

ĐÁNH GIÁ ẢNH HƯỞNG CỦA ĐIỀU KIỆN NUÔI TRỒNG TỐI KHẢ NĂNG TẠO QUẢ THỂ CỦA NẤM ĐÔNG TRÙNG HẠ THẢO *CORDYCEPS MILITARIS*

Đỗ Tuấn Bách¹, Vũ Hoài Nam¹, Ma Thị Trang,¹
Hà Văn Hương², Nguyễn Mạnh Cường²,
Nguyễn Huy Thuận³, Dương Văn Cường^{1*}

¹Viện Khoa học sự sống – DH Thái Nguyên

²Trường DH Nông lâm – DH Thái Nguyên

³Đại học Duy Tân Đà Nẵng

TÓM TẮT

Đông trùng hạ thảo là một loại nấm ký sinh có giá trị dược lý cao, từ lâu đã được sử dụng trong y học cổ truyền. Do có ứng dụng lớn trong việc hỗ trợ chữa trị ung thư, bảo vệ tim mạch và điều hòa miễn dịch, nguồn Đông trùng hạ thảo ngoài tự nhiên đang bị khai thác cạn kiệt. Nhằm đáp ứng nhu cầu ngày càng cao của thị trường, việc nuôi cấy Đông trùng hạ thảo trên môi trường giá thể nhân tạo rất được quan tâm. Trong nghiên cứu này, chúng tôi khảo sát một số môi trường dinh dưỡng và điều kiện nhiệt độ tối ưu hình thành và phát triển của quả thể nấm. Giá thể được sử dụng là gạo lứt. Dung dịch dinh dưỡng tối ưu thu được gồm glucose 40 g/L, peptone 5 g/L, MgSO₄.7H₂O 1,5g/L, K₂HPO₄ 1,5 g/L, NAA 1 mg/L, bột nhộng tằm 3%. Điều kiện nhiệt độ duy trì ở mức 12h chiếu sáng ở 25°C-12h tối ở 20°C. Quả thể nuôi trồng trên môi trường tối ưu có hàm lượng cordycepin đạt 4,33±0,08 mg/g khô, cho thấy tiềm năng ứng dụng quy trình trên quy mô công nghiệp.

Từ khóa: Đông trùng hạ thảo, cordycepin, quả thể, tối ưu, môi trường dinh dưỡng

MỞ ĐẦU

Đông trùng hạ thảo (*Cordyceps militaries*) là một loài nấm ký sinh thuộc chi Ascomycota; từ lâu đã được coi là một loại dược liệu quý trong y học cổ truyền Trung Quốc [12]. Ngày nay, với sự phát triển của y học hiện đại, các thành phần hợp chất trong *Cordyceps* đã được xác định có hoạt chất sinh học quý giá như: Cordycepin có tác dụng ức chế sự phân hạch và trì hoãn sự lây lan của các tế bào ung thư, Adenosine có tác dụng điều hòa miễn dịch, bảo vệ tim mạch, manitol làm tăng độ thấm thấu của huyết tương và dịch trong ống thận, gây lợi niệu thẩm thấu và làm tăng lưu lượng máu thận... [1], [6], [8], [11].

Do có giá trị dược lý cao, *Cordyceps* trong tự nhiên đang được săn đón với giá thành lên tới hàng tỷ đồng. Ngày nay, khi lượng *Cordyceps* ngoài thiên nhiên ngày càng khan hiếm và bị ngăn cấm thu hoạch thì việc trồng nhân tạo để thu sinh khối được thực hiện như là một giải pháp thay thế nhằm giảm bớt giá thành, đảm

bảo nguồn cung. Trong các phương pháp nuôi cấy *Cordyceps* nhân tạo, phương pháp sử dụng môi trường rắn có nhiều ưu điểm như: chi phí thấp, hiệu quả, sử dụng lượng nước ít, giảm được chi phí xử lý nước thải và tiêu thụ năng lượng thấp. Hơn nữa các báo cáo trước đây đã chứng minh rằng trên quả thể của nấm có chứa nhiều các hoạt tính sinh học hơn trong các sợi nấm [2]. Trong điều kiện thí nghiệm, quả thể nấm đã được trồng thành công trên môi trường có giá thể là gạo lứt [2], [3]. Tuy nhiên, việc sản xuất quả thể nấm không được ổn định đã trở thành một vấn đề quan trọng đối với việc khai thác quy mô lớn các hợp chất sinh học có hoạt tính từ trong nấm *Cordyceps*. Do đó, cần phải thử nhiều điều kiện môi trường và điều kiện nuôi cấy để tìm ra quy trình tối ưu. Trong nghiên cứu này, chúng tôi thử nghiệm một số điều kiện môi trường và điều kiện nhiệt độ tối ưu hình thành quả thể nấm. Đồng thời kiểm tra hàm lượng hoạt chất cordycepin trong sản phẩm cuối nhằm cung cấp một quy trình nuôi cấy *Cordyceps* ban đầu có thể áp dụng lên quy mô công nghiệp.

* Tel 0913 804003 Email: duongvancong1980@gmail.com

VẬT LIỆU, PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU**Vật liệu nghiên cứu**

Chùng nấm Đông trùng hạ thảo *Cordyceps militaris* nhập khẩu từ Ngân hàng Vi sinh vật Đức (DSMZ), được lưu trữ và bảo quản ở 4°C.

Môi trường nuôi cấy

Môi trường được sử dụng trong nghiên cứu là môi trường gồm giá thể 20 g gạo lứt được bổ sung tùy theo thí nghiệm các nguyên tố vi lượng $MgSO_4$, K_2HPO_4 , chất kích thích sinh trưởng NAA, glucose, peptone, nước dừa và bột nhộng tằm; pH môi trường được điều chỉnh cố định 6,5 ở mọi thí nghiệm.

Phương pháp nghiên cứu**Chuẩn bị giống và cấy giống**

Chùng gốc *Cordyceps militaris* được hoạt hóa và cấy ria trên ống thạch nghiêng (môi trường PDA dịch chiết 200g khoai tây, 20g glucose, 20g agar pha với 1 lít nước cất), giữ ở nhiệt độ 20°C. Sau 10 ngày, một lượng 50ml nước cất đã hấp khử trùng được bổ sung vào ống thạch. Dịch huyền phù chứa bào tử nấm được lọc qua băng gạc tiệt trùng trước khi cho vào bình tam giác chứa 200ml môi trường SDAY (10g dextrose, 2.5g peptone, 5g yeast extract pha với 1 lít nước cất). Cuối cùng, bình giống được nuôi cấy ở tủ nuôi cấy, nhiệt độ 20°C, 200 v/p trong 7 ngày.

Môi trường giá thể 20g gạo lứt pha với 32ml các công thức dung dịch dinh dưỡng khác nhau đựng trong bình thủy tinh 500ml được hấp khử trùng ở 121°C trong 30', làm lạnh ở nhiệt độ phòng trước khi được bơm 5ml dung dịch giống. Nấm sau khi cấy trên các loại môi trường được chuyển vào nuôi trong điều kiện không chiếu sáng để phát sinh sợi nấm. Sau 12 ngày, các bình nấm có hệ sợi phát triển bông kín bề mặt và ăn kín 2/3 đáy được chuyển sang môi trường 12h chiếu sáng - 12h tối ở nhiệt độ 20°C độ ẩm >80% để tạo quả thể.

Phương pháp bố trí thí nghiệm

Thí nghiệm được bố trí theo kiểu ngẫu nhiên hoàn toàn, 3 hoặc 4 công thức tùy theo mỗi

thí nghiệm, mỗi công thức nhắc lại 3 lần, mỗi lần nhắc lại cấy 10 mẫu.

Khảo sát ảnh hưởng của môi trường nền đến sự hình thành và phát triển của hệ sợi, mầm quả thể, năng suất sinh học

Theo kết quả của các nghiên cứu trước, ba môi trường (MT) dinh dưỡng được sử dụng bao gồm:

MT A: Glucose 40 g/L, peptone 5 g/L, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 1,5 g/L, K_2HPO_4 1,5 g/L, NAA 1 mg/L

MT B: Glucose 10 g/L, peptone 1 g/L, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 1 g/L, K_2HPO_4 1 g/L, NAA 1 mg/L

MT C: Nước dừa 100%

Khảo sát ảnh hưởng của bột nhộng tằm đến khả năng hình thành và phát triển của hệ sợi, mầm quả thể, năng suất sinh học

Môi trường gạo được bổ sung môi trường nền (MTN) thích hợp lựa chọn qua thí nghiệm trước được pha với bột nhộng tằm theo nồng độ 0% (đối chứng), 1%, 2% và 3%.

Khảo sát ảnh hưởng của nhiệt độ đến sự hình thành và phát triển của hệ sợi, mầm quả thể, năng suất sinh học

Thí nghiệm được bố trí tiến hành ở giai đoạn phòng sáng (12h chiếu sáng-12h tối, độ ẩm >80%). Các công thức nhiệt độ 20°C, 25°C, 30°C trong 24h và 20°C-25°C (12h chiếu sáng ở 25°C - 12h tối ở 20°C).

Phương pháp tách chiết Cordycepin

Cordycepin được tách chiết theo phương pháp của Hong Zhang và cộng sự [12]. Quả thể Đông trùng hạ thảo được sấy bằng máy đông khô Virtis Benhtop 2k trước khi được nghiền thành bột bằng cối xay cà phê. Một lượng 0,5g bột quả thể được cân và hòa với 40ml nước cất, giữ ở 85°C bằng bể ổn nhiệt trong 4 giờ cộng thêm 30 phút tách chiết bằng sóng siêu âm ở 600W. Dung dịch được rửa bằng máy ly tâm trong 30 phút, 9000rpm. Dịch nổi được tách riêng, lọc qua màng lọc 0,22µm, chuẩn lại thể tích 40ml và được sử dụng làm dung dịch mẫu đo cordycepin.

Phương pháp định lượng Cordycepin

Hệ thống sắc ký lỏng hiệu năng cao Agilent 1220 Infinity LC được sử dụng để xác định và phân tích hàm lượng cordycepin. Cột sử dụng là ZORBAX Extend C18 5 μ m, 150x4,6mm. 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 $^{\circ}$ C; Tốc độ dòng: 1.0 ml/phút; Bước sóng từ ngoại: 260nm; Dung tích bơm: 20 μ L. Mẫu lặp lại 3 lần.

Dung dịch chuẩn được chuẩn bị theo các bước: 10mg chất chuẩn Cordycepin được cân chính xác và cho vào bình thủy tinh, sau đó được hòa tan bằng nước cất theo nồng độ 1mg/ml (1000ppm). Dung dịch được lọc qua màng lọc 0,22 μ m. Cuối cùng, dung dịch chuẩn được pha theo 5 nồng độ: 0ppm, 25ppm, 50ppm, 75ppm, 100ppm và bơm vào máy HPLC, thể hiện giá trị qua điện tích các đỉnh (peak area). Mỗi nồng độ được đo 3 lần, lấy giá trị trung bình. Diện tích đỉnh được gán giá trị y, trong khi nồng độ (ppm) được gán giá trị x để tạo đường phân tích hồi quy tuyến tính. Phương trình hồi quy tuyến tính thu được $y = 51,304x + 11,63$ với hệ số tương quan 0,9999, cho thấy tương quan tuyến tính cao có thể áp dụng để phân tích hàm lượng.

Chỉ tiêu theo dõi

Thời gian hình thành mầm quả thể tính từ khi cấy đến khi xuất hiện quả thể đầu tiên.

Sau khi quả thể nấm bắt đầu hình thành tiến hành đánh dấu 5 mầm quả thể/bình, tiến hành đo chiều cao quả thể trong 15 bình. Chiều cao quả thể và năng suất sinh học được đo sau 45 ngày nuôi.

Phương pháp xử lý số liệu

- Quá trình xử lý số liệu được thực hiện trên máy tính theo chương trình IRRISTART 4.0 và phần mềm Excel 2013.

- Chỉ tiêu năng suất sinh học (BE) được tính theo công thức:

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

KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Ảnh hưởng của môi trường nền khác nhau đến sự hình thành và phát triển của mầm quả thể

Bảng 1. Ảnh hưởng của môi trường nền tới phát triển quả thể

Môi trường	TG hình thành mầm (ngày)	Chiều dài quả thể (mm)	BE (%)
A	15,37 ^a	39,07 ^a	5,92 ^a
B	16,47 ^a	35,70 ^b	5,08 ^b
C	17,00 ^a	25,50 ^c	3,06 ^c
CV%	2,0	2,8	1,9
LSD ₀₅	0,66	1,84	0,18

Chữ số khác nhau trong cùng 1 cột thể hiện sự khác có ý nghĩa ($P < 0,05$) theo Tukey's test

Kết quả ở bảng 1 cho thấy trên cả 3 môi trường nấm *Cordyceps militaris* đều hình thành được mầm quả thể. Thời gian hình thành mầm quả thể trên cả 3 môi trường không có sai khác đáng kể, trung bình từ 15-17 ngày. Tuy nhiên ở chỉ số chiều dài quả thể và năng suất sinh học có sự khác biệt lớn. Trên môi trường C bao gồm gạo và nước dừa quả thể nấm phát triển yếu cả về chiều dài và sinh khối, cho thấy nước dừa chưa phải là môi trường dinh dưỡng phù hợp cho phát triển quả thể. Môi trường A cho kết quả tốt nhất, chiều dài quả thể đạt 39,07 mm, năng suất sinh học đạt 5,92%. So sánh với môi trường B, hàm lượng các chất dinh dưỡng ở môi trường A cao hơn hẳn, đặc biệt là lượng nguồn bổ sung nitrogen và carbon (lần lượt là glucose và peptone).

Ảnh hưởng của bột nhộng tằm đến khả năng sinh trưởng của sợi nấm, sự hình thành và phát triển của mầm quả thể

Nhộng tằm là dạng biến đổi cuối cùng của con tằm chín nhà tơ. Trong nhộng tằm tươi chứa rất nhiều các chất dinh dưỡng các loại vitamin A, B₁, B₂... Hàm lượng protein lên tới 73,5% gồm 17 loại acid amin khác nhau. Đây được coi là thành phần bổ sung dinh dưỡng quan trọng đối với sự sinh trưởng và phát triển của nấm *Cordyceps militaris* [7].

Bảng 2. Ảnh hưởng của bột nhộng tằm đến sự phát triển quả thể

CT	Bột nhộng tằm (%)	TG hình thành mầm (ngày)	Chiều dài quả thể (mm)	BE (%)
1	0	16,13 ^a	35,90 ^d	6,20 ^d
2	1	16,23 ^a	42,70 ^c	9,63 ^c
3	2	15,67 ^a	55,33 ^a	11,93 ^a
4	3	16,47 ^a	45,27 ^b	10,00 ^b
CV%	1,8	1,2	2,2	
LSD ₀₅	0,54	1,05	0,38	

Chỉ số khác nhau trong cùng 1 cột thể hiện sai khác có ý nghĩa ($P < 0,05$) theo Tukey's test

Kết quả cho thấy việc bổ sung bột nhộng tằm không làm ảnh hưởng tới thời gian hình thành mầm quả thể, tuy vậy lại có ảnh hưởng lớn đến hình thái quả thể. Chỉ số chiều dài quả thể và năng suất sinh học BE có sự biến thiên, tăng dần từ tỉ lệ bột nhộng tằm ở mức 0% đến 2% và bắt đầu giảm ở tỉ lệ 3% bột nhộng tằm. Theo Gao và đồng tác giả [9], trong môi trường nuôi cấy nấm *Cordyceps militaris* nhu cầu hàm lượng nitrogen tương đối thấp. Nếu hàm lượng nitrogen quá cao sẽ làm chậm quá trình sinh trưởng hệ sợi và quá trình biệt hóa hình thành quả thể. Ngoài peptone là nguồn bổ sung nitrogen thì bột nhộng tằm cũng là yếu tố bổ sung nitrogen. Vì vậy khi kết hợp môi trường A với tỉ lệ phần trăm bột nhộng tằm sẽ làm tăng hàm lượng nitrogen. Khi bổ sung tới tỉ lệ 3% bột nhộng tằm tương đương 30g/l môi trường thì hệ sợi bắt đầu phát triển chậm hơn dẫn tới chiều dài và năng suất sinh học cũng thấp hơn so với tỉ lệ bột nhộng tằm 2%.

Ảnh hưởng của nhiệt độ đến sự hình thành và phát triển của mầm quả thể, năng suất sinh học

Nhiệt độ được xác định là một yếu tố quan trọng trong việc kích thích hình thành quả thể [4]. Đối với thời gian hình thành mầm quả thể, các công thức nhiệt độ 20°C, 25°C, 30°C sai khác không có ý nghĩa. Công thức nhiệt độ 20 - 25°C cho thời gian hình thành mầm quả thể ngắn sớm nhất, trung bình là 15,4

ngày kể từ ngày cấy giống. So sánh kết quả chiều dài quả thể với năng suất sinh học BE, dễ dàng nhận thấy chiều dài quả thể tỉ lệ thuận với năng suất sinh học. Mức nhiệt độ 20 và 25°C cho sai khác về chiều dài quả thể không lớn, tuy nhiên mức tăng năng suất sinh học là đáng kể, cho thấy ở nhiệt độ 25°C hình thành quả thể có khối lượng lớn hơn. Ở mức 30°C chiều dài quả thể và năng suất BE sụt giảm mạnh, đạt 38,5 mm và 7,1%. Ở công thức nhiệt độ 12h chiếu sáng ở 25°C-12h tối ở 20°C các chỉ tiêu đạt được là cao nhất, chiều dài và năng suất sinh học lần lượt là 54,77 mm và 10,85%, cho thấy sự chênh lệch nhiệt độ trong ngày trong một mức nhiệt độ thích hợp cũng góp phần kích thích sinh trưởng của quả thể.

Bảng 3. Ảnh hưởng của nhiệt độ đến sự phát triển của mầm quả thể

CT	Nhiệt độ (°C)	TG hình thành mầm (ngày)	Chiều dài quả thể (mm)	BE (%)
1	20	16,3 ^a	44,10 ^c	8,14 ^c
2	20-25	15,4 ^b	54,77 ^a	10,85 ^d
3	25	16,3 ^a	46,97 ^b	9,47 ^b
4	30	16,5 ^a	38,53 ^d	7,1 ^d
CV%		1,7	1,4	2,4
LSD ₀₅		0,53	1,20	0,4

Chỉ số khác nhau trong cùng 1 cột thể hiện sai khác có ý nghĩa ($P < 0,05$) theo Tukey's test

Định lượng hàm lượng cordycepin

Mẫu quả thể thu được từ công thức tối ưu qua 3 thí nghiệm và mẫu quả thể *Cordyceps* bông tuyết thu thập tại Việt Nam được chúng tôi tiến hành phân tích hàm lượng cordycepin. Kết quả cho thấy hàm lượng cordycepin của chủng *Cordyceps militaris* nuôi cấy nhân tạo cao hơn so với mẫu *Cordyceps takaomontana* tự nhiên, lần lượt là $4,33 \pm 0,08$ mg/g và $0,27 \pm 0$ mg/g khô. So sánh với các nghiên cứu trước, chủng *Cordyceps sinensis* tự nhiên có hàm lượng đạt mức 0,9 mg/g, trong khi hàm lượng cordycepin trong chủng *Cordyceps militaris* nhân tạo chỉ đạt 2,654 mg/g [5]. Kết quả trên

cho thấy chất lượng của quả thể *Cordyceps militaris* trong nghiên cứu này hoàn toàn có thể làm thương phẩm trên thị trường.

KẾT LUẬN

Kết quả nghiên cứu chỉ ra ảnh hưởng của các điều kiện dinh dưỡng và nhiệt độ tác động đến sự phát triển của mầm quả thể *Cordyceps militaris* trong môi trường nhân tạo. Qua khảo sát ở các công thức môi trường, chúng tôi rút ra điều kiện nuôi cấy tối ưu *Cordyceps militaris* bao gồm: giá thể 20g gạo bổ sung 32ml dung dịch dinh dưỡng chứa glucose 40g/l, peptone 5g/l, MgSO₄.7H₂O 1,5g/l, K₂HPO₄ 1,5g/l, NAA 1mg/l, bột nhộng tằm 3%; nuôi cấy ở điều kiện 12h chiếu sáng ở 25°C, 12h tối ở 20°C. Hàm lượng cordycepin trong mẫu quả thể thu được từ môi trường tối ưu đạt $4,33 \pm 0,08\text{mg/g}$, cho thấy tiềm năng của nghiên cứu để áp dụng trên quy mô công nghiệp.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Ahn Y. J., Park S. J., Lee S. G., Shin S. C., Choi D. H. (2002), "Cordycepin: selective growth inhibitor derived from liquid culture of *Cordyceps militaris* against *Clostridium* spp", *J. Agric. Food Chem.* 48, pp. 2744 - 2748.
2. Cui J. D. (2015), "Biotechnological production and applications of *Cordyceps militaris*, a valued traditional Chinese medicine", *Crit. Rev Biotechnol.* 35(4), pp. 475 - 484.
3. Choi S. B., Park C. H., Choi M. K., Jun D. W., Park S. (2004), "Improvement of insulin resistance and insulin secretion by water extracts of *Cordyceps militaris*, *Phellinus linteus*, and *Paecilomyces tenuipes* in 90% pancreatectomized rats", *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 68(11), pp. 2257 - 2264.

4. Hung L. T., Keawsompong S., Hanh V. T (2009), "Effect of Temperature on Cordycepin Production in *Cordyceps militaris*", *Thai Journal of Agricultural Science*, 42(4), pp 219-255.
5. Huang L., Li Q. Z., Chen Y. Y. (2009), "Determination and analysis of cordycepin and adenosine in the products of *Cordyceps* spp", *Afr. J. Microbiol. Res.* 3, pp. 957-961.
6. Kim H. G., Shrestha B., Lim S. Y. (2006), "Cordycepin inhibits lipopolysaccharide-induced inflammation by the suppression of NF-kappaB through Akt and p38 inhibition in RAW 264.7 macrophage cells", *Eur. J. Pharmacol.* 545, pp. 192-199.
7. Kim Jae-Sung, Yingai Jin, John J. Lemasters (2006), "Reactive oxygen species, but not Ca²⁺ overloading, trigger pHand mitochondrial permeability transition-dependent death of adult rat myocytes after ischemia-reperfusion." *Am. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol.* 290, pp. 2024-2034.
8. Li S. P., Song Z. H., Dong T. T. (2004), "Distinction of water-soluble constituents between natural and cultured *Cordyceps* by capillary electrophoresis", *Phytomedicine*, 11, pp. 684-690.
9. Gao X. H., Wu W., Qian G. C. (2000), "Study on influences of abiotic factors on fruitbody differentiation of *Cordyceps militaris*" *Acta. Agric. Shanghai*, 16, pp. 93 -98.
10. Ting-chi Wen, Guang-rong Li, Ji-chuan Kang, Chao Kang, Kevin D. Hyde (2014), "Optimization of Solid-state Fermentation for Fruiting Body Growth and Cordycepin Production by *Cordyceps militaris*", *Chiang Mai J. Sci.* 41(4), pp 858-872
11. Zhou X. X., Meyer C. U., Schmidtke P. (2002), "Effect of cordycepin on interleukin-10 production of human peripheral blood mononuclear cells", *Eur J. Pharmacol.* 453, pp.309-317.
12. Zhang H., Wang J. W., Dong S. Z., Xu F. X., Wang S. H. (2012), "The optimization of extraction of cordycepin from fruiting body of *Cordyceps militaris* (L.) link", In *Advanced Materials Research* 393, pp. 1024-1028. Trans Tech Publications.

SUMMARY

EVALUATION ON CULTIVATION TECHNIQUES TO
FRUITING BODY FORMATION OF CORDYCEPS MILITARIS

Do Tuan Bach¹, Vu Hoai Nam¹, Ma Thi Trang¹,
Ha Van Huong², Nguyen Manh Cuong²,
Nguyen Huy Thuan³, Duong Van Cuong^{1*}

¹Institute of Life Sciences- TNU

²College of Agriculture and Forestry- TNU

³Duy Tan University, Da Nang

Cordyceps is an entomopathogenic fungus with many medicinal values and has been used for a long time in traditional medicines. Due to its potential application in illness treatment and in the modern pharmaceutical industry, such as cancer treatment, immunomodulatory, impaired liver and kidney function, etc. Cordyceps militaris in natural environment is exploited and becomes exhausted. Therefore, collecting of technical information and researches will help promoting the production of Cordyceps to satisfy the demand of national and abroad markets. This study evaluated the effect of several fruiting medium and temperature factor to formation of fruiting-body. Brown rice is used for basal substrate. Optimal medium culture includes: glucose 40g/l, peptone 5 g/l, MgSO₄·7H₂O 1.5 g/l, K₂HPO₄ 1.5 g/l, NAA 1 mg/l, silkworm pupae powder 3%. Temperature setups at 25°C in the day-time and 20°C in the night-time. Fruiting body cultivated in optimal medium culture has the content of cordycepin at 4.33±0.08 mg/g dry sample which showed significantly for mass production.

Keywords: *Cordyceps*, *cordycepin*, *fruiting body*, *optimization*, *medium culture*.

Ngày nhận bài: 30/11/2016; Ngày phản biên: 13/12/2016; Ngày duyệt đăng: 24/01/2017

Phân biên khoa học: TS. Phạm Bằng Phương - Trường Đại học Nông Lâm- ĐHTN

* Tel 0913 804003 Email duongvancuong1980@gmail.com