

MORPHOLOGICAL, CULTURAL CHARACTERISTIC AND NUTRITIONAL CONTENT OF *Ganoderma lucidum* Lim xanh COLLECTED IN LANG SON PROVINCE

Do Thi Hien, Hoang Van Hung, Do Bich Due, Nguyen Manh Tuan*

TNU – University of Agriculture and Forestry

ARTICLE INFO	ABSTRACT
Received: 25/11/2021 Revised: 20/01/2022 Published: 25/01/2022 KEYWORDS <i>Ganoderma lucidum</i> (Leyss. Ex Fr.) Karst. Isolation Cultivation Anticancer Medical mushroom	The research was carried out to collect and conserve genetic resource of <i>Ganoderma lucidum</i> from nature. Fruiting bodies of <i>Ganoderma lucidum</i> were discovered at natural forest in Huu Lan commune, Loc Binh district, Lang Son province. Analysis of ITS 1 - 5.8S rRNA - ITS 2 gene sequence showed that strain Lim xanh is a member of the genus <i>Ganoderma</i> and named as <i>Ganoderma lucidum</i> Lim xanh. Research results revealed that using 70% ethanol for 7 minutes gives the highest efficiency in isolating pure mycelium from the fruiting, with 26.67% of the samples being successful. Strain Lim xanh was ability to grow on four different media, including PDA, MCM, YMA, PL; in which the PDA medium is the most optimum for growth of strain Lim xanh. Fruiting bodies of <i>Ganoderma lucidum</i> Lim xanh cultivated on artificial condition were fan-shaped, dark brown, diameter of fruit bodies reaching of 5-8 cm, stalk length 7-10 cm and 5.43 - 10.64g of fruit weight. Analysis result of nutritional contents of <i>Ganoderma lucidum</i> contained 15.46% total protein, carbohydrates (41.42%), fiber (37.70%) and minerals (2.45%).

ĐẶC ĐIỂM HÌNH THÁI, NUÔI CẤY VÀ HÀM LƯỢNG DINH DƯỠNG CỦA NẤM LIM XANH (*Ganoderma lucidum* Lim xanh) THU THẬP TẠI TỈNH LẠNG SƠN

Đỗ Thị Hiền, Hoàng Văn Hưng, Đỗ Bích Duệ, Nguyễn Mạnh Tuấn*

Trường Đại học Nông Lâm - ĐH Thái Nguyên

THÔNG TIN BÀI BÁO	TÓM TẮT
Ngày nhận bài: 25/11/2021 Ngày hoàn thiện: 20/01/2022 Ngày đăng: 25/01/2022 TỪ KHÓA Nấm Lim xanh Phân lập Nuôi trồng Chống ung thư Nấm dược liệu	Nghiên cứu được triển khai nhằm thu thập và bảo tồn nguồn gen nấm Lim xanh (<i>Ganoderma lucidum</i>) từ tự nhiên. Quả thể nấm Lim xanh thu thập tại rừng tự nhiên thuộc xã Hữu Lân, huyện Lộc Bình, tỉnh Lạng Sơn. Kết quả nghiên cứu cho thấy, sử dụng ethanol 70% trong 7 phút cho hiệu quả phân lập hệ sợi thuần khiết cao nhất từ quả thể nấm, với 26,67% số mẫu thành công. Phân tích trình tự gen ITS 1 – 5,8S rRNA – ITS 2 cho thấy, chủng nấm Lim xanh là thành viên của chi <i>Ganoderma</i> và được đặt tên là <i>Ganoderma lucidum</i> Lim xanh. Chủng nấm Lim xanh có khả năng sinh trưởng trên cả 4 môi trường bao gồm PDA, MCM, YMA, PL; trong đó môi trường PDA là thích hợp nhất cho nấm Lim xanh sinh trưởng. Quả thể nấm Lim xanh nuôi trồng nhân tạo có dạng hình quạt, màu nâu sẫm, đường kính quả thể dao động từ 5-8 cm, cuống nấm dài 7-10 cm và trọng lượng quả thể khô 5,43 - 10,64g. Kết quả phân tích hàm lượng dinh dưỡng của nấm Lim xanh có chứa protein tổng số chiếm 15,46%, carbohydrate (41,42%), xơ (37,70%) và khoáng chất (2,45%).

DOI: <https://doi.org/10.34238/tnu-jst.5299>

* Corresponding author. Email: nguyenmanhtuan@tuaf.edu.vn

1. Đặt vấn đề

Nấm Lim xanh là một loại nấm linh chi tự nhiên, có tên khoa học là *Ganoderma lucidum* (Leyss. Ex Fr.) Karst). Nấm thường ký sinh trên các cây gỗ lâu năm, một số loài cây chết mục, thường là cây Lim. Trong nấm Lim xanh có chứa rất nhiều hoạt chất sinh học tiềm năng trong bảo vệ và nâng cao sức khỏe con người như hoạt chất polysaccharide, triterpene, vitamin và protein ling zhi-8,... với hàm lượng cao hơn nhiều so với các loại nấm Linh chi. Theo kết quả phân tích của G. Bing Lin, nấm Lim xanh chứa đựng nước (chiếm 12 - 13%), cellulose (54 - 56%), lignin (13 - 14%), monosaccharide (4,5 - 5%), lipid (1,9 - 2,0%), protein (0,08 - 0,12%), sterol (0,14 - 0,16%) và các nguyên tố đa vi lượng như Br, Ca, Fe, K, Na, Mg, Mn, Zn, Bi, Se, Ge,... [1].

Các hoạt chất sinh học của nấm Lim xanh được chứng minh là có tác dụng hiệu quả trong phòng, điều trị ung thư, tiểu đường, huyết áp, bảo vệ gan, chống béo phì, chống ôxy hóa, chống viêm nhiễm, làm đẹp và ngăn ngừa quá trình lão hóa. Trong đó, polysaccharide và triterpens là hai nhóm hợp chất chính có tác dụng ngăn ngừa ung thư và ngăn chặn quá trình hình thành khối u [2]. Hoạt chất β -glucan có tác dụng “nhận biết” các tế bào ung thư, giúp hệ miễn dịch và dễ dàng phát hiện và tiêu diệt chúng. Nghiên cứu gần đây cho thấy, nấm Lim xanh có khả năng hỗ trợ điều trị các bệnh nguy hiểm như ung thư và các bệnh liên quan đến gan. Kết quả nghiên cứu chứng minh rằng, hoạt chất từ nấm Lim xanh có hiệu quả trong việc ức chế sự hình thành và di căn của các tế bào ung thư [3]-[6]. Hoạt chất triterpen trong nấm Lim xanh có khả năng chống ung thư cả trong điều kiện *in vitro* và *in vivo* [4]; polysaccharid có vai trò tăng cường hoạt động của hệ miễn dịch trong việc nhận diện và ức chế các tế bào ung thư [5], [6]. Ngoài ra, hoạt chất polysaccharid còn có tác dụng chống tổn thương tụy [7], chống cao huyết áp, bổ thận, bổ phổi, chống lão hóa. Hoạt chất triterpenes có công dụng hỗ trợ điều trị tốt cho gan, đẩy mạnh sự hấp thụ oxy và làm tăng sự hoạt động của gan, tăng cường miễn dịch tiêu diệt tế bào gây bệnh. Hoạt chất germanium (có hàm lượng cao gấp 8 lần nhân sâm) có tác dụng giúp khí huyết lưu thông, thúc đẩy sự hấp thụ oxy của tế bào. Hoạt chất alkaloid và adenosine có tác động làm giảm xơ vữa thành mạch, tăng năng lượng và giúp đẩy nhanh quá trình hàn gắn vết thương, điều hòa huyết áp, ổn định hệ thần kinh, cân bằng rối loạn nhịp tim, máu.

Hiện nay, nghiên cứu về nấm Lim xanh ở nước ta còn nhiều hạn chế. Nghiên cứu này sẽ góp phần bổ sung thông tin về đặc điểm sinh học và các hoạt chất của nấm Linh xanh.

2. Vật liệu, môi trường và phương pháp nghiên cứu

2.1. Vật liệu và môi trường nghiên cứu

Vật liệu:

Quả thể nấm Lim xanh thu thập từ rừng tự nhiên thuộc xã Hữu Lân, huyện Lộc Bình, tỉnh Lạng Sơn. Giống nấm Linh chi đỏ được cung cấp bởi Viện Di truyền Nông nghiệp.

Môi trường sử dụng:

Môi trường PDA (g/l: khoai tây 200; dextrose 20; thạch 20; pH 6-6,5). Môi trường dinh dưỡng MCM (g/l: dextroza 20; yeast extract 2; pepton 1; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,5g; KH_2PO_4 0,46; K_2HPO_4 1; thạch 20; pH 6-6,5). Môi trường dinh dưỡng PL (g/l: Fructose 40; yeast extract 20; K_2HPO_4 0,46; KH_2PO_4 1; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,5; thạch 20; pH 6-6,5). Môi trường dinh dưỡng YMA (g/l: dextroza 10; yeast extract 3; malt extract 3; pepton 5; thạch 20g; pH 6-6,5).

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Phương pháp phân lập nấm Lim xanh từ quả thể:

Quả thể nấm Lim xanh thu thập trong tự nhiên được rửa sạch ba lần trong nước cất vô trùng và khử trùng trong cồn 70% từ 0-7 phút, sau đó cắt thành miếng ô vuông kích thước 0,5×0,5 cm. Các miếng cắt quả thể nấm Lim xanh được đặt lên bề mặt môi trường thạch đĩa PDA và bọc lại bằng paraffin để tránh sự thoát hơi nước, nuôi ở 25°C trong 7 ngày. Lựa chọn đĩa nấm nuôi cấy phát triển bình thường không bị tạp nhiễm. Tiến hành cấy chuyển sang môi trường thạch đĩa

PDA cho đến khi thu được hệ sợi đồng nhất và thuần khiết. Hệ khuẩn ty tinh sạch của chủng nấm Lim xanh được bảo quản trong glycerol ở nồng độ cuối cùng 10% ở -86°C.

Phương pháp định danh phân tử nấm Lim xanh:

Hệ khuẩn ty thuần khiết của chủng nấm Lim xanh được nuôi lắc 130 vòng/phút, trong môi trường môi trường PDB (g/l: khoai tây 200; dextrose 20; pH 6-6,5) ở 25°C trong 3 ngày. Ly tâm thu nhận hệ sợi, DNA tổng số của hệ sợi nấm Lim xanh được tách chiết theo mô tả của Cao và đồng tác giả (1998) [8]. Sử dụng cặp mồi ITS1 xuôi (5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3') và mồi ITS4 ngược (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') để khuếch đại đoạn gen Internal Transcribed Spacer 1 (ITS 1) – 5,8S rRNA – ITS 2 của Lim xanh bằng phản ứng PCR; thành phần và điều kiện của phản ứng PCR được thực hiện theo mô tả của White và đồng tác giả (1990) [9]. Nhận diện trình tự đoạn gen ITS 1 – 5,8S rRNA – ITS 2 của nấm Lim xanh với các trình tự gen đã công bố trên ngân hàng GenBank thông qua cơ sở dữ liệu NCBI Blast. Vị trí phân loại của nấm Lim xanh được xây dựng dựa trên phần mềm MEGA 7 [10].

Phương pháp xác định môi trường nuôi cấy thích hợp cho nấm Lim xanh:

Chủng nấm Lim xanh được nuôi đồng thời trong 100 ml mỗi loại môi trường dịch thể DPA, MCM, YMA, PL ở 25°C, 130 vòng/phút. Sau 7 ngày nuôi lắc, ly tâm 8000 vòng/phút trong 10 phút ở 4°C, thu nhận khuẩn ty của chủng nấm Lim xanh. Rửa hệ khuẩn ty ba lần của chủng nấm trong nước cất vô trùng và sấy khô hệ sợi ở 70°C, 24 giờ.

Phương pháp nuôi trồng nhân tạo quả thể nấm Lim xanh và Linh chi đỏ:

Giống nấm cấp 1 được hoạt hóa trong môi trường thạch đĩa PDA ở 25°C, 7 ngày và sau đó được cấy chuyển sang môi trường thạch đĩa PDA (giống cấp 2). Môi trường cơ chất cho nuôi cấy giống cấp 3 bao gồm thóc : bột CaCO₃ : đường (tỷ lệ 98:1:1%, w/w). Giống cấp ba được nuôi ở 25°C, 25-30 ngày. Tiếp đến, cấy chuyển giống cấp 3 sang mùn cưa keo có bổ sung thêm dinh dưỡng theo tỷ lệ mùn cưa : cám gạo : bột CaCO₃ (80:19:1%, w/w). Quả thể nấm Lim xanh và Linh chi đỏ được so sánh các chỉ tiêu về hình thái, màu sắc, trọng lượng và hoạt chất sinh học.

Phương pháp xác định hàm lượng một số thành phần có trong quả thể nấm Lim xanh và Linh chi đỏ nuôi trồng nhân tạo:

Quả thể nấm Lim xanh và Linh chi đỏ (100g cho mỗi loại, độ ẩm 7%) được nghiền thành dạng bột và xác định các thành phần, bao gồm hàm lượng protein tổng số được xác định theo TCVN 8801:2011 [11]; hàm lượng carbohydrate theo TCVN 4594:1988 [12]; hàm lượng chất xơ theo TCVN 9050:2012 [13] và hàm lượng chất khoáng theo TCVN 10691:2015 [14].

Phương pháp xử lý số liệu:

Số liệu được xử lý, so sánh thông qua phần mềm Microsoft excel.

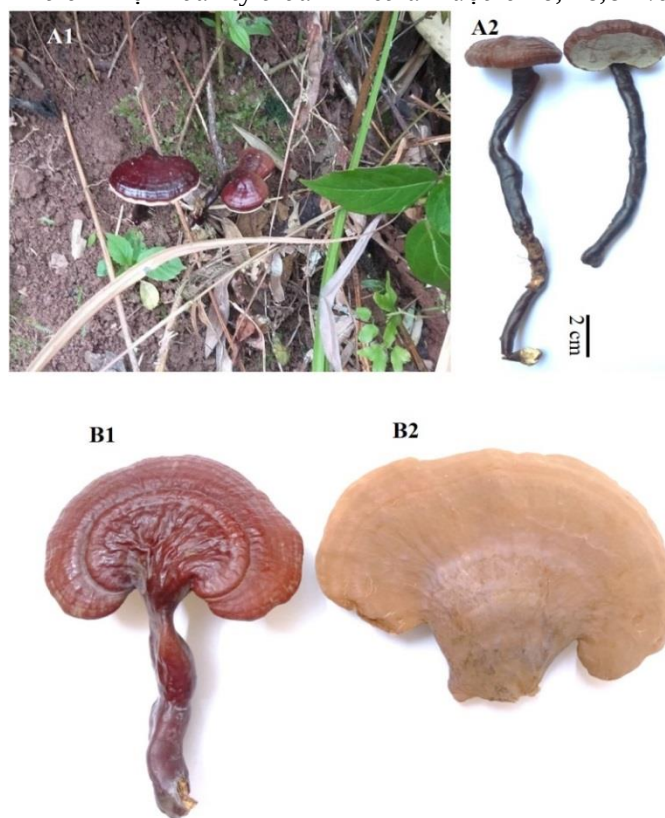
3. Kết quả và thảo luận

3.1. Phân lập nấm Lim xanh từ quả thể

Nấm Lim xanh thu được từ rừng tự nhiên có các đặc điểm đặc trưng như mũ nấm có màu nâu hơi sẫm, nhẵn bóng. Quả thể hình quạt, có vân gợn đồng tâm, đường kính mũ từ 3,5 đến 5 cm. Chiều dài cuống nấm dao động từ 10 đến 15 cm (Hình 1A1, A2).

Quả thể nấm Lim xanh được khử trùng bằng cồn 70% ở các mức thời gian khác nhau. Mẫu nấm sau khi được xử lý (n=30 mảnh) được đặt trên bề mặt môi trường PDA, nuôi ở 25°C trong 7 - 10 ngày (Bảng 1). Kết quả bảng 1 cho thấy, thời gian khử trùng có ảnh hưởng đến hiệu quả loại bỏ các tạp nhiễm vi khuẩn và mốc dại trong quá trình phân lập nấm Lim xanh. Số mẫu nấm bị chết trong quá trình khử trùng mẫu tỷ lệ thuận theo thời gian khử bằng ethanol, từ 6,67% lên 83,33% tương ứng với thời gian khử trùng từ 1 đến 10 phút. Ngược lại, số mẫu bị tạp nhiễm diễn biến theo tỷ lệ nghịch với thời gian khử trùng, cụ thể 90% số mẫu bị tạp nhiễm trong 1 phút giảm xuống còn 13,33% trong 10 phút. Hệ sợi nấm sinh trưởng tốt được xác định ở thời điểm 5 ngày nuôi cấy, 25°C có màu trắng sữa, đồng nhất, phát sinh từ vật liệu mẫu cho thấy không có sự khác biệt ở điều kiện khử trùng 1 và 10 phút với số mẫu hình thành hệ sợi thuần khiết 1/30 mẫu (chiếm

3,33%); trong khi khoảng thời gian khử trùng mẫu có hiệu quả hơn trong khoảng thời gian từ 3, 5 7 phút với số mẫu hình thành hệ khuẩn ty thuần khiết lần lượt là 10, 16,67 và 26,67%.



Hình 1. Hình thái quả thể nấm Lim xanh trong tự nhiên (A) và nuôi trồng nhân tạo (B1). A1: quả thể nấm tươi; A2: quả thể nấm khô; B1: quả thể nấm khô; B2: quả thể nấm Linh chi đỏ

Như vậy, thời gian khử trùng mẫu vật trong ethanol 70% có ảnh hưởng lớn đến loại bỏ tạp nhiễm của quả thể nấm Lim xanh thu thập ngoài tự nhiên trong quá trình phân lập, trong đó thời gian 7 phút khử trùng thích hợp nhất so với các thời gian còn lại và đối chứng, số mẫu hình thành hệ sợi thuần khiết đạt 26,67% ($p < 0,05$).

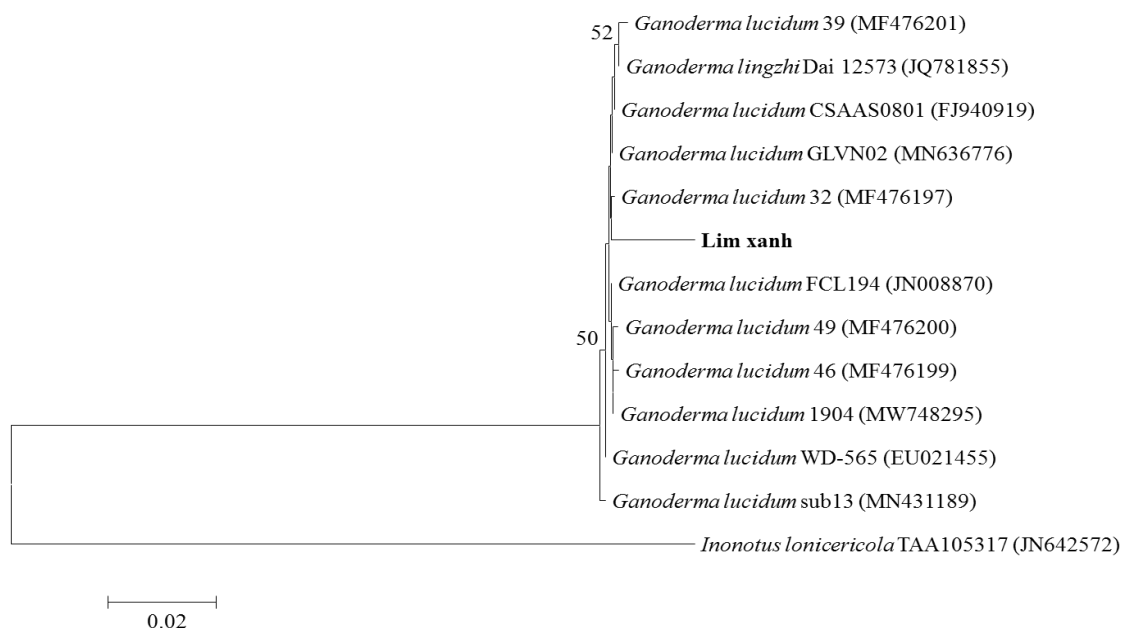
Từ kết quả nghiên cứu tại bảng 1 cho thấy, sử dụng ethanol 70% từ 3-7 phút có thể được áp dụng để loại bỏ tạp nhiễm cho quả thể nấm Lim xanh trong quá trình phân lập hệ khuẩn ty. Kết quả nghiên cứu của Nguyễn Thị Hồng Gấm và đồng tác giả cũng cho thấy của phương pháp khử trùng mẫu nấm Lim xanh thu thập trong tự nhiên ở nồng độ ethanol 70% trong 3-4 phút có hiệu quả tốt cho việc loại bỏ tạp nhiễm trong quá trình phân lập [15]. Đây cũng là phương pháp được các nhà khoa học trên thế giới áp dụng cho phân lập hệ khuẩn ty từ quả thể nhóm nấm Đâm (*Basidiomycota*) thu thập từ tự nhiên [16].

Bảng 1. Ảnh hưởng của thời gian khử trùng mẫu đến phân lập hệ sợi nấm Lim xanh

Thời gian khử trùng	Chỉ tiêu đánh giá		
	Số mẫu bị chết	Số mẫu bị tạp nhiễm	Số mẫu có hệ sợi sinh trưởng
Ethanol 70% trong 1 phút	2/30 (6,67%)	27/30 (90,00%)	1/30 (3,33%)
Ethanol 70% trong 3 phút	5/30 (16,67%)	22/30 (73,33%)	3/30 (10%)
Ethanol 70% trong 5 phút	8/30 (26,67%)	17/30 (56,67%)	5/30 (16,67%)
Ethanol 70% trong 7 phút	11/30 (36,67%)	11/30 (36,67%)	8/30 (26,67%)
Ethanol 70% trong 10 phút	25/30 (83,33%)	4/30 (13,33%)	1/30 (3,33%)
Nước cất (đối chứng)	0/30 (0,00%)	30/30 (100,00%)	0/30 (0%)

3.2. Định danh phân tử nấm Lim xanh

Trình tự đoạn gen ITS 1 – 5,8S rRNA – ITS 2 của chủng Lim xanh bộc lộ độ tương đồng cao với các trình tự gen của chi *Ganoderma* đã công bố trên gen hàng GenBank, bao gồm 98,26% với *Ganoderma lucidum* GLVN02 (MN636776), *Ganoderma lucidum* 39 (MF476201), *Ganoderma lucidum* 49 (MF476200), *Ganoderma lucidum* 32 (MF476197) và *Ganoderma lucidum* 1904 (MW748295); 98,10% với *Ganoderma lucidum* 46 (MF476199) và *Ganoderma lucidum* WD-565 (EU021455). Dựa vào ngưỡng chặn 98,2% [17] về mức độ tương đồng gen ITS 1 – 5,8S rRNA – ITS 2 giữa chủng Lim xanh với các trình tự gen đã công bố cho thấy rằng, nấm Lim xanh thuộc chi *Ganoderma*. Thêm nữa, sơ đồ phả hệ (Hình 2) cũng cho thấy, nấm Lim xanh được sắp thuộc chi *Ganoderma*. Dựa vào các dữ liệu mô tả ở trên, nấm Lim xanh là một thành viên của chi *Ganoderma* và được gọi tên là *Ganoderma lucidum* Lim xanh.



Hình 2. Sơ đồ phả hệ của nấm Lim xanh với chủng nấm *Ganoderma* spp. đã công bố chủng *Inonotus lonicericola* TAA105317 (JN642572) được sử dụng ngoài chi *Ganoderma*

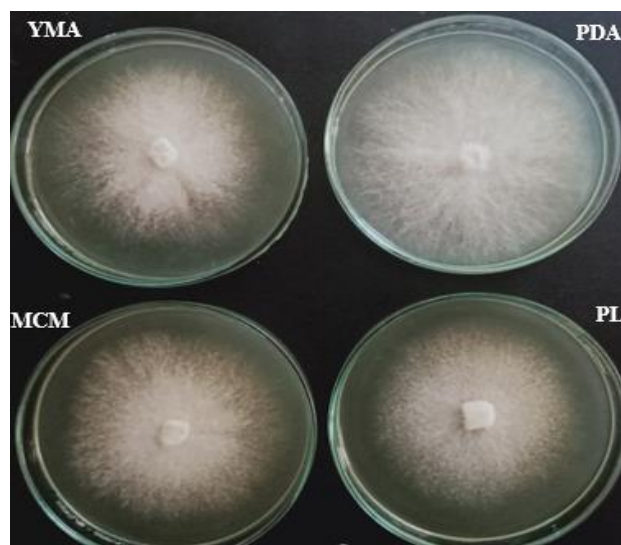
3.3. Môi trường nuôi cấy thích hợp cho hệ sợi nấm Lim xanh

Theo dõi sự phát triển của hệ sợi nấm Lim xanh trên 4 môi trường PDA, MCM, YMA, PL sau 7 ngày nuôi cấy ở 25°C, cho thấy môi trường PDA phù hợp cho sự sinh trưởng tốt của nấm Lim xanh với hệ sợi lan đều, trắng, ăn kín bề mặt môi trường, đường kính hệ sợi đạt 6,1 cm, trong đó các môi trường khác hệ sợi phát triển chậm hơn. Cụ thể, môi trường MCM đường kính hệ sợi đạt 5,4 cm, môi trường YMA đạt 4,9 cm và môi trường PL đạt 5,1 cm (Hình 3).

Kết quả xác định sinh khối sợi khô thu được cũng cho thấy, môi trường PDA thích hợp cho hệ sợi sinh trưởng, sinh khối hệ sợi khô đạt 10,5 mg/100 ml môi trường; môi trường PL đạt 7,8 mg/100ml; 8,4 mg/100ml đối với môi trường MCM và 7,5 mg/100 ml đối với môi trường YMA. Sinh khối hệ sợi của chủng nấm Lim xanh trong môi trường PDA có sự khác biệt ý nghĩa với ba loại môi trường còn lại ($p < 0,05$); không có sự khác biệt ý nghĩa của chủng nấm Lim xanh khi sử dụng môi trường MCM, YMA và PL ($p > 0,05$).

3.4. Đặc điểm hình thái quả thể nấm Lim xanh nuôi trồng nhân tạo

Đặc điểm hình thái quả thể nấm Lim xanh và Linh chi đỏ được nuôi trồng trong cùng điều kiện nhân tạo được thể hiện tại Hình 1B1, B2 và Bảng 2.



Hình 3. Ảnh hưởng của môi trường đến sinh trưởng hệ sợi nấm Lim xanh sau 7 ngày ở 25°C

Bảng 2. Đặc điểm hình thái giữa nấm Lim xanh và nấm Linh chi đỏ trong điều kiện nhân tạo

Chỉ tiêu	Nấm Lim xanh	Nấm Linh chi đỏ
Hình dạng quả thể nấm	Hình quạt	Hình quạt
Đường kính quả thể	5-8 cm	7-13 cm
Màu sắc quả thể nấm	Nâu sẫm	Nâu
Chiều dài và đường kính cuống nấm	Cuống nấm 7-10 cm; đường kính 0,5-1 cm	Cuống nấm 1,5-3 cm; đường kính 2-3 cm
Trọng lượng quả thể nấm khô	5,43 - 10,64g	8,37 - 16,05g

Kết quả nghiên cứu cho thấy, cả nấm Lim xanh và Linh chi đỏ có quả thể hình quạt, quả thể nấm Lim xanh nhỏ hơn so với quả thể nấm nấm Linh chi, tương ứng kích thước trung bình của quả thể nấm Lim xanh khoảng 6,5 cm và 10 cm đối với nấm Linh chi.

Tuy nhiên, cuống nấm Lim xanh dài hơn, gấp khoảng hơn 3 lần chiều dài cuống nấm Linh chi. Ngược lại, trọng lượng quả thể Lim xanh khô bằng 1,5 lần so với quả thể nấm Linh chi. Màu sắc của hai loại nấm cũng khác nhau, nấm Lim xanh có màu sẫm hơn so với quả thể nấm Linh chi. Đặc điểm hình thái của quả thể nấm Lim xanh tương đồng với kết quả nghiên cứu của Nguyễn Thị Hồng Gấm và đồng tác giả khi nuôi trồng nhân tạo, nấm Linh xanh có màu nâu sẫm và cuống nấm dài hơn so với nấm Linh chi đỏ [15].

3.5. Hàm lượng thành phần dinh dưỡng có trong nấm Lim xanh và Linh chi đỏ

Kết quả xác định hàm lượng dinh dưỡng có trong 2 loại nấm Lim xanh và Linh chi được nuôi trồng nhân tạo được trình bày tại Bảng 3. Quả thể nấm Lim xanh có chứa protein tổng số chiếm 15,46%, carbohydrate (41,42%), xơ (37,70%) và khoáng chất (2,45%). So với nấm Linh chi đỏ, hàm lượng dinh dưỡng có trong nấm Lim xanh cao hơn, đặc biệt là hàm lượng carbohydrate cao gấp hơn 1,5 lần ($p < 0,05$).

Bảng 3. Hàm lượng dinh dưỡng có trong quả thể nấm Lim xanh và Linh chi đỏ

Chỉ tiêu	Nấm Lim xanh	Nấm Linh chi đỏ
Protein tổng số (%)	15,46 ± 0,13	14,08 ± 0,09
Carbohydrate (%)	41,42 ± 2,05	24,41 ± 1,83
Xơ (%)	37,70 ± 0,83	32,69 ± 0,57
Khoáng (%)	2,45 ± 0,36	1,82 ± 0,19

4. Kết luận

Khử trùng mẫu Lim xanh thu thập từ tự nhiên trong ethanol có nồng độ 70%, 7 phút có hiệu quả cao nhất cho phân lập hệ khuẩn ty thuần khiết. Chủng nấm Lim xanh là một loài của chi *Ganoderma*, với tên gọi là *Ganoderma lucidum* Lim xanh. Hệ sợi của nấm Lim xanh có khả năng sinh trưởng trong môi trường PDA, MCM, YMA và PL (môi trường thích hợp nhất là PDA). Quả thể nấm Lim xanh nuôi trồng nhân tạo có hình quạt, màu nâu sẫm, chứa protein tổng số chiếm 15,46%, carbohydrate (41,42%), xơ (37,70%) và khoáng chất (2,45%).

TÀI LIỆU THAM KHẢO/ REFERENCES

- [1] P. N. Nguyen, *Textbook of biochemistry*, part 1, Ho Chi Minh City National University Publishing House, 2001.
- [2] R. R. M. Paterson, "Ganoderma- a therapeutic fungal biofactory," *Phytochemistry*, vol. 67, no. 18, pp. 1985-2001, 2006.
- [3] S. Q. Huang and Z. X. Ning, "Extraction of polysaccharides from *Ganoderma lucidum* and its immune enhancement activity," *International Journal of Biological Macromolecules*, vol. 47, no. 3, pp. 336-341, 2010.
- [4] L. Feng, L. Yuan, M. Du, Y. Chen, M. H. Zhang, J. F. Gu, J. J. He, Y. Wang, and W. Cao, "Anti-lung cancer activity through enhancement of immunomodulation and induction of cell apoptosis of total triterpenes extracted from *Ganoderma luccidum* (Leyss. ex Fr.) Karst," *Molecules*, vol. 18, no. 8, pp. 9966-9981, 2013.
- [5] Z. B. Lin, "Cellular and molecular mechanisms of immuno-modulation by *Ganoderma lucidum*," *J Pharmacol Sci*, vol. 99, no. 2, pp. 144-153, 2005.
- [6] L. Z. Cao and Z. B. Lin, "Regulation on maturation and function of dendritic cells by *Ganoderma lucidum* polysaccharides," *Immunol Lett*, vol. 83, no. 3, pp. 163-169, 2002.
- [7] H. N. Zhang, J. H. He, L. Yuan, and Z. B. Lin, "In vitro and in vivo protective effect of *Ganoderma lucidum* polysaccharides on alloxan-induced pancreatic islets damage," *Life Sci*, vol. 73, no. 18, pp. 2307-2319, 2003.
- [8] H. Cao, P. P. But, and P. C. Shaw, "Methodological studies on genomic DNA extraction and purification from plant drug materials," *J Chin Pharm Sci*, vol. 7, no. 3, pp. 130-137, 1998.
- [9] T. J. White, T. Bruns, S. Lee, and J. Taylor, "Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics," in *PCR protocols: a guide to methods and applications*, M. A. Innis, D. H. Gelfand, J. J. Sninsky, T. J. White, Ed., San Diego (CA): Academic Press, 1990, pp. 315-322.
- [10] S. Kumar, G. Stecher, and K. Tamura, "MEGA7: Molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets," *Mol Biol Evol*, vol. 33, no. 7, pp. 1870-1874, 2016.
- [11] TCVN 8801:2011, *Cereals and pulses - Determination of protein -nitrogen and non protein-nitrogen contents*, 2011.
- [12] TCVN 4594:1988, *Canned foods - Determination of total sugar, reducing sugar and starch content*, 1988.
- [13] TCVN 9050:2012, *Foodstuffs - Determination of total, soluble, and insoluble dietary fiber by enzymatic - gravimetric method*, 2012.
- [14] TCVN 10691:2015, *Fruit and vegetable juices - Determination of ash*, 2015.
- [15] T. H. G. Nguyen, T. K. A. Tran, V. N. Pham, and T. T. Vu, "Breeding and cultivation of *Ganoderma luccidum* (Leyss. ex Fr.) Karst," (in Vietnamese), *Youth science and technology conference of agricultural, forestry and fishery schools*, 2016.
- [16] K. Ota, I. Yamazaki, T. Saigoku, M. Fukui, T. Miyata, K. Kamaike, T. Shirahata, F. Mizuno, Y. Asada, M. Hirotsu, C. Ino, T. Yoshikawa, Y. Kobayashi, and H. Miyaoka, "Phellinane L, sesquiterpene metabolite of *Phellinus linteus*: Isolation, structure elucidation, and asymmetric total synthesis," *J Org Chem.*, vol. 82, no. 23, pp. 12377-12385, 2017.
- [17] D. Vu, M. Groenewald, M. de Vries, T. Gehrman, B. Stielow, U. Eberhardt, A. Al-Hatmi, J. Z. Groenewald, G. Cardinali, J. Houbraken, T. Boekhout, P. W. Crous, V. Robert, and G. J. M. Verkley, "Large-scale generation and analysis of filamentous fungal DNA barcodes boosts coverage for kingdom fungi and reveals thresholds for fungal species and higher taxon delimitation," *Stud Mycol*, vol. 92, pp. 135-154, 2019.