

ĐẠI HỌC THÁI NGUYÊN  
TRƯỜNG ĐẠI HỌC NÔNG LÂM



**HOÀNG VĂN NÂNG**

**NGHIÊN CỨU QUY TRÌNH PHÂN LẬP VÀ SẢN XUẤT  
SINH KHỐI SỢI NẤM LIM XANH (*Ganoderma lucium* (Leys. Ex  
*Fr.*) Karst) CÓ NGUỒN GỐC TẠI THANH HÓA**

**LUẬN VĂN THẠC SĨ CÔNG NGHỆ SINH HỌC**

**Thái nguyên, năm 2018**

**ĐẠI HỌC THÁI NGUYÊN**  
**TRƯỜNG ĐẠI HỌC NÔNG LÂM**



**HOÀNG VĂN NÂNG**

**NGHIÊN CỨU QUY TRÌNH PHÂN LẬP VÀ SẢN XUẤT  
SINH KHỐI SỢI NẤM LIM XANH (*Ganoderma lucium* (Leys. Ex  
*Fr.*) Karst) CÓ NGUỒN GỐC TẠI THANH HÓA**

**Nghành: Công nghệ sinh học**

**Mã số: 8 42 02 01**

**LUẬN VĂN THẠC SĨ CÔNG NGHỆ SINH HỌC**

**Giáo viên hướng dẫn: GS.TS. Ngô Xuân Bình**

**Thái nguyên, năm 2018**

## LỜI CẢM ƠN

Lời đầu tiên, tác giả xin bày tỏ lòng biết ơn chân thành và sâu sắc tới GS.TS. Ngô Xuân Bình và Ths. Nguyễn Thị Tình, Giáo viên hướng dẫn thực hiện luận văn này.

Đồng thời, tác giả cũng xin chân thành cảm ơn Khoa Công nghệ Sinh học, Khoa Sau Đại học, trường Đại học Nông lâm Thái Nguyên đã tạo mọi điều kiện thuận lợi cho tác giả trong quá trình học tập và nghiên cứu. Cảm ơn các thầy cô và đồng nghiệp đã trao đổi cùng tác giả những kiến thức và kinh nghiệm quý báu để giúp cho luận văn được hoàn thiện hơn.

Bên cạnh đó, sự quan tâm của gia đình, bạn bè là nguồn động viên không thể thiếu để giúp tác giả hoàn thành luận văn này.

*Em xin chân thành cảm ơn.*

*Thái Nguyên, ngày tháng năm 2018*

**Học viên**

**Hoàng Văn Năng**

## MỤC LỤC

MỤC LỤC.....	ii
DANH MỤC BẢNG.....	v
DANH MỤC HÌNH.....	vi
DANH MỤC CÁC TỪ VIẾT TẮT.....	vii
<b>MỞ ĐẦU</b> .....	1
1.1. Mục tiêu nghiên cứu:.....	3
1.1.1. Mục tiêu chung.....	3
1.1.2. Mục tiêu cụ thể.....	4
<b>Chương 1: TỔNG QUAN TÀI LIỆU</b> .....	5
1.1. Phân loại.....	5
1.2. Nguồn gốc.....	5
1.3. Tác dụng của nấm Linh chi.....	6
1.4. Đặc điểm hình thái, phân loại nấm Lim xanh.....	14
1.4.1. Nguồn gốc và phân loại nấm Lim xanh.....	14
1.4.2. Đặc điểm thực vật và phân bố naams Lim xanh.....	14
1.5. Tổng quan về phân lập.....	15
1.6. Nuôi cấy sinh khối nấm Linh chi trong môi trường lỏng.....	16
1.6.1. Nuôi cấy hệ sợi nấm Linh chi trong môi trường lỏng.....	16
1.6.2. Ảnh hưởng của điều kiện nuôi cấy lỏng tới sự phát triển của hệ sợi nấm Linh chi.....	18
1.7. Tình hình nghiên cứu nấm Linh chi trong và ngoài nước.....	19
1.7.1. Tình hình nghiên cứu nấm Linh chi ngoài nước.....	19
1.7.2. Tình hình nghiên cứu nấm Linh chi trong nước.....	19
<b>Chương 2: ĐỐI TƯỢNG, NỘI DUNG VÀ PHƯƠNG PHÁP</b> .....	22
2.1. Đối tượng và phạm vi nghiên cứu.....	22
2.1.1. Đối tượng nghiên cứu.....	22
2.2. Nội dung nghiên cứu.....	22

2.3. Phương pháp nghiên cứu.....	23
2.3.1. Phân lập giống nấm Lim xanh Thanh Hóa tại trường Đại học Nông Lâm Thái Nguyên.....	23
2.3.2. Nội dung 2: Nghiên cứu sản xuất sinh khối nấm Lim xanh trong môi trường lỏng.....	28
2.3.3. Nội dung 3: Nghiên cứu sản xuất sinh khối nấm Lim xanh trên giá thể rắn .....	30
<b>Chương 3: KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN .....</b>	<b>32</b>
3.1. Phân lập giống nấm Lim xanh Thanh Hóa tại trường Đại học Nông Lâm Thái Nguyên.....	32
3.1.1. Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của môi trường đến khả năng phân lập giống từ mô thịt nấm Lim xanh Thanh Hóa.....	32
3.1.2. Nghiên cứu ảnh hưởng của độ pH đến khả năng sinh trưởng hệ sợi nấm từ quả thể nấm Lim xanh.....	34
3.1.3. Nghiên cứu ảnh hưởng của hàm lượng cao nấm men đến khả năng sinh trưởng hệ sợi từ quả thể nấm Lim xanh. ....	36
3.1.4. Nghiên cứu ảnh hưởng của hàm lượng Pepton đến khả năng phát triển hệ sợi từ nấm từ quả thể.....	38
3.1.5. Nghiên cứu ảnh hưởng của các loại đường đến khả năng phát triển hệ sợi từ nấm Lim xanh .....	40
3.1.6. Kết quả kiểm tra giống, đánh giá chất lượng giống nấm Lim xanh đã phân lập .....	41
3.2. Kết quả nghiên cứu sản xuất sinh khối nấm Lim xanh trên môi trường lỏng....	44
3.2.1 Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của môi trường lỏng đến khả năng sản xuất sinh khối nấm Lim xanh.....	44
3.2.2. Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của tốc độ lắc đến khả năng nhân sinh khối của hệ sợi nấm Lim xanh .....	46
3.3. Kết quả nghiên cứu thành phần giá thể nhân tạo đến năng suất và chất lượng nấm Lim xanh .....	49

3.3.1. Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của tỷ lệ phối trộn nguyên liệu mùn cưa gỗ lim đến năng suất và chất lượng nấm Lim xanh .....	49
3.3.2. Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của tỷ lệ phối trộn phụ gia đến năng suất và chất lượng nấm Lim xanh.....	50
3.3.3. Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của hàm lượng đạm đến năng suất và chất lượng nấm Lim xanh sau 90 ngày nuôi cấy. ....	51
<b>KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ</b> .....	<b>53</b>
4.1. Kết luận .....	53
4.2. Kiến nghị.....	53
<b>TÀI LIỆU THAM KHẢO</b> .....	<b>55</b>

**DANH MỤC BẢNG**

Bảng 3.1: Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của môi trường nuôi cấy đến sinh trưởng của sợi nấm được phân lập từ quả thể.....	32
Bảng 3. 2: Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của độ pH đến sự sinh trưởng của hệ sợi nấm Lim xanh.....	34
Bảng 3.3: Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của hàm lượng cao nấm men đến khả năng sinh trưởng của hệ sợi nấm Lim xanh.....	37
Bảng 3.4: Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của hàm lượng Pepton đến sự sinh trưởng của hệ sợi nấm Lim xanh .....	39
Bảng 3.5: Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của các loại đường đến sự sinh trưởng của hệ sợi nấm Lim xanh .....	41
Bảng 3.6: Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của môi trường lỏng đến khả năng sản xuất sinh khối nấm Lim xanh .....	44
Bảng 3.7: Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của tốc độ lắc đến khả năng nhân sinh khối của hệ sợi nấm Lim xanh .....	47
Bảng 3.8: Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của tỉ lệ phối trộn gỗ lim đến năng suất và chất lượng của nấm Lim xanh .....	49
Bảng 3.9: Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của tỉ lệ phối trộn cám ngô đến năng suất và chất lượng của nấm Lim xanh sau 90 ngày nuôi cấy .....	50
Bảng 3.10: Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của tỉ lệ phối trộn 10% cám ngô và hàm lượng đạm đến năng suất và chất lượng của nấm Lim xanh sau 90 ngày nuôi cấy .....	51

## DANH MỤC HÌNH

Hình 1.1: Hình thái quả thể nấm Lim xanh thu nhận từ Thanh Hóa và nuôi trồng tại trường Đại học Nông Lâm Thái Nguyên .....	15
Hình 2.1 : Quy trình phân lập giống nấm Lim xanh.....	24
Hình 3.1: Biểu đồ thể hiện sự sinh trưởng của hệ sợi nấm Lim xanh phân lập từ quả thể nấm ở các loại môi trường khác nhau.....	33
Hình 3.2: Nấm lim xanh phát triển trên một số môi trường cơ bản trong 13 ngày .....	33
Hình 3.3: Biểu đồ thể hiện sự sinh trưởng của hệ sợi nấm Lim xanh ở các điều kiện pH khác nhau. ....	35
Hình 3.4. Sự sinh trưởng của nấm Lim xanh trên 3 môi trường có pH lần lượt là 4; 6,5; 8 trong 12 ngày. ....	36
Hình 3.5: Biểu đồ thể hiện sự sinh trưởng của hệ sợi nấm Lim xanh ở các môi trường có bổ sung cao nấm men với tỉ lệ khác nhau .....	37
Hình 3.6: Sinh trưởng của hệ sợi nấm trong môi trường A1: 2 g nấm men: A2: 4 g nấm men; A3 6 g nấm men (thí nghiệm quan sát sau 6 ngày nuôi cấy).....	38
Hình 3.7: Biểu đồ kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của hàm lượng pepton đến sinh trưởng của hệ sợi nấm .....	39
Hình 3.8. Sinh trưởng của hệ sợi nấm trên môi trường: A1: 2g pepton/lít môi trường, A2: 4g pepton/lít môi trường, A3: 6g pepton/lít môi trường.....	40
Hình 3.9. Sự sinh trưởng của hệ sợi nấm trên các môi trường có bổ sung các loại đường khác nhau.....	41
Hình 3.10: Sơ đồ quy trình kiểm tra giống nấm Lim xanh đã phân lập .....	42



Hình 3.11: Kết quả kiểm tra hình thái quả thể nấm Lim xanh được thu thập từ Thanh Hóa và nấm Lim xanh được nuôi trồng tại trường ĐH Nông Lâm Thái Nguyên .....	43
Hình 3.12: Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng môi trường lỏng đến khả năng sản xuất sinh khối nấm Lim xanh .....	45
Hình 3.13. Sự sinh trưởng của sinh khối nấm Lim xanh trên các môi trường CD và PD trong 6 ngày.....	46
Hình 3.14: Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của tốc độ lắc đến khả năng nhân sinh khối của hệ sợi nấm Lim xanh .....	48

### DANH MỤC CÁC TỪ VIẾT TẮT

PDA	Potato Detrose Agar
CDA	Corn Detrose Agar
PD	Potato Detrose
CD	Corn Detrose

## MỞ ĐẦU

Việt Nam là một trong 16 quốc gia được đánh giá có sự đa dạng tài nguyên sinh học đứng đầu trên thế giới. Theo kết quả điều tra, Việt Nam có 12.000 loài thực vật, hàng ngàn loài động vật và nấm lớn. Trong đó đã ghi nhận được 5000 loài thực vật và nấm lớn, 52 loài tảo biển, 408 loài động vật và 75 loại khoáng vật có công dụng làm thuốc.

Nấm phân bố trên toàn thế giới và phát triển ở nhiều dạng môi trường sống khác nhau, đa phần sống ở trên cạn, nhưng một số loài lại chỉ tìm thấy ở môi trường trong nước. Dựa theo tỷ lệ giữa số loài nấm với số loài thực vật ở cùng một môi trường, người ta ước tính giới nấm có khoảng 1,5 triệu loài. Hiện nay có khoảng 80.000 loài nấm đã được các nhà phân loại học phát hiện và định danh. Giới nấm ngày càng có ý nghĩa to lớn trong nền kinh tế quốc dân, trong khoa học cũng như trong vòng tuần hoàn vật chất. Nấm đã được sử dụng trong dân gian từ hàng ngàn năm nay và một số có ý nghĩa rất quan trọng trong đời sống con người.

Thanh Hóa là tỉnh có diện tích rừng lớn, có khu bảo tồn Pù Hu, Quan Hóa, Mường Lát, Thanh Hóa, Khu bảo tồn thiên nhiên Xuân Liên, Khu bảo tồn thiên nhiên rừng sến,... đây là tỉnh được đánh giá là có tính đa dạng sinh học rất cao, tại đây có chứa đựng nguồn lợi lớn giá trị kinh tế và giá trị trong nghiên cứu khoa học từ các loài động thực vật. Trong đó có nguồn lợi lớn về nấm và có thể sử dụng chúng làm nguyên liệu tốt cho các ngành công nghiệp thực phẩm, dược phẩm.

Từ xưa loài người đã biết sử dụng nấm lớn để làm thuốc đặc biệt là Linh chi. Giá trị dược liệu của Linh chi đã được ghi chép trong các thư tịch cổ của Trung Quốc cách đây 4.000 năm. Từ những kinh nghiệm lưu truyền trong nhân gian, loài người đã biết sử dụng Linh chi với nhiều cách khác nhau. Đến nay khoa học phát triển loài người đã chứng minh được các tác dụng hữu ích