



(12) BẢN MÔ TẢ SÁNG CHẾ THUỘC BẰNG ĐỘC QUYỀN SÁNG CHẾ

(19) Cộng hòa xã hội chủ nghĩa Việt Nam (VN)
CỤC SỞ HỮU TRÍ TUỆ

(11)



1-0032900

(51)^{2006.01} A01G 1/04

(13) B

(21) 1-2021-01692

(22) 30/03/2021

(45) 25/08/2022 413

(43) 25/06/2021 399

(73) Trường Đại học Tây Nguyên (VN)

567 Lê Duẩn, Ea Tam, thành phố Buôn Ma Thuột, tỉnh Đắk Lắk

(72) Nguyễn Phương Đại Nguyên (VN); Nguyễn Trần Phương (VN); Trần Thị Thu Hiền (VN); Tô Đạo Cường (VN); Nguyễn Phi Hùng (VN).

(54) QUY TRÌNH TRỒNG NẤM LINH CHI (GANODERMA LUCIDUM)

(57) Sáng chế đề cập đến quy trình trồng nấm linh chi (*Ganoderma lucidum*) trong đó bằng cách kết hợp, xử lý các thành phần mùn cưa gỗ cao su, bã mía, vỏ cà phê, lõi ngô, xơ dừa, vỏ trấu, cám gạo, $MgSO_4$, $CaCO_3$, vitamin và vi lượng và ép đùn tạo thành khúc làm thành giá thể trồng nấm. Quy trình theo sáng chế cho phép kết hợp được ưu thế của kỹ thuật trồng nấm từ vật liệu vụn và kỹ thuật trồng nấm từ gỗ khúc vừa tận dụng được nguồn phế thải nông lâm nghiệp, tăng hiệu suất trồng, đồng thời thu được sản phẩm nấm linh chi có hàm lượng hoạt chất tương đương nấm linh chi ngoài tự nhiên.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế thuộc lĩnh vực sinh học, nông nghiệp và kỹ thuật nuôi trồng nấm được liệu, cụ thể là sáng chế đề cập đến quy trình trồng nấm linh chi *Ganoderma lucidum* trên giá thể hỗn hợp.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Nấm linh chi có tên khoa học là *Ganoderma lucidum*, thuộc họ Nấm lim (*Ganodermataceae*), nấm linh chi từ lâu đã được coi là một vị thuốc quý có tác dụng bảo vệ gan, giải độc, cường tâm, kiện não, tiêu đờm, lợi niệu, ích vị. Có nhiều nghiên cứu đã chứng minh nấm linh chi có khả năng giúp tăng cường hệ miễn dịch, trẻ hóa tế bào, lưu thông khí huyết, chống dị ứng, chống viêm, hạn chế sự phát triển của tế bào ung thư, cũng như giúp phòng và chữa một số bệnh ở người như béo phì, viêm gan, cao huyết áp, tim mạch.

Tùy vào màu sắc mà nấm linh chi được phân ra làm sáu loại bao gồm xanh (thanh chi), đỏ (hồng chi), đen (hắc chi), trắng (bạch chi), vàng (hoàng chi) và tím đỏ (tử chi), trong đó linh chi đỏ (hồng chi) được coi là loại nấm có dược tính mạnh nhất và được sử dụng nhiều trong y học. Linh chi đỏ được sử dụng phổ biến, đây là loại nấm linh chi có màu đỏ bóng ở mặt trên và màu trắng ở mặt dưới, khi trưởng thành có bào tử nâu bám ở mặt dưới. Nhiều công trình nghiên cứu đã xác định được hoạt chất và tác dụng dược lý của nấm linh chi như germanium, axit ganoderic, axit oleic, ganodosteron, ganoderans, adenosin, beta-D-glucan có tác dụng tăng cường trao đổi chất, hệ thống miễn dịch, cân bằng lượng đường trong máu, tăng oxy trong máu, hỗ trợ khả năng tự miễn của cơ thể.

Trong tự nhiên, nấm linh chi đỏ *Ganoderma lucidum* có tỷ lệ xuất hiện rất thấp, nấm linh chi đỏ được lai tạo lần đầu tiên bởi T. Henmi và cộng sự vào năm 1937 và được Y. Naoi trồng rộng rãi tại Nhật Bản vào năm 1971, hiện đây là loài nấm được sử dụng để trồng phổ biến trên thế giới.

Quy trình trồng nấm linh chi đã được nghiên cứu và nói chung bao gồm hai kỹ thuật là kỹ thuật sử dụng giá thể rời, ví dụ mùn cưa của các loại gỗ không có tinh dầu như gỗ cao su, gỗ bồ đề, bã mía, xơ dừa và giá thể nguyên khối, ví dụ trên gỗ khúc. Kỹ

thuật sử dụng vật liệu rời được mô tả, ví dụ trong tài liệu: Giáo trình mô đun trồng nấm linh chi, Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn, mô tả kỹ thuật trồng nấm linh chi cho phép phối trộn giá thể, xử lý, sau khi được đóng bịch, khử trùng, cấy giống và ươm hệ sợi. Sau khi sợi nấm phát triển, tiến hành trồng thu hoạch quả thể. Điều kiện để sợi nấm phát triển ở nhiệt độ từ 20-30°C, độ ẩm 65-70% trong 30-35 ngày. Điều kiện để phát triển quả thể khoảng 30 ngày trong điều kiện ẩm 90-95%, nhiệt độ 22-28°C. Trong các quy trình này, năng suất quả thể đạt khoảng từ 25-40 kg/tấn nguyên liệu. Kỹ thuật này mất nhiều nhân công và hiệu quả sử dụng giá thể rất thấp. Phần giá thể sau khi trồng phải xử lý và thực tế cho thấy nấm chỉ sử dụng một phần rất nhỏ giá thể để phát triển, phần lớn giá thể còn nguyên sau khi trồng nấm linh chi nên cần phải xử lý giá thể này sau khi trồng.

Kỹ thuật trồng nấm linh chi trên gỗ khúc (ví dụ: Trần Thị Thắm Hồng, Kỹ thuật trồng nấm linh chi trên gỗ khúc, Bộ Nông nghiệp và phát triển nông thôn, trường Cao đẳng Nông lâm Đông Bắc) là kỹ thuật cho phép tận dụng gỗ nguyên khúc thu được từ cây keo, bồ đề, bạch đàn. Sau khi thu hoạch, gỗ được cấy nấm và trồng trong điều kiện tối khoảng 2 tháng, tiếp đó gỗ được đưa ra chôn thành các luống và duy trì độ ẩm để quả thể phát triển. Kỹ thuật này giảm thời gian và công sức xử lý nguyên liệu, chất lượng quả thể khá tốt. Tuy nhiên, ngoài việc phụ thuộc vào loại gỗ, chất lượng gỗ còn cho thấy thời gian phát triển hệ sợi trong nhà kéo dài gấp đôi so với phương pháp trồng trên giá thể. Hơn nữa, qua phân tích cho thấy hàm lượng triterpenoit trong nấm chỉ đạt được tốt nhất khi nấm được phát triển trên gỗ lim. Các loại giá thể khác hàm lượng triterpenoit thấp, điều này giảm chất lượng nấm thu được. Một bất lợi của phương pháp này là sử dụng gỗ khúc, sản phẩm của lâm nghiệp, nên giá thành cao, không thể cạnh tranh được với kỹ thuật trồng nấm bằng mùn cưa.

Mặc dù đã có nhiều nghiên cứu nhằm trồng nấm linh chi để thu quả thể nấm trên nhiều loại giá thể khác nhau. Các nghiên cứu đều chủ yếu nhằm thu được quả thể lớn nhất có thể. Về cơ bản, giá thể trồng nấm linh chi chủ yếu dựa trên nguồn xenlulo, nguồn nitơ, cacbon và khoáng chất. Các nghiên cứu đã chỉ ra, nấm linh chi sử dụng nguồn nguyên liệu chủ yếu là xenluloza để phát triển hệ sợi và quả thể. Tuy nhiên, quả thể nấm thu được không chỉ phụ thuộc vào điều kiện trồng mà còn phụ thuộc rất lớn vào chủng loại và chất lượng nguyên liệu ban đầu cũng như các khoáng chất bổ sung.

Đã có nhiều cải tiến trong việc nâng cao kích thước và chất lượng của quả thể nấm. Ví dụ, CN 103694 đã mô tả giá thể trồng nấm linh chi bao gồm 20-30% gỗ dâu tằm, 30-40% gỗ khuynh diệp, 10-20% vỏ hạt bông, 10-20% bã nấm linh chi, 5-10% cám gạo, 1-5% bột ngô, 1-3% canxi carbonat. CN 103641615 đã mô tả phương pháp trồng nấm linh chi trên giá thể là phụ phẩm của cây hoa hướng dương bao gồm, 14-18% đài hoa hướng dương, 17-23% thân cây hướng dương, 18-28% vỏ hạt hướng dương, 18% bột lá, 15% cám gạo, 5% bánh hoa hướng dương, 1% superphosphat, 1% vôi, 1% bột thạch cao.

Hiện trong các quy trình trồng nấm linh chi, giá thể chủ yếu được sử dụng là mùn cưa gỗ như keo, cao su, bồ đề hoặc các loại nguyên liệu giàu xenluloza là bã mía, xơ dừa. Các loại nguyên liệu này đảm bảo cung cấp đủ nguồn xenluloza để nấm linh chi phát triển và tạo quả thể. Giá thể được ủ, điều chỉnh pH, bổ sung nitơ, khoáng chất để nấm phát triển. Các quy trình trồng nấm linh chi hiện tại chỉ nhằm mục đích thu được quả thể nấm linh chi và cũng chỉ nhằm thu được quả thể nấm linh chi có kích thước lớn, nhưng chưa có quy trình trồng nấm linh chi tập trung vào việc tăng cường hoạt chất có trong nấm, một thành phần quyết định đến chất lượng của nấm linh chi.

Mặc dù các quy trình trồng nấm linh chi đã biết với giá thể nêu trên giúp thu được quả thể nấm linh chi, tuy nhiên, đã biết rằng, chất lượng của quả thể nấm linh chi phụ thuộc rất lớn vào giá thể trồng nấm. Thành phần trong nấm linh chi tự nhiên được xác định bao gồm nước: 12-13%, phenol: 0,08-0,1%, lignin: 13-14%, hợp chất chứa nitơ: 1,6-2,1%, tro 0,022%, xenluloza: 54-56%, chất béo: 1,9-2%, chất khử 4-5%, hợp chất steroid: 0,14-0,16%, tuy nhiên, trong nấm trồng, hàm lượng hợp chất triterpenoit khoảng 1,5-2%. Trong tự nhiên, nấm linh chi đỏ chỉ xuất hiện trên các gốc cây cổ thụ, lâu niên, gỗ cứng, và hàm lượng hoạt chất của nấm tự nhiên là cao nhất. Đã có quy trình sử dụng mùn cưa gỗ lim và mùn cưa cây cao su để trồng nấm linh chi, tuy nhiên, việc xử lý mùn cưa gỗ lim giống như việc xử lý các giá thể mùn cưa khác sẽ làm cho đặc tính của mùn cưa gỗ lim bị biến đổi và không làm tăng được hàm lượng hoạt chất trong nấm linh chi được trồng trên giá thể này. Hàm lượng hoạt chất triterpenoit của nấm linh chi này chỉ đạt khoảng 0,2-1%, thấp hơn rất nhiều so với nấm linh chi ngoài tự nhiên.

Do đó, vẫn cần có quy trình cải tiến cho phép tận dụng được ưu thế giá nguyên liệu rẻ của kỹ thuật trồng nấm linh chi bằng giá thể rời đóng bịch với kỹ thuật trồng nấm linh chi trên gỗ khúc cho phép tăng năng suất, chất lượng nấm linh chi, giảm nhân lực, tăng thời gian thu hoạch cho mỗi đợt trồng nấm.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Mục đích của sáng chế là nhằm giải quyết các tồn tại nêu trên. Theo đó, sáng chế đề xuất quy trình trồng nấm linh chi (*Ganoderma lucidum*) kết hợp ưu điểm của phương pháp trồng nấm trên giá thể rời và kỹ thuật trồng nấm trên gỗ khúc, vừa tận dụng được nguồn phế thải nông lâm nghiệp, vừa tăng được hiệu suất và chất lượng sản phẩm nấm linh chi. Cụ thể sáng chế phối kết hợp giá thể rời khác nhau nhằm thu được giá thể tối ưu cho nấm linh chi phát triển đồng thời ép giá thể này thành khối nhằm tăng mật độ, giảm diện tích trồng, cho phép trồng trực tiếp trên đất như đối với kỹ thuật trồng nấm trên gỗ khúc.

Theo đó, sáng chế đề cập đến quy trình trồng nấm linh chi (*Ganoderma lucidum*), trong đó quy trình này bao gồm các bước:

a) xử lý nguyên liệu bằng cách thu gom mùn cưa gỗ cao su, vỏ trấu, cắt nhỏ lõi ngô, bã mía, xơ dừa đến kích thước khoảng từ 1 đến 3cm, sau đó bổ sung nước vôi 5% vào từng thành phần theo tỷ lệ nước vôi/nguyên liệu là 1/3 (thể tích/trọng lượng) trộn đều và ủ kín trong 48 giờ, các thành phần cám gạo, $MgSO_4$, $CaCO_3$, vitamin và vi lượng ở dạng bột, vỏ cà phê được thu gom ở dạng khô;

b) phối giá thể bằng cách chuẩn bị các thành phần theo tỷ lệ % trọng lượng sau:

Mùn cưa gỗ cao su:	40-50
Bã mía:	10-20
Vỏ cà phê:	10-20
Lõi ngô:	15-20
Xơ dừa:	5-10
Cám gạo:	3-10
Vỏ trấu	5-10
$MgSO_4$:	0,1-1
$CaCO_3$:	1-5
Vitamin và vi lượng	0,1-0,5

vỏ cà phê được bổ sung với nước theo tỷ lệ $\frac{1}{2}$ (trọng lượng/thể tích), sau đó gia nhiệt đến 80°C trong 1 giờ rồi phối trộn đều với mùn cưa gỗ cao su, bã mía, lõi ngô, xơ dừa, vỏ trấu đã được xử lý, tiếp đó bổ sung cám gạo, MgSO_4 , CaCO_3 , vitamin và vi lượng, phối trộn đều và ủ kín ở nhiệt độ khoảng 40°C trong 24 giờ thu được giá thể trồng nấm linh chi;

c) ép khúc và khử trùng giá thể bằng cách trộn đều, ép đùn giá thể trên máy ép đùn với lực ép khoảng từ 3MPa đến 5MPa để tạo thành khúc giá thể có chiều dài khoảng 50cm đường kính từ 10 đến 20 cm rồi bọc kín trong các túi nilon, sau đó đưa đi hấp khử trùng trong điều kiện nhiệt độ 120°C trong 6 giờ thu được các khúc nguyên liệu để cấy giống;

d) cấy giống và ươm hệ sợi bằng cách khoan lỗ ở tâm khúc nguyên liệu và cấy giống nấm linh chi *Ganoderma lucidum* vào khúc nguyên liệu theo tỷ lệ giống/nguyên liệu là từ 1 đến 5%, sau khi bịt lỗ khoan bằng nút bông, giữ khúc nguyên liệu trong điều kiện tối ở nhiệt độ khoảng từ 25 đến 30°C, độ ẩm khoảng từ 70 đến 80%, trong thời gian từ 30 đến 40 ngày cho hệ sợi phát triển kín khúc nguyên liệu và hình thành mô sợi ở miệng lỗ cấy giống; và

e) trồng và chăm sóc nấm bằng cách tạo luống trên đất, rắc hỗn hợp vôi bột ủ bã cà phê theo tỷ lệ 1:3 theo trọng lượng, tiếp đó rạch đáy túi nilon chứa khúc nguyên liệu với diện tích khoảng 3x3cm và chôn thành hàng theo chiều thẳng đứng với chiều mô sợi ở miệng lỗ cấy giống hướng lên trên, khoảng cách giữa các hàng khoảng từ 30 đến 50cm, sau đó phủ lên một lớp hỗn hợp bao gồm vôi bột trộn bã cà phê ủ hoại mục và đất tỷ lệ 1:3:10 (theo trọng lượng) với chiều dày khoảng 5 cm, duy trì độ ẩm từ 70 đến 75% bằng cách phun sương trong thời gian 2 tháng để hệ sợi nấm tiếp tục phát triển và mọc quả thể; và

f) thu nấm linh chi thành phẩm bằng cách cắt, thu những quả thể nấm linh chi có bào tử nấm phủ dày, sau đó vệ sinh luống và tiếp tục duy trì ẩm độ khoảng 75% để nấm tiếp tục mọc và phát triển quả thể, quả thể nấm sau khi cắt được sấy đến độ ẩm khoảng 10% thu được nấm linh chi thành phẩm.

Mô tả chi tiết sáng chế

đã được đề cập trong đó các khúc gỗ sau khi khai thác được khử trùng và cấy giống nấm trực tiếp trên các khúc gỗ, các kỹ thuật khử trùng, cấy giống và trồng trong phòng kín để kích thích phát triển hệ sợi phát triển và trồng trên đất cũng đã được đề cập.

Sáng chế đề cập đến quy trình trồng nấm linh chi (*Ganoderma lucidum*), trong đó quy trình này bao gồm các bước: a) xử lý nguyên liệu; b) phối giá thể; c) ép khúc và khử trùng giá thể; d) cấy giống và ươm hệ sợi; e) trồng và chăm sóc nấm; và f) thu nấm linh chi thành phẩm.

Mùn cưa gỗ cao su được sử dụng theo sáng chế là phế thải được thu gom từ các cơ sở chế biến gỗ. Mùn cưa gỗ cao su yêu cầu sạch, được loại bỏ thành phần tạp chất, các chất độc hại. Mùn cưa gỗ cao su thông thường có kích thước khoảng từ 0,2-1 cm, thu được từ quá trình xẻ gỗ cao su. Ngoài ra, các mẫu gỗ cao su có kích thước nhỏ hơn 1cm cũng có thể được sử dụng và thuộc phạm vi của mùn cưa gỗ cao su. Đối với gỗ cao su, có một lượng mủ cao su có trong mùn cưa, mặc dù lượng mủ cao su này không ảnh hưởng đến chất lượng mùn cưa, nhưng đối với một số loại nấm, lượng mủ này ức chế quá trình phát triển của hệ sợi. Do đó, tốt nhất cần xử lý để loại bỏ mủ cao su còn sót, nhưng không bắt buộc. Mùn cưa gỗ cao su có đặc tính xốp, chứa nhiều xenluloza nhưng thiếu các thành phần hemixenluloza thường được sử dụng làm giá thể trồng các loại nấm mục. Mùn cưa gỗ cao su được sử dụng tốt nhất là mùn cưa đã được phơi khô. Theo sáng chế, mùn cưa gỗ cao su cần được sàng, loại bỏ tạp chất. Tiếp đó, mùn cưa gỗ cao su được tưới đều với nước vôi 5% theo tỷ lệ nước vôi/mùn cưa gỗ cao su là 1/3 (thể tích/trọng lượng) và ủ kín trong 48 giờ. Việc bổ sung nước vôi vừa đủ với hàm lượng khoảng 5% cho phép mùn cưa gỗ cao su ngấm vừa đủ lượng nước và phân cắt nhanh hệ xenluloza trong mùn cưa. Quá trình ủ cần giữ kín và không cần đảo trộn để quá trình ủ tỏa nhiệt, góp phần loại bỏ các thành phần tạp nhiễm. Tốt nhất là quá trình ủ được thực hiện trong điều kiện ủ yếm khí nghiêm ngặt. Sau khi ủ, pH của mùn cưa gỗ cao su đạt khoảng 8-9, độ ẩm đạt khoảng 40%. Mùn cưa gỗ cao su chủ yếu cung cấp thành phần xenluloza và lignin cho nấm linh chi phân giải sử dụng làm nguồn cơ chất để sinh trưởng và phát triển. Theo sáng chế tỷ lệ mùn cưa gỗ cao su trong giá thể nằm trong khoảng từ 40 đến 50%. Theo các phương án ưu tiên, tỷ lệ mùn cưa gỗ cao su trong giá thể là 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49 hoặc 50%. Nếu tỷ lệ mùn cưa gỗ cao su lớn hơn 50%, phần xenluloza trong mùn cưa không được sử dụng hết gây

Sau đây, sáng chế mô tả chi tiết với các phương án thực hiện cụ thể, tuy nhiên, các phương án này chỉ nhằm mục đích nhằm mô tả chi tiết sáng chế chứ không nhằm mục đích hạn chế phạm vi yêu cầu bảo hộ của sáng chế.

Các quy trình, kỹ thuật nhân giống, kỹ thuật trồng nấm hoặc các điều kiện khử trùng giá thể, thành phần chất dinh dưỡng bổ sung, cách thức xử lý giá thể cũng như điều kiện nhân hệ sợi, điều kiện phát triển quả thể là đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này. Ví dụ, điều kiện nhân hệ sợi, điều kiện phát triển quả thể cần vô trùng để tránh lây nhiễm vi khuẩn hoặc vi sinh vật ngoại lai vào môi trường nuôi cấy. Ngoài ra, các điều kiện khử trùng môi trường nuôi cấy là đã biết, ví dụ, điều kiện khử trùng có thể, nhưng không bị giới hạn ở, khử trùng bằng nhiệt, bằng hóa chất, chiếu xạ hoặc siêu lọc hoặc có thể khử trùng bằng cách kết hợp các phương pháp này.

Người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực kỹ thuật này hoàn toàn có thể tiến hành các điều kiện khử trùng giá thể trồng nấm. Theo một phương án ưu tiên, giá thể trồng nấm có thể được khử trùng bằng cách hấp, ví dụ hấp ở nhiệt độ 120°C trong 6 giờ để khử trùng hoặc bằng phương pháp đã biết, ví dụ có thể sử dụng kỹ thuật khử trùng bằng hơi nước và áp suất ngay trong quá trình ép tạo khối trong thiết bị ép đùn.

Các thành phần, hóa chất hoặc thiết bị sử dụng trong quy trình theo sáng chế có thể tìm thấy, hoặc mua được, trên thị trường. Các chủng giống gốc được sử dụng để nuôi cấy là chủng giống nấm linh chi đỏ *Ganoderma lucidum* lai tạo hoặc tự nhiên có bán trên thị trường, ví dụ, các chủng nấm linh chi đỏ được cung cấp bởi các nhà cung cấp giống hoặc có thể thu được bằng phương pháp phân lập và kích thích nảy mầm từ bào tử nấm linh chi trên thóc và được nhân trong điều kiện vô trùng trong phòng nuôi cấy theo các phương pháp đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này.

Theo các phương pháp thông thường, vật liệu chứa xenluloza thường được xử lý bằng nước vôi và ủ nhằm phá vỡ cấu trúc bền vững của xenluloza. Điều này giúp hệ sợi nấm phát triển và sản sinh enzym để phân cắt xenluloza giúp phát triển nhanh chóng. Thường vật liệu chứa xenluloza được tưới nước vôi 1% cho đến khi ngả sang màu vàng thẫm, độ ẩm khoảng 60% rồi tiến hành ủ lên men trong khoảng thời gian từ 5 đến 15 ngày tùy thuộc vào loại vật liệu chứa xenluloza, cụ thể, đối với các loại gỗ cứng, khả năng ngấm nước kém, thì thời gian ủ kéo dài hơn so với các loại gỗ mềm, khả năng ngấm nước tốt. Ngoài ra, các kỹ thuật trồng nấm linh chi trên khúc gỗ cũng

lãng phí, ngược lại nếu tỷ lệ mùn cưa gỗ cao su thấp hơn 30%, hệ sợi nấm phát triển không đủ, khiến quả thể nấm linh chi thu được nhỏ.

Bã mía là phần bã thu được sau khi ép mía của quá trình sản xuất đường mía. Trong bã mía chứa một lượng glucoza và xenluloza thích hợp để hệ sợi nấm phát triển. Bã mía được coi là thành phần rất thích hợp để trồng nấm do chứa lượng đường khả dụng và lượng xenluloza dễ phân cắt bởi enzym. Tuy nhiên, bã mía có khả năng hút ẩm cao, và do đó, dễ tích tụ nước gây thối nếu độ ẩm môi trường lớn. Theo sáng chế, lượng bã mía được sử dụng để phối trộn giá thể nằm trong khoảng từ 10 đến 20% trọng lượng. Theo các phương án ưu tiên, lượng bã mía trong giá thể là 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 hoặc 20% trọng lượng hỗn hợp giá thể để trồng nấm linh chi theo sáng chế. Bã mía được cắt đến kích thước nằm trong khoảng từ 1 đến 3 cm, xử lý bằng cách trộn đều với nước vôi 5% theo tỷ lệ nước vôi/bã mía là 1/3 (thể tích/trọng lượng) và ủ kín trong 48 giờ nhằm khử trùng sơ bộ và phá vỡ hệ sợi xenluloza. Tốt nhất là quá trình ủ được thực hiện trong điều kiện ủ yếm khí nghiêm ngặt. Sau khi ủ, pH của bã mía đạt khoảng 8-9, độ ẩm đạt khoảng 50%. Mùn cưa gỗ cao su chủ yếu cung cấp thành phần xenluloza và lignin cho nấm linh chi phân giải sử dụng làm nguồn cơ chất để sinh trưởng và phát triển

Vỏ cà phê được sử dụng là phần vỏ tách ra sau khi xử lý hạt cà phê. Trong vỏ cà phê chứa lượng tanin và hemixenluloza đặc biệt cao, thích hợp để trồng một số loại nấm ăn, như nấm kim châm hoặc nấm sò. Tuy nhiên, đối với nấm linh chi, chưa có công bố về việc sử dụng vỏ cà phê làm giá thể trồng. Các tác giả đã thử nghiệm và thấy rằng, vỏ cà phê không thích hợp để trồng nấm linh chi, có thể trong vỏ cà phê hàm lượng hemixenluloza và lignin quá cao, ức chế hệ sợi phát triển, nhất là trong giai đoạn đầu. Tuy nhiên, bằng cách phối hợp vỏ cà phê với lõi ngô, mùn cưa gỗ cao su, bã mía, khả năng phát triển của hệ sợi vượt trội, kết quả cho quả thể nấm lớn, đồng thời chất lượng nấm thu được tốt hơn hẳn khi sử dụng hệ mùn cưa gỗ cao su. Ngoài ra, khi ngâm vỏ cà phê trong nước, có một lượng chất nhầy dính có tác dụng nhưng một hệ keo tự nhiên giúp liên kết các thành phần khác, thích hợp cho quá trình ép tạo khối. Lượng vỏ cà phê được sử dụng theo sáng chế nằm trong khoảng từ 10 đến 20% trọng lượng giá thể, nếu lượng vỏ cà phê lớn hơn 20% trọng lượng giá thể, khả năng phát

triển của hệ sợi bị giảm. Ngược lại, nếu lượng vỏ cà phê thấp hơn 10%, chất lượng hoạt chất trong nấm giảm, đồng thời khả năng liên kết khi ép tạo khối kém.

Lõi ngô được sử dụng là phần lõi của bắp ngô được phơi khô, đập vỡ thành mảnh có kích cỡ từ 1 đến 3 cm. Tiếp đó, lõi ngô được tưới đều với nước vôi 5% theo tỷ lệ nước vôi/lõi ngô là 1/3 (thể tích/trọng lượng) và ủ trong thời gian 48 giờ trong điều kiện ủ kín, kỵ khí nghiêm ngặt. Sau khi ủ, pH của lõi ngô đạt khoảng 8-9, độ ẩm đạt khoảng 40%. Ngoài thành phần xenluloza và lignin, lõi ngô còn cung cấp các thành phần nitơ và phospho và đường để kích thích hệ sợi phát triển. Kích cỡ hạt của lõi ngô nhằm đảm bảo cho giá thể sau khi đóng bịch được trộn đều, cho phép ép nén tạo khối mà không ảnh hưởng đến kết cấu của khối thu được. Theo sáng chế tỷ lệ lõi ngô trong giá thể nằm trong khoảng từ 15 đến 20%. Theo các phương án ưu tiên, tỷ lệ lõi ngô trong giá thể là 15, 16, 17, 18, 19 hoặc 20% trọng lượng giá thể.

Dựa trên thực nghiệm, các tác giả thấy rằng, hệ sợi của nấm linh chi có đặc tính khác biệt so với các loại nấm khác. Trong quá trình nuôi cấy, hệ sợi phát triển bên trong các bịch nấm rồi lan dần ra phía ngoài. Đặc biệt, đối với việc cấy nấm trên các khúc gỗ. Nấm phát triển chậm hơn so với việc cấy nấm trên các bịch giống nhưng lại cho quả thể lớn hơn. Ngược lại, đối với những bịch giống, nấm phát triển nhanh, nhưng lại cho quả thể nhỏ hơn. Điều này có thể do điểm đặc biệt của hệ sợi nấm linh chi, do nấm thường phát triển trên gỗ cứng, cụ thể là gỗ lim, nên cần thời gian phát triển lâu, khi được cấy trên các bịch nấm, hệ sợi phát triển nhanh, nhưng lại cho nấm chất lượng thấp do các thành phần cần thiết chưa tích tụ đủ. Một đặc điểm nữa, nếu cấy giống trên các bịch giá thể, hệ sợi nhanh chóng phát triển ra ngoài, có thể do đặc tính của hệ sợi nấm cần giá thể có độ xốp thấp để nấm phát triển và tích tụ hoạt chất. Lõi ngô được bổ sung nhằm tăng thành phần P:K giúp hệ sợi phát triển tốt hơn.

Xơ dừa được sử dụng theo sáng chế nhằm ngoài việc cung cấp xenluloza còn bổ sung một lượng tanin và lignin giúp cho hệ sợi nấm phát triển và tích lũy hoạt chất. Xơ dừa có cấu trúc xơ cứng, giống cấu trúc của gỗ lim, điều này cho phép hệ enzym của nấm có thể phân hủy cấu trúc lignin và tanin để phát triển như trên gỗ lim. Ngoài ra, cùng với lõi ngô và mùn cưa gỗ cao su, xơ dừa được phối trộn với tỷ lệ phù hợp cho phép hệ sợi phát triển mạnh, tạo dạng xơ liên kết giữa các thành phần rời. Xơ dừa được cắt thành các mảnh từ 1-3 cm, sau đó được tưới đều với nước vôi 5% theo tỷ lệ

nước vôi/xơ dừa là 1/3 (thể tích/trọng lượng) và ủ trong thời gian 48 giờ trong điều kiện ủ yếm khí nghiêm ngặt. Sau khi ủ, pH của xơ dừa đạt khoảng 8-9, độ ẩm đạt khoảng 40%. Theo sáng chế, xơ dừa trong giá thể nằm trong khoảng từ 5 đến 10%. Theo các phương án ưu tiên, tỷ lệ xơ dừa trong giá thể là 5, 6, 7, 8, 9 hoặc 10%. Nếu tỷ lệ xơ dừa trong giá thể lớn hơn 10%, khi nén, khó thu được khối, tuy nhiên, nếu lượng xơ dừa thấp, hệ sợi nấm phát triển nhanh, không những giảm hàm lượng hoạt chất có trong quả thể nấm khối giá thể kém bền, dễ vỡ, ảnh hưởng quá trình chăm sóc và thu hoạch nấm linh chi thành phẩm.

Cám gạo được sử dụng là cám thu được từ quá trình xay gạo. Cám gạo chứa chủ yếu các thành phần protein, chất béo bão hòa, protein, khoáng chất và các loại vitamin E, B6, B1. Cám gạo là thành phần giúp cung cấp khoáng chất và vitamin, protein để hệ sợi nấm phát triển. Theo sáng chế, tỷ lệ cám gạo nằm trong khoảng từ 3 đến 10%. Theo các phương án ưu tiên, tỷ lệ cám gạo có trong giá thể là 4, 5, 6, 7, 8, 9 hoặc 10%.

Vỏ trấu thu được từ quá trình xay gạo, ngoài thành phần xenluloza và lignin, vỏ trấu chứa các oxit kim loại, đặc biệt nhóm silic, vỏ trấu giúp tăng độ thoáng khí, cho phép hấp thu các chất độc giúp quá trình trao đổi chất của hệ sợi nấm nhanh hơn. Vỏ trấu trước khi sử dụng được loại tạp chất, bổ sung nước vôi 5% theo tỷ lệ nước vôi/vỏ trấu là 1/3 (thể tích/trọng lượng). Sau đó vỏ trấu được ủ trong thời gian 48 giờ trong điều kiện ủ kín, kỵ khí nghiêm ngặt. Sau khi ủ, pH của vỏ trấu đạt khoảng 8-9, độ ẩm đạt khoảng 40%. Theo sáng chế tỷ lệ vỏ trấu trong giá thể nằm trong khoảng từ 5 đến 10%. Theo các phương án ưu tiên, tỷ lệ vỏ trấu trong giá thể là 5, 6, 7, 8, 9 hoặc 10% trọng lượng giá thể.

Các thành phần $MgSO_4$ và $CaCO_3$, vitamin, ví dụ vitamin B, vitamin A và vi lượng (các thành phần Fe, Co, Cu...) được sử dụng nhằm mục đích cung cấp các chất khoáng, vi lượng cho hệ sợi nấm phát triển, sản sinh enzym, giữ ẩm và điều chỉnh pH của giá thể trồng nấm linh chi (0,1-0,5%). Các thành phần vitamin, vi lượng sử dụng trong kỹ thuật nuôi trồng, nhân giống nấm, thực vật được sử dụng và có thể tìm thấy trên thị trường ở dạng chế phẩm hỗn hợp hoặc có thể pha chế theo hướng dẫn. Lượng $MgSO_4$ được sử dụng theo sáng chế nằm trong khoảng từ 0,1 đến 1% trọng lượng giá thể. Lượng $CaCO_3$ được sử dụng theo sáng chế nằm trong khoảng từ 1 đến 5% trọng

lượng giá thể. Lượng vitamin và vi lượng được sử dụng theo sáng chế nằm trong khoảng từ 0,1 đến 0,5% trọng lượng giá thể.

Trong bước xử lý nguyên liệu, tiến hành thu gom mùn cưa gỗ cao su từ các cơ sở sản xuất gỗ, loại bỏ tạp chất. Vỏ trấu thu từ các cơ sở xay xát. Lõi ngô được cắt nhỏ, tốt nhất là nghiền đến kích thước khoảng từ 1 đến 3 cm lõi ngô, bã mía, xơ dừa đến kích thước khoảng từ 1 đến 3cm. Để xử lý nguyên liệu, tiến hành bổ sung nước vôi 5% vào từng thành phần theo tỷ lệ nước vôi/nguyên liệu là 1/3 (thể tích/trọng lượng). Sau khi trộn đều, tiến hành ủ kín trong 48 giờ. Bằng thực nghiệm, các tác giả nghiên cứu và nhận thấy rằng, bằng việc sử dụng nước vôi nồng độ khoảng 5% cho phép phân cắt cấu trúc xenluloza tốt nhất. Ngoài ra, lượng nước sử dụng chỉ bằng 1/3 cho phép tạo ẩm, nhưng không làm ướt giá thể, thuận lợi cho quá trình ủ. Thực nghiệm đã chứng minh rằng, bằng cách sử dụng nước vôi với nồng độ cao, giảm lượng nước và ủ kín cho phép rút ngắn thời gian xử lý nguyên liệu. Điều này có thể trong quá trình ủ với lượng nước vừa đủ cho phép nước vôi thấm nhanh khiến cấu trúc xenluloza trương nở nhanh, đồng thời với nồng độ kiềm cao, phản ứng phân cắt tỏa nhiệt đồng thời tạo ra các axit trung hòa, giúp tăng tốc ủ, giảm được thời gian xử lý nguyên liệu ban đầu.

Các thành phần bao gồm cám gạo, $MgSO_4$, $CaCO_3$, vitamin và vi lượng ở dạng bột, vỏ cà phê được thu gom ở dạng khô. Các thành phần sau khi xử lý sơ bộ ở dạng rời.

Trong bước phối giá thể bằng cách chuẩn bị các thành phần theo tỷ lệ % trọng lượng sau:

Mùn cưa gỗ cao su:	40-50
Bã mía:	10-20
Vỏ cà phê:	10-20
Lõi ngô:	15-20
Xơ dừa:	5-10
Cám gạo:	3-10
Vỏ trấu	5-10
$MgSO_4$:	0,1-1
$CaCO_3$:	1-5
Vitamin và vi lượng	0,1-0,5

Để phối trộn giá thể, vỏ cà phê được bổ sung với nước theo tỷ lệ $\frac{1}{2}$ (trọng lượng/thể tích), sau đó gia nhiệt đến 80°C trong 1 giờ. Quá trình này giúp hòa tan một lượng lignin có trong vỏ cà phê, tăng cường khả năng kết dính với giá thể còn lại. Sau đó, rồi phối trộn đều với các thành phần bao gồm mùn cưa gỗ cao su, bã mía, lõi ngô, xơ dừa, vỏ trấu đã được xử lý theo tỷ lệ nêu trên. Tiếp đó bổ sung cám gạo, MgSO_4 , CaCO_3 , vitamin và vi lượng và phối trộn đều. Quá trình này nhằm tăng cường sự phân tán của nước ngấm vỏ cà phê và vỏ cà phê đồng đều trong giá thể. Tiếp đó tiến hành ủ trong điều kiện kín ở nhiệt độ khoảng 40°C trong 24 giờ thu được giá thể trồng nấm linh chi dạng rời. Quá trình ủ này cho phép giá thể tiếp tục được phân cắt, giải phóng một lượng axit giúp trung hòa giá thể. Sau khi ủ, giá thể thu được có pH khoảng từ 7 đến 7,5, thích hợp để cho nấm linh chi phát triển.

Để tạo giá thể trồng nấm linh chi, sáng chế đề xuất phương án ép giá thể trồng nấm linh chi ở dạng rời, với hàm ẩm khoảng từ 30 đến 40% thành các khối. Điều này nhằm mục đích vừa tăng được mật độ khối của giá thể, giúp giảm không gian, tăng hiệu suất trồng trên cùng một diện tích. Ngoài ra, bằng cách ép tạo khối, các bịch giá thể ở dạng rắn, phù hợp với điều kiện phát triển của hệ sợi nấm linh chi cho phép trồng nấm linh chi theo kỹ thuật trồng trên gỗ khúc với giá thể rời. Đây là một hướng đi mới, cho phép tận dụng được ưu thế trong phối trộn thành phần giá thể đối với giá thể rời đồng thời cho phép trồng nấm linh chi theo kỹ thuật trồng trên đất như kỹ thuật trồng nấm linh chi trên gỗ khúc, giúp giảm sự phụ thuộc vào gỗ nguyên liệu, tận dụng được lợi thế giá rẻ của phế thải nông nghiệp.

Ngoài ra, việc nén, ép tạo khúc giá thể còn có một điểm lợi thế đó là đối với đặc tính của hệ sợi nấm linh chi, giá thể mật độ cao giúp tăng khả năng tạo hệ enzym phân giải cơ chất, đồng thời giá thể ở dạng khối, trong quá trình vận chuyển, kiểm tra không làm ảnh hưởng đến hệ sợi nấm, do đó giữ được chất lượng đồng thời tăng được chất lượng quả thể nấm.

Do đó, để tạo các khối giá thể rắn, trong bước ép khúc và khử trùng giá thể, giá thể sau khi ủ được trộn đều, sau đó tiến hành ép đùn giá thể trên máy ép đùn với lực ép khoảng từ 3MPa đến 5MPa. Quá trình ép đùn này có thể sử dụng các kỹ thuật ép đùn bởi các thiết bị, ví dụ thiết bị làm củi từ trấu để tạo thành các khúc giá thể có chiều dài khoảng 50cm đường kính từ 10 đến 20 cm. Cần lưu ý rằng, liên quan đến quá trình ép

đùn tạo khối rắn, việc tính toán hàm lượng nước sử dụng cùng với tỷ lệ các thành phần đã được nghiên cứu, bằng thực nghiệm để thu được khối rắn có độ cứng, khả năng liên kết, hàm ẩm, độ đàn hồi cũng như khả năng thoáng khí tốt nhất. Bằng thực nghiệm, các tác giả đã tính toán, điều chỉnh các thành phần nguyên liệu đảm bảo cung cấp đủ dưỡng chất, đồng thời cho phép thu được khối nguyên liệu đủ cứng có khả năng thay thế cho giá thể gỗ khúc.

Quá trình này cho phép thu được các khối nguyên liệu có kích thước tương ứng với kích thước của các khối gỗ được sử dụng trong các phương pháp trồng nấm linh chi trên gỗ khúc. Các khối nguyên liệu này được bọc kín trong các túi nilon, sau đó đưa đi hấp khử trùng trong điều kiện nhiệt độ 120°C trong 6 giờ thu được các khúc nguyên liệu để cấy giống.

Theo một phương án khác, giá thể rời có thể được khử trùng trước khi tạo khúc, khi đó giá thể có thể được khử trùng bằng áp suất hơi nước bão hòa, sau đó chuyển sang thiết bị ép tạo khối. Tuy nhiên, kỹ thuật này đòi hỏi các thiết bị đồng bộ và tự động hóa để thu được các khối nguyên liệu đã được khử trùng.

Sau khi khử trùng, các khối nguyên liệu được để nguội trong điều kiện nhiệt độ phòng. Tiếp đó tiến hành cấy giống và ươm hệ sợi bằng cách khoan lỗ ở tâm khúc nguyên liệu và cấy giống nấm linh chi *Ganoderma lucidum*. Kỹ thuật khoan lỗ và cấy giống được thực hiện giống như kỹ thuật cấy giống vào gỗ khúc. Cần lưu ý rằng, giống được cấy vào một đầu của khúc nguyên liệu.

Giống nấm linh chi được sử dụng là giống nấm được nhân trên giá thể thóc hấp chín. Lượng giống gốc được cấy vào khúc nguyên liệu theo tỷ lệ giống/nguyên liệu là từ 1 đến 5%. Sau khi cấy, tiến hành sau khi bịt lỗ khoan bằng nút bông và giữ khúc nguyên liệu trong điều kiện tối ở nhiệt độ khoảng từ 25 đến 30°C để hệ sợi phát triển. Độ ẩm để hệ sợi phát triển khoảng từ 70 đến 80%, trong thời gian từ 30 đến 40 ngày. Trong quá trình này, hệ sợi phát triển kín khúc nguyên liệu và hình thành mô sẹo ở miệng lỗ cấy giống.

Để tăng chất lượng quả thể nấm thu được, các khúc nguyên liệu này được chuyển ra trồng trên đất. Trước khi chuyển ra trồng trên đất, tiến hành làm sạch đất và tạo luống trên nền đất. Tốt nhất tạo luống trực tiếp trên nền đất rừng hoặc tạo luống trong vườn hoặc nhà kính được che lưới chắn nắng trực tiếp. Sau khi tạo luống, tiến hành rắc

hỗn hợp vôi bột ủ bã cà phê theo tỷ lệ 1:3 theo trọng lượng. Việc sử dụng bã cà phê và vôi bột cho phép ức chế sự phát triển của vi sinh vật, đồng thời tăng cường dưỡng chất cho hệ sợi nấm khi chúng mọc lan ra ngoài khối nguyên liệu. Tiếp đó, tiến hành rạch đáy túi nilon chứa khúc nguyên liệu với diện tích khoảng 3x3cm và chôn thành hàng theo chiều thẳng đứng với chiều mô sẹ ở miệng lỗ cây giống hướng lên trên. Khoảng cách giữa các hàng khoảng từ 30 đến 50cm.

Việc rạch phía đáy túi nilon và trồng thẳng đứng khúc nguyên liệu cho phép hệ sợi có thể phát triển tiếp xuống nền bên ngoài để bổ sung dưỡng chất, hệ vi chất từ ngoài môi trường. Thông thường, các giá thể trồng sau một thời gian phát triển bị thiếu hụt một số dưỡng chất và nấm dừng phát triển trong khi giá thể vẫn chưa bị phân giải hoàn toàn. Điều này dẫn đến bỏ phí một lượng giá thể, không tận dụng hết giá thể, gây lãng phí. Bằng cách cho phép hệ sợi phát triển ra ngoài môi trường, khi đó hệ sợi bổ sung các vi chất, hỗ trợ cho việc phân giải cơ chất trong giá thể giúp tăng hệ số thu hoạch nấm.

Sau khi chôn, tiến hành phủ lên một lớp hỗn hợp bao gồm vôi bột trộn bã cà phê ủ hoai mục và đất tỷ lệ 1:3:10 (theo trọng lượng) với chiều dày khoảng 5 cm. Điều kiện này cho phép các mô sẹ phát triển thành những quả thể nấm lớn, tránh phát triển những cụm nấm nhỏ, chất lượng kém. Tiến hành duy trì độ ẩm từ 70 đến 75% bằng cách phun sương trong thời gian 2 tháng để hệ sợi nấm tiếp tục phát triển và mọc quả thể.

Nấm linh chi sau khi phát triển đến kích thước khoảng 20cm có bào tử nấm phủ dày được cắt sát mặt đất. Sau đó vệ sinh luống và tiếp tục duy trì ẩm độ khoảng 75% để nấm tiếp tục mọc và phát triển quả thể. Quá trình trồng cần kiểm soát độ ẩm, không để độ ẩm quá thấp sẽ ảnh hưởng đến khả năng phát triển của hệ sợi, ngược lại, nếu quá độ ẩm quá cao sẽ khiến giá thể quá ẩm, ảnh hưởng đến hệ sợi, quả thể thu được nhỏ. Quả thể nấm sau khi cắt được sấy đến độ ẩm khoảng 10% thu được nấm linh chi thành phẩm.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Ví dụ 1. Thử nghiệm giá thể trồng nấm linh chi

Để đánh giá được khả năng phát triển của nấm linh chi trên các nền giá thể khác nhau. Các giá thể được phối trộn và thử nghiệm theo phương pháp nuôi trồng đóng bịch thông thường với các công thức và các thành phần như nêu trong bảng bên dưới. Các thành phần được tính theo % trọng lượng.

Thành phần	CT1 (%)	CT2 (%)	CT3 (%)	CT4 (%)	CT5 (%)	CT6 (%)	CT7 (%)	CT8 (%)	CT9 (%)	CT10 (%)
Mùn cưa gỗ cao su	40	50	50	90	80	70	60	100	0	0
Bã mía	10	30	0	0	0	10	10	0	100	0
Vỏ cà phê	15	0	30	0	10	10	10	0	0	100
Lõi ngô	14	0	14	0	10	8,7	0	0	0	0
Xơ dừa	7	10	0	0	5	0	8,7	0	0	0
Cám gạo	5,7	8,7	0	0	3,7	0	0	0	0	0
Vỏ trấu	7	0	8,7	0	0	8,7	0	0	0	0
MgSO ₄	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0	0	0
CaCO ₃	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0
Vitamin và vi lượng	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0	0	0

Các thành phần mùn cưa gỗ cao su, lõi ngô, xơ dừa được xử lý như phương pháp chuẩn thông thường bằng cách sử dụng nước vôi 5% ủ trong 5 ngày, tiếp đó phối trộn với các thành phần theo tỷ lệ phối trộn nêu trong bảng trên. Các công thức được xử lý và đóng bịch với trọng lượng 3kg/bịch và khử trùng ở điều kiện nhiệt độ 120°C trong 6 giờ. Điều kiện cấy giống, ương hệ sợi được thực hiện như trong các quy trình chuẩn. Tỷ lệ cấy giống/nguyên liệu là 1% trong điều kiện vô trùng.

Điều kiện đánh giá sự phát triển của hệ sợi là trong điều kiện tối ở nhiệt độ 25°C, độ ẩm 70%, thời gian theo dõi từ khi trồng đến khi kết thúc khoảng 3 tháng. Các tiêu chí đánh giá quả thể dựa trên khả năng phát triển của hệ sợi trên bề mặt, khả năng phát triển của hệ sợi vào giữa bịch và mức độ phát triển của hệ sợi. Kết quả được thể hiện trong bảng sau:

Công thức	Khả năng phát triển của hệ sợi trong quá trình nhân	Chất lượng quả thể nấm linh chi
-----------	---	---------------------------------

CT1	Phát triển đồng đều, lan khắp bịch giá thể, màu trắng đục, hệ sợi dày, chất lượng tốt	Kích thước trung bình khoảng 12 cm, nấm chắc, khỏe, tán phát triển đều, thân mập
CT2	Phát triển đồng đều, lan khắp bịch giá thể, màu trắng đục, hệ sợi trung bình, chất lượng tốt	Quả thể phát triển sớm, kích thước trung bình khoảng 12 cm, nấm chắc, thân mập
CT3	Phát triển chậm, không đều, hệ sợi dày, mất thời gian để phát triển trên toàn bộ giá thể	Kém, tốc độ phát triển chậm, hệ sợi dày, kích thước trung bình khoảng 10 cm, tán phát triển đều, đẹp
CT4	Phát triển nhanh, nhưng thưa, màu trắng ngả vàng	Nhanh, hệ sợi thưa, chất lượng hệ sợi thấp,
CT5	Phát triển nhanh, màu trắng đục	Nhanh, hệ sợi thưa, thất lượng hệ sợi thấp, nấm dài, tán phát triển kém, mỏng, chất lượng thấp
CT6	Phát triển đồng đều, lan khắp bịch giá thể, màu trắng đục, hệ sợi trung bình, chất lượng trung bình	Quả thể phát triển sớm, kích thước trung bình khoảng 10 cm, nấm chắc, thân mập
CT7	Phát triển đồng đều, lan khắp bịch giá thể, màu trắng đục, hệ sợi trung bình, chất lượng trung bình	Quả thể phát triển sớm, kích thước trung bình khoảng 10 cm, nấm chắc, thân mập
CT8	Phát triển nhanh, màu trắng đục	Nhanh, hệ sợi thưa, thất lượng hệ sợi thấp, nấm dài, tán phát triển kém, mỏng, chất lượng thấp
CT9	Phát triển nhanh, màu trắng đục	Nhanh, hệ sợi thưa, thất lượng hệ sợi thấp, nấm dài, tán phát triển kém, mỏng, chất lượng thấp
CT10	Phát triển cực chậm	Không tạo quả thể

Kết quả cho thấy rằng, đối với trường hợp sử dụng mùn cưa cao su, bã, mía với hàm lượng cao, hệ sợi phát triển nhanh, nhưng quả thể thu được chất lượng thấp. Nấm không tích tụ đủ dưỡng chất cần thiết để nuôi quả thể. Trường hợp sử dụng bã cà phê, nấm không hình thành quả thể, điều này cho thấy bã cà phê không thích hợp để trồng nấm linh chi. Ngược lại, khi phối trộn bã cà phê với các giá thể khác nhau theo tỷ lệ cân đối cho thấy có sự cải thiện trong hệ sợi, đồng thời chất lượng quả thể nấm linh chi thu được có sự khác biệt, cụ thể giảm lượng nấm có thân dài, tăng lượng nấm có tán lớn, thân mập. Điều này cho thấy, việc sử dụng bã cà phê phối trộn với tỷ lệ thích hợp cho phép cải thiện chất lượng nấm linh chi thu được. Kết quả cho thấy, đối với mẫu

CT1, chất lượng nấm thu được là tốt nhất. Công thức này được sử dụng trong các nghiên cứu tiếp theo.

Ví dụ 2. Trồng nấm linh chi (*Ganoderma lucidum*)

Để chuẩn bị 100 khối giá thể để trồng nấm linh chi, chuẩn bị các thành phần bao gồm mùn cưa gỗ cao su, bã mía, vỏ cà phê, lõi ngô, xơ dừa, cám gạo, vỏ trấu, MgSO_4 , CaCO_3 , vitamin và vi lượng như sau:

Cân 400 kg mùn cưa gỗ cao su, loại bỏ thành phần tạp chất và sàng để thu được mùn cưa có kích thước đồng đều và loại tạp chất. Tiếp đó tưới đều khoảng 133,3 lít nước vôi nồng độ 5% lên 400 kg mùn cưa gỗ cao su. Sau khi để ngấm, tiến hành ủ kín mùn cưa gỗ cao su trong 48 giờ. Trong quá trình ủ không cần đảo trộn, sau khi ủ, thu được mùn cưa gỗ cao su đã được xử lý.

Cân lần lượt 100 kg bã mía cắt đến kích thước khoảng 2cm, tiếp đó tưới đều với 33,3 lít nước vôi nồng độ 5% để ngấm và ủ kín bã mía trong 48 giờ. Trong quá trình ủ không cần đảo trộn, sau khi ủ thu được bã mía đã được xử lý.

Cân 150 kg lõi ngô và xay nhỏ thành mảnh có kích cỡ khoảng 2cm. Tiếp đó, lõi ngô được tưới đều với 50 lít nước vôi 5% và ủ trong 48 giờ. Sau khi ủ, pH của lõi ngô đạt khoảng pH=8, độ ẩm đạt khoảng 40% thu được lõi ngô đã được xử lý.

Cân 140 kg xơ dừa và cắt thành các mảnh khoảng 2 cm, sau đó được tưới đều với 47 lít nước vôi 5%. Nước vôi cần tưới dần dần vào xơ dừa để ngấm hoàn toàn. Sau đó ủ xơ dừa trong thời gian 48 giờ. Sau khi ủ, pH của xơ dừa đạt khoảng pH=8,5, độ ẩm đạt khoảng 40% thu được xơ dừa đã được xử lý.

Cân 57 kg vỏ trấu sau khi xay xát và trộn đều với 19 lít nước vôi nồng độ 5%. Sau đó ủ trong thời gian 48 giờ. Sau khi ủ pH vỏ trấu đạt khoảng pH=8, độ ẩm khoảng 40% thu được vỏ trấu đã xử lý.

Vỏ cà phê (150 kg) thu từ quá trình chế biến hạt cà phê, các thành phần cám gạo (70kg), MgSO_4 (2kg), CaCO_3 (10 kg) ở dạng bột. Hỗn hợp vitamin và vi lượng (1kg) ở dạng chế phẩm bổ sung dạng bột.

Vỏ cà phê được bổ sung với 300 lít nước, sau đó gia nhiệt đến 80°C trong 1 giờ để hòa tan lignin, sau đó phối trộn đều với các thành phần bao gồm mùn cưa gỗ cao su, bã mía, lõi ngô, xơ dừa, vỏ trấu đã được xử lý theo tỷ lệ nêu trên và trộn đều. Tiếp đó

bổ sung cám gạo, $MgSO_4$, $CaCO_3$, vitamin và vi lượng và đảo trộn để thu được hỗn hợp giá thể. Tiếp đó tiến hành ủ trong điều kiện kín ở nhiệt độ khoảng $40^\circ C$ trong 24 giờ thu được giá thể trồng nấm linh chi. Sau khi ủ, thu được khoảng 1000 kg giá thể có pH khoảng 7,5, độ ẩm khoảng 40%.

Chuyển giá thể vào thiết bị ép đùn, chỉnh áp suất ép khoảng 5MPa để ép thu được các khúc có chiều dài khoảng 50 cm, đường kính khoảng 20cm, trọng lượng khoảng 6 kg. Tiếp đó bọc khúc giá thể này bằng túi nilon và chuyển vào nồi hấp khử trùng trong 2 giờ ở nhiệt độ $120^\circ C$, sau khi làm nguội thu được giá thể trồng nấm nắp dạng khối.

Tiến hành khoan lỗ đường kính khoảng 1,5 cm vào giữa lõi khúc giá thể và cấy giống, sau đó bịt đầu bằng nút bông và chuyển các khúc nguyên liệu này vào phòng nuôi cấy trong điều kiện tối ở nhiệt độ khoảng $25^\circ C$, độ ẩm 80%, thời gian nhân hệ sợi 40 ngày đến khi hệ sợi mọc lan ra cạnh của khúc giá thể.

Tiếp đó, rạch đáy khúc giá thể với kích thước khoảng 3x3 cm và chuyển ra chôn vào các luống đất đã được xử lý bằng hỗn hợp vôi bột ủ bã cà phê theo tỷ lệ 1:3 theo trọng lượng. Các khúc giá thể được chôn theo hướng thẳng đứng với chiều mô sẹ ở miệng lỗ cấy giống hướng lên trên. Khoảng cách giữa các hàng khoảng từ 30 cm và phủ một lớp vôi bột trộn bã cà phê ủ hoai mục và đất tỷ lệ 1:3:10 (theo trọng lượng) với chiều dày khoảng 5 cm. Tiến hành phun sương hàng ngày để độ ẩm đạt khoảng 75% và sau mỗi khoảng thời gian 30 ngày cắt quả thể. Thời gian trồng được xác định cho đến khi không còn quả thể nấm hình thành. Trung bình mỗi giá thể thu được 4 lần

Để đánh giá hiệu quả hiệu quả của phương pháp trồng nấm linh chi nêu trên, tiến hành thử nghiệm với giá thể như trên (TN), nhưng được đóng trong các bịch (ĐC1) và trên khúc gỗ cây cao su (ĐC2) có kích thước đường kính khoảng 20 cm, dài khoảng 50cm làm đối chứng. Kết quả được thể hiện trong bảng sau.

Chỉ tiêu	TN	ĐC1	ĐC2
Năng suất trung bình (kg/tấn)	112	62	85
Số quả thể thu nhận (trung bình)	4,3	2,2	3,1
Kích thước quả thể trung bình lần đầu (cm)	20	12	16
Thời gian thu hoạch nấm lần đầu	35	35	35

Kích thước quả thể trung bình	16	8	10
Hàm lượng triterpenoit (mg/kg)	1565,12	1124,31	623,18
Tỷ lệ triterpenoit (%)	1,56	1,12	0,62

Theo kết quả cho thấy, khi ép và trồng nấm trên đất, năng suất thu được cao hơn khi trồng trong các bịch. Thời gian thu nấm thành phẩm kéo dài hơn, mặc dù nấm thu được từ ban đầu cho kết quả tốt nhất, kích thước nấm lên tới 20 cm, nhưng những lần sau vẫn thu được nấm. Điều này cho thấy, bằng cách ép, mật độ giá thể cao, khi đó hệ sợi trong mỗi khúc vẫn cho phép phát triển thành các quả thể. Ngược lại, với mẫu trồng trong bịch, kích thước của nấm suy giảm nhanh, điều này cho thấy hệ sợi không đủ dưỡng chất để tiếp tục phát triển thành quả thể nên năng suất thu được thấp hơn và chỉ thu được quả thể nấm sau 2 lần thu hoạch. Trường hợp trồng nấm trên khúc gỗ cao su, mặc dù năng suất cao hơn so với trường hợp trồng trên giá thể hỗn hợp do số lần thu hoạch kéo dài hơn, nhưng chất lượng nấm thu được kém, cụ thể hàm lượng hoạt chất triterpenoit thấp hơn, chỉ đạt khoảng 600 mg/kg. Điều này cho thấy gỗ cao su không thích hợp để trồng nấm linh chi, điều này có thể do gỗ thiếu các dưỡng chất cần thiết để hoạt chất tích tụ trong nấm. Ngoài ra, việc trồng nấm linh chi ở điều kiện bên ngoài thực địa cho phép tăng được hàm lượng hoạt chất có trong nấm.

Từ kết quả trên cho thấy rằng, bằng cách ép giá thể thành khối, năng suất nấm linh chi thu được vượt trội, gấp khoảng 2 lần so với trường hợp đóng trong bịch, khoảng 1,5 lần so với trồng nấm trên gỗ khúc. Ngoài ra, chất lượng nấm nấm linh chi cao hơn thu được vượt trội. Điều này cho thấy hiệu quả bất ngờ của phương pháp trồng nấm linh chi theo sáng chế so với phương pháp trồng nấm linh chi trong bịch và trồng nấm trên gỗ khúc thông thường.

Hiệu quả đạt được của sáng chế

Bằng các phối trộn các loại nguyên liệu thường sử dụng với bã cà phê, sáng chế cho phép sử dụng mùn cưa gỗ cao su để trồng nấm linh chi với năng suất cao, chất lượng tương đương với nấm linh chi ngoài tự nhiên, khắc phục được những yếu tố bất lợi về giá thể trồng nấm từ gỗ cao su, cho phép tận dụng được phế thải nông nghiệp, cụ thể là mùn cưa gỗ cao su và bã cà phê để trồng nấm linh chi, mở ra hướng mới trong ngành công nghiệp trồng nấm dược liệu.

Việc phối trộn giá thể rời và ép thành khối cho phép tận dụng ưu điểm của kỹ

thuật phối trộn giá thể rời và kỹ thuật trồng nấm linh chi trên gỗ khúc cho phép linh hoạt trong việc phối trộn giá thể, điều chỉnh hàm lượng dưỡng chất, cho phép trồng nấm trực tiếp ngoài đất. Điều này cho phép giảm nhân lực, tăng thời gian thu hoạch, tăng hiệu suất trồng trên cùng diện tích mà không cần các điều kiện nhà kính. Điều này mở ra một hướng phát triển nấm linh chi chất lượng cao, tăng hiệu quả trồng nấm và chất lượng sản phẩm.

Quy trình trồng nấm linh chi cho phép tận dụng rác nông nghiệp, đa dạng hóa nguồn nguyên liệu để có thể trồng nấm linh chi với các kỹ thuật khác nhau, quy trình theo giải pháp đơn giản, dễ thực hiện, có thể áp dụng nhằm tăng năng suất và chất lượng của nấm linh chi thu được. Kỹ thuật này cho phép trồng nấm linh chi có hàm lượng hoạt chất cao hơn so với các quy trình thông thường tạo ra nguồn nguyên liệu có chất lượng dùng làm thực phẩm chức năng hoặc dùng trong dược phẩm.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Quy trình trồng nấm linh chi (*Ganoderma lucidum*), trong đó quy trình này bao gồm các bước:

a) xử lý nguyên liệu bằng cách thu gom mùn cưa gỗ cao su, vỏ trấu, cắt nhỏ lõi ngô, bã mía, xơ dừa đến kích thước khoảng từ 1 đến 3cm, sau đó bổ sung nước vôi 5% vào từng thành phần theo tỷ lệ nước vôi/nguyên liệu là 1/3 (thể tích/trọng lượng) trộn đều và ủ kín trong 48 giờ, các thành phần cám gạo, $MgSO_4$, $CaCO_3$, vitamin và vi lượng ở dạng bột, vỏ cà phê được thu gom ở dạng khô;

b) phối giá thể bằng cách chuẩn bị các thành phần theo tỷ lệ % trọng lượng sau:

Mùn cưa gỗ cao su:	40-50
Bã mía:	10-20
Vỏ cà phê:	10-20
Lõi ngô:	15-20
Xơ dừa:	5-10
Cám gạo:	3-10
Vỏ trấu:	5-10
$MgSO_4$:	0,1-1
$CaCO_3$:	1-5
Vitamin và vi lượng	0,1-0,5

vỏ cà phê được bổ sung với nước theo tỷ lệ $\frac{1}{2}$ (trọng lượng/thể tích), sau đó gia nhiệt đến $80^\circ C$ trong 1 giờ rồi phối trộn đều với mùn cưa gỗ cao su, bã mía, lõi ngô, xơ dừa, vỏ trấu đã được xử lý, tiếp đó bổ sung cám gạo, $MgSO_4$, $CaCO_3$, vitamin và vi lượng, phối trộn đều và ủ kín ở nhiệt độ khoảng $40^\circ C$ trong 24 giờ thu được giá thể trồng nấm linh chi;

c) ép khúc và khử trùng giá thể bằng cách trộn đều, ép đùn giá thể trên máy ép đùn với lực ép khoảng từ 3MPa đến 5MPa để tạo thành khúc giá thể có chiều dài khoảng 50cm đường kính từ 10 đến 20 cm rồi bọc kín trong các túi nilon, sau đó đưa đi hấp khử trùng trong điều kiện nhiệt độ $120^\circ C$ trong 6 giờ thu được các khúc nguyên liệu để cấy giống;

d) cấy giống và ươm hệ sợi bằng cách khoan lỗ ở tâm khúc nguyên liệu và cấy giống nấm linh chi *Ganoderma lucidum* vào khúc nguyên liệu theo tỷ lệ giống/nguyên

liệu là từ 1 đến 5%, sau khi bịt lỗ khoan bằng nút bông, giữ khúc nguyên liệu trong điều kiện tối ở nhiệt độ khoảng từ 25 đến 30°C, độ ẩm khoảng từ 70 đến 80%, trong thời gian từ 30 đến 40 ngày cho hệ sợi phát triển kín khúc nguyên liệu và hình thành mô sẹo ở miệng lỗ cấy giống; và

e) trồng và chăm sóc nấm bằng cách tạo luống trên đất, rắc hỗn hợp vôi bột ủ bã cà phê theo tỷ lệ 1:3 theo trọng lượng, tiếp đó rạch đáy túi nilon chứa khúc nguyên liệu với diện tích khoảng 3x3cm và chôn thành hàng theo chiều thẳng đứng với chiều mô sẹo ở miệng lỗ cấy giống hướng lên trên, khoảng cách giữa các hàng khoảng từ 30 đến 50cm, sau đó phủ lên một lớp hỗn hợp bao gồm vôi bột trộn bã cà phê ủ hoại mục và đất tỷ lệ 1:3:10 (theo trọng lượng) với chiều dày khoảng 5 cm, duy trì độ ẩm từ 70 đến 75% bằng cách phun sương trong thời gian 2 tháng để hệ sợi nấm tiếp tục phát triển và mọc quả thể; và

f) thu nấm linh chi thành phẩm bằng cách cắt, thu những quả thể nấm linh chi có bào tử nấm phủ dày, sau đó vệ sinh luống và tiếp tục duy trì ẩm độ khoảng 75% để nấm tiếp tục mọc và phát triển quả thể, quả thể nấm sau khi cắt được sấy đến độ ẩm khoảng 10% thu được nấm linh chi thành phẩm.