

Study on morpho-biological characteristics of thrips on banana and efficacy of basil leaf extract for their control

Nguyen Thi Hanh, Tran Thi My Hanh
Nguyen Thi Cam Giang, Le Cao Luong

Abstract

A study on morpho-biological characteristics of thrips on banana and efficacy of basil leaf extract for their control was conducted at the Plant Protection Division of Southern Horticultural Research Institute and on the banana farms at My Tho City, Cai Lay and Chau Thanh districts, Tien Giang province from October 2018 to April 2019. The result showed that the adult of *T. hawaiiensis* had yellow or yellowish orange head and thorax, black brown abdomen and the antennae had eight segments. Eggs were milky in color and were laid in the banana flower. Nymphs were very active and stop eating in pupae stage. The life cycle of *T. hawaiiensis* completed in 7-14.5 days. The results of efficacy evaluation of nine concentrations of basil leaf extract showed that the treatment of basil leaf extract was the highest effectiveness against *T. hawaiiensis* with a concentration of 9% (80.39%). Three treatments with concentration of 6% (70.59%), 7% (74.51%) and 8% (78.43%) also were highly effective against *T. hawaiiensis* at 7 days after spraying in lab conditions.

Keywords: Thrip (*Thrips hawaiiensis*), banana, basil leaf, extract

Ngày nhận bài: 12/7/2019
Ngày phản biện: 26/7/2019

Người phản biện: TS. Nguyễn Văn Liêm
Ngày duyệt đăng: 9/8/2019

ẢNH HƯỞNG CỦA ĐIỀU KIỆN DINH DƯỠNG ĐỐI VỚI NĂNG SUẤT TẠO QUẢ THỂ VÀ HÀM LƯỢNG CORDYCEPIN Ở NẤM ĐÔNG TRÙNG HẠ THẢO

Vũ Hoài Nam¹, Ma Thị Trang¹, Trần Văn Phùng¹,
Nguyễn Huy Thuận³, Dương Văn Cường^{1,2}

TÓM TẮT

Nấm Đông trùng hạ thảo (*Cordyceps militaris*) là loại nấm dược liệu có giá trị. Trong nghiên cứu này, các điều kiện dinh dưỡng được khảo sát để tìm ra được công thức thích hợp cho sự hình thành quả thể và sinh tổng hợp hoạt chất sinh học cordycepin của nấm Đông trùng hạ thảo. Trong bốn loại cơ chất nền sẵn có ở Việt Nam bao gồm gạo 404, gạo lứt đỏ, gạo Nàng Xuân và gạo Bắc thơm, gạo Nàng Xuân cho năng suất sinh học cao nhất 9,92%; mật độ quả thể trung bình đạt 34,5 quả thể/bình; tiếp theo là gạo Lứt đỏ, gạo Bắc thơm và cuối cùng là gạo 404. Dung dịch dinh dưỡng bổ sung tối ưu cho sự phát triển quả thể *C. militaris* gồm bột nhộng tằm 5%, glucose 40 g/L; pepton 10 g/L; KH₂PO₄ 1g/L; MgSO₄ 1 g/L, mật độ quả thể 80 quả thể/bình, năng suất sinh học đạt 19,53%; hàm lượng cordycepin đạt 6,4 mg/g.

Từ khóa: *Cordyceps militaris*, cordycepin, điều kiện dinh dưỡng, năng suất tạo quả thể

ĐẶT VẤN ĐỀ

Đông trùng Hạ thảo là một dạng ký sinh giữa nấm *Cordyceps* và ấu trùng sâu hoặc một số loại côn trùng. *Cordyceps militaris* được sử dụng như một dạng thực phẩm chức năng giúp bảo vệ cơ thể. Nhiều hợp chất có hoạt tính sinh học đã được tách chiết từ *C. militaris*, bao gồm exopolysaccharit, D-mannitol, cordycepin và adenosine (Cunningham, 1950; Ling *et al.*, 2002; Kim *et al.*, 2003; Mina Masuda, 2007;

Lim *et al.*, 2012). *C. militaris* có khả năng kháng khuẩn (Ahn, 2000), điều hòa miễn dịch (Hsu, 2008), giảm mệt mỏi (Li T, 2009), chống sự tăng trưởng của khối u (Park *et al.*, 2005), giúp tăng cường chức năng gan (Nan *et al.*, 2001), phổi (Yu *et al.*, 2004), thận (Das, 2010), hỗ trợ điều trị bệnh tiểu đường (Lo *et al.*, 2004, Zhang *et al.*, 2006), và giúp lưu thông máu (Tabrizchi and Bedi, 2001).

¹ Viện Khoa học Sự sống - Đại học Thái Nguyên

² Khoa Công nghệ sinh học và Công nghệ thực phẩm - Trường Đại học Nông Lâm Thái Nguyên

³ Viện Nghiên cứu và Phát triển Công nghệ cao - Đại học Duy Tân

Do khó khăn trong việc thu hoạch nấm *Cordyceps* sp trong tự nhiên, nuôi trồng nhân tạo *C. militaris* được phổ biến để tạo nguồn thay thế. Tuy nhiên, sự hình thành quả thể không ổn định đang là rào cản trong nuôi trồng nấm *C. militaris*. Năng suất tạo quả thể và hàm lượng các hoạt chất sinh học chịu ảnh hưởng lớn bởi các điều kiện nuôi trồng (Feng, Zhu *et al.*, 2018). Trong các loại ngũ cốc gạo, hạt kê, lúa mì và ngô được nghiên cứu, năng suất tạo quả thể và hàm lượng cordycepin tốt nhất trên giá thể gạo (Cunningham 1950, Soo-Young Kim 2010, Ting-chi Wen 2014). Tuy nhiên, trên giá thể gạo, khi hàm lượng cordycepin thu được trong quả thể cao thì hàm lượng adenosine do được lại thấp. Một giả thuyết được đặt ra rằng có thể adenosine là một mắt xích trong quá trình chuyển hóa cordycepin (Masuda, 2011). Bên cạnh đó, các yếu tố dinh dưỡng bổ sung cũng có một vai trò quan trọng. Tốc độ phát triển hệ sợi được chứng minh có liên quan chặt chẽ đến điều kiện nuôi trồng như thành phần dinh dưỡng, độ ẩm cơ chất, nhiệt độ. Trong các yếu tố dinh dưỡng, hàm lượng nitơ và cacbon được chú ý hơn cả (Gao XH, 2000). Tỷ lệ cacbon/nitơ ảnh hưởng tới hàm lượng cordycepin (Ing-Lung Shih. 2007; Lim, 2012).

Việt Nam là nước đa dạng về lúa gạo với các đặc tính sinh học khác nhau, trong nghiên cứu này, các loại gạo và các điều kiện dinh dưỡng được khảo sát để tìm ra công thức phù hợp cho sự hình thành quả thể và sinh tổng hợp cordycepin đối với chủng giống nấm Đông trùng hạ thảo được nhập khẩu từ Trung tâm Tài nguyên Sinh vật NITE, Nhật Bản.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Giống gốc: *C. militaris* được nhập khẩu từ Trung tâm Tài nguyên Sinh vật NITE, Nhật Bản, được lưu giữ ở 4°C.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Chuẩn bị giống và cấy giống

- Môi trường dịch lỏng nhân giống: Chủng giống gốc được cấy ria trên môi trường thạch PDA ở 25°C. Sau 10 ngày, bổ sung 50 ml nước cất được hấp khử trùng được vào ống thạch. Dịch huyền phù chứa bào tử nấm được lọc qua băng gạc tiệt trùng và bổ sung vào 200 ml dung dịch dinh dưỡng (glucose 20 g/L, peptone 20 g/L, MgSO₄·7H₂O 0,5 g/L và K₂HPO₄ 1 g/L) với mật độ 3 × 10⁸ bào tử /ml (số lượng bào tử được xác định bằng buồng đếm hồng cầu) và được nuôi ở điều kiện 25°C, tốc độ lắc 150 vòng/phút trong 7 ngày (Ting-chi Wen, 2014).

- Môi trường rắn, tổng hợp tạo quả thể: Môi trường nuôi trồng nấm *C. militaris* bao gồm 25 gam gạo và 5% bột nhộng tằm với 50 ml dung dịch dinh dưỡng, bao gồm: 20 g/L cacbon, 10 g/L nitơ, 0,1 g/l muối khoáng (các thành phần dinh dưỡng được thay đổi theo các công thức thí nghiệm) đựng trong bình thủy tinh 500 ml được hấp khử trùng ở 121°C trong 30 phút, bảo quản ở nhiệt độ phòng trước khi được bơm 5 ml dung dịch giống. Nấm sau khi cấy được nuôi trong điều kiện 16°C, không chiếu sáng, cho đến khi hệ sợi phát triển kín bề mặt thì được chuyển sang điều kiện tạo quả thể ở nhiệt độ 23°C độ ẩm > 80%, thời gian chiếu sáng 12 giờ/ngày (Ting-chi Wen, 2014).

2.2.2. Bố trí thí nghiệm

Để khảo sát ảnh hưởng của các điều kiện dinh dưỡng tới sự sinh trưởng và sinh tổng hợp cordycepin của nấm Đông trùng hạ thảo, lần lượt các yếu tố thí nghiệm: gạo, nguồn cacbon, nitơ, muối khoáng được khảo sát. Kết quả tốt nhất của các thí nghiệm được lựa chọn sử dụng cho các thí nghiệm tiếp theo.

- Khảo sát ảnh hưởng của một số loại gạo dùng làm giá thể nuôi trồng nấm *C. militaris*: Các công thức khảo sát bao gồm: Công thức 1 (CT1): gạo 404 (nở, khô), công thức 2 (CT2): gạo Lứt đỏ (nở, xốp), công thức 3 (CT3): gạo Nàng Xuân (dẻo vừa), công thức 4 (CT4): gạo Bắc thơm (dẻo nhiều).

- Khảo sát ảnh hưởng của nguồn cacbon tới sự sinh trưởng và hàm lượng cordycepin của nấm *C. militaris*: Công thức khảo sát nguồn cacbon bao gồm: công thức 1 (C1): Glucose, công thức 2 (C2): Saccarose, công thức 3 (C3): Maltose, công thức 4 (C4): không bổ sung (đối chứng).

- Khảo sát ảnh hưởng của nguồn nitơ tới sự sinh trưởng và hàm lượng cordycepin của *C. militaris*: Công thức khảo sát nguồn nitơ bao gồm: công thức 1 (N1): pepton, công thức 2 (N2): cao nấm men, công thức 3 (N3): cao malt, công thức (N4): không bổ sung (đối chứng).

- Khảo sát ảnh hưởng của muối khoáng tới sự sinh trưởng và hàm lượng cordycepin của *C. militaris*: Công thức khảo sát nguồn muối khoáng bao gồm: công thức 1 (K1): KH₂PO₄, công thức 1 (K2): MgSO₄, công thức 3 (K3): KH₂PO₄ : MgSO₄ (1 : 1), công thức 4 (K4): không bổ sung (đối chứng).

- Xây dựng mối tương quan giữa các yếu tố dinh dưỡng đến khả năng sinh trưởng và hàm lượng cordycepin của *C. militaris* : Các yếu tố dinh dưỡng bổ sung bao gồm nguồn cacbon, nitơ và muối khoáng được xác định là có ảnh hưởng tốt nhất (từ các thí nghiệm về ảnh hưởng của một số loại gạo, nguồn cacbon, nitơ, muối khoáng ở các thí nghiệm

trước) được tiếp tục khảo sát ở 3 nồng độ khác nhau: cacbon (30, 40, 50 g/L); nitơ (5, 10, 15 g/L) và muối khoáng (1, 1,5, và 2 g/L).

2.2.3. Phương pháp định lượng cordycepin

Quả thể *C. militaris* được thu và sấy khô bằng máy đông khô Virtis Benhtop 2K. 0,5 g quả thể khô được chiết với 40 ml nước cất ở 85°C trong 4 giờ, sau đó tiếp tục 30 phút bằng sóng siêu âm 600 W. Ly tâm thu dịch ở tốc độ 9000 vòng/phút trong 30 phút. Pha trên được lọc qua màng lọc 0,22 µm và được chuẩn lại thể tích 40 ml. Hàm lượng cordycepin được xác định bởi hệ thống sắc ký lỏng hiệu năng cao Agilent 1220 Infinity LC, cột ZORBAX Extend C18 5 µm, 150 × 4,6 mm. 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°C; tốc độ dòng: 1,0 ml/phút; bước sóng tử ngoại: 260 nm; dung tích bơm: 20 µL.

2.2.4. Phương pháp thống kê và xử lý số liệu

Mỗi thí nghiệm được lặp lại 3 lần, loại bỏ các giá

trị bất thường bằng phương pháp Duncan. Phân tích thống kê bằng chương trình IRISTART 4.0.

Chỉ tiêu năng suất sinh học (BE) được tính bằng công thức (Dong *et al.*, 2012):

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

2.3. Thời gian và địa điểm nghiên cứu

Nghiên cứu được thực hiện từ tháng 1 đến tháng 12 năm 2018 tại Viện Khoa học sự sống, Trường Đại học Nông Lâm Thái Nguyên.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Ảnh hưởng của các loại gạo dùng làm giá thể đến khả năng sinh trưởng của *C. militaris*

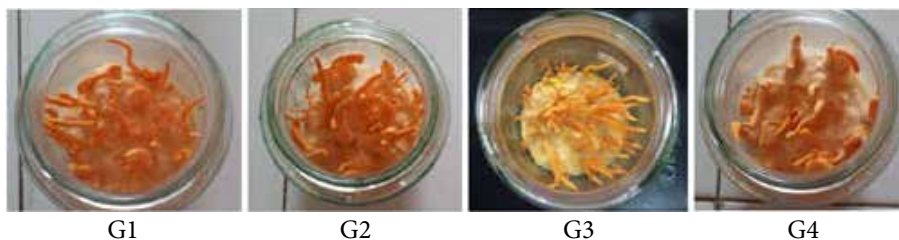
Gạo là một loại giá thể được sử dụng phổ biến trong nuôi trồng *C. militaris*. Tuy nhiên, mỗi loại gạo khác nhau sẽ cho hiệu quả sinh trưởng phát triển khác nhau. Chất lượng gạo quyết định đến tốc độ sinh trưởng, hình thái, mật độ quả thể nấm. Kết quả, khảo sát ảnh hưởng của các loại gạo thu được như ở bảng 1.

Bảng 1. Ảnh hưởng của các loại gạo khác nhau đến khả năng sinh trưởng của *C. militaris*

Công thức	Loại cơ chất	Thời gian hệ sợi ăn kín cơ chất (ngày)	Thời gian hình thành mầm quả thể (ngày)	Mật độ quả thể (quả thể/ bình)	Năng suất sinh học (%)
CT1	Gạo 404	10,63	16,47	17	7,76
CT2	Gạo Lứt đỏ	9,5	15,37	24,70	7,08
CT3	Gạo Nàng Xuân	11,53	17,00	34,50	9,92
CT4	Gạo Bắc thơm	13,30	17,32	10	7,45
$LSD_{0,05}$			2,54	2,52	0,62
CV (%)			2,6	3,7	2,2

Từ kết quả trên bảng 1 và hình 1 cho thấy, gạo Lứt đỏ với đặc tính nở xốp, tạo khoảng trống giữa các hạt gạo nên thời gian ăn kín cơ chất và thời gian hình thành mầm quả thể nhanh nhất, mật độ quả thể trung bình 24,7 quả thể/bình, tuy nhiên quả thể xốp, năng suất sinh học thấp 7,08%. Gạo Nàng Xuân tuy có thời gian bật mầm quả thể lâu hơn so với hai loại gạo nở, khô và nở, xốp là gạo 404 và gạo Lứt

đỏ, nhưng mật độ quả thể và năng suất sinh học cao hơn hẳn so với hai loại gạo này, kết quả lần lượt đạt 34,5 và 9,92%. Trong khi đó, gạo Bắc Thơm có độ dẻo cao, hệ sợi khó phát triển xen giữa các hạt gạo nên gây khó khăn cho việc sử dụng cơ chất nên mật độ quả thể và năng suất sinh học cũng không cao. Do đó, gạo Nàng Xuân được lựa chọn để làm giá thể trong các thí nghiệm tiếp theo.



Hình 1. Ảnh hưởng của các loại gạo khác nhau đến khả năng sinh trưởng của nấm *C. militaris*

Ghi chú: G1: gạo 404, G2: gạo Lứt đỏ, G3: gạo Nàng Xuân, G4: gạo Bắc thơm.

3.2. Ảnh hưởng của nguồn cacbon bổ sung tới sự sinh trưởng và hàm lượng cordycepin trong quả thể *C. militaris*

Nguồn cacbon cung cấp vào môi trường được nấm sử dụng để tổng hợp nên các chất như:

hydratcacbon, amino acid, acid nucleic, lipid... cần thiết cho sự phát triển của nấm. Kết quả khảo sát ảnh hưởng của các nguồn cacbon bổ sung khác nhau thu được ở bảng 2.

Bảng 2. Ảnh hưởng của các nguồn cacbon khác nhau đến khả năng sinh trưởng của *C. militaris*

Công thức	Nguồn cacbon	Thời gian hệ sợi ăn kín cơ chất (ngày)	Thời gian hình thành mầm quả thể (ngày)	Chiều dài quả thể (cm)	Mật độ quả thể (quả thể/ bình)	Năng suất sinh học (%)
C1	Glucose	9,26	16,83	7,12	67	15.00
C2	Saccarose	10,61	17,33	7,12	54	11.25
C3	Maltose	12,12	19,5	6,46	26	5.43
C4	Đối chứng	13,79	21,33	5,88	12	2.35
<i>LSD</i> _{0,05}			1,44	5,54	4,15	2,26
<i>CV</i> (%)			3,5	6,3	5,4	3,6

Từ bảng 2 cho thấy, khi sử dụng các nguồn cacbon khác nhau tốc độ sinh trưởng của nấm cũng khác nhau. Đồng thời, việc sử dụng nguồn cơ chất bổ sung cacbon có ảnh hưởng tích cực cho sự sinh trưởng của nấm Đông trùng hạ thảo so với công thức C4 (không được bổ sung nguồn cacbon). Trong các thí nghiệm khảo sát các nguồn cacbon, (công thức C1) cho tốc độ sinh trưởng nhanh nhất: thời gian ăn kín cơ chất là 9,26 ngày và thời gian hình thành mầm quả thể là 16,83 ngày, mật độ quả thể và năng suất sinh học cũng cao hơn hẳn các công thức còn lại. Ở thí nghiệm bổ sung đường saccarose (công thức C2) cho thấy tốc độ sinh trưởng chậm hơn so với công thức C1, tuy không có sự khác biệt về chiều dài quả thể nấm song mật độ và năng suất sinh học thấp hơn hẳn so với công thức C1. Ở C3, sử dụng đường maltose, tốc độ sinh trưởng chậm hơn hẳn so với hai loại đường trên.

Bảng 3. Bảng phân tích ảnh hưởng của nguồn cacbon tới hàm lượng cordycepin ở quả thể *C. militaris*

Công thức	Hàm lượng cordycepin (mg/g)
C1	4,23
C2	3,65
C3	1,97
ĐC	0,78

Từ kết quả trên bảng 3 cho thấy, hàm lượng cordycepin ở các công thức khác nhau là khác nhau. Ở công thức 1, có hàm lượng cordycepin cao nhất 4,23 mg/g. Tiếp đó đến công thức C2 > C3 > C4, hàm lượng lần lượt đạt 3,65 mg/g, 1,97 mg/g và 0,78 mg/g. Như vậy, bản chất mỗi loại đường khác nhau

sẽ ảnh hưởng đến khả năng sinh trưởng phát triển và sinh tổng hợp cordycepin. Do đó, đường glucose được sử dụng cho các thí nghiệm tiếp theo.



Hình 2. Ảnh hưởng của nguồn carbon tới sinh trưởng và phát triển của quả thể *C. militaris*

Ghi chú: C1: glucose, C2: saccarose, C3: maltose, ĐC: Không bổ sung.

3.3. Ảnh hưởng của nguồn nitơ tới sự sinh trưởng và hàm lượng cordycepin của *C. militaris*

Cùng với cacbon, nitơ là nguồn dinh dưỡng không thể thiếu trong nhân giống nấm *C. militaris*. Nitơ đóng vai trò trong quá trình sinh tổng hợp các enzyme cần thiết cho quá trình chuyển hóa sơ cấp và thứ cấp của nấm. Kết quả khảo sát ảnh hưởng của nguồn nitơ được trình bày ở bảng 4.

Từ kết quả ở bảng 4 cho thấy, khi sử dụng các nguồn nitơ khác nhau không có sự khác biệt nhiều về khả năng sinh trưởng của *C. militaris* (thời gian hình thành mầm quả thể, chiều dài quả thể, mật độ quả thể và năng suất sinh học. Thời gian hình thành quả thể nằm trong khoảng 17 - 20 ngày, chiều dài quả thể dao động trong khoảng 6,3 - 6,7 cm, mật độ quả thể trung bình 61 - 70 quả thể/bình. Tuy nhiên,

sự thay đổi thành phần nguồn nitơ lại cho thấy sự khác biệt về hàm lượng cordycepin thu được. Trong 4 công thức, nghiệm thức N1 cho hàm lượng

cordycepin cao nhất, đạt 5,45 mg/g. Kết quả này cũng tương đồng với nghiên cứu của Ting-chi Wen và cộng tác viên (2014).

Bảng 4. Ảnh hưởng của các nguồn nitơ khác nhau đến khả năng sinh trưởng của *C. militaris*

Công thức	Nguồn Nitơ	Thời gian hình thành mầm quả thể (ngày)	Chiều dài quả thể (cm)	Mật độ quả thể (quả thể/ bình)	Năng suất sinh học (%)	Hàm lượng cordycepin (mg/g)
N1	Peptone	17,9	6,76	68	15.13	5,45
N2	Cao nấm men	18,4	6,38	73	16.31	2,65
N3	Cao malt	19,7	6,46	61	14.43	1,27
N4	Không bổ sung	22	5,26	17	3.75	0,62
<i>LSD</i> _{0.05}		1,89	3,46	6,52	2,26	
<i>CV</i> (%)		4,5	5,1	5,6	2,7	

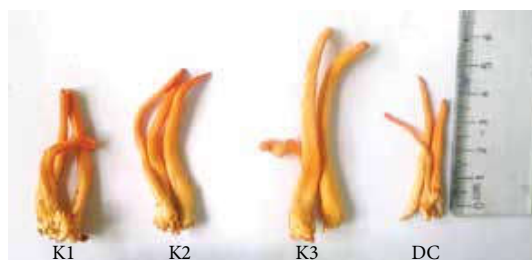


Hình 3. Ảnh hưởng của các nguồn nitơ khác nhau tới sinh trưởng nấm

Ghi chú: N1: peptone, N2: cao nấm men, N3: cao malt, N4: không bổ sung.

3.4. Ảnh hưởng của thành phần muối khoáng tới sự sinh trưởng và hàm lượng cordycepin của *C. militaris*

Một vài loại muối khoáng có thể làm tăng năng suất quả thể, đồng thời tăng hàm lượng các hoạt chất sinh học của *C. militaris* (Dong *et al.*, 2012). Kết quả khảo sát ảnh hưởng của muối khoáng tới sự sinh trưởng và hàm lượng cordycepin của *C. militaris* thu được thể hiện ở hình 4 và bảng 4.



Hình 4. Ảnh hưởng của muối khoáng đến khả năng sinh trưởng của nấm

Ghi chú: K1: KH_2PO_4 , K2: $MgSO_4$, K3: $KH_2PO_4 : MgSO_4$, DC: Không bổ sung.

Bảng 4. Ảnh hưởng của các nguồn muối khoáng khác nhau đến khả năng sinh trưởng của *C. militaris*

Công thức	Nguồn nitơ	Thời gian hình thành mầm quả thể (ngày)	Chiều dài quả thể (cm)	Mật độ quả thể (quả thể/ bình)	Năng suất sinh học (%)	Hàm lượng cordycepin (mg/g)
K1	KH_2PO_4	16,2	6,69	64	13.57	4,05
K2	$MgSO_4$	17,4	6,97	68	14,52	3,85
K3	$KH_2PO_4 : MgSO_4$	15,7	7,4	77	15.84	5,08
ĐC	Không bổ sung	22	5,26	14	2.86	0,83
<i>LSD</i> _{0.05}		2,8	1,14	5,57	4,86	
<i>CV</i> (%)		3,3	3,2	6,3	3,6	

Từ kết quả trên cho thấy, muối khoáng có ảnh hưởng trực tiếp tới năng suất tạo quả thể nấm *C. militaris* và sinh tổng hợp cordycepin. Việc bổ sung muối khoáng cho chất lượng quả thể và mật độ quả thể tốt hơn hẳn so với công thức đối chứng (không được bổ sung muối khoáng). Trong các công thức được bổ sung muối khoáng, mật độ quả thể trong bình nuôi ở công thức K3 có mật độ và chiều dài quả thể cao hơn đáng kể so với hai công thức chỉ bổ sung từng loại muối khoáng. Mật độ quả thể và năng suất sinh học được sắp xếp theo thứ tự giảm dần như sau K3 > K2 > K1 > ĐC. Mật độ quả thể trong công thức K3 trung bình đạt 77 quả thể/bình, năng suất sinh học đạt 15,84%.

3.5. Xây dựng mối tương quan giữa các yếu tố dinh dưỡng đến khả năng sinh trưởng và hàm lượng cordycepin của *C. militaris*

Từ các yếu tố dinh dưỡng cacbon, nitơ và muối khoáng được xác định ở các thí nghiệm trước, chúng tôi tiếp tục nghiên cứu xác định mối tương quan giữa các yếu tố dinh dưỡng và hàm lượng thích hợp để tìm ra được công thức tốt nhất cho nuôi trồng nấm Đông trùng hạ thảo trên giá thể nhân tạo.

Từ các kết quả trên, nhóm tác giả chọn Glucose là nguồn cacbon, pepton là nguồn nitơ, KH_2PO_4 : MgSO_4 tỷ lệ 1 : 1 là nguồn bổ sung muối khoáng. Kết quả thu được thể hiện ở bảng 5.

Bảng 5. Mối tương quan giữa các yếu tố dinh dưỡng với năng suất nấm Đông trùng hạ thảo

TT	Glucose (g/L)	Peptone (g/L)	Khoáng (g/L)	Năng suất		Hàm lượng cordycepin (mg/g)
				Mật độ (quả thể/bình)	Năng suất sinh học (%)	
1	30	5	1	65	16,26	3,68
2	30	5	1,5	64	16,01	4,25
3	30	5	2	65	16,3	3,98
4	30	10	1	67	16,5	5,67
5	30	10	1,5	69	16,7	3,39
6	30	10	2	65	15,79	4,12
7	30	15	1	62	15,1	3,12
8	30	15	1,5	63	15,7	5,83
9	30	15	2	60	15,2	2,97
10	40	5	1	70	17,4	3,68
11	40	5	1,5	67	16,8	4,24
12	40	5	2	66	16,45	3,13
13	40	10	1	80	19,53	6,4
14	40	10	1,5	79	19,41	5,02
15	40	10	2	77	19,1	3,89
16	40	15	1	71	17,8	4,52
17	40	15	1,5	69	16,9	6,12
18	40	15	2	64	15,36	5,87
19	50	5	1	67	16,6	3,95
20	50	5	1,5	64	16,1	5,22
21	50	5	2	68	17,1	5,02
22	50	10	1	73	17,52	5,23
23	50	10	1,5	71	17,3	3,86
24	50	10	2	75	18,27	4,21
25	50	15	1	61	15,54	3,58
26	50	15	1,5	64	16,3	4,96
27	50	15	2	66	17	3,38

Từ kết quả trên cho thấy các tổ hợp dinh dưỡng khác nhau ảnh hưởng đến năng suất nuôi trồng nấm: Ở các công thức khác nhau, mặc dù cùng mật độ quả thể nhưng thành phần dinh dưỡng khác nhau cho các giá trị năng suất sinh học khác nhau. Tổ hợp công thức glucose: 40 g/L, peptone: 10 g/L, KH_2PO_4 : 1 g/L, MgSO_4 : 1 g/L cho mật độ và năng suất sinh học cao nhất, lần lượt là 80 quả thể/bình; BE = 19,53%, hàm lượng cordycepin cũng đạt mức cao nhất 6,4 mg/g.

IV. KẾT LUẬN

Kết quả nghiên cứu chỉ ra ảnh hưởng của các điều kiện dinh dưỡng khác nhau tác động đến sự sinh trưởng và phát triển của nấm Đông trùng hạ thảo *C. militaris* là khác nhau trên môi trường nhân tạo. Qua khảo sát ở các nghiệm thức, nhận thấy: gạo Nàng Xuân là giá thể phù hợp, các nguồn dinh dưỡng bổ sung gồm cacbon, nitơ, khoáng lần lượt được xác định là: glucose, pepton, KH_2PO_4 : MgSO_4 là các nguồn dinh dưỡng thích hợp nhất cho năng suất và chất lượng nấm. Công thức tối ưu cho sự sinh trưởng và sinh tổng hợp Cordycepin gồm 20 gram gạo Nàng Xuân, 5% bột nhộng tằm và 40 mL dịch dinh dưỡng bao gồm: 40 g/L glucose, 10 g/L peptone, 1g/L KH_2PO_4 , 1 g/L MgSO_4 .

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Ahn, Y. J. P., S. J. Lee, S. G. Shin, S. C. Choi, D. H., 2000. Cordycepin: selective growth inhibitor derived from liquid culture of *Cordyceps militaris* against *Clostridium* spp. *J Agric Food Chem*, 48 (7): 2744-2748.

Cunningham, K. G. M., W. Spring, F. S. Hutchinson, S. A., 1950. Cordycepin, a metabolic product isolated from cultures of *Cordyceps militaris* (Linn.) Link. *Nature*, 166 (4231): 949.

Das, S. K. M., M. Sakurai, A. Sakakibara, M., 2010. Medicinal uses of the mushroom *Cordyceps militaris*: current state and prospects. *Fitoterapia*, 81(8): 961-968.

Dong, J. Z., C. Lei., Xun R. Ai., Y. Wang, 2012. Selenium Enrichment on *Cordyceps militaris* Link and Analysis on Its Main Active Components. *Appl Biochem Biotechnol*, 166:1215-1224.

Feng, Y.-j., Yun Zhu., Yong-mei Li., Jin Li., Yan-fei Sun., Hai-tao Shen., Ai-ying Wang., Zhong-ping Lin., Jian-bo Zh, 2018. Effect of strain separated parts, solid-state substrates and light condition on yield and bioactive compounds of *Cordyceps militaris* fruiting bodies. *CyTA - Journal of Food*, 16(1): 916-922.

Gao XH, W. W., Qian GC., 2000. Study on influences of abiotic factors on fruitbody differentiation of *Cordyceps militaris*. *Acta Agric Shanghai*, 16: 93-98.

Hsu, C. H. S., H. L. Sheu, J. N. Ku, M. S. Hu, C. M. Chan, Y. Lue, K. H., 2008. Effects of the immunomodulatory agent *Cordyceps militaris* on airway inflammation in a mouse asthma model. *Pediatr Neonatol*, 49(5): 171-178.

Ing-Lung Shih, K.-L., ChienyanHsieh, 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.

Kim, S. W., Xu, C. P., Hwang, H. J., Choi, J. W., Kim, C. W., Yun, J. W., 2003. Production and characterization of exopolysaccharides from an entomopathogenic fungus *Cordyceps militaris* NG3. *Biotechnol Prog*, 19(2): 428-435.

Li T, L. W., 2009. Impact of polysaccharides from *Cordyceps* on anti-fatigue in mice. *Sci Res Essays*, 4(7): 705-709.

Lim, L. L., C. Chang, E., 2012. Optimization of solid state culture conditions for the production of adenosine, cordycepin, and D-mannitol in fruiting bodies of medicinal caterpillar fungus *Cordyceps militaris* (L.:Fr.) Link (Ascomycetes). *Int J Med Mushrooms*, 14(2): 181-187.

Ling, J. Y., Sun, Y. J., Zhang, H. Lv, P., Zhang, C. K., 2002. Measurement of cordycepin and adenosine in stroma of *Cordyceps* sp. by capillary zone electrophoresis (CZE). *J Biosci Bioeng*, 94(4): 371-374.

Lo, H. C., Tu, S. T. Lin, K. C. Lin, S. C., 2004. The anti-hyperglycemic activity of the fruiting body of *Cordyceps* in diabetic rats induced by nicotinamide and streptozotocin. *Life Sci*, 74(23): 2897-2908.

Masuda, M., Das, S., Fujihara, S., Hatashita, M., Sakurai, A., 2011. Production of cordycepin by a repeated batch culture of a *Cordyceps militaris* mutant obtained by proton beam irradiation. *Journal of Bioscience & Bioengineering*, 111(1): 55-60.

Mina Masuda, E. U., Hiromitsu Honda, Akihiko Sakurai, Mikio Sakakibara 2007. Enhanced production of Cordycepin by surface culture using the medicinal mushroom *Cordyceps militaris*. *Enzyme and Microbial Technology*, 40(5): 1199-1205.

Nan, J. X. P., E. J. Yang, B. K. Song, C. H. Ko, G. Sohn, D. H. 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(4): 327-332.

- Park, C. H., S. H. Lee, J. Y. Kim, G. Y. Choi, B. T. Lee, Y. T. Park, D. I. Park, Y. M. Jeong, Y. K. Choi, Y. H., 2005. Growth inhibition of U937 leukemia cells by aqueous extract of *Cordyceps militaris* through induction of apoptosis. *Oncol Rep*, 13(6): 1211-1216.
- Soo-Young Kim, B. S., Gi-Ho Sung, Sang-Kuk Han, Jae-Mo Sung., 2010. Optimum Conditions for Artificial Fruiting Body Formation of *Cordyceps cardinalis*. *Mycobiology*, 38(2): 133-136.
- Tabrizchi, R. and S. Bedi., 2001. Pharmacology of adenosine receptors in the vasculature. *Pharmacol Ther*, 91(2): 133-147.
- Ting-chi Wen, G.-r. L., Ji-chuan Kang, Chao Kang and 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): 858-872.
- Yu, R. S., L. Zhao, Y. Bin, W. Wang, L. Zhang, H. Wu, Y. Ye, W. Yao, X., 2004. Isolation and biological properties of polysaccharide CPS-1 from cultured *Cordyceps militaris*. *Fitoterapia*, 75(5): 465-472.
- Zhang, G., Huang, Y., Bian, Y., Wong, J. H., Ng TB., Wang, H., 2006. Hypoglycemic activity of the fungi *Cordyceps militaris*, *Cordyceps sinensis*, *Tricholoma mongolicum*, and *Omphalia lapidescens* in streptozotocin-induced diabetic rats. *Appl Microbiol Biotechnol*, 72 (6): 1152-1156.

Effects of nutrient composition on yield and cordycepin content in fruiting body of *Cordyceps militaris*

Vu Hoai Nam, Ma Thi Trang, Tran Van Phung,
Nguyen Huy Thuan, Duong Van Cuong

Abstract

Cordyceps militaris is a parasitic fungus on insects harboring precious biological active ingredients. In this study, nutritional conditions were investigated to find suitable formulations for fruiting body and cordycepin biosynthesis of *C. militaris*. Four commonly available types of rice in Vietnam including 404, red, Nang Xuan and Bac Thom were investigated. The result showed that Nang Xuan rice varieties yielded the highest biological productivity at 9.92% and average fruit body density was 34.5 fruits/bottle, followed by red rice, Bac Thom rice and finally 404 rice. The optimal complementary nutrition formula was determined including 5% powdered silkworms, 40 g/L glucose, 10 g/L pepton, 1g/L KH_2PO_4 , and 1 g/L MgSO_4 . Application of the optimal substrate and complementary nutrition formula resulted in high density of fruiting body, biological productivity, and content of cordycepin at 80 fruits/bottle, 19,53%, and 6,4 mg/g, respectively.

Keywords: *Cordyceps militaris*, cordycepin, nutrient composition, fruiting body yield

Ngày nhận bài: 10/5/2019
Ngày phản biện: 23/5/2019

Người phản biện: PGS.TS. Nguyễn Văn Giang
Ngày duyệt đăng: 14/6/2019

TÍNH CHẤT VẬT LÝ VÀ HÓA HỌC CỦA ĐẤT CANH TÁC LÚA KHU VỰC MIỀN TRUNG

Đỗ Thành Nhân¹, Lại Đình Hòa¹, Nguyễn Thị Thương¹, Huỳnh Thanh Trà My¹,
Lê Đức Dũng¹, Lê Hồng Ân¹, Nguyễn Đức Chí Công¹, Trần Thu Nga¹

TÓM TẮT

Đánh giá tính chất vật lý và hóa học của đất canh tác lúa khu vực miền Trung được thực hiện trên địa bàn 12 huyện canh tác lúa thuộc 4 tỉnh khu vực miền Trung (Bình Định, Quảng Nam, Nghệ An và Thanh Hóa). Kết quả phân tích 108 mẫu đất đang canh tác lúa được thực hiện trong năm 2016 đã đánh giá được: Thành phần cơ giới thuộc loại đất từ thịt nặng đến sét, chỉ số pH_{KCl} (4,28 - 5,19) thấp hơn chỉ số pH tối thích của cây lúa; hàm lượng mùn (2,27 - 3,37%) ở mức giàu N tổng số (0,11 - 0,31%) biến động từ trung bình đến giàu; P_2O_5 tổng số (0,03 - 0,12%) ở mức nghèo đến giàu; K_2O tổng số (0,09 - 0,98%) ở mức nghèo; P_2O_5 dễ tiêu (12,67 - 57,98 mg/100g) từ trung bình đến giàu; K_2O dễ tiêu (0,09 - 0,98mg/100g) từ nghèo đến trung bình; CEC (3,16 - 11,80 me/100g) từ mức rất thấp đến trung bình, Ca (1,76 - 5,16 me/100g) và Mg (0,86 - 2,82 me/100g) trao đổi từ mức nghèo đến trung bình.

Từ khóa: Đất trồng lúa, tính chất vật lý, tính chất hóa học

¹ Viện Khoa học Kỹ thuật Nông nghiệp Duyên hải Nam Trung bộ