

ĐÁNH GIÁ NĂNG SUẤT VÀ HIỆU SUẤT CHUYỂN HÓA SINH HỌC CỦA NẤM ĐÔNG TRÙNG HẠ THẢO (*Cordyceps militaris*) TRÊN CƠ CHẤT KHOAI LANG

Nguyễn Thị Pha Ly^{1*}, Hà Huỳnh Hồng Vũ¹ và Võ Duy Hoàng¹

¹Khoa Nông nghiệp, Tài nguyên và Môi trường, Trường Đại học Đồng Tháp

TÓM TẮT

Nghiên cứu được thực hiện nhằm tuyển chọn cơ chất bổ sung khoai lang để nuôi trồng nấm đông trùng hạ thảo (*Cordyceps militaris*) đạt sản lượng nấm tươi và hiệu suất chuyển hóa sinh học cao. Trong số 8 môi trường nhân giống cấp 1, *C. militaris* phát triển hệ sợi nhanh nhất trên môi trường Martin's peptone dextrose agar (MPDA; dextrose 10 g/l, peptone 5 g/l, $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ 0,5 g/l, KH_2PO_4 1 g/l, agar 20 g/l, pH 6,0) sau 28 ngày ủ. Khối lượng khô hệ sợi đạt 13,5 - 13,7 g/l sau 144 giờ nhân giống trên môi trường YM bổ sung khoáng. Trong thử nghiệm đánh giá sự phát triển của *C. militaris* trên 5 loại cơ chất khoai lang gồm: Khoai lang trắng, khoai lang vàng, khoai lang tím, khoai lang như ngọc và khoai lang sữa, tuyển chọn được cơ chất khoai lang sữa với khối lượng quả thể tươi và hiệu suất chuyển hóa sinh học cao nhất đạt $18,2 \pm 0,7$ g/hộp và $41,0 \pm 1,1\%$. Cơ chất có tỷ lệ phối chế giữa gạo huyết rồng và khoai lang sữa là 2: 1, đạt tổng số lượng nấm $82,3 \pm 0,6$ mầm/hộp, khối lượng nấm tươi $49,6 \pm 0,2$ g/hộp và hiệu suất chuyển hóa sinh học $58,6 \pm 1,0\%$. Hàm lượng hoạt chất adenosine và cordycepin quả thể khô đạt 2.147 mg/kg và 914 mg/kg, khác biệt không đáng kể so với mẫu đối chứng.

Từ khóa: *Cordyceps militaris*, cơ chất khoai lang, hoạt chất sinh học, nấm dược liệu.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Nấm dược liệu từ lâu đã được ứng dụng rộng rãi trong y học, đặc biệt trong hỗ trợ điều trị các bệnh liên quan đến hệ miễn dịch và bệnh mãn tính nhờ chứa nhiều hợp chất có hoạt tính sinh học. Trong đó, *Cordyceps militaris* thuộc giống *Cordyceps*, họ Cordycipitaceae và lớp Ascomycetes, được xem là dược liệu quý trong các loại thảo dược và được sử dụng phổ biến trong y học cổ truyền ở một số nước phương Đông [1]. Quả thể *C. militaris* chứa nhiều hợp chất sinh học quan trọng như: Cordycepin, adenosine, inosine, mannitol, sterol, polysaccharide và pentostatin [2]. Nhiều nghiên cứu đã chứng minh tiềm năng sinh học của *C. militaris* trong hỗ trợ điều trị như kháng tế bào ung thư, chống thiếu máu cơ tim, chống oxy hóa, tăng cường khả năng miễn dịch, kháng viêm, chống sự suy thoái thận, hạ huyết áp ở người cao huyết áp và cải thiện chức năng sinh lý ở nam giới [3 - 5]. Đặc biệt, cordycepin của *C. militaris* còn có tác dụng kháng virus, bao gồm SARS-CoV-2 [6, 7].

Quy trình nuôi trồng *C. militaris* thường được chia thành ba giai đoạn dựa trên đặc điểm sinh trưởng gồm phát triển hệ sợi, hình thành mầm và phát triển tạo quả thể [8]. Trong đó, quá trình nhân giống được tiến hành qua hai cấp gồm giống cấp 1 (nuôi cấy hệ sợi nấm trên môi trường rắn) và giống cấp 2 (nhân giống trên môi trường dịch lỏng). Hiệu suất sinh học và hàm lượng các hợp chất sinh học phụ thuộc vào nhiều yếu tố như điều kiện ánh sáng, nhiệt độ, độ ẩm, pH và các chất dinh dưỡng [9]. Trong đó, cơ chất nuôi trồng là một trong những nhân tố chính ảnh hưởng trực tiếp đến năng suất nấm, đồng thời các cơ chất phổ biến như gạo, nhộng, ngũ cốc, cám gạo, cám mì và hạt lúa mì, đã được sử dụng để sản xuất quả thể và hợp chất sinh học từ *C. militaris* [10, 11].

Gạo huyết rồng là một loại gạo giàu anthocyanin (534,8 mg/100 g), protein (8,90%), vitamin và khoáng chất [12], được quan tâm như một trong những cơ chất tiềm năng để nuôi cấy *C. militaris* nhờ vào giá trị dinh dưỡng cao. Bên

cánh đỏ, khoai lang (*Ipomoea batatas*, họ Convolvulaceae) là một loại nông sản có hàm lượng tinh bột khá cao (22,0 - 27,9%), lượng đường tổng số (sucrose, glucose, fructose) trong khoảng 4,10 - 10,82 g/100 g [13] và được trồng phổ biến ở khu vực đồng bằng sông Cửu Long cũng được xem là nguồn cơ chất bổ sung dinh dưỡng khả thi. Tuy nhiên, hiện vẫn còn ít các nghiên cứu đánh giá về khả năng sinh trưởng và các hợp chất sinh học của *C. militaris* khi được nuôi cấy trên cơ chất phối chế giữa gạo huyết rồng và khoai lang. Vì vậy, nghiên cứu này được thực hiện với mục tiêu là tuyển chọn cơ chất bổ sung khoai lang thích hợp cho quá trình nuôi cấy *C. militaris* đạt năng suất và hiệu suất sinh học. Kết quả nghiên cứu kỳ vọng sẽ cung cấp cơ sở khoa học cho việc tận dụng hiệu quả các nguồn nguyên liệu nông nghiệp địa phương trong sản xuất nấm dược liệu.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Chủng nấm *C. militaris* (accession number MN622777.1) được thu thập ở Phòng thí nghiệm Vi sinh vật, Trường Đại học Đồng Tháp. Chủng nấm này được hoạt hóa trên môi trường potato dextrose agar (PDA; 200 g/l khoai tây, 20 g/l dextrose, 20 g/l agar) ở 25°C trong 20 ngày.

Nguồn nguyên liệu gạo huyết rồng và 5 loại khoai lang (khoai lang trắng, khoai lang vàng, khoai lang tím, khoai lang như ngọc và khoai lang sữa) được thu thập ở chợ Cao Lãnh, thành phố Cao Lãnh, tỉnh Đồng Tháp.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Khảo sát môi trường nhân giống cấp 1

Tám loại môi trường khác nhau được chuẩn bị với thành phần trình bày ở bảng 1, điều chỉnh pH, hấp tiệt trùng ở 121°C trong 15 phút, rót vào đĩa petri (90 × 15 mm) và để nguội. Miếng thạch chứa tơ nấm (4 × 4 mm) đã hoạt hóa được cấy vào các đĩa môi trường và ủ ở 25°C trong tối. Đường kính tơ nấm phát triển trên bề mặt môi trường được đo sau 7, 14, 21 và 28 ngày [14].

Bảng 1. Tên, thành phần và khối lượng các môi trường nhân giống cấp 1

STT	Tên môi trường	Thành phần và khối lượng	Nguồn tham khảo
1	Water agar (WA)	Agar 20 g/l	[15]
2	Yeast malt peptone dextrose agar (YMA)	Dextrose 10 g/l, malt extract 3 g/l, peptone 5 g/l, yeast extract 3 g/l, agar 20 g/l, pH 6,0	[15]
3	Malt yeast agar (MYA)	Dextrose 4 g/l, malt extract 10 g/l, yeast extract 4 g/l, agar 15 g/l, pH 6,0	[16]
4	Malt extract agar (MEA)	Dextrose 20 g/l, malt extract 20 g/l, peptone 1 g/l, agar 20 g/l, pH 5,5	[17]
5	Sabouraud dextrose agar plus yeast extract (SDAY)	Dextrose 40 g/l, peptone 10 g/l, yeast extract 10 g/l, agar 15 g/l, pH 5,6	[18]
6	Martin's peptone dextrose agar (MPDA)	Dextrose 10 g/l, peptone 5 g/l, $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ 0,5 g/l, KH_2PO_4 1 g/l, agar 20 g/l, pH 6,0	[16]
7	Sabouraud dextrose agar (SDA)	Dextrose 40 g/l, peptone 10 g/l, agar 15 g/l, pH 5,6	[19]
8	Yeast extract (MCM)	Dextrose 20 g/l, peptone 2 g/l, yeast extract 2 g/l, $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ 0,5 g/l, KH_2PO_4 0,46 g/l, K_2HPO_4 1 g/l, agar 20 g/l, pH 7,0	[19]

2.2.2. Khảo sát thời gian nhân giống cấp 2

Nấm *C. militaris* được nuôi cấy trên môi trường đã được chọn ở nội dung 2.2.1, miếng thạch chứa tơ nấm (4 × 4 mm) được cấy vào bình tam giác 500 ml chứa 250 ml môi trường YM bổ

sung khoáng (20 g/l dextrose, 3 g/l malt extract, 5 g/l peptone, 3 g/l yeast extract, 0,25 g/l KH_2PO_4 , 1 g/l K_2HPO_4 , 1 g/l $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$) đã được thanh trùng ở 121°C trong 15 phút. Mẫu được ủ lác 7 ngày ở 25°C với tốc độ 120

vòng/phút trong tối. Mẫu nuôi với 3 lần lặp lại, giống dịch thể ở mỗi ngày ủ được ly tâm ở tốc độ 4.000 vòng/phút trong 20 phút, thu lấy phần cặn và rửa 3 lần với nước cất, sấy ở 60°C trong 24 giờ, cân khối lượng khô [20].

2.2.3. Đánh giá năng suất và hiệu suất chuyển hóa sinh học của *C. militaris* trên các cơ chất khoai lang

Cân 30 g mỗi loại cơ chất khoai lang (khoai lang trắng, khoai lang vàng, khoai lang tím, khoai lang như ngọc và khoai lang sữa), 10 g nhộng tằm và 60 ml môi trường YM bổ sung khoáng cho vào hộp polypropylene (thể tích 700 ml, cao 10 cm, đường kính miệng 12 cm). Hấp tiệt trùng hộp môi trường ở 121°C, 20 phút và để nguội. Mỗi hộp môi trường được cấy 10 ml giống cấp 2 và ủ trong điều kiện tối ở 22°C và độ ẩm duy trì ở khoảng 60 - 70%. Sau khi tơ nấm lan kín cơ chất thì kích thích tạo quả thể ở 20°C, độ ẩm 85 - 90%, chu kỳ ngày/đêm là 12: 12 giờ với cường độ chiếu sáng 500 lux. Quả thể trưởng thành được thu hoạch sau 50 - 60 ngày ủ. Theo dõi thời gian hình thành quả thể (ngày), tổng số mầm sau 30 ngày ủ (mầm/hộp), chiều dài (mm) và khối lượng quả thể tươi (g/hộp), hiệu suất chuyển hóa sinh học (BE) theo công thức của Nguyen và cs (2019) [21].

$$BE (\%) = \frac{\text{khối lượng quả thể khô}}{\text{khối lượng cơ chất khô}} \times 100$$

2.2.4. Khảo sát cơ chất với các tỷ lệ phối chế giữa gạo huyết rồng và khoai lang

Trong thí nghiệm này, cơ chất có các tỷ lệ phối chế giữa gạo và khoai lang lần lượt là 2: 1 (2G1K), 1: 1 (1G1K), 1: 2 (1G2K) và mẫu đối chứng (ĐC) là cơ chất 100% gạo huyết rồng. Cân 30 g cơ chất đã phối chế theo các tỷ lệ, bổ sung thêm 10 g nhộng tằm và 60 ml môi trường YM bổ sung khoáng cho vào hộp polypropylene. Hộp môi trường được hấp tiệt trùng, cấy giống, nuôi ủ và thu hoạch với các thông số tương tự mục 2.2.3. Theo dõi tổng số mầm sau 30 ngày ủ (mầm/hộp), khối lượng quả thể tươi (g/hộp) và hiệu suất chuyển hóa sinh học (%).

Quả thể của cơ chất phối chế có năng suất và hiệu suất chuyển hóa sinh học cao được phân tích hàm lượng hoạt chất adenosine và

cordycepin bằng phương pháp HPLC. Hai hoạt chất này được chiết bằng ethanol/nước (tỷ lệ 1: 1), phá vỡ cấu trúc bằng sóng siêu âm ở tần suất 40 kHz trong 15 phút, không gia nhiệt. Sau khi lọc và được tách qua cột pha đảo C18. Dung dịch chiết được xác định bằng đầu dò UV ở bước sóng 260 nm. Chất chuẩn adenosine (độ tinh khiết $\geq 99\%$, Sigma - Aldrich, Merck, Đức) và cordycepin (độ tinh khiết $> 95\%$, LGC Group, Canada) được sử dụng. Pha động sử dụng dung dịch đệm methanolacetate (pH = 5,2; tỷ lệ 1: 9 v/v) trên máy HPLC đầu dò UV (Prominence-i LC 2030 Plus, Shimadzu Corporation, Nhật Bản). Việc thu thập và phân tích dữ liệu được thực hiện bằng phần mềm Empower PDA (Waters Corporation) [22].

2.2.5. Phương pháp xử lý số liệu

Số liệu thí nghiệm được xử lý bằng Microsoft Excel 2021 (Microsoft Corporation, Hoa Kỳ) và thống kê bằng phần mềm Statgraphics 19 (Statgraphics Technologies, Inc., Hoa Kỳ).

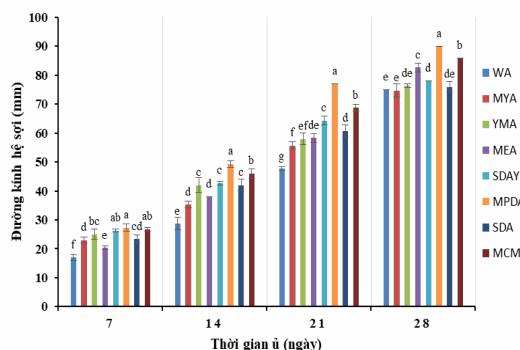
3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Xác định môi trường nhân giống cấp 1

Môi trường nuôi cấy đóng vai trò quan trọng trong việc tối ưu hóa sự phát triển hệ sợi ở các loài *Cordyceps*. Trong thí nghiệm này, 8 loại môi trường từ nghèo dinh dưỡng đến giàu dinh dưỡng được sử dụng để đánh giá khả năng sinh trưởng và phát triển của *C. militaris* ở các khoảng thời gian ủ khác nhau.

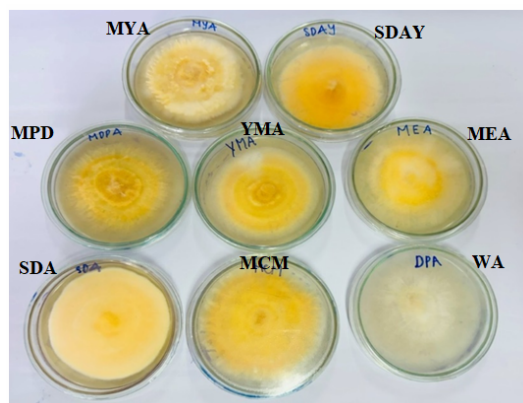
Kết quả ở hình 1 cho thấy, đường kính hệ sợi tăng liên tục sau mỗi tuần ủ và ở ngày thứ 28 trên môi trường MPDA tơ nấm đã lan hết bề mặt đĩa. Ở thời điểm 21 ngày ủ thì đường kính hệ sợi tăng mạnh từ 18 - 28 mm so với 14 ngày ủ, sau đó tốc độ phát triển chậm lại ở 28 ngày ủ. Hệ sợi *C. militaris* có thể phát triển trên tất cả 8 loại môi trường với mật độ hệ sợi dày, ngoại trừ môi trường WA (Hình 2). Trong đó, đường kính hệ sợi đạt giá trị cao nhất trên 2 loại môi trường bổ sung khoáng như MPDA ($90,0 \pm 0,0$ mm) và MCM ($86,0 \pm 0,0$ mm). Mặc dù, môi trường SDAY và SDA chứa hàm lượng các-bon cao hơn YMA và MEA nhưng đường kính hệ sợi tương đương với YMA và MEA, cụ thể đường kính hệ

sợi dao động từ 76 - 82 mm. *C. militaris* phát triển kém nhất trên 2 môi trường MYA và WA với đường kính hệ sợi thấp hơn từ 15,0 - 15,3 mm so với môi trường MPDA.



Hình 1. Sự phát triển hệ sợi của *C. militaris* trên các môi trường khác nhau

Ghi chú: Các cột trong cùng một khoảng thời gian có mẫu tự giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê với độ tin cậy 95%.

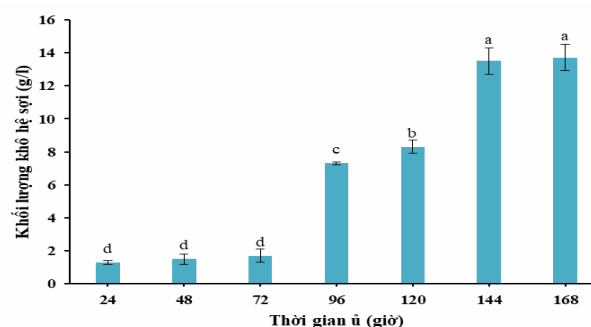


Hình 2. Đặc tính hệ sợi *C. militaris* trên các loại môi trường sau 28 ngày ủ

Kết quả này khác biệt với kết quả nghiên cứu của Vũ Hoài Nam và cs. (2020), môi trường nhân giống cấp 1 tối ưu là môi trường PDA bổ sung 10 g/l peptone với đường kính khuẩn lạc đạt 9,7 cm sau 20 ngày nuôi cấy ở 23°C [23]. Theo Rathí và cs (2023) *C. militaris* phát triển hệ sợi tốt nhất trên môi trường Vogel với đường kính khuẩn lạc là 5,7 cm sau 20 ngày ở 25°C [24]. Theo Gour và cs (2021), *C. militaris* phát triển hệ sợi tối đa trên môi trường CDA (Czapek Dox Agar) ở 20°C [25]. Sự khác biệt về tốc độ phát triển hệ sợi của *C. militaris* giữa các nghiên cứu có thể xuất phát từ nhiều nguyên nhân, bao gồm thành phần môi trường nuôi cấy, điều kiện

nuôi ủ và đặc điểm sinh lý riêng của từng chủng nấm được sử dụng [25, 26]. Như vậy, môi trường nhân giống cấp 1 cho thấy, khả năng lan tỏa nấm nhiều nhất trong các môi trường thử nghiệm là MPDA.

3.2. Thời gian nhân giống cấp 2



Hình 3. Khối lượng khô hệ sợi *C. militaris* được nuôi cấy chìm

Ghi chú: Các cột có mẫu tự giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê với độ tin cậy 95%.

Sinh khối hệ sợi của *C. militaris* trong điều kiện nuôi cấy chìm ở các thời gian ủ khác nhau lần lượt được trình bày trong hình 3. Kết quả cho thấy, khối lượng sinh khối thấp nhất trong 3 ngày đầu ủ với khối lượng hệ sợi dao động từ 1,3 - 1,7 g/l và kích thước các hạt pellet nhỏ. Sau 96 và 120 giờ ủ thì tốc độ phát triển tăng mạnh, cụ thể khối lượng hệ sợi tăng từ 5,6 - 6,6 g/l. Đặc biệt, khối lượng sinh khối cao nhất đạt được sau 144 và 168 giờ ủ, lần lượt 13,5 ± 0,8 g/l và 13,7 ± 0,8 g/l, khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$). Vì vậy, thời gian nhân giống cấp 2 có thể được xác định ở 144 giờ. Kết quả này tương đồng với kết quả nghiên cứu của Nguyen và cs (2020), theo đó sản lượng sinh khối cao nhất đạt được ở dòng DT4 và DT3 sau 6 ngày kể từ khi cấy lần lượt là 11,08 ± 0,65 g/l và 11,04 ± 0,18 g/l [27]. Theo Mani và cs (2015), sinh khối hệ sợi đạt giá trị cao trên môi trường PMP broth (11,67 ± 0,25 g/l) và sucrose broth (11,63 ± 0,28 g/l) sau 5 ngày ủ [28].

3.3. Năng suất và hiệu suất chuyển hóa sinh học của *C. militaris* trên các cơ chất khoai lang

Cơ chất và chủng nấm là các yếu tố quan trọng đối với năng suất và hàm lượng các hoạt

chất sinh học trong quá trình nuôi trồng *C. militaris* trên 5 loại cơ chất khoai lang được khảo sát. Kết quả được thể hiện ở bảng 2.

Bảng 2. Năng suất và hiệu suất chuyển hóa sinh học của *C. militaris* được nuôi trồng trên các loại cơ chất khoai lang khác nhau

STT	Cơ chất khoai lang	Thời gian hình thành quả thể (ngày)	Tổng số mầm (mầm/hộp)	Chiều dài quả thể (mm)	Khối lượng quả thể tươi (g/hộp)	Khối lượng cơ chất khô (g/hộp)	BE (%)
1	Trắng	16,0 ± 0,0 ^a	31,7 ± 0,6 ^c	48,0 ± 1,0 ^d	11,3 ± 0,2 ^c	6,3 ± 0,0	22,2 ± 0,4 ^c
2	Vàng	16,7 ± 0,6 ^a	26,7 ± 1,5 ^d	51,7 ± 1,5 ^c	11,7 ± 0,5 ^c	6,3 ± 0,0	23,1 ± 1,1 ^c
3	Tím	14,0 ± 0,0 ^b	41,0 ± 1,0 ^a	67,7 ± 1,5 ^a	18,2 ± 0,2 ^a	7,3 ± 0,4	31,3 ± 1,4 ^b
4	Như ngọc	14,3 ± 0,6 ^b	30,3 ± 0,6 ^c	53,7 ± 0,6 ^c	13,9 ± 0,3 ^b	9,6 ± 0,1	18,1 ± 0,3 ^d
5	Sữa	17,3 ± 1,5 ^a	34,7 ± 1,2 ^b	62,0 ± 2,0 ^b	18,2 ± 0,7 ^a	5,6 ± 0,4	41,0 ± 1,1 ^a

Ghi chú: Các số liệu trong bảng là giá trị trung bình của 3 lần lặp lại. Các giá trị có mẫu tự giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê với độ tin cậy 95%.

Kết quả ở bảng 2 cho thấy, thời gian hình thành quả thể trong khoảng 14,0 - 17,3 ngày trên 5 loại cơ chất khoai lang, trong đó cơ chất khoai lang tím và như ngọc hình thành quả thể sớm nhất, lần lượt là 14,0 ± 0,0 và 14,3 ± 0,6 ngày sau ủ, ngắn hơn từ 3,0 - 3,3 ngày so với các cơ chất còn lại. Tổng số lượng mầm và chiều dài quả thể trên tất cả các cơ chất dao động khoảng 26,7 - 41,0 mầm/hộp và 48,0 - 67,7 mm, đặc biệt trên cơ chất khoai lang tím (41,0 ± 1,0 mầm/hộp và 67,7 ± 1,5 mm) và khoai lang sữa (34,7 ± 1,2 mầm/hộp và 62,0 ± 2,0 mm), cao hơn so với 3 cơ chất còn lại. Năng suất cao nhất trên cơ chất khoai lang tím và sữa đạt 18,2 g/hộp, khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở độ tin cậy 95%, tiếp theo là khoai lang như ngọc (13,9 g/hộp) và thấp nhất là khoai lang trắng và vàng (11,3 và 11,7 g/hộp). Hiệu suất chuyển hóa sinh học đạt cao nhất trên cơ chất khoai lang sữa (41,0 ± 1,1%), tiếp theo là khoai lang tím (31,3 ± 1,4%) và thấp nhất trên khoai lang như ngọc (18,1 ± 0,3%). Vì vậy, cơ chất khoai lang sữa được tuyển chọn cho thí nghiệm tiếp theo.

Mặc dù, cơ chất khoai lang sữa cho hiệu suất sinh học cao hơn so với nghiên cứu của Jiaojiao và cs (2018) [30]. Cụ thể, khi nuôi *C. militaris* trên cơ chất lúa mì trong điều kiện stress ánh sáng (10 ngày ở nhiệt độ 20°C và cường độ ánh sáng 6.000 lux) đạt hiệu suất sinh học cao nhất 17,48 ± 0,5% [30]. Tương tự, chủng DT3 khi nuôi trên cơ chất gạo lứt bổ sung bột

nhộng đạt hiệu suất sinh học cao nhất là 8,95 ± 0,07%. Tuy nhiên, kết quả về năng suất thì thấp hơn so với nghiên cứu của Nguyễn Hồng Huế và cs. (2022), khi nuôi cấy *C. militaris* trên cơ chất gạo, đạt năng suất lần lượt từ 22,1 - 30,0 g/hộp, tùy thuộc vào loại gạo [31]. Theo Sharma và cs (2024), trên cơ chất gạo lứt thì năng suất đạt 30,87 g/cơ chất [32]. Do đó, việc phối chế cơ chất giữa gạo và khoai lang sữa được xem là cần thiết nhằm tận dụng ưu điểm về hiệu suất sinh học của cơ chất khoai lang sữa và năng suất cao của cơ chất gạo, từ đó nâng cao hiệu quả nuôi trồng *C. militaris*.

3.4. Cơ chất nuôi cấy với các tỷ lệ phối chế giữa gạo huyết rồng và khoai lang

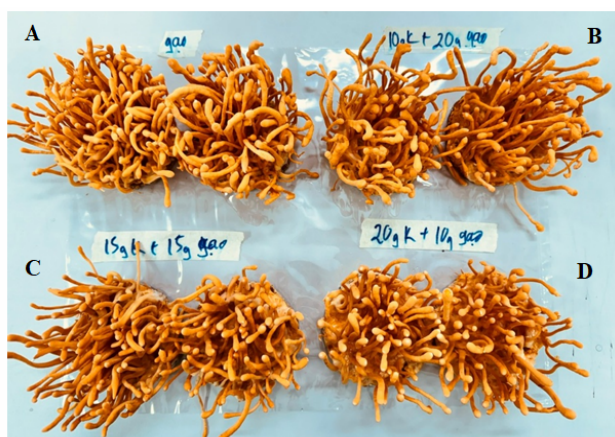
Để xác định tỷ lệ phối chế tối ưu giữa gạo và khoai lang, tiến hành phối chế với các tỷ lệ khác nhau gồm 2: 1, 1: 1 và 1: 2, tương ứng với các nghiệm thức 2G1K, 1G1K và 1G2K. Kết quả thử nghiệm được trình bày ở bảng 3.

Kết quả cho thấy, số lượng mầm có sự khác biệt đáng kể giữa các tỷ lệ phối chế, dao động từ 70,7 ± 1,5 (1G2K) đến 82,3 ± 0,6 (2G1K). So với các tỷ lệ khác, năng suất của 1G2K là thấp nhất, chỉ đạt 36,4 ± 0,5 g/hộp, năng suất của ĐC và 2G1K cao hơn so với 2 tỷ lệ còn lại, lần lượt đạt 52,6 ± 1,1 g/hộp và 49,6 ± 0,2 g/hộp. Đáng chú ý, cơ chất bổ sung khoai lang sữa làm gia tăng hiệu suất chuyển hóa sinh học, trong đó hiệu suất cao nhất là 58,6 ± 1,0% ở 2G1K, 3 tỷ lệ còn lại không có sự khác biệt với BE dao động từ 54,9 - 56,5%.

Bảng 3. Năng suất và hiệu suất chuyển hóa sinh học của *C. militaris* được nuôi trồng trên các cơ chất có tỷ lệ phối chế khác nhau

STT	Nghiệm thức	Tổng số mầm (mầm/hộp)	Khối lượng quả thể tươi (g/hộp)	Khối lượng cơ chất khô (g/hộp)	BE (%)
1	ĐC	81,0 ± 2,0 ^a	52,6 ± 1,1 ^a	12,0 ± 0,2	55,0 ± 1,4 ^b
2	2G1K	82,3 ± 0,6 ^a	49,6 ± 0,2 ^b	10,6 ± 0,1	58,6 ± 1,0 ^a
3	1G1K	76,3 ± 0,6 ^b	44,5 ± 1,0 ^c	9,9 ± 0,1	56,5 ± 0,8 ^b
4	1G2K	70,7 ± 1,5 ^c	36,4 ± 0,5 ^d	8,3 ± 0,1	54,9 ± 0,9 ^b

Ghi chú: Các số liệu trong bảng là giá trị trung bình của 3 lần lặp lại. Các giá trị có mẫu tự giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê với độ tin cậy 95%.



Hình 4. Quả thể *C. militaris* được nuôi trồng trên 4 cơ chất có tỷ lệ phối chế khác nhau

Ghi chú: A: ĐC, B: 2G1K, C: 1G1K, D: 1G2K

Kết quả thu được trong nghiên cứu này cao hơn so với nghiên cứu của Nguyễn Thị Bích Hằng và cs. (2023) [33], khi nuôi trồng *C. militaris* trên cơ chất gạo lứt bổ sung bã đậu nành đã gia tăng khối lượng quả thể và hiệu suất sinh học, lần lượt đạt $28,5 \pm 0,8$ g và $24,3 \pm 1,3\%$. Tương tự, Trần Thanh Thy (2019) ghi nhận việc bổ sung ngũ cốc đã qua sử dụng vào cơ chất cũng cải thiện khối lượng và hiệu suất sinh học, đạt 21,9 g và 27,4%, cao hơn so với cơ chất chỉ bổ sung dinh dưỡng khoáng [34]. Tuy nhiên, các giá trị này vẫn thấp hơn so với kết quả nghiên cứu của Qin và Han (2013), khi bổ sung 10 - 15% cám mì vào cơ chất gạo, hiệu suất sinh học của *C. militaris* đã gia tăng đáng kể so với cơ chất không bổ sung (86,6%) [35].

Tóm lại, nghiệm thức ĐC có năng suất vượt trội và 2G1K có hiệu suất chuyển hóa sinh học cao nhất, nên tiếp tục phân tích hàm lượng hoạt chất adenosine và cordycepin trong quả thể khô (Bảng 4).

Bảng 4. Hàm lượng hoạt chất adenosine và cordycepin

STT	Nghiệm thức	Adenosine (mg/kg)	Cordycepin (mg/kg)
1	ĐC	2.103	857
2	2G1K	2.147	914

Hàm lượng adenosine và cordycepin của mẫu 2G1K lần lượt đạt 2.147 mg/kg và 914 mg/kg, khác biệt không đáng kể so với mẫu ĐC (2.103 mg/kg và 857 mg/kg). Kết quả này tương đồng với kết quả nghiên cứu của Huang và cs (2009), khi hàm lượng adenosine và cordycepin của *C. sinensis* đạt 1.643 mg/kg và 980 mg/kg [22]. Tuy nhiên, hàm lượng adenosine trong nghiên cứu hiện tại cao hơn, trong khi hàm lượng cordycepin lại thấp hơn so với các kết quả nghiên cứu của Liang và cs (2014) [14], Nguyễn Minh Đức và cs. (2017) [36], Trần Thanh Thy và Lê Văn Vàng (2020) [37]. Theo Liang và cs (2014) [10] khi nuôi cấy chủng *C. militaris* H và *C. militaris* L, hàm lượng adenosine cao nhất đạt 940 mg/kg (trên cơ chất Pr+Ye) và 710 mg/kg (trên cơ chất Pb+Ye), trong khi hàm lượng cordycepin đạt tới 25.070 mg/kg và 22.140 mg/kg khi sử dụng cơ chất W + Mg [10]. Tương tự, nghiên cứu của Nguyễn Minh Đức và cs (2017) cho thấy, hàm lượng adenosine đạt 770 mg/kg và cordycepin đạt 10.600 mg/kg, khi nuôi chủng Q1 trên cơ chất gạo và thu hoạch sau 65 ngày. Trong khi đó, Trần Thanh Thy và Lê Văn Vàng (2020) [37] ghi nhận hàm lượng adenosine và cordycepin lần lượt là 710 mg/kg và 5.250 mg/kg khi nuôi *C. militaris* trên vật chủ (*Brihaspa astrostigmella*) trong điều kiện bán nhân tạo.

4. KẾT LUẬN

Chủng *C. militaris* phát triển hệ sợi nhanh nhất trên môi trường MPDA (dextrose 10 g/l, peptone 5 g/l, $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ 0,5 g/l, KH_2PO_4 1 g/l, agar 20 g/l, pH 6,0) với thời gian nhân giống cấp 2 thích hợp là 144 giờ. Trong 5 loại cơ chất khoai lang được khảo sát, cơ chất khoai lang sữa cho khối lượng quả thể $18,2 \pm 0,7$ g/hộp và hiệu suất chuyển hóa sinh học $41,0 \pm 1,1\%$ cao nhất. Việc phối trộn khoai lang với gạo huyết rồng ở nghiệm thức 2G1K và 1G1K đã cải thiện đáng kể hiệu suất sinh học. Đặc biệt, cơ chất phối chế theo tỷ lệ 2: 1 giữa gạo huyết rồng và khoai lang sữa (2G1K) cho hiệu quả cao với tổng số mầm $82,3 \pm 0,6$ mầm/hộp, năng suất $49,6 \pm 0,2$ g/hộp và hiệu suất chuyển hóa sinh học $58,6 \pm 1,0\%$. Hàm lượng adenosine 2.147 mg/kg và cordycepin 914 mg/kg của nghiệm thức 2G1K khác biệt không đáng kể so với mẫu ĐC (adenosine 2.103 mg/kg và cordycepin 857 mg/kg), cho thấy tiềm năng ứng dụng của cơ chất phối chế này trong sản xuất quả thể *C. militaris* có chất lượng từ nguồn nguyên liệu địa phương.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được hỗ trợ bởi đề tài mã số SPD2023.01.11.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Rózsa, M., Apahidean, I. A. & Maniutiu, D. N. (2022). Influence of culture substrate ph on *Cordyceps militaris* mushroom cordycepin content, grown on different solid substrates. *Current Trends in Natural Sciences*, 11(22), 224 - 230.
2. Cui, J. D. (2015). Biotechnological production and applications of *Cordyceps militaris*, a valued traditional Chinese medicine. *Critical Reviews in Biotechnology*, 35(4), 475 - 484.
3. Jedrejko, K. J., Lazur, J. & Muszynska, B. (2021). *Cordyceps militaris*. An overview of its chemical constituents in relation to biological activity. *Foods*, 10, 2634.
4. Zhang, D., Tang, Q., He, X., Wang, Y., Zhu, G. & Yu, L. (2023). Antimicrobial, antioxidant, anti-inflammatory and cytotoxic

activities of *Cordyceps militaris* spent substrate. *PLoS One*, 18(9), e0291363.

5. Kaewkod, T., Ngamsaoad, P., Mayer, K., Cheepchirasuk, N., Promputtha, I. & Tragoolpua, Y. (2024). Antioxidant, antibacteria, and anti-inflammatory effects of *Cordyceps militaris* extracts and their bioactive compounds. *Journal of Food Biochemistry*. <https://doi.org/10.1155/jfbc/1862818>.
6. Verma, A. K. (2020). Cordycepin: A bioactive metabolite of *Cordyceps militaris* and polyadenylation inhibitor with therapeutic potential against COVID-19. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 40(8), 3745 - 3752.
7. Rabie, A. M. (2022). Potent inhibitory activities of the adenosine analogue cordycepin on SARS-CoV-2 replication. *ACS Omega*, 7, 2960 - 2969.
8. Chiang, S., Liang, Z., Wang, Y. & Liang, C. (2017). Effect of lightemitting diodes on the production of cordycepin, mannitol and adenosine in solid-state fermented rice by *Cordyceps militaris*. *Journal of Food Composition and Analysis*, 60, 51 - 56.
9. Chamyuang, S., Owatworakit, A., & Honda, Y. (2019). New insights into cordycepin production in *Cordyceps militaris* and applications. *Annals of Translational Medicine*, 7(3), 9 - 11.
10. Liang, Z. C., Liang, C. H. & Wu, C. Y. (2014). Various grain substrates for the production of fruiting bodies and bioactive compounds of the medicinal caterpillar mushroom, *Cordyceps militaris* (Ascomycetes). *International Journal of Medicinal Mushrooms*, 16(6), 569 - 578.
11. Nguyễn Hồng Huế, Lâm Tuấn Kiệt, Nguyễn Thị Thu Thảo, Lê Vinh Thúc, Nguyễn Quốc Khương, và Trần Ngọc Hữu (2021). Ảnh hưởng của các loại cơ chất đến sinh trưởng, phát triển và năng suất nấm *Cordyceps militaris*. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Nông nghiệp*, 6(1), 2841 - 2849.
12. Tạ Hồng Linh và Chu Đức Hà (2021). Nghiên cứu một số biện pháp kỹ thuật canh tác cho giống lúa thảo dược huyết rồng tại tỉnh Quảng Trị. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ, Đại học Thái Nguyên*, 227(1), 3 - 9.

13. Huỳnh Xuân Phong, Hồ Minh Thuận, Nguyễn Ngọc Thanh và Ngô Thị Phương Dung (2018). Thử nghiệm sản xuất rượu khoai lang sử dụng *Amylomyces rouxii* và *Saccharomyces cerevisiae*. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ, Đại học Thái Nguyên*, 36a, 66-74.
14. Shrestha, B., Lee, W. H., Han, S. K. & Sung, J. M. (2006). Observations on some of the mycelial growth and pigmentation characteristics of *Cordyceps militaris* isolates. *Mycobiology*, 34(2), 83 - 91.
15. Stevens, R. B. (1981). *Mycology guidebook*. University of Washington Press, Seattle.
16. Tuite, J. (1969). *Plant Pathological Methods*. Burgess Publishing Company, Minneapolis, Minnesota.
17. Atlas, R. M. (1993). *Handbook of Microbiological Media*. CRC Press, Boca Raton.
18. Stockdale, P. M. (1971). *Fungi Pathogenic for Man and Animals: I. Diseases of the Keratinized Tissues*. Academic Press, London.
19. Johnston, A. & Booth, C. (1983). *Plant Pathologist's Pocketbook 2nd*. Commonwealth Agricultural Bureaux, The Commonwealth Mycological Institute, Kew.
20. Lee, S. K., Lee, J. H., Kim, H. R., Chun, Y., Lee, J. H., Park, C., Yoo, H. Y. & Kim, S. W (2021). Rapid and concise quantification of mycelial growth by microscopic image intensity model and application to mass cultivation of fungi. *Scientific Reports*, 11, 24157. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-03512-4>.
21. Nguyen, B. T. T., Ngo, N. X., Le, V. V., Nguyen, L. T., Kana, R., & Nguyen, H. D. (2019). Optimal culture conditions for mycelial growth and fruiting body formation of Ling Zhi mushroom *Ganoderma lucidum* strain GA3. *Vietnam Journal of Science and Technology*, 61(1), 62 - 67.
22. Huang, L., Li, Q., Chen, Y., Wang, X. & Zhou, X. (2009). Determination and analysis of cordycepin and adenosine in the products of *Cordyceps* spp.. *African Journal of Microbiology Research*, 3(12), 957 - 961.
23. Vũ Hoài Nam, Ma Thị Trang, Trần Văn Phùng, Nguyễn Huy Thuận và Dương Văn Cường (2020). Nghiên cứu ảnh hưởng của môi trường nhân giống cấp 1 tới khả năng hình thành quả thể của nấm Đông trùng hạ thảo *Cordyceps militaris*. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Việt Nam*, 62(2), 40 - 43.
24. Rathi, A., Singh, C. & Vyas, D. (2023). Mycelial growth and pigmentation of *Cordyceps militaris* and its visual correlation with metabolites grown on different culture media. *Research Journal of Agricultural Sciences*, 14(05), 1305 - 1308.
25. Gour, S. S., Agnihotri, V. K., Singh, S., Rai, P. K. & Choure, K. (2021). Growth media optimization strategies to achieve higher mycelial and fruiting body yield of *Cordyceps militaris* for large scale production. *Ecology, Environment and Conservation*, 27, 461 - 467.
26. Shih, I. L., Tsai, K. L. & Hsieh, C. (2007). Effects of culture conditions on the mycelial growth and bioactive metabolite production in submerged culture of *Cordyceps militaris*. *Biochemical Engineering Journal*, 33, 193 - 201.
27. Nguyen, L. T., Le, V. V., Nguyen, T. B. T., Ngo, X. N., Nguyen, T. H. T., Nguyen, D. Q., & Mulla, S. (2020). Cultural characteristics and cordycepin production of some *Cordyceps militaris* strains under artificial cultivation conditions. *Journal of Biotechnology, Computational Biology and Bionanotechnology*, 101(2), 135 - 145.
28. Mani, A., Patel, J., Kalam, S., Singh, R. & Sandhu, S. S. (2015). Evaluation of mycelial and exo-polysaccharide production from *Cordyceps militaris*. *Journal of Applied Sciences and Engineering Research*, 4(5), 609 - 619.
29. Tao, S. X., Xue, D., Lu, Z. H. & Huang, H. L. (2020). Effects of substrates on the production of fruiting bodies and the bioactive components by different *Cordyceps militaris* strains (Ascomycetes). *International Journal of Medicinal Mushrooms*, 22(1), 55 - 63.
30. Jiaojiao, Z., Fen, W., Kuanbo, L., Qing, L., Ying, Y. & Caihong, D. (2018). Heat and light stresses affect metabolite production in the fruit body of the medicinal mushroom *Cordyceps*

militaris. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 102, 4523 - 4533.

31. Nguyễn Hồng Huế, Lâm Tuấn Kiệt, Nguyễn Thị Thu Thảo, Lê Vĩnh Thúc, Nguyễn Quốc Khương và Trần Ngọc Hữu (2022). Ảnh hưởng của các loại cơ chất đến sinh trưởng, phát triển và năng suất nấm *Cordyceps militaris*. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ nông nghiệp*, 6(1), 2841 - 2849.

32. Sharma, A., Sharma, V. & Kumar, A. (2024). Comparative analysis of *Cordyceps militaris* growth on brown rice substrate: Insights into morphology, wet weight, dry weight, and cordycepin level. *African Journal of Biomedical Research*, 27(3s), 4487 - 4494.

33. Nguyễn Thị Bích Hằng, Triệu Thy Hòa, và Đoàn Chí Cường (2023). Đặc điểm của nấm đông trùng hạ thảo (*Cordyceps militaris*) nuôi trồng trên cơ chất bã đậu nành. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ, Đại học Đà Nẵng*, 21(1), 38 - 42.

34. Trần Thanh Thy (2019). Nghiên cứu môi trường rắn làm tăng hàm lượng Cordycepin và Adenosine của nấm *Cordyceps militaris*. *Tạp chí Khoa học, Đại học Cần Thơ*, 55(2), 27 - 33.

35. Qin, X. & Han, D. (2013). The optimization study on solid culture medium of North Cordyceps. *Advanced Materials Research*, 781 - 784, 884 - 888.

36. Nguyễn Minh Đức, Nguyễn Thị Phương Đoài, Trần Thị Thu Hà, Trần Đăng Khánh, & Khuất Hữu Trung (2017). Nghiên cứu ảnh hưởng của môi trường dinh dưỡng và điều kiện nuôi cấy nhân tạo đến sinh trưởng phát triển của nấm *Cordyceps militaris*. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Việt Nam*, 20(9), 6 - 12.

37. Trần Thanh Thy & Lê Văn Vàng (2020). Nghiên cứu môi trường thích hợp nhân nuôi nấm *Cordyceps militaris* trên vật chủ. *Tạp chí Khoa học, Đại học Cần Thơ*, 56(5B), 125 - 134.

EVALUATION OF YIELD AND BIOLOGICAL EFFICIENCY OF *Cordyceps militaris* ON SWEET POTATO SUBSTRATES

Nguyen Thi Pha Ly¹, Ha Huynh Hong Vu¹, Vo Duy Hoang¹

¹ Faculty of Agriculture, Natural Resources and Environment, Dong Thap University

Abstract

The study was conducted to select sweet potato-supplemented substrate for cultivating *Cordyceps militaris* to achieve the highest yield of fresh mushroom and biological efficiency. In this study, among the eight primary spawn media, *C. militaris* exhibited the fastest mycelial growth on Martin's peptone dextrose agar (MPDA; composed of 10 g/l dextrose, 5 g/l peptone, 0.5 g/l $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$, 1 g/l KH_2PO_4 , 20 g/l agar, pH 6.0) after 28 days of incubation. The mycelial dry weight ranged from 13.5 to 13.7 g/l after 144 hours of cultivation on YM medium supplemented with minerals. In the experiment evaluating the growth of *C. militaris* on five types of sweet potato substrates (white sweet potato, yellow sweet potato, purple sweet potato, ruby sweet potato and creamy sweet potato), the creamy sweet potato substrate was selected for producing the highest yield and biological efficiency, with values of 18.2 ± 0.7 g/bottle and $41.0 \pm 1.1\%$, respectively. The substrate with the optimal mixing proportion between red rice (Huyet rong) and creamy sweet potato was 2: 1, achieving the highest total number of primordia 82.3 ± 0.6 primordia/bottle, fruiting body weight 49.6 ± 0.2 g/bottle, and biological efficiency $58.6 \pm 1.0\%$. The adenosine and cordycepin concentration in the dried fruiting bodies reached 2,147 mg/kg and 914 mg/kg, respectively, equivalent to the control sample.

Keywords: *Cordyceps militaris*, sweet potato substrate, bioactive compounds, medicinal mushroom.

Ngày nhận bài: 20/1/2025

Ngày chuyển phản biện: 9/2/2025

Ngày thông qua phản biện: 20/3/2025

Ngày duyệt đăng: 14/5/2025