

Nuôi cấy quả thể Đông trùng hạ thảo (*Cordyceps militaris*) trên cơ chất rắn bổ sung vi tảo

Trần Thị Bảo Trâm^{1*}, Vũ Thị Tư¹, Lê Minh Tâm²,
Nguyễn Phú Hoài¹, Đặng Trần Phúc³, Thi Đình Nguyễn¹, Trịnh Thanh Kiều¹

¹Trường Đại học Yersin Đà Lạt

²Công ty TNHH một thành viên Vắc-xin Pasteur Đà Lạt

³Bệnh viện Nhi Lâm Đồng

Culturing fruit bodies of *Cordyceps militaris* on solid substrate supplemented with microalgae

Tran Thi Bao Tram^{1*}, Vu Thi Tu¹, Le Minh Tam²,
Nguyen Phu Hoai¹, Dang Tran Phuc³, Thi Dinh Nguyen¹, Trinh Thanh Kieu¹

¹Yersin University of Dalat

²Vaccine Company Limited of Dalat Pasteur

³Lam Dong Children's Hospital

*Corresponding author: tranthibaotram210@gmail.com

<https://doi.org/10.55250/jo.vnuf.13.6.2024.020-027>

TÓM TẮT

Đông trùng hạ thảo – *Cordyceps militaris* là nấm dược liệu quý, có giá trị kinh tế cao. Đã có nhiều nghiên cứu nuôi cấy *C. militaris* trên cơ chất rắn bổ sung nhiều chất dinh dưỡng khác nhau. Vi tảo (tảo lục và tảo xoắn) chứa lượng protein cao và các loại vitamin phù hợp cho quá trình nuôi cấy quả thể *C. militaris*. Trong nghiên cứu này, *C. militaris* được nuôi cấy ở điều kiện thích hợp và khảo sát nồng độ vi tảo bổ sung vào cơ chất rắn nuôi cấy quả thể (tảo lục: 5%, 10%, 15%, 20% - tảo xoắn: 5%, 10%, 15%, 20%). Phân tích hàm lượng cordycepin và adenosine đối với nghiệm thức tốt nhất của tảo lục và tảo xoắn. Kết quả cho thấy *C. militaris* sinh trưởng, phát triển trên tất cả các nghiệm thức được khảo sát, trong đó nghiệm thức bổ sung 20% tảo lục (chiều cao quả thể: $63,98 \pm 1,78$ mm, đường kính quả thể: $2,43 \pm 0,20$ mm, số lượng quả thể: $132,5 \pm 17,00$, khối lượng quả thể $91,61 \pm 1,90$ g/hộp, hàm lượng Cordycepin: 3975 mg/kg, hàm lượng adenosine: 201 mg/kg) và 15% tảo xoắn (chiều cao quả thể: $76,23 \pm 1,17$ mm, đường kính quả thể: $2,77 \pm 0,33$ mm, số lượng quả thể: $153,8 \pm 10,40$ sợi, khối lượng quả thể: $92,24 \pm 2,43$ g/hộp, hàm lượng Cordycepin: 4015 mg/kg, hàm lượng adenosine: 244 mg/kg) cho năng suất và chất lượng tốt nhất. Môi trường nuôi cấy rắn bổ sung tảo xoắn thu được quả thể có năng suất và chất lượng tốt hơn so với tảo lục và đối chứng. Kỹ thuật này có thể áp dụng sản xuất và nâng cao sản lượng và chất lượng quả thể *C. militaris*.

Thông tin chung:

Ngày nhận bài: 02/08/2024

Ngày phản biện: 05/09/2024

Ngày quyết định đăng: 30/09/2024

Từ khóa:

Cordyceps militaris, cơ chất rắn,
đông trùng hạ thảo,
tảo lục, tảo xoắn.

Keywords:

Cordyceps militaris, *Cordyceps*,
chlorella, solid substrates, spirulina.

ABSTRACT

Cordyceps militaris is a valuable medicinal mushroom with high economic value, but it is overexploited in nature, leading to scarcity. Many studies have been conducted on growing *C. militaris* fruiting bodies on solid substrates supplemented with various nutrients. Microalgae (chlorella and spirulina) contain large amounts of protein (more than 50% of dry weight) and vitamins suitable for the growth of *C. militaris* fruiting bodies. In this study, *C. militaris* was cultivated under appropriate conditions and the concentration of microalgae added to the solid substrate for cultivating *C. militaris* fruiting

bodies (chlorella: 5%, 10%, 15%, 20% – spirulina: 5%, 10%, 15%, 20%)
 Analysis of cordycepin and adenosine content was performed with the control sample, the best treatment of green algae and spirulina. The results showed that *C. militaris* grew on all treatments examined, in which the therapy supplemented with 20% chlorella (height: 63.98 ± 1.78 mm, diameter: 2.43 ± 0.20 mm, quantity of fruiting bodies: 132.5 ± 17.00 fibers, mass: 91.61 ± 1.90 g, cordycepin content: 3975 mg/kg, adenosine content: 201 mg/kg) and 15% spirulina (height: 76.23 ± 1.17 mm, diameter: 2.77 ± 0.33 mm, quantity of fruiting bodies: 153.8 ± 10.40 fibers, mass: 92.24 ± 2.43 g, cordycepin content: 4015 mg/kg, adenosine content: 244 mg/kg) gave the best yield and quality. The solid culture medium supplemented with spirulina produced *C. militaris* fruiting bodies with better yield and quality than chlorella and the control. This technique can be applied to deliver and improve the yield and quality of *C. militaris* fruiting bodies.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Nấm Đông trùng hạ thảo là các loài nấm kí sinh trên sâu non, nhộng hoặc sâu trưởng thành của một số loài côn trùng. Có hơn 400 phân loài *Cordyceps* đã tìm thấy và mô tả, tuy nhiên chỉ có khoảng 36 loài được nuôi trồng trong điều kiện nhân tạo để sản xuất quả thể [1, 2]. Trong đó, có 2 loài được chú ý đến được lý và dùng làm thuốc chữa bệnh là *Cordyceps sinensis* và *Cordyceps militaris* [3]. Các hợp chất có hoạt tính sinh học trong *C. militaris* đã được nghiên cứu, đánh giá khả năng trong trị liệu và đã được ứng dụng rộng rãi trong điều trị bệnh và nâng cao sức khỏe con người rất tốt [4]. Các nhà khoa học đã kết luận rằng *C. militaris* có khả năng cung cấp năng lượng cho cơ bắp, giúp cải thiện trong quá trình tập thể dục, giảm mệt mỏi, tăng cường sức mạnh cho cơ thể, kéo dài tuổi thọ [5-7]. Bên cạnh đó, *C. militaris* có thể duy trì mức đường bình thường trong máu, giúp điều trị bệnh tiểu đường, tăng cường hoạt động hệ thống miễn dịch, tiêu hóa, tuần hoàn, thần kinh, hô hấp và hệ sinh dục của cơ thể [6-8].

Nhiều nghiên cứu đã nuôi cấy *C. militaris* trên môi trường rắn giúp tăng hàm lượng cordycepin, chi phí thấp và quy trình thân thiện với môi trường [9]. Môi trường nuôi cấy rắn bao gồm các loại gạo, lúa mì, lúa mạch đen, ngũ cốc hoặc ấu trùng động vật chân đốt. Hàm lượng cordycepin trong quả thể tăng phụ thuộc vào thành phần dinh dưỡng của cơ chất rắn [10]. Môi trường nuôi cấy có vai trò quan trọng

đối với năng suất của các loại sản phẩm lên men, các nguồn carbon và nitơ (protein) thường đóng một vai trò quan trọng vì các chất dinh dưỡng này được hấp thụ trực tiếp với sự tăng sinh tế bào và sinh tổng hợp chất chuyển hóa [11, 12]. Vi tảo là một trong những sinh vật hứa hẹn có thể được sử dụng như một nguồn protein bổ sung trong quá trình nuôi cấy *C. militaris* [13]. Tảo lục và tảo xoắn chứa hàm lượng protein cao (hơn 50% trọng lượng khô), lượng axit amin thiết yếu, bao gồm lysine, leucine, isoleucine, tryptophan và valine [14, 15]. Bên cạnh đó, tảo lục và tảo xoắn có chứa lượng vitamin phong phú và đáng kể như: vitamin A (beta-carotene), vitamin C, vitamin E, thiamine (B1), riboflavin (B2), niacin (B3), axit pantothenic (B5), pyridoxine (B6), axit folic (B9) và cobalamin (B12) [16]. Kaewkam và cộng sự (2021) đã nuôi cấy *C. militaris* trong môi trường rắn tạo quả thể có chứa nhiều nguồn protein khác nhau (*Spirulina maxima*, *Chorella vulgaris*, đậu tương, đậu tím, cám gạo và trứng gà tươi). Trong đó, quả thể trồng bổ sung tảo lục và tảo xoắn có năng suất cao và hàm lượng cordycepin cao [13]. Châu và cộng sự (2022) đã nghiên cứu xác định môi trường nhân giống và nuôi tạo quả thể nấm đông trùng hạ thảo (*Cordyceps militaris*) theo hướng hữu cơ cũng cho thấy công thức môi trường bổ sung thêm 5 g/L bột tảo spirulina cho kết quả tốt nhất, tổng số quả thể thu được đạt 168 quả thể/hộp, khối lượng tươi/hộp đạt 32,58 g [17]. Lamtham và cộng sự (2022) đã nghiên cứu ảnh hưởng của

lượng sinh khối tạo xoắn đến năng suất và sản xuất cordycepin và adenosine trong nuôi cấy *C. militaris*. Các mẫu *C. militaris* được nuôi cấy trên môi trường tạo quả thể sử dụng tảo xoắn khô và sinh khối tảo xoắn loại bỏ sắc tố. Kết quả cho thấy *C. militaris* được nuôi cấy khi bổ sung 1% sinh khối tảo xoắn loại bỏ sắc tố khô tạo ra lượng cordycepin cao nhất [18].

Thành phần của môi trường rắn nuôi cấy tạo quả thể *C. militaris* có tác động quan trọng đến năng suất tạo quả thể. Tuy nhiên, chưa có nghiên cứu nào so sánh chi tiết đặc điểm của quả thể *C. militaris* và hàm lượng adenosine, cordycepin trên môi trường bổ sung tảo lục và tảo xoắn. Nghiên cứu này tập trung vào việc tối ưu hóa các thành phần trong môi trường nuôi cấy rắn bổ sung tảo lục và tảo xoắn để tăng năng suất và hàm lượng adenosine, cordycepin trong nuôi trồng quả thể nấm đông trùng hạ thảo.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Tất cả các hóa chất sử dụng trong nghiên cứu này đều được mua từ hãng Sigma-Aldrich, Merck, BASF, Invitrogen, New England Biolabs (Đức). Chủng *C. militaris* Link (Fries) (NBRC 103772) được cung cấp bởi Viện Công nghệ sinh học Lâm nghiệp. Bột tảo lục được mua từ hãng Diet Food. Bột tảo xoắn được mua từ công ty TNHH HaPu Natural. Bột nhộng được mua tại

Di Linh, Lâm Đồng.

Môi trường rắn nhân giống cấp 1: 20 g/l glucose + 5 g/l peptone + 5 g/l cao nấm men + 0,5 g/l MgSO₄.7H₂O + 0,25 g/l KH₂PO₄ + 20 g/l agar.

Môi trường lỏng nhân giống cấp 2: 20 g/l glucose + 5 g/l peptone + 5 g/l cao nấm men + 0,5 g/l MgSO₄.7H₂O + 0,25 g/l KH₂PO₄.

Dung dịch khoáng: 200 ml/l nước dừa + 200 g/l khoai tây + 1 g/l vitamin B₁ + 0,5 g/l MgSO₄.7H₂O + 0,25 g/l K₂HPO₄.

Cơ chất rắn nuôi cấy quả thể: Chuẩn bị cơ chất cấy giống bao gồm 50g gạo lứt, 5g bột nhộng tằm, 50 ml dung dịch khoáng, tảo lục và tảo xoắn bổ sung theo Bảng 1. Môi trường được hấp vô trùng ở 121°C, 1 atm trong vòng 15 phút, sau đó để cơ chất rắn nguội ở nhiệt độ phòng.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Nghiên cứu đặc điểm sinh trưởng của quả thể *C. militaris* trên cơ chất rắn bổ sung tảo lục và tảo xoắn

Theo dõi các đặc điểm quả thể *C. militaris* bao gồm: chiều cao (mm), đường kính (mm), số lượng quả thể (sợi) và khối lượng (g). Thí nghiệm được bố trí theo Bảng 1.

So sánh các đặc tính của quả thể *C. militaris* trên cơ chất rắn tối ưu: Nghiệm thức tối ưu của cơ chất rắn bổ sung tảo lục và tảo xoắn sẽ so sánh với nghiệm thức đối chứng (Bảng 1).

Bảng 1. Khảo sát nồng độ tảo bổ sung vào cơ chất rắn nuôi trồng *C. militaris*

Nghiệm thức	Nồng độ tảo bổ sung vào cơ chất rắn
Đối chứng	0
Tảo lục	5%(2,5g/50g cơ chất)
	10% (5g/50g cơ chất)
	15% (7,5g/50g cơ chất)
	20% (10g/50g cơ chất)
Tảo xoắn	5% (2,5g/50g cơ chất)
	10% (5g/50g cơ chất)
	15% (7,5g/50g cơ chất)
	20% (10g/50g cơ chất)

2.2.2. Phương pháp nuôi cấy quả thể *C. militaris*

Chuẩn bị môi trường nhân giống cấp 1: Đổ dung dịch môi trường vừa mới hấp trên đĩa peptri vô trùng, để nguội trong nhiệt độ phòng,

đặt trong tủ ẩm ở nhiệt độ 37°C. Cắt một mẫu nhỏ từ ống chủng gốc, cấy trên đĩa peptri có chứa môi trường rắn nhân giống và đem nuôi trong tủ ẩm ở nhiệt độ 37°C trong 12 ngày.

Chuẩn bị môi trường nhân giống cấp 2: Thực hiện thao tác lấy giống trên môi trường rắn nhân giống cấp 1 (kích thước thạch 0,2 x 0,2 mm) sau đó cấy vào bình môi trường lỏng nhân giống (500 ml). Điều kiện nuôi cấy: 22°C, 150 rpm, tối hoàn toàn. Tăng sinh trong thời gian 4 - 5 ngày.

Nuôi cấy tạo quả thể *C. militaris*: Chuẩn bị giá thể cấy giống bao gồm môi trường dịch khoáng, giá thể gạo lứt, bột nhộng tằm, tảo (theo bảng 1). Cho 50 ml dịch khoáng trong hũ có chứa giá thể (gạo lứt, bột nhộng) đã được cân đong sẵn. Hấp ở 121°C, 1 atm trong vòng 15 phút. Sau khi hấp xong để giá thể nguội trong nhiệt độ phòng. Hút 10 ± 2 ml dịch thể trong nhân giống cấp 2 cấy trên giá thể. Giá thể sau khi cấy giống cấp 2 sẽ được ủ tối trong vòng 10 - 11 ngày ở nhiệt độ 22°C. Điều kiện tối hoàn toàn cho đến khi tơ nấm phủ kín bề mặt môi trường. Sau khi sợi nấm ăn kín bề mặt môi trường, các bình được chuyển vào phòng nuôi. Điều kiện phòng nuôi ở nhiệt độ 23°C, cường độ chiếu 500 lux, 12 giờ chiếu sáng (ban ngày) và 17°C trong 12 giờ điều kiện tối hoàn toàn (ban đêm), ẩm độ 90- 95% trong 8 ngày. Khi quả thể nhú mầm tiến hành nuôi quả thể ở nhiệt độ 25°C, cường độ chiếu sáng 500 lux trong 14 giờ/24 giờ trong 60 ngày. Sau đó tiến hành thu hoạch quả thể.

2.2.3. Phân tích hàm lượng hoạt chất có trong quả thể nấm *C. militaris*

Quả thể *C. militaris* sau khi thu hoạch được sấy thăng hoa ở 50°C trong 72 giờ. Quả thể sau khi sấy được ngâm trong cồn 70 độ, ủ ở 80°C trong 120 phút. Sau đó được ly tâm, 5500 rpm và loại bỏ cặn. Dịch thu được cô cách thủy ở

85°C và sử dụng để đánh giá hàm lượng cordycepin và adenosin. Hệ thống sắc ký lỏng hiệu năng cao Shimadzu – LC – 2030 3D Plus được sử dụng để xác định và phân tích hàm lượng cordycepin. Cột sử dụng là InertSustain ODS - C18 (250 mm x 4,6 mm x 5 mm). Thông số hoạt động được điều chỉnh như sau: Pha động: Methanol (15%) – Water/Acid Acetic (99,9:0,1) (85%); Thời gian phân tích: 10 phút; Nhiệt độ cột: 25°C; Tốc độ dòng: 0.6 ml/phút; Bước sóng tử ngoại: 260 nm; Dung tích bơm: 20 mL.

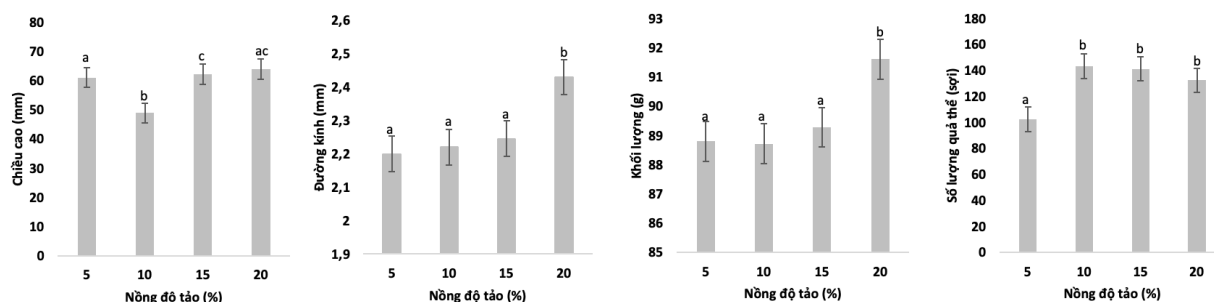
2.2.4. Phương pháp thu thập và xử lý số liệu

Thí nghiệm được lặp lại 3 lần (n = 50). Số liệu được xử lý thống kê bằng phần mềm SPSS (version 16.0).

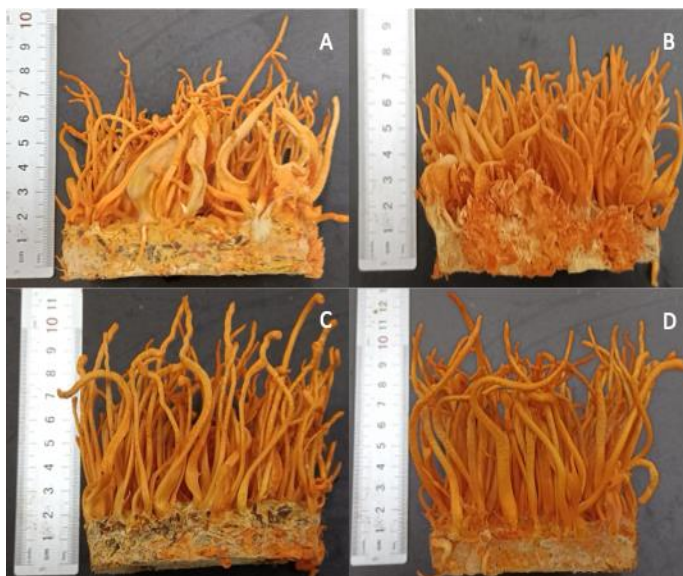
3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Đặc điểm sinh trưởng của quả thể *C. militaris* trên cơ chất rắn bổ sung tảo lục

Đặc điểm sinh trưởng của quả thể *C. militaris* trên cơ chất bổ sung tảo lục được thể hiện ở Hình 1 và Hình 2. Nồng độ tảo lục 20% cho thấy quả thể có chiều cao tốt nhất trong các nghiệm thức (61,1 ± 1,23 mm), tuy nhiên đường kính nhỏ (2,20 ± 0,20 mm) và số lượng quả thể ít (102,6 ± 13,29 sợi). Do đó khối lượng quả thể thu được nhỏ (88,8 ± 3,81 g) (Hình 1A). Tại nồng độ tảo 10 và 15% không có sự khác biệt về các đặc điểm của quả thể bao gồm chiều cao, đường kính, số lượng quả thể và khối lượng. Ở nồng độ 20%, quả thể phát triển tốt về chiều cao (63,98 ± 1,78 mm), đường kính (2,43 ± 0,20 mm) và số lượng quả thể (132,5 ± 17,00 sợi), do đó khối lượng thu được cao nhất (91,61 ± 1,90 g).



Hình 1. Đặc điểm sinh trưởng của quả thể *C.militaris* trên cơ chất rắn bổ sung tảo lục (Những số trong cùng biểu đồ có chữ cái giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê, P > 0,05)

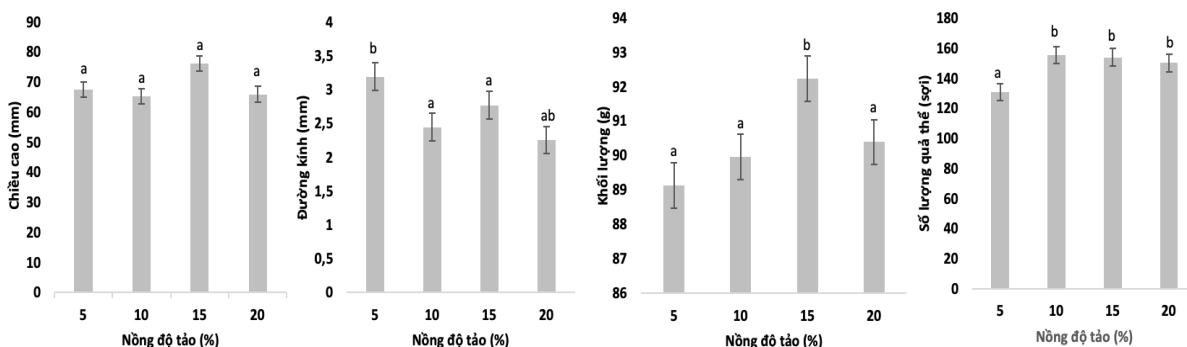


Hình 2. Quả thể *C.militaris* ở các tỷ lệ phần trăm tảo lục: (A) nồng độ tảo 5%; (B) nồng độ tảo 10%; (C) nồng độ tảo 15%; (D) nồng độ tảo (20%)

Từ kết quả trên cho thấy các đặc điểm của quả thể (chiều cao, đường kính, khối lượng) tăng khi tăng nồng độ tảo lục. Tuy nhiên số lượng quả thể giữ ổn định khi tăng nồng độ tảo từ 10% (Các con số không có khác biệt thống kê) và cao nhất ở nồng độ tảo lục 20%. Nghiên cứu này cho thấy, khi bổ sung các nồng độ khác nhau của tảo lục sẽ ảnh hưởng đến năng suất nuôi trồng nấm. Nồng độ tảo lục bổ sung vào cơ chất rắn tỉ lệ thuận với năng suất nuôi trồng *C. militaris*. Do đó, trong nghiên cứu này cơ chất rắn nuôi trồng quả thể bổ sung 20% tảo lục tạo ra năng suất trồng *C. militaris* tốt nhất.

3.2. Đặc điểm sinh trưởng của quả thể *C. militaris* trên cơ chất rắn bổ sung tảo xoắn

Đặc điểm sinh trưởng của quả thể *C. militaris* trên cơ chất bổ sung tảo xoắn được thể hiện ở Hình 3 và Hình 4. Tại nồng độ tảo 5% và 10%, quả thể được hình thành không có sự khác biệt đáng kể (chiều dài, đường kính, số lượng quả thể và khối lượng). Tại nồng độ 15% có đường kính ($2,77 \pm 0,33$ mm), chiều cao ($76,23 \pm 1,17$ mm) và số lượng quả thể ($153,8 \pm 10,40$ sợi) cao hơn ở nồng độ tảo 5% và 10% ($92,24 \pm 2,43$ g). Khi tăng nồng độ tảo lên 20%, quả thể tạo ra đường kính nhỏ hơn ($2,25 \pm 0,38$ mm), chiều cao giảm ($65,95 \pm 1,38$ mm), số lượng quả thể ít ($150 \pm 11,39$ sợi) dẫn đến khối lượng giảm ($90,38 \pm 1,73$ g).



Hình 3. Đặc điểm sinh trưởng của quả thể *C.militaris* trên cơ chất rắn bổ sung tảo xoắn (Những số trong cùng biểu đồ có chữ cái giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê (ns), $P > 0,05$)



Hình 4. Quả thể *C. militaris* ở các tỷ lệ phần trăm tảo xoắn: (A) nồng độ tảo 5%; (B) nồng độ tảo 10%; (C) nồng độ tảo 15%; (D) nồng độ tảo (20%)

Sự giảm về chất lượng quả thể *C. militaris* khi tăng nồng độ tảo xoắn có thể do lượng dinh dưỡng bổ sung vào môi trường nuôi cấy quá nhiều. Theo Li và cộng sự (2006) kích thước quả thể nấm phụ thuộc vào lượng dinh dưỡng có trong môi trường nuôi cấy, nếu môi trường nhiều dinh dưỡng hơn nhu cầu của quả thể nấm thì quả thể sẽ chậm phát triển [3].

3.3. So sánh các đặc tính của quả thể *C. militaris* trên cơ chất rắn tối ưu

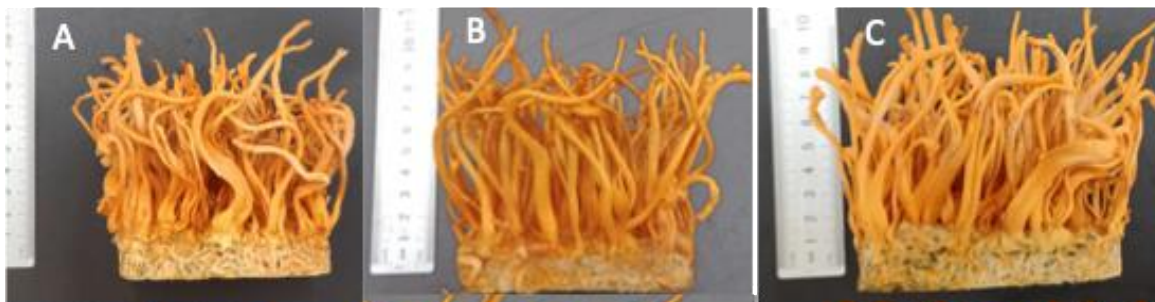
Bảng 2 thể hiện đặc tính quả thể *C. militaris* trên cơ chất rắn có bổ sung tảo lục, tảo xoắn và đối chứng (không bổ sung tảo). Hình 5 trình bày quả thể *C. militaris* được nuôi trên cơ chất rắn tối ưu. Từ Bảng 2 và Hình 5 có sự tăng năng suất tạo quả thể *C. militaris* khi bổ sung tảo vào cơ chất nuôi trồng *C. militaris*. Khi nuôi trồng *C.*

militaris trên cơ chất bổ sung tảo và không bổ sung tảo chiều cao và đường kính không có sự khác biệt. Tuy nhiên, số lượng quả thể và khối lượng quả thể *C. militaris* tăng khi bổ sung tảo lục và tảo xoắn. Hàm lượng cordycepin và adenosine tăng đáng kể khi bổ sung tảo lục và tảo xoắn. Muys và cộng sự (2019) đã đánh giá giá trị dinh dưỡng và độ an toàn sinh khối tảo lục và tảo xoắn. Nghiên cứu cho thấy, tảo lục có hàm lượng protein tương tự ($47 \pm 8\%$) so với tảo xoắn ($48 \pm 4\%$). Tuy nhiên, chất lượng protein (chỉ số axit amin thiết yếu) và khả năng hấp thụ của tảo lục thấp hơn so với tảo xoắn [19]. Do đó, hàm lượng cordycepin và adenosine tạo ra khi cơ chất bổ sung tảo lục thấp hơn so với tảo xoắn.

Bảng 2. Đặc tính của quả thể *C. militaris* trên cơ chất rắn có bổ sung tảo lục và tảo xoắn

Đặc tính	Đối chứng	Tảo lục	Tảo xoắn
Chiều cao (mm)	67,45 ^a ± 7,33	63,98 ^a ± 1,33	65,95 ^a ± 1,18
Đường kính (mm)	2,45 ^a ± 1,10	2,43 ^a ± 0,33	2,25 ^a ± 0,33
Khối lượng (g)	87,36 ^a ± 1,55	91,612 ^b ± 2,12	92,24 ^b ± 2,43
Số lượng quả thể	137,30 ^a ± 16,45	132,5 ^a ± 15,51	153,8 ^b ± 10,40
Hàm lượng cordycepin (mg/kg)	3033	3975	4015
Hàm lượng Adenosine (mg/kg)	107	201	244

Ghi chú: Những số trong cùng một hàng có chữ cái giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê $P > 0,01$, ± độ lệch chuẩn.



Hình 5. Quả thể *C. militaris* trên cơ chất rắn tối ưu: (A) đối chứng; (B) tảo lục (15 %); (C) tảo xoắn (20%)

Tảo xoắn và tảo lục là nguồn dinh dưỡng tốt và đặc biệt giàu protein. Trong số tất cả các nguồn protein, tảo xoắn là nguồn protein phong phú nhất có chứa khoảng 60-70% trọng lượng khô và tảo lục là 51%–58% trọng lượng khô [20]. Tảo xoắn và tảo lục không có thành tế bào xenlulose, cho phép sinh vật hấp thụ chất dinh dưỡng dễ dàng hơn [21]. Bên cạnh đó, tảo xoắn và tảo lục cũng chứa nhiều khoáng chất thiết yếu và carotenoid (một chất chống oxy hóa mạnh) cũng như đặc biệt giàu vitamin B (B1, B2, B3, B6, B12) và đặc biệt là nồng độ vitamin B1 cao (0,5 g/100 g) là chất quan trọng cho sự phát triển quả thể *C. militaris* [22]. Nuôi trồng *C. militaris* trong môi trường rắn được bổ sung vitamin B1 tạo ra năng suất sợi nấm tối đa so với các vitamin được thử nghiệm khác, thậm chí còn cao hơn môi trường đối chứng có chứa tất cả các vitamin và glucose [23].

Trong nghiên cứu này, nuôi cấy quả thể *C. militaris* trên cơ chất rắn bổ sung tảo lục (nồng độ 20%) và tảo xoắn (nồng độ 15%) tạo quả thể có năng suất và chất lượng tốt so với cơ chất không bổ sung tảo. Tương tự, Kaewkam và cộng sự (2021) đã nghiên cứu sơ bộ *C. militaris* đã được nuôi cấy trong môi trường rắn có chứa nhiều nguồn protein khác nhau (*Spirulina maxima*, *Chorella vulgaris*, đậu tương, đậu tằm, cám gạo và trứng gà tươi). Kết quả cho thấy khối lượng quả thể *C. militaris* thu được tốt nhất khi bổ sung *Spirulina maxima*, *Chorella vulgaris* và hàm lượng cordycepin cao nhất khi bổ sung *Spirulina maxima* [13]. Mai và cộng sự (2022) đã nghiên cứu bổ sung 5 g/l bột tảo xoắn

vào cơ chất và cho thấy kết quả tốt nhất so với khi bổ sung bột đậu nành và trứng gà [17].

4. KẾT LUẬN

Kết quả khảo sát tỷ lệ bổ sung tảo lục và tảo xoắn ở các nồng độ khác nhau cho thấy việc thay đổi thành phần dinh dưỡng trong môi trường nuôi cấy rắn đã ảnh hưởng đến quá trình sinh trưởng và phát triển của quả thể *C. militaris*. Môi trường nuôi cấy *C. militaris* bổ sung vi tảo có thành phần môi trường bao gồm 50 g gạo lứt + 5 g bột nhộng + 50 ml dịch khoáng (200 ml/l nước dừa + 200 g/l khoai tây + 1g/l vitamin B₁ + 0,5 g/l MgSO₄.7H₂O + 0,25 g/l K₂HPO₄) + 10 g tảo lục hoặc 7,5 g tảo xoắn phù hợp cho nuôi cấy *C. militaris*. Nuôi cấy quả thể *C. militaris* cho sản lượng và chất lượng tốt nhất khi bổ sung 20% tảo lục (chiều cao quả thể: 63,98 ± 1,78 mm, đường kính quả thể: 2,43 ± 0,20 mm, số lượng quả thể: 132,5 ± 17,00 quả thể, khối lượng quả thể 91,61 ± 1,90 g/hộp, hàm lượng Cordycepin: 3975 mg/kg, hàm lượng adenosine: 201 mg/kg) và 15% tảo xoắn (chiều cao quả thể: 76,23 ± 1,17 mm, đường kính quả thể: 2,77 ± 0,33 mm, số lượng quả thể: 153,8 ± 10,40 quả thể, khối lượng quả thể: 92,24 ± 2,43 g/hộp, hàm lượng Cordycepin: 4015 mg/kg, hàm lượng adenosine: 244 mg/kg). Môi trường nuôi cấy bổ sung tảo xoắn tạo ra quả thể có hàm lượng cordycepin và adenosine cao hơn so với tảo lục.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

[1]. Wang GD. (1995). Ecology, cultivation, and application of *Cordyceps* and *Cordyceps sinensis*. Scientific and Technical Document, Beijing

- [2]. Sung J. M. (1996). The insect-born fungus of Korea in color. Kyo-Hak Pub. Co., Seoul. Korea.
- [3]. Li C. R., Nam S. H., Geng D. G., Fan M. Z. & Li Z. Z. (2006). Artificial culture of seventeen *Cordyceps* spp. Mycosystema. 25(4): 639-645.
- [4]. Shonkor K. D., Shinya F., Mina M. & Akihiko S. (2010). Efficient Production of Anticancer Agent Cordycepin by Repeated Batch Culture of *Cordyceps militaris* Mutant. Lecture Notes in Engineering and Computer Science. 20-22.
- [5]. Singpoonga N., Sang-on B. & Chaiprasart P. (2020). Effects of culture periods on fruiting body formation and bioactive compounds production of *Cordyceps militaris*. Acta Horticulturae.1287: 345-352. DOI: 10.17660/ActaHortic.2020.1287.44
- [6]. Rózsa S., Dănuț M.N., Gocan T.M., Sima R. & Andreica I. (2017). Agaricus blazei Murrill mushroom compost study anaerobic and aerobic phases. Current Trends in Natural Sciences. 6(12): 75-82.
- [7]. Rózsa S., Dănuț M.N., Poșta G., Gocan Tincuța-Marta, Andreica I., Bogdan I., Rózsa M. & Lazăr V. (2019). Influence of the culture substrate on the *Agaricus blazei Murrill* mushrooms vitamins content. Plants. 8: 316. DOI: 10.3390/plants8090316
- [8]. Melinda R., Manluti D. N. & Apahidean I. A. (2022). Influence of culture substrate pH on *Cordyceps militaris* mushroom adenosine content, grown on different solid substrates. Journal of Horticulture, Forestry and Biotechnology. 26(3): 95-100.
- [9]. Thomas L., Larroche C. & Pandey A. 2013. Current development in solid-state fermentation. Biochemical. Engineering Journal. 81:146-161. DOI: 10.1016/j.bej.2013.10.013
- [10]. Choi G.S., Shin Y.S., Kim J.E., Ye Y.M. & Park H.S. (2010). Five cases of food allergy to vegetable larva (*Cordyceps sinensis*) showing cross- reactivity with silkworm pupae. Allergy. 65(9): 1196-1197. DOI: 10.1111/j.1398-9995.2009.02300.x
- [11]. Kim S.W., Xu C.P., Hwang H.J., Choi J.W., Kim C.W. & Yun J.W. (2003). Production and characterization of exopolysaccharides from an entomopathogenic fungus *Cordyceps militaris* NG3. Biotechnol Prog. 19: 428-35. DOI: 10.1021/bp025644k
- [12]. Park J.P., Kim S.W., Hwang H.J. & Yun J.W. (2001). Optimization of submerged culture conditions for the mycelial growth and exo-biopolymer production by *Cordyceps militaris*. Lett App Microb. 33:76-81. DOI: 10.1046/j.1472-765x.2001.00950.x
- [13]. Kaewkam A., Sornchai P., Chanprame S. & lamtham S. (2021). Utilization of *Spirulina maxima* to enhance yield and cordycepin content in *Cordyceps militaris* artificial cultivation. ISSAAA Philippines Journal. 27(1): 1-14.
- [14]. Andrade L. M., Andrade C. J., Dias M., Nascimento C., & Mendes M. A. (2018). Chlorella and spirulina microalgae as sources of functional foods. Nutraceuticals, and Food Supplements. 6(1): 45-58. DOI: 10.15406/mojfpt.2018.06.00144
- [15]. Mišurcová L., Buňka F., Vávra A.J., Machů L. & Samek D. (2014). Amino acid composition of algal products and its contribution to RDI. Food Chem. 151: 120-125. DOI: 10.1016/j.foodchem.2013.11.040
- [16]. Jeske M., Trentini A.M. & Bontempo M. (2011). Clorela, o alimento completo, Compêndio de Fitoterapia. Manual da Medicina Integral. 1- 2.
- [17]. Mai Hải Châu & Đặng Thị Ngọc (2022). Xác định môi trường nhân giống và nuôi tạo quả thể nấm Đông trùng hạ thảo (*Cordyceps militaris*) theo hướng hữu cơ. Tạp chí Khoa học và Công nghệ Lâm nghiệp. 2: 3-13. DOI: <https://doi.org/10.55250/jo.vnuf.2022.2.003-013>
- [18]. lamtham S., Kaewkam A., Chanprame S. & Panutai W. (2022). Effect of Spirulina biomass residue on yield and cordycepin and adenosine production of *Cordyceps militaris* culture. Bioresource Technology Reports. 17: 100893. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biteb.2021.100893>
- [19]. Muys M., Sui Y., Schwaiger B., Lesueur C., Vandenneuvel D., Vermeir P. & Vlaeminck S. E. (2019). High variability in nutritional value and safety of commercially available Chlorella and Spirulina biomass indicates the need for smart production strategies. Bioresource Technology. 275: 247-257. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.12.059>
- [20]. Ravindran B., Gupta S. K., Cho W., Kim J., Lee S., Jeong K. & Choi H. (2016). Microalgae potential and multiple roles-current progress and future prospects - an overview. Sustainability. 8(12):1215. DOI: <https://doi.org/10.3390/su8121215>
- [21]. Hidenori Shimamatsu (2004). Mass production of *Spirulina*, an edible microalga. Hydrobiologia. 512: 39-44.
- [22]. Stephen Mackay (2015). Assisted flocculation of Chlorella Sorokiniana by co-culture with filamentous fungi. Philosophiae Doctor - PhD (Biodiversity and Conservation Biology). University of the Western Cape.
- [23]. Dang H.N., Wang C.L. & Lay H.L. (2018). Effect of nutrition, vitamin, grains, and temperature on the mycelium growth and antioxidant capacity of *Cordyceps militaris* (strains AG-1 and PSJ-1). Journal of Radiation Research and Applied Sciences. 11(2): 130-138. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jrras.2017.11.003>