

NGHIÊN CỨU ẢNH HƯỞNG CỦA THÀNH PHẦN TẢO XOẮN *Spirulina* ĐẾN SINH TRƯỞNG, PHÁT TRIỂN CỦA CHŨNG NẤM *Cordyceps militaris* Cm3

Phạm Thị Anh¹, Dương Đức Tiến², Nguyễn Thị Thu Hằng³

¹Viện nghiên cứu và ứng dụng công nghệ cao Hòa Lạc

²Trung tâm Công nghệ sinh học phục vụ sản xuất và đời sống

³Trường Đại học Lâm nghiệp

<https://doi.org/10.55250/jo.vnuf.2022.7.003-010>

TÓM TẮT

Spirulina là tảo xoắn màu xanh, có giá trị dinh dưỡng cao (hàm lượng protein cao, nhiều loại amino acid thiết yếu, giàu vitamin và chất khoáng). Nghiên cứu sử dụng tảo *Spirulina* như nguồn protein thay thế thành phần nhộng tằm trong môi trường nuôi cấy nấm *Cordyceps militaris* Cm3. Công thức môi trường bổ sung 7 g/l tảo xoắn khô, dịch khoáng, 17 g/l agar là thích hợp cho sự phát triển hệ sợi nấm *Cordyceps militaris* Cm3: đường kính hệ sợi ăn lan sau 5 ngày cấy giống là $1,59 \pm 0,17$ cm, sau 10 ngày $3,20 \pm 0,28$ cm, sau 20 ngày $6,17 \pm 0,40$ cm. Khảo sát khả năng tạo quả thể của nấm *Cordyceps militaris* Cm3 nuôi trồng trên giá thể bổ sung 15 g/l tảo xoắn *Spirulina* khô cho kết quả: sau 60 ngày nuôi trồng, nấm *Cordyceps militaris* Cm3 có tỷ lệ nảy mầm trung bình đạt $94,33 \pm 2,52\%$, số lượng quả thể trung bình/hộp nuôi $67,23 \pm 7,71$ quả thể, khối lượng quả thể trung bình $33,53 \pm 1,16$ g/hộp, hàm lượng cordycepin và adenosine trong quả thể tương ứng là 297 mg/100 g-DW và 268 mg/100 g-DW. Kết quả nghiên cứu chứng minh nguồn protein từ tảo *Spirulina* là hoàn toàn thích hợp để sử dụng thay thế nguồn protein từ nhộng tằm trong môi trường nhân giống và nuôi trồng nấm *Cordyceps militaris*.

Từ khóa: *Cordyceps militaris*, hàm lượng protein, nhân giống, nhộng tằm, quả thể, *Spirulina*.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cordyceps militaris là một loài nấm ký sinh trên cơ thể côn trùng, được sử dụng như nguồn dược liệu để tăng cường sức khỏe và hỗ trợ điều trị bệnh ở người. Nấm *Cordyceps militaris* chứa các chất có hoạt tính sinh học như adenosine và cordycepin, tác dụng ức chế sự phát triển của tế bào ung thư, kháng viêm, tăng cường khả năng miễn dịch, giúp ổn định đường huyết, chống oxy hóa... (Liu et al., 2015). Theo Patel và Ingahalli (2013), nấm *Cordyceps militaris* có khả năng ức chế sinh trưởng của nhiều loại vi sinh vật gây bệnh như virus, vi khuẩn, nấm, ký sinh trùng và động vật nguyên sinh.

Do có giá trị y-dược cao nên nấm *C. militaris* được nhiều nhà khoa học trong và ngoài nước quan tâm nghiên cứu, nuôi cấy và phát triển cho mục tiêu thương mại (Iamtham et al., 2022; Mai Hải Châu và Đặng Thị Ngọc, 2022). Các công bố khoa học về nuôi trồng nấm *C. militaris* cho thấy môi trường nhân giống và tạo quả thể thích hợp là môi trường bổ sung nguồn cơ chất chứa hàm lượng cao protein, thông thường là nhộng tằm (Gregori, 2014). Tuy nhiên, sản phẩm thương mại nấm

C. militaris nuôi trồng trên cơ chất nhộng tằm đã ghi nhận có thể gây ra phản ứng dị ứng ở người tiêu dùng sau khi tiêu thụ sản phẩm do sự phản ứng chéo của cơ thể với thành phần nhộng tằm (Choi et al., 2010, Iamtham et al., 2022). Ngoài ra, khi sử dụng nguồn nguyên liệu nhộng tằm sẽ phụ thuộc nhiều vào mùa vụ nuôi trồng dâu tằm và chất lượng của nhộng tằm. Hiện nay, trên thế giới đã có một số công trình nghiên cứu nhân sinh khối *C. militaris* sử dụng môi trường chứa nguồn protein thay thế nhộng tằm có nguồn gốc từ động vật như lòng đỏ trứng, sữa bột tách béo (Li et al., 2020), hoặc nguồn gốc thực vật như gạo, ngũ cốc, đậu xanh, đậu nành, hạt hướng dương (Lim et al., 2012).

Spirulina (tên khoa học *Spirulina platensis*) là vi tảo, dạng sợi xoắn màu xanh lục, có giá trị dinh dưỡng cao: hàm lượng protein 60 - 70%, có đủ các loại amino acid thiết yếu, giàu vitamin (vitamin B1, vitamin B2, vitamin B3, vitamin B12, vitamin C, vitamin E), giàu khoáng chất. Bên cạnh đó, *Spirulina* còn chứa nhiều hợp chất có hoạt tính sinh học quan trọng hiếm khi được tìm thấy ở các sinh vật khác, như gamma linolenic acid (γ -linolenic,

GLA), C-phycoyanin, carotenoid... (Gogna et al., 2022). Do có hàm lượng protein và dưỡng chất cao, nên *Spirulina* không chỉ được sử dụng như một loại thực phẩm bổ sung dinh dưỡng cho người và động vật, mà còn được sử dụng làm môi trường giàu dinh dưỡng cho nuôi cấy vi sinh vật và nhiều loại nấm được liệt kê. Theo Iamtham và cộng sự (2022), tảo *Spirulina* có hàm lượng cao protein nên có thể dùng làm cơ chất cho nhân giống và nuôi trồng nấm *C. militaris*. Nghiên cứu được thực hiện với mục tiêu ứng dụng tảo xoắn *Spirulina* làm nguồn cung cấp protein, thay thế hoàn toàn thành phần nhộng tằm trong quá trình nuôi cấy nấm *C. militaris*.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

- Chủng nấm *Cordyceps militaris* Cm3 do

Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn cấp.

- Tảo xoắn *Spirulina* dạng khô được cung cấp bởi Trung tâm Công nghệ sinh học IMC, Viện nghiên cứu và ứng dụng công nghệ cao Hòa Lạc. Tảo xoắn được nuôi trồng trong điều kiện dinh dưỡng tối ưu và khép kín, khi đạt các yếu tố về sinh trưởng (hình thái, số vòng xoắn, mật độ) thì tiến hành thu hoạch. Sinh khối tảo tươi được lọc vớt qua hệ thống màng lọc của giàn thu và tiến hành rửa, vắt li tâm. Tảo tươi sau thu hoạch được tạo sợi, sấy lạnh, sau đó sấy nhiệt (55°C) để làm khô. Tảo khô đạt độ ẩm 5% được đóng gói, hút chân không, bảo quản trong kho lạnh, tối để sử dụng làm nguyên liệu cho nuôi cấy nấm *C. militaris*. Thành phần dưỡng chất trong *Spirulina* khô trình bày ở Bảng 1.

Bảng 1. Thành phần dinh dưỡng trong tảo xoắn *Spirulina* sử dụng làm nguyên liệu nuôi cấy nấm *Cordyceps militaris* Cm3

Thành phần	Hàm lượng (trong 100 g <i>Spirulina</i> khô)
<i>Protein tổng số</i>	68,5 g
<i>Amino acid tổng số</i>	56,3 g
<i>Amino acid thiết yếu</i>	
Histidine	871 mg
Isoleucine	2.940 mg
Leucine	4.660 mg
Lysine	2.210 mg
Methionine	794 mg
Phenylalanine	2.880 mg
Threonine	3.010 mg
Tryptophan	680 mg
Valine	3.370 mg
<i>Amino acid không thiết yếu</i>	
Aspartic acid	5.870 mg
Glutamic acid	8.710 mg
Alanine	4.230 mg
Arginine	1.880 mg
Cystine	559 mg
Glycine	6.450 mg
Proline	2.260 mg
Serine	3.070 mg
Tyrosine	1.920 mg
<i>Dưỡng chất thực vật</i>	
Chlorophyll	251 mg
Phycocyanin	20.700 mg

- Các nguyên liệu: Khoai tây, nước dừa, nhộng tươi, pepton, cao nấm men, agar sản xuất tại Việt Nam.

- Các chất khoáng và vitamin: MgSO₄;

KH₂PO₄; (NH₄)₃C₆H₅O₇; vitamin B1... nhập khẩu từ Ấn Độ.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Xác định ảnh hưởng của tảo xoắn

Spirulina đến sự phát triển hệ sợi chủng Cordyceps militaris Cm3 trên môi trường nhân giống cấp 1

Nuôi cấy hệ sợi *C. militaris* Cm3 trên môi trường nhân giống cấp 1 trong đĩa petri với 4 công thức khác nhau, có thành phần tương ứng như sau:

CT1 (đối chứng): Nhộng tằm tươi (100 g/l) + dịch khoáng + agar (17 g/l).

CT2: Tảo xoắn (5 g/l) + dịch khoáng + agar (17 g/l).

CT3: Tảo xoắn (7 g/l) + dịch khoáng + agar (17 g/l).

CT4: Tảo xoắn (10 g/l) + dịch khoáng + agar (17 g/l).

Chú thích: Dịch khoáng bao gồm các thành phần: glucose (20 g/l), dịch chiết khoai tây 100 g/l, nước dừa 100 ml/l, KH_2PO_4 0,5 g/l, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 1 g/l, Triamonicitrat 1 g/l, pepton 7 g/l, cao nấm men 5 g/l, vitamin B₁ 0,05 g/l.

Thành phần nhộng tươi hoặc tảo xoắn khô được xay nhỏ, bổ sung vào môi trường nhân giống cấp 1. Môi trường sau khi chuẩn bị xong được khử trùng ở 118°C trong 21 phút. Đĩa petri (đường kính 8 cm) được hấp khử trùng trong cùng điều kiện. Tiến hành phân phối môi trường vào đĩa petri trong box cấy vô trùng, để nguội và cấy giống. Giống nấm được cắt miếng kích thước 0,5 x 0,5 cm, cấy vào môi trường dinh dưỡng agar trong đĩa petri tương ứng với 4 công thức môi trường đã chuẩn bị (mỗi công thức cấy 10 đĩa). Các đĩa giống nấm được nuôi cấy trong điều kiện tối, nhiệt độ 20°C. Kiểm tra, đánh giá sự ăn lan của hệ sợi (màu sắc, đường kính, tốc độ ăn lan) sau 5 ngày, 10 ngày, 20 ngày nuôi. Thí nghiệm được lặp lại 3 lần.

2.2.2. Khảo sát khả năng tạo quả thể nấm Cordyceps militaris Cm3 trên môi trường nuôi trồng bổ sung tảo xoắn Spirulina

Thu hoạch giống nấm *C. militaris* Cm3 nuôi cấy trên 2 công thức môi trường nhân giống cấp 1 (môi trường chứa hàm lượng tảo xoắn thích hợp nhất cho nấm sinh trưởng và môi trường bổ sung cơ chất nhộng tằm - đối chứng) để làm nguyên liệu cho quá trình nhân giống cấp 2.

Môi trường nhân giống cấp 2 (chứa dịch khoáng) được phân phối vào các bình tam giác với thể tích 400 ml/bình, hấp khử trùng ở điều

kiện 118°C trong 21 phút. Giống nấm cấp 1 được cắt thành mảnh, kích thước 1 x 1 cm, cấy vào bình môi trường nhân giống cấp 2 đã chuẩn bị. Nuôi cấy các bình giống nấm cấp 2 trong điều kiện: lắc 120 vòng/phút; ở 20°C, nuôi tối hoàn toàn trong 5 ngày.

Giống nấm cấp 2 sau đó được thu nhận và cấy vào môi trường kích bật quả thể chứa phôi gạo + nhộng tằm hoặc tảo xoắn tương ứng. Môi trường nuôi trồng thử nghiệm trên hai công thức khác nhau, kí hiệu NT1 (Đối chứng, gồm: gạo lứt + 100 g/l dịch xay nhộng tằm + dịch khoáng 65 ml/hộp) và NT2 (gạo lứt + 15 g/l tảo xoắn khô + dịch khoáng 65 ml/hộp). Mỗi công thức cấy 100 phôi. Các bình môi trường tạo quả thể đã cấy giống nấm được ương sợi trong vòng 7 ngày ở điều kiện 20°C và đặt trong tối. Các bình nấm sau khi kết thúc giai đoạn ương sợi được nuôi sáng ở 20°C, độ ẩm 86 - 88%, thời gian chiếu sáng 12 h/ngày.

Theo dõi sự phát triển của phôi nấm, quá trình hình thành quả thể, tỷ lệ mọc quả thể, số lượng quả thể trung bình/hộp nuôi, trọng lượng quả thể trung bình/hộp nuôi. Tiến hành lặp lại thí nghiệm 3 lần.

Chú thích: Dịch khoáng bao gồm các thành phần: glucose (20 g/l), dịch chiết khoai tây 100 g/l, nước dừa 100 ml/l, KH_2PO_4 0,5 g/l, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 1 g/l, Triamonicitrat 1 g/l, pepton 7 g/l, cao nấm men 5 g/l, vitamin B₁ 0,05 g/l.

2.2.3. Xác định hàm lượng cordycepin và adenosine trong quả thể Cordyceps militaris Cm3

Quả thể nấm *C. militaris* Cm3 thu hái trên môi trường nuôi trồng bổ sung nhộng tằm (công thức NT1) và tảo xoắn (công thức NT2) được làm khô bằng phương pháp sấy thăng hoa, sau đó nghiền thành bột. Cân 0,5 g bột quả thể nấm, cho vào bình 100 ml đã chứa sẵn 80 ml nước cất deion vô trùng, chiết siêu âm ở 60°C trong 6 giờ. Hút 1 ml dịch sau khi chiết siêu âm, ly tâm ở 2000 vòng/phút trong 15 phút. Dịch nổi sau ly tâm được lọc qua màng lọc kích thước lỗ 0,45 μm. Dịch lọc được phân tích nồng độ cordycepin và adenosine bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC; hệ dung môi methanol: H₂O = 10 : 90; tốc độ dòng 1 ml/phút; bước sóng 190 - 380 nm; đỉnh sắc ký tương ứng với nồng độ

cordycepin và adenosine đo ở bước sóng 260 nm) (Iamtham et al., 2022).

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Khảo sát sự phát triển hệ sợi *Cordyceps militaris* Cm3 trên môi trường nhân giống cấp 1 bổ sung tảo xoắn *Spirulina* thay thế thành phần nhộng tằm

Nguyên liệu nhân giống nấm *C. militaris* Cm3 (*Spirulina* khô) có thành phần dinh dưỡng (Bảng 1): hàm lượng protein tổng số 68,5 g/100 g (tương đương 68,5% trọng lượng khô; hàm lượng amino acid tổng 56,3 g/100 g (tương đương 56,3% trọng lượng khô). Trong thành phần protein của *Spirulina* có đủ cả 9 loại amino acid thiết yếu với hàm lượng cao, như isoleucine (2940 mg/100 g), leucine (4660 mg/100 g), phenylalanine (2880 mg/100 g), valine (3370 mg/100 g). Bên cạnh đó, thành phần hóa học của *Spirulina* cũng chứa một

hàm lượng khá cao sắc tố, như phycocyanin (20700 mg/100 g) và chlorophyll (251 mg/100 g). Với hàm lượng protein và đường chất cao có thể so sánh với nhộng tằm (nguyên liệu chủ yếu cung cấp nguồn protein trong nuôi trồng nấm dược liệu *C. militaris* hiện nay), việc sử dụng tảo xoắn *Spirulina* thay thế nguồn protein từ nhộng tằm đã được nghiên cứu thử nghiệm trong một số công bố khoa học (Kaewkam et al., 2021; Iamtham et al., 2022).

Hệ sợi nấm *C. militaris* Cm3 được nuôi cấy trên 4 công thức dinh dưỡng khác nhau. Kết quả nhận được cho thấy: tương ứng với mỗi công thức khác nhau thì sự phát triển của hệ sợi nấm cũng có sự khác biệt về hình thái sợi, màu sắc và tốc độ ăn lan, biểu thị bằng các số liệu về đường kính khuẩn lạc nấm, xác định ở các thời điểm là sau 5 ngày, sau 10 ngày và sau 15 ngày nuôi cấy (Bảng 2, Hình 1).

Bảng 2. Ảnh hưởng của thành phần tảo xoắn *Spirulina* đến sinh trưởng, phát triển của chủng nấm *Cordyceps militaris* Cm3 giai đoạn nhân giống cấp 1

Công thức thí nghiệm	Đường kính khuẩn lạc nấm sau các khoảng thời gian nuôi cấy khác nhau (cm)		
	Sau 5 ngày	Sau 10 ngày	Sau 20 ngày
CT1	1,45 ^a ± 0,15	3,02 ^a ± 0,30	5,79 ^a ± 0,40
CT2	1,52 ^b ± 0,17	3,11 ^b ± 0,31	5,89 ^b ± 0,42
CT3	1,59 ^c ± 0,17	3,20 ^c ± 0,28	6,17 ^c ± 0,40
CT4	1,66 ^d ± 0,13	3,28 ^c ± 0,27	6,24 ^c ± 0,39

Ghi chú: Các số liệu (giá trị trung bình) trong cùng cột có chữ cái khác nhau thì sự khác biệt là có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$).

Kết quả quan sát hệ sợi nấm ăn lan trên các môi trường dinh dưỡng khác nhau cho thấy: hệ sợi phát triển nhanh, sợi nấm ăn lan đều, chắc sợi, hình thái sợi khỏe. Tuy nhiên, khi thay đổi thành phần dinh dưỡng trong các công thức thì tốc độ ăn lan thể hiện thông qua các số liệu về đường kính khuẩn lạc nấm có sự khác biệt.

Ở công thức CT1 (đối chứng), khi sử dụng 100 g/l nhộng tằm tươi làm nguồn protein cho sự phát triển của hệ sợi, tốc độ ăn lan của hệ sợi tương đối nhanh, sợi nấm dài, màu trắng vàng; đường kính khuẩn lạc nấm trung bình đạt $5,79 \pm 0,40$ cm sau 20 ngày nuôi cấy.

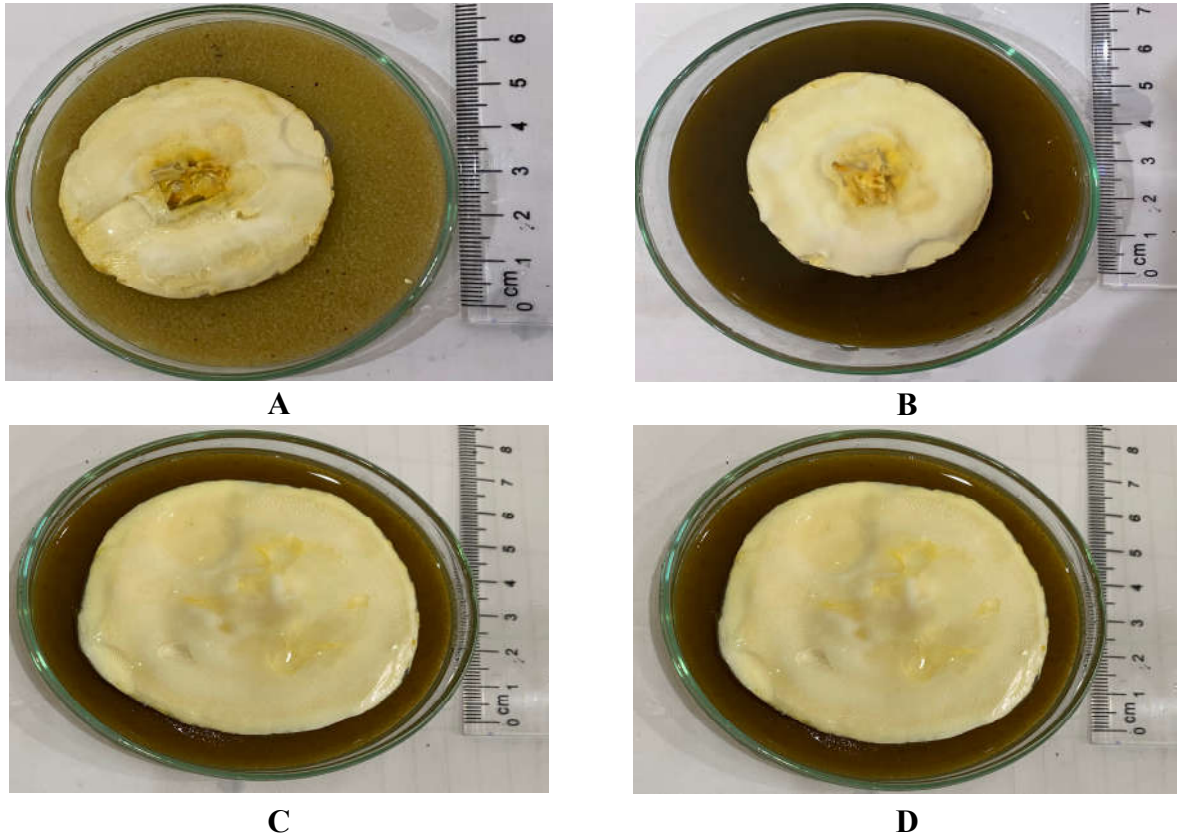
Khi thay thế thành phần nhộng tằm tươi bằng tảo xoắn *Spirulina* khô với các hàm lượng khác nhau, có sự khác biệt về đường kính khuẩn lạc nấm ăn lan. Cụ thể, khi bổ sung 5 g/l tảo xoắn khô vào môi trường nuôi thì cho

kết quả khác biệt (đường kính khuẩn lạc trung bình $5,89 \pm 0,42$ cm) so với môi trường CT1 bổ sung nhộng tằm (sự khác biệt có ý nghĩa thống kê). Hàm lượng tảo xoắn bổ sung 7 g/l (công thức CT3) đã có sự khác biệt rõ rệt với công thức CT1 và CT2, đường kính vòng sợi nấm trên đĩa thạch đạt $6,17 \pm 0,40$ cm sau 20 ngày nuôi trồng, hệ sợi nấm dai, chắc, màu vàng nhạt. Ở công thức CT4, khi tăng lượng nguyên liệu tảo xoắn đến 10 g/l, hệ sợi cũng phát triển mạnh như ở công thức CT3, nhưng các số liệu biểu thị tốc độ sinh trưởng của nấm khi so sánh với công thức CT3 không chỉ ra sự khác biệt có ý nghĩa thống kê.

Như vậy, hàm lượng dinh dưỡng bổ sung từ tảo xoắn *Spirulina* có ảnh hưởng tới sự ăn lan, phát triển và hình thái của hệ sợi nấm *C. militaris* Cm3, và nguyên liệu tảo xoắn hoàn

toàn có thể sử dụng để thay thế thành phần nhộng tằm trong nhân giống nấm. Hàm lượng tảo xoắn thích hợp để bổ sung vào môi trường

nhân giống nấm cấp 1 kích thích sự phát triển hệ sợi ở mức tối ưu, và không gây dư thừa lượng dinh dưỡng, là 7 g/l tảo xoắn.



Hình 1. Hình thái khuẩn lạc nấm *Cordyceps militaris* Cm3 sau 20 ngày nuôi cấy trên môi trường nhân giống cấp 1 bổ sung nguồn protein từ tảo *Spirulina*

A: Công thức CT1 bổ sung nhộng tằm tươi 100 g/l; B, C, D: Công thức CT2, CT3 và CT4 (tương ứng) bổ sung tảo *Spirulina* khô với hàm lượng lần lượt là 5 g/l, 7 g/l và 10 g/l

3.2. Xác định khả năng tạo quả thể nấm *Cordyceps militaris* Cm3 trên môi trường nuôi trồng bổ sung *Spirulina*

Kết thúc quá trình ươm sợi, phôi đạt tiêu chuẩn được chuyển sang phòng nuôi trồng

trong cùng điều kiện. Theo dõi để đánh giá tỷ lệ nảy mầm của phôi trong từng công thức; tốc độ sinh trưởng, năng suất, hình thái và màu sắc của quả thể. Kết quả trình bày ở Bảng 3.

Bảng 3. Khả năng tạo quả thể của nấm *Cordyceps militaris* Cm3 trên môi trường nuôi trồng bổ sung tảo xoắn *Spirulina*

Công thức	Tỷ lệ hộp có phôi nảy mầm (%)	Số quả thể trung bình/hộp nuôi	Khối lượng quả thể trung bình/hộp nuôi (g/hộp)	Đặc điểm hình thái quả thể
NT1 - Đối chứng (100 g/l nhộng tằm tươi)	93,67 ^a ± 2,08	63,93 ^a ± 4,41	32,77 ^a ± 1,11	Mập, dài, màu vàng cam
NT2 (15 g/l tảo xoắn <i>Spirulina</i> khô)	94,33 ^b ± 2,52	67,23 ^b ± 7,71	33,53 ^b ± 1,16	Mập, dài, màu vàng cam đậm

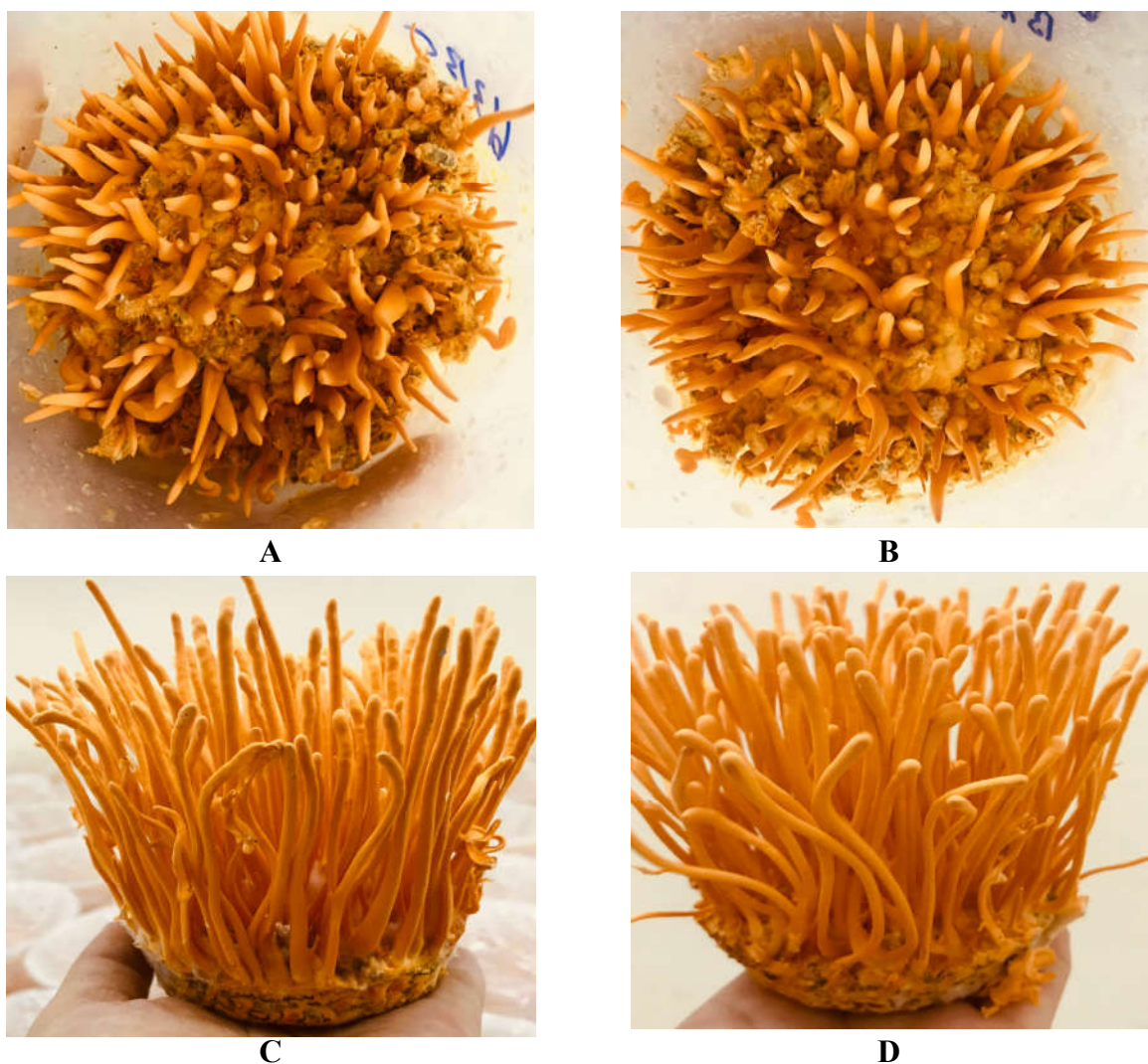
Ghi chú: Các số liệu (giá trị trung bình) trong cùng cột có chữ cái khác nhau thì sự khác biệt là có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$).

Kết quả nhận được cho thấy: Nấm *C. militaris* Cm3 nuôi trồng trên phôi gạo bổ sung

nhộng tằm (công thức NT1) hoặc tảo xoắn *Spirulina* (công thức NT2) đều có chất lượng

tốt, sức sống khỏe, tỷ lệ nảy mầm cao. Các chỉ số theo dõi thể hiện khả năng tạo quả thể của nấm nuôi trên giá thể bổ sung tảo xoắn đảm bảo hoặc nhỉnh hơn so với nuôi trên cơ chất nhộng tằm: Tỷ lệ nảy mầm trung bình của *C. militaris* Cm3 nuôi trên giá thể nhộng tằm và tảo xoắn lần lượt là 93,67% và 94,33%; năng suất thu hoạch thể hiện ở khối lượng quả thể

trung bình/hộp khi nuôi trồng trên nhộng tằm và tảo xoắn tương ứng là 32,77 g và 33,53 g. Kết quả nghiên cứu cho phép khẳng định: Tảo xoắn *Spirulina* hoàn toàn có thể sử dụng làm nguồn dinh dưỡng giàu protein cho nuôi trồng tạo quả thể nấm Đông trùng hạ thảo *Cordyceps militaris*, với năng suất thu hoạch quả thể cao như nuôi trên giá thể nhộng tằm.



Hình 2. Hình thái phôi và quả thể nấm *Cordyceps militaris* Cm3 nuôi trồng trên cơ chất nhộng tằm và tảo xoắn *Spirulina*

A, B: Phôi nấm phát triển trên môi trường nuôi trồng bổ sung nhộng tằm (A) và tảo Spirulina (B) sau 12 ngày; C, D: Hình thái quả thể nấm trên môi trường nuôi chứa nhộng tằm (C) và tảo Spirulina (D) sau 60 ngày nuôi trồng

3.3. Xác định hàm lượng cordycepin và adenosine trong quả thể *Cordyceps militaris* Cm3

Chất lượng và giá trị thương mại của *C. militaris* được xác định thông qua hàm lượng cordycepin và adenosine (Tuli et al., 2014; Li

et al., 2020). Do vậy, nghiên cứu phân tích hàm lượng hoạt chất cordycepin và amino acid adenosine trong thành phần quả thể khô nấm *C. militaris* Cm3 được thực hiện.

Kết quả phân tích HPLC hàm lượng cordycepin và adenosine trong 100 g trọng

lượng khô (DW - Dry weight) của quả thể (Bảng 4) cho thấy: Khi được nuôi trồng trong cùng điều kiện vật lý, cả 2 công thức nuôi

trồng nấm *C. militaris* Cm3 (nuôi trên nhộng tằm và tảo xoắn *Spirulina*) đều cho quả thể chứa hàm lượng cao cordycepin và adenosine.

Bảng 4. Hàm lượng hoạt chất trong mẫu quả thể *Cordyceps militaris* Cm3 khô

Công thức	Hàm lượng cordycepin (mg/100 g)	Hàm lượng adenosine (mg/100 g)
NT1 (nuôi trồng trên nhộng tằm)	267	243
NT2 (nuôi trồng trên <i>Spirulina</i>)	297	268

So sánh hàm lượng cordycepin và adenosine trong thành phần quả thể khô thu hoạch từ 2 loại giá thể nuôi nhộng tằm và tảo xoắn: Quả thể nấm khi nuôi trên tảo xoắn có hàm lượng cordycepin và adenosine cao hơn khi nuôi trên nhộng tằm. Hàm lượng cordycepin của quả thể *C. militaris* Cm3 nuôi trên phôi gạo bổ sung 15 g/l tảo xoắn khô là 297 mg/100 g-DW, cao hơn so với giá trị 267 mg/100 g-DW của quả thể ở công thức bổ sung 100 g/l dịch xay nhộng tằm tươi. Hàm lượng adenosine của quả thể khô nuôi trên giá thể tảo xoắn và nhộng tằm tương ứng là 243 mg/100 g-DW và 268 mg/100 g-DW.

tảo xoắn *Spirulina* hoàn toàn có thể thay thế nguồn protein từ nhộng tằm trong công thức môi trường nhân giống cấp 1 và môi trường nuôi trồng nấm *C. militaris* Cm3.

4. KẾT LUẬN

Công thức môi trường nhân giống cấp 1 bổ sung 7 g/l tảo xoắn khô + dịch khoáng + 17 g/l agar là thích hợp cho nhân giống nấm *C. militaris* Cm3 (tốc độ ăn lan sợi tốt, hệ sợi khỏe, phát triển đồng đều; đường kính hệ sợi ăn lan sau 5 ngày cấy giống là $1,59 \pm 0,17$ cm, sau 10 ngày là $3,20 \pm 0,28$ cm, sau 20 ngày là $6,17 \pm 0,40$ cm). Nuôi trồng nấm *C. militaris* Cm3 trên phôi gạo bổ sung nguồn protein từ tảo xoắn *Spirulina* cho năng suất thu hoạch quả thể và chất lượng quả thể tốt hơn so với nuôi trên phôi gạo bổ sung nhộng tằm. Trên giá thể bổ sung 15 g/l *Spirulina* khô, sau 60 ngày nuôi trồng, *C. militaris* Cm3 có tỷ lệ nảy mầm đạt $94,33 \pm 2,52\%$, số lượng quả thể trung bình/hộp nuôi $67,23 \pm 7,71$ quả thể, khối lượng quả thể trung bình/hộp nuôi $33,53 \pm 1,16$ g/hộp. Hàm lượng hoạt chất cordycepin và adenosine trong quả thể khô *C. militaris* Cm3 là 297 mg/100 g-DW và 268 mg/100 g-DW tương ứng.

Trên thế giới, cũng đã có một số công bố khoa học khẳng định nấm *C. militaris* khi nuôi cấy trên môi trường chứa nguồn protein khác nhau sẽ sản sinh hoạt chất với hàm lượng khác nhau (Wen et al., 2014; Sornpraser et al., 2018). Kết quả phân tích hàm lượng cordycepin và adenosine của nấm *C. militaris* khi nuôi trồng trên nhộng tằm trong nghiên cứu phù hợp với công bố của Huang và cộng sự (2009). Theo Huang và cộng sự (2009), hàm lượng cordycepin và adenosine trong quả thể khô nấm *C. militaris* nuôi trồng trên cơ chất nhộng tằm là 270 mg/100 g-DW và 272 mg/100 g-DW tương ứng. Bên cạnh đó, kết quả nghiên cứu của Iamtham và cộng sự (2022) cũng chỉ ra hàm lượng cordycepin trong quả thể nấm *C. militaris* nuôi trồng trên giá thể tảo xoắn là cao hơn so với nuôi trên giá thể nhộng tằm.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Gogna S., Kaur J., Sharma K., Prasad R., Singh J. (2022). *Spirulina*-an edible Cyanobacterium with potential therapeutic health benefits and toxicological consequences. *Journal of the American Nutrition Association*, 1–16.
- Gregori A. (2014). Cordycepin production by *Cordyceps militaris* cultivation on spent brewery grains. *Acta Biologica Slovenica*, 57, 45–52.
- Huang L., Li Q., Chen Y., Wang X., Zho X. (2009). Determination and analysis of cordycepin and adenosine in products of *Cordyceps* spp. *African Journal of Microbiology Research*, 3, 957–961.
- Iamtham S., Kaewkam A., Chanprame S., Pan-utai W. (2022). Effect of *Spirulina* biomass residue on yield

Kết quả nghiên cứu xác định ảnh hưởng của thành phần *Spirulina* trong môi trường nuôi cấy đến khả năng phát triển hệ sợi, khả năng tạo quả thể và chất lượng quả thể nấm *C. militaris* cho phép kết luận: Nguồn protein từ

and cordycepin and adenosine production of *Cordyceps militaris* culture. *Bioresource Technology Reports*, 17, 100893.

5. Kaewkam A., Sornchai P., Chanprame S., Iamtham S. (2021). Utilization of *Spirulina* maxima to enhance yield and cordycepin content in *Cordyceps militaris* artificial cultivation. *Journal of the International Society for Southeast Asian Agricultural Sciences*, 29, 1–14.

6. Li J. F., Hoang V. A., Ahn J. C., Yang D. U., Lee D. W., Yang D. C. (2020). Isolation of new strain of *Cordyceps militaris* HB8 and optimal condition for production of adenosine and cordycepin in fruit body. *Korean Journal of Plant Resources*, 33(6), 696–706.

7. Lim K., Lee C. H., Chang E. (2012). Optimization of solid state culture condition for the production of adenosine, cordycepin, and d-mannitol in fruiting bodies of medicinal caterpillar fungus *Cordyceps militaris* (L. Fr.) Link (Ascomycetes). *International Journal of Medicinal Mushrooms*, 14, 181–187.

8. Liu Y., Wang J., Wang W., Zhang H., Zhang X., Han C. (2015). The chemical constituents and pharmacological actions of *Cordyceps sinensis*. *Evid*

Based Complement Alternat Med, 575063.

9. 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>

10. Patel K., Ingalhalli R. (2013). *Cordyceps militaris* (L.: Fr.) link - An important medicinal mushroom. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 2, 315–319.

11. Sornprasert R., Kasipar K. (2018). The culture of *Cordyceps militaris* (L.) link with raw egg and hard-boiled egg from poultry. *KKU Science Journal*, 46 (2), 248–255.

12. Tuli H. S., Sandhu S. S., Sharma A. K. (2014). Pharmacological and therapeutic potential of *Cordyceps* with special reference to cordycepin. *3 Biotech*, 4 (1), 1–12.

13. Wen T. C., Kang J. C., Kang C., Hyde K. D. (2014). Optimization of solid-state fermentation for fruiting body growth and cordycepin production by *Cordyceps militaris*. *Chiang Mai Journal of Science*, 41, 858–872.

EFFECTS OF *Spirulina* INGREDIENTS ON GROWTH AND DEVELOPMENT OF *Cordyceps militaris* Cm3

Pham Thi Anh¹, Duong Duc Tien², Nguyen Thi Thu Hang³

¹*Hoa Lac Institute of High Technology Research and Application*

²*Biotechnology Center for Production and Life*

³*Vietnam National University of Forestry*

SUMMARY

Spirulina is a type of blue-green algae with high nutritional value (high protein content, many essential amino acids, rich in vitamins and minerals). The study focused on the use of *Spirulina* as a protein source to replace silkworm pupae in the culture medium of *Cordyceps militaris* Cm3 strain. The medium supplemented with 7 g/l dried *Spirulina* + mineral solution + 17 g/l agar was suitable for the growth of *Cordyceps militaris* Cm3 mycelium: fiber optic diameter after 5 days of culture was 1.59 ± 0.17 cm, after 10 days 3.20 ± 0.28 cm, after 20 days 6.17 ± 0.40 cm. Cultivation of *Cordyceps militaris* Cm3 strain on rice substrate supplemented with 15 g/l dried *Spirulina* for 60 days showed that the average germination rate was $94.33 \pm 2.52\%$, the average number of fruit bodies/culture box was 67.23 ± 7.71 fruits, the average fruit mass/culture box was 33.53 ± 1.16 g/box, cordycepin and adenosine content were 297 mg/100 g-DW and 268 mg/100 g-DW, respectively. This study has shown that *Spirulina* can be used to replace silkworm pupae in *Cordyceps militaris* culture medium.

Keywords: Breeding, *Cordyceps militaris*, fruit body, protein content, silkworm pupae, *Spirulina*.

Ngày nhận bài : 07/9/2022

Ngày phản biện : 09/10/2022

Ngày quyết định đăng : 20/10/2022