

# XÂY DỰNG QUY TRÌNH PHÂN LẬP, NHÂN GIỐNG VÀ NUÔI TRỒNG THƯƠNG PHẨM NẤM LINH CHI ĐỎ (*GANODERMA LUCIDUM*) QUY MÔ PHÒNG THÍ NGHIỆM TẠI TRƯỜNG ĐẠI HỌC PHAN THIẾT

Lê Việt Kỳ\*, Nguyễn Văn Nhơn, Nguyễn Bá Tòng, Tống Minh Phi

Khoa Khoa học Sức Khỏe, Trường Đại học Phan Thiết, tỉnh Lâm Đồng, Việt Nam

**Tóm tắt:** Nghiên cứu thực hiện nhằm xây dựng quy trình nhân giống và nuôi trồng nấm linh chi đỏ (*Ganoderma lucidum*) tại Trường Đại học Phan Thiết. Kết quả cho thấy mô phân lập từ mũ nấm cho tốc độ sinh trưởng hệ sợi vượt trội so với cuống nấm, đạt đường kính khuẩn lạc  $79,1 \pm 3,5$  mm sau 10 ngày ( $p < 0,05$ ). Trong các môi trường hạt, công thức CT2 (89% lúa, 5% cám gạo, 5% cám bắp, 1%  $CaCO_3$ ) giúp hệ sợi phát triển tốt nhất. Khi nuôi trồng trên túi phôi mùn cưa, thời gian lan tơ trung bình là 26 ngày, tỷ lệ hình thành quả thể đạt 93%. Thu hoạch lần đầu ghi nhận sau 84 ngày với tổng hiệu suất sinh học đạt 16,13%. Kết quả này khẳng định tính khả thi của quy trình phân lập với vị trí phân lập là mũ nấm, công thức nhân giống CT2, tạo tiền đề quan trọng cho việc sản xuất nấm linh chi đỏ quy mô thương phẩm tại địa phương.

**Từ khóa:** *Ganoderma lucidum*, môi trường cấy nấm, nấm linh chi đỏ, phân lập

## 1. GIỚI THIỆU

Nấm linh chi là một loại dược liệu quý được nghiên cứu và nuôi trồng từ rất lâu đời, được ghi trong sách “Thần Nông bản thảo” từ 2000 năm trước (Wasser, 2005; Zhu, 1998). Giá trị dược liệu của nấm linh chi ngày càng được khẳng định mạnh mẽ trên phạm vi toàn cầu thông qua hàng loạt các nghiên cứu dược lý chuyên sâu và các hội nghị nấm học quốc tế từ những năm cuối thế kỷ 20 (Wasser, 2005).

Trong nấm linh chi có hơn 400 hợp chất đã được phân lập và định danh, bao gồm triterpenoids, polysaccharides, sterols, protein, peptide, nucleoside, alkaloid và các acid béo chuỗi dài (Bishop và cộng sự, 2015; Paterson, 2006). Các nghiên cứu tổng quan

hiện đại cho thấy triterpenoids (đặc biệt là các ganoderic acids) và polysaccharides (chủ yếu là  $\beta$ -glucans) là hai nhóm hoạt chất được nghiên cứu sâu rộng nhất do có phổ tác dụng sinh học đa dạng, bao gồm hoạt tính điều hòa miễn dịch, kháng u, chống oxy hóa và bảo vệ gan (Ahmad và cộng sự, 2021; Cao và Lin, 2004).

Việt Nam, với đặc trưng khí hậu nhiệt đới gió mùa ẩm, sở hữu lượng mưa dồi dào và độ ẩm không khí cao, tạo lập các hốc sinh thái lý tưởng cho sự phát triển của khu hệ nấm lớn, bao gồm cả các loài nhiệt đới và ôn đới (Trịnh Tam Kiệt, 2011). Trong đó, loài nấm linh chi đỏ (*Ganoderma lucidum*) được ghi nhận là loài hoại sinh phổ biến trên các thân cây gỗ mục thuộc nhiều hệ sinh

thái rừng khác nhau và được ứng dụng nuôi trồng nhiều nhất trong chi *Ganoderma*.

Nghiên cứu này được thực hiện nhằm xây dựng và tối ưu hóa quy trình phân lập, nhân giống và nuôi trồng nấm linh chi đỏ (*Ganoderma lucidum*) ở quy mô phòng thí nghiệm. Cụ thể, nghiên cứu tập trung xác định vị trí mô phân lập thích hợp, lựa chọn công thức nhân giống hạt tối ưu và đánh giá khả năng sinh trưởng, hình thành quả thể cùng hiệu suất sinh học trên cơ chất mùn cưa phối trộn. Kết quả là cơ sở khoa học cho việc hoàn thiện quy trình kỹ thuật và định hướng mở rộng sản xuất.

## 2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Vật liệu

Giống nấm được cung cấp bởi cơ sở sản xuất nấm Bình Phú (KP1 – xã Hàm Tân – tỉnh Lâm Đồng).

Môi trường Mushroom Medium MP300 (Angel Yeast) được sử dụng cho phân lập và nhân giống; đây là môi trường tổng hợp thương mại, giúp chuẩn hóa điều kiện nuôi cấy và rút ngắn thời gian chuẩn bị.

Môi trường hạt gồm cám bắp, cám gạo, lúa được mua tại phường Phú Thủy - tỉnh Lâm Đồng.

### 2.2. Phương pháp nghiên cứu

#### 2.2.1. Khảo sát ảnh hưởng vị trí lấy mẫu mô nấm (giai đoạn phân lập quả thể) đến chất lượng giống nấm trên môi trường tổng hợp Mushroom Medium MP300

Quả thể nấm linh chi đỏ được chọn để phân lập là mẫu trưởng thành, khỏe mạnh,

không nhiễm bệnh và có hình thái điển hình. Bề mặt quả thể được khử trùng bằng cồn 70° và thao tác trong tủ cấy vô trùng. Mẫu được cắt đôi bằng dao đã thanh trùng, lấy mô kích thước 2 × 2 mm tại vị trí mũ và cuống, cấy vào môi trường MP300 và nuôi ở nhiệt độ phòng (30–32 °C; độ ẩm khoảng 65%). Mỗi vị trí gồm 10 mẫu, lặp lại 3 lần. Giống sau phân lập được cấy giữ trên thạch nghiêng.

Chỉ tiêu theo dõi gồm thời gian bung tơ nấm, tốc độ lan tơ nấm trong đĩa Petri, đặc điểm hệ sợi.

#### 2.2.2. Khảo sát ảnh hưởng hàm lượng nitơ hữu cơ (cám bắp, cám gạo) đến sự phát triển hệ sợi nấm linh chi đỏ trên môi trường hạt (lúa)

Nguồn giống cây truyền dựa trên kết quả khảo sát ảnh hưởng vị trí lấy mẫu mô nấm (kết quả nội dung 2.2.1).

Cách làm môi trường hạt: lựa chọn hạt lúa không bị lép, không bị mốc. Rửa sạch, nấu đến khi nứt 1/3 vỏ. Phối trộn với cám bắp, cám gạo, CaCO<sub>3</sub>. Môi trường chứa trong chai thủy tinh 500ml (2/3 chai), hấp khử trùng 121 °C, 1atm trong 30 phút.

Các công thức khảo sát:

CT1: 89% lúa + 10% cám gạo + 1% CaCO<sub>3</sub>.

CT2: 89% lúa + 5% cám gạo + 5% cám bắp + 1% CaCO<sub>3</sub>.

CT3: 89% lúa + 10% cám bắp + 1% CaCO<sub>3</sub>.

Mỗi công thức 10 chai môi trường hạt, lặp lại 3 lần.

Chỉ tiêu theo dõi: tốc độ lan tơ nấm trong chai, đặc điểm hệ sợi.

### 2.2.3. *Khảo sát khả năng mọc quả thể, năng suất của nấm linh chi ở điều kiện phòng thí nghiệm tại Trường Đại học Phan Thiết*

Nguồn giống: dựa vào kết quả nội dung 2.2.2.

Mùn cưa được phối trộn với nước vôi 1% để đạt độ ẩm 65-70%, được gom thành đồng và ủ trong khoảng từ 5 đến 7 ngày. Mùn cưa sau ủ được bổ sung thêm 5% cám bắp và 5% cám gạo, 1% CaCO<sub>3</sub> trộn đều và được đóng vào các bao polypropylene, làm cổ túi, đập nút bông đưa vào hấp khử trùng 121 °C,

1atm trong 30 phút. Tổng trọng lượng sau hấp khử trùng 1.3 kg. Cây 20 g giống hạt vào túi phôi.

Ủ phôi ở nhiệt độ phòng trong môi trường sạch sẽ, thông thoáng, ánh sáng yếu, độ ẩm khoảng 60 - 70%. Khi tơ nấm lan xuống đáy túi tiến hành tháo nút bông, kích thích ra quả thể. Giai đoạn quả thể phát triển tăng độ ẩm phòng từ 85 - 95%.

Số lượng túi phôi khảo sát: 100 túi phôi.

Các chỉ tiêu theo dõi bao gồm: thời gian lan tơ (ngày), tỷ lệ túi cho quả thể (%), thời gian thu hoạch (ngày), kích thước quả thể (đường kính, độ dày) và hiệu suất sinh học (BE,%).

$$\text{Hiệu suất sinh học (BE, \%)} = \frac{\text{khối lượng quả thể tươi (g)}}{\text{khối lượng cơ chất khô (g)}} \times 100$$

2.2.4. *Địa điểm nghiên cứu:* Khoa Khoa học sức khỏe, Trường Đại học Phan Thiết.

### 2.2.5. *Xử lý số liệu*

Số liệu được trình bày dưới dạng Mean ± SD, xử lý bằng phần mềm Excel 2016 và Minitab 16. Sử dụng kiểm định t-test và One-way ANOVA (hậu định Tukey) để so sánh các giá trị trung bình ở mức ý nghĩa p < 0,05.

## 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

### 3.1. Kết quả khảo sát ảnh hưởng vị trí lấy mẫu mô nấm (gian đoạn phân lập quả thể) đến chất lượng giống nấm trên môi trường tổng hợp Mushroom Medium MP300

Kết quả theo dõi quá trình phân lập cho thấy nấm linh chi đồ thích nghi nhanh với môi trường nuôi cấy, khi hệ sợi xuất hiện sau khoảng 10 giờ ở cả hai vị trí cấy. Tuy nhiên, mô từ mũ nấm cho tốc độ sinh trưởng cao hơn so với mô cuống, với đường kính khuẩn lạc ngày thứ 10 đạt 79,1 ± 3,5 mm so với 72,1 ± 3,1 mm (p < 0,05). Điều này khẳng định vị trí lấy mẫu mô ảnh hưởng đáng kể đến khả năng khởi tạo và phát triển hệ sợi trong giai đoạn phân lập.

Sự vượt trội của mô mũ có thể liên quan đến đặc điểm biệt hóa mô và trạng thái sinh lý tế bào. Vùng rìa mũ tập trung nhiều tế bào hoạt động trao đổi chất mạnh, thuận lợi cho tái sinh hệ sợi khi chuyển sang điều kiện

in vitro (Synytsya và cộng sự, 2023). Trong khi mô cuống có cấu trúc vách dày và mức độ kitin hóa cao hơn, có thể làm giảm tốc độ tái hoạt hóa sinh trưởng (Zhou và cộng sự, 2019; Liu và cộng sự, 2016).

Kết quả thực nghiệm khẳng định mô mũ nấm là nguồn mẫu tối ưu hơn cho quy trình nhân giống cấp 1, giúp rút ngắn thời gian nuôi cấy và tạo ra hệ sợi có sức sống tốt hơn so với mô cuống nấm.

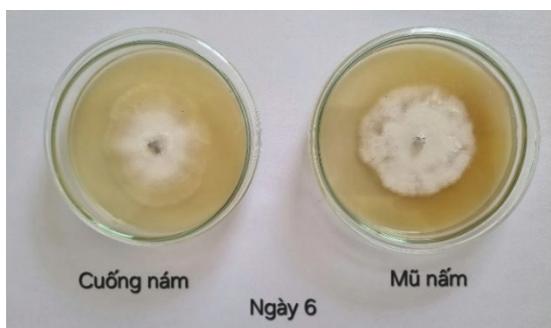
**Bảng 1. Đường kính của khuẩn lạc nấm *Ganoderma lucidum* ở các vị trí cấy và thời gian khác nhau**

Thời gian Vị trí	Đường kính khuẩn lạc (mm) trung bình				
	Sau 2 ngày	Sau 4 ngày	Sau 6 ngày	Sau 8 ngày	Sau 10 ngày
Cuống nấm	12,1 <sup>B</sup> ± 0,2	21,1 <sup>B</sup> ± 0,5	36,2 <sup>B</sup> ± 1,1	57,1 <sup>B</sup> ± 1,9	72,1 <sup>B</sup> ± 3,1
Mũ nấm	13,2 <sup>A</sup> ± 0,2	24,4 <sup>A</sup> ± 0,6	41,7 <sup>A</sup> ± 1,2	63,2 <sup>A</sup> ± 2,1	79,1 <sup>A</sup> ± 3,5

Ghi chú: Các chữ cái khác nhau (A, B) trong cùng một cột biểu thị sự sai khác có ý nghĩa thống kê theo kiểm định t-test ( $p < 0.05$ )



**Hình 1. Tốc độ lan tơ nấm *Ganoderma lucidum* tại vị trí phân lập mũ nấm ở các mốc thời gian khác nhau (ngày 2, 4, 6, 8, 10)**



**Hình 2. So sánh tốc độ lan tơ nấm *Ganoderma lucidum* tại vị trí cuống nấm và mũ nấm ở ngày thứ 6**

### 3.2. Kết quả ảnh hưởng hàm lượng nitơ hữu cơ (cám bắp, cám gạo) đến sự phát triển hệ sợi nấm linh chi đỏ trên môi trường hạt (lúa)

Trong thí nghiệm này, ba công thức phối trộn (CT1, CT2, CT3) với nền cơ chất

chính là lúa (89%) đã được khảo sát nhằm đánh giá hiệu quả của các nguồn nitơ hữu cơ khác nhau (cám gạo, cám bắp). Kết quả về tốc độ lan tơ của hệ sợi nấm qua các ngày theo dõi được trình bày chi tiết tại bảng 2.

**Bảng 2. Tốc độ lan tơ nấm linh chi đỏ trên các môi trường hạt khác nhau**

Ngày	Tốc độ lan tơ nấm (mm)		
	CT1	CT2	CT3
4	0	0	0
5	6 <sup>C</sup> ±0,3	10 <sup>A</sup> ±0,7	7 <sup>B</sup> ±0,5
7	12 <sup>C</sup> ±0,9	30 <sup>A</sup> ±1,5	15 <sup>B</sup> ±1,2
9	37 <sup>C</sup> ±2,0	57 <sup>A</sup> ±2,6	47 <sup>B</sup> ±2,3
11	52 <sup>C</sup> ±3,5	75 <sup>A</sup> ±4,2	66 <sup>B</sup> ±3,9
13	70 <sup>C</sup> ±5,1	100 <sup>A</sup> ±6,7	85 <sup>B</sup> ±5,9

Ghi chú: Các chữ cái khác nhau (A, B,C) trong cùng một hàng biểu thị sự sai khác có ý nghĩa thống kê theo kiểm định Tukey ( $p < 0.05$ )



**Hình 3. Tốc độ lan tơ nấm linh chi đỏ tại các mốc thời gian khác nhau (ngày 5, 9, 13) ở 03 công thức**

Kết quả khảo sát trên môi trường hạt cho thấy sự khác biệt rõ rệt về tốc độ sinh trưởng và đặc điểm hệ sợi giữa ba công thức. CT2 (5% cám gạo + 5% cám bắp) cho hiệu quả cao nhất, đạt  $100 \pm 6,7$  mm và lan kín cơ chất vào ngày thứ 13; tiếp theo là CT3 (10% cám bắp) với  $85 \pm 5,9$  mm; thấp nhất là CT1 (10% cám gạo) đạt  $70 \pm 5,1$  mm. Tuy nhiên, chất lượng hệ sợi không hoàn toàn tỷ lệ thuận với tốc độ lan tơ, CT2 hình thành hệ sợi dày, trắng sữa và bám chắc, CT3 có xu hướng tơ mảnh, thưa, trong khi CT1 dù lan chậm nhưng hệ sợi đặc và ổn định.

Sự khác biệt này có thể liên quan đến tỷ lệ C/N và đặc tính dinh dưỡng của nguồn phụ gia. Theo Ritz (1995), trong điều kiện nguồn đạm khó hấp thu hoặc tỷ lệ C/N cao, nấm có xu hướng tăng cường sinh trưởng kéo dài hệ sợi nhằm mở rộng không gian tìm kiếm dinh dưỡng. Cám bắp với cấu trúc hạt xốp giúp tăng độ thoáng khí, thuận lợi cho lan tơ nhanh, nhưng hàm lượng lipid và vitamin thấp có thể hạn chế quá trình tích lũy sinh khối. Ngược lại, cám gạo giàu

protein dễ tiêu, lipid và vitamin nhóm B hỗ trợ tổng hợp thành tế bào và tăng mật độ hệ sợi, song đặc tính giữ ẩm và độ nén cao có thể làm giảm tốc độ lan tơ. Việc phối hợp hai nguồn dinh dưỡng trong CT2 vì vậy tạo được sự cân bằng giữa tốc độ sinh trưởng và chất lượng hệ sợi.

Dựa trên các chỉ tiêu theo dõi về tốc độ lan tơ và đặc điểm hệ sợi, công thức CT2 (89% lúa + 5% cám gạo + 5% cám bắp + 1%  $\text{CaCO}_3$ ) là môi trường nhân giống hạt tối ưu nhất trong phạm vi nghiên cứu.

### 3.3. Khảo sát khả năng mọc quả thể, năng suất của nấm linh chi ở điều kiện phòng thí nghiệm tại Trường Đại học Phan Thiết

#### 3.3.1. Khảo sát thời gian tơ nấm lan đầy túi phôi

Sau khi chọn lọc được công thức nhân giống tối ưu (CT2), thí nghiệm tiếp theo được tiến hành nhằm đánh giá khả năng thích nghi và phát triển của hệ sợi nấm trên môi trường nuôi trồng đại trà (mùn cưa cao su). Kết quả khảo sát diễn biến quá trình lan tơ trong túi phôi được trình bày tại Bảng 3.

**Bảng 3. Khảo sát thời gian tơ nấm lan đầy túi phôi**

Ngày	Tốc độ lan tơ (cm)	Ngày	Tốc độ lan tơ (cm)
Ngày 0 (bắt đầu cấy)	0	Ngày 14	$7,5 \pm 0,4$
Ngày 2	Tơ nấm bung trắng từ giống hạt (chưa đo được)	Ngày 16	$10,2 \pm 0,4$
Ngày 4	Tơ nấm bắt đầu lan trên bề mặt túi phôi (chưa đo được)	Ngày 18	$13,5 \pm 0,6$
Ngày 6	$0,9 \pm 0,1$	Ngày 20	$16,5 \pm 0,7$
Ngày 8	$2,1 \pm 0,1$	Ngày 22	$17,0 \pm 0,9$
Ngày 10	$3,6 \pm 0,2$	Ngày 24	$19,1 \pm 1,0$
Ngày 12	$5,4 \pm 0,3$	Ngày 26	$20,0 \pm 1,0$ Tơ lan kín túi phôi



**Hình 4. Tơ nấm linh chi lan trong túi phôi ở ngày thứ 16 sau cấy**

Bắt đầu từ ngày thứ 6, tốc độ lan tơ tăng tốc nhanh chóng. Tại ngày 6, chiều dài tơ đạt  $0,9 \pm 0,1$  cm. Đến ngày 16, tơ nấm đã lan  $\frac{1}{2}$  túi phôi, đạt  $10,2 \pm 0,4$  cm. Đặc biệt, trong khoảng từ ngày 14 đến ngày 20, tốc độ lan tơ rất ổn định (trung bình khoảng 1,5 cm/ngày). Tại ngày 26, hệ sợi đạt chiều dài  $20,0 \pm 1,0$  cm, hoàn thành việc phủ kín toàn bộ túi phôi. Hệ sợi nấm tại thời điểm này dày, trắng và bám chặt vào mùn cưa, tạo thành một khối rắn chắc (hình 4).

Về quan sát hình thái tơ nấm, chúng tôi nhận thấy tơ trắng sữa, dày, đặc trưng của nấm linh chi, thể hiện điều kiện môi trường phù hợp cho sự phát triển hệ sợi nấm.

Thời gian lan kín túi phôi 1,3 kg trong 26 ngày cho thấy hiệu quả phối hợp giữa công thức bổ sung dinh dưỡng và quy trình xử lý cơ chất. Sự tương đồng giữa môi trường nhân giống cấp 2 (CT2) và cơ chất nuôi trồng giúp hệ enzyme của nấm thích nghi nhanh, hạn chế “sốc dinh dưỡng” sau cấy. Bên cạnh đó, quá trình ủ mùn cưa bằng dung dịch nước vôi đóng vai trò then chốt trong việc phá vỡ các liên kết bền vững giữa lignin với cellulose và hemicellulose,

làm tăng độ trương nở và tính khả dụng của cơ chất. Sự biến đổi đặc tính vật lý-hóa học này giúp hệ enzyme cellulase của nấm dễ dàng tiếp cận và phân giải nguồn sợi cellulose, từ đó thúc đẩy tốc độ lan tơ và chiếm lĩnh cơ chất nhanh chóng của hệ sợi linh chi đỏ (Lee và cộng sự, 2022; Tang và cộng sự, 2025).

Kết quả này cho thấy sự tương đồng rất lớn với công bố của Nguyễn Xuân Lâm và cộng sự (2021), khi nhóm tác giả này ghi nhận thời gian lan tơ trung bình là 26,3 ngày trên nền cơ chất mùn cưa bò đê phối trộn rơm rạ. Điều này chứng minh rằng công thức phối trộn 5% cám bắp và 5% cám gạo mà chúng tôi sử dụng đã cung cấp nguồn dinh dưỡng cần thiết cho sự phát triển của hệ sợi.

### **3.3.2. Tỷ lệ túi phôi mọc quả thể và bị nhiễm**

Kết quả khảo sát trên 100 túi phôi được trình bày tại bảng 4 cho thấy có 93 túi phôi mọc quả thể, chiếm tỷ lệ 93%, trong khi đó có 7 túi phôi bị nhiễm, chiếm 7% tổng số mẫu khảo sát. Quan sát hình thái túi phôi nhiễm cho thấy tác nhân gây nhiễm chủ yếu là mốc xanh, đặc trưng của giống *Trichoderma*.

**Bảng 4. So sánh tỷ lệ túi phôi mọc quả thể và bị nhiễm**

Số lượng khảo sát	Tỷ lệ túi phôi mọc quả thể	Tỷ lệ túi phôi bị nhiễm
100 túi phôi	93	7
Tỷ lệ	93%	7%

Nguyên nhân nhiễm chúng tôi đánh giá đến từ khâu khử trùng phòng cấy chưa triệt để và thao tác cấy. Tỷ lệ mọc quả thể đạt 93% được xem là mức chấp nhận được trong điều kiện nuôi trồng nấm ở quy mô thực nghiệm.

**3.3.3. Khảo sát thời gian sinh trưởng, kích thước nấm linh chi đỏ**

Quá trình hình thành và phát triển quả thể được theo dõi liên tục từ ngày cấy giống (ngày 0) đến ngày thu hoạch (ngày 84). Diễn biến kích thước quả thể (đường kính và độ dày mũ nấm) được trình bày chi tiết tại Hình 5 và Bảng 5.

**Bảng 5. Thời gian sinh trưởng, kích thước nấm *Ganoderma lucidum***

Ngày thực hiện	Thông số kỹ thuật [đường kính (mm) x độ dày (mm)]	Ghi chú
Ngày 0	0	Cấy giống vào túi phôi
Ngày 20	0	Tơ nấm kết dày ở cổ nút túi phôi. Một số bịch phôi mạnh có sự xuất hiện của mầm nấm.
Ngày 26	0	Tơ ăn kín bịch phôi
Ngày 36	45,2±1,2 x 2,6±0,1	
Ngày 46	56,7±1,4 x 3,2±0,2	
Ngày 56	67,5±1,4 x 4,9±0,2	
Ngày 66	81,9±1,7 x 6,8±0,3	
Ngày 76	95,3±2,1 x 8,9±0,4	
Ngày 84	98,7±2,3 x 10,9±0,4	Thu hoạch lần 1
Ngày 120	72,3±1,5 x 4,5±0,3	Thu hoạch lần 2



**Hình 5. Các giai đoạn sinh trưởng của nấm tại ngày 36, 46, 56, 66 và 84**

Quá trình phát triển quả thể nấm linh chi đỏ diễn ra qua các giai đoạn biến đổi hình thái và kích thước rất đặc trưng. Ở pha sinh trưởng sinh dưỡng mạnh, đường kính mũ nấm đạt  $45,2 \pm 1,2$  mm tại ngày 36 và mở rộng gần gấp đôi lên  $81,9 \pm 1,7$  mm vào ngày 66, với tốc độ tăng trưởng trung bình khoảng 13-15 mm cho mỗi chu kỳ 10 ngày. Tuy nhiên, bước vào giai đoạn trưởng thành (từ ngày 76 đến ngày 84), tốc độ tăng bề ngang chững lại rõ rệt, chỉ nhích thêm khoảng 3,4 mm. Thay vào đó, nấm tập trung sinh khối để gia tăng độ dày đáng kể từ  $8,9 \pm 0,4$  mm lên  $10,9 \pm 0,4$  mm. Đến thời điểm ngày thứ 84, các đặc điểm sinh thái học báo hiệu độ chín đã xuất hiện hoàn toàn: viền sinh trưởng màu trắng ở mép nấm biến mất, bề mặt mũ chuyển màu nâu sẫm đồng nhất và bắt đầu giai đoạn phóng thích bào tử. Đây được xem là chỉ thị hình thái chuẩn xác nhất để xác định thời điểm thu hoạch tối ưu nhằm đảm bảo chất lượng và dược tính của nấm thương phẩm.

Sau khi thu hoạch lần 1, chúng tôi tiếp tục chăm sóc túi phôi nấm để thu hoạch lần 2. Kết quả sau 40 ngày kể từ ngày thu hoạch

lần 1, chúng tôi thu hoạch nấm linh chi đỏ lần 2 với đường kính mũ nấm trung bình đạt  $72,3 \pm 1,5$ mm.

Về các chỉ tiêu hình thái, độ dày mũ nấm trong nghiên cứu này gần tương đương với kết quả của Nguyễn Xuân Lâm và cộng sự (2021) trong nghiên cứu “*Nghiên cứu ảnh hưởng của cơ chất đến một số chỉ tiêu sinh trưởng, năng suất của nấm linh chi đỏ (Ganoderma lucidum)*”.

### 3.3.4. Hiệu suất sinh học

Trong nghiên cứu này, tổng khối lượng quả thể tươi trung bình thu được sau hai đợt thu hoạch đạt 64,5 g trên mỗi túi phôi (khối lượng cơ chất khô là 400 g). Theo đó, hiệu suất sinh học (BE) của quy trình đạt 16,13%. Đối với nấm linh chi đỏ nuôi trồng trên cơ chất mùn cưa, đây là mức hiệu suất rất khả quan, phản ánh năng lực sinh trưởng và chuyển hóa cơ chất tuyệt vời của chủng nấm trên nền cơ chất phối trộn (mùn cưa + 5% cám bắp + 5% cám gạo + 1% CaCO<sub>3</sub>).

Kết quả này có sự khác biệt nhất định khi so sánh với công bố của Mai Thị Hạnh Phúc

và cộng sự (2020), khi nhóm tác giả ghi nhận hiệu suất sinh học của chủng V01.10 đạt 6,32%. Sự khác biệt về các chỉ số năng suất này là hoàn toàn khách quan và hợp lý, phản ánh đặc tính sinh lý riêng biệt của từng chủng giống cũng như nguồn gốc cơ chất sử dụng.

#### 4. KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã xác định mô sinh dưỡng tại mũ nấm là nguồn phân lập tối ưu trên môi trường MP300 và công thức nhân giống hạt thích hợp nhất là 89% lúa + 5%

cám gạo + 5% cám bắp + 1%  $\text{CaCO}_3$ , cho hệ sợi sinh trưởng mạnh và ổn định. Trong điều kiện nuôi trồng thực nghiệm trên cơ chất mùn cưa phối trộn, chủng nấm linh chi đỏ (*Ganoderma lucidum*) lan kín túi phôi sau 26 ngày; thời điểm thu hoạch tối ưu lần 1 và lần 2 lần lượt là 84 và 120 ngày sau cấy giống. Quả thể thu hoạch đạt kích thước trung bình  $98,7 \pm 2,3$  mm (đường kính) và  $10,9 \pm 0,4$  mm (độ dày), với hiệu suất sinh học 16,13%, khẳng định tính khả thi của quy trình ở quy mô phòng thí nghiệm.

#### Thông tin tác giả:

**ThS. Lê Việt Kỳ** (\*Tác giả liên hệ), Khoa Khoa học Sức Khỏe, Trường Đại học Phan Thiết, tỉnh Lâm Đồng, Việt Nam

Email: lvky@upt.edu.vn

**BS,CKI. Nguyễn Văn Nhơn**, Khoa Khoa học Sức Khỏe, Trường Đại học Phan Thiết, tỉnh Lâm Đồng, Việt Nam

Email: nvnhon@upt.edu.vn

**BS,CKII. Nguyễn Bá Tông**, Khoa Khoa học Sức Khỏe, Trường Đại học Phan Thiết, tỉnh Lâm Đồng, Việt Nam

Email: nbtong@upt.edu.vn

**ThS. Tống Minh Phi**, Khoa Khoa học Sức Khỏe, Trường Đại học Phan Thiết, tỉnh Lâm Đồng, Việt Nam

Email: tmphi@upt.edu.vn

#### Đóng góp của các tác giả:

**Lê Việt Kỳ:** Hình thành ý tưởng nghiên cứu, xây dựng phương pháp, viết bản thảo gốc, chỉnh sửa và hoàn thiện bản thảo.

**Nguyễn Văn Nhơn:** Rà soát học thuật, góp ý nội dung.

**Nguyễn Bá Tông:** Rà soát học thuật, góp ý nội dung.

**Tống Minh Phi:** Thu thập dữ liệu, phân tích dữ liệu.

#### Thông tin bài báo:

**Ngày nhận bài:** 08/01/2026

**Ngày hoàn thiện biên tập:** 06/03/2026

**Ngày duyệt đăng:** 07/03/2026

#### Ghi chú

Các tác giả xác nhận không có tranh chấp về lợi ích đối với bài báo này.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

Ahmad, M. F. (2021). Ganoderma lucidum: Persuasive biologically active constituents and their health endorsement. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, *138*, 111525.

<https://doi.org/10.1016/j.biopha.2021.111525> Bishop, K. S., Kao, C. H. J., Xu, Y., Glucina, M. P., Paterson, R. R. M., & Ferguson, L. R. (2015). From 2000 years of Ganoderma lucidum to recent developments in nutraceuticals. *Phytochemistry*, *114*, 56–65. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2015.02.015>

Cao, Q. Z., & Lin, Z. B. (2004). Ganoderma lucidum polysaccharides in cancer treatment. *Acta Pharmacologica Sinica*, *25*(4), 373–380.

Lee, J., Ryu, D., Jang, K. H., Lee, J. W., & Kim, D. (2022). Influence of different pretreatment methods and conditions on the anaerobic digestion efficiency of spent mushroom substrate. *Sustainability*, *14*(23), 15854. <https://doi.org/10.3390/su142315854>

Liu, S.-R., Zhang, W.-R., Chen, A.-P., & Kuang, Y.-B. (2016). Investigating the effect of tissue size on mycelial growth of seven mushroom species by using a novel device for precise tissue isolation. *Indian Journal of Microbiology*, *56*(4), 516–521.

<https://doi.org/10.1007/s12088-016-0615-3>

Mai, P. T. H., Phan, H. T. H., Phạm, V. T. H., Nguyễn, P. T. P., & Nguyễn, A. T. (2020). Nghiên cứu khảo sát một số đặc điểm sinh học của 3 chủng nấm linh chi được phân lập từ tự nhiên. *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*, *56*(5B), 110-117.

<https://doi.org/10.22144/ctu.jvn.2020.119>

Nguyễn, L. X., Nguyễn, T. P., Phạm, V. T., & Ngô, T. V. (2021). Nghiên cứu ảnh hưởng của cơ chất đến một số chỉ tiêu sinh trưởng, năng suất của nấm linh chi đỏ (Ganoderma lucidum). *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Sư phạm Hà Nội*, *66*(1), 165-174. <https://doi.org/10.18173/2354-1059.2021-0020>

Paterson, R. R. M. (2006). Ganoderma—A therapeutic fungal biofactory. *Phytochemistry*, *67*(18), 1985–2001. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2006.07.004>

Ritz, K. (1995). Growth responses of some soil fungi to spatially heterogeneous nutrients. *FEMS Microbiology Ecology*, *16*(4), 269–279.

Synytsya, A., Bleha, R., Skrynnikova, A., Babayeva, T., Čopíková, J., Kvasnička, F., & cộng sự. (2023). Mid-infrared spectroscopic study of cultivating medicinal fungi Ganoderma: Composition, development, and strain variability of basidiocarps. *Journal of Fungi*, *10*(1), 23. <https://doi.org/10.3390/jof10010023>

Tang, C., Wang, Z., Xu, C., Zhang, M., Sajid, A. Q., & Ying, H. (2025). Alkali densification pretreatment of lignocellulose for improving the production of *Pleurotus ostreatus*. *Food Bioscience*, 73, 107581. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2025.107581>

Trịnh, K. T. (2011). *Nấm lớn ở Việt Nam*. Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật.

Wasser, S. P. (2005). Reishi or Lingzhi (*Ganoderma lucidum*). In P. Coates, M. Blackman, G. Cragg, M. Levine, J. Moss, & J. White (Eds.), *Encyclopedia of Dietary Supplements* (pp. 680–690). Marcel Dekker.

Zhou, J., Kang, L., Liu, C., Niu, X., Wang, X., Liu, H. (2019). Chitinases play a key role in stipe cell wall extension in the mushroom *Coprinopsis cinerea*. *Applied and Environmental Microbiology*, 85(15), e00532-19. <https://doi.org/10.1128/AEM.00532-19>

Zhu, Y. P. (1998). *Chinese Materia Medica*. Harwood Academic Publishers.

# DEVELOPMENT OF ISOLATION, SPAWN PRODUCTION, AND LABORATORY-SCALE CULTIVATION PROTOCOLS FOR RED REISHI MUSHROOM (*GANODERMA LUCIDUM*) AT UNIVERSITY OF PHAN THIET

**Le Viet Ky\***, Nguyen Van Nhon, Nguyen Ba Tong, Tong Minh Phi

*Faculty of Health Sciences, University of Phan Thiet, Lam Dong Province, Vietnam*

**Abstract:** *This study was conducted to establish standardized breeding and cultivation protocols for the red Lingzhi mushroom (*Ganoderma lucidum*) at the University of Phan Thiet. Experimental results demonstrated that mycelial isolates derived from the pileus exhibited significantly superior growth rates compared to those from the stipe, achieving a colony diameter of  $79.1 \pm 3.5$  mm after 10 days ( $p < 0.05$ ). Among the evaluated grain-based media, formula CT2 (comprising 89% paddy, 5% rice bran, 5% corn bran, and 1%  $\text{CaCO}_3$ ) supported the most robust mycelial development. During cultivation on sawdust-based substrates, the average mycelial colonization period was 26 days, with a fruiting body formation rate of 93%. The initial harvest was recorded at 84 days, yielding a total biological efficiency (BE) of 16.13%. These findings validate the feasibility of the proposed protocol utilizing pileus-derived isolates and the CT2 spawn formula, providing a critical foundation for the local commercial-scale production of *Ganoderma lucidum*.*

**Keywords:** *culture medium, *Ganoderma lucidum*, isolation, red reishi mushroom*

## **Author Information:**

**M.Sc Le Viet Ky** (\*Corresponding author), Faculty of Health Sciences, University of Phan Thiet, Lam Dong Province, Vietnam

Email: lvky@upt.edu.vn

**MD, Specialist Level I. Nguyen Van Nhon**, Faculty of Health Sciences, University of Phan Thiet, Lam Dong Province, Vietnam

Email: nvnhon@upt.edu.vn

**MD, Specialist Level II. Nguyen Ba Tong**, Faculty of Health Sciences, University of Phan Thiet, Lam Dong Province, Vietnam

Email: nbtong@upt.edu.vn

**M.Sc Tong Minh Phi**, Faculty of Health Sciences, University of Phan Thiet, Lam Dong Province, Vietnam

Email: tmphi@upt.edu.vn

## **Note**

The authors declare no competing interests regarding this article.