

## ĐÁNH GIÁ SỰ SINH TRƯỞNG VÀ PHÁT TRIỂN CỦA CHỦNG NẤM LINH CHI *Ganoderma lingzhi* Ga8 THU THẬP TẠI LẠNG SƠN

Nguyễn Thị Bích Thùy<sup>1,2\*</sup>, Trần Đông Anh<sup>1</sup>, Lương Hoàng Yên<sup>1</sup>, Nguyễn Thị Huyền Trang<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Khoa Công nghệ sinh học, Học viện Nông nghiệp Việt Nam

<sup>2</sup>Viện Nghiên cứu và Phát triển Nấm ăn, Nấm dược liệu, Học viện Nông nghiệp Việt Nam

\*Tác giả liên hệ: [ntbthuy.cns@vnua.edu.vn](mailto:ntbthuy.cns@vnua.edu.vn)

Ngày nhận bài: 31.03.2025

Ngày chấp nhận đăng: 18.04.2025

### TÓM TẮT

Việc thu thập, đánh giá nguồn gen nấm linh chi trong tự nhiên có vai trò quan trọng trong nghiên cứu nấm dược liệu. Nghiên cứu nhằm đánh giá một số đặc điểm sinh trưởng, phát triển của chủng nấm linh chi Ga8 mới thu thập trong tự nhiên, làm cơ sở cho việc ứng dụng chủng nấm này trong sản xuất. Chủng nấm Ga8 thu thập tại Lạng Sơn, được xác định thuộc loài *Ganoderma lingzhi* dựa trên đặc điểm hình thái và trình tự gen vùng ITS. Hệ sợi chủng nấm *G. lingzhi* Ga8 được nuôi cấy trên năm môi trường dinh dưỡng và bốn mức điều kiện nhiệt độ khác nhau. Kết quả cho thấy, chủng nấm linh chi Ga8 sinh trưởng tốt nhất trên môi trường Raper với tốc độ sinh trưởng trung bình hệ sợi ghi nhận đạt 5,56 mm/ngày. Nhiệt độ thích hợp để hệ sợi chủng nấm sinh trưởng là 26°C ± 2. Bên cạnh đó, hệ sợi chủng nấm linh chi Ga8 cũng được nuôi cấy trên một số cơ chất nhân giống cấp 2 và nuôi trồng. Cơ chất nhân giống gồm 99% thóc luộc + 1% CaCO<sub>3</sub> cho kết quả sinh trưởng hệ sợi chủng nấm tốt nhất, tốc độ sinh trưởng trung bình đạt 5,72 mm/ngày. Cơ chất nuôi trồng quả thể có thành phần 87% lõi ngô, 8% cám mạch, 4% bột ngô và 1% CaCO<sub>3</sub> cho hiệu suất sinh học cao nhất đạt 6,87%.

Từ khoá: Nấm linh chi, hệ sợi, nuôi trồng, nhiệt độ, Lạng Sơn.

### Evaluation of Growth and Development of Reishi Ga8 strain (*Ganoderma lingzhi*) Collected in Lang Son Province

#### ABSTRACT

Collection and evaluation of the natural genetic resources of reishi mushroom is important in the research on medicinal mushrooms. This study aimed to evaluate growth and development characteristics of the newly collected reishi mushroom strain Ga8 in nature, serving basis for applying in production. The reishi Ga8 strain collected in Lang Son province was determined as *Ganoderma lingzhi* based on morphological characteristics and ITS sequence with 100% similarity in Genebank. The mycelia of the Ga8 strain were cultured on five nutrient media at four different temperature conditions. The results showed that the Ga8 strain grew best on Raper medium with an average mycelial growth rate of 5.56 mm/day. The optimum temperature for mycelial growth was 26°C ± 2. In addition, the Ga8 strain mycelium was also cultured on some master spawn substrates and cultivated. The master spawn substrate consisting of 99% boiled rice and 1% CaCO<sub>3</sub> gave the best mycelial growth results, with an average growth rate of 5.72 mm/day. The culture substrate consisted of 87% corn cob, 8% wheat bran, 4% corn powder and 1% CaCO<sub>3</sub> yielded highest mushroom biological efficiency of 6.87%.

Keywords: Lingzhi, mycelium, corn cob, cultivation, temperature, Lang Son.

#### 1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Từ lâu, nấm linh chi đã được sử dụng như một loại thảo dược quý để hỗ trợ sức khoẻ theo y học phương Đông (Luangharn & cs., 2021). Nấm

linh chi có hiệu quả trong việc phòng chống ung thư (Zheng & cs., 2018), chống lại khối u (Han & cs., 2021), kháng viêm (Mei & cs., 2019). Bên cạnh đó, sử dụng nấm linh chi còn có tác dụng trẻ hoá, tăng sức đề kháng (Teseo & cs., 2021).

Tại Việt Nam, nấm linh chi hiện đang được nuôi trồng phổ biến. Theo Ngo & cs. (2019), việc nuôi trồng nấm linh chi góp phần cải thiện sự phát triển bền vững của các vùng nông thôn tại Việt Nam. Tuy nhiên, việc nuôi trồng nấm linh chi tại nước ta phải đối mặt với những vấn đề như sâu bệnh, năng suất nấm suy giảm do thoái hóa giống... Trong khi đó, Việt Nam là nước nhiệt đới có diện tích rừng tự nhiên khá lớn, đây là nơi lưu trữ đa dạng các nguồn gen nấm tự nhiên. Việc thu thập và đánh giá các nguồn gen nấm nội địa tự nhiên đang thu hút sự quan tâm của nhiều nhà khoa học do các nguồn gen tự nhiên có ưu điểm về sức sống cũng như hoạt chất dược liệu. Luyen Thi Nguyen & cs. (2023) đã báo cáo kết quả việc nghiên cứu sự sinh trưởng và phát triển của chủng nấm linh chi *Ganoderma sinense* Ga21 được thu thập từ khu vực Đình Lập, tỉnh Lạng Sơn.

Việc định danh loài, đồng thời đánh giá ảnh hưởng của các môi trường dinh dưỡng, các cơ chất nhân giống và nuôi trồng cũng như điều kiện nuôi cấy đến sinh trưởng, phát triển của chủng nấm linh chi Ga8 sẽ khai thác được tiềm năng của nấm, góp phần đa dạng nguồn giống nấm linh chi ứng dụng trong sản xuất.

## 2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Vật liệu

Mẫu quả thể nấm Ga8 được thu thập tại tỉnh Lạng Sơn. Hệ sợi chủng nấm Ga8 được phân lập từ mẫu quả thể Ga8 và được lưu giữ tại phòng thí nghiệm của Viện Nghiên cứu và Phát triển Nấm ăn, Nấm dược liệu, Học viện Nông nghiệp Việt Nam.

### 2.2. Phương pháp nghiên cứu

#### 2.2.1. Phương pháp định danh

Phân tích hình thái: Phương pháp định loại bằng đặc điểm hình thái theo Trịnh Tam Kiệt (2011; 2012), Hapuarachchi & cs. (2019). Các đặc điểm hình thái vĩ mô được mô tả dựa trên quả thể tươi thu được. Các đặc điểm hiển vi được quan sát ở độ phóng đại lên đến  $\times 1.000$  dưới kính hiển vi quang học Olympus CX33. Các

bộ phận được phân tích bao gồm mũ nấm, cuống nấm, lỗ nấm, ống nấm, bào tăng và bào tử đảm.

Phân tích vùng mã ITS-rDNA của chủng nấm Ga8 với cặp mồi ITS1-ITS4 (White & cs., 1990). ADN được tách chiết và tinh sạch theo phương pháp CTAB của Doyle (1987). DNA sau phản ứng PCR được tinh sạch bằng: ExoSAP-IT™ PCR Product Cleanup Reagent (Applied Biosystems™). Sản phẩm DNA sau khi đã tinh sạch được giải trình tự theo phương pháp Sanger (Công ty 1st Base, Malaysia). Sau đó kết quả được so sánh với trình tự chuẩn trong GenBank.

#### 2.2.2. Phương pháp đánh giá sinh trưởng và phát triển của nấm linh chi

- Ảnh hưởng của các môi trường nuôi cấy khác nhau đến mức độ sinh trưởng hệ sợi chủng nấm linh chi Ga8

Hệ sợi chủng nấm linh chi Ga8 được nuôi cấy trên 5 môi trường dinh dưỡng khác nhau (định lượng cho 1 lít môi trường) bao gồm Môi trường PDA (Dịch chiết 200g khoai tây + 20g dextrin + 20g agar), môi trường PGA (Dịch chiết 200g khoai tây + 20g glucose + 20g agar), môi trường YMA (20g maltose + 2g cao nấm men + 20g agar), môi trường Czapek (30g sucrose + 2g  $\text{NaNO}_3$  + 1g  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  + 0,5g  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  + 0,01g  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  + 0,5g KCl + 20g agar) và môi trường Raper (2g cao nấm men + 2g pepton + 0,5g  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  + 0,46g  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  + 20g glucose + 20g agar).

Môi trường dinh dưỡng với định lượng 25 ml/đĩa petri. Hệ sợi chủng nấm linh chi Ga8 được cấy thành các miếng nhỏ có kích thước 3mm  $\times$  3mm và được cấy ở tâm đĩa petri. Bán kính của hệ sợi nấm được đo 3 ngày/lần. Tốc độ sinh trưởng trung bình hệ sợi được ghi nhận sau 7 ngày nuôi cấy.

- Ảnh hưởng của điều kiện nhiệt độ nuôi cấy đến sự sinh trưởng của hệ sợi chủng nấm linh chi Ga8

Hệ sợi chủng nấm linh chi Ga8 được nuôi cấy trên đĩa petri chứa 25ml môi trường dinh dưỡng tốt nhất tại 4 điều kiện nhiệt độ khác nhau bao gồm  $22^\circ\text{C} \pm 2$ ,  $26^\circ\text{C} \pm 2$ ,  $30^\circ\text{C} \pm 2$  và

34°C ± 2. Bán kính hệ sợi chủng nấm được đo 3 ngày/lần. Tốc độ sinh trưởng trung bình hệ sợi được xác định sau 7 ngày nuôi cấy.

- Khả năng sinh trưởng hệ sợi chủng nấm linh chi Ga8 trên các môi trường nhân giống cấp 2 khác nhau

Hệ sợi chủng nấm Ga8 được nuôi cấy ở nhiệt độ tốt nhất, trên ống nghiệm (Φ 20mm, chiều dài 220mm) chứa 6 môi trường nhân giống cấp 2, bao gồm

CT1 (99% thóc luộc + 1% CaCO<sub>3</sub>), CT2 (79% thóc luộc + 18% mùn cưa + 2% cám mạch + 1% CaCO<sub>3</sub>), CT3 (59% thóc luộc + 36% mùn cưa + 4% cám mạch + 1% CaCO<sub>3</sub>), CT4 (39% thóc luộc + 54% mùn cưa + 6% cám mạch + 1% CaCO<sub>3</sub>), CT5 (19% thóc luộc + 72% mùn cưa + 8% cám mạch + 1% CaCO<sub>3</sub>), CT6 (89% mùn cưa + 10% cám mạch + 1% CaCO<sub>3</sub>).

Bán kính hệ sợi được đánh giá 5 ngày/lần. Bên cạnh đó, các yếu tố về độ dày hệ sợi và hình thái hệ sợi cũng được quan sát và đánh giá. Tốc độ sinh trưởng trung bình hệ sợi chủng nấm được xác định sau 20 ngày nuôi cấy.

- Sinh trưởng và phát triển quả thể chủng nấm linh chi Ga8 trên các cơ chất nuôi trồng khác nhau

Hệ sợi chủng nấm linh chi Ga8 được nuôi cấy trên 5 cơ chất nuôi trồng, bao gồm CT1 (87% mùn cưa + 0% lõi ngô + 8% cám mạch + 4% bột ngô + 1% CaCO<sub>3</sub>), CT2 (67% mùn cưa + 20% lõi ngô + 8% cám mạch + 4% bột ngô + 1% CaCO<sub>3</sub>), CT3 (47% mùn cưa + 40% lõi ngô + 8% cám mạch + 4% bột ngô + 1% CaCO<sub>3</sub>), CT4 (27% mùn cưa + 60% lõi ngô + 8% cám mạch + 4% bột ngô + 1% CaCO<sub>3</sub>), CT5 (0% mùn cưa + 87% lõi ngô + 8% cám mạch + 4% bột ngô + 1% CaCO<sub>3</sub>).

Cơ chất phối trộn độ ẩm 62% được đóng trong túi nilon kích thước 19 × 37cm, khối lượng 1 kg/bịch, khử trùng ở nhiệt độ 100°C ± 2 trong thời gian 10 tiếng. Mỗi bịch cơ chất được cấy 10g giống hạt. Các bịch thí nghiệm sau đó được nuôi sợi tại phòng ươm với điều kiện ánh sáng yếu (cường độ ánh sáng nhỏ hơn 150lux), nhiệt độ 26°C ± 2, độ ẩm không khí nhỏ hơn 65%. Độ dài hệ sợi được đánh giá 5 ngày/lần. Tốc độ sinh trưởng trung bình của hệ sợi được xác định sau

20 ngày nuôi cấy. Bên cạnh đó, hình thái và độ dày hệ sợi cũng được quan sát và đánh giá. Sau thời gian 25 ngày nuôi sợi, các bịch thí nghiệm được chuyển sang phòng ra quả thể với độ ẩm không khí từ 85-95% tùy thuộc vào giai đoạn sinh trưởng, phát triển của quả thể, cường độ ánh sáng 300-350lux, nhiệt độ môi trường 24-30°C.

### 2.3. Phương pháp chuẩn bị môi trường và xử lý nguyên liệu

- Phương pháp chuẩn bị môi trường dinh dưỡng cấp 1: Các loại nguyên liệu khoai tây, giá đỗ được rửa sạch và chiết lấy dịch bằng nước sôi 100°C trong thời gian 5 phút. Sau đó, dịch chiết được lọc sạch và trộn với thành phần đa lượng, vi lượng khác. Môi trường được hấp khử trùng ở nhiệt độ 121°C ± 1 trong thời gian 30 phút.

- Phương pháp xử lý thóc làm môi trường nhân giống cấp 2: Thóc được ngâm trước 14-16h, sau đó rửa sạch và luộc chín. Thóc được luộc đến khi vỏ ngoài nứt, hạt gạo bên trong chín. Sau đó, thóc luộc được vớt ra, làm nguội nhanh nhất có thể và được sử dụng phối trộn theo từng công thức thí nghiệm. Các ống nghiệm môi trường được hấp khử trùng ở nhiệt độ 121°C ± 1 trong thời gian 90 phút.

- Phương pháp xử lý mùn cưa và lõi ngô để làm cơ chất nhân giống, cơ chất nuôi trồng: Mùn cưa và lõi ngô được xử lý theo phương pháp mô tả của Đinh Xuân Linh & cs. (2012).

### 2.4. Phương pháp đánh giá hệ sợi

- Phương pháp đánh giá mật độ hệ sợi: mật độ và hình thái hệ sợi được đánh giá bằng 3 mức độ: dày, trung bình và thưa.

- Phương pháp tính tốc độ sinh trưởng trung bình, hiệu suất nấm:

+ Tốc độ sinh trưởng trung bình hệ sợi (mm/ngày) = Độ dài trung bình hệ sợi (mm)/Thời gian hệ sợi mọc (ngày)

+ Hiệu suất sinh học (%) = [Tổng khối lượng nấm tươi thu được (g)/Tổng khối lượng nguyên liệu khô (g)] × 100%

- Kích thước ngang quả thể (mm): được xác định bằng cách đo phần dài nhất của mũ quả thể.

Kích thước dọc quả thể (mm): được xác định bằng cách đo phần vuông góc dài nhất với kích thước ngang của quả thể.

- Khối lượng trung bình quả thể (g) của công thức = Tổng khối lượng quả thể (g)/Tổng số quả thể thu được của công thức.

## 2.5. Xử lý số liệu

Số liệu được thu thập, xử lý trung bình bằng phần mềm Exel 2010, phần mềm xử lý thống kê IRRISTAT 5.0, sử dụng phương pháp phân tích phương sai một yếu tố BLANCE ANOVA. Các cặp đôi giá trị trung bình được so sánh theo giá trị  $LSD_{0,05}$  với độ tin cậy 95%.

## 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

### 3.1. Kết quả định danh chủng nấm Ga8

#### 3.1.1. Kết quả đánh giá đặc điểm hình thái mẫu quả thể nấm thu thập

Mẫu quả thể nấm thu thập có mũ nấm dạng bán cầu, dạng quạt, có khi hầu như tròn. Mặt mũ có vân vòng đồng tâm, lượn sóng nhiều hay ít. Mép nấm mỏng hoặc hơi tù, lượn sóng; hơi chia thùy ở những mũ nấm có kích thước lớn. Kích thước mũ 3-5 × 5-7cm; dày 0,5-1,5cm. Bào tử đảm khi còn non hình trứng, khi già chuyển thành hình trứng cụt đầu, có màu vàng rỉ sắt. Vỏ bào tử có cấu trúc hai lớp màng, màng ngoài nhẵn, không màu, màng trong màu nâu rỉ, có gai. Kích thước 5,65-6,27 × 10,67-11,08 $\mu$ m. Dựa vào những đặc điểm về hình thái quả thể của

mẫu nấm thu thập được, cho thấy loại nấm này có đặc điểm tương đồng với loại nấm có tên khoa học là *Ganoderma lucidum* được tác giả Trịnh Tam Kiệt mô tả trong sách Nấm lớn ở Việt Nam (2011).

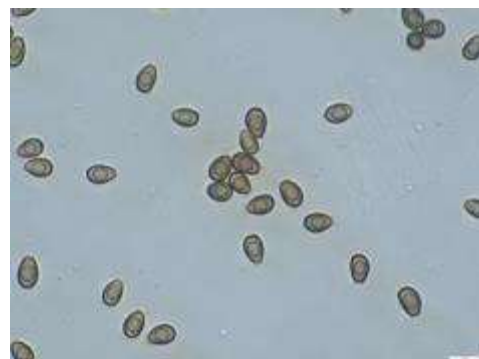
#### 3.1.2. Kết quả giải trình tự vùng ITS của chủng nấm linh chi Ga8

Vùng trình tự ITS của chủng nấm linh chi Ga8 được khuếch đại bằng phản ứng PCR sử dụng cặp mồi ITS1-ITS4 cho băng DNA có kích thước dài 585bps. Sản phẩm PCR được tinh sạch và gửi giải trình tự tại công ty 1<sup>st</sup> Base, Malaysia. Trình tự ITS thu được như sau:

```
ACGGGTTGTAGCTGGCCTTCCGAGGCAT
GTGCACGCCCTGCTCATCCACTCTACACCTG
TCACTTACTGTGGGCTTCAGATTGCGAGGCA
CGCTCTTTACCGGGCTTGCGGAGCATATCTG
TGCTGCGTTTATCACAACTCTATAAAGTA
ACAGAATGTGTATTGCGATGTAACACATCTA
TATACAACCTTTCAGCAACGGATCTCTTGGCT
CTCGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCG
ATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAA
TCATCGAATCTTTGAACGCACCTTGCGCTCC
TTGGTATTCCGAGGAGCATGCCTGTTTGAGT
GTCATGAAATCTTCAACCTACAAGCTTTTGT
GGTTTGTAGGCTTGGACTTGGAGGCTTGTGCG
GCCGTTATCGGTCGGCTCCTCTTAAATGCAT
TAGCTTGGTTCCTTGCGGATCGGCTCTCGGT
GTGATAATGTCTACGCCGCGACCGTGAAGCG
TTTGGCGAGCTTCTAACCGTCTTATAAGACA
GCTTTATGACCTCTGACCTCAAATCAGGTAG
GACTACCCGCTGAACTTAAGCATATCATA.
```



Hình 1. Quả thể nấm linh chi thu thập tại Lạng Sơn



Hình 2. Bào tử chủng nấm linh chi Ga8

**Bảng 1. Mức độ tương đồng của trình tự chủng nấm Ga8 với dữ liệu trên NCBI**

Tên chủng so sánh	Độ bao phủ	Tỷ lệ tương đồng	Mã số trên Genbank
<i>Ganoderma lingzhi</i> CLZhao 4770	99%	100,00%	MK268933
<i>Ganoderma lingzhi</i> VNKKK1903	99%	100,00%	MZ706471
<i>Ganoderma sichuanense</i> HE2911	99%	100,00%	KC505544

**Bảng 2. Mức độ sinh trưởng của hệ sợi chủng nấm trên các môi trường dinh dưỡng khác nhau**

Môi trường	Bán kính hệ sợi sau 3 ngày (mm)	Bán kính hệ sợi sau 6 ngày (mm)	Tốc độ sinh trưởng trung bình hệ sợi sau 7 ngày (mm/ngày)
PDA	12,22 <sup>ab</sup>	26,11 <sup>b</sup>	4,25 <sup>b</sup>
PGA	13,66 <sup>ab</sup>	24,20 <sup>b</sup>	4,08 <sup>b</sup>
YMA	14,38 <sup>a</sup>	31,47 <sup>a</sup>	5,28 <sup>a</sup>
Crapek	12,45 <sup>ab</sup>	27,41 <sup>b</sup>	4,15 <sup>b</sup>
Raper	10,55 <sup>b</sup>	31,77 <sup>a</sup>	5,50 <sup>a</sup>

Ghi chú: Các chữ cái khác nhau trong cùng một cột là khác nhau có ý nghĩa thống kê theo với  $P < 0,05$ .

Đồng thời, trình tự ITS thu được của chủng nấm Ga8 được phân tích và so sánh với cơ sở dữ liệu trên Ngân hàng gen NCBI. Kết quả được thể hiện tại bảng 1.

Trình tự vùng ITS của chủng nấm Ga8 có tỷ lệ tương đồng 100% với các chủng linh chi *Ganoderma lingzhi* so sánh. Từ mô tả hình thái theo Trịnh Tam Kiệt (2011) kết hợp với phân tích trình tự ITS cho thấy rằng chủng nấm Ga8 thuộc loài nấm *Ganoderma lingzhi*.

### 3.2. Kết quả đánh giá đánh giá khả năng sinh trưởng của nấm linh chi Ga8

#### 3.2.1. Khả năng sinh trưởng của hệ sợi nấm linh chi Ga8 khi được nuôi cấy trên các môi trường dinh dưỡng khác nhau

Hệ sợi chủng nấm linh chi Ga8 được nuôi cấy trên 5 môi trường dinh dưỡng khác nhau. Kết quả ghi nhận, khả năng sinh trưởng nhanh nhất khi hệ sợi nấm được nuôi cấy trên môi trường Raper, tốc độ sinh trưởng trung bình hệ sợi sau 7 ngày nuôi cấy ghi nhận đạt 5,50 mm/ngày. Trên môi trường Crapek, hệ sợi nấm sinh trưởng chậm nhất, đạt 4,15 mm/ngày. Sau môi trường Raper, hệ sợi chủng nấm linh chi Ga8 sinh trưởng tốt trên nền môi trường YMA, tốc độ trung bình hệ sợi đạt 5,28 mm/ngày. Khi được nuôi cấy trên hai nền môi trường PDA và PGA, chủng nấm sinh

trưởng tốt, tốc độ sinh trưởng trung bình hệ sợi nhanh, lần lượt ghi nhận đạt 4,25 mm/ngày và 4,08 mm/ngày (Bảng 2).

Bên cạnh yếu tố về tốc độ sinh trưởng của hệ sợi, độ dày và hình thái hệ sợi cũng là những khía cạnh quan trọng mà các nhà khoa học quan tâm. Chủng nấm linh chi Ga8 được nuôi cấy trên 5 môi trường dinh dưỡng khác nhau, hệ sợi đều sinh trưởng, phát triển nhanh. Tuy nhiên, về độ dày hệ sợi trên các môi trường dinh dưỡng có sự khác nhau đáng kể. Khi nuôi cấy trên nền môi trường Raper, hệ sợi chủng nấm sinh trưởng đồng đều, sợi phát triển dày, mượt. Ngược lại, trên nền môi trường Crapek, hệ sợi chủng nấm sinh trưởng nhanh nhưng sợi mỏng, mờ. Khi nuôi cấy trên 3 nền môi trường PDA, PGA và YMA, hệ sợi nấm sinh trưởng khá dày, tuy nhiên không đồng đều, hình thành màng dai sớm (Hình 3).

Theo Nguyen & Ranamukhaarachchi (2020), môi trường nuôi cấy cung cấp dinh dưỡng để hệ sợi nấm sinh trưởng và phát triển. Hệ sợi nấm cần cacbon, nitơ, muối khoáng, vitamin và một số chất vi lượng để sinh trưởng (Miles & Chang, 1997). Trong 5 môi trường thí nghiệm, môi trường Raper chứa đầy đủ thành phần carbon, nitơ và muối khoáng. Điều này giúp hệ sợi nấm linh chi Ga8 sinh trưởng nhanh và dày nhất so với các môi trường còn lại.



**Hình 3. Hệ sợi chủng nấm linh chi Ga8 sau 7 ngày nuôi cấy trên các môi trường dinh dưỡng khác nhau**

**Bảng 3. Khả năng sinh trưởng của hệ sợi chủng nấm linh chi Ga8 tại các mức nhiệt độ khác nhau**

Nhiệt độ	Bán kính hệ sợi sau 3 ngày (mm)	Bán kính hệ sợi sau 6 ngày (mm)	Tốc độ sinh trưởng trung bình hệ sợi sau 7 ngày (mm/ngày)
22°C ± 2	4,49 <sup>d</sup>	10,88 <sup>c</sup>	1,88 <sup>d</sup>
26°C ± 2	12,99 <sup>a</sup>	38,62 <sup>a</sup>	5,94 <sup>a</sup>
30°C ± 2	12,38 <sup>b</sup>	35,63 <sup>b</sup>	5,30 <sup>b</sup>
34°C ± 2	5,71 <sup>c</sup>	11,08 <sup>c</sup>	2,01 <sup>c</sup>

Ghi chú: Các chữ cái khác nhau trong cùng một cột là khác nhau có ý nghĩa thống kê theo với  $P < 0,05$ .

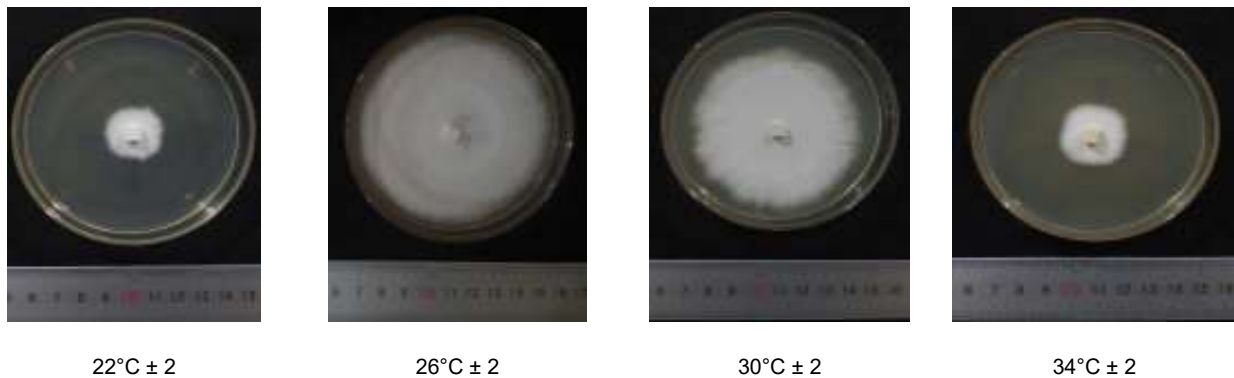
### 3.2.2. Khả năng sinh trưởng của hệ sợi chủng nấm linh chi Ga8 trong các điều kiện nhiệt độ khác nhau

Điều kiện nuôi cấy, đặc biệt là nhiệt độ có ảnh hưởng lớn tới sự sinh trưởng hệ sợi và quá trình hình thành quả thể trong nuôi trồng nấm (Nguyen & cs., 2021). Theo Colauto & cs. (2008), các hoạt động của enzyme và sự tổng hợp vitamin trong hệ sợi nấm bị tác động bởi yếu tố nhiệt độ. Nhiệt độ ảnh hưởng đến quá trình đồng hoá đường, nitơ và quá trình hô hấp và sinh tổng hợp các chất (Ta & cs., 2021). Khi nuôi cấy chủng nấm linh chi Ga8 trên môi trường Raper ở 4 ngưỡng nhiệt độ khác nhau cho thấy, hệ sợi chủng nấm sinh trưởng tốt trong điều kiện nhiệt độ từ 26°C ± 2 đến 30°C ± 2. Tại hai điều kiện nhiệt độ nuôi cấy này, hệ sợi chủng nấm sinh trưởng nhanh, tốc độ trung bình hệ sợi lần lượt ghi nhận đạt 5,94 mm/ngày (ở 26°C ± 2) và 5,30 mm/ngày (ở 30°C ± 2). Hệ sợi chủng nấm sinh trưởng chậm khi nhiệt độ nuôi cấy thấp và quá cao. Tốc độ sinh trưởng trung bình hệ sợi ghi nhận đạt 1,88 mm/ngày ở nhiệt độ 22°C ± 2

và đạt 2,01 mm/ngày khi nhiệt độ nuôi cấy tăng lên 34°C ± 2 (Bảng 3).

Hình thái và mật độ hệ sợi giữa các điều kiện nhiệt độ không có sự sai khác quá lớn. Khi nuôi cấy ở cả 4 mức nhiệt độ, hệ sợi nấm đều sinh trưởng đồng đều, dày (Hình 4). Dựa vào tốc độ sinh trưởng trung bình, độ dày cũng như hình thái hệ sợi, có thể thấy rằng chủng nấm linh chi Ga8 sinh trưởng tốt trong điều kiện nhiệt độ từ 26°C ± 2 đến 30°C ± 2, trong đó 26°C ± 2 là ngưỡng nhiệt độ tối ưu để chủng nấm linh chi Ga8 sinh trưởng.

Mức độ tác động của nhiệt độ đến quá trình sinh trưởng hệ sợi nấm còn phụ thuộc vào chủng loại. Theo báo cáo của Nguyen & cs. (2019), ngưỡng nhiệt độ tối ưu để chủng nấm *G. lucidum* Ga3 sinh trưởng là 30°C. Một nghiên cứu khác của Luyen Thi Nguyen & cs. (2023), chủng nấm linh chi Ga21 (*Ganoderma sinense*) sinh trưởng tốt nhất khi nuôi cấy tại nhiệt độ 25-30°C. Chủng nấm *Agaricus bisporus* sinh trưởng tốt nhất tại điều kiện nhiệt độ 22-24°C (Ma & cs., 2014).



**Hình 4. Hệ sợi chủng nấm linh chi Ga8 sau 7 ngày nuôi cấy tại các khoảng nhiệt độ khác nhau**

### **3.2.3. Khả năng sinh trưởng của hệ sợi chủng nấm linh chi Ga8 trên các cơ chất nhân giống cấp 2 khác nhau**

Giống nấm là một trong những yếu tố quan trọng góp phần quyết định hiệu suất nấm thu được. Hiện nay, tại Việt Nam, cơ chất nhân giống chủ yếu được làm từ các loại hạt như lúa, hạt kê, đại mạch (Đình Xuân Linh & cs., 2012). Tuy nhiên, theo Zhang & cs. (2019), cơ chất nhân giống được làm từ các loại hạt như lúa mì, hạt bo bo, gạo lứt có nguy cơ nhiễm bệnh cao do hàm lượng dinh dưỡng lớn, đồng thời chi phí để sản xuất giống từ các loại hạt cũng rất cao. Sử dụng các cơ chất nhân giống kết hợp giữa thóc lứt và mùn cưa không chỉ làm giảm chi phí sản xuất mà còn hạn chế được tỷ lệ nhiễm hỏng (Nguyễn & cs., 2021). Rất nhiều nghiên cứu đã chứng minh rằng, cơ chất nhân giống phối trộn giữa hạt và mùn cưa cho kết quả sinh trưởng hệ sợi nấm tốt hơn. Chẳng hạn, cơ chất nhân giống được phối trộn từ 69% thóc lứt, 30% mùn cưa và 1% CaCO<sub>3</sub> cho kết quả sinh trưởng hệ sợi chủng nấm linh chi Ga21 (*Ganoderma sinense*) tốt nhất (Luyen Thi Nguyen & cs., 2023); hai chủng nấm hương Nhật Bản J1 và J2 sinh trưởng nhanh nhất trên nền cơ chất nhân giống chứa 74% thóc lứt, 25% mùn cưa và 1% CaCO<sub>3</sub> (Nguyễn Thị Huyền Trang & cs., 2023). Thí nghiệm sử dụng 6 nền cơ chất nhân giống (thay đổi tỷ lệ thóc, mùn cưa và cám mạch) để đánh giá khả năng sinh trưởng của chủng nấm linh

chi Ga8, bổ sung cám mạch với tỷ lệ khác nhau trong các công thức thí nghiệm với vai trò cung cấp khoáng chất, chất xơ, đặc biệt là thành phần carbon và nitơ vào nguyên liệu do tỷ lệ thóc giảm đi. Kết quả cho thấy, tốc độ sinh trưởng trung bình của hệ sợi chủng nấm có mối tương quan tỷ lệ thuận với tỷ lệ thóc bổ sung trong cơ chất. Điều này có nghĩa cơ chất nhân giống chứa tỷ lệ thóc lứt càng cao, tốc độ sinh trưởng trung bình của hệ sợi càng nhanh. Cụ thể, tốc độ sinh trưởng trung bình của hệ sợi lần lượt ghi nhận 5,72 mm/ngày (CT1); 5,32 mm/ngày (CT2); 5,01 mm/ngày (CT3); 4,60 mm/ngày (CT4); 4,70 mm/ngày (CT5) và 3,08 mm/ngày (CT6) (Bảng 4).

Độ dày hệ sợi chủng nấm không có sự khác biệt giữa các công thức CT1, CT2, CT3, CT4 và CT5. Khi nuôi cấy trên các cơ chất này, hệ sợi chủng nấm sinh trưởng dày, đồng đều. Riêng cơ chất CT6 nghèo dinh dưỡng nhất nên hệ sợi sinh trưởng chậm, hệ sợi thưa, mờ. Như vậy, 5 công thức cơ chất nhân giống CT1, CT2, CT3, CT4 và CT5 cho kết quả sinh trưởng hệ sợi chủng nấm linh chi Ga8 tốt, tuy nhiên cơ chất CT1 (99% thóc lứt + 1% CaCO<sub>3</sub>) cho kết quả sinh trưởng hệ sợi vượt trội.

### **3.2.4. Ảnh hưởng của các cơ chất nuôi trồng khác nhau đến quá trình sinh trưởng hệ sợi và phát triển quả thể chủng nấm linh chi Ga8**

Hiện nay, trên thế giới có rất nhiều phương pháp nuôi trồng linh chi như nuôi trồng trên

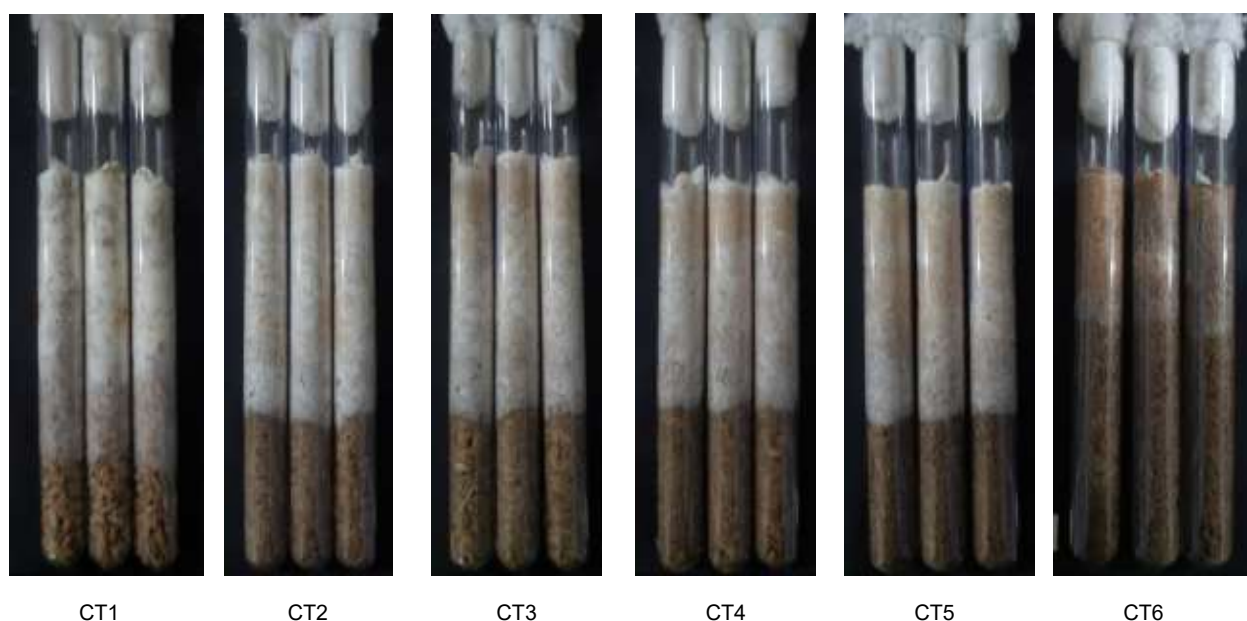
khúc gỗ, nuôi trồng trên mùn cưa (Zhou & cs., 2012). Mùn cưa, lõi ngô, vỏ hạt bông, bã mía... đang là nguyên liệu chính để sản xuất nấm linh chi (Zhou & cs., 2017). Theo Changhai & cs. (2013) sự sinh trưởng hệ sợi, hiệu suất sinh học và các thành phần hoạt chất được liệu trong nấm phụ thuộc rất lớn vào các thành phần trong cơ chất cũng như điều kiện nuôi cấy. Do vậy, việc nghiên cứu tỷ lệ phối trộn các nguyên liệu với nhau để tạo ra cơ chất cho năng suất nấm tốt đang là mục tiêu hàng đầu trong việc nuôi trồng nấm. Thí nghiệm sử dụng lõi ngô và mùn cưa được phối trộn với nhau theo 5 tỷ lệ khác nhau để nuôi trồng chủng nấm linh chi Ga8.

Kết quả về giai đoạn sinh trưởng hệ sợi được thể hiện tại bảng 5 và hình 6. Kết quả ghi nhận, hệ sợi chủng nấm linh chi Ga8 đều sinh trưởng tốt trên 5 cơ chất thí nghiệm, tốc độ sinh trưởng trung bình hệ sợi không có sự sai khác giữa 5 công thức. Trong giai đoạn 5 ngày đầu cấy giống, hệ sợi chủng nấm sinh trưởng chậm trên tất cả 5 cơ chất do đây là giai đoạn hệ sợi chủng nấm mới bắt đầu sinh trưởng từ hạt giống và cần thích nghi với nguồn dinh dưỡng mới. Sau 10 ngày cấy giống, hệ sợi chủng nấm sinh trưởng nhanh, đồng đều, phát triển dày trên cả 5 cơ chất, độ dày hệ sợi giữa 5 công thức không có sự khác nhau nhiều.

**Bảng 4. Tốc độ sinh trưởng của hệ sợi chủng nấm trên các cơ chất nhân giống khác nhau**

Công thức	Độ dài hệ sợi sau 5 ngày (mm)	Độ dài hệ sợi sau 10 ngày (mm)	Độ dài hệ sợi sau 15 ngày (mm)	Tốc độ sinh trưởng trung bình hệ sợi sau 20 ngày (mm/ngày)
CT1	18,87 <sup>a</sup>	48,76 <sup>a</sup>	80,77 <sup>a</sup>	5,72 <sup>a</sup>
CT2	12,49 <sup>b</sup>	42,32 <sup>b</sup>	71,43 <sup>b</sup>	5,32 <sup>b</sup>
CT3	12,16 <sup>b</sup>	36,65 <sup>c</sup>	67,93 <sup>b</sup>	5,01 <sup>c</sup>
CT4	7,27 <sup>c</sup>	31,60 <sup>cd</sup>	60,71 <sup>c</sup>	4,60 <sup>d</sup>
CT5	11,42 <sup>b</sup>	34,99 <sup>c</sup>	62,55 <sup>bc</sup>	4,70 <sup>d</sup>
CT6	10,11 <sup>bc</sup>	27,27 <sup>d</sup>	42,86 <sup>d</sup>	3,08 <sup>e</sup>

Ghi chú: Các chữ cái khác nhau trong cùng một cột là khác nhau có ý nghĩa thống kê theo với  $P < 0,05$ .



**Hình 5. Hệ sợi chủng nấm linh chi Ga8 sau 20 ngày nuôi cấy trên các cơ chất nhân giống cấp 2 khác nhau**



**Bảng 5. Sự sinh trưởng hệ sợi chủng nấm linh chi Ga8 trên các cơ chất nuôi trồng khác nhau**

Công thức	Độ dài hệ sợi sau 5 ngày (mm)	Độ dài hệ sợi sau 10 ngày (mm)	Độ dài hệ sợi sau 15 ngày (mm)	Tốc độ sinh trưởng trung bình hệ sợi sau 20 ngày (mm/ngày)
CT1	13,60 <sup>b</sup>	34,3 <sup>c</sup>	63,53 <sup>a</sup>	4,37 <sup>a</sup>
CT2	16,27 <sup>a</sup>	40,07 <sup>a</sup>	64,80 <sup>a</sup>	4,41 <sup>a</sup>
CT3	15,93 <sup>a</sup>	39,12 <sup>ab</sup>	59,61 <sup>a</sup>	4,15 <sup>a</sup>
CT4	15,95 <sup>a</sup>	37,38 <sup>b</sup>	66,26 <sup>a</sup>	4,56 <sup>a</sup>
CT5	17,21 <sup>a</sup>	41,06 <sup>a</sup>	61,27 <sup>a</sup>	4,43 <sup>a</sup>

Ghi chú: Các chữ cái khác nhau trong cùng một cột là khác nhau có ý nghĩa thống kê theo với  $P < 0,05$ .



**Hình 6. Hệ sợi chủng nấm linh chi Ga8 sau 20 ngày nuôi cấy**

Chỉ tiêu quan trọng nhất mà người nuôi trồng nấm quan tâm chính là hiệu suất sinh học nấm và chất lượng quả thể. Các chỉ tiêu liên quan đến chất lượng quả thể bao gồm kích thước quả thể và khối lượng trung bình quả thể. Chất lượng quả thể tốt sẽ mang lại giá trị kinh tế cao hơn cho người nuôi trồng. Trên 5 cơ chất nuôi trồng, quan sát thấy sự khác nhau không rõ rệt trong giai đoạn sinh trưởng hệ sợi. Tuy nhiên, ở giai đoạn phát triển quả thể có sự khác nhau giữa 5 cơ chất thí nghiệm. Kết quả tại bảng 6 cho thấy rằng, nhìn chung kích thước quả thể chủng nấm thu được trên 5 cơ chất nuôi trồng không chênh lệch quá lớn, kích thước ngang quả thể lớn nhất đạt 93,16mm (CT3), kích thước dọc quả thể lớn nhất đạt 56,05mm (CT4). CT5 khối lượng trung bình quả thể nặng nhất đạt 41,93 g/quả. Trong khi

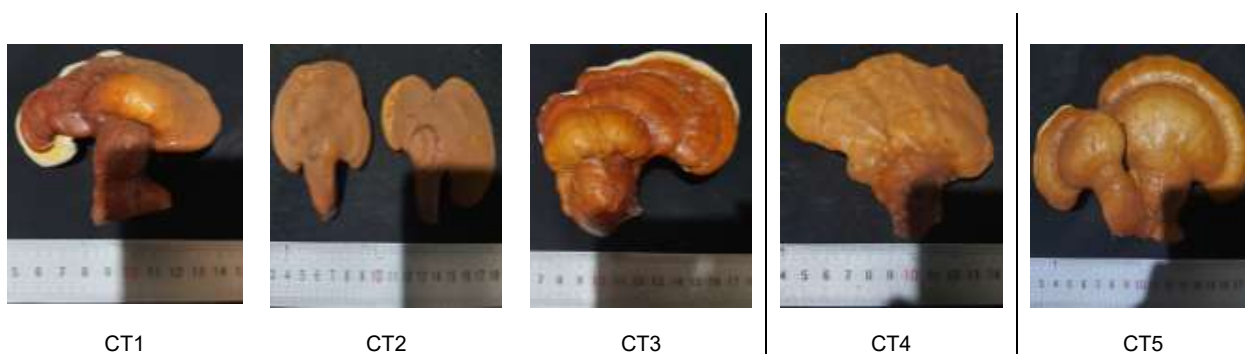
đó, cơ chất CT1 và CT2 cho khối lượng trung bình quả thể nhỏ nhất, lần lượt là 29,46 g/quả và 29,26 g/quả. Quả thể thu được từ cơ chất CT3 và CT4 đạt khối lượng trung bình tương đối lớn, lần lượt ghi nhận đạt 31,85 g/quả và 34,30 g/quả.

Nhìn chung, kết quả từ bảng 6 chỉ ra rằng, cơ chất nuôi trồng bổ sung tỷ lệ lõi ngô cao sẽ thu được hiệu suất sinh học cao hơn. Cơ chất CT5 cho hiệu suất sinh học cao nhất đạt 6,87%. Tuy nhiên, hiệu suất sinh học giữa các cơ chất CT1, CT2, CT3 và CT4 không có sự khác biệt. Căn cứ vào kết quả về giai đoạn sinh trưởng hệ sợi và các chỉ tiêu giai đoạn phát triển quả thể, có thể kết luận rằng cơ chất CT5 (87% lõi ngô + 8% cám mạch + 4% bột ngô + 1% CaCO<sub>3</sub>) là cơ chất nuôi trồng phù hợp nhất đối với chủng nấm linh chi Ga8.

**Bảng 6. Một số chỉ tiêu về quả thể chủng nấm khi nuôi trồng trên các cơ chất khác nhau**

Công thức	Kích thước ngang quả thể (mm)	Kích thước dọc quả thể (mm)	Khối lượng trung bình quả thể (g/quả)	Hiệu suất sinh học (%)
CT1	87,85 <sup>b</sup>	51,05 <sup>b</sup>	29,46 <sup>c</sup>	4,90 <sup>b</sup>
CT2	83,09 <sup>c</sup>	47,27 <sup>c</sup>	29,26 <sup>c</sup>	4,85 <sup>b</sup>
CT3	93,16 <sup>a</sup>	52,35 <sup>b</sup>	31,85 <sup>bc</sup>	5,30 <sup>b</sup>
CT4	93,10 <sup>a</sup>	56,05 <sup>a</sup>	34,30 <sup>b</sup>	5,71 <sup>b</sup>
CT5	89,31 <sup>b</sup>	52,22 <sup>b</sup>	41,93 <sup>a</sup>	6,87 <sup>a</sup>

Ghi chú : Các chữ cái khác nhau trong cùng một cột là khác nhau có ý nghĩa thống kê theo với  $P < 0,05$ .



**Hình 7. Quả thể chủng nấm linh chi Ga8 khi được nuôi trên các cơ chất nuôi trồng khác nhau**

#### 4. KẾT LUẬN

Chủng nấm linh chi Ga8 thu thập tại Lạng Sơn được xác định thuộc loài *Ganoderma lingzhi*. Hệ sợi chủng nấm linh chi Ga8 sinh trưởng tốt nhất trên nền môi trường dinh dưỡng Raper ở nhiệt độ  $26^{\circ}\text{C} \pm 2$ . Cơ chất nhân giống gồm 99% thóc lứt và 1%  $\text{CaCO}_3$  phù hợp nhất cho sinh trưởng hệ sợi. Tỷ lệ mùn cưa và lõi ngô trong cơ chất nuôi trồng không ảnh hưởng nhiều đến giai đoạn sinh trưởng hệ sợi nấm linh chi Ga8; tuy nhiên, cơ chất nuôi trồng (87% lõi ngô + 8% cám mạch + 4% bột ngô + 1%  $\text{CaCO}_3$ ) cho hiệu suất sinh học cao nhất (6,87%).

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

Changhai Z., Hanguo S., Jimin C., Lijing P., Miaobin Z., Congling H. & Shufen L. (2013). Study on culture medium of *Ganoderma lucidum* in Zhuhai. Chinese Agricultural Science Bulletin. 13: 036 (in Chinese)

Colauto N.B., Aizono P.M., Carvalho L.R.M., Paccola-Meirelles L.D & Linde G.A. (2008). Temperature

and pH conditions for mycelial growth of *Agaricus brasiliensis* axenic cultivation. Semina: Ciências Agrarias. 29(2): 307-312.

Đình Xuân Linh, Thân Đức Nhã, Nguyễn Hữu Đông, Nguyễn Thị Sơn, Nguyễn Duy Trinh & Ngô Xuân Nghiễn (2012). Kỹ thuật trồng, chế biến nấm ăn, nấm dược liệu. Nhà xuất bản Nông nghiệp.

Doyle J.J. & Doyle J.L. (1987). A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. Phytochem Bull. 19: 11-15.

Han W., Chen H., Zhou L., Zou H., Luo X., Sun B. & Zhuang X. (2021). Polysaccharides from *Ganoderma sinense* - rice bran fermentation products and their anti-tumor activities on non-small-cell lung cancer. BMC Complement Med. Ther. 21(1): 1-10.

Hapuarachchi K.K., Karunarathna S.C., McKenzie E.H.C., Wu X.L., Kakumyan P., Hyde K.D. & Wen T.C. (2019). High phenotypic plasticity of *Ganoderma sinense* (Ganodermataceae, Polyporales) in China. Asian Journal of Mycology. 2(1): 1-47

Luangharn T., Karunarathna S.C., Dutta A.K., Paloi S., Promputtha I., Hyde K.D., Xu J. & Mortimer P.E. (2021). *Ganoderma* (Ganodermataceae, basidiomycota) species from the greater mekong subregion. J. Fungi. (Basel). 7(10): 819.

- Luyen Thi Nguyen, Ve Van Le, Bich Thuy Thi Nguyen, Huyen Trang Thi Nguyen, Anh Dong Tran & Nghien Xuan Ngo (2023). Optimization of mycelial growth and cultivation of wild *Ganoderma sinense*. *Biotechnologia (Pozn)*. 104(1): 65-74. doi.org/10.5114/bta.2023.125087.
- Ma Y., Guan C.Y. & Meng X.J. (2014). Biological characteristics for mycelial growth of *Agaricus bisporus*. *Appl. Mech. Mater.* 508: 297-302.
- Mei R.Q., Zuo F.J., Duan X.Y., Wang Y.N., Li J.R., Qian C.Z. & Xiao J.P. (2019). Ergosterols from *Ganoderma sinense* and their anti-inflammatory activities by inhibiting NO production. *Phytochem. Lett.* 32: 177-180
- Miles P.G. & Chang S.T. (1997). Mushroom Biology: Concise basics and current developments. In P.G. Miles (Ed.), *Mushroom Biology: Concise Basics and Current Developments*. World Scientific Publishing Company.
- Ngo N.X., Nguyen B.T.T., Le V. Van, Nguyen L.T., Nguyen T.T., Nguyen Q.D. (2019). Morphological characteristics, yield performance, and medicinal value of some lingzhi mushroom (*Ganoderma lucidum*) strains cultivated in Tam Dao, Vietnam. *Vietnam J. Agric. Sci.* 2(1): 321-331.
- Nguyen B.T.T., Le V. Van, Nguyen H.T.T., Nguyen L.T., Tran A.D. & Ngo N.X. (2021). Successful rescue of wild *Trametes versicolor* strains using sawdust and rice husk-based substrate. *Pakistan J. Biol. Sci.* 24(3): 374-382.
- Nguyen B.T.T., Le V.V., Nguyen H.T.T., Nguyen L.T., Tran T.T.T. & Ngo N.X. (2021). Nutritional requirements for the enhanced mycelial growth and yield performance of *Trametes versicolor*. *J. Appl. Biol. Biotechnol.* 9(1): 1-7.
- Nguyen B.T.T., Ngo N.X., Le V. Van, Nguyen L.T., Kana R. & Nguyen H.D. (2019). Optimal culture conditions for mycelial growth and fruiting body formation of Ling Zhi mushroom *Ganoderma lucidum* strain GA3. *Vietnam J. Sci. Technol. Eng.* 61(1): 62-67.
- Nguyen T.M. & Ranamukhaarachchi S.L. (2020). Effect of different culture media, grain sources and alternate substrates on the mycelial growth of *Pleurotus eryngii* and *Pleurotus ostreatus*. *Pakistan Journal of Biological Sciences.* 23(3): 223-230.
- Nguyen Thi Huyen Trang, Nguyen Thi Bich Thuy, Nguyen Thi Mo, Nguyen Thi Luyen & Ngo Xuan Nghien (2023). Optimal culture conditions for the enhanced mycelial growth and cultivation of shiitake mushroom (*Lentinula edodes*). *Vietnam Journal of Agricultural sciences.* 6(4): 1958-1968.
- Ta K., Vyu B., As S. (2021). Review of the basic cultivation conditions influence on the growth of basidiomycetes. *Curr. Res. Environ. Appl. Mycol.* 11(1): 494-531.
- Teseo S., Houot B., Yang K., Monnier V., Liu G. & Tricoire H. (2021). *G. sinense* and *P. notoginseng* extracts improve healthspan of aging flies and provide protection in a huntington disease model. *Aging Dis.* 12(2): 425-440.
- Trịnh Tam Kiệt (2011). *Nấm lớn Việt Nam*. Nhà xuất bản Khoa học tự nhiên và Công nghệ. Hà Nội.
- Trịnh Tam Kiệt (2012). *Nấm lớn Việt Nam*. Nhà xuất bản Khoa học tự nhiên và Công nghệ, Hà Nội
- White T.J., Bruns T.D., Lee S.B. & Taylor J.W. (1990). Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA Genes for phylogenetics. In: *PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications*. Academic Press. US. 482p.
- Zhang W.R., Liu S.R., Kuang Y.B. & Zheng S.Z. (2019). Development of a novel spawn (Block Spawn) of an edible mushroom, *Pleurotus ostreatus*, in liquid culture and its cultivation evaluation. *Mycobiology.* 47(1): 97-104.
- Zheng M., Tang R., Deng Y., Yang K., Chen L. & Li H. (2018). Steroids from *Ganoderma sinense* as new natural inhibitors of cancer-associated mutant IDH1. *Bioorg. Chem.* 79: 89-97.
- Zhou X.W. (2017). Cultivation of *Ganoderma lucidum*. [in:] *Edible and medicinal mushrooms*. Ed. Diego C.Z., Pardo-Gimenez A. pp. 385-413.
- Zhou X.-W., Su K.Q. & Zhang Y.M. (2012). Applied modern biotechnology for cultivation of *Ganoderma* and development of their products. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 93(3): 941-963.