

ĐẶC ĐIỂM SINH HỌC CỦA NẤM THƯỢNG HOÀNG (*Phellinus linteus*) TRONG NUÔI CẤY THUẦN KHIẾT

Phạm Quang Thu

Trung tâm Nghiên cứu Bảo vệ rừng, Viện Khoa học Lâm nghiệp Việt Nam

Từ khóa: Đặc điểm sinh học, nuôi cấy thuần khiết, *Phellinus linteus*, sinh trưởng của hệ sợi

TÓM TẮT

Nấm Thượng hoàng (*Phellinus linteus*) là một loài nấm dược liệu nổi tiếng ở các nước phương Đông với các hoạt tính sinh học phong phú, đặc biệt trong phòng chống ung thư. Việc khai thác loài nấm này chủ yếu được thu hái ngoài tự nhiên và đang có nguy cơ tuyệt chủng. Các nghiên cứu về đặc điểm sinh học trong nuôi cấy thuần khiết rất cần thiết và có thể ứng dụng để nuôi trồng thể quả. Nghiên cứu đặc điểm sinh học của nấm Thượng hoàng (*P. Linteus*) trong nuôi cấy thuần khiết được tiến hành với 3 công thức môi trường (PDA, GYA và PGA), 6 công thức nhiệt độ (10°C, 15°C, 20°C, 25°C, 30°C và 35°C), 6 công thức ẩm độ (75%, 80%, 85%, 90%, 95% và 100%), 4 công thức thời gian nuôi cấy. Kết quả cho thấy hệ sợi nấm *P. linteus* sinh trưởng tốt nhất khi cấy trên môi trường PDA (2,92mm/ngày) và PGA (2,71mm/ngày). Sợi nấm sinh trưởng tốt nhất trong khoảng nhiệt độ từ 20°C đến 30°C và sinh trưởng nhanh nhất ở nhiệt độ 25°C, đạt 2,34mm/ngày. Nấm Thượng hoàng sinh trưởng tốt khi được nuôi ở độ ẩm từ 90% trở lên, tốt nhất là 95%, tốc độ trung bình đạt 3,68mm/ngày. Thời gian nuôi trồng, từ khi cấy nấm đến khi thu hoạch thích hợp là từ 26 ngày, khối lượng sinh khối tươi thu được đạt 19,2g/100ml môi trường.

Studies on the biological characteristics of *Phellinus linteus* in pure culture

Keywords: Biological characteristics, mycelial growth, *Phellinus linteus*, pure culture

Phellinus linteus is a well - known Oriental medicinal fungus with a variety of biological activities, especially anti - tumor activities. This material is now widely collected in nature and as such has become extinct. Studies on the biological characteristics in pure culture are needed and the results can be used for fruiting body cultivation. Studies on the biological characteristics of *Phellinus linteus* in pure culture were conducted with three kinds of nutrient media: PDA (potato dextrose agar), GYA (glucose and yeast extract) and PGA (potato glucose agar), six temperature treatments (10°C, 15°C, 20°C, 25°C, 30°C and 35°C), six relative humidity (RH) conditions (75%, 80%, 85%, 90%, 95% and 100%) and the time of harvesting of mycelial mass production. The results showed that the fungal growth increment reached highest values when mycelia were cultivated in PDA (2.92 mm/day) and PGA (2.71 mm/day). Good growth of mycelia were recorded when cultures were cultivated in temperatures from 20 to 30°C and the best growth increment was in 25°C, at a rate of 2.34mm/day. Mycelia grew well at a relative humidity over 90% and achieved an optimal rate of growth at 95% RH, growing 3.68 mm/day. The time required for cultivation from mass mycelial production was approximately 26 days, achieving a mass of 19.2gm fresh mycelia per 100ml of media.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Từ hàng ngàn năm phát triển của loài người, chúng ta đã biết sử dụng các dược liệu có sẵn trong tự nhiên để chữa bệnh và nâng cao sức khỏe. Các loài cỏ, cây, hoa, lá xung quanh chúng ta có rất nhiều công dụng y học quý giá mà chúng ta đang hàng ngày sử dụng cũng như đang tìm tòi nghiên cứu để tìm ra thêm các công dụng của chúng. Trong số các dược liệu mà con người thường sử dụng và được đánh giá cao là các loài nấm. Chúng đã được dùng hàng nghìn năm qua trong y học cổ truyền của nhiều nước trên thế giới như: Linh Chi (*Ganoderma lucidum*), Nấm Lim chi đa niên (*Ganoderma applanatum*, *Ganoderma australe*, *Phellinus igninarius*, *Fomitopsis pinicola*...), Nấm vân chi (*Coriolus versicolor*), Nấm đầu khi (*Hericium erinaceus*), nấm Đông trùng hạ thảo (*Cordyceps sinensis*, *Cordyceps militaris* và *Isaria ternuipes*)... (Han *et al.*, 1995; Itoh *et al.*, 2004). Trong các loài nấm dược liệu quý đó, nấm Thượng hoàng hay Hoàng sơn (tên Việt Nam), Sanghwang (theo cách gọi của người Hàn Quốc), Song gen (Trung Quốc) và Mesimakobu (Nhật Bản) có tên khoa học là *Phellinus linteus* đang được nghiên cứu trong điều trị và phòng ngừa ung thư rất hiệu quả và là dược liệu quý được sử dụng trong các thang thuốc đông y từ nhiều thế kỷ qua (Ikekawa *et al.*, 1968; Han *et al.*, 1995). Hợp chất hóa học quan trọng được tách chiết từ dung môi ethyl acetate từ thể quả nấm được xác định là axit protocatechic, protocatechualdehyde, axit caffeic, axit ellagic, hispidin, davallialactone, hypholomine B, interfungins A và inoscavin (Kim *et al.*, 2004). Một trong số đó interfungins A là một chất ức chế mạnh protein glycation (một protein gây suy yếu mạch máu gây đột quỵ) (Ikekawa *et al.*, 1968; Han *et al.*, 1995). Nhiều nhà nghiên cứu cũng đã báo cáo rằng polysaccharide chiết xuất từ hệ sợi *P. linteus* đã kích thích miễn dịch chống lại khối u, ức chế khối u phát triển và di căn

(Miyazaki *et al.*, 1974; Kojima *et al.*, 2006). Những nghiên cứu về loài nấm này đã chỉ ra có đặc tính phòng chống tế bào ung thư phổi và ung thư tuyến tiền liệt và một số loại tế bào ung thư khác (Chen *et al.*, 2006). Khi tiến hành thí nghiệm với các tế bào ung thư vú ở người, các nhà khoa học nhận thấy loài nấm này có khả năng hạn chế hiệu quả enzym AKT, loại enzym kích thích tế bào ung thư phát triển (Ikekawa *et al.*, 1968).

Ở Việt Nam hiện nay, nguồn nguyên liệu này chỉ thu hái ngoài tự nhiên và ngày càng trở nên khan hiếm, thường phải nhập khẩu ở các nước như Nhật Bản, Hàn Quốc, Trung Quốc với giá cao cũng như khó có thể kiểm soát được chất lượng. Vì vậy, cần có các nghiên cứu cơ sở để nuôi trồng loài nấm này trên giá thể nhân tạo, nghiên cứu điều kiện sinh trưởng tối ưu nhất cho sự sinh trưởng của hệ sợi như môi trường dinh dưỡng, nhiệt độ không khí, ẩm độ không khí trong nuôi cấy thuần khiết và nghiên cứu nhân sinh khối hệ sợi và xác định thời gian thu hoạch. Những nghiên cứu này là rất cần thiết, có ý nghĩa không chỉ về mặt khoa học mà còn có ý nghĩa thực tiễn lớn trong nghiên cứu cơ sở nuôi trồng nấm Thượng hoàng ở Việt Nam.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Chủng nấm PL108, thuộc loài *Phellinus linteus* được phân lập và làm thuần từ thể quả nấm thu ngoài tự nhiên và được lưu trữ tại phòng thí nghiệm Trung tâm Nghiên cứu Bảo vệ rừng, Viện Khoa học Lâm nghiệp Việt Nam.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Phương pháp nghiên cứu ảnh hưởng của môi trường dinh dưỡng đến sinh trưởng của hệ sợi:

Thí nghiệm được tiến hành trên 2 loại môi trường dinh dưỡng cơ bản đang được áp dụng cho nuôi cấy nhiều loại nấm nhằm tìm ra môi trường dinh dưỡng tối ưu cho sinh trưởng của

nấm *P. linteus*, thành phần của các môi trường như sau:

CT1: môi trường PDA (20g Dextrose + 17g Agar + 200 g khoai tây + 1000ml nước).

CT2: môi trường GYA (40g Glucose + 20g yeast extract + 0,36g K_2HPO_4 + 1g KH_2PO_4 + 0,5g $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ + 1ml Mineral salt + 17g Agar + 1000 ml nước).

CT3: môi trường PGA (20g Glucose + 17g Agar + 200 g khoai tây + 1000ml nước).

Chuẩn bị môi trường nuôi cấy: đối với môi trường có khoai tây, khoai tây được đun lấy nước, liều lượng 200 gam/lít. Tất cả các môi trường của 2 công thức sau khi pha chế được đổ 250ml vào bình tam giác dung tích 500ml, hấp khử trùng ở nhiệt độ 121°C (tương đương áp suất 1atm) trong thời gian 30 phút. Sau thời gian hấp tiến hành đưa môi trường vào tủ cấy để đợi cho nguội rồi đổ môi trường vào các hộp lồng. Chủng nấm *P. linteus* được cấy tại 1 điểm chính giữa của hộp lồng, nuôi nấm trong các tủ định ôn có nhiệt độ 28°C, mỗi công thức 10 hộp lồng sau 10 ngày đo đường kính khuẩn lạc theo 2 chiều vuông góc ở các công thức thí nghiệm. Thí nghiệm được lặp lại 3 lần. Đánh giá tốc độ phát triển của hệ sợi ở các công thức thí nghiệm trên cơ sở đường kính trung bình của khuẩn lạc chia cho tổng số ngày nuôi cấy (10 ngày) của các công thức thí nghiệm. Độ dày của hệ sợi nấm được xác định theo phương pháp của Schwantes và đồng tác giả (1971). Trong số các môi trường nuôi cấy, lấy hệ sợi nấm sinh trưởng ở môi trường GYA làm chuẩn với độ dày khuẩn lạc 1,0.

Phương pháp nghiên cứu ảnh hưởng của nhiệt độ không khí đến sinh trưởng của hệ sợi

Thí nghiệm được thực hiện trên môi trường dinh dưỡng PDA (môi trường tốt nhất từ thí nghiệm xác định môi trường dinh dưỡng). Thí nghiệm được tiến hành nuôi cấy nấm với tủ định ôn ở các thang nhiệt độ không khí khác nhau: 10°C, 15°C, 20°C, 25°C, 30°C và 35°C.

Đổ môi trường dinh dưỡng PDA đã khử trùng vào đĩa Petri một lớp dày 2 - 3mm. Chủng nấm *P. linteus* 5 ngày tuổi được cấy tại 1 điểm chính giữa của hộp lồng, nuôi nấm trong các tủ định ôn có nhiệt độ 25°C, mỗi công thức 10 hộp lồng sau 10 ngày đo đường kính khuẩn lạc theo 2 chiều vuông góc ở các công thức thí nghiệm. Thí nghiệm được lặp lại 3 lần. Đánh giá tốc độ phát triển của hệ sợi ở các công thức thí nghiệm trên cơ sở đường kính trung bình của khuẩn lạc chia cho tổng số ngày nuôi cấy (10 ngày) của các công thức thí nghiệm. Độ dày của hệ sợi nấm được xác định theo phương pháp của Schwantes và đồng tác giả (1971). Trong số các thang nhiệt độ nuôi cấy, lấy độ dày khuẩn lạc sinh trưởng ở 35°C làm chuẩn là 1,0.

Phương pháp nghiên cứu ảnh hưởng của độ ẩm không khí đến sinh trưởng của hệ sợi

Độ ẩm không khí được tạo ra trong các bình hút ẩm theo phương pháp của Booth (1971). Tạo độ ẩm không khí khác nhau trong bình hút ẩm kín bằng dung dịch muối NaCl được pha với các nồng độ khác nhau. Tại nồng độ muối natri clorua bão hòa ở 25°C độ ẩm không khí trong bình kín có giá trị là 75%. Giảm nồng độ muối ta sẽ có các thang độ ẩm không khí khác nhau. Tương ứng với nồng độ muối và các thang độ ẩm tương đối như sau:

Độ ẩm (%)	100	95	90	85	80	75
NaCl (g/lít)	0	8	16	24	32	40

Dung dịch muối natri clorua pha xong đổ vào bình hút ẩm loại lớn (100cm³), đặt nắp bình, để ở phòng thí nghiệm, trong tối có nhiệt độ không khí khoảng 25°C. Sau 3 ngày trong các bình hút ẩm với nồng độ muối natri clorua khác nhau sẽ có độ ẩm không khí khác nhau, phụ thuộc vào nồng độ của NaCl. Môi trường PDA sau khi hấp khử trùng được đổ vào hộp lồng đã được khử trùng một lớp dày 2 - 3 mm. Chủng nấm *P. linteus* 5 ngày tuổi được cấy tại 1 điểm chính giữa của hộp lồng, nuôi nấm trong các tủ định ôn có nhiệt độ 25°C, mỗi

công thức 10 hộp lồng sau 10 ngày đo đường kính khuẩn lạc theo 2 chiều vuông góc ở các công thức thí nghiệm. Thí nghiệm được lặp lại 3 lần. Đánh giá tốc độ phát triển của hệ sợi ở các công thức thí nghiệm trên cơ sở đường kính trung bình của khuẩn lạc chia cho tổng số ngày nuôi cấy (10 ngày) của các công thức thí nghiệm. Độ dày của hệ sợi nấm được xác định theo phương pháp của Schwantes và đồng tác giả (1971). Trong số các thang độ ẩm nuôi cấy nấm, lấy độ dày khuẩn lạc nuôi cấy ở độ ẩm không khí 75% làm chuẩn với độ dày 1,0.

Phương pháp xác định thời gian nhân sinh khối hệ sợi:

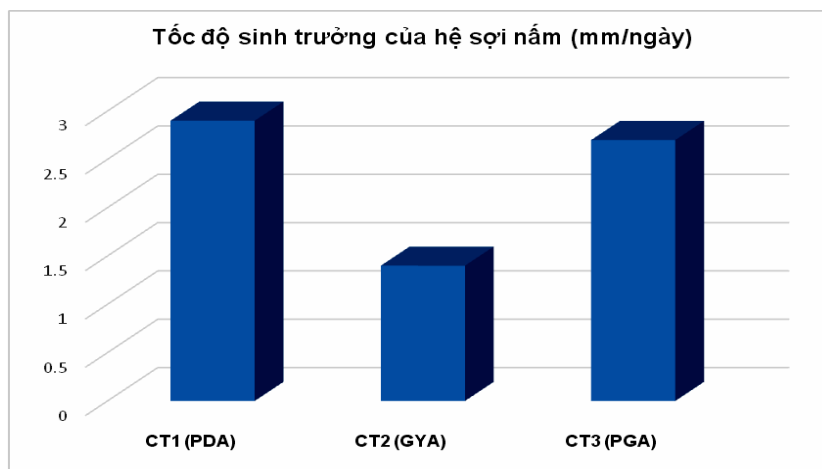
Môi trường nhân sinh khối hệ sợi được xác định là môi trường nước khoai tây 200g/lit và 20g dextrose. Môi trường dinh dưỡng được đổ vào bình tam giác 500ml, mỗi bình 100ml môi trường dinh dưỡng. Mỗi bình thí nghiệm được cấy 1 đĩa nấm 5 ngày tuổi có đường kính 1cm.

Tổng số bình thí nghiệm là 40 bình, thu sinh khối hệ sợi nấm sau 14 ngày nuôi cấy tĩnh ở 10 bình nuôi cấy và cứ sau 4 ngày tiếp theo (ngày thứ 18, ngày thứ 22 và ngày thứ 26) thu sinh khối hệ sợi ở 10 bình nuôi cấy. Thí nghiệm được lặp lại 3 lần. Đánh giá kết quả thí nghiệm là trọng lượng tươi, trọng lượng khô theo các thời gian nuôi cấy khác nhau.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Sinh trưởng của nấm trên các môi trường dinh dưỡng

Thí nghiệm được tiến hành trên các loại môi trường dinh dưỡng cơ bản đang được áp dụng cho nuôi cấy nhiều loại nấm nhằm tìm ra môi trường dinh dưỡng tối ưu cho sinh trưởng của nấm *P. linteus*. Kết quả đánh giá sinh trưởng của hệ sợi nấm khi nuôi cấy trên các công thức môi trường dinh dưỡng khác nhau được thể hiện ở hình 1.



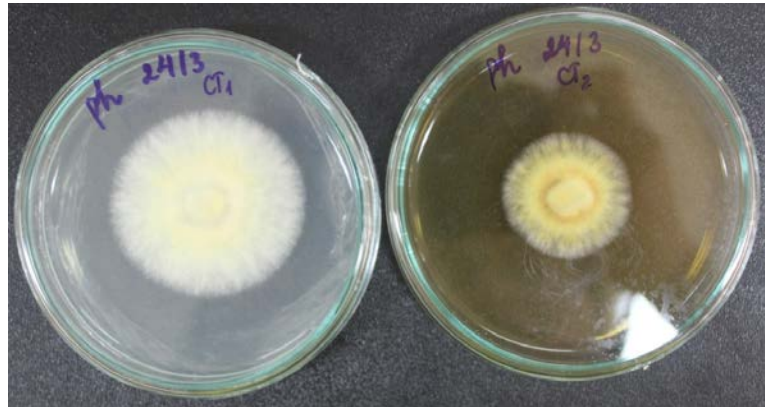
Hình 1. Sinh trưởng của hệ sợi nấm trên các môi trường dinh dưỡng khác nhau

Với kết quả như trình bày ở biểu đồ trên cho thấy tốc độ sinh trưởng của hệ sợi nấm *P. linteus* trên 3 loại môi trường dinh dưỡng có sự khác nhau rõ rệt, nhanh nhất trên môi trường PDA (2,92 mm/ngày) và chậm nhất trên môi trường GYA (1,41mm/ngày). Ngoài ra có sự khác nhau rõ rệt về màu sắc của nấm và độ dày hệ sợi nấm khi được nuôi trên các môi trường khác nhau. Trên môi trường GYA

hệ sợi nấm *P. linteus* có màu trắng khi non rồi chuyển sang màu trắng ngà và khi già có màu vàng đậm; nhưng trên PDA, hệ sợi nấm có màu trắng và bông hơn hẳn với độ dày hệ sợi gấp 2,5 lần độ dày hệ sợi trên GYA (hình 2). Tốc độ sinh trưởng của hệ sợi nấm *P. linteus* trên môi trường PGA cũng đạt hiệu quả cao, gần bằng với khi cấy trên PDA, hơn nữa đường glucose rẻ hơn, dễ mua hơn đường

dextrose. Do đó, khi triển khai sản xuất đại trà hoàn toàn có thể thay sử dụng môi trường

PGA để nuôi trồng nấm Thượng hoàng thay thế cho môi trường PDA.

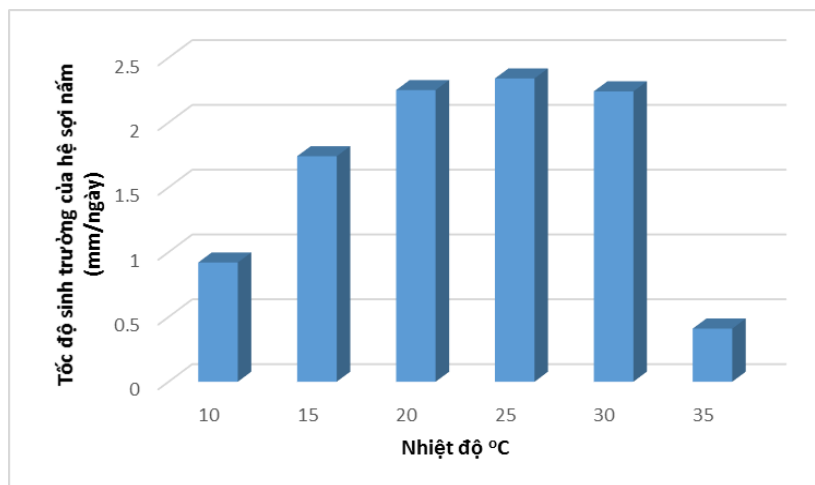


Hình 2. Hệ sợi nấm sinh trưởng trên môi trường dinh dưỡng khác nhau

3.2. Nghiên cứu ảnh hưởng của nhiệt độ không khí đến sinh trưởng của hệ sợi nấm

Yếu tố nhiệt độ rất quan trọng đối với quá trình nuôi cấy nấm trong điều kiện thuần khiết. Nhiệt độ không khí ảnh hưởng rất lớn đến sự nảy mầm của bào tử, quyết định tốc độ sinh

trưởng của hệ sợi cũng như thời gian hình thành thể quả của nấm. Thí nghiệm với 6 thang nhiệt độ khác nhau, tốc độ sinh trưởng trung bình của hệ sợi nấm sau 10 ngày nuôi cấy được trình bày ở hình 3.



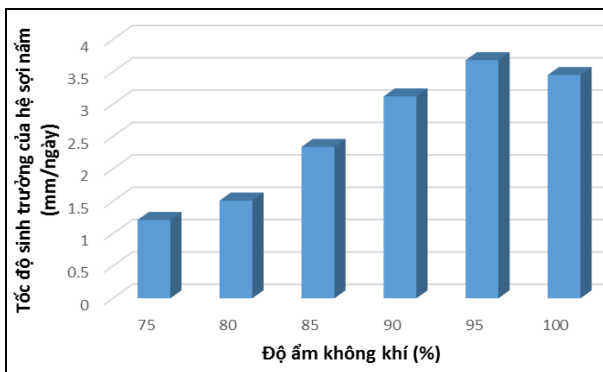
Hình 3. Tốc độ sinh trưởng trung bình của hệ sợi nấm ở các thang nhiệt độ

Tốc độ sinh trưởng của hệ sợi nấm khác nhau khi nuôi cấy ở các thang nhiệt độ khác nhau. Hệ sợi nấm sinh trưởng tốt nhất trong khoảng nhiệt độ từ 20°C đến 30°C, và sinh trưởng nhanh nhất ở nhiệt độ 25°C, đạt mức 2,34mm/ngày. Khi nhiệt độ không khí cao, ở 35°C, tốc độ sinh trưởng là thấp nhất với tốc độ 0,41mm/ngày. Bên cạnh sự khác nhau về tốc độ sinh trưởng, độ dày và màu sắc hệ sợi

cũng có sự khác nhau khi nuôi cấy ở các thang nhiệt độ khác nhau. Ở nhiệt độ thích hợp cho nấm sinh trưởng, nấm có độ dày hệ sợi lớn nhất, đạt 2,0mm, gấp 2 lần so với ở 35°C, hệ sợi nấm có màu vàng tươi đúng với màu của thể quả thu hái ngoài tự nhiên. Còn ở các điều kiện nhiệt độ khác sinh trưởng thì hệ sợi nấm mỏng hơn và có màu sắc vàng đậm hơn.

3.3. Nghiên cứu ảnh hưởng của ẩm độ đến sinh trưởng của hệ sợi

Cùng với nhiệt độ không khí, độ ẩm tương đối cũng là nhân tố quan trọng quyết định đến hiệu quả trong việc nuôi cấy nấm. Do đó nghiên cứu ảnh hưởng của độ ẩm không khí đến sinh trưởng của hệ sợi nấm có ý nghĩa rất quan trọng đến hiệu quả kinh tế trong việc nuôi trồng nấm. Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của ẩm độ đến sinh trưởng của hệ sợi được thể hiện ở hình 4.



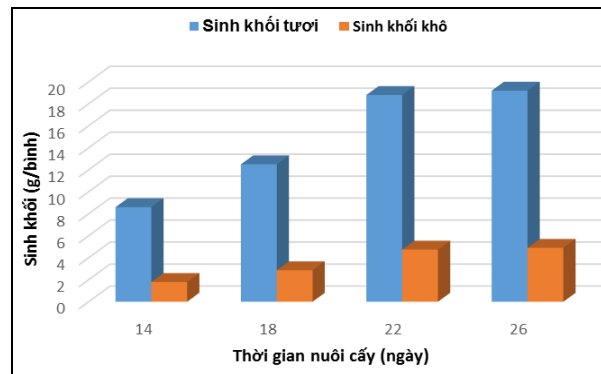
Hình 4. Ảnh hưởng của độ ẩm không khí đến sinh trưởng của hệ sợi nấm

Qua kết quả nghiên cứu ở biểu đồ trên cho thấy nấm có thể sinh trưởng phát triển ở biên độ độ ẩm từ 75% đến 100% nhưng có sự khác biệt lớn về tốc độ phát triển trong các thang độ ẩm đã nghiên cứu, ở độ ẩm không khí 95% sinh trưởng của hệ sợi đạt mức cao nhất (3,68mm/ngày) còn ở độ ẩm không khí 75% sinh trưởng ở mức thấp nhất, chỉ đạt 1,21mm/ngày. Với độ ẩm từ 90% trở lên, hệ sợi nấm sinh trưởng vượt trội với tốc độ sinh trưởng đều đạt trên 3mm/ngày.

3.4. Xác định thời gian nhân sinh khối hệ sợi

Biết được thời gian nuôi nấm ở dạng hệ sợi, thời điểm thu hoạch thích hợp sẽ có ý nghĩa rất lớn trong việc nuôi cấy nấm. Đồng thời sinh khối và hoạt chất hóa học của nấm chỉ đạt tối đa trong thời gian nuôi cấy nhất định. Nấm *P. linteus* được nuôi trong môi trường PD, thu hoạch nấm ở trong các khoảng thời gian nuôi cấy khác nhau: sau 14, 18, 22 và 26 ngày. Kết

quả xác định trọng lượng tươi, trọng lượng khô của hệ sợi ở các khoảng thời gian nuôi cấy khác nhau được trình bày ở hình 5.



Hình 5. Sinh khối hệ sợi nấm sau những khoảng thời gian nuôi khác nhau

Qua biểu đồ cho thấy với thời gian nuôi cấy 26 ngày khối lượng hệ sợi trung bình thu được là lớn nhất với 19,2g sinh khối tươi/bình và 4,9g sinh khối khô/bình, vượt 53,6% về sinh khối tươi và 71,0% về sinh khối khô so với thời điểm 18 ngày. Tuy nhiên, không sai khác đáng kể so với sinh khối hệ sợi nấm thu được ở thời điểm 22 ngày (18,8g sinh khối tươi/bình và 4,7g sinh khối khô/bình), điều này chứng tỏ khối lượng hệ sợi của nấm Thượng hoàng sẽ cao nhất nếu thu hoạch vào thời gian 22 - 26 ngày đồng thời không làm giảm chất lượng hệ sợi. Nếu để lâu thì màu sắc của hệ sợi sẽ thay đổi từ màu vàng tươi sang màu nâu sậm.



Hình 6. Sản phẩm hệ sợi nấm *P. linteus* nuôi cấy nhân tạo

Nghiên cứu xác định thời gian thu hoạch hệ sợi nấm vào thời điểm nào là phù hợp tốt và cho năng suất cao nhất là điều rất quan trọng. Sinh trưởng của nấm nói riêng và sinh vật nói chung bao giờ cũng có một thời gian tối ưu. Sợi nấm chỉ sinh trưởng đến một chừng mực nào đó rồi sẽ bị già, sinh trưởng chậm, khả năng đề kháng kém. Nếu để lâu sẽ lãng phí thời gian mà năng suất hệ sợi không tăng, dẫn đến hiệu quả kinh tế thấp. Ngoài ra, nếu thu hoạch quá non hay quá già sẽ không đạt yêu cầu để làm giống cho các vụ nuôi trồng tiếp theo vì nấm sẽ có xu hướng sinh trưởng chậm, sợi nấm bị vàng nâu và dễ bị thoái hoá giống. Thời điểm thu hoạch hệ sợi làm giống tốt nhất là lúc hệ sợi nấm còn vàng, bông và khoẻ.

IV. KẾT LUẬN

Hệ sợi nấm *P. linteus* sinh trưởng tốt nhất khi cấy trên môi trường PDA và PGA, tốc độ sinh

trưởng của hệ sợi nấm trên PDA đạt 2,92 mm/ngày, vượt 106% so với khi cấy trên GYA. Tuy nhiên có thể sử dụng môi trường PGA thay thế môi trường PDA khi triển khai sản xuất đại trà.

Hệ sợi nấm *P. linteus* sinh trưởng tốt nhất trong khoảng nhiệt độ từ 20°C đến 30°C, và sinh trưởng nhanh nhất ở nhiệt độ 25°C, đạt 2,34 mm/ngày. Khi nhiệt độ không khí quá thấp (10°C) hoặc quá cao (35°C), tốc độ sinh trưởng của hệ sợi nấm chậm hơn đáng kể.

Nấm *P. linteus* sinh trưởng tốt khi được nuôi ở độ ẩm từ 90% trở lên, tốt nhất là 95%, tốc độ trung bình đạt 3,68mm/ngày. Khi độ ẩm không khí giảm, tốc độ sinh trưởng của nấm chậm lại và kém nhất ở công thức độ ẩm 75%.

Thời gian nuôi cấy nấm *P. linteus* phù hợp là từ 22 - 26 ngày, khối lượng hệ sợi thu được là lớn nhất tương ứng là 18,8g và 19,2g sinh khối tươi/bình.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Booth, C.P., 1971. Methods of microbiology, Tom 4, London New York.
2. Chen, W., He, F.Y. and Li, Y.Q., 2006. The apoptosis effect of hispolon from *Phellinus linteus* (Berkeley & Curtis) Teng on human epidermoid KB cells. *Ethnopharmacol* (105), pp. 280 - 285.
3. Han, M.W., Ko, K.S. and Chung, K.S., 1995. Korea Patent Open, pp. 95 - 7860.
4. Ikekawa, T., Nakanishi, M., Uehara, N., Chihara, G. and Fukuoka, F., 1968. Antitumor action of some Basidiomycetes, especially *Phellinus linteus*. *Gann* (59), pp. 155 - 157.
5. Itoh, S., Tanaka, R., Kato, S., Haruna, M., Kishimoto, K., Hirayama, H., Goda, Y., Mizukami, H. and Ogihara, Y., 2004. Identification of novel substituted fused aromatic compounds, meshimakobnol A and B, from natural *Phellinus linteus* fruit body. *Tetrahedron Lett* (45), pp. 5931 - 5933.
6. Kim, G.Y., Oh, W.K., Shin, B.C., Shin, Y.I., Park, Y.C., Ahn, S.C., Lee, J.D., Bae, Y.S., Kwak, J.Y. and Park, Y.M., 2004. Proteoglycan isolated from *Phellinus linteus* inhibits tumor growth through mechanisms leading to an activation of CD11c+CD8+ DC and type I helper T cell - dominant immune state. *FEBS Lett* 576: pp. 391 - 400.
7. Kojima, H., Tanigawa, N., Kariya, S., Komemushi, A., Shomura, Y., Sawada, S., Arai, E. and Yokota, Y., 2006. A case of spontaneous regression of hepatocellular carcinoma with multiple lung metastases. *Radiat Med* (24), pp. 139 - 142.
8. Miyazaki, T., Yadomae, T., Sugiura, M., Ito, H. and Fujii, K., 1974. Chemical structure of antitumor polysaccharide, coriolan, produced by *Coriolus versicolor*. *Chem Pharm Bull* (22), pp. 1739 - 1742.
9. Schwantes, O. und Salter, P.W., 1971. Methode zur Messung der Wachstumsgeschwindigkeit von Pilzmycelien, *Oberhess, Naturwiss, Zeitschr* 38, pp. 5 - 18.

Người thẩm định: GS.TS. Nguyễn Thế Nhã