF409725	T-082	1259	87,11	58	UK
<i>Hohenbuehelia mastrucata</i>	EF409737	T-025	1257	80,37	96	Canada
<i>Lentinus critinus</i>	KM609403	H1	562	84,80	32	India
<i>Lentinus squarrosulus</i>	OM780273	MFLU 22 0037	676	97,19	33	Thailand

Cây phát sinh loài được xây dựng bằng phần mềm MEGA X dựa trên dữ liệu nucleotide của mẫu E03TT24 và 11 trình tự truy xuất từ Genbank. Trong đó *Lentinus critinus* H1 và *Lentinus squarrosulus* MFLU 22 0037 được sử dụng làm nhóm ngoại. Phân tích cây phát sinh loài (Hình 3.4) cho thấy các trình tự ITS này có thể phân chia thành 4 nhóm: Nhóm A, bao gồm trình tự mẫu LGAMP50, CBS 80391, và D414 được truy xuất trên Genbank, chỉ số bootstrap là 100%. Nhóm này có thể chia thành 02 nhóm phụ: nhóm phụ thứ nhất bao gồm *Pleurotus fuscusquamulosus* và *Pleurotus abalonus* với hệ số bootstrap 96%; nhóm phụ thứ hai là *Pleurotus cystidiosus*. Nhóm B, bao gồm các trình tự *Pleurotus cornucopiae* và *Pleurotus giganteus*, chỉ số bootstrap là 76%. Nhóm C, bao gồm các trình tự E03TT24 (mẫu nghiên cứu) và *Pleurotus tuber-regium* có nguồn gốc từ Malaysia với chỉ số bootstrap 100%. Nhóm D, bao gồm các trình tự *Hohenbuehelia auriscalpium*, *Hohenbuehelia mastrucata* có nguồn gốc từ UK và Canada với chỉ số bootstrap 99%.



Hình 3.4. Cây phả hệ phân tử Maximum Likelihood dựa trên vùng trình tự ITS (bootstrap trên 50%)

3.4. Đề xuất các thành phần môi trường tối ưu để nuôi cấy hệ sợi nấm phục vụ trồng nấm dược liệu *Pleurotus tuber-regium*

3.4.1. Kết quả nghiên cứu các thành phần môi trường phù hợp với nuôi cấy hệ sợi nấm dược liệu *Pleurotus tuber-regium*

a. Ảnh hưởng của môi trường nuôi cấy

Hệ sợi nấm dược liệu *Pleurotus tuber-regium* được nhóm nghiên cứu nuôi cấy hệ sợi sinh trưởng trên 03 loại môi trường: MEA, PDA và Czapek. Kết quả ở bảng 2 cho thấy khả năng phát triển hệ sợi của *P. tuber-regium* trên môi trường MEA và PDA đều phát triển tốt hơn môi trường Czapek. Tuy nhiên hệ sợi phát triển tốt nhất là môi trường PDA, tốc độ sinh trưởng hệ sợi đạt cực đại 84 mm sau 10 ngày nuôi cấy, mật độ hệ sợi dày. Trên môi trường Czapek hệ sợi phát triển chậm, hệ sợi thưa.

Bảng 3.3: Sinh trưởng hệ sợi nấm *P. tuber-regium* trên các loại môi trường nuôi cấy

Môi trường nuôi cấy	Tốc độ sinh trưởng hệ sợi sau 10 ngày (mm)	Đặc điểm hệ sợi
MEA	41±0,1	Sợi mọc đều, tạo tia sợi trắng
PDA	84±0,1	Sợi mọc đều, dày và tạo tia trắng
Czapek	2,0±0,0	Sợi thưa, phát triển chậm

Dựa trên kết quả thể hiện ở bảng 3.3, môi trường thích hợp nhóm chúng tôi lựa chọn để nghiên cứu các ảnh hưởng tiếp theo là môi trường PDA, đây cũng là môi trường được ghi nhận tốt cho sinh trưởng của nhiều loài nấm sò (*Pleurotus* spp.). Theo T.A. Krupodorova và cộng sự (2021), môi trường PDA cũng là môi trường có nguồn dinh dưỡng hữu cơ dễ hấp thụ cho hệ sợi nấm và được sử dụng nhân nuôi các loài nấm ăn và nấm dược liệu nói chung [3,12].

Theo nghiên cứu của Oranusi U.S. và cộng sự (2014), đã nghiên cứu thành phần môi trường thạch PCA, NA, và PDA cho thấy hầu hết phát triển trên môi trường PDA và PCA. Ở nghiên cứu này nhóm nghiên cứu đã chọn nuôi cấy trên môi trường PDA và MEA cho kết quả phát triển tốt trên môi trường PDA cũng phù hợp với nghiên cứu của Oranusi và cộng sự (2014) [19].

b. Ảnh hưởng của pH

Theo những báo cáo và nghiên cứu của tác giả Nguyễn Huy Thuần và cộng sự (2020) cũng như các công trình nghiên cứu khác. Chúng tôi đã lựa chọn nghiên cứu ảnh hưởng của pH đối với sự sinh trưởng và phát triển của hệ sợi nấm trên dải pH từ 6-7, kết quả được thể hiện ở bảng 3.

Bảng 3.4. Kết quả ảnh hưởng của pH đối với quá trình lan hệ sợi

pH	Đường kính hệ sợi (mm)				Đặc điểm
	3 ngày	5 ngày	7 ngày	10 ngày	
6	7±0,5	33±0,5	62±0,5	80±0,5	Sợi mọc yếu
6.5	15±0,5	43±0,5	79±0,5	90±0,5	Sợi mọc đều
7	10±0,5	39±0,5	70±0,5	88±0,5	Sợi mọc trung bình

Bảng 3.4 cho thấy hệ sợi nấm của loài *P. tuber-regium* phát triển tốt trong dải pH từ 6-7. Tuy nhiên điều kiện tối ưu nhất là môi trường có pH 6.5 cho kết quả hệ sợi mọc đều và phát triển nhanh hơn so với pH 6 và 7. Nghiên cứu này cũng tương đương với kết quả nghiên cứu của Hasan Sardar và cộng sự (2015) và kết quả nghiên cứu của Nguyễn Huy Thuần và cộng sự (2020) [4,9].



Hình 3.5. Hệ sợi nấm nuôi trên môi trường có dải pH khác nhau

c. Ảnh hưởng của nhiệt độ

Nhiệt độ và pH môi trường nuôi ảnh hưởng rất lớn tới sự phát triển của sợi nấm, đặc biệt trong giai đoạn ra quả thể. Nhiệt độ trong ngày dao động từ 25 đến 35°C là một trở ngại lớn với trồng nấm ở vùng nhiệt đới. Chính vì vậy, chọn được điều kiện hệ sợi nấm *Pleurotus tuber-regium* có thể chịu được nhiệt độ cao là rất cần thiết để đảm bảo năng suất, chất lượng nấm.

Trong nghiên cứu này, nhóm nghiên cứu đã nuôi trồng giống nấm *Pleurotus tuber-regium* trong điều kiện nhiệt độ 20-30°C đối với hệ sợi cấp 1 và 30-35°C đối với hệ sợi môi trường cấp 3 kết quả thu được thể hiện bảng 3.5.

Bảng 3.5. Kết quả theo dõi quá trình lan hệ sợi ở các điều kiện nhiệt độ khác nhau

Nhiệt độ (°C)	Đường kính hệ sợi (mm)				Đặc điểm
	3 ngày	5 ngày	7 ngày	10 ngày	
20°C	10±0,0	52±0,0	65±0,0	80±0,5	Sợi mọc yếu
25°C	20±0,5	63±0,5	76±0,5	90±0,5	Sợi mọc đều
30°C	18±0,5	60±0,5	75±0,5	90±0,5	Sợi mọc đều
35°C	15±0,5	58±0,5	70±0,5	85±0,5	Sợi mọc trung bình

Kết quả ở bảng 3.5, nhóm nghiên cứu lựa chọn được nhiệt độ thích hợp cho sự phát triển của hệ sợi nấm là 25 và 35°C. Đối với nhiệt độ 20°C hệ sợi sinh trưởng yếu. Kết quả nghiên cứu cũng phù hợp với nghiên cứu đối với loài Nấm sò tú cầu của tác giả Nguyễn Thị Huyền Trang và cộng sự (2023) [5]. Theo M. B. Bellettini và cộng sự (2019), hầu hết các nấm đảm đều có hệ sợi sinh trưởng ở nhiệt độ từ 20 đến 35°C [7], do vậy kết quả của nghiên cứu này cho thấy *Pleurotus tuber-regium* có khả năng sinh trưởng và phát triển hệ sợi dao động từ 20 đến 35°C, trong đó điều kiện tối ưu nhất là 25-30°C.

3.4.2. Đề xuất biện pháp bảo quản giống nấm dược liệu *Pleurotus tuber-regium*

Để đảm bảo cho việc bảo quản nấm dược liệu phục vụ cho các mục đích nghiên cứu y dược nói chung và nghiên cứu về nuôi trồng làm thực phẩm nói riêng, mẫu nấm cần được giữ giống ở các điều kiện như sau:

- a. Bảo quản hệ sợi dựa trên nguyên lý giảm nhiệt độ phát triển của hệ sợi nấm

Mẫu nấm được bảo quản giữ lạnh sâu trong nitơ lỏng hoặc khí từ -156°C đến -196°C

Mẫu nấm được bảo quản trên môi trường agar trong tủ lạnh 4-10°C

Mẫu nấm được giữ lạnh ở -20°C hoặc trong khoảng từ -60 đến 80°C

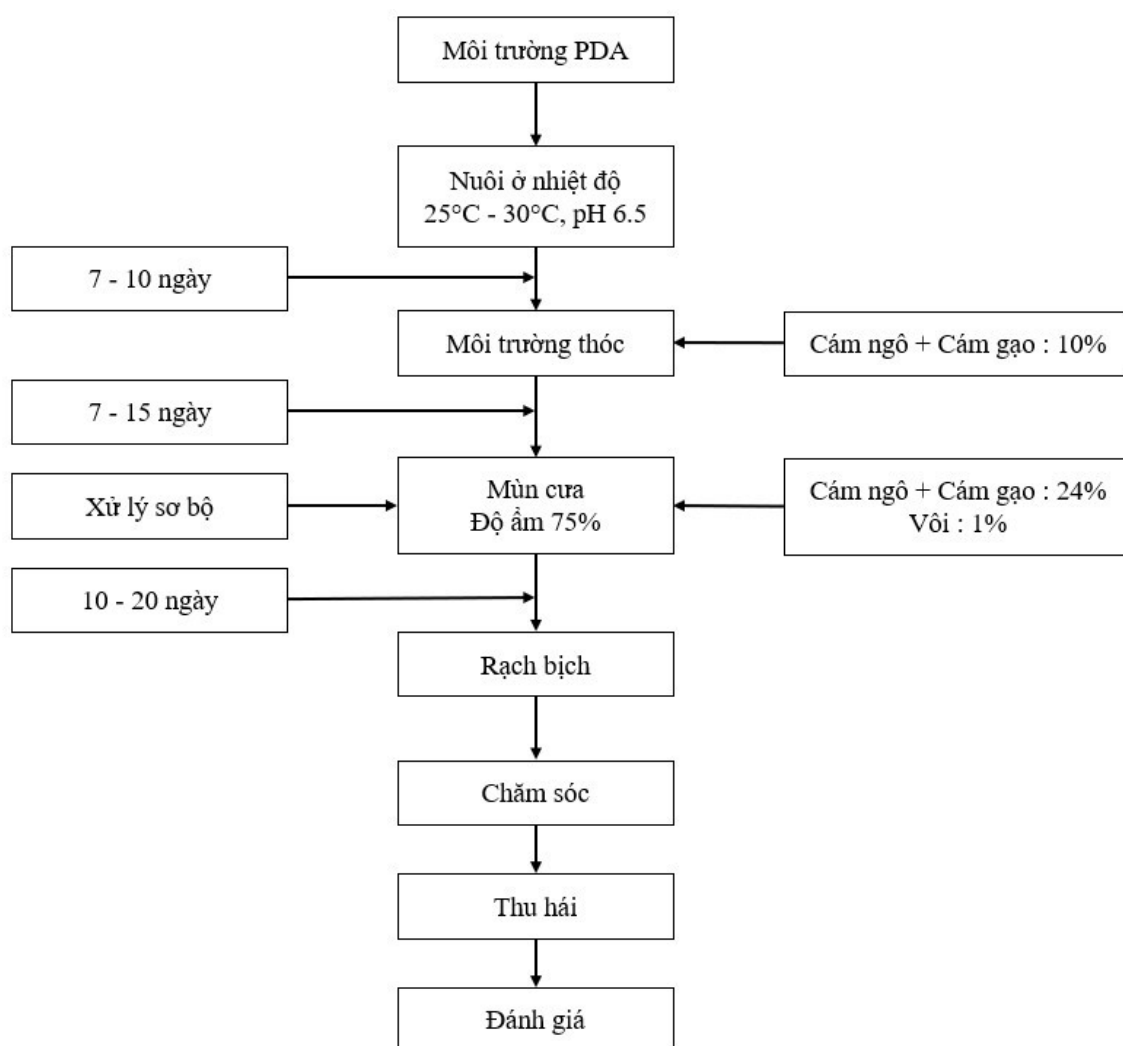
- b. Bảo quản hệ sợi dựa trên nguyên lý làm mất nước
 - Bảo quản trên silicagel tiệt trùng
 - Bảo quản bằng phương pháp đông khô
- c. Bảo quản dựa trên cung cấp dinh dưỡng bằng các loại hạt
 - Bảo quản bằng việc nuôi cấy giống cấp 2 liên tục, cứ 1-2 tháng cấy lại một lần
- d. Bảo tồn tự nhiên

Giống nấm sẽ được nuôi trồng ở điều kiện nhiệt độ, pH và môi trường giống cấp 3 thích hợp trong tự nhiên hoặc nhà vườn. Vừa đảm bảo năng suất trồng nấm phục vụ cho thực phẩm và phục vụ cho dược liệu làm thuốc.

3.5. Kết quả thử nghiệm nuôi trồng nấm dược liệu *Pleurotus tuber-regium* quy mô phòng thí nghiệm

Xây dựng quy trình trồng nấm dược liệu *Pleurotus tuber-regium*

Dựa vào các nghiên cứu và kết quả ở nghiên cứu trên nhóm nghiên cứu đã đưa ra quy trình phù hợp nhất có thể được sử dụng để thực hiện nuôi trồng nấm *Pleurotus tuber-regium* thể hiện ở sơ đồ 3.6

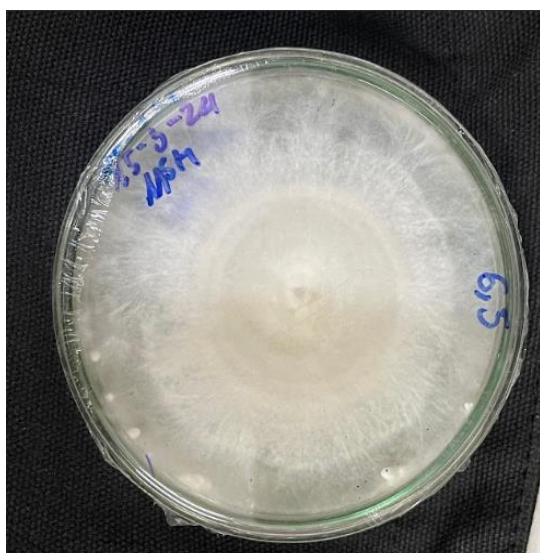


Hình 3.6. Quy trình nuôi trồng nấm dược liệu *Pleurotus tuber-regium*.

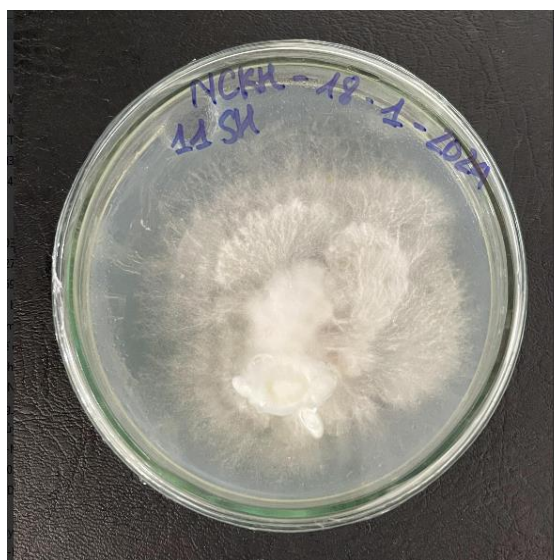
* Mô tả quy trình

Bước 1: Môi trường cấp 1

Chuẩn bị môi trường PDA và cấy giống nấm *Pleurotus tuber-regium* và đĩa petri hoặc ống nghiệm. Nuôi trồng trong điều kiện nhiệt độ từ 25-30°C và độ pH là 6.5 từ 7-10 ngày, hệ sợi sẽ lan toàn bộ ra mặt thạch.



Hình 3.7. Hệ sợi ở pH6.5 sau 10 ngày



Hình 3.8. Hệ sợi ở 25°C sau 10 ngày

Bước 2: Môi trường cấp 2

Khi hệ sợi đã lan rộng, tiến hành cấy truyền hệ sợi sang môi trường cấp 2 (môi trường thóc bổ sung thêm 10% cám ngô và cám gạo) và nuôi trồng ở nhiệt độ 25-30°C trong 7-15 ngày.



Hình 3.9. Hệ sợi trên môi trường thóc sau 5 ngày

Bước 3: Môi trường cấp 3

3a: Xử lý sơ bộ mùn cưa bằng cách ủ đông với vôi 20% với độ ẩm của mùn cưa là 75% từ 3-5 ngày. Sau đó được phối trộn nguyên liệu với tỉ lệ: mùn cưa (75%) + Cám ngô, cám gạo (24%) + vôi (1%). Cơ chất sau đó được đóng bịch, mỗi bịch có khối lượng là 1kg, nút bông miệng túi và hấp thanh trùng ở 121°C trong 60 phút.

3b: Sau khi được hấp thanh trùng, cơ chất cần để nguội rồi mới cấy giống cấp 2 sang môi trường cấp 3. Hệ sợi được nuôi trồng ở 25-30°C trong 10-20 ngày.



Hình 3.8. Hệ sợi môi trường cấp 3 sau 5 ngày



Hình 3.9. Hệ sợi môi trường cấp 3 sau 10 ngày

Bước 4: Chăm sóc

Khi hệ sợi đã lan ra toàn bộ bình, tiến hành rạch bình bằng dao lam đã thanh trùng. Đường rạch dài khoảng 5cm và tưới đốn nấm 2 lần/ ngày tùy thuộc vào điều kiện thời tiết.



Hình 3.10. Quả thể nấm phát triển (A. Quả thể nấm sau 5 ngày rạch bình; B. Quả thể nấm sau 10 ngày rạch bình)

Bước 6: Thu hoạch

Quả thể phát triển ra bên ngoài thành cụm, sau 15-20 ngày có thể thu hoạch. Khi thu hoạch cần hái cả cụm, tránh để lại chân nấm có thể làm nhiễm vi sinh vật gây hư hỏng khu vực thụ hái (Hình 4.8, 4.9)



Hình 3.11. Quả thể sau 7 ngày rạch bịch



Hình 3.12. Quả thể sau 10 ngày rạch bịch

KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

Kết luận

Đề tài thực hiện đã thu được các kết quả nghiên cứu như sau:

- Phân lập được thuần chủng nấm dược liệu *Pleurotus tuber-regium* tại Khu bảo tồn thiên nhiên Thượng Tiến, tỉnh Hòa Bình.

- Đánh giá đặc điểm điều kiện tự nhiên tại Khu Bảo tồn Thiên nhiên Thượng Tiến, tỉnh Hòa Bình, đặc điểm sinh học, đặc điểm hình thái hiển vi, kích thước bào tử và hệ sợi nấm.

- Định danh khẳng định loài nấm *Pleurotus tuber-regium* bằng việc giải trình tự nucleotide vùng ITS của chủng nấm dược liệu E03TT24 có độ dài 534bp, kết quả so sánh với các trình tự tham chiếu đã được công bố trên Genbank cho thấy, E03TT24 có độ tương đồng cao (99,63% và 100%) với các loài *Pleurotus tuber-regium* KX018291, KX018290 có nguồn gốc từ Malaysia.

- Đề xuất được thành phần môi trường tối ưu phù hợp cho việc sự phát triển và nuôi cấy hệ sợi nấm phục vụ trồng nấm dược liệu *Pleurotus tuber-regium*: môi trường PDA, nhiệt độ 25 đến 35°C, pH 6,5 thích hợp cho sự phát triển hệ sợi nấm phục vụ nuôi trồng nấm.

- Bước đầu thử nghiệm thành công nuôi trồng nấm dược liệu *Pleurotus tuber-regium* quy mô phòng thí nghiệm.

Kiến nghị

Trong quá trình thực hiện đề tài, nhóm nghiên cứu thấy rằng nếu còn thời gian và điều kiện về kinh phí nghiên cứu có thể phát triển thêm việc phân tích các hoạt tính oxy hóa, kháng khuẩn, kháng nấm, kháng virus, thành phần dinh dưỡng và một số dược tính của nấm dược liệu *Pleurotus tuber-regium*. Phát triển dự án sản xuất nuôi trồng nấm ở quy mô vừa và nhỏ để phục vụ cung cấp nguồn thực phẩm cho người tiêu dùng.

Đồng thời truyền thông phổ biến nhân rộng nuôi trồng nấm dược liệu cho người dân tại khu vực nghiên cứu. Phát triển kinh tế cho người dân tại địa phương nơi mà nhóm nghiên cứu thu mẫu nấm dược liệu này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Tiếng Việt

- [1] Khu BTTN Thượng Tiến (2019), *Báo cáo khái quát Khu bảo tồn thiên nhiên Thượng Tiến năm 2019*, tỉnh Hòa Bình
- [2] Ngô Xuân Mạnh, Lương Thị Hà, Ngô Xuân Chung (2015). Hàm lượng polyphenol và khả năng chống oxi hóa của chúng trong một số loại nấm ăn, *Tạp chí khoa học và phát triển*. Tập số 13, số 2:272-278 (J. Sci. & Devel. 2015, Vol. 13, No. 2: 272-278): [1542015-TC so 2.2015 8.pdf \(vnua.edu.vn\)](#)
- [3] Nguyễn Lâm Dũng, (2001). Công nghệ nuôi trồng nấm, tập 1. *Nhà xuất bản Nông Nghiệp*, Hà Nội. 132tr.
- [4] Nguyễn Huy Thuần, Tạ Thị Huệ, Bùi Hương Lan, Vũ Thị Khánh Linh, Phạm Thị Thêu, Đỗ Tuấn Anh, Nguyễn Thị Bích Thùy, Nguyễn Văn Giang, (2020), Ảnh hưởng của nhiệt độ, pH và môi trường nuôi cấy đến sinh trưởng phát triển của chủng nấm sò (*Pleurotus* sp.) FH và PN20. *Viện Nghiên cứu và Phát triển Công nghệ cao*, Trường Đại học Duy Tân 2, Khoa Công nghệ sinh học, Học viện Nông nghiệp Việt Nam.
- [5] Nguyễn Thị Huyền Trang, Trương Hồng Lâm, Nguyễn Thị Mơ, Ngô Xuân Nghiễn, Nguyễn Thị Luyện, Nguyễn Thị Bích Thùy, (2023), “Sinh trưởng hệ sợi và phát triển quả thể nấm sò tú cầu (*Pleurotus* spp.) trên các nguồn nguyên liệu khác nhau”. *Tạp chí Khoa học Nông nghiệp Việt Nam*, **21(6)**: 909-919. [tap-chi-so-7.12.pdf \(vnua.edu.vn\)](#)

Tiếng Anh

- [6] Afolabi Akintunde Akindahunsi, Folake Lucy Oyetayo (2006), Nutrient and antinutrient distribution of edible mushroom, *Pleurotus tuber-regium* (Fries) Singer. *Food science and technology* Vol 39, Issue 5, June 2006, Pages 548-553.
- [7] M. B. Bellettini, F. A. Fiorda, H. A. Maieves, G. L. Teixeira, S. Ávila, P. S. Hornung, A. M. Júnior, R. H. Ribani, (2019), “Factors affecting mushroom *Pleurotus* spp,” *Saudi J Biol Sci*. 2019 May; **26(4)**: 633-646. Doi: 10.1016/j.sjbs.2016.12.005. [Factors affecting mushroom *Pleurotus* spp. \(nih.gov\)](#).

- [8] Eliajh Adegoke Adebayo, Daniel Martinez-Carrera, Prof Morales, Mercedes Sobal, Helios Escudero, Maria E. Meneses, Azalia Avila-Nava, Ivan Castillo, & Myrna Bonilla, (2018), Comparative study of antioxidant and antibacterial properties of the edible mushrooms *Pleurotus levis*, *P. ostreatus*, *P. pulmonarius* and *P. tuber-regium*, *International Journal of Food Science and Technology*. DOI:10.1111/ijfs.13712. (2) (PDF) Comparative study of antioxidant and antibacterial properties of the edible mushrooms *Pleurotus levis* , *P. ostreatus* , *P. pulmonarius* and *P. tuber-regium* (researchgate.net)
- [9] Hasan Sardar, Muhammad A. Ali, Chaudhary M. Ayyub, Rashid Ahmad, (2015,) “Effects of different culture media, temperature, and pH levels on the growth of wild and exotic *Pleurotus* species”. *Pak. J. Phytopathol.*, **Vol. 27 (02)**. 139-145.
- [10] Jenavio Maria Amirtham P. and Siva R, (2022), “Effect of Different Culture Media on the Mycelial Growth of *Pleurotus ostreatus*” *International Journal of Creative Research Thoughts (IJCRT)*, Volume **10**, Issue **3** March 2022 IJCRT2203326.pdf
- [11] Kumar S., Stecher G., Li M., Knyaz C. & Tamura K. (2018). MEGA X: Molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. *Molecular Biology and Evolution*. 35(6): 1547-1549.
- [12] Krupodorova T.A., Barshteyn V.Y. & Sekan A.S (2021), “Review of the basic cultivation conditions influence on the growth of basidiomycetes”. *Current Research in Environmental & Applied Mycology (Journal of Fungal Biology)*. **11(1)**: 494-531
- [14] Mariappan Senthilkumar, V. S. (2015). Phytochemical screening of bioactive compounds from *Pleurotus ostreatus* (Jacq.Fr) Kumm., - an wild edible mushroom. *World Journal of Pharmaceutical Research*.
- [15] Nachshol Cohen, Jacob Cohen, Mikheil D. Asatiani, Vinay K. Varshney, Hui-Tzu Yu, Yi-Chi Yang, Yu-Hsuan Li, Jeng-Leun Mau, & Solomon P. Wasser (2014), Chemical composition and nutritional and medicinal value of fruit bodies and submerged cultured Mycelia of culinary – Medicinal higher basidiomycetes mushrooms, *International Journal of Medicinal Mushrooms*, 16(3): 273–291. (2) (PDF) Chemical Composition and Nutritional and Medicinal Value of Fruit Bodies and

Submerged Cultured Mycelia of Culinary-Medicinal Higher Basidiomycetes Mushrooms (researchgate.net)

- [16] Omoanghe S. I., Paul Stamets & Rytas Vilgalys, (2005), Biology, Food, Medicinal, and Biotechnological Applications of the Tropical Mushroom *Pleurotus tuber-regium* (Rumph.:Fr.) Singer, *International Journal of Medicinal Mushrooms*, Vol. 7.
- [17] Okhuoya J.A. và Okogbo F.O, (1991), Cultivation of *Pleurotus tuber-regium* (Fr) Sing on Various Farm Wastes, *Proc. Okla. Acad. Sci.* **71**:1-3
- [18] Oso B. A., (2018), "*Pleurotus tuber-regium* from Nigeria". *Mycologia.* **69** (2): 271–279, 1977. doi.org/10.1080/00275514.1977.12020058; *Pleurotus Tuber-Regium from Nigeria: Mycologia: Vol 69, No 2 (tandfonline.com)*
- [19] Oranusi U.S., Ndukwe C.U.and Braide W. (2014), “Production of *Pleurotus tuber-regium* (Fr.) Sing Agar, chemical composition and microflora associated with sclerotium”, *Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci*, ISSN: 2319-7706 **Vol. 3(8)** 115-126. Microsoft Word - IJCMAS..15.doc (covenantuniversity.edu.ng) ngày truy cập 23/09/2024.
- [20] Sandrina A. Heleno, P. D. (2015). Optimization of ultrasound-assisted extraction to obtain mycosterols from *Agaricus bisporus*L.with response surface methodology and comparison with conventional Soxhlet extraction.
- [21] Sarah J. Klausen, A. B.-Y. (2023). Evaluation of the Extraction of Bioactive Compounds and the Saccharification of Cellulose as a Route for the Valorization of Spent Mushroom Substrate.
- [22] Shaoling lin, Peixin Wang, Ka-Lung Lam, Jiamiao Hu, Peter C K Cheung (2020). Research on a Specialty Mushroom (*Pleurotus tuber-regium*) as a Functional Food: Chemical Composition and Biological Activities, *Agric Food Chem*, Sep 2; 68(35): 9277-9286. doi: 10.1021/acs.jafc.0c03502. Epub 2020 Aug 24.
- [23] Sharma Anjana, Jandaik Savita, (2017), “Oyster mushroom: Answer to human ailments”, *Asian Journal of Pharmaceutical and clinical research*, Vol **10** Issue **4**.
- [24] Sinha, S. D. (2015). Antioxidant and Anti-Inflammatory Activity of *Pleurotus tuber-regium* (Rumph. ex Fr.) Singer. *Biological Research* 9.

- [25] Sukumar Dandapat, Manoj Kumar, Rakesh Ranjan, Manoranjan Prasad Sinha, (2020) “Impact of Mushroom *Pleurotus tuber-regium* (Rumph. ex) Fr. Extract on Lipid Profile and Testosterone of Rat”, *Turkish Journal of Agriculture - Food Science and Technology*, **8(11)**: 2268-2276, DOI: <https://doi.org/10.24925/turjaf.v8i11.2268-2276.2761>

PHỤ LỤC

Phụ lục 1a: Kết quả giải trình tự DNA của nấm dược liệu *Pleurotus tuber-regium*

GTTGCTGGCCTCTAGGGGCATGTGCACGCTTCATCAGTCCATTCAACCAC
CTGTGCACTTTTTGTAGATCATTGAAGTCATCTCTCAGGTCATTAGTGAC
TTGGATGTCGGGAGGTTCTTATACCTTCTGGCTGACTCTCAGTGATCTAA
TTTACACACCCTAATGTATGTTAATGAATGTCGTTTATCTTTGGGCCATG
TGCCTATAAACCTAATAACAACCTTTCAACAACGGATCTCTTGGCTCTCGCA
TCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAAT
TCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACCTTGCGCCCTTGGTATTCCG
AGGGGCATGCCTGTTTGAGTGTCATTAAATTCTCAACCTATAAAGGCTTT
TGTTGAAGTCATTATAGGCTTGGATTGTTGGGGGCTGCTGGCTTGTCAGA
GTCAGCTCTCCTTAAATGCATTAGCAGGACTCTATTGCCTCTGCGCATGG
TGTGATAATTATCTACACCAGTTGCATGTAATACTA

Phụ lục 1b: Kết quả so sánh trình tự DNA cho thấy độ tương đồng với ngân hàng Genbank

NIH National Library of Medicine
National Center for Biotechnology Information

BLAST® » blastn suite » results for RID-FS22GAA4016

Home Recent Results Saved Strategies Help

LAST database. Learn more about core_nt.

[Edit Search](#) Save Search Search Summary

How to read this report? BLAST Help Videos Back to Traditional Results Page

Job Title: Nucleotide Sequence
 RID: FS22GAA4016 Search expires on 10-02 22:33 pm [Download All](#)
 Program: BLASTN [Citation](#)
 Database: core_nt [See details](#)
 Query ID: lcl|Query_3905979
 Description: None
 Molecule type: dna
 Query Length: 534
 Other reports: [Distance tree of results](#) [MSA viewer](#)

Filter Results

Organism only top 20 will appear exclude
 Type common name, binomial, taxid or group name
[Add organism](#)

Percent Identity to E value to Query Coverage to

[Filter](#) [Reset](#)

Descriptions Graphic Summary Alignments Taxonomy

Sequences producing significant alignments Download Select columns Show 100

select all 100 sequences selected

Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
<input checked="" type="checkbox"/> Pleurotus sp. UI-2023a voucher LAH38005 Pleurotus bhimberensis SM28 small subunit ribosomal RNA gene, p...	Pleurotus sp. UI-...	987	987	100%	0.0	100.00%	731	OR680828.1
<input checked="" type="checkbox"/> Lentinus tuber-regium voucher 130433 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene...	Lentinus tuber-reg...	987	987	100%	0.0	100.00%	661	KM405793.1
<input checked="" type="checkbox"/> Pleurotus sp. UI-2023a voucher LAH38006 Pleurotus bhimberensis SM32 small subunit ribosomal RNA gene, p...	Pleurotus sp. UI-...	987	987	100%	0.0	100.00%	738	OR680829.1
<input checked="" type="checkbox"/> Pleurotus tuber-regium voucher FRI123 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene...	Pleurotus tuber-reg...	987	987	100%	0.0	100.00%	628	MK026814.1
<input checked="" type="checkbox"/> Pleurotus tuber-regium voucher FRI3611 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribe...	Pleurotus tuber-reg...	987	987	100%	0.0	100.00%	644	MK026826.1
<input checked="" type="checkbox"/> Lentinus tuber-regium isolate VKMK01 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene...	Pleurotus tuber-reg...	987	987	100%	0.0	100.00%	659	GQ292711.1
<input checked="" type="checkbox"/> Pleurotus tuber-regium isolate MCCT 190 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribe...	Pleurotus tuber-reg...	987	987	100%	0.0	100.00%	646	MG198774.1
<input checked="" type="checkbox"/> Lentinus tuber-regium strain G025 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S...	Pleurotus tuber-reg...	987	987	100%	0.0	100.00%	656	KJ195659.1
<input checked="" type="checkbox"/> Pleurotus tuber-regium isolate PCR product internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA...	Pleurotus tuber-reg...	987	987	100%	0.0	100.00%	661	MH810331.1
<input checked="" type="checkbox"/> Pleurotus tuber-regium isolate FRI3611 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1...	Pleurotus tuber-reg...	987	987	100%	0.0	100.00%	675	KX018290.1
<input checked="" type="checkbox"/> Pleurotus tuber-regium voucher FRI264 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene...	Pleurotus tuber-reg...	987	987	100%	0.0	100.00%	637	MK026815.1
<input checked="" type="checkbox"/> Pleurotus tuber-regium isolate DSH92/155 13 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA...	Pleurotus tuber-reg...	977	977	100%	0.0	99.63%	655	AF109967.1
<input checked="" type="checkbox"/> Pleurotus tuber-regium isolate P15 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene, com...	Pleurotus tuber-reg...	977	977	100%	0.0	99.63%	648	AF109972.1
<input checked="" type="checkbox"/> Pleurotus tuber-regium isolate JS62001 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1...	Pleurotus tuber-reg...	976	976	100%	0.0	99.63%	675	KX018291.1
<input checked="" type="checkbox"/> Pleurotus tuber-regium strain PYKM100 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed...	Pleurotus tuber-reg...	976	976	100%	0.0	99.63%	684	OQ891321.1
<input checked="" type="checkbox"/> Lentinus tuber-regium genes for 18S rRNA ITS1, 5.8S rRNA ITS2, large subunit ribosomal RNA, partial and com...	Pleurotus tuber-reg...	976	976	100%	0.0	99.63%	650	AB115045.1
<input checked="" type="checkbox"/> Pleurotus tuber-regium voucher DSH92/152 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcri...	Pleurotus tuber-reg...	974	974	100%	0.0	99.63%	643	MK026927.1

Phụ lục 2: Hình ảnh nghiên cứu

