

NGHIÊN CỨU NUÔI TRỒNG NẤM ĐÔNG TRÙNG HẠ THẢO (*Cordyceps militaris*) TRÊN GIÁ THỂ TỔNG HỢP VÀ NHỘNG TẦM

Nguyễn Thị Minh Hằng¹, Bùi Văn Thắng²

^{1,2}Trường Đại học Lâm nghiệp

TÓM TẮT

Nấm Đông trùng hạ thảo *Cordyceps militaris* là loại nấm dược liệu quý, có giá trị kinh tế rất cao nên bị khai thác quá mức dẫn đến khan hiếm ngoài tự nhiên. Nuôi trồng nấm *C. militaris* trên giá thể tổng hợp và nhộng tằm trong điều kiện nhân tạo đã được nghiên cứu thành công. Kết quả nghiên cứu cho thấy, nuôi cấy nấm *C. militaris* trên môi trường tổng hợp gồm 30g Gạo lứt/bình + 4% bột nhộng khô + 50 ml dịch khoáng (100 ml/l nước dừa + 200 g/l Khoai tây + 1 g/l vitamin B1 + 0,5 g/l MgSO₄.7H₂O + 0,25 g/l KH₂PO₄) cho số lượng quả thể cao (trung bình 55 quả thể/bình), hệ sợi phát triển nhanh (ăn kín bề mặt môi trường sau 7 ngày nuôi cấy), thời gian hình thành quả thể ngắn (sau 12 ngày nuôi cấy) và quả thể có kích thước lớn. Nhộng tằm nguyên con đặt trên cơ chất (15 g gạo lứt/bình + 25 ml dịch khoáng) và phun dịch giống nấm lên bề mặt, cho hiệu quả nhộng tằm nhiễm nấm cao nhất (90%), hệ sợi phát triển nhanh và hình thành quả thể tốt. Điều kiện nuôi cấy cho hệ sợi nấm phát triển và hình thành quả thể là ở nhiệt độ không khí 22°C, cường độ chiếu sáng 1000Lux, thời gian chiếu sáng 14 giờ/ngày và độ ẩm không khí 85%. Kỹ thuật này có thể áp dụng để sản xuất quả thể nấm *C. militaris* đáp ứng nhu cầu thị trường về sản phẩm nấm Đông trùng hạ thảo hiện nay.

Keywords: *Cordyceps militaris*, môi trường tổng hợp, nhộng tằm, nuôi trồng, quả thể nấm.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Nấm Đông trùng hạ thảo là các loài nấm ký sinh trên sâu non, nhộng hoặc sâu trưởng thành của một số loài côn trùng. Đến nay, đã phát hiện được hơn 400 loài nấm Đông trùng hạ thảo thuộc chi *Cordyceps* nhưng chỉ có 2 loài được chú trọng nghiên cứu nhiều nhất là *Cordyceps sinensis* và *Cordyceps militaris* do có giá trị dược liệu cao. Ngoài tự nhiên, nấm Đông trùng hạ thảo thường được tìm thấy vào mùa hè, loài nấm *C. sinensis* phân bố chủ yếu ở các vùng núi cao thuộc dãy núi Himalaya có độ cao trên 4000 m so với mực nước biển như vùng Tây Tạng (Trung Quốc), một số vùng Nepal và Butan; loài nấm *C. militaris* tìm thấy ở vùng núi thấp hơn, có độ cao 2000 – 3000 m, phân bố rộng (Trung Quốc, Nhật Bản, Hàn Quốc và các nước trong khu vực Đông Nam Á) (Wang, 1995; Sung, 1996; Li et al, 2006). Loài nấm *C. sinensis* chỉ nuôi trồng thành công ở điều kiện hoang dã, đến nay vẫn chưa được nuôi trồng thành công trong điều kiện nhân tạo, do đó sản lượng nấm rất ít không đáp ứng đủ nhu cầu thị trường (Li et al. 2006; Stone 2008; Dong et al. 2012). Loài *C. militaris* có

hàm lượng các hoạt chất có hoạt tính sinh như cordycepin, mannitol, cordypolysaccarid, superoxide dismutase, axit amin, adenosine và nhiều thành phần khác tương đương, thậm chí còn cao hơn của loài *C. sinensis*, nhưng dễ dàng nuôi trồng thành công trong môi trường nhân tạo (Li et al. 1995; Dong et al., 2012).

Nấm Đông trùng hạ thảo (*C. militaris*) chứa rất nhiều hoạt chất dược liệu quý nên rất tốt cho cơ thể con người, giúp điều trị và bồi bổ cho các hệ thống miễn dịch, tiêu hóa, tuần hoàn, thần kinh, hô hấp và hệ sinh dục của cơ thể (Ahn et al., 2000; Nan et al., 2001; Wang et al., 2006; Kim et al., 2006; Das et al., 2010). Với giá trị dược liệu cao, nấm Đông trùng hạ thảo ngoài tự nhiên đang bị khai thác quá mức dẫn đến cực kỳ khan hiếm và giá cả vô cùng đắt đỏ. Do bí mật về công nghệ mà đến nay có rất ít công bố về nuôi trồng nấm *C. militaris*, vì vậy việc phát triển các nghiên cứu về nuôi trồng nấm Đông trùng hạ thảo (*C. militaris*) trong điều kiện nhân tạo nhằm chủ động về công nghệ và tăng quy mô sản xuất, nâng cao năng suất, chất lượng góp phần giảm giá thành sản phẩm để nhiều tầng lớp người tiêu dùng có

thể tiếp cận đến sản phẩm Đông trùng hạ thảo cho việc chăm sóc sức khỏe là rất cần thiết.

Trong bài báo này, công bố kết quả nghiên cứu nuôi trồng nấm Đông trùng hạ thảo (*C. militaris*) trên giá thể tổng hợp và nhộng tằm đạt hiệu quả cao.

II. VẬT LIỆU, PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

- *Giống nấm Đông trùng hạ thảo*: chủng nấm *C. militaris* C1.1 do Viện Công nghệ sinh học Lâm nghiệp cung cấp.

- *Các loại nguyên liệu*: Khoai tây, nước dừa, bột nhộng khô, nhộng tươi nguyên con, gạo lứt, glucose, pepton, cao nấm men và agar; các nguyên liệu được sản xuất tại Việt Nam.

- *Các chất khoáng và vitamin*: $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, KH_2PO_4 , vitamin B1.

- *Môi trường rắn nhân giống*:

(1) Môi trường PGA: 20 g/l glucose; 200 g/l khoai tây; 0,5 g/l $MgSO_4 \cdot 7H_2O$; 0,25 g/l KH_2PO_4 ; 14 g/l agar.

(2) Môi trường TH: 20 g/l glucose; 2,5 g/l pepton; 2,5 g/l cao nấm men; 0,5 g/l $MgSO_4 \cdot 7H_2O$; 0,25 g/l KH_2PO_4 ; 14 g/l agar.

- *Môi trường dịch lỏng nhân giống*:

TH1: 20g/l glucose + 5 g/l pepton + 5 g/l cao nấm men + 0,5 g/l $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ + 0,25 g/l KH_2PO_4 .

- *Môi trường tổng hợp nuôi quả thể*:

CT₁: 30 g Gạo lứt/bình + 50 ml dịch khoáng;

CT₂: 30 g Gạo lứt/bình + 10% dịch xay nhộng tươi + 50 ml dịch khoáng;

CT₃: 30 g Gạo lứt/bình + 15% dịch xay nhộng tươi + 50 ml dịch khoáng;

CT₄: 30 g Gạo lứt/bình + 20% dịch xay nhộng tươi + 50 ml dịch khoáng;

CT₅: 30 g Gạo lứt/bình + 3% bột nhộng khô + 50 ml dịch khoáng;

CT₆: 30 g Gạo lứt/bình + 4% bột nhộng khô + 50 ml dịch khoáng;

CT₇: 30 g Gạo lứt/bình + 5% bột nhộng khô + 50 ml dịch khoáng.

Ghi chú:

+ Dịch khoáng gồm các thành phần: 100 ml/l nước dừa + 200 g/l Khoai tây (lấy dịch chiết) + 1 g/l vitamin B1 + 0,5 g/l $MgSO_4 \cdot 7H_2O$; 0,25 g/l KH_2PO_4 .

+ Bình nuôi cấy có thể tích 400 ml.

+ *Tất cả các môi trường nuôi cấy được khử trùng ở 121°C trong 20 phút.*

2.2. Phương pháp nghiên cứu

- *Nghiên cứu ảnh hưởng của môi trường rắn đến sinh trưởng, đặc điểm của hệ sợi nấm chủng C. militaris C1.1*: Tiến hành nuôi cấy nấm trên 2 loại môi trường nhân giống là PGA và TH. Sau khi cấy giống nấm vào môi trường, nuôi trong điều kiện 22°C, độ ẩm 80%, theo dõi và thống kê sự phát triển của hệ sợi nấm theo các mốc thời gian: 2 ngày, 7 ngày, 10 ngày, 30 ngày.

- *Nhân giống trên môi trường dịch lỏng*: Dùng que cấy lấy giống cấp I trên môi trường thạch, kích thước miếng thạch chứa sợi nấm (0,2 x 0,2 mm) cho vào bình môi trường lỏng TH1 (400 ml); nuôi ở điều kiện 22°C, nuôi lắc (150 vòng/phút) trong 5 ngày.

- *Nghiên cứu sự phát triển quả thể chủng nấm C.militaris C1.1 trên giá thể tổng hợp*: Thí nghiệm được bố trí trên 7 công thức (CT₁-CT₇). Mỗi công thức được tiến hành với 200 bình nuôi cấy và lặp lại 3 lần, các điều kiện trong nuôi cấy đảm bảo ổn định và giống nhau. Cấp lượng giống như nhau cho mỗi bình (5% giống), sau khi cấy giống tiến hành ủ tối để hệ sợi nấm phát triển kín bình môi trường. Tiếp theo chuyển các bình sang giai đoạn chiếu sáng kích bật mầm quả thể và chăm sóc quả thể với điều kiện chiếu sáng 1000 Lux, độ ẩm 85%, 22°C. Theo dõi và thống kê sự sinh trưởng của nấm ở các thời điểm: hệ sợi ăn lan kín bình môi trường, bắt đầu xuất hiện quả thể, số lượng và kích thước quả thể ở mỗi bình trong các công thức nuôi cấy.

- *Nghiên cứu phương pháp cấy giống trên thân nhộng tằm nguyên con*: Thí nghiệm được

bố trí với 3 công thức tiếp giống khác nhau: TG1: Tiêm dịch giống (100 µl) vào thân nhộng đã khử trùng bằng kim tiêm, sau đó đặt vào hộp nhựa có lót một lớp giấy lọc khử trùng phía dưới; TG2: Phun dịch giống (100 µl/con) lên bề mặt nhộng đã khử trùng, sau đó đặt vào hộp nhựa có lót một lớp giấy lọc khử trùng phía dưới; TG3: Đặt nhộng vào bình thủy tinh có lót một lớp cơ chất bên dưới (15 g gạo lức/bình + 25 ml dịch khoáng) và phun dịch giống (5%) lên trên bề mặt nhộng và lớp cơ chất. Sau khi cấp giống, nuôi ở điều kiện 22°C, độ ẩm 85%. Tiến hành theo dõi và thống kê sự sinh trưởng của nấm trong các công thức qua các chỉ tiêu: thời gian hệ sợi ăn kín thân nhộng, thời gian xuất hiện quả thể, số lượng và kích thước quả thể.

- *Phương pháp thu thập và xử lý số liệu:* Sử dụng các dụng cụ như thước đo, cân phân tích để xác định kích thước và trọng lượng quả thể,

đếm số lượng quả thể. Mỗi công thức nhắc lại 3 lần. Số liệu được xử lý thống kê bằng phần mềm SPSS (version 16.0) và phương pháp Duncan's test (Duncan, 1995) với mức sai khác có ý nghĩa $p = 0,05$.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Đặc điểm đặc điểm sinh trưởng của chủng nấm *C.militaris* C1.1 trong môi trường rắn nhân giống

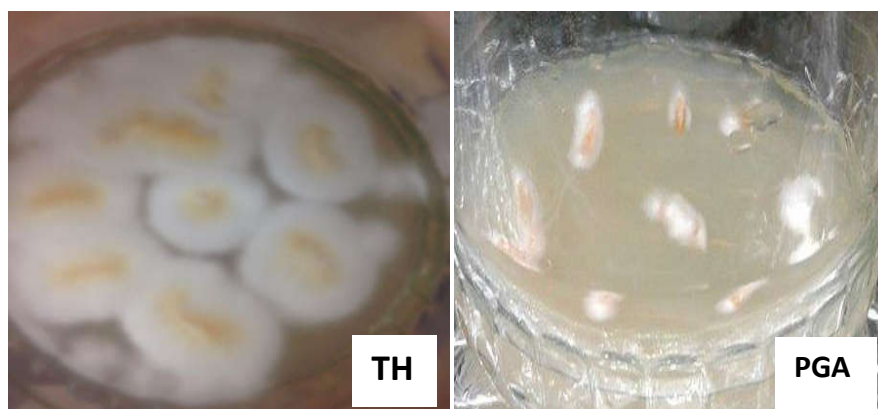
Chủng nấm *C.militaris* C1.1 được nuôi cấy để phát triển hệ sợi trên 2 loại môi trường khác nhau là môi trường PGA và TH. Kết quả cho thấy trên các môi trường dinh dưỡng khác nhau thì sinh trưởng và phát triển của hệ sợi nấm khác nhau rất rõ rệt. Sự khác nhau đó thể hiện rõ ở các chỉ tiêu như thời gian để nấm mọc kín môi trường dinh dưỡng, đặc điểm hệ sợi nấm mọc qua từng khoảng thời gian xác định (bảng 1).

Bảng 1. Sự sinh trưởng, phát triển của hệ sợi chủng *C.militaris* C1.1 trên môi trường nhân tạo

Môi trường	Thời gian mọc kín (ngày)	Đặc điểm hệ sợi nấm			
		Sau 2 ngày	Sau 7 ngày	Sau 10 ngày	Sau 30 ngày
PGA	10	Từ mô hệ sợi cây ban đầu, hệ sợi bắt đầu ăn lan ra xung quanh, tạo khuẩn lạc có đường kính 1 cm. hệ sợi mỏng, màu trắng bông.	Hệ sợi phát triển mạnh ăn lan ra bề mặt môi trường, dày, dai, màu trắng bông, bề mặt hệ sợi mịn.	Hệ sợi ăn kín bề mặt môi trường, dày, dai, màu trắng bông, bề mặt hệ sợi mịn.	Hệ sợi ngừng phát triển, lớp hệ sợi dày, dai, bề mặt mịn, màu trắng bông.
TH	5	Từ mô hệ sợi cây ban đầu, hệ sợi bắt đầu ăn lan ra xung quanh, tạo khuẩn lạc có đường kính 1,5cm. hệ sợi mỏng, màu trắng bông.	Hệ sợi ăn kín bề mặt môi trường, dày, dai, màu trắng bông, bề mặt hệ sợi mịn	Hệ sợi bắt đầu chuyển màu vàng.	Hệ sợi ngừng phát triển. Bề mặt hệ sợi bông xốp, hệ sợi có màu vàng cam.

Hệ sợi nấm trên cả 2 môi trường đều phát triển tốt nhưng có sự khác biệt về thời gian ăn lan cũng như hình thái. Yếu tố dẫn đến sự khác biệt của hệ sợi nấm trong 2 môi trường trên chính là do thành phần dinh dưỡng. Ở môi trường PGA nghèo dinh dưỡng nên hệ sợi

chậm phát triển. Ở môi trường TH, trong thành phần chứa nhiều dinh dưỡng (pepton, cao nấm men) nên hệ sợi phát triển nhanh (chỉ 5 ngày hệ sợi đã ăn kín bề mặt môi trường, hình 1), phù hợp cho nhân giống chủng *C.militaris* C1.1.



Hình 1. Sự phát triển của hệ sợi nấm chủng *C.militaris* C1.1. sau 5 ngày nuôi cấy

3.2. Sự sinh trưởng, phát triển và khả năng tạo quả thể của chủng nấm *C.militaris* C1.1 trên môi trường tổng hợp

Bảng 2. Khả năng sinh trưởng, phát triển và hình thành quả thể của chủng nấm *C.militaris* C1.1. trên các công thức môi trường khác nhau

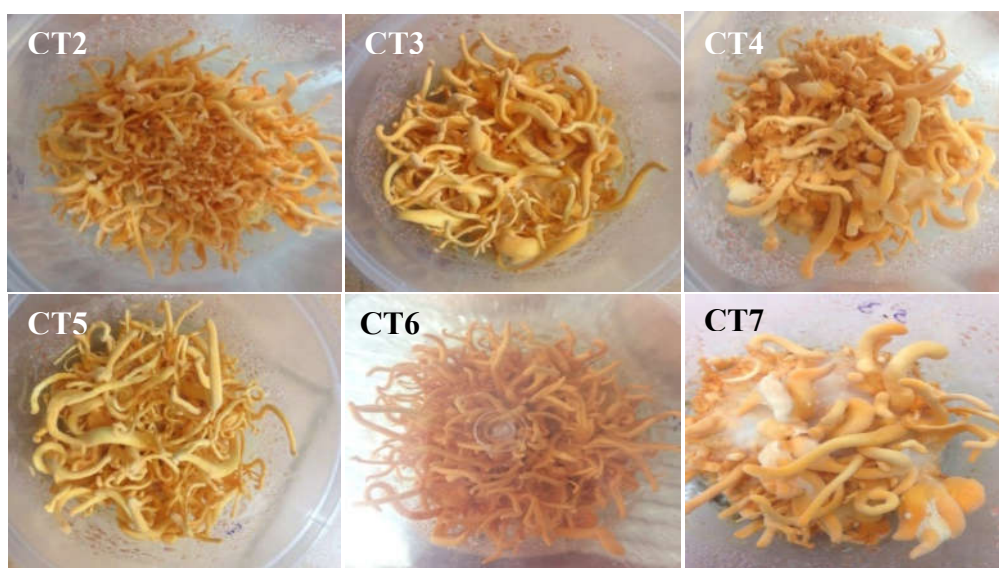
Công thức môi trường	Thời gian hệ sợi ăn kín bề mặt (ngày)	Thời gian bắt đầu xuất hiện quả thể (ngày)	Số lượng quả thể trung bình	Kích thước quả thể trung bình		Đặc điểm quả thể nấm
				Chiều dài (mm)	Đường kính (mm)	
CT ₁	10	19	40 ± 5,5	30 ± 3,0	1,8 ± 0,1	Quả thể nấm mảnh, nhỏ, thấp, màu vàng cam
CT ₂	6,5	16	40 ± 4,0	40 ± 1,5	2,5 ± 0,2	Quả thể nấm mảnh, dài vừa phải, màu vàng cam
CT ₃	6	15	45 ± 3,7	55 ± 2,1	3,3 ± 0,2	Quả thể nấm to vừa phải, dài vừa phải, màu vàng cam
CT ₄	5	14	42 ± 4,5	50 ± 1,0	4,0 ± 0,1	Quả thể nấm to, dài vừa phải, màu cam
CT ₅	8	13	45 ± 3,5	55 ± 1,4	3,0 ± 0,1	Quả thể nấm to vừa phải dài, màu cam
CT ₆	7	12	55 ± 3,7	70 ± 1,7	4,5 ± 0,1	Quả thể nấm to đậm, dài, màu cam đậm
CT ₇	7	12	35 ± 5,6	40 ± 2,0	7,0 ± 0,3	Quả thể nấm mập, ngắn, màu cam

Khi nuôi cấy nấm trên 7 công thức môi trường dinh dưỡng khác nhau thì sự sinh trưởng và phát triển của hệ sợi nấm cũng như khả năng hình thành quả thể là khác nhau. Sự khác nhau đó thể hiện rõ ở các chỉ tiêu như thời gian để hệ sợi nấm mọc kín môi trường,

thời gian xuất hiện quả thể, số lượng quả thể và kích thước quả thể (bảng 2). Tốc độ ăn lan hệ sợi kín bề mặt môi trường từ 5 – 10 ngày, nhanh nhất là ở công thức CT₄ (5 ngày) và chậm nhất là CT₁ (10 ngày). Nguyên nhân là do thành phần và hàm lượng dinh dưỡng trong

môi trường nuôi cấy ở các công thức có sự khác biệt. Nguồn dinh dưỡng là dịch xay nhộng tằm tươi chứa hàm lượng dinh dưỡng cao và dễ sử dụng hơn so với bột nhộng khô nên hệ sợi nấm có thể sử dụng trực tiếp, dẫn đến tốc độ sinh trưởng nhanh hơn với các công thức không bổ sung nhộng tằm và bổ sung bột nhộng tằm khô; tùy vào hàm lượng dịch nhộng tằm xay được bổ sung vào môi trường mà tốc độ sinh trưởng của hệ sợi khác nhau. Thời gian bắt đầu xuất hiện mầm quả thể của các công thức cũng có sự khác biệt nhau rõ rệt, công thức CT₆ và CT₇ có thời gian xuất hiện mầm quả thể nhanh nhất (12 ngày) và chậm nhất là công thức CT₁ (19 ngày). Số lượng, chiều dài và đường kính quả thể đạt cao nhất ở công thức môi trường CT₆ (55 quả thể/bình) và thấp nhất ở công thức CT₇ (35 quả thể/bình).

Kích thước quả thể nấm cũng phụ thuộc rất nhiều vào lượng dinh dưỡng có trong môi trường nuôi cấy. Môi trường càng nhiều dinh dưỡng thì kích thước quả thể càng lớn. Nếu trong môi trường có quá nhiều dinh dưỡng thì chiều cao của quả thể nấm sẽ kém phát triển và chỉ phát triển về đường kính thân quả thể nấm (như ở công thức CT₇). Vì thế cần phải lựa chọn môi trường cung cấp vừa đủ dinh dưỡng để nấm có thể phát triển kích thước một cách cân đối nhất, cho năng suất, chất lượng tốt nhất lại có thể giảm chi phí nguyên liệu đầu vào. Từ các công thức môi trường nghiên cứu, nhận thấy công thức môi trường CT₆ là thích hợp nhất cho sự sinh trưởng và phát triển hệ sợi cũng như hình thành quả thể chủng nấm *C.militaris* C1.1 (hình 2).

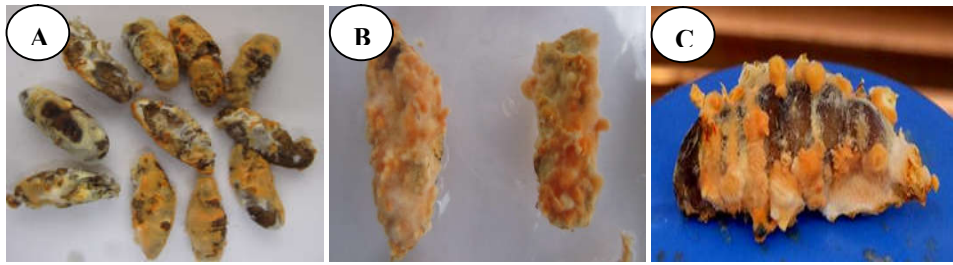


Hình 2. Quả thể chủng nấm *C.militaris* C1.1 trên các công thức môi trường dinh dưỡng khác nhau

3. Sự sinh trưởng, phát triển và khả năng hình thành quả thể của chủng nấm *C.militaris* C1.1 trên thân nhộng tằm

Theo dõi sự sinh trưởng và phát triển của hệ sợi trong toàn bộ quá trình nuôi cấy. Kết quả thu được cho thấy, phương pháp tiếp giống TG1, sau khi tiêm dịch giống vào thân nhộng, nuôi cấy trong điều kiện nhiệt độ 22°C và duy trì độ ẩm 85%, đến ngày thứ 6 nấm bắt đầu ăn

lan mạnh bên trong thân nhộng và đến ngày thứ 30 hệ sợi nấm ăn kín thân nhộng. Sau 40 ngày quả thể nấm bắt đầu nảy mầm trên thân nhộng. Ở công thức này tỷ lệ nhộng nhiễm nấm khá thấp (tỷ lệ nấm ăn lan kín thân nhộng chỉ đạt 25%), thời gian để nấm ăn lan kéo dài nhưng quả thể được hình thành mới chỉ ở dạng mầm nhỏ (hình 3).



Hình 3. Sự phát triển của nấm *C.militaris* C1.1. trên thân nhộng tằm trong công thức tiếp giống TG1
A - hệ sợi nấm ăn kín thân nhộng; B và C – mầm quả thể nấm trên thân nhộng

Phương pháp tiếp giống TG2, sau 2 ngày hệ sợi nấm bắt đầu ăn lan trên thân nhộng, đến ngày thứ 40 thì hệ sợi ăn kín toàn bộ thân nhộng. Sau 44 ngày quả thể bắt đầu xuất hiện

trên thân nhộng. Tỷ lệ nhộng nhiễm nấm trong công thức thí nghiệm này khá cao (78% nhộng tằm), quả thể có màu cam, đường kính lớn (4 - 5 mm) (hình 4).



Hình 4. Sự phát triển của nấm *C.militaris* C1.1. trên thân nhộng tằm trong công thức tiếp giống TG2
A - hệ sợi nấm ăn kín thân nhộng; B và C – quả thể nấm phát triển trên thân nhộng

Phương pháp tiếp giống TG3, chỉ 2 ngày sau khi cấy giống hệ sợi đã bắt đầu ăn lan và sau 14 ngày hệ sợi nấm đã ăn lan kín bề mặt môi trường và thân nhộng, 18 ngày sau khi cấy giống thì bắt đầu xuất hiện quả thể. Tỷ lệ nhiễm nấm vào thân nhộng trong công thức này rất cao (90% nhộng tằm có hệ sợi nấm ăn

lan phát triển tốt), quả thể thu được có kích thước lớn với chiều dài trung bình 5 cm, đường kính 3 - 4 mm, quả thể có màu cam đậm (hình 5). Từ kết quả thu được có thể nhận thấy nuôi cấy nấm trên thân nhộng tằm theo công thức tiếp giống TG3 cho hiệu quả tốt nhất.



Hình 5. Sự phát triển của chủng nấm *C.militaris* C1.1 trên thân nhộng tằm trong công thức tiếp giống TG3

A- hệ sợi nấm bắt đầu ăn lan trên cơ chất và thân nhộng; B - hệ sợi ăn lan kín môi trường; C, D - quả thể nấm trên thân nhộng

IV. KẾT LUẬN

- Thành phần môi trường rắn phù hợp cho nhân giống chủng nấm *C.militaris* C1.1 là 20 g/l glucose + 2,5 g/l pepton + 2,5 g/l cao nấm

men + 0,5 g/l $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ + 0,25 g/l KH_2PO_4 + 14 g/l agar.

- Môi trường tổng hợp gồm: 30 g Gạo lứt/bình + 4% bột nhộng tằm khô + 50 ml dịch

khoáng (100 ml/l nước dừa + 200 g/l khoai tây (lấy dịch chiết) + 1 g/l vitamin B1 + 0,5 g/l MgSO₄.7H₂O + 0,25 g/l KH₂PO₄) phù hợp cho nuôi cấy chủng nấm *C.militaris* C1.1, cho số lượng quả thể nhiều nhất; hệ sợi phát triển nhanh, thời gian hình thành quả thể ngắn, quả thể có kích thước lớn.

- Phương thức tiếp giống: Đặt nhộng tằm vào bình có lót một lớp cơ chất bên dưới (15 g gạo lứt/bình + 25 ml dịch khoáng) và phun dịch giống lên trên bề mặt nhộng tằm và lớp cơ chất, cho hiệu quả nhộng tằm nhiễm nấm cao nhất (90%) và phát triển quả thể tốt.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Ahn YJ., Park SJ., Lee SG., Shin SC., Choi DH. (2000). Cordycepin: selective growth inhibitor derived from liquid culture of *Cordyceps militaris* against *Clostridium* spp.. *J. Agric. Food Chem.*, 48, 2744-2748.
2. Das SK., Masuda M., Mikio S. (2010). Medicinal uses of the mushroom *Cordyceps militaris*: current state and prospects. *Fitoterapia*. 81:961-968.
3. Dong J, Lei C., Ai X., Wang Y. (2012). Selenium enrichment on *Cordyceps militaris* Link and analysis on its main active components. *Applied Biochemistry and Biotechnology*. 166:1215-1224.
4. Kim GY., Ko WS., Lee JY., Lee JO., Ryu CH., Choi BT., Park YM., Jeong YK., Lee KJ., Choi KS., Heo MS., Choi YH. (2006). Water extract of *Cordyceps*

militaris enhances maturation of murine bone marrow-derived dendritic cells in vitro. *Biol. Pharm. Bull.* 29, 354-360.

5. Li N., Song JG., Liu JY., Zhang H. (1995). Compared chemical composition between *Cordyceps militaris* and *Cordyceps sinensis*. *Journal of Jilin Agriculture University* 17, 80-83.

6. Li SP., Yang FQ., Tsim KWK. (2006). Quality control of *Cordyceps sinensis*, a valued traditional Chinese medicine. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 41, 1571-84.

7. Liu ZY., Yao YJ., Liang ZQ. (2001). Molecular evidence for the anamorphteleomorph connection in *Cordyceps sinensis*. *Mycological Research*. 105: 827-832.

8. Nan JX., Park EJ., Yang BK., Song CH., Ko G., Sohn DH. (2001). Antifibrotic effect of extracellular biopolymer from submerged mycelial cultures of *Cordyceps militaris* on liver fibrosis induced by bile duct ligation and scission in rats. *Arch. Pharm. Res.* 24, 327-332.

9. Stone R. (2008). Last stand for the body snatcher of the Himalayas? *Science*. 322:1182.

10. Sung JM. (1996). The insects-born fungus of Korean color. Kyohak Publishing Co. Ltd., Seoul.

11. Wang GD. (1995). Ecology, cultivation and application of *Cordyceps* and *Cordyceps sinensis*. Scientific and Technical Documents, Beijing.

12. Wang JF., Yang CQ. (2006). Research survey on artificial cultivation and product development of *Cordyceps militaris*. *Lishizhen Medicine And Material Medical Research*. 17:268-269.

CULTIVATION OF *Cordyceps militaris* ON ARTIFICIAL SUBSTRATES AND SILKWORM PUPAE

Nguyen Thi Minh Hang¹, Bui Van Thang²

^{1,2}Vietnam National University of Forestry

SUMMARY

Cordyceps militaris is a precious medicinal mushroom with high economic value that is over-exploited leading to scarcity in nature. The cultivation procedure of *C. militaris* on artificial substrates and silkworm pupae under in vitro condition has been carried out successfully. The results showed that cultivation of *C. militaris* on the medium containing 30g brown rice/flask, 4% dry powder of silkworm pupae, and 50 ml of mineral fluid (100 ml/l coconut water + 200 g/l potato + 1 g/l vitamin B1 + 0.5 g/l MgSO₄.7H₂O + 0.25 g/l KH₂PO₄) produced high numbers of fruit bodies (average 55 fruit bodies / 400ml flask), fast growing mycelium, shorter fruit body producing period, and large fruit body size. Whole silkworm pupae were put on the substrates (15 g brown rice/flask + 25 ml mineral fluid) and then they were sprayed by hyphal body suspension of *C. militaris*. 90% of silkworm pupae was infected after 14 days and development of fruit bodies was greater. The best conditions for mycelial growth and fruit body development were at 22°C, light intensity 1000 lux for 14 hours/day, and humidity 85%. This technique could be applied to produce the fruit body of *C. militaris* to meet the demand of the market.

Keywords: Artificial substrates, *Cordyceps militaris*, cultivation, fruit body, silkworm pupa.

Ngày nhận bài : 24/7/2017

Ngày phản biện : 31/7/2017

Ngày quyết định đăng : 11/8/2017