

TRƯỜNG CAO ĐẲNG LƯƠNG THỰC THỰC PHẨM
KHOA CÔNG NGHỆ SINH HỌC
BỘ MÔN CÔNG NGHỆ TẾ BÀO

BÀI THỰC HÀNH
CÔNG NGHỆ SẢN XUẤT NẤM

NGÀNH: CÔNG NGHỆ SINH HỌC

Trình độ: Cao đẳng

Tổng số giờ thực hành: 30 giờ

Đà Nẵng, năm 2015

Bài 1.

XỬ LÝ NGUYÊN LIỆU MÙN CƯA

Mục tiêu: Sau khi học xong bài này, sinh viên có khả năng:

- Mô tả được các bước công việc, các thông số và yêu cầu kỹ thuật xử lý nguyên liệu mùn cưa để trồng nấm;
- Chọn và xử lý mùn cưa để trồng nấm theo đúng quy trình;
- Điều chỉnh được các thông số kỹ thuật đúng yêu cầu;
- Rèn luyện tính cẩn thận, khéo léo.
- Viết báo cáo, tổng hợp tài liệu
- Tuân thủ nội qui của phòng thí nghiệm và có ý thức bảo vệ thiết bị.

Thời gian thực hành: 5 giờ

Nhóm thực hành: 15-20 sinh viên

Địa điểm thực hành: Phòng thực hành Công nghệ sản xuất Nấm

Nội dung bài thực hành:

1. Dụng cụ, thiết bị và nguyên liệu, hóa chất

1.1. Dụng cụ, thiết bị

- Lưới sàng mùn cưa (hoặc máy sàng)
- Xẻng, cào sắt
- Chổi quét
- Bảo hộ lao động: khẩu trang, găng tay, ủng, kính mắt...
- Máy đo pH hoặc giấy đo pH
- Cân, thau nhựa, que khuấy
- Thùng (bể) pha nước vôi

1.2. Các loại nguyên liệu, hóa chất

- Mùn cưa cao su
- Vôi sống hoặc vôi tôi

2. Xử lý mùn cưa

2.1. Chọn mùn cưa

- Chọn mùn cưa của tất cả các loại cây gỗ không có tinh dầu, độc tố, chọn mùn cưa các loại gỗ mềm...
- Mùn cưa không bị nhiễm mốc, không bị dính hoá chất hoặc lẫn đất cát.

2.2. Sàng mùn cưa

Sử dụng lưới sàng loại bỏ các dăm bào, các nhóm mùn cưa thô hoặc đá sỏi. Tiến hành như sau:

- Mang bảo hộ lao động
- Vệ sinh khu vực sàng mùn cưa
- Lắp đặt lưới sàng sao cho thuận tiện khi thao tác

- Dùng xẻng đưa từng xẻng mùn cưa vào lưới sàng
- Gạt mùn cưa được sàng qua một bên và tập chất sang một bên
- Tiến hành thao tác sàng cho đến khi hết lượng mùn cưa cần dùng
- Vệ sinh sau khi tiến hành xong công việc.

2.3. Tạo ẩm mùn cưa bằng nước vôi

- Nước sử dụng pha chế nước vôi phải sạch, không có tạp chất
- Cân và pha chế nước vôi đúng nồng độ, nước vôi dùng trong xử lý mùn cưa có pH khoảng 12 – 13

- Vôi phải được tan hoàn toàn trong nước, nước vôi không lẫn tạp chất

Cách tiến hành:

- Mang bảo hộ lao động
- Trải lớp mùn cưa ra nền sạch, độ dày lớp mùn cưa 20 - 30cm.
- Tưới nước vôi lên lớp mùn cưa mới vừa trải ra bằng vôi sen, tưới đều khắp trên bề mặt cho đến khi có nước chảy ra ở chân đồng mùn cưa.
- Trộn lớp mùn cưa bằng xẻng xúc, trộn đảo 3- 4 lần cho nước vôi thấm ướt đều vào mùn cưa, màu mùn cưa chuyển sang màu sẫm.

- Đổ thêm mùn cưa có độ dày khoảng 20cm lên trên đồng mùn cưa làm nền vừa được trộn nước vôi.

- Tưới tiếp tục nước vôi lên đồng mùn cưa bằng vôi sen, lượng nước vôi được tưới đều khắp đồng mùn cưa cho thấm nước hoàn toàn.

- Trộn đồng mùn cưa bằng xẻng xúc, trộn đảo 3- 4 lần cho nước vôi thấm ướt đều vào mùn cưa.

- Cứ tiếp tục cho đến hết mùn cưa, mùn cưa sau khi làm ướt đều với nước vôi sẽ có màu nâu sẫm đồng đều.

- Kiểm tra độ ẩm mùn cưa đảm bảo độ ẩm 65 – 70%, để kiểm tra độ ẩm mùn cưa thường dùng ẩm kế hoặc thử bằng cách: vắt một nắm mặt cưa trong lòng bàn tay, bóp mạnh nếu không thấy nước rịn ra ở kẽ tay (dư nước) và khi thả ra mặt cưa hơi bị vỡ ra (thiếu nước) là được.

2.4. Ủ đồng mùn cưa

Mùn cưa sau khi được tạo ẩm bằng nước vôi đủ độ ẩm, tiến hành đưa vào ủ đồng. Các bước tiến hành như sau:

- Rửa sạch nền để khô
- Kiểm tra lại độ ẩm khối mùn cưa trước khi ủ (65 – 70%) bổ sung nước vôi nếu độ ẩm chưa đủ, nếu độ ẩm cao thì rộng ra nền để thoát bớt hơi nước,
- Dùng xẻng, cào sắt chất mùn cưa thành đồng hình chóp, có kích thước tối thiểu các chiều: 1,5m x 1,5m x 1,5m
- Quét và thu gọn mùn cưa quanh đồng ủ
- Đậy kín đồng ủ bằng bạt nilon, cố định dưới chân đồng ủ không cho hơi nước thoát ra ngoài.

- Ghi lại thời gian hoàn tất và bắt đầu tính thời gian ủ đông.

2.5. Đảo đông mùn cưa

Mùn cưa sau khi ủ đông được 3 - 4 ngày thì tiến hành đảo đông ủ 1 lần.

Cách tiến hành:

- Mang bảo hộ lao động
- Tháo tấm bạt ra khỏi đồng ủ mùn cưa
- Kiểm tra nhiệt độ bằng nhiệt kế: cắm nhiệt kế sâu vào trong đồng ủ ở những vị trí khác nhau, ghi lại kết quả và lấy kết quả trung bình
- Kiểm tra độ ẩm khối mùn cưa ở các vị trí khác trên đồng ủ
- Chia đồng ủ thành 4 khối riêng biệt và bổ sung thêm nước nếu độ ẩm mùn cưa dưới 65% và tưới rộng nếu độ ẩm mùn cưa quá cao
- Đảo trộn mùn cưa qua lại bằng xẻng và cào sắt, tiến hành đảo trộn cho đến khi mùn cưa trộn đều nhau và độ ẩm đồng đều
- Vun đồng mùn cưa thành đồng giống đồng ủ ban đầu
- Đậy kín đồng ủ bằng bạt nilông, cố định tấm bạt dưới chân đồng ủ cho kín không để hơi nước thoát ra ngoài
- Dọn vệ sinh khu vực làm việc
- Ghi lại thời gian sau khi hoàn thành công đoạn ủ đông và bắt đầu tính thời gian ủ đông lần 2.

BÀI 2.

LÀM GIÁ THỂ TRỒNG NẤM SÒ VÀ NẤM LINH CHI

Mục tiêu: Sau khi học xong bài này, sinh viên có khả năng:

- Xác định và lựa chọn được các nguồn phụ gia sử dụng trong nuôi trồng nấm;
- Tính được nồng độ % và cân đúng tỉ lệ các chất phụ gia để làm giá thể;
- Thực hiện được các thao tác làm giá thể mùn cưa nuôi trồng nấm sò và nấm linh chi theo đúng quy trình, đảm bảo yêu cầu kỹ thuật, đạt hiệu quả cao;
- Rèn luyện tính cẩn thận, chịu khó, tỉ mỉ.

Thời gian thực hành: 5 giờ

Nhóm thực hành: 15 - 20 học sinh/sinh viên

Địa điểm thực hành: Phòng thực hành Công nghệ sản xuất Nấm

Nội dung bài thực hành:

1. Nguyên liệu, hóa chất, vật tư và thiết bị

1.1. Nguyên liệu, hóa chất

- Mùn cưa đã được xử lý ở bài 1
- Bột ngô
- Cám gạo
- Bột nhẹ
- Đường saccharose

1.2. Các loại dụng cụ, thiết bị

- Nồi hấp thanh trùng
- Giấy đo pH, ẩm kế, nhiệt kế
- Cân đồng hồ
- Thau nhựa, xô nhựa, bình tưới
- Cào sắt, xẻng, chổi quét ...

1.3. Các loại vật tư

- Túi nilon PE hoặc PP có kích thước: 19 x 38cm, 25 x 35cm...
- Bông không thấm nước, dây cao su
- Cổ nhựa, nắp nhựa

2. Phối trộn phụ gia

2.1. Công thức phối trộn

- * Đối với giá thể trồng nấm sò
- Mùn cưa khô
- Bột ngô : 3 – 5%
- Cám gạo : 3 – 5%
- Bột nhẹ : 1 – 1,5%

* Đối với giá thể nuôi trồng nấm linh chi

- Mùn cưa khô
- Bột ngô : 5 – 7%
- Cám gạo : 5 – 7%
- Đường sacharose : 0,5%
- Bột nhẹ : 1 – 1,5%

2.2. Cách tiến hành

- Rửa sạch nền chuẩn bị cho phối trộn
- Trải mùn cưa ra nền có độ dày khoảng 10cm
- Rải hỗn hợp cám gạo, bột bắp và bột nhẹ trên lớp mùn cưa và tiến hành đảo trộn vài lần
- Hoà nước đường tưới đều lên khối mùn cưa
- Đảo trộn khối mùn cưa bằng xẻng và cào sắt cho đến khi phụ gia, hoá chất trộn đều với mùn cưa
- Kiểm tra lại độ ẩm khối mùn cưa lần cuối trước khi đóng túi giá thể, đảm bảo đạt từ 60 – 65%

3. Đóng túi giá thể

- Cho mùn cưa đã phối trộn phụ gia có độ ẩm từ 60 – 65% vào 1/3 túi nilon đã được gấp đáy vuông
- Nén mùn cưa lại bằng cách dùng hai tay nắm miệng túi và thò mạnh khối mùn cưa xuống đất
- Dùng các đầu ngón tay ấn vào 4 góc túi giá thể tạo đáy túi vuông
- Đổ thêm mùn cưa vào túi cách miệng túi 4 – 5 cm, thò mạnh và dùng các đầu ngón tay nén khối mùn cưa tạo túi mùn cưa căng, tròn đều, trọng lượng túi sau khi đóng xong phải đạt 1,2 – 1,4 kg, kích thước khối mùn cưa chiếm 2/3 túi.
- Làm cổ nút, nút bông và chuyển vào nồi hấp khử trùng

4. Khử trùng túi giá thể

Các túi giá thể được khử trùng bằng 2 phương pháp:

* Khử trùng bằng nồi áp lực: nhiệt độ 121⁰C/ 90 – 120 phút. Cách tiến hành:

- Cho nước vào nồi hấp và điều chỉnh mức nước cho phù hợp
- Xếp túi giá thể mùn cưa vào giỏ, đưa vào nồi hấp
- Đóng chặt các van nồi hấp
- Cài đặt chế độ thanh trùng hợp lý
- Bật cầu dao điện
- Bật công tắc thanh trùng của nồi
- Khi kết thúc quá trình thanh trùng tắt cầu dao điện, xả van, đợi hạ nhiệt độ, áp suất về số 0 mới được mở nắp nồi lấy túi giá thể ra.

* Khử trùng bằng áp suất thường bằng thùng phuy hoặc lò xây bằng gạch chịu nhiệt: nhiệt độ $95 - 100^{\circ}\text{C}$ / 12 – 14 giờ. Cách tiến hành:

- Đặt vỉ lót vào thùng phuy
- Đổ nước sạch vào thùng khoảng 15- 20 cm, vừa sát kệ
- Xếp từng túi giá thể vào thùng: xếp xen kẽ, không nên ép túi giá thể nên chừa khoảng trống để hơi nước thoát lên
- Các túi giá thể được chất cho đến nóc thùng
- Tủ nilon kín nóc thùng để hạn chế thoát hơi nước, có thể tủ thêm bao bố ướt để giảm nhiệt độ và không làm lớp nilon bị nóng chảy
- Đốt nhiên liệu: than đá, củi... liên tục đến khi đo nhiệt độ đạt $95 - 100^{\circ}\text{C}$ bắt đầu tính giờ. Có thể theo dõi nhiệt độ thông qua hơi nước thoát lên trên nắp thùng hoặc bao bố:
- + Hơi bay là là: nhiệt độ chưa đạt, phải thêm lửa
- + Hơi lên thẳng: đạt nhiệt độ, giữ lửa
- + Hơi lên cuộn cuộn: nhiệt độ quá cao, giảm lửa để tránh cháy túi.
- Mở nắp nồi
- Đợi túi hơi nguội chuyển túi giá thể vào phòng cấy giống

BÀI 3.

CÂY GIỐNG NẤM VÀO GIÁ THỂ

Mục tiêu: Sau khi học xong bài này, sinh viên có khả năng:

- Lựa chọn được giống nấm đạt tiêu chuẩn;
- Trình bày được phương pháp cấy giống nấm trên giá thể mùn cưa;
- Thực hiện thành thạo các thao tác khử trùng dụng cụ và tủ cấy, thao tác đóng túi, đóng mô và cấy giống;
- Thực hiện các thao tác cấy giống nấm sò và nấm linh chi vào túi giá thể theo đúng trình tự và yêu cầu kỹ thuật;
- Tuân thủ nội quy của phòng thí nghiệm và đảm bảo vô trùng

Thời gian thực hành: 5 giờ

Nhóm thực hành: 15 - 20 học sinh/sinh viên

Địa điểm thực hành: Phòng thí nghiệm

Nội dung bài thực hành:

1. Dụng cụ và hóa chất

- Đèn cồn
- Bộ dụng cụ cấy: panh kẹp, kéo, que cấy
- Bông thấm nước, Cồn 96⁰
- Xà phòng, khăn lau
- Chổi
- Tủ cấy, tủ sấy
- Găng tay, khẩu trang

2. Chuẩn bị giống nấm

Thực hiện lựa chọn giống nấm đảm bảo các yêu cầu sau:

- Trạng thái hệ sợi nấm: tơ nấm đồng nhất về màu sắc, sợi tơ mọc khỏe, thẳng và chia nhánh đều, không có tơ rời bông, đổi màu...
- Giống thuần khiết: nghĩa là chỉ có một loại tơ nấm, không bị lẫn tạp nấm mốc hoặc nấm dại khác
- Giống phải đúng độ tuổi

3. Khử trùng dụng cụ, thiết bị cấy

3.1. Khử trùng bộ dụng cụ cấy

- Rửa sạch bộ dụng cụ cấy bằng nước sạch rồi để khô.
- Bao gói bộ dụng cụ cấy bằng giấy sao cho các dụng cụ cấy không bị hở, tiếp xúc với không khí.
- Đặt bộ dụng cụ đã bao gói vào tủ sấy.
- Thực hiện sấy ở 160 - 170⁰C trong thời gian 2 giờ.

3.2. Khử trùng phòng cấy giống

- Hòa nước xà phòng.
- Rửa sạch phòng cấy bằng nước xà phòng rồi để khô.
- Đốt cháy bột lưu huỳnh ở giữa phòng cấy, đóng kín cửa phòng.

3.3. Khử trùng tủ cấy

- Lau sạch các mặt kính của tủ cấy và bàn cấy bằng bông tẩm cồn 96⁰ rồi để khô.
- Đặt bộ dụng cụ cấy đã khử trùng vào trong tủ cấy.
- Bật đèn UV khử trùng trong tủ cấy, thời gian khử trùng 30 phút.
- Tắt đèn khử trùng trong tủ cấy và đợi khoảng 15 phút sau đó mới được vào tủ cấy.

4. Cấy giống vào giá thể

Giống nấm sò và giống nấm linh chi được nhân trên cơ chất hạt thóc và đã tuyển chọn đảm bảo chất lượng trước khi cấy vào giá thể mùn cưa.

Cách tiến hành:

- Đốt đèn cồn, điều chỉnh ngọn lửa cao 3 – 4cm.
- Khử trùng que cấy: đốt que cấy trên ngọn lửa đèn cồn cho đến khi thân que cấy nóng đỏ.
- Mở nắp chai (túi) giống nấm: Dùng tay cầm que cấy để mở nắp chai (túi) giống nấm, kẹp nắp giấy giữa ngón tay út và cạnh bàn tay rồi rút nắp ra
- Mở nút bông chai (túi) giống nấm: Dùng tay cầm que cấy, kẹp nút bông giữa ngón tay út và cạnh bàn tay rồi rút nút bông ra và giữ chặt trên tay.
- Khử trùng miệng chai (túi) giống nấm: Cầm chai (túi) giống nấm ngang và hơi chậm miệng chai meo qua lại trên ngọn lửa đèn cồn 2 – 3 lần.
- Làm rời các hạt giống: Đưa que cấy vào trong chai (túi) giống, bóc bỏ lớp màng trên bề mặt chai meo giống, khều nhẹ cho các hạt giống rời ra. Thao tác phải nhẹ nhàng, tránh làm giập nát giống.
- Mở nút bông của túi giá thể: dùng ngón tay cái và ngón tay trỏ xoay nhẹ nút bông rồi kéo nút bông ra khỏi miệng túi.
- Cấy giống vào túi giá thể: Đặt túi giá thể thẳng đứng, khều giống từ chai hay túi giống sang túi giá thể, lắc đều để giống trải đều trên bề mặt giá thể, tránh làm rơi vãi giống ra ngoài. Mỗi túi mùn cưa cấy khoảng 10 – 15g giống, tức là một túi giống 300g thì cấy được khoảng 25 – 30 túi giá thể.
- Đậy nút bông vào túi giá thể: Đưa nút bông vào miệng túi, vừa xoay tròn cổ tay cho nút bông lọt vào miệng túi, ấn nhẹ ngón tay út cho nút bông đậy kín miệng túi giá thể.
- Khử trùng lại miệng chai (túi) giống trên ngọn lửa đèn cồn.
- Đậy nút bông chai (túi) giống lại
- Khử trùng lại que cấy trên ngọn lửa đèn cồn.

5. Chuyển các túi giá thể đã cấy giống vào phòng nuôi sợi

Trong quá trình nuôi sợi, thường xuyên theo dõi sự tăng trưởng của hệ sợi nấm theo thời gian để có biện pháp khắc phục kịp thời.

- Sau khi cấy giống khoảng 2 - 3 ngày, giống nấm bung sợi như sâu róm và mọc vào cơ chất.

- Sau thời gian nuôi ủ khoảng 15 – 20 ngày, hệ sợi phải mọc được 1/2 - 2/3 chiều dài thành túi.

- Đối với nấm sò: Thời gian nuôi sợi nấm sò trên giá thể mùn cưa kéo dài từ 25 – 30 ngày. Lúc này hệ sợi nấm đã ăn kín đến đáy túi tạo nên màu trắng đồng nhất, giá thể rắn chắc là tốt, tiến hành treo và rạch túi tiếp tục chăm sóc đến khi hình thành quả thể.

- Đối với nấm linh chi: khi hệ sợi ăn được 1/2 - 2/3 chiều dài thành túi tiến hành nới nút bông vào theo dõi cho đến khi hình thành quả thể.

BÀI 4.

PHA CHẾ MÔI TRƯỜNG NHÂN GIỐNG NẤM CẤP I

Mục tiêu: Sau khi học xong bài này, sinh viên có khả năng:

- Mô tả được các bước pha chế môi trường nhân giống nấm cấp I theo đúng quy trình;
- Thực hiện pha chế, khử trùng môi trường theo đúng trình tự và yêu cầu kỹ thuật;
- Rèn luyện tính cẩn thận, tỉ mỉ.
- Viết báo cáo, tổng hợp tài liệu
- Tuân thủ nội quy của phòng thí nghiệm và có ý thức bảo vệ thiết bị.

Thời gian thực hành: 5 giờ

Nhóm thực hành: 15-20 học sinh/sinh viên

Địa điểm thực hành: Phòng thực hành Công nghệ sản xuất Nấm

Nội dung bài thực hành:

1. Các loại dụng cụ, thiết bị, vật tư

1.1. Các loại thiết bị, dụng cụ

- Nồi hấp vô trùng
- Bếp nấu môi trường
- Cân điện tử
- Nồi nấu môi trường
- Các dụng cụ thủy tinh: Ống nghiệm, đĩa petri, pipet (1 - 10 - 20 ml), bình tam giác (250 - 500 - 1000ml), bình định mức, ống đong (100 - 1000 ml), cốc thủy tinh (100 - 500 - 1000 ml)
- Rổ nhựa, dao cắt
- Ấm kế, giấy đo pH...

1.2. Vật tư

- Giấy báo, bông không thấm nước
- Bông thấm nước, bút xạ...

2. Các loại nguyên liệu, hoá chất

- Khoai tây
- Giá đậu xanh
- Bột ngô + cám gạo
- Đường glucose (hoặc saccharose)
- Agar

3. Công thức môi trường nhân giống nấm cấp I

3.1 Công thức môi trường PDA

- Khoai tây : 200g

- Giá đậu xanh : 200g
- Bột ngô + cám gạo : 25g
- Đường glucose : 20g
- Agar : 20g
- pH : 7,0
- Nước vừa đủ : 1 lít

3.2 Cách pha chế môi trường

3.2.1. Thu dịch chiết

a. Thu dịch chiết khoai tây

- Gọt vỏ và rửa sạch khoai tây
- Thái khoai tây thành khối vuông (hình hạt lựu) có kích thước khoảng 1 – 2cm
- Nấu khoai tây: cho khoai tây đã thái cùng với 400ml nước vào nồi. Đun sôi khoảng 15-20 phút cho khoai tây mềm (dùng tay bóp nhỏ là được).
- Lọc dịch khoai tây: cho khoai tây đã nấu qua vải lọc thu dịch chiết

b. Thu dịch chiết giá đậu xanh

- Cân 200g giá đậu và đông 300ml nước cất cho vào nồi;
- Đun sôi giá đỗ trên bếp cho đến khi giá chín có màu trắng trong;
- Lọc qua vải lọc để thu dịch chiết giá đậu xanh.

Cách thực hiện tương tự như thu dịch chiết khoai tây.

c. Thu dịch chiết từ bột ngô, cám gạo

- Cho hỗn hợp 200ml nước ấm (50 – 55⁰C) và 25 gam bột cám (cám ngô và cám gạo) vào cốc;
- Khuấy trộn trong 4 - 5 phút;
- Để yên 10 – 15 phút để lắng cặn bã;
- Lọc qua vải lọc 2 - 3 lần và thu dịch trong

3.2.2. Tạo hỗn hợp và phân vào ống nghiệm môi trường cấp I

- Cho dịch nước chiết từ: khoai tây, giá đậu xanh, bột ngô và cám gạo vào cốc, thêm nước vào cho đủ 1 lít.
- Phối trộn hỗn hợp dịch chiết với đường và agar, đun nhỏ lửa và khuấy cho đường và agar tan hết
- Phân môi trường cấp I vào ống nghiệm, làm nút bông, bao gói và hấp khử trùng

4. Khử trùng môi trường nhân giống nấm cấp I

- Thực hiện khử trùng môi trường bằng nồi hấp áp lực, nhiệt độ 121⁰C/ 25 phút
- Sau khi khử trùng xong, tiến hành làm môi trường thạch nghiêng.

* *Cách làm thạch nghiêng:*

+ Các ống nghiệm sau khi khử trùng xong được đặt ở tư thế nghiêng góc sao cho mặt nghiêng và phần thạch sâu đạt yêu cầu.

+ Để yên cho đến khi môi trường đông đặc lại. Bề mặt thạch nghiêng phải bằng phẳng, không gồ ghề, nứt và liên tục.

BÀI 5.

CHUẨN BỊ MÔI TRƯỜNG NHÂN GIỐNG NẤM CẤP II

Mục tiêu: Sau khi học xong bài này, sinh viên có khả năng:

- Mô tả được các bước nhân giống nấm cấp II theo đúng quy trình;
- Chọn được nguyên liệu làm giống nấm đạt chất lượng;
- Thực hiện pha chế, khử trùng môi trường nhân giống nấm cấp II theo đúng trình tự và yêu cầu kỹ thuật;
- Vận hành được thiết bị khử trùng môi trường đúng kỹ thuật;
- Rèn luyện tính cẩn thận, tỉ mỉ;
- Viết báo cáo, tổng hợp tài liệu;
- Tuân thủ nội quy của phòng thí nghiệm và có ý thức bảo vệ thiết bị.

Thời gian thực hành: 5 giờ

Nhóm thực hành: 15-20 học sinh/sinh viên

Địa điểm thực hành: Phòng thực hành Công nghệ sản xuất Nấm

Nội dung bài thực hành:

1. Thiết bị, dụng cụ, nguyên liệu và hoá chất

1.1. Thiết bị, dụng cụ

- Nồi autoclave hoặc hệ thống nồi thanh trùng
- Bếp gas công nghiệp, nồi luộc, que khuấy
- Quạt công nghiệp
- Chai thủy tinh 500ml, chai nhựa, nắp nhựa, thau nhựa, rổ
- Cân đồng hồ, ẩm kế
- Bông không thấm nước, dây cao su, giấy báo, giấy nilon

1.2. Nguyên liệu, hóa chất

- Thóc tẻ: có chất lượng tốt, không mốc, không bị sâu mọt đục phá,
- Bột nhẹ

2. Công thức môi trường nhân giống nấm cấp II

- Thóc tẻ luộc
- Bột nhẹ: 1 – 1,5% (so với thóc luộc)

3. Chuẩn bị môi trường nhân giống

3.1. Xử lý nguyên liệu thóc

- Cân khối lượng thóc cần làm đổ vào thau nhựa
- Rửa nhiều lần bằng nước sạch để loại bỏ bụi, đất và các hạt thóc lép
- Ngâm thóc trong nước sạch 12 - 16 giờ, để thóc ngấm nước
- Thóc sau khi ngâm, tiến hành đãi, rửa sạch để khử hết mùi chua
- Cho thóc vào nồi và tiến hành luộc, khi vỏ trấu mở khoảng 1/3, kiểm tra không còn lõi trắng ở giữa là đạt yêu cầu.

- Vớt thóc ra các dụng cụ chứa để thoát nước như rá, rổ,... và để cho bay hết hơi nước (có thể dùng quạt để hơi nước bay nhanh hơn), độ ẩm còn khoảng 70 – 75% là được.

3.2. Phối trộn bột nhẹ vào thóc đã luộc

- Cân chính xác lượng thóc và bột nhẹ theo tỉ lệ công thức
- Trộn đều để bột nhẹ trộn đều và bám vào vỏ hạt thóc đồng đều bằng tay hoặc bằng máy trộn.
- Kiểm tra độ ẩm: 65- 70% là đạt yêu cầu.

3.3. Phân phối thóc đã phối trộn vào các chai thủy tinh hoặc chai nhựa

Thóc được đổ vào các chai thủy tinh hoặc chai nhựa, lượng thóc cho vào mỗi chai từ 300 – 350g

3.4. Tiến hành làm nút bông

- Lấy một lượng bông vừa đủ với miệng chai
- Tạo đầu nút bông tròn
- Đưa vào cổ chai: phần bông trong cổ chai khoảng 3 - 4cm, phần bông bên ngoài khoảng 1-2cm.

4. Khử trùng môi trường nhân giống nấm cấp II

Khử trùng môi trường cấp II bằng phương pháp hấp áp lực, chế độ khử trùng: áp suất 1,2 – 1,5 atm, thời gian 90 – 120 phút.

Khi hấp xong, chuyển các chai giống vào phòng chờ, xếp lên bàn hoặc các giàn kệ, mở ngay bao nylon hoặc nắp đậy ra khỏi chai giống để nút bông. Để nguội sau thời gian khoảng 24 - 48 giờ mới được tiến hành cấy giống cấp I vào.

BÀI 6.

NHÂN GIỐNG CẤP I VÀ CẤP II

Mục tiêu: Sau khi học xong bài này, sinh viên có khả năng:

- Mô tả được các bước nhân giống nấm cấp I, cấp II theo đúng quy trình;
- Chọn được giống gốc, cấp I đạt chất lượng;
- Thực hiện cấy chuyển giống nấm cấp I, II theo đúng trình tự và yêu cầu kỹ thuật;
- Điều chỉnh được điều kiện môi trường khi nuôi sợi, bảo quản giống nấm cấp I, cấp II đúng yêu cầu với từng loại giống nấm;
- Phát hiện và xử lý giống nấm cấp I, cấp II bị nhiễm kịp thời và an toàn;
- Rèn luyện tính cẩn thận, tỉ mỉ;
- Viết báo cáo, tổng hợp tài liệu;
- Tuân thủ nội quy của phòng thí nghiệm và có ý thức bảo vệ thiết bị.

Thời gian thực hành: 5 giờ

Nhóm thực hành: 15-20 học sinh/sinh viên

Địa điểm thực hành: Phòng thực hành Công nghệ sản xuất Nấm

Nội dung bài thực hành:

1. Các loại thiết bị, dụng cụ

1.1. Các loại thiết bị

- Tủ sấy dụng cụ
- Tủ cấy giống
- Máy điều hoà nhiệt độ
- Quạt thông gió

1.2. Các loại dụng cụ

Bộ dụng cụ cấy giống: khay, đĩa, dao mổ; que cấy đầu nhọn hoặc đầu bẹp; được làm bằng inox; kéo, kẹp, đèn cồn

2. Cấy chuyển từ ống giống gốc sang môi trường cấp I

Cách cấy chuyển giống được thực hiện theo các bước sau:

- Mang bảo hộ: áo bluse, khẩu trang
- Khử trùng tay: dùng bông thấm cồn lau từ khuỷu tay đến các ngón tay, kẽ tay
- Kiểm tra lại các ống (chai) giống gốc và ống (chai) môi trường cấp I và dùng bông thấm cồn lau xung quanh các ống (chai) giống và ống (chai) môi trường trước khi đưa vào tủ.
- Chuyển bộ dụng cụ cấy giống, đèn cồn, bình tam giác có chứa cồn, khay đựng dụng cụ cấy vào tủ cấy và bố trí sao cho tiện trong quá trình thao tác trong tủ

*** Chú ý:** Các dụng cụ bình tam giác, đèn cồn, khay phải được lau cồn trước khi đưa vào tủ.

- Đốt đèn cồn để đèn cồn cháy tự do trong thời gian 2 - 3 phút, ngọn lửa đèn cồn không nên để quá lớn hoặc quá nhỏ, nên cao từ 3 - 4cm.

- Khử trùng lại các dụng cụ cấy bằng cách nhúng cồn và đốt trực tiếp trên ngọn lửa đèn cồn, thao tác lặp lại 2 - 3 lần, sau đó để nguội.

- Mở nút bông và giữ nút bông của ống giống gốc và ống môi trường bằng kẽ tay út và áp út, hơi miệng ống nghiệm trên ngọn lửa đèn cồn, chỉ mở quanh ngọn lửa đèn cồn và ở tư thế nằm ngang, quay miệng về hướng ngọn lửa.

- Dùng que cấy chuyển một mẫu giống từ ống giống gốc sang ống hoặc chai môi trường cấp I

*** Chú ý khi tiến hành chuyển giống:**

- Mẫu giống có kích thước khoảng vài mm²

- Mẫu giống gốc phải được đặt ở bề mặt và giữa môi trường thạch nghiêng.

- Thao tác phải thực hiện trên hoặc quanh ngọn lửa đèn cồn và ngang tầm lửa, trong khu vực bán kính 10cm so với ngọn lửa đèn cồn.

- Hơi miệng ống nghiệm trên ngọn lửa đèn cồn và hơi nhanh nút bông của ống môi trường và đậy nút bông lại

- Thao tác cứ tiến hành cho đến khi hết lượng giống trong ống giống gốc. Trung bình một ống giống gốc như vậy ta cấy được khoảng 30 – 40 ống giống cấp I.

- Dùng giấy báo bọc đầu nút bông của ống giống lại.

- Ghi tên loại giống, ngày giờ cấy.

- Xếp các ống giống cấp I trên các giá và chuyển toàn bộ vào phòng nuôi sợi để trên các giàn kệ nuôi sợi giống.

- Vệ sinh tủ cấy và phòng cấy sau khi hoàn tất công việc.

3. Cấy chuyển giống từ giống cấp I sang môi trường nhân giống cấp II

Quá trình cấy chuyển giống thực hiện tuần tự các bước giống như việc cấy chuyển giống từ giống gốc sang ống môi trường cấp I. Thứ tự theo các bước sau:

- Mang bảo hộ: áo bluse, khẩu trang

- Khử trùng tay: dùng bông thấm cồn lau từ khuỷa tay đến các ngón tay, kẽ tay

- Kiểm tra lại các ống giống cấp I và các chai môi trường nhân giống cấp II (chai giống không bị bể)

- Đưa bộ dụng cụ cấy giống, đèn cồn, bình tam giác có chứa cồn, khay đựng dụng cụ cấy vào tủ cấy và bố trí sao cho tiện trong quá trình thao tác trong tủ

*** Chú ý:** các dụng cụ bình tam giác, đèn cồn, khay phải được lau cồn trước khi đưa vào tủ.

- Đốt đèn cồn để đèn cồn cháy tự do trong thời gian 2-3 phút, ngọn lửa đèn cồn không nên để quá lớn hoặc quá nhỏ, nên cao từ 3 - 4cm.
- Khử trùng lại các dụng cụ cấy bằng cách nhúng cồn và đốt trực tiếp trên ngọn lửa đèn cồn thao tác tiến hành 2-3 lần và để nguội
- Mở nút bông và giữ nút bông của ống giống cấp I và ống môi trường cấp II bằng kẽ tay út và áp út, hơ miệng ống nghiệm và chai môi trường trên ngọn lửa đèn cồn, chỉ mở nút bông quanh ngọn lửa đèn cồn và ở tư thế nằm ngang, quay miệng về hướng ngọn lửa.
- Dùng que cấy chần 1/2 - 1/3 phần giống trong ống giống cấp I và chuyển phần giống đó sang chai môi trường cấp II, nếu giống trên các chai thủy tinh cũng dùng que cấy lấy một đường có kích thước 1- 2cm
- Hơ miệng chai giống trên ngọn lửa đèn cồn và hơ nhanh nút bông của chai môi trường cấp II và đập nút bông lại
- Thao tác cứ tiến hành cho đến khi hết lượng giống cấp I
- Dùng giấy báo bọc đầu nút bông chai giống cấp II lại để hạn chế sự tạp nhiễm vào môi trường nuôi sợi nấm
- Ghi lại tên giống, ngày giờ cấy trên chai giống
- Xếp các chai giống cấp II vào rổ hoặc xe đẩy và chuyển toàn bộ vào phòng nuôi sợi, xếp trên các giàn giá nuôi sợi, các chai xếp cách nhau: cách chai 5cm, hàng cách hàng 5cm
- Vệ sinh tủ cấy và phòng cấy sau khi hoàn tất công việc.

*** Chú ý:** Nếu trong quá trình cấy phát hiện ống giống bị nhiễm cần phải nhanh chóng đập nút bông lại và chuyển ra khỏi khu vực cấy giống và tiến hành công việc khử trùng lại tủ cấy, dụng cụ cấy giống như ban đầu.

4. Nuôi sợi giống nấm cấp I và cấp II

4.1. Nuôi sợi giống nấm cấp I

Tùy thuộc vào mỗi loại giống nấm, điều chỉnh chế độ nhiệt độ và thời gian nuôi sợi giống nấm cấp I theo bảng 6.1.

Bảng 6.1. Mối liên quan giữa nhiệt độ và thời gian ăn sợi các loại nấm

Giống nấm	Nhiệt độ nuôi sợi (°C)	Thời gian sợi ăn kín ống nghiệm (ngày)
Giống nấm sò	25 ⁰ C ± 2	10 ± 1
Giống nấm rơm	29 ⁰ C ± 2	7 ± 1
Giống mộc nhĩ	27 ⁰ C ± 2	11 ± 1
Giống linh chi	26 ⁰ C ± 2	10 ± 1
Giống nấm mỡ	22 ⁰ C ± 2	32 ± 2
Giống nấm hương	24 ⁰ C ± 2	13 ± 1
Giống trà tận	25 ⁰ C ± 2	13 ± 1

4.2. Nuôi sợi giống nấm cấp II

Điều chỉnh nhiệt độ phòng nuôi sợi bằng hệ thống máy điều hòa sao cho phù hợp với từng loại giống nấm và thời gian phát triển hệ sợi giống các loại giống nấm sẽ khác nhau được thể hiện như sau (bảng 6.2).

Bảng 6.2. Nhiệt độ và thời gian nuôi sợi của một số giống nấm

<i>Giống nấm</i>	<i>Nhiệt độ nuôi sợi ($^{\circ}\text{C}$)</i>	<i>Thời gian nuôi sợi (ngày)</i>
Giống nấm rơm	28 - 32	12 - 14
Giống nấm sò	24 - 26	13 - 15
Giống nấm mộc nhĩ	26 - 30	13 - 15
Giống nấm trà tân	24 - 26	15 - 20
Giống nấm mỡ	22 - 24	30 - 35
Giống nấm hương	22 - 24	10 - 12
Giống nấm linh chi	24 - 27	12 - 15

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1]. Lê Duy Thắng (2001), *Kỹ thuật trồng nấm - tập 1*, Nhà xuất bản Nông nghiệp, TP Hồ Chí Minh.
- [2]. Nguyễn Hữu Đồng, Đinh Xuân Linh, Nguyễn Thị Sơn, *Cơ sở khoa học và công nghệ nuôi trồng nấm*, Nhà xuất bản Nông nghiệp, Hà Nội.
- [3]. Nguyễn Lâm Dũng (2005), *Công nghệ nuôi trồng nấm - tập 1,2*, Nhà xuất bản Nông nghiệp, Hà Nội.
- [4]. Lê Duy Thắng, Trần Văn Minh (2005), *Sổ tay hướng dẫn trồng nấm*, Nhà xuất bản Nông nghiệp, TP. Hồ Chí Minh.
- [5]. Sở Nông nghiệp và phát triển nông thôn TP. Hồ Chí Minh (2000), *Sổ tay hướng dẫn trồng nấm*, Nhà xuất bản Nông nghiệp TP. Hồ Chí Minh.
- [6]. Trung tâm UNESCO phổ biến kiến thức văn hoá và giáo dục cộng đồng (2002), *Hướng dẫn nuôi trồng nấm ăn trong gia đình*, Nhà xuất bản văn hoá dân tộc Hà Nội.