

**BƯỚC ĐẦU NGHIÊN CỨU NUÔI TRỒNG
MỘT LOÀI NẤM THỰC PHẨM PHÁT HIỆN Ở VƯỜN QUỐC GIA CÁT TIỀN:
Leucocoprinus cepaestipes (Sow., Fr.) Pat.**

NGUYỄN THỊ ANH, PHẠM NGỌC DƯƠNG

Vườn Quốc gia Cát Tiên

ĐOÀN VŨ TRANG ĐÀI

Trường Đại học Nha Trang

Chi *Leucocoprinus* Pat., là một chi nấm thuộc họ nấm tán Agaricaceae với khoảng 40 loài đã được mô tả [4,7], Patouillard xác lập chi này đầu tiên năm 1888. Tuy nhiên về vấn đề phân loại học của chi này còn có nhiều quan điểm khác nhau, có thể kể đến các tác giả như: Batt. ex O. Kuntze (1891) xếp chi *Leucocoprinus* trong chi *Mastocephalus*, J. Lange (1935) từng xếp những loài trong chi này là một phân chi của *Lepiota* với tên là *Leucobolbitiu*, Murrill cũng đã từng xếp *Leucocoprinus* vào nhóm (section) *Lepiota striata*. Candusso & Lanzoni (1990, 1996) có 2 công trình công bố trong đó mô tả các loài *Leucocoprinus* trong chi *Lepiota*. Tuy nhiên, hiện nay quan niệm của Pat. về chi *Leucocoprinus* vẫn còn được thừa nhận rộng rãi và là danh pháp chuẩn để mô tả các loài trong chi này [4]. Các loài trong chi *Leucocoprinus* đã được ghi nhận ở miền Bắc và Trung Việt Nam với khoảng 7 loài (Trịnh Tam Kiệt, 2001) [2,3], tuy nhiên các miêu tả chuẩn và mẫu vật còn nhiều khiêm khuyết.

Hiện nay chưa có nhiều nghiên cứu về giá trị của chi nấm *Leucocoprinus* Pat., tuy vậy một số nghiên cứu đã chỉ ra rằng các loài trong chi nấm này có thể chứa những hoạt chất sinh học quý. Nghiên cứu của Bartsch A. et al. (2005), đã tách được chất có tên gọi birnbaumin A và B, trong thành phần có gốc acid amin 1-hydroxyindole-3-glyoxilic liên kết với một đơn vị tetramethylene với N-hydroxyoxamidine. Đây là phân tử có cấu trúc hóa học chứa 1-hydroxyindoles rất hiếm gặp trong tự nhiên, là hoạt chất sinh học có khả năng kháng ung thư được tách từ loài *Leucocoprinus birnbaumii* [1]. Các nghiên cứu về công nghệ nuôi trồng chủ động, đánh giá giá trị thực phẩm của các loài trong chi nấm này cũng còn ít được quan tâm nghiên cứu. Các mẫu của loài *Leucocoprinus cepaestipes* ghi nhận ở nghiên cứu này được thu thập trong các đợt điều tra khu hệ nấm lớn của Vườn quốc gia Cát Tiên, loài này qua điều tra cho thấy có được các cộng đồng người bản địa sử dụng làm thực phẩm tuy vậy các kiểm chứng khoa học vẫn cần được tiến hành. Nghiên cứu này nhằm tiến hành mô tả một loài trong chi *Leucocoprinus* Pat. là *Leucocoprinus cepaestipes*, bổ sung một loài mới cho khu hệ nấm lớn Việt Nam, đồng thời tiến hành các nghiên cứu nuôi trồng thử nghiệm, thử độc tính sơ cấp, phân tích các thành phần dinh dưỡng chính, từng bước tạo ra một giống nấm thực phẩm mới có giá trị.

I. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Đối tượng nghiên cứu

Nấm *Leucocoprinus cepaestipes* được sưu tập từ Vườn Quốc gia Cát Tiên.

2. Phương pháp nghiên cứu chính sử dụng

Phương pháp nghiên cứu so sánh hình thái cổ điển. Các mẫu nấm thu được ở Vườn quốc gia Cát Tiên được tiến hành mô tả so sánh hình thái với các mô tả của M. E. Noordeloos, TH. W. Kuyper, & E. C. Vellinga (2001) [4] và các dữ liệu từ internet. [7, 8, 9]

Sử dụng kính hiển vi quang học để quan sát các đặc điểm bào tử đâm và các đặc điểm hiển vi khác.

Phương pháp phân lập giống nấm bằng kỹ thuật nuôi cấy mô tế bào [6].

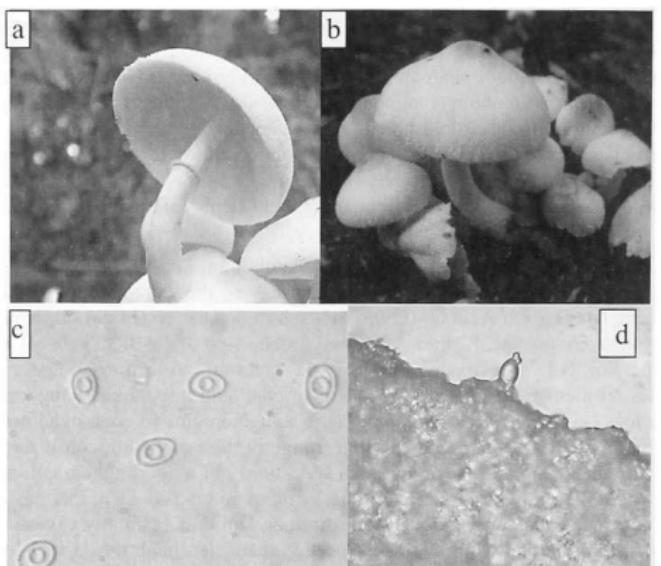
Phương pháp thử độc tính sơ cấp: Chuột nhắt trắng (*Mus musculus*) chủng Swiss, khỏe mạnh, trọng lượng trung bình 25 ± 2 g được mua từ Viện Vắc-xin Nha Trang để tiến hành thử độc cho nấm *Leucocoprinus cepaestipes*, cách tiến hành:

Chia chuột thí nghiệm thành 6 nhóm: 2 nhóm cho ăn thức ăn bình thường, 4 nhóm cho ăn nấm với liều lượng khác nhau, tính liều lượng ăn một lần của chuột, Tính liều lượng ăn một ngày, Tính LD50, Theo dõi các biểu hiện lâm sàng của chuột giữa các lô thí nghiệm.

Phương pháp phân tích các thành phần dinh dưỡng cơ bản. Phân tích hàm lượng Protein, lipid, Carbonhydrate, chất xơ theo phương pháp của Nguyễn Văn Mùi. [5]

II. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

1. Kết quả mô tả hình thái hiển vi của nấm *Leucocoprinus cepaestipes* (Sow., Fr.) Pat.



Hình 1: Nấm *Leucocoprinus cepaestipes* sưu tập tại VQG Cát Tiên

a, b: Hình ảnh nấm *L. cepaestipes* ngoài tự nhiên
c: Bào tử đâm (độ phóng đại 1000 lần); d: Đầm bào tử dưới kính hiển vi quang học
(anh: Phạm Ngọc Dương)

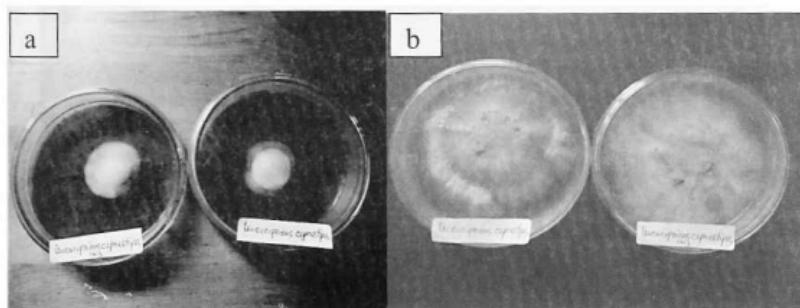
Quả thể khi còn non có màu nâu, vàng nâu thường có hiện tượng tiết dịch màu nâu đậm ở bề mặt mũ nấm khi già, ban đầu có hình parabol, hình chuông và khi về già nở bung ra hình chào với phần chóp ở giữa. Đường kính mũ nấm khi trưởng thành giao động 50-90 mm, kích thước tán nấm lớn nhỏ tùy thuộc vào điều kiện môi trường nơi nấm phát triển, nấm mọc trong các chậu cảnh thường chỉ có đường kính từ 30-40 mm, đường kính tán nấm khi nuôi trồng có thể đạt 100-120 mm. Trên bề mặt tán nấm thường có các vảy nhỏ màu nâu đậm hoặc nâu đất hoặc vàng nâu, các vảy sắp xếp chồng lên nhau trên nền trắng kem quả thể, các vảy nhỏ tập trung chủ yếu ở phần chóp của mũ nấm và thưa dần ở mép, các vảy ở phía mép nấm thường nhạt màu dần trở thành màu trắng, trắng kem. Mép phiến nấm thường có các rãnh khía xếp dầy và đều nhau hướng vào phía chóp tán nấm.

Cuống nấm hình trụ, chắc mập, có vòng nấm hướng lên, thường phình to ở phần gốc cuống đường kính cuống nấm ngoài tự nhiên khoảng 5-10 mm. Mặt cắt ngang cuống nấm cho thấy bên ngoài cuống nấm được cấu tạo bởi các bó sợi, bên trong lõi là lớp mô xốp, thịt nấm màu trắng kem, tráng đục, đôi khi có các gân màu nâu nhạt. Cuống nấm khi nuôi trồng nhân tạo thường có đường kính lớn hơn có khi lên đến 12-17 mm. Cuống nấm thường có các vảy nhỏ màu trắng, màu nâu ở phía gốc cuống, đôi khi trông như các mụn nhọt li ti và trở nên tròn nhẵn khi già, cuống nấm thường bị đổi sang màu vàng, vàng nâu, nâu khi tiếp xúc. Trên cuống nấm có vòng nấm hướng lên, khác với các loài trong chi *Agaricus* lớp màng gắn với vòng nấm trong các loài thuộc chi *Leucocoprinus* thường chỉ tồn tại trong một thời gian rất ngắn khi nấm còn non. Phiến nấm dạng phiến tự do, không gắn với cuống, các phiến có độ dài không bằng nhau, giữa hai phiến dài có khoảng từ 6-8 phiến bắt nguồn từ mép nấm có độ dài khác nhau (Hình 1a, 1b).

Bụi bào tử màu trắng, bào tử đám hình elip hoặc hình trứng, có thành dày, kích thước 9-10 x 6-7 µm, trên kính hiển vi quang học có thể thấy bề mặt bào tử nhẵn, ở giữa mỗi bào tử thường thấy rõ các hạt nội chất hình tròn (Hình 1c). Nhìn chung các đặc điểm mô tả về hình thái của mẫu vật thu được ở Cát Tiên khá tương đồng với các mô tả của M. E. Noordeloos, TH. W. Kuyper, & E. C. Vellinga (2001) [4] và một số tác giả khác [7, 8, 9].

2. Kết quả phân lập giống thuần khiết và khảo sát sự phát triển của hệ sợi trên môi trường thạch dinh dưỡng

Sau khi cấy nấm trên môi trường thạch dinh dưỡng, chỉ sau một ngày nấm bắt đầu bung tơ, tới ngày thứ 3 đạt kích thước 2,475 cm, sợi nấm mọc bung ra như bông, màu trắng. Các ngày tiếp theo tơ nấm phát triển rất nhanh, đến ngày thứ 9, tơ nấm mỏng lại, xếp xuống và xuất hiện các hạt màu đen rất cứng trên sợi tơ và tơ nấm chuyển sang màu hơi hồng, ngày thứ 12 tơ nấm lan hết bề mặt thạch. Sau khi để một thời gian, tơ nấm già đi, có màu hơi hồng nhạt và các sợi rất mảnh, phân nhánh, các hạt đen xuất hiện nhiều và có hiện tượng tiết dịch vàng. Thời gian phát triển mạnh nhất của hệ sợi nấm vào ngày thứ 5 và thứ 7, khi đó tốc độ phát triển của tơ nấm có thể đạt > 2 cm/ngày (Hình 2).



Hình 2: Hệ sợi của nấm *L.cepaestipes* trên môi trường thạch

a: ngày thứ 4; b: ngày thứ 12 (ảnh: Phạm Ngọc Dương)

3. Kết quả nuôi trồng thử nghiệm nấm *Leucocoprinus cepaestipes* trên môi trường giá thể tổng hợp

Giống nấm *Leucocoprinus cepaestipes* sau khi được phân lập thành công, được tiến hành nhân giống trên các môi trường hạt lúa và môi trường cộng cây mỳ để làm giống cấy vào giá thể tổng hợp. Chỉ trong 16 ngày tơ nấm đã lan kín môi trường hạt lúa và trong 13 ngày tơ nấm đã lan kín bề mặt môi trường cộng cây mỳ. Chúng tôi sử dụng giống trên môi trường hạt để cấy

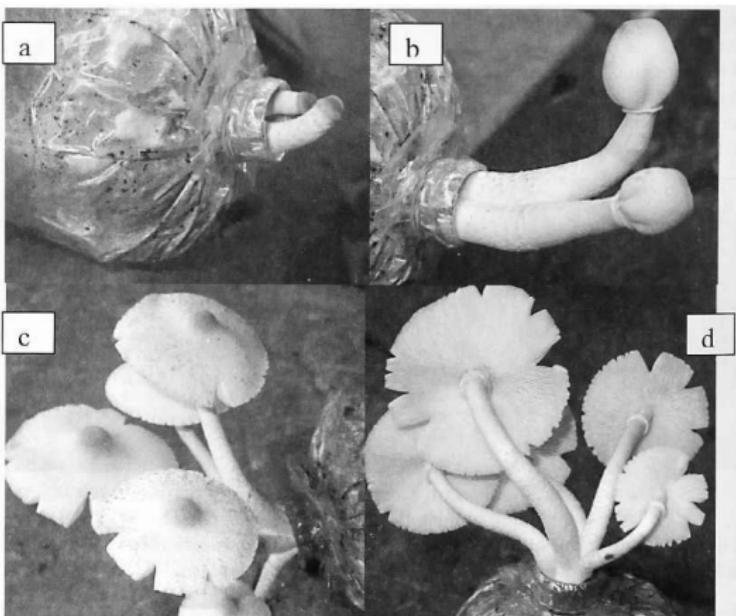
vào môi trường cung mỳ và sử dụng giống từ cung mỳ tiến hành nuôi trồng thử nghiệm. Quá trình nhân giống như vậy đảm bảo giống được nhân nhanh, sơ tơ nấm được làm quen thích nghi với nhiều môi trường, từ môi trường dinh dưỡng thuận lợi đến môi trường có hàm lượng dinh dưỡng ngày càng giống với môi trường nuôi trồng ra thể quả. Trên môi trường nuôi trồng ra quả thể chúng tôi sử dụng 03 loại công thức môi trường nhằm tìm ra công thức môi trường tối ưu cho nuôi trồng nấm: Môi trường 1 gồm: 96% mùn cưa cao su bồ sung 4% cám gạo, cám ngô; môi trường 2 gồm: 93% mùn cưa cao su bồ sung 7% cám gạo, cám ngô; môi trường 3: 88% mùn cưa cao su bồ sung 12% cám gạo, cám ngô. Kết quả ghi nhận sự phát triển của tơ nấm trên ba môi trường được thể hiện ở bảng sau.

Bảng 1

Sự lan của tơ nấm trên các môi trường giá thể khác nhau

Thời gian (ngày)	Tốc độ lan tơ (cm)		
	Môi trường 1	Môi trường 2	Môi trường 3
9	10,07 ± 0,793*	2,97 ± 0,236	1,53 ± 0,065
13	15,13 ± 0,236	5,43 ± 0,364	4,10 ± 0,113
17	18,9 ± 0,300	8,10 ± 0,196	6,00 ± 0,113
21	21,23 ± 0,236	11,33 ± 0,471	7,77 ± 0,236
25	23,16 ± 0,236	15,20 ± 0,408	12,17 ± 0,471
	Kín bịch	chưa lan kín bịch	chưa lan kín bịch

*Giá trị ± thể hiện độ lệch chuẩn



Hình 3: Nấm *Leucocoprinus cepastipes* nuôi trồng
a: mầm thể quả; b: thể quả đang dài trống; c, d: thể quả hoàn chỉnh
(ảnh. Phạm Ngọc Dương)

Có thể nhận thấy, thành phần dinh dưỡng trong công thức giá thể nuôi trồng nấm *Leucocoprinus cepaestipes* có ảnh hưởng lớn đến sự phát triển của nấm và tốc độ lan nhanh của hệ sợi. Ở các môi trường có thành phần dinh dưỡng cao như môi trường 2 và môi trường 3 tốc độ lan của nấm chậm hơn hẳn tuy nhiên sợi nấm lại bện dày và trắng hơn ở môi trường 1. Điều này có thể lý giải do ở môi trường giàu dinh dưỡng sợi nấm có xu hướng phân nhánh nhiều hơn để sử dụng hết các dưỡng chất có trong môi trường.

Sau khi nấm đã lan kín các bịch cơ chất tiến hành chuyển các bịch này ra nhà trồng để tưới đón nấm. Kết quả thu được khá bất ngờ, ở các bịch phôi sử dụng công thức môi trường 1 sau 02 tuần đã có sự hình thành mầm thể quả, thể quả phát triển khá nhanh, cuống chắc mập và có kích thước lớn hơn nhiều so với ngoài tự nhiên. Sau 02 ngày thể quả đạt kích thước hoàn chỉnh, có thể thu hái sử dụng cho các nghiên cứu thử độc tính sơ cấp và phân tích thành phần dinh dưỡng. Các bịch phôi sử dụng công thức môi trường 2 và 3 sau 04 tuần đem ra nhà trồng mới bắt đầu có sự hình thành mầm thể quả, tuy nhiên số lượng các bịch hình thành thể quả không nhiều và tỉ lệ nhiễm tạp lớn. Từ đó, kết luận rằng môi trường thích hợp để nuôi trồng ra thể quả nấm *Leucocoprinus cepaestipes* là môi trường 1, hình thái thể quả khi nuôi trồng khá đồng nhất với các mẫu vật thu được ở ngoài tự nhiên, tuy nhiên có kích thước lớn hơn (Hình 3).

4. Kết quả thử độc tính sơ cấp trên chuột

Chúng tôi tiến hành thử độc sơ cấp trên chuột, kết quả như sau: Khi cho chuột ăn nấm với liều lượng 60g/1 kg (60 g nấm trên 1 kg chuột) so với nhóm chuột cho ăn thức ăn tổng hợp với cùng một liều lượng trong một giờ, kết quả chuột vẫn khỏe mạnh, không có dấu hiệu nhiễm độc.

Khi cho chuột ăn với liều lượng 160 g/1 kg chuột so với nhóm chuột thí nghiệm ăn thức ăn tổng hợp với cùng liều lượng trong nhiều ngày liền không bổ sung thêm các thành phần thức ăn khác. Quan sát thấy chuột vẫn khỏe mạnh, hoạt động bình thường, không có dấu hiệu nhiễm độc.

Sau khi ăn nấm với liều lượng như trên, chuột vẫn ăn uống, hoạt động và bài tiết bình thường. Không thấy có biểu hiện ngộ độc ở chuột và không có con chuột nào chết trong vòng 72 giờ, 7 ngày, 1 tháng sau khi ăn nấm. Do đó chưa xác định được độc tính cấp và chưa tính được LD50 của nấm *Leucocoprinus cepaestipes* trên chuột nhất trắng theo đường miệng.

5. Kết quả phân tích các thành phần dinh dưỡng cơ bản

Nấm *Leucocoprinus cepaestipes* sau khi nuôi trồng được thu hái sấy khô ở 45°C, tiến hành phân tích các thành phần dinh dưỡng Protein, chất xơ, Carbonhydrate, Lipit. Kết quả thu được như sau:

Bảng 2

Thành phần dinh dưỡng của nấm *Leucocoprinus cepaestipes*

STT	Chi tiêu phân tích	Đơn vị	Kết quả
1	Hàm lượng Protein	g/100g mẫu khô	30,30
2	Hàm lượng Chất xơ		5,41
3	Hàm lượng Carbonhydrate		22,78
4	Hàm lượng Lipit		1,96

Nhìn vào bảng thành phần dinh dưỡng của nấm *Leucocoprinus cepaestipes* (Bảng 2) có thể thấy đây là loài nấm có thành phần dinh dưỡng cao. Với hàm lượng Protein 30,3% là khá cao so với các loài nấm ăn khác đang được nuôi trồng phổ biến hiện nay. Có thể tham khảo hàm lượng Protein của nấm hương *Lentinula edodes* 17,5%, của nấm mèo *Agaricus bisporus* 26,3%, của một số loại nấm bào ngư như *Pleurotus florida* 18,9% [6]. Hàm lượng lipid trong nấm khá thấp

chi 1,96%. Tổng hàm lượng Protein và carbohydrate 53,08% trong khi ở các loài nấm khác là khoảng 70% đến trên 90% [6]. Tất cả những đặc điểm khác biệt đó có thể là những ưu thế của nấm *Leucocoprinus cepaestipes* nếu được nghiên cứu phát triển thành một loài nấm thực phẩm.

III. KẾT LUẬN

Đã tiến hành sưu tập được loài nấm *Leucocoprinus cepaestipes* tại Vườn quốc gia Cát Tiên, tiến hành các nghiên cứu về hình thái, hiển vi, bổ sung một loài nấm mới cho khu hệ nấm lớn Việt Nam. Các nghiên cứu về công nghệ nuôi trồng chủ động cho thấy loài nấm này có thể phát triển và hình thành thể quả tốt trên môi trường giá thể mùn cưa có bổ sung dinh dưỡng, thời gian hình thành thể quả ngắn (khoảng 40 ngày). Các nghiên cứu thử độc sơ cấp trên chuột và phân tích các thành phần dinh dưỡng bước đầu cho thấy loài nấm này không gây độc trên chuột, nấm có thành phần dinh dưỡng khá cao với hàm lượng Protein 30,3% trọng lượng thô. Nếu được nghiên cứu đầy đủ để hoàn thiện quy trình công nghệ, thành phần dinh dưỡng, đây có thể trở thành loài nấm thực phẩm có giá trị cho ngành sản xuất nấm ở Việt Nam.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bartsch, A., M. Bross, P. Spiteller, M. Spiteller, W. Steglich, 2005. Angew Chem Int Edit. 44 (19): 2957-9.
2. Trinh Tam Kiet, 1998. Preliminary checklist of macrofungi of Vietnam, Feddes repertorium, 109: 257-277, Berlin.
3. Trịnh Tam Kiệt, 2001. Danh lục thực vật Việt Nam, Nxb. KHKT, Hà Nội.
4. M. E. Noordeloos, TH. W. Kuyper, & E. C. Vellinga, 2001. Flora Agaricina Nederlandica, A.A. Balkema Publisher, Tokyo.
5. Nguyễn Văn Mùi, 2001. Thực hành hóa sinh học, Nxb. KHKT, Hà Nội.
6. Nguyễn Lan Dũng, 2002. Công nghệ trồng nấm, tập 1, 2, Nxb. Nông nghiệp Hà Nội.
7. <http://en.m.wikipedia.org/wiki/leucocoprinus>
8. http://www.mushroomexpert.com/leucocoprinus_cepaestipes.html
9. <http://www.mycobank.org>

STUDYING CULTURE *Leucocoprinus cepistipes* (Sow., Fr.) Pat. AN EDIBLE MUSHROOM COLLECTED IN CAT TIEN NATIONAL PARK, SOUTH OF VIETNAM

NGUYỄN THỊ ANH, PHẠM NGỌC DƯƠNG, ĐOÀN VŨ TRANG ĐÀI
SUMMARY

The genus *Leucocoprinus* Pat. is represented by 7 species in Viet Nam (Trinh Tam Kiet, 2001). Much is not known about these species. Further, culture of these species have also not been tried. Present study deals with description, cultivation and food value of *L. cepistipes*.

Protocol to culture *Leucocorinus cepistipes* on rubber sawdust has been developed. Following this protocol, fruit body appears after 40 days.

Results of primary toxicity shows that *L. cepistipes* is not poisonous. Our research also shows that this is a nutrient rich mushroom with 30.3% of protein, 5.41% of roughage, 22.87% of carbohydrate and 1.96% of Lipid.