

ẢNH HƯỞNG CỦA CÁC ĐIỀU KIỆN NUÔI CẤY ĐẾN SỰ TÍCH LŨY SINH KHỐI HỆ SỢI NẤM MỐI (*Termitomyces clypeatus*)

Nguyễn Thị Ngọc Nhi⁽¹⁾

(1) Trường Đại học Thủ Dầu Một

Ngày nhận bài 16/4/2025; Chấp nhận đăng 16/5/2025

Liên hệ email: nhintn@tdmu.edu.vn

Tóm tắt

Nghiên cứu được thực hiện nhằm xác định ảnh hưởng của các yếu tố môi trường nuôi cấy, bao gồm pH ban đầu, tốc độ lắc, nhiệt độ, tỷ lệ cấy giống và chế độ sục khí, đến khả năng sinh trưởng và tích lũy sinh khối của hệ sợi nấm mối (*Termitomyces clypeatus*) trong môi trường nuôi cấy lỏng. Kết quả cho thấy cả ba yếu tố: pH, tốc độ lắc và nhiệt độ đều có ảnh hưởng đáng kể ($p < 0,05$) đến sinh khối khô hệ sợi. Trong đó, nhiệt độ là yếu tố có tác động lớn nhất, tiếp theo là pH và tốc độ lắc. Sinh khối đạt giá trị cao nhất (6,37g/L) khi nuôi cấy ở pH 4,5, tốc độ lắc 140 vòng/phút và nhiệt độ 28°C. Phân tích bề mặt đáp ứng bằng mô hình Box-Behnken cho thấy điều kiện tối ưu dự đoán là pH 4,75, tốc độ lắc 131,3 vòng/phút và nhiệt độ 28,1°C, với sinh khối dự đoán là 6,503g/L. Thực nghiệm xác nhận với các điều kiện tối ưu trên cho kết quả sinh khối khô trung bình là $6,231 \pm 0,213$ g/L, không khác biệt có ý nghĩa thống kê so với giá trị dự đoán. Ngoài ra, tỷ lệ cấy giống và chế độ sục khí cũng ảnh hưởng đến sự tích lũy sinh khối. Khi sử dụng tỷ lệ cấy giống 10% (v/v) và chế độ sục khí 0,4 v/v/m, sinh khối đạt 5,99g/L, cao hơn so với các nghiệm thức còn lại.

Từ khóa: Nấm mối, *Termitomyces clypeatus*, sinh khối hệ sợi, nuôi cấy chìm

Abstract

EFFECT OF CULTIVATION CONDITIONS ON MYCELIAL BIOMASS ACCUMULATION OF TERMITOMYCES CLYPEATUS

The study was conducted to evaluate the effects of various culture conditions—including initial pH, shaking speed, temperature, inoculum ratio, and aeration rate—on the growth and biomass accumulation of *Termitomyces clypeatus* mycelia in submerged culture. The results showed that all three main factors (pH, shaking speed, and temperature) had statistically significant effects ($p < 0.05$) on the dry biomass yield. Among them, temperature had the greatest influence, followed by pH and shaking speed. The highest biomass yield (6.37g/L) was obtained at pH 4.5, 140rpm shaking speed, and 28°C. Response surface analysis using the Box-Behnken model predicted optimal conditions of pH 4.75, shaking speed of 131.3rpm, and temperature of 28.1°C, with a predicted biomass yield of 6.503g/L. Experimental validation under these optimal conditions resulted in an average dry biomass yield of 6.231 ± 0.213 g/L, showing no statistically significant difference compared to the predicted value. In addition, the inoculum ratio and aeration rate also affected biomass accumulation. The combination of 10% (v/v) inoculum and an aeration rate of 0.4 v/v/m yielded 5.99g/L of biomass, which was higher than that of other tested conditions.

1. Mở đầu

Nấm mối (*Termitomyces*) là một chi nấm hoang dã có giá trị dinh dưỡng và dược liệu cao, phân bố chủ yếu ở các vùng nhiệt đới châu Á và châu Phi. Nhiều nghiên cứu đã ghi nhận nấm mối là nguồn cung cấp protein, các acid amin thiết yếu, khoáng chất và hoạt chất sinh học có giá trị, bao gồm các polysaccharide, sterol và hợp chất chống oxy hóa (Masamba et al., 2010; Kumar et al., 2021). Một số loài trong chi này như *T. heimii*, *T. microcarpus* và *T. clypeatus* còn được ứng dụng trong y học cổ truyền để điều trị các bệnh nhiễm trùng, viêm loét, rối loạn tiêu hóa, và hỗ trợ điều trị ung thư (Majumder et al., 2016; Venkatachalapathi & Paulsamy, 2016; Tibuhwa, 2012). Sinh khối *T. clypeatus* có các hợp chất có hoạt tính sinh học như polysaccharides, ergothioneine và các chất chống oxy hóa (Smith, Rowan, & Sullivan, 2002). Hiện nay, việc nuôi trồng nhân tạo nấm mối nói chung và *T. clypeatus* nói riêng vẫn chưa thành công do đặc điểm sinh học phức tạp và yêu cầu điều kiện sống nghiêm ngặt. Do vậy, phát triển hệ sợi trong môi trường nhân tạo được xem là bước đầu quan trọng trong quá trình nhân giống, tạo quả thể, hoặc thu nhận các hoạt chất có giá trị sinh học cao (Kumar et al., 2015). Trong nuôi cấy chìm, sự tích lũy sinh khối chịu ảnh hưởng bởi nhiều yếu tố như pH, nhiệt độ, tốc độ lắc, chế độ sục khí và tỷ lệ cấp giống (Tang & Zhong, 2003). Tuy nhiên, hiện nay vẫn chưa có nhiều nghiên cứu về ảnh hưởng của các điều kiện nuôi cấy đến sự sinh trưởng của *T. clypeatus* trong điều kiện nhân tạo. Từ những lý do trên, nghiên cứu này được thực hiện nhằm khảo sát ảnh hưởng của các điều kiện nuôi cấy (bao gồm pH, tốc độ lắc, nhiệt độ, tỷ lệ cấp giống và chế độ sục khí) đến sự tích lũy sinh khối hệ sợi *T. clypeatus* trong môi trường nuôi cấy chìm. Kết quả nghiên cứu sẽ góp phần xây dựng cơ sở khoa học cho việc tối ưu hóa quy trình sản xuất sinh khối nấm mối phục vụ cho các ứng dụng trong lĩnh vực dược liệu và thực phẩm chức năng.

2. Phương pháp nghiên cứu

- Vật liệu nghiên cứu: Chủng *T. clypeatus* (KU569480)

• Ảnh hưởng riêng lẻ của ba yếu tố gồm pH ban đầu (3,5; 4,0; 4,5; 5,0; 5,5), tốc độ lắc (120; 140; 160; 180 vòng/phút) và nhiệt độ (24; 26; 28; 30; 32°C) được khảo sát bằng phương pháp nuôi cấy ở từng điều kiện cố định trong 10 ngày. Chuẩn bị môi trường với 0,2% KH₂PO₄; 0,6% pepton; 7% glucose; 0,1% Yeast extract; 0,015% MgSO₄; 0,001% Vitamin B1. Sau đó, cấp 10mL giống gốc 10 ngày tuổi vào mỗi bình tam giác 500mL chứa 200mL môi trường; thời gian nuôi cấy 10 ngày. Sinh khối khô của hệ sợi được xác định sau thời gian nuôi cấy.

• Thiết kế thí nghiệm tối ưu: Để xác định điều kiện tối ưu đồng thời của ba yếu tố pH (3,5; 4,0; 4,5; 5,0; 5,5), tốc độ lắc (120; 140; 160 vòng/phút) và nhiệt độ (26; 28; 30°C), thiết kế Box-Behnken thuộc phương pháp Bề mặt đáp ứng (Response Surface Methodology - RSM) được áp dụng. Thiết kế này cho phép đánh giá hiệu ứng chính, tương tác giữa các yếu tố và xây dựng mô hình toán học dự đoán sinh khối. Ảnh hưởng đồng thời của tỷ lệ cấp giống (4%, 7%, 10% v/v) và chế độ sục khí (0,2; 0,4; 0,6; 0,8; 1,0 v/v/m) cũng được khảo sát theo thiết kế hoàn chỉnh ngẫu nhiên với ba lần lặp lại.

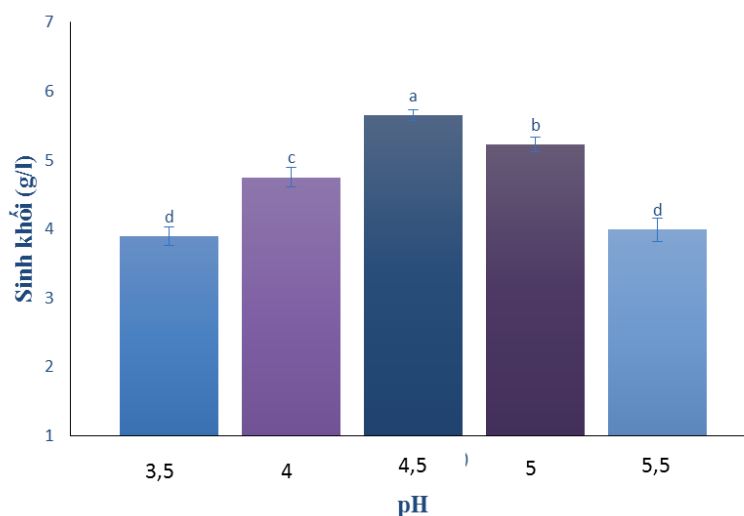
• Xác định sinh khối: Sau nuôi cấy, hệ sợi nấm được lọc qua giấy lọc, rửa bằng nước cất và sấy khô ở 60°C đến khối lượng không đổi. Sinh khối khô được tính theo gam trên lít môi trường (g/L).

Phân tích số liệu: Dữ liệu được xử lý bằng phần mềm Minitab phiên bản 16.0. Phân tích phương sai (ANOVA) được sử dụng để đánh giá ý nghĩa thống kê của các yếu tố và các tương tác giữa chúng với mức ý nghĩa $\alpha = 0,05$. Mô hình hồi quy bậc hai được xây dựng dựa trên dữ liệu thí nghiệm và đánh giá độ phù hợp bằng hệ số xác định (R^2). Phân tích đồ thị bề mặt đáp ứng và tối ưu hóa điều kiện được thực hiện thông qua công cụ Response Optimizer trong Minitab.

3. Kết quả nghiên cứu

3.1. Tác động của pH ban đầu tới sự tích lũy sinh khối hệ sợi nấm mốc

Hình 1 cho thấy pH ban đầu của môi trường nuôi cấy ảnh hưởng đáng kể đến sự sinh trưởng của hệ sợi nấm mốc. Trong phạm vi pH khảo sát (3,5-5,5), cố định tốc độ lắc 150 vòng/phút, nhiệt độ 28°C, sinh khối hệ sợi dao động từ 3,892g/L đến 5,652g/L, trong đó điều kiện pH 4,5 cho giá trị sinh khối cao nhất và khác biệt có ý nghĩa thống kê so với các nghiệm thức còn lại ($p < 0,05$). Điều này cho thấy môi trường có tính acid nhẹ là điều kiện thuận lợi để hệ sợi nấm mốc phát triển mạnh. Khi pH tăng hoặc giảm quá mức, sinh trưởng bị ức chế rõ rệt, có thể do ảnh hưởng đến tính khả dụng của dinh dưỡng, cấu trúc màng tế bào và hoạt tính enzyme nội bào. Kết quả này tương đồng với nghiên cứu của Elisashvili (2012). khi khảo sát ảnh hưởng của pH đến sinh khối của *T. albuminosus*. Do vậy, sử dụng pH 4,5 để tiếp tục tiến hành thí nghiệm tiếp theo.

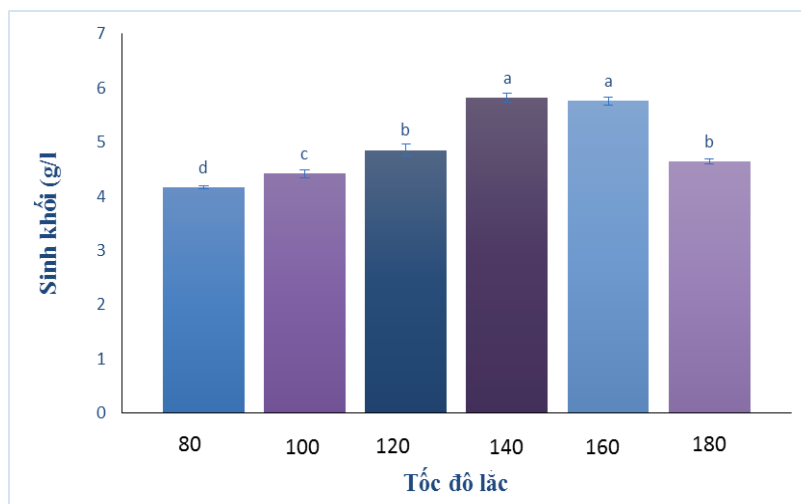


Hình 1. Tác động của pH ban đầu tới sự tích lũy sinh khối hệ sợi nấm mốc.
Ghi chú: Số liệu trên mỗi cột là trung bình của 3 lần lặp lại. Các giá trị không cùng mẫu tự thì có sự khác biệt về mặt thống kê ở mức ý nghĩa 5%.

3.2. Tác động của tốc độ lắc lên sự phát triển sinh khối hệ sợi nấm mốc

Hình 2 cho thấy, khi pH 4,5; nhiệt độ 28°C; tốc độ lắc tăng từ 80 đến 140 vòng/phút thì sinh khối hệ sợi nấm mốc tăng dần, đạt giá trị cao nhất tại tốc độ 140 vòng/phút với 5,823g/L. Tuy nhiên, khi tốc độ lắc tiếp tục tăng lên 180 vòng/phút, sinh khối lại giảm còn 4,65g/L (hình 2). Sự gia tăng sinh khối theo tốc độ lắc là do khả năng cung cấp oxy và sự khuếch tán chất dinh dưỡng trong môi trường. Tuy nhiên, khi tốc độ lắc vượt quá ngưỡng thích hợp, lực cắt cơ học và hiện tượng tạo bọt có thể gây tổn thương đến hệ sợi nấm hoặc cản trở trao đổi khí, làm giảm hiệu suất sinh trưởng. Kết quả phân tích thống

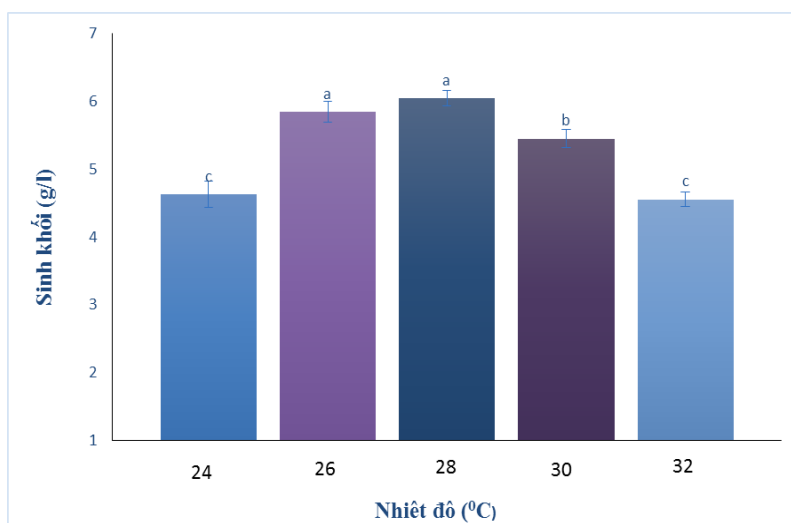
kê cho thấy tốc độ lắc 140 và 160 vòng/phút không khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$), nhưng đều cao hơn có ý nghĩa so với các nhóm còn lại ($p < 0,05$). Kết quả này phù hợp với các nghiên cứu về nuôi cấy sinh khối các loại nấm như *Ganoderma lucidum* (Supramani et al., 2019), tốc độ cao hơn gây ra hiện tượng tạo bọt và phá vỡ cấu trúc hệ sợi. Nghiên cứu của Shih et al. (2007) trên *Cordyceps militaris* cũng sử dụng tốc độ 150 vòng/phút trong việc nuôi sinh khối và tích lũy dược chất.



Hình 2. Tác động của tốc độ lắc tới sự phát triển sinh khối hệ sợi nấm mốc.
Ghi chú: Số liệu trên mỗi cột là trung bình của 3 lần lặp lại. Các giá trị không cùng mẫu tự thì có sự khác biệt về mặt thống kê ở mức ý nghĩa 5%.

3.3. Tác động của nhiệt độ lên sự phát triển sinh khối hệ sợi nấm mốc

Nấm mốc có khả năng sinh trưởng trên môi trường có nhiệt độ khác nhau, dao động từ 24 đến 32°C. Sinh khối nấm có xu hướng sinh trưởng mạnh khi được nuôi cấy ở nhiệt độ từ 26 đến 30°C, ở nhiệt độ 26°C và 28°C không khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê ở mức ý nghĩa 5%. Sinh khối nấm thấp nhất khi nuôi ở nhiệt độ 24°C là 4,63g và cao nhất là 6,05g khi nuôi ở nhiệt độ 28°C cao hơn 23,5% so với hệ sợi nấm được nuôi ở nhiệt độ cho sinh khối thấp nhất (hình 3).



Hình 3. Tác động của nhiệt độ tới sự phát triển sinh khối hệ sợi nấm mốc.
Ghi chú: Số liệu trên mỗi cột là trung bình của 3 lần lặp lại. Các giá trị không cùng mẫu tự thì có sự khác biệt về mặt thống kê ở mức ý nghĩa 5%.

3.4. Tác động đồng thời của pH, tốc độ lắng và nhiệt độ tới sự phát triển sinh khối hệ sợi nấm mốc

Nhằm đánh giá được tác động tổng hợp của cả 3 nhân tố: pH (X_1), tốc độ lắng (X_2) và nhiệt độ (X_3) lên sự tích lũy sinh khối hệ sợi nấm mốc, mỗi nhân tố được lựa chọn ba mức độ để bố trí thí nghiệm. Các giá trị này được lựa chọn dựa trên kết quả của 3 thí nghiệm sơ bộ 3a, 3b, 3c và được trình bày trong bảng 1

Bảng 1. Các pH, tốc độ lắng và nhiệt độ có tác động lên sự tích lũy sinh khối hệ sợi nấm mốc được lựa chọn

Nhân tố	Ký hiệu	Giá trị chưa mã hóa			Giá trị mã hóa		
pH	X1	4	4,5	5,5	-1	0	1
Tốc độ lắng	X2	120	140	160	-1	0	1
Nhiệt độ	X3	26	28	30	-1	0	1

Từ các giá trị được lựa chọn này, phương pháp bề mặt đáp ứng được áp dụng với kiểu bố trí thí nghiệm Box-Behnken. Kết quả thí nghiệm được trình bày trong bảng 2. Sản lượng sinh khối hệ sợi thấp nhất là 4,64g/L và cao nhất là 6,37g/L.

Bảng 2. Ảnh hưởng của pH, tốc độ lắng và nhiệt độ lên sự tích lũy sinh khối hệ sợi nấm mốc.

TT	Chưa mã hóa			Mã hóa			Sinh khối (g/l)
	pH	Tốc độ lắng	Nhiệt độ	X ₁	X ₂	X ₃	
1	4,0	120	28	-1	-1	0	5,52
2	5,5	120	28	1	-1	0	5,29
3	4,0	160	28	-1	1	1	4,73
4	5,5	160	28	1	1	0	5,6
5	4,0	140	26	-1	0	-1	4,85
6	5,5	140	26	1	0	-1	4,64
7	4,0	140	30	-1	0	1	4,74
8	5,5	140	30	1	0	1	5,13
9	4,5	120	26	0	-1	-1	5,9
10	4,5	160	26	0	1	-1	5,22
11	4,5	120	30	0	-1	1	5,78
12	4,5	160	30	0	1	1	5,81
13	4,5	140	28	0	0	0	6,37
14	4,5	140	28	0	0	0	6,31
15	4,5	140	28	0	0	0	6,29

Giá trị trọng lượng khô sinh khối trình bày trong bảng là trung bình của 3 lần lặp.

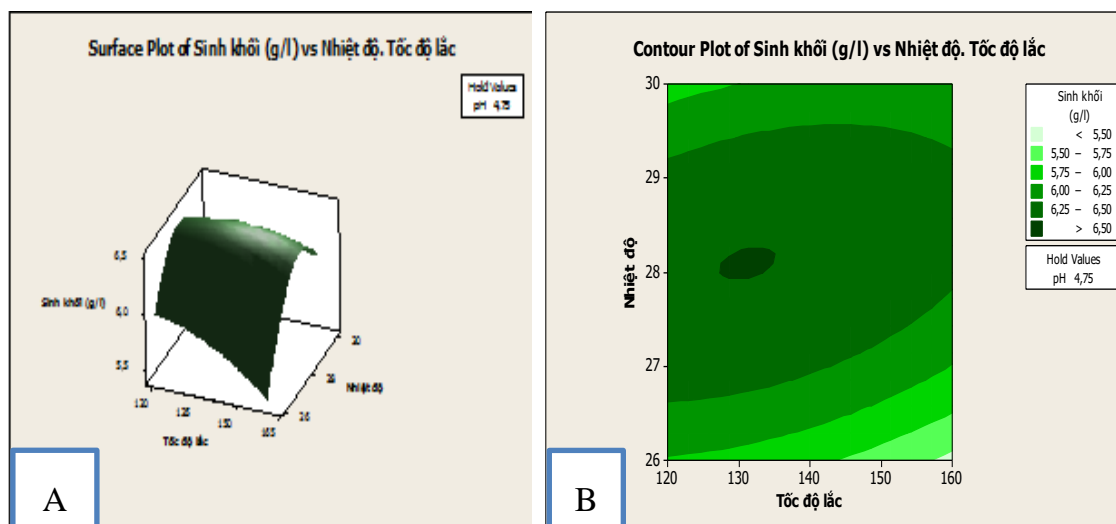
Qua bảng 3 cho thấy, về tác động riêng lẻ của mỗi nhân tố, 3 nhân tố pH, tốc độ lắng và nhiệt độ đều có ảnh hưởng đến sự tích lũy sinh khối hệ sợi nấm mốc (giá trị P_{X_1} , P_{X_2} và P_{X_3} nhỏ hơn 0,05). Trong 3 nhân tố có sự tác động, nhân tố nhiệt độ có ảnh hưởng lớn hơn hai nhân tố còn lại với giá trị hệ số của phương trình hồi quy cao hơn ($Coef_{X_3} = 0,12 > Coef_{X_1} = 0,1 > Coef_{X_2} = -0,09$). Như vậy, sự thay đổi nhiệt độ sẽ có ảnh hưởng nhiều hơn lên sự tích lũy sinh khối hệ sợi nấm mốc so với sự thay đổi về pH và sự thay đổi tốc độ lắng.

Bảng 3. Kết quả phân tích hồi quy và ANOVA của sản lượng sinh khối khô của hệ sợi khuẩn ty nấm *Termitomyces clypeatus*.

Nguồn	Hệ số hồi quy (Coef)	P (Phân tích ANOVA)
X1	0,10250	0,000
X2	-0,09671	0,037
X3	0,12934	0,013
X1 x X1	-1,09359	0,000
X2 x X2	-0,10042	0,096
X3 x X3	-0,54542	0,000
X1 x X2	0,26724	0,029
X2 x X3	0,13855	0,029
X1 x X3	0,17750	0,013

Về tác động tổng hợp giữa các cặp nhân tố, có hai cặp pH với tốc độ lắc và pH với nhiệt độ có sự tương tác qua lại và sự tương tác này có ảnh hưởng đến sự sinh trưởng cũng như phát triển của hệ sợi nấm mốc. Điều này được chứng minh qua giá trị $P_{X1 \times X2}$ và $P_{X2 \times X3}$ nhỏ hơn 0,05 và giá trị trị tuyệt đối của hệ số hồi quy lần lượt là 0,26 và 0,14 lớn hơn giá trị tuyệt đối của hệ số hồi quy cặp nhân tố còn lại (bảng 3).

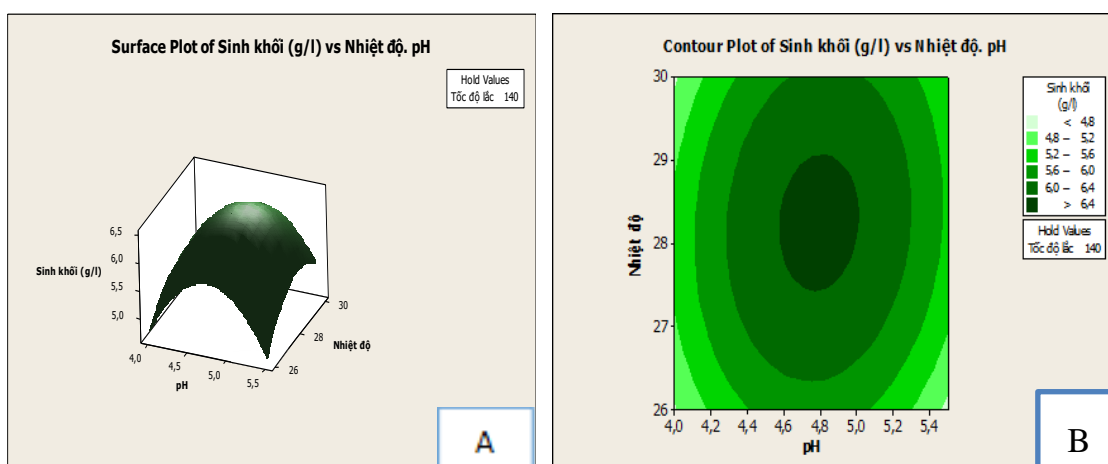
Từ biểu đồ mặt đáp ứng của 2 nhân tố: nhiệt độ và tốc độ lắc cho thấy vùng cho sản lượng sinh khối cao nhất (trên 6,25g/L) tương ứng với khoảng nhiệt độ từ 26,7⁰C đến 29,1⁰C và tốc độ lắc trong khoảng 120 đến 160 (hình 4).



Hình 4. Tác động của nhân tố nhiệt độ và tốc độ lắc lên sự sinh trưởng của hệ sợi nấm với pH 5,5.

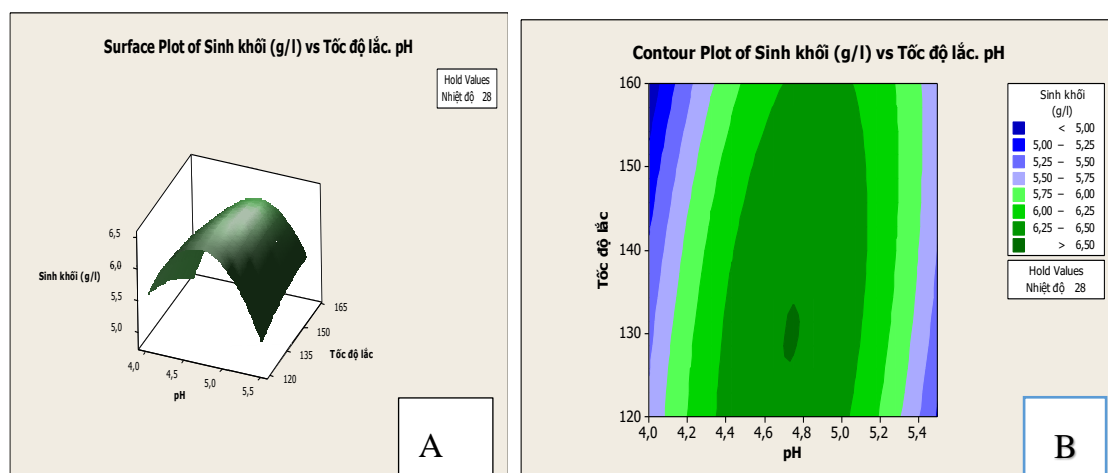
(A. Biểu đồ bề mặt đáp ứng; B. Biểu đồ chu tuyến)

Từ biểu đồ mặt đáp ứng của 2 nhân tố: nhiệt độ và pH cho thấy vùng có sự tích lũy sinh khối hệ sợi trên 6,4g/L tương ứng với khoảng pH 4,47 đến 5 và nhiệt độ 27,3⁰C đến 29⁰C (hình 5).



Hình 5. Tác động của nhân tố nhiệt độ và pH lên sự sinh trưởng của hệ sợi nấm với tốc độ lắc 140 vòng/phút
(A. Biểu đồ bề mặt đáp ứng; B. Biểu đồ chu tuyến)

Biểu đồ bề mặt đáp ứng cũng cho thấy vùng có sản lượng sinh khối cao nhất (trên 6,25g/L) nằm trong khoảng tốc độ lắc từ 120-160 vòng/phút và pH từ 4,35 đến 5,02, hoàn toàn phù hợp với các điều kiện được báo cáo bởi Hu et al. (2001) và Chatterjee et al. (2010). Ngoài ra, nghiên cứu của Sengupta et al. (1990) cũng ghi nhận pH = 5 là điều kiện thuận lợi cho sự phát triển của *T. clypeatus*.



Hình 6. Tác động của nhân tố tốc độ lắc và pH lên sự sinh trưởng của hệ sợi nấm ty nấm với nhiệt độ 280C.
(A. Biểu đồ bề mặt đáp ứng; B. Biểu đồ chu tuyến.)

Từ các hệ số hồi quy (bảng 3), phương trình hồi quy được viết như sau:

Sản lượng sinh khối:

$$Y \text{ (g/L)} = 5,97 + 0,1 \times X_1 - 0,1 \times X_2 + 0,12 \times X_3 - 1,09 \times X_1^2 - 0,55 \times X_3^2 + 0,27 X_1 \times X_2 + 0,14 X_2 \times X_3 + 0,18 X_1 \times X_3$$

Kết quả nghiên cứu cho thấy cả ba yếu tố chính gồm pH, tốc độ lắc, và nhiệt độ đều có ảnh hưởng đáng kể đến khả năng tích lũy sinh khối hệ sợi của nấm môi *Termitomyces clypeatus* trong nuôi cấy chìm. Trong đó, nhiệt độ là yếu tố có ảnh hưởng mạnh nhất, với sinh khối cao nhất đạt 6,37g/L tại 28°C. Phân tích hồi quy và mô hình bề mặt đáp ứng

(RSM) đã xác định điều kiện tối ưu dự đoán là pH 4,75, tốc độ lắc 131,3 vòng/phút và nhiệt độ 28,1°C, với sinh khối dự đoán là 6,503g/L. Kết quả thực nghiệm xác nhận sinh khối đạt $6,231 \pm 0,213$ g/L, không khác biệt có ý nghĩa thống kê so với giá trị mô hình, cho thấy mô hình dự đoán có độ tin cậy cao ($R^2 = 97,49\%$).

3.4. Tác động của tỷ lệ cấp giống và chế độ sục khí tới sự phát triển sinh khối hệ sợi nấm mốc.

Kết quả của nghiên cứu cho thấy tỷ lệ cấp giống và chế độ sục khí đều ảnh hưởng đến sự tích lũy sinh khối hệ sợi nấm mốc *T. clypeatus*, trong đó tỷ lệ giống có vai trò quyết định hơn. Khi tỷ lệ giống tăng từ 4% lên 10% (v/v), sinh khối gia tăng đáng kể, điều này phù hợp với nghiên cứu của Ono et al. (2019). Về yếu tố sục khí, kết quả cho thấy mức sục khí 0,4 v/v/m là tối ưu, cao hơn hoặc thấp hơn đều làm giảm sinh khối. Điều này cho thấy hệ sợi nấm mốc cần một mức oxy hòa tan vừa đủ để duy trì hô hấp hiếu khí mà không gây rối loạn cơ học như tạo bọt, tổn thương sợi hoặc kết tụ sinh khối.

Bảng 4. Kết quả phân tích ANOVA sinh khối hệ sợi nấm.

Nhân tố	F	P
Lượng khí cấp (v/v/m)	4,90	0,006
Tỷ lệ giống cấp (% v/v)	552,48	0,000
Tương tác giữa chế độ sục khí và tỷ lệ cấp giống	6,89	0,000

4. Kết luận

Nghiên cứu đã xác định được các điều kiện nuôi cấy ảnh hưởng đáng kể đến khả năng tích lũy sinh khối hệ sợi của nấm mốc (*Termitomyces clypeatus*). Trong đó, nhiệt độ là yếu tố quan trọng nhất, tiếp theo là pH và tốc độ lắc. Phân tích bề mặt đáp ứng cho phép xác định được mô hình hồi quy có độ phù hợp cao ($R^2 = 97,49\%$) và dự đoán chính xác sinh khối tối ưu. Các điều kiện tối ưu cho quá trình nuôi cấy bao gồm: pH 4,75, nhiệt độ 28,1°C và tốc độ lắc 131,3 vòng/phút. Tỷ lệ cấp giống 10% (v/v) và chế độ sục khí 0,4 v/v/m cũng góp phần làm tăng hiệu suất tích lũy sinh khối. Những kết quả thu được có thể làm cơ sở khoa học cho việc tối ưu hóa quy trình sản xuất sinh khối nấm mốc trong quy mô phòng thí nghiệm và có tiềm năng ứng dụng trong sản xuất thương mại các sản phẩm có giá trị từ nấm mốc như dược liệu hoặc thực phẩm chức năng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

[1] Chatterjee, R., Majumder, K. and Sengupta, S. (2010). Tamarind kernel powder co-induces xylanase and cellulase production during submerged fermentation of *Termitomyces clypeatus*. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, 15(5), 854-861.

[2] Elisashvili, V. I. (2012). Submerged cultivation of medicinal mushrooms: bioprocesses and products. *International journal of medicinal mushrooms*, 14(3).

[3] Hu, Z. and Zheng, X. (2001). Study on submerge fermentation of *Termitomyces albuminosus*. *Mycosystema/Zhongguo ke xue yuan Wei sheng wu yan jiu suo. Zhongguo jun wu xue hui zhu ban*, 21(1), 98-101.

[4] Kumar, K., Mehra, R., Guiné, R. P., Lima, M. J., Kumar, N., Kaushik, R., ... & Kumar, H. (2021). Edible mushrooms: A comprehensive review on bioactive compounds with health benefits and processing aspects. *Foods*, 10(12), 2996.

- [5] Kumar, Krishan (2015). Role of edible mushrooms as functional foods—a review. *South Asian Journal of Food Technology and Environment*, 1(3&4), 211-218.
- [6] Majumder, R., Banik, S. P. and Khowala, S. (2016). AkP from mushroom *Termitomyces clypeatus* is a proteoglycan specific protease with apoptotic effect on HepG2. *International journal of Biological Macromolecules*, 91, 198-207.
- [7] Masamba, K. G., Solomons, G., & Dzomba, P. (2010). Nutritional value of wild edible mushrooms from Malawi. *African Journal of Food Science*, 4(9), 606-611.
- [8] Ono, K., Tsujiyama, S. I., Yoshimura, T., & Kinjo, K. (2019). The effects of aeration on vegetative growth of *Termitomyces eurhizus* in submerged culture. *Mushroom Science and Biotechnology*, 27(3), 98-100.
- [9] Sengupta, S. and Sengupta, S. (1990). β -Glucosidase production by the mycelial culture of the mushroom *Termitomyces clypeatus*. *Enzyme and Microbial Technology*, 12(4), 309-314.
- [10] Shih, 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(3), 193-201.
- [11] Smith, J. E., Rowan, N. J., & Sullivan, R. (2002). *Medicinal mushrooms: Their therapeutic properties and current medical usage with special emphasis on cancer treatments*. University of Strathclyde.
- [12] Supramani, S., Ahmad, R., Ilham, Z., Annuar, M. S. M., Klaus, A., & Wan, W. A. A. Q. I. (2019). Optimisation of biomass, exopolysaccharide and intracellular polysaccharide production from the mycelium of an identified *Ganoderma lucidum* strain QRS 5120 using response surface methodology. *AIMS microbiology*, 5(1), 19.
- [13] Tang, Y. J., & Zhong, J. J. (2003). Role of oxygen supply in submerged fermentation of *Ganoderma lucidum* for production of *Ganoderma* polysaccharide and ganoderic acid. *Enzyme and Microbial technology*, 32(3-4), 478-484.
- [14] Tibuhwa, D. D. (2012). Ethnomycological study of wild edible mushrooms in Tanzania: A case study in Lushoto and Morogoro districts. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, 8, 12.
- [15] Venkatachalapathi, A. and Paulsamy, S. (2016). Exploration of wild medicinal mushroom species in Walayar valley, the Southern Western Ghats of Coimbatore District Tamil Nadu. *Mycosphere*, 7(2), 118-130.