

# NGHIÊN CỨU ẢNH HƯỞNG CỦA ĐỘ PH VÀ NGUỒN CARBON ĐẾN TĂNG TRƯỞNG HỆ SỢI ĐÔNG TRÙNG HẠ THẢO (*CORDYCEPS MILITARIS* NBRC 9787) TRONG MÔI TRƯỜNG THẠCH

Đàm Thị Hảo<sup>1</sup>, Nguyễn Thị Kim Cúc<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Sinh viên 60SH - Bộ môn Công nghệ Sinh, Trường Đại học Thủy lợi

<sup>2</sup>Trường Đại học Thủy lợi

## Tóm tắt

Nấm đông trùng hạ thảo - (*Cordyceps militaris* NBRC 9787 - Nhật Bản) đã và đang được coi là một loại dược liệu cao cấp trong số các loại thảo dược. Trong nghiên cứu này, ảnh hưởng của pH (4,0 - 4,5; 6,5 - 7,0; 8,5 - 9,0), nguồn carbon (Glucose và Saccarose) tới sinh khối và đường kính vòng nấm của môi trường thạch trong nhân nuôi giống đông trùng hạ thảo đã được nghiên cứu và đánh giá. Kết quả cho thấy, pH tốt nhất cho sinh trưởng của giống nấm đông trùng hạ thảo là pH ~ 6,5 - 7,0. Ở điều kiện môi trường có pH ~ 4,0 - 4,5, hệ sợi nấm dường như không phát triển, chúng có thể phát triển ở pH ~ 8,5 - 9,0. Khi xem xét nguồn carbon, kết quả cho thấy không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê trong kích thước vòng nấm và khối lượng hệ sợi nấm khi nuôi trồng trong môi trường bổ sung đường Glucose và đường Saccarose. Tuy nhiên, khi xem xét tính phổ dụng và giá thành của hai nguồn đường thì nguồn đường Glucose thường được sử dụng để nuôi trồng nấm đông trùng hạ thảo.

**Từ khóa:** Đông trùng hạ thảo; *Cordyceps militaris*; Nấm; Tăng trưởng hệ sợi; Môi trường thạch.

## Abstract

### ***Study on the effect of pH and carbon source of the agar culture on the growth of mycelial biomass of Cordyceps militaris NBRC 9787***

*Cordyceps militaris* NBRC 9787 - Japan, has been and is being considered as a superior herb among herbs. In this study, the effect of pH (4.0 - 4.5; 6.5 - 7.0; 8.5 - 9.0), carbon source (Glucose and Sucrose) on mycelial biomass and ring diameter in agar medium culture of cordyceps was carried out. The results showed that the best pH for the growth of *C. militaris* was pH ~ 6.5 - 7.0. In environmental conditions with pH ~ 4.0 - 4.5, mycelium does not seem to grow, they can grow at pH ~ 8.5 - 9.0. When considering the carbon source, the results showed that there was no statistically significant difference in the size and biomass of the mycelium ring when grown in the medium supplemented with Glucose and Sucrose. However, when considering the popularity and cost of the two sugar sources, the glucose source is often used to grow cordyceps mushrooms.

**Keywords:** *Cordyceps militaris*; Fungi; Mycelia growth; Agar medium culture.

## 1. Mở đầu

Nấm dược liệu từ lâu đã là một phần quan trọng của văn hóa và nền văn minh nhân loại, đặc biệt các loài trong giống *Cordyceps* được đánh giá cao do chứa nhiều hợp chất dược liệu [16]. Đông trùng hạ thảo thuộc giống *Cordyceps* là một loại nấm dược liệu có phân bố rất hạn chế trong tự nhiên và được nuôi trồng trong điều kiện hoang dã. Gần đây, loài nấm này đã được nghiên cứu để nuôi trồng trong môi trường nhân tạo. Nấm đông trùng hạ thảo là các loài nấm kí sinh trên sâu non, nhộng hoặc sâu trưởng thành của một số loài côn trùng. Đến nay, các nhà khoa học đã phát hiện được hơn 400 loài nấm đông trùng hạ thảo thuộc chi *Cordyceps* nhưng chỉ có 02 loài được chú trọng nghiên cứu nhiều là *Cordyceps sinensis* và *Cordyceps militaris* do chúng mang giá trị dược liệu cao [12 - 15].

Loài nấm *C. militaris* tìm thấy ở vùng núi có độ cao 2.000 - 3.000 m so với mực nước biển, phân bố rộng (Trung Quốc, Nhật Bản, Hàn Quốc và một số nước trong khu vực Đông Nam Á). Nấm *C. militaris* có hàm lượng các chất có hoạt tính sinh học cao như cordycepin, manitol, cordypolysaccharid, superoxide dismutase, axit amin, adenosine và nhiều thành phần khác tương đương, thậm chí còn cao hơn của loài *C. sinensis*. Đây là những dược liệu quý giúp hỗ trợ và bổ sung sức khỏe hệ miễn dịch, tiêu hóa, tuần hoàn, thần kinh, hô hấp và hệ sinh dục của cơ thể con người [1, 5, 9, 18, 23]. Việc nuôi trồng *C. Militaris* trong điều kiện nhân tạo cũng khá thuận lợi [6, 11] với các quy mô khác nhau trong thời gian không ngắn [12].

Trước những diễn biến bất thường của đại dịch COVID-19 và các dịch bệnh bùng phát trong giai đoạn gần đây, nhiều nghiên cứu đã chỉ ra vai trò của đông trùng hạ thảo trong hỗ trợ điều trị và phục hồi bệnh nhân nhiễm và sau nhiễm bệnh. Các nghiên cứu khoa học chỉ ra rằng RNA trong bộ gen của virus COVID-19 có độ 3' - polyadenyl hóa cao và dẫn đến tổng hợp tất cả các protein của nó. Vì vậy, một định hướng trong điều trị là làm mất ổn định các RNA COVID-19 bằng cách ức chế quá trình polyadenyl hóa, tiếp đó nó có thể bước ức chế sự nhân lên của virus trong vật chủ.

Cordycepin, một trong các chất có hoạt tính sinh học của đông trùng hạ thảo, đang được thử nghiệm lâm sàng (NCT00709215) do khả năng hoạt động như một chất ức chế poly (A) polymerase và chấm dứt quá trình tổng hợp protein sớm. Ngoài ra, cordycepin cho thấy ái lực liên kết mạnh với protein đã chứng thực tiềm năng điều trị chống lại COVID-19. Vì cordycepin cho kết quả tiền lâm sàng và lâm sàng về các hoạt động kháng vi rút. Do đó, cộng đồng thế giới đề nghị sử dụng cordycepin để kiểm tra tính hiệu quả và an toàn trong điều trị COVID-19 [2, 17].

Do giá trị dược liệu, giá trị kinh tế cao và tính khả thi của việc nuôi nấm *Cordyceps militaris* ở các quy mô từ nhỏ đến lớn, việc phát triển các nghiên cứu về nuôi trồng nấm *Cordyceps militaris* từ giai đoạn phát triển giống đáp ứng nhu cầu của thị trường là hết sức cần thiết. Trong nghiên cứu này, nhóm nghiên cứu tập trung đánh giá ảnh hưởng của nồng độ pH và nguồn carbon đến tăng trưởng hệ sợi đông trùng hạ thảo trong môi trường thạch.

## Nghiên cứu

### 2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

#### 2.1. Vật liệu nghiên cứu

Giống nấm *Cordyceps militaris* NBRC 9787 - Nhật Bản được nuôi cấy

tạo nguồn giống trên môi trường PDA (Potato Dextrose Agar) - thạch - có thành phần môi trường tương ứng với công thức thí nghiệm (CT) trong Bảng 1. Với mỗi công thức, thí nghiệm được lặp lại từ 5 - 7 lần.

**Bảng 1. Các công thức thí nghiệm của nghiên cứu**

TT	CT	pH	Carbon (%)	Khoai tây (%)	Giá đỗ (%)	Pepton (%)	Agar (%)
1	G4	4,0 ~ 4,5	20 % Glucose	20	20	0,1	1,6
2	G6	6,5 ~ 7,0	20 % Glucose	20	20	0,1	1,6
3	G8	8,5 ~ 9,0	20 % Glucose	20	20	0,1	1,6
4	S4	4,0 ~ 4,5	20 % Saccarose	20	20	0,1	1,6
5	S6	6,5 ~ 7,0	20 % Saccarose	20	20	0,1	1,6
6	S8	8,5 ~ 9,0	20 % Saccarose	20	20	0,1	1,6

#### 2.2. Phương pháp nghiên cứu

##### 2.2.1. Môi trường nuôi cấy

Hỗn hợp các nguyên liệu đã chuẩn bị được khử trùng ở 121°C trong 19 phút. Môi trường được chứa trong các đĩa pettry đã khử trùng và để nguội, sẵn sàng để cấy giống nấm.

Giống nấm trồng trên môi trường thạch trong điều kiện tối hoàn toàn ở nhiệt độ 20 - 25°C.

##### 2.2.2. Theo dõi thí nghiệm và xử lý

Trong quá trình thí nghiệm, khối lượng ban đầu và biến động khối lượng của đĩa thạch, đường kính (02 vị trí cố định trên mặt đĩa) ban đầu và biến động đường kính trung bình của vòng nấm trên đĩa thạch được xác định 02 ngày/01 lần.

Khối lượng hệ sợi trong mỗi đĩa thạch (tương ứng với các công thức thí nghiệm) cũng được quan sát và cân đo với chu kỳ 02 ngày/01 lần.

Số liệu được phân tích thống kê trên phần mềm Microsoft Excel để xác định sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về tăng

trường khối lượng và đường kính vòng nấm của mỗi công thức thí nghiệm.

### 3. Kết quả và thảo luận

#### 3.1. Biến động khối lượng hệ sợi đồng trùng hạ thảo

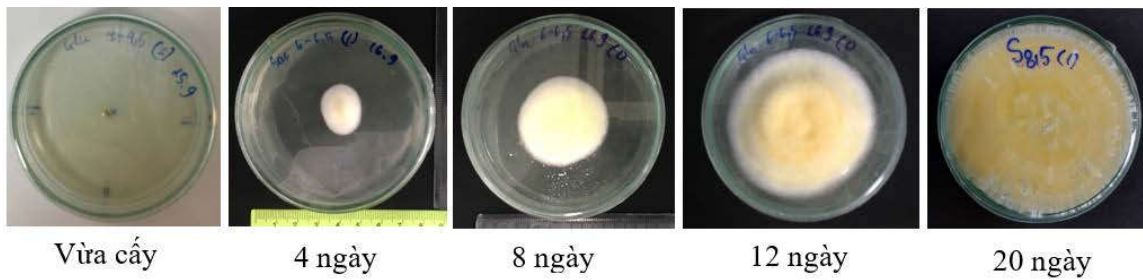
Theo dõi sự phát triển của hệ sợi trên bề mặt môi trường thạch cho thấy (Hình 1):

- Sau 2 - 4 ngày, từ mô hệ sợi cấy ban đầu, hệ sợi bắt đầu phát triển lan ra xung quanh, tạo khuẩn lạc có đường kính khoảng 1 cm, hệ sợi mỏng, màu trắng bông;

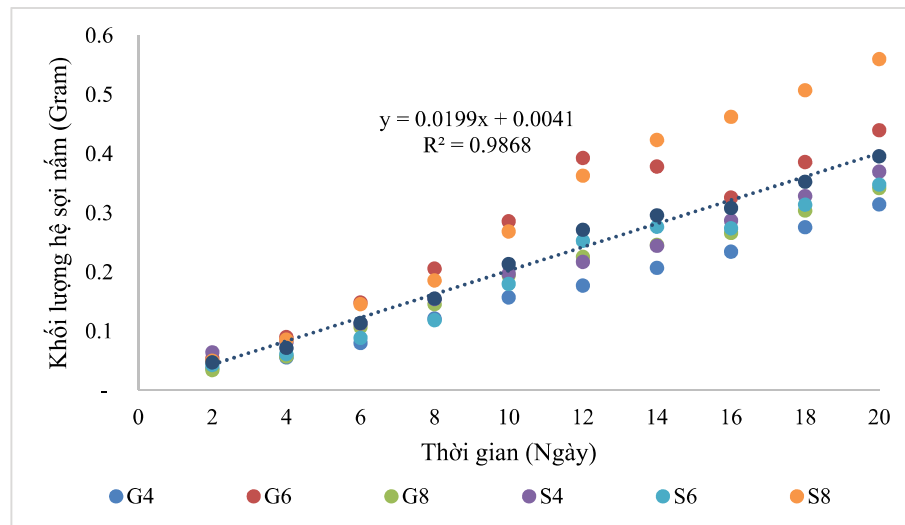
- Sau 6 - 8 ngày, hệ sợi phát triển mạnh, lan ra bề mặt môi trường, dày, dai, màu trắng bông, bề mặt hệ sợi mịn;

- Sau 10 - 12 ngày, hệ sợi pH kín bề mặt môi trường, dày, dai, màu trắng bông, bề mặt hệ sợi mịn;

- Sau 18 - 20 ngày, hệ sợi ngừng phát triển theo bề rộng, lớp hệ sợi dày, dai, bề mặt mịn, màu trắng bông, lõi chuyển dần sang màu vàng óng.



**Hình 1: Một số hình ảnh hệ sợi nấm đông trùng hạ thảo *C. Militaris* phát triển trên môi trường thạch theo thời gian**



**Hình 2: Tăng trưởng khối lượng hệ sợi theo thời gian của mỗi công thức thí nghiệm**

Nhìn chung, theo thời gian khối lượng của hệ sợi trong mỗi thí nghiệm tăng lên. Tốc độ tăng trưởng khối lượng tuy có biến động theo giai đoạn nhưng liên tục tăng. Kết quả thí nghiệm cho thấy mối quan hệ tuyến tính dương giữa khối lượng hệ sợi và thời gian nuôi ươm tuân theo phương trình (1) và Hình 2:

$$y = 0,0199x + 0,0041 \quad (1)$$

$$(R^2 = 0.9868, p = 5,63e^{-47})$$

Kết quả này phù hợp với nghiên cứu của tác giả Sun và cs., (2018) [21] khi nghiên cứu về lưu trữ giống đông trùng hạ thảo *C. militaris*.

Kết quả nghiên cứu cho thấy trong giai đoạn 2 đến 8 ngày tuổi, biến động khối lượng của hệ sợi của tất cả các công

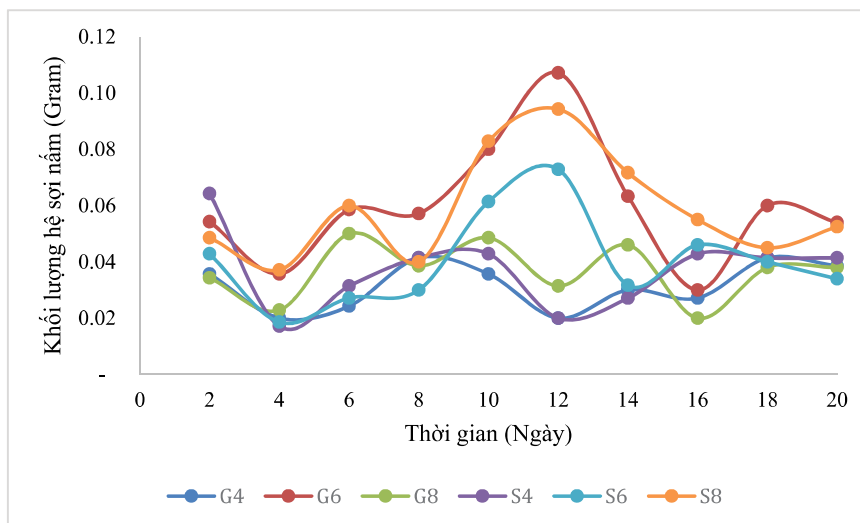
thức thí nghiệm khá lớn và theo 02 chu kỳ tăng mạnh và tăng nhẹ. Từ giai đoạn 8 đến 12 ngày tuổi, các công thức thí nghiệm G6, S6 và S8 có giai đoạn tăng trưởng nhanh đều sau đó chuyển sang tăng trưởng chậm.

Khoảng thời gian từ 8 đến 12 ngày là khoảng thời gian biến động khối lượng hệ sợi trong mỗi công thức thí nghiệm lớn nhất trong quá trình thí nghiệm. Ở công thức thí nghiệm G6, S6 và S8, khối lượng hệ sợi tăng dần từ ngày thứ 8 đến hết ngày thứ 12. Trong khi đó, ở các công thức thí nghiệm số G4, S4 và G8, tăng trưởng khối lượng của hệ sợi trong mỗi thí nghiệm đạt đỉnh ở ngày thứ 10 (Hình 3). Kết quả phân tích ANOVA 2 factor (công thức thí nghiệm và thời gian) cho thấy có sự

## Nghiên cứu

khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các công thức thí nghiệm và thời gian với giá trị p tương ứng là 0,000269 và  $7,53 \cdot 10^{-9}$  ( $p < 0,05$ ). Như vậy, trong giai đoạn ươm

giống ở môi trường thạch, nguồn carbon Glucose với pH ~ 6,5 - 7,0 ở thời điểm 8 - 12 ngày là khoảng thời gian cho khối lượng của hệ sợi tối ưu nhất.

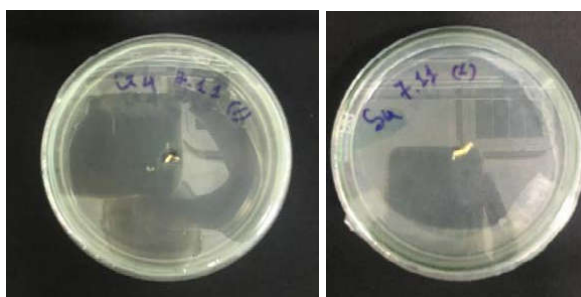


**Hình 3: Biến động khối lượng hệ sợi trong mỗi công thức thí nghiệm**

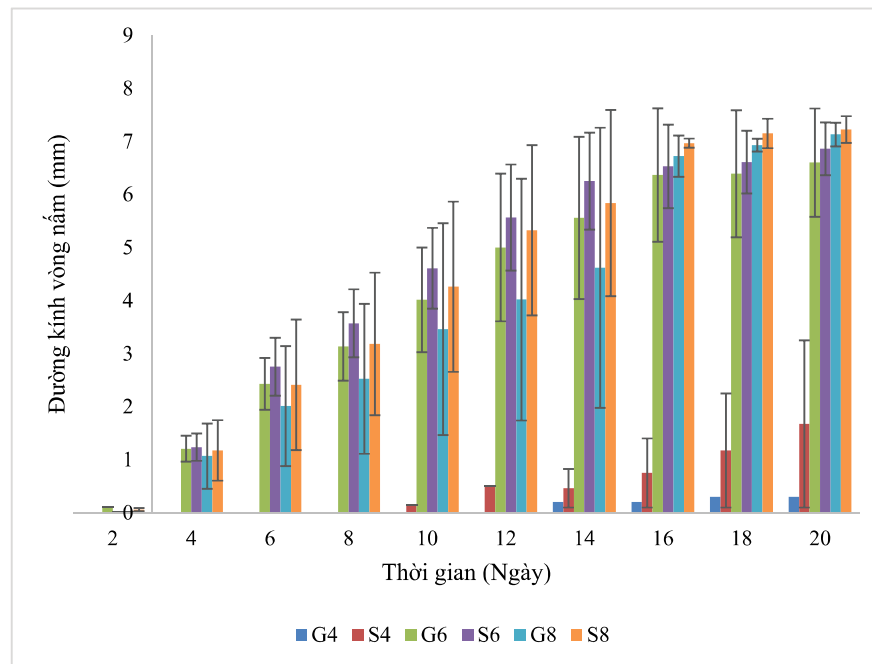
Tìm kiếm nguồn carbon sử dụng trong nhân nuôi nấm ở giai đoạn ươm giống cũng đã được một số nhà khoa học thực hiện. Trong các nguồn carbon được nghiên cứu, Glucose và Saccarose cũng đã được quan tâm thí nghiệm. Một số kết quả nghiên cứu cũng có chung kết luận về việc lựa chọn Glucose như nguồn carbon chính trong nhân nuôi nấm ở giai đoạn ươm giống không chỉ bởi vì nó đem lại hiệu quả cao hơn mà còn vì giá thành và tính phổ biến của nguồn nguyên liệu này [7, 8].

pH trong môi trường nuôi có vai trò quan trọng quyết định sự tồn tại và phát triển của hệ sợi nấm. Qua quan sát thí nghiệm, môi trường thạch có pH thấp (4,0 - 4,5) - môi trường axit - không phù hợp cho hệ sợi phát triển. Môi trường thạch trung tính (pH ~ 6,5 - 7,0) là môi trường tối ưu cho hệ sợi phát triển. Tốc độ phát triển của hệ sợi thấp hơn ở môi trường bazơ (pH ~ 8,5 - 9,0). Kết quả của nghiên cứu này trùng với kết quả nghiên cứu phát triển hệ sợi nấm của một số tác giả khi nghiên cứu về một số loài nấm khác [3, 4, 19].

### **3.2. Biến động đường kính vòng nấm**



**Hình 4: Môi trường thạch trong đĩa petri với nguồn đường Glucose và Saccarose ở pH ~ 4 - 4,5**

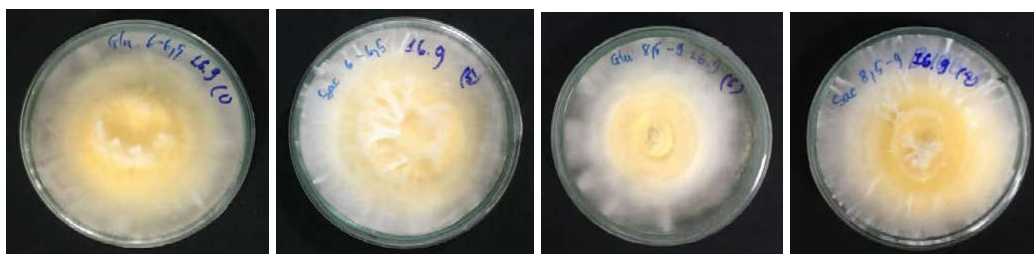


**Hình 5: Biến động đường kính vòng nấm của hệ sợi nuôi wơm trên môi trường thạch a - Glucose; b - Saccarose**

Ở cả 02 nguồn carbon (Glucose và Saccarose) hệ sợi nấm phát triển rất kém (gần như không phát triển) khi pH môi trường ở 4,0 - 4,5. Đường kính vòng nấm ở điều kiện pH ~ 4,0 - 4,5 phát triển chậm và nhỏ hơn có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,001$ ) so với điều kiện pH ~ 6,5 - 7,0 và 8,5 - 9,0 với cả hai loại đường Glucose và

Saccarose (Hình 4, 5).

Ở cả điều kiện pH ~ 6,5 - 7,0 và pH ~ 8,5 - 9,0 đường kính vòng nấm phát triển khá đồng đều. Không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về đường kính vòng nấm giữa 04 công thức thí nghiệm G6, G8, S6 và S8 (Hình 5, 6).



**Hình 6: Môi trường thạch trong đĩa petri với nguồn đường Glucose và Saccarose ở pH ~ 6,5 - 7,0 và pH ~ 8,5 - 9**

**a - Glucose ở pH ~ 6,5 - 7,0; b - Saccarose ở pH ~ 6,5 - 7,0  
c - Glucose với pH ~ 8,5 - 9; d - Saccarose ở pH ~ 8,5 - 9**

Các quan sát về màu sắc của sợi nấm ở các công thức thí nghiệm cũng chỉ ra rằng không có ảnh hưởng rõ ràng về nguồn carbon và pH môi trường nuôi đến sắc tố của sợi nấm.

pH môi trường nhân nuôi giống có ảnh hưởng đến chức năng của màng tế bào, hình thái và cấu trúc tế bào, độ hòa tan của các muối, các ion, sự hấp thụ các chất dinh dưỡng và quá trình sinh tổng

## Nghiên cứu

hợp các chất khác nhau. Các tế bào chỉ có thể phát triển trong một phạm vi pH nhất định và sự hình thành chuyển hóa các chất cũng chịu ảnh hưởng của giá trị pH. Kim và cộng sự (2003) cho rằng, nồng độ các hợp chất polysaccharide ngoại bào và sinh khối sợi nấm đạt giá trị cao nhất tại pH = 6 và sẽ giảm dần khi giảm pH xuống 3,0 hay tăng dần pH lên 9,0.

Nhu cầu dinh dưỡng cho sinh tổng hợp các chất tạo sinh khối sợi phụ thuộc vào mỗi loại nấm và điều kiện nuôi cấy. Nguồn dinh dưỡng carbon khác nhau có ảnh hưởng trực tiếp đến khả năng phân giải và hấp thụ dinh dưỡng của tế bào. Glucose và Saccarose là 2 nguồn carbon mang lại hiệu quả sinh tổng hợp các hợp chất polysaccharide và tạo sinh khối sợi cao nhất đối với nấm đông trùng hạ thảo [10]. Kết quả của nghiên cứu này cũng phù hợp với nghiên cứu của Seok và cộng sự (2009) [20] khi lựa chọn nguồn carbon tối ưu cho phát triển kích thước hệ sợi trên bề mặt môi trường thạch

Như vậy, pH trung tính (~ 6,5 - 7,0) là điều kiện tối ưu cho hệ sợi nấm phát triển về đường kính. Trong môi trường kiềm nhẹ, hệ sợi vẫn phát triển nhưng sẽ khó phát triển ở điều kiện axit. Không có sự khác biệt về kích thước hệ sợi khi nuôi trồng trong môi trường có nguồn carbon là Glucose hay Saccarose.

### **4. Kết luận**

Giá trị pH tối ưu cho nhân giống nấm đông trùng hạ thảo *C. militaris* NBRC 9787 - Nhật Bản là 6,5 - 7,0. Ở giá trị pH ~ 4 - 4,5 hệ sợi nấm không có khả năng sinh trưởng và tạo sinh khối (kích thước và khối lượng), giá trị pH ~ 8,5 - 9 hệ sợi nấm vẫn phát triển sinh khối.

Hai nguồn dinh dưỡng carbon (Glucose và Saccarose) phù hợp cho sự sinh trưởng hệ sợi nấm đông trùng hạ thảo *C. militaris* NBRC 9787 - Nhật Bản trong nhân nuôi giống nấm ở môi trường thạch. Hai loại đường này cho hiệu quả nhân giống không khác biệt. Tuy nhiên, xem xét về tính phổ dụng và giá thành của nguyên liệu, Glucose là nguồn dinh dưỡng được lựa chọn sử dụng phổ biến trong nhân nuôi đông trùng hạ thảo.

**Lời cảm ơn:** Nghiên cứu được thực hiện tại Phòng Thí nghiệm Công nghệ Sinh học, Trường Đại học Thủy lợi. Nghiên cứu đã nhận được sự giúp đỡ và hỗ trợ của các Thầy, Cô trong Bộ môn Công nghệ Sinh học, Khoa Hóa và Môi trường, Trường Đại học Thủy lợi. Nhóm nghiên cứu xin gửi lời cảm ơn tới Thầy Đỗ Đức Cảnh về những hỗ trợ của Thầy trong quá trình thực hiện thí nghiệm.

### **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]. Akalesh Kumar Verma (2020). *Cordycepin: A bioactive metabolite of Cordyceps militaris and polyadenylation inhibitor with therapeutic potential against COVID-19.* Journal of Biomolecular Structure. Doi: 10.1080/07391102.2020.1850352.
- [3]. Chen, W., Z. Zhao, S. F. Chen, and Y. Q. Li (2008). *Optimization for the production of exopolysaccharide from Fomes fomentarius in submerged culture and its antitumor effect in vitro.* Bioresour. Technol. 99: 3187 - 3194.
- [4]. Cho, E. J., J. Y. Oh, H. Y. Chang and J. W. Yun (2006). *Production of exopolysaccharides by submerged mycelium*

- culture of a mushroom *Tremella fuciformis*. J. Bio-technol. 127: 129 - 140.
- [5]. Das SK., Masuda M., Mikio S. (2010). *Medicinal uses of the mushroom Cordyceps militaris: Current state and prospects*. Fitoterapia. 81:961 - 968.
- [6]. 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.
- [7]. Jeong Seok Kwon, Jong Seok Lee, Won Cheol Shin, Keun Eok Lee and Eock Kee Hong (2009). *Optimization of culture conditions and medium components for the production of mycelial biomass and exo - polysaccharides with Cordyceps militaris in liquid culture*. Biotechnology and Bioprocess Engineering 2009, 14: 756 - 762. Doi/10.1007/s12257-009-0024-0.
- [8]. Jeong, G. T., J. C. Woo, and D. H. Park (2007). *Effect of plant growth regulators on growth and biosynthesis of phenolic compounds in genetically transformed hairy roots of Panax ginseng C. A. Meyer*. Biotechnol. Bio - process Eng. 12: 86 - 91.
- [9]. 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.
- [10]. Lê Thị Tươi, Lê Thị Huệ, Cao Tuấn Kiệt, Nguyễn Đức Hiếu, Đỗ Thị Hồng, Lê Thị Tuyết Mai và Vũ Thị Bích Huyền (2021). *Đánh giá hiệu quả bổ sung một số nguồn nitơ và carbon vào môi trường nuôi cấy đến sự phát triển và khả năng tích lũy hoạt chất của nấm đông trùng hạ thảo Cordyceps militaris*. Tạp chí Khoa Sinh học, Trường Đại học Sư phạm Hà Nội, 10.18173/2354-1059.2021-0071.
- [11]. 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.
- [12]. 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.
- [13]. Li Y, Xue WJ, Tian PX, Ding XM, Yan H, Pan XM, et al., (2009). *Clinical application of Cordyceps sinensis on immunosuppressive Therapy in Renal Transplantation*. Transplant Proc 2009; 41:1565-9.
- [14]. Liu WC, Chuang WL, Tsai ML, Hong JH, McBride WH, Chiang CS., (2008). *Cordyceps sinensis health supplement enhances recovery from taxol-induced leukopenia*. Exp Biol Med 2008; 233:447-55.
- [15]. Liu ZY., Yao YJ., Liang ZQ. (2001). *Molecular evidence for the anamorph-teleomorph connection in Cordyceps sinensis*. Mycological Research. 105: 827 - 832.
- [16]. McKenna DJ, Jones K, Hughes K. (2002). *Botanical medicines: The desk reference for major herbal supplements*. 2<sup>nd</sup> ed. New York: The Haworth Herbal Press.
- [17]. Mehmet Akif Kaymakci and Eray Metin Guler (2020). *Promising potential Pharmaceuticals from the Genus Cordyceps for COVID-19 treatment: A review study*. Bezmialem Science 8(3):140 - 144. Doi:10.14235/bas.galenos.2020.4532.
- [18]. 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.
- [19]. Pokhrel, C. P. and S. Ohga (2007). *Submerged culture conditions for mycelial*

## Nghiên cứu

yield and polysaccharide production by *Lyophyllum decastes*. Food Chem. 105: 641 - 646.

[20]. Seok Kwon J, Seok Lee J, Cheol Shin W, Eok Lee K, Kee Hong E., (2009). *Optimization of culture conditions and medium components for the production of mycelial biomass and exo - polysaccharides with Cordyceps militaris in liquid culture*. Biotechnology and Bioprocess Engineering, 756 - 762, 14.

[21]. Sun H, Hu T, Guo Y, Liang Y. (2018). *Preservation affects the vegetative growth and fruiting body production of*

*Cordyceps militaris*. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 166, 34(3).

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

[23]. 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.

BBT nhận bài: 08/12/2022; Phản biện xong: 22/12/2022; Chấp nhận đăng: 28/3/2023