

ĐẠI HỌC THÁI NGUYÊN
TRƯỜNG ĐẠI HỌC NÔNG LÂM



VŨ HOÀI NAM

**NGHIÊN CỨU ẢNH HƯỞNG CỦA CÁC
ĐIỀU KIỆN MÔI TRƯỜNG NUÔI CẤY ĐẾN
NĂNG SUẤT, CHẤT LƯỢNG CỦA NẤM
ĐÔNG TRÙNG HẠ THẢO (*Cordyceps militaris*)**

LUẬN VĂN THẠC SĨ CÔNG NGHỆ SINH HỌC

THÁI NGUYÊN – 2018

ĐẠI HỌC THÁI NGUYÊN
TRƯỜNG ĐẠI HỌC NÔNG LÂM



VŨ HOÀI NAM

**NGHIÊN CỨU ẢNH HƯỞNG CỦA CÁC
ĐIỀU KIỆN MÔI TRƯỜNG NUÔI CÂY ĐẾN
NĂNG SUẤT, CHẤT LƯỢNG CỦA NẤM
ĐÔNG TRÙNG HẠ THẢO (*Cordyceps militaris*)**

Ngành Công nghệ sinh học

Mã số: 8 42 02 01

LUẬN VĂN THẠC SĨ CÔNG NGHỆ SINH HỌC

Người hướng dẫn khoa học: PGS.TS. Dương Văn Cường

THÁI NGUYÊN – 2018

LỜI CẢM ƠN

Trong quá trình học tập và hoàn thành luận văn tốt nghiệp, em đã nhận được sự giúp đỡ về nhiều mặt của các cấp lãnh đạo, các tập thể và các cá nhân.

Trước tiên, em xin bày tỏ lòng biết ơn chân thành đến PGS.TS.Dương Văn Cường đã luôn tận tình hướng dẫn, giúp đỡ em trong suốt quá trình thực hiện và hoàn thành luận văn này.

Em xin bày tỏ lời cảm ơn đến ThS. Ma Thị Trang cùng các cán bộ Viện Khoa học sự sống trường Đại học Nông Lâm Thái Nguyên đã tạo điều kiện thuận lợi cho em hoàn thành đề tài nghiên cứu này.

Cuối cùng em xin gửi lời cảm ơn chân thành và sâu sắc nhất tới gia đình, người thân và bạn bè đã động viên, giúp đỡ em trong suốt quá trình học tập và thực hiện đề tài.

Em xin chân thành cảm ơn!

Thái Nguyên, ngày tháng năm 2018

Học Viên

Vũ Hoài Nam

MỤC LỤC

LỜI CẢM ƠN	i
MỤC LỤC	ii
DANH MỤC BẢNG	v
DANH MỤC HÌNH	vii
MỞ ĐẦU	1
1. Lý do chọn đề tài.....	1
2 Mục đích nghiên cứu.....	2
3. Nội dung nghiên cứu	3
CHƯƠNG I: TỔNG QUAN TÀI LIỆU	4
1.1. Tổng quan về Đông trùng hạ thảo.....	4
1.1.1. Tên gọi Đông trùng hạ thảo	4
1.1.2. Nguồn gốc và phân loại.....	4
1.1.4. Nấm Đông trùng hạ thảo <i>Cordyceps militaris</i>	6
1.2 Giá trị nấm Đông trùng hạ thảo <i>Cordyceps militaris</i>	7
1.2.1 Giá trị dược liệu	7
1.2.2. Giá trị dinh dưỡng	11
1.3. Các yếu tố ảnh hưởng tới sinh trưởng, phát triển nấm Đông trùng hạ thảo <i>Cordyceps militaris</i>	13
1.3.1. Vai trò của giống.....	13
1.3.2. Yếu tố dinh dưỡng.....	14
1.4 Tiềm năng nuôi trồng Đông trùng hạ thảo <i>Cordyceps militaris</i> trên giá thể nhân tạo thể rắn	15
1.5 Tình hình nghiên cứu trong và ngoài nước.....	16
1.5.1. Tình hình nghiên cứu trong nước.....	16
1.5.2. Tình hình nghiên cứu trên Thế giới	19

CHƯƠNG II: VẬT LIỆU, NỘI DUNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU	21
2.1. Đối tượng, phạm vi, vật liệu nghiên cứu	21
2.1.1. Đối tượng nghiên cứu.....	21
2.1.2 Phạm vi nghiên cứu.....	21
2.2. Hóa chất và thiết bị	21
2.2. Địa điểm và thời gian nghiên cứu	22
2.2.1 Địa điểm nghiên cứu	22
2.2.2 Thời gian nghiên cứu	22
2.3. Nội dung nghiên cứu.....	22
2.4 Phương pháp nghiên cứu.....	22
2.4.1. Bố trí thí nghiệm	23
2.4.2. Phương pháp chuẩn bị giống cấp I.....	23
2.4.3. Phương pháp cấy giống.....	24
2.4.4. Phương pháp xử lý số liệu.....	25
2.4.5. Phương pháp phân tích hàm lượng cordycepin	27
2.5. Sơ đồ phương pháp nghiên cứu	31
2.6. Chỉ tiêu theo dõi	29
CHƯƠNG III: KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN.....	32
3.1. Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của các môi trường nhân giống cấp I tới sinh trưởng và phát triển của nấm Đông trùng hạ thảo.....	32
3.2. Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của loại gạo khác nhau dùng làm giá thể tới khả năng sinh trưởng và phát triển nấm Đông trùng hạ thảo.....	35
3.3. Ảnh hưởng của các nguồn carbon đến khả năng sinh trưởng của sợi nấm, sự hình thành và phát triển của quả thể, năng suất sinh học.....	37
3.4. Ảnh hưởng của các nguồn ni to đến khả năng sinh trưởng của sợi nấm, sự hình thành và phát triển của quả thể, năng suất sinh học.....	42

3.5. Ảnh hưởng của muối đến khả năng sinh trưởng của sợi nấm, sự hình thành và phát triển của quả thể, năng suất sinh học.....	46
3.6 Kết quả nghiên cứu mối tương quan giữa các nguồn dinh dưỡng đến sự hình thành và phát triển quả thể nấm <i>Cordyceps militaris</i> trên môi trường nhân tạo.	50
KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ	53
4.1 Kết luận	53
4.2 Đề nghị.....	54
TÀI LIỆU THAM KHẢO	55

DANH MỤC TỪ VIẾT TẮT

BE	:	Biological efficiency
ĐC	:	Đối chứng
ĐTHT	:	Đồng trùng hạ thảo
PDA	:	Potatose dextrose Aga
SDAY	:	Sabouraud Maltose aga plus Yeast Extract
SMAY	:	Sabouraud Dextrose aga plus Yeast Extract
WA	:	Water agar

DANH MỤC BẢNG

Bảng 1.1 Thành phần dinh dưỡng nấm ĐTHT <i>Cordyceps militaris</i>	12
Bảng 2.1: Thiết bị, dụng cụ và hóa chất.....	21
Bảng 3.1: So sánh về tốc độ phát triển của khuẩn lạc trên môi trường nhân giống cấp I.....	33
Bảng 3.2. Kết quả khảo sát ảnh hưởng của hàm lượng đến sự phát triển của hệ sợi nấm Đông trùng hạ thảo	34
Bảng 3.3: bảng tổng hợp đánh giá khả năng thích nghi của hệ sợi nấm trên các loại cơ chất giá thể khác nhau.	35
Bảng 3.4. Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của các cơ chất gạo đến sự hình thành và phát triển của mầm quả thể, năng suất sinh học.....	36
Bảng 3.5 Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng các nguồn carbon tới năng suất nuôi trồng nấm Đông trùng hạ thảo	40
Bảng 3.6: Bảng phân tích ảnh hưởng của nguồn carbon tới hàm lượng Cordycepine ở quả thể nấm ĐTHT	41
Bảng 3.7 Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng các nguồn ni to khác nhau tới năng suất nuôi trồng nấm Đông trùng hạ thảo.....	44
Bảng 3.8: Bảng phân tích ảnh hưởng của nguồn ni tơ tới hàm lượng Cordycepine ở quả thể nấm ĐTHT	45
Bảng 3.9. Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng muối khoáng khác nhau tới năng suất nuôi trồng nấm Đông trùng hạ thảo	48
Bảng 3.10: Bảng phân tích ảnh hưởng của nguồn muối khoáng tới hàm lượng Cordycepine ở quả thể nấm ĐTHT	49
Bảng 3.11: Xác định nguồn dinh dưỡng và mức biến đổi các yếu tố dinh dưỡng	50
Bảng 3.12: Ma trận kết quả mối tương quan giữa các yếu tố dinh dưỡng tới năng suất nuôi trồng nấm Đông trùng hạ thảo	51

DANH MỤC HÌNH

Hình 1.1 Đông trùng hạ thảo trong tự nhiên	4
Hình 1.2 Phân loại nấm <i>Cordyceps</i>	5
Hình 1.3 Vòng đời sinh trưởng của nấm Đông trùng hạ thảo.....	6
Hình 2.1: Sơ đồ quy trình nuôi cấy nấm Đông trùng hạ thảo.....	30
Hình 3.1: Hệ sợi nấm <i>Cordyceps militaris</i> trên các môi trường nhân giống cấp I sau 10 ngày	32
Hình 3.2: Hệ sợi nấm <i>Cordyceps militaris</i> ở môi trường PDA có bổ sung các nồng độ pepton khác nhau sau 15 ngày	34
Hình 3.3: Kết quả khảo sát mật độ quả thể nấm ĐTHT trên các loại cơ chất gạo khác nhau.....	37
Hình 3.4. Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của nguồn carbon đến khả năng sinh trưởng của sợi nấm.....	38
Hình 3.5 Ảnh hưởng của nguồn carbon tới sinh trưởng và phát triển của quả thể nấm Đông trùng hạ thảo	39
Hình 3.6. Ảnh hưởng của các nguồn carbon khác nhau tới năng suất nuôi trồng nấm.....	41
Hình 3.7. Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của các nguồn ni tơ đến khả năng sinh trưởng của sợi nấm.....	42
Hình 3.8 Ảnh hưởng của nguồn ni tơ tới sinh trưởng và phát triển của quả thể nấm Đông trùng hạ thảo	43
Hình 3.9 Ảnh hưởng của các nguồn ni tơ khác nhau tới năng suất nuôi trồng nấm.....	44
Hình 3.10. Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của các nguồn muối khoáng đến khả năng sinh trưởng của sợi nấm	46
Hình 3.11. Ảnh hưởng của muối khoáng tới sinh trưởng và phát triển của quả thể nấm Đông trùng hạ thảo	47
Hình 3.12. Ảnh hưởng của các muối khoáng khác nhau tới năng suất nuôi trồng nấm.....	49

MỞ ĐẦU

1. Lý do chọn đề tài.

Đông trùng hạ thảo là tên gọi chung chỉ những loài nấm thuộc lớp Ascomycetes kí sinh trên ấu trùng các loài bướm thuộc chi *Thitarodes*. Tên gọi của chúng bắt nguồn từ những quan sát thực tế: vào mùa Đông bào tử nấm xâm nhiễm, ký sinh trong cơ thể ấu trùng (Đông trùng), đến mùa hè quả thể nấm mọc chồi từ đầu con sâu nhô lên khỏi mặt đất trông giống một loại thực vật (Hạ thảo) vì vậy nó có tên là Đông trùng hạ thảo.

Từ y học cổ truyền Trung Hoa cho đến y học hiện đại của các nước phát triển Mỹ, châu Âu đều công nhận giá trị dược lý của đông trùng hạ thảo. *C. militaris* có hàm lượng các hoạt chất có hoạt tính sinh học trong quả thể: **Cordycepin** có tác dụng ức chế sự phân hạch và trì hoãn sự lây lan của các tế bào ung thư (Khan, Tania et al. 2010); **Adenosine** được chứng minh có tác dụng điều hòa miễn dịch, bảo vệ tim mạch; **Mannitol** có tác dụng làm tăng độ thẩm thấu của huyết tương và dịch trong ống thận, gây lợi niệu thẩm thấu và làm tăng lưu lượng máu thận; **Superoxide dismutase** để phòng ngừa và điều trị xuất huyết não, viêm loét, loại bỏ tình trạng viêm, loạn nhịp tim, phù nề, nhiễm độc, bệnh thấp khớp, thấp khớp, viêm khớp dạng thấp, tổn thương bức xạ, nhiễm độc thuyên tắc. Ngoài ra, trong dịch chiết Đông trùng hạ thảo còn chứa chứa nhiều loại vitamin và acid amin thiết yếu cho cơ thể.

Do có công dụng tốt nên nhu cầu sử dụng ĐTHT ngày càng tăng cao, trong khi đó nguồn cung cấp từ tự nhiên mỗi năm chỉ đáp ứng được m nhu cầu thị trường. Bên cạnh đó, hoạt động khai thác quá mức có thể khiến loài nấm này có nguy cơ bị tuyệt chủng. Trước tình hình đó, các nhà khoa học trên thế giới như đã tiến hành nghiên cứu nuôi ĐTHT trên môi trường nhân tạo. Trong các loài thuộc chi *Cordyceps*, *Cordyceps sinensis* và *Cordyceps militaris* là hai loài phổ biến và được nghiên cứu nhiều hơn cả. Các hướng nghiên cứu hiện nay