DOI: 10.64302/joshusc.v35n2.1433

KHẢO SÁT ẢNH HƯỞNG CỦA MỘT SỐ MÔI TRƯỜNG NHÂN GIỐNG ĐẾN SINH TRƯỞNG CỦA NẤM DƯỢC LIỆU *Cordyceps cicadae*

Nguyễn Công Kính[1,2], Nguyễn Đại Châu[3], Trần Quang Huy[2,3], Nguyễn Thị Ái Nhung[2,3], Nguyễn Thị Thanh Hải[2,3] *

[1] Khoa Dược, Đại học Duy Tân

[2] Khoa Hóa học, Trường Đại học Khoa Học, Đại học Huế

[3] Viện nghiên cứu và Ứng dụng Khoa học Công nghệ, Trường Đại học Khoa học, Đại học Huế

*Email: nguyenthanhhai@hueuni.edu.vn

Ngày nhận bài: 11/7/2026; ngày hoàn thành phản biện: 23/7/2026; ngày duyệt đăng: 4/9/2026

TÓM TẮT

Nghiên cứu này nhằm xác định môi trường nhân giống phù hợp cho chủng nấm dược liệu *Cordyceps cicadae* (*C. cicadae*) với ký hiệu Cordy-NH4 và đánh giá khả năng phát triển trên vật chủ trong điều kiện nuôi trồng nhân tạo. Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên với bốn công thức môi trường ở hai giai đoạn nhân giống: cấp 1 (môi trường thạch) và cấp 2 (môi trường lỏng). Kết quả cho thấy môi trường SDAY là phù hợp cho cả hai giai đoạn nhân giống. Ở giai đoạn nhân giống cấp 1, đường kính trung bình tản nấm đạt 23,27 ± 0,37 mm sau 8 ngày nuôi cấy. Ở giai đoạn nhân giống cấp 2, sinh khối khô đạt cực đại 10,11 ± 0,02 mg/mL sau 5 ngày nuôi cấy ở điều kiện lắc với tốc độ 125 vòng/phút, nhiệt độ 21 °C và trong môi trường tối. Thử nghiệm nuôi cấy trên vật chủ nhộng tằm và sâu chít cho thấy quả thể nấm xuất hiện sau 9 – 10 ngày, với chiều dài trung bình đạt trong khoảng 29,78 – 35,89 mm sau 45 ngày. Kết quả nghiên cứu xác định môi trường SDAY phù hợp cho giai đoạn nhân giống của chủng Cordy-NH4, đồng thời cho thấy nguồn giống tạo thành có khả năng phát triển và hình thành quả thể trên vật chủ trong điều kiện nuôi trồng nhân tạo, qua đó cung cấp cơ sở khoa học cho các nghiên cứu tiếp theo nhằm hoàn thiện quy trình sản xuất giống và nuôi trồng *C. cicadae* ở Việt Nam.

Từ khóa: *Cordyceps cicadae*, môi trường nuôi cấy, nhân giống cấp 1, nhân giống cấp 2, nhộng tằm, sâu chít.

1. MỞ ĐẦU

Cordyceps cicadae là một loài nấm ký sinh côn trùng thuộc họ Clavicipitaceae, có giá trị dược liệu cao và được sử dụng lâu đời trong y học cổ truyền châu Á [1]. Trong tự nhiên, loài nấm này ký sinh chủ yếu trên ấu trùng ve sầu, hình thành quả thể từ cơ thể vật chủ trong điều kiện nhiệt độ thấp (khoảng 18 – 24 °C) và độ ẩm cao. Vùng phân bố của *C. cicadae* tập trung chủ yếu ở các khu vực nhiệt đới và cận nhiệt đới, đặc biệt tại Trung Quốc, Nhật Bản, Hàn Quốc và một số quốc gia Đông Nam Á. Tại Việt Nam, loài nấm này đã được ghi nhận ở một số khu vực rừng núi phía Bắc và miền Trung, cho thấy tiềm năng khai thác và phát triển nguồn dược liệu bản địa [2, 3].

Các nghiên cứu gần đây cho thấy nấm *C. cicadae* có chứa nhiều hợp chất có hoạt tính sinh học như nucleoside, polysaccharide, sterol, cyclopeptide, amino acid, các loại vitamin, có tác dụng kháng khuẩn, kháng viêm, chống oxy hóa, điều hòa đường huyết, điều hòa miễn dịch, bảo vệ thần kinh, chống ung thư và ức chế các khối u tiềm năng [1, 4–6]. Tuy nhiên, các hoạt tính này được ghi nhận ở những mức độ bằng chứng khác nhau, chủ yếu thông qua các nghiên cứu *in vitro* và mô hình động vật. Đối với chủng *C. cicadae* Cordy-NH4, nghiên cứu trước đây của nhóm tác giả đã bước đầu ghi nhận tiềm năng chống tiểu đường thông qua khả năng ức chế hai enzyme α-amylase và α-glucosidase trong mô hình *in vitro*, kết hợp với mô phỏng tính toán *in silico* [7]**.** Mặt khác, việc khai thác nấm *C. cicadae* từ tự nhiên thường rất khó khăn, bởi sản lượng thấp, khó bảo toàn được dưỡng chất trong nấm dược liệu và tiềm ẩn nguy cơ cạn kiệt nguồn tài nguyên. Do đó, nhằm đáp ứng nhu cầu sử dụng và giảm áp lực từ khai thác tự nhiên, việc nghiên cứu tối ưu môi trường nhân giống loài nấm *C. cicadae* từ nguồn giống phân lập trong tự nhiên là cần thiết, có ý nghĩa khoa học và thực tiễn trong việc tạo nguồn nguyên liệu chất lượng phục vụ ngành công nghiệp thực phẩm và dược phẩm. Một số nghiên cứu đã khảo sát điều kiện nuôi trồng và sinh trưởng của *C. cicadae*. Tengfei Liu và cộng sự (2018) phân lập thành công loài nấm này từ mẫu tự nhiên và nuôi cấy trên nhộng bướm Tussah, cho hình thành quả thể sau khoảng 21 ngày trong điều kiện chiếu sáng và độ ẩm thích hợp [8]. Kuanbo Liu và cộng sự (2019) xác định nhiệt độ tối ưu cho sinh trưởng hệ sợi là 25 °C và sự hình thành quả thể thuận lợi ở 20 °C dưới ánh sáng xanh lam, xanh lục hoặc trắng [9]. Ngoài ra, một số nghiên cứu gần đây cũng tập trung tối ưu hóa điều kiện nuôi cấy nhằm nâng cao hàm lượng các hợp chất hoạt tính sinh học như cordycepic acid và polysaccharide [10, 11]. Năm 2017, Dương Nghĩa Bình và cộng sự đã nuôi trồng thành công chủng *Cordyceps cicadae* BG01 có nguồn gốc tự nhiên tại Lục Ngạn (Bắc Giang), xác định điều kiện tối ưu cho hình thành quả thể trên môi trường bán rắn MT2 (gạo lứt, bột nhộng tằm và môi trường dinh dưỡng) và ghi nhận hàm lượng adenosine và cordycepin trong quả thể lần lượt đạt 3,23 mg/g và 2,72 mg/g sau 50 ngày nuôi [2]; tuy nhiên, ngoài công trình này, hầu như chưa có nghiên cứu nào khác tại Việt Nam tập trung vào loài *C. cicadae.*

Mặc dù nhiều nghiên cứu đã bước đầu ghi nhận tiềm năng nuôi trồng và giá trị sinh học của *C. cicadae*, các nghiên cứu hiện nay vẫn chủ yếu tập trung vào khảo sát một số điều kiện nuôi cấy ở quy mô phòng thí nghiệm và chưa được nghiên cứu một cách hệ thống. So với loài *C. militaris*, loài *C. cicadae* vẫn còn thiếu các dữ liệu đầy đủ về kỹ thuật nhân giống, điều kiện nuôi trồng nhân tạo cũng như khả năng sinh trưởng và phát triển trong các môi trường nuôi cấy khác nhau. Những hạn chế này đã phần nào ảnh hưởng đến việc khai thác và phát triển nguồn nấm dược liệu tiềm năng này trong thực tiễn. Ở Việt Nam, các nghiên cứu về *Cordyceps cicadae* còn hạn chế, đặc biệt chưa có công bố về khảo sát và lựa chọn môi trường nhân giống phù hợp đối với các chủng phân lập trong nước.

Khác với nghiên cứu của Dương Nghĩa Bình và cộng sự (2017) chủ yếu tập trung xác định điều kiện hình thành quả thể trên môi trường bán rắn, nghiên cứu này tập trung đánh giá ảnh hưởng của các môi trường nhân giống ở hai giai đoạn nhân giống cấp 1 và cấp 2 đối với sự sinh trưởng của chủng *C. cicadae* Cordy-NH4 [2]. Trên cơ sở đó, nghiên cứu tiến hành khảo sát khả năng sinh trưởng của *C. cicadae* trên các môi trường nuôi cấy khác nhau và thử nghiệm nuôi trồng trên vật chủ nhộng tằm, sâu chít nhằm đánh giá khả năng hình thành quả thể trong điều kiện nhân tạo.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Chủng nấm dược liệu *C. cicadae* Cordy-NH4 (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/OP764012.1) được cung cấp bởi Viện Nghiên cứu và Ứng dụng Khoa học Công nghệ, trường Đại học Khoa học, Đại học Huế. Chủng nấm thuần được cấy chuyền và nuôi trên môi trường PDA thạch đĩa ở 25 °C để tiến hành thí nghiệm.

Môi trường nuôi cấy: PDA, khoai tây, D-glucose, sucrose, peptone, cao nấm men, KH_2PO_4, K_2HPO_4, $NaNO_3$, $MgSO_4.7H_2O$, KCl, $FeSO_4$, agar.

Vật chủ ký sinh: Nhộng tằm (ấu trùng loài *Bombyx mori*), sâu chít (ấu trùng loài *Brihaspa atrostigmella*).

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Nghiên cứu môi trường nhân giống cấp 1

Chuẩn bị môi trường thí nghiệm: Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên, lặp lại ba lần, gồm bốn công thức môi trường thí nghiệm thạch đĩa như sau:

CT1: Môi trường Czapek (30 g/L sucrose; 3 g/L $NaNO_3$; 1 g/L K_2HPO_4; 0,5 g/L $MgSO_4.7H_2O$; 0,5 g/L KCl; 0,1 g/L $FeSO_4$; 20 g/L agar).

CT2: Môi trường PDA (200 g/L Khoai tây; 20 g/L D-glucose; 20 g/L agar).

CT3: Môi trường MCM (20 g/L D-glucose; 2 g/L peptone; 2 g/L cao nấm men; 1 g/L K_2HPO_4; 0,5 g/L $MgSO_4.7H_2O$; 0,5 g/L KH_2PO_4; 20 g/L agar).

CT4: Môi trường SDAY (20 g/L D-glucose; 5 g/L peptone; 5 g/L cao nấm men; 20 g/L agar).

Bốn môi trường Czapek, PDA, MCM và SDAY được lựa chọn vì đây là các môi trường nuôi cấy phổ biến trong nghiên cứu nấm sợi và nấm ký sinh côn trùng, có thành phần dinh dưỡng khác nhau về nguồn carbon, nguồn nitơ và các chất khoáng, phù hợp để đánh giá khả năng sinh trưởng của *Cordyceps cicadae.*

Môi trường được phối trộn theo công thức, pH của các môi trường nằm trong khoảng 5,6-6,5 phù hợp với sự sinh trưởng và phát triển của vi sinh vật, đặc biệt là nấm sợi. Môi trường sau khi pha chế được hấp khử trùng ở 121 °C trong 20 phút, sau đó đổ ra đĩa Petri đường kính 90 mm, mỗi đĩa chứa khoảng 25 mL môi trường và để nguội tự nhiên. Mỗi nghiệm thức gồm 03 đĩa Petri tương ứng với 03 lần lặp độc lập; mỗi đĩa Petri được xem là một đơn vị thí nghiệm.

Kỹ thuật nhân giống cấp 1: Từ khuẩn lạc giống thuần 7 ngày tuổi, dùng que cấy vô trùng lấy 1 mảng thạch chứa hệ sợi nấm có kích thước 5 × 5 mm, đặt lên bề mặt môi trường thạch đĩa. Ủ đĩa trong điều kiện tối và ở nhiệt độ 21 °C và tiến hành đánh giá sự sinh trưởng, theo dõi phát triển của hệ sợi nấm sau 2, 4, 6, 8 ngày.

Chỉ tiêu theo dõi và đánh giá: dựa trên đặc điểm của hệ sợi nấm và đường kính của tản nấm sau thời gian nuôi cấy tương ứng. Đường kính tản nấm được xác định bằng cách đo theo hai phương vuông góc đi qua tâm mảnh cấy, sau đó lấy giá trị trung bình:

$$\text{Đường kính tản nấm (mm)} = D - d \quad (1)$$

Trong đó: D (mm) là đường kính tản nấm sau các mốc thời gian nuôi cấy; d (mm) là kích thước của mảng nấm cấy ban đầu (5 mm).

2.2.2. Nghiên cứu môi trường nhân giống cấp 2

Chuẩn bị môi trường thí nghiệm: Thí nghiệm cũng được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên, lặp lại ba lần, gồm bốn công thức môi trường thí nghiệm dạng lỏng như sau:

CT1: Môi trường Czapek lỏng (30 g/L sucrose; 3 g/L $NaNO_3$; 1 g/L K_2HPO_4; 0,5 g/L $MgSO_4.7H_2O$; 0,5 g/L KCl; 0,1 g/L $FeSO_4$).

CT2: Môi trường PDB (200 g/L Khoai tây; 20 g/L D-glucose).

CT3: Môi trường MCM lỏng (20 g/L D-glucose; 2 g/L peptone; 2 g/L cao nấm men; 1 g/L K_2HPO_4; 0,5 g/L $MgSO_4.7H_2O$; 0,5 g/L KH_2PO_4).

CT4: Môi trường SDAY lỏng (20 g/L D-glucose; 5 g/L peptone; 5 g/L cao nấm men).

Môi trường được phối trộn đều theo công thức và đong vào bình tam giác dung tích 500 mL, mỗi bình chứa 250 mL môi trường thí nghiệm. Đậy nút bông và tiến hành hấp khử trùng ở 121 °C trong 20 phút, sau đó để nguội tự nhiên.

Kỹ thuật nhân giống cấp 2: Dùng que cấy vô trùng lấy 1 mảnh thạch chứa hệ sợi nấm từ đĩa giống nấm thuần cấp 1 (7 ngày tuổi) có kích thước 1 × 1 cm, cho vào bình tam giác chứa môi trường thí nghiệm đã khử trùng. Nuôi cấy lắc với tốc độ 125 vòng/phút trong điều kiện tối và ở nhiệt độ 21 °C và tiến hành theo dõi và đánh giá sự sinh trưởng, phát triển của hệ sợi nấm sau 2, 3, 4, 5, 6, 7 ngày. Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên với 03 lần lặp cho mỗi nghiệm thức. Để đánh giá sinh khối theo từng thời điểm, tại mỗi mốc thu mẫu (2, 3, 4, 5, 6 và 7 ngày) sử dụng một bộ bình nuôi cấy độc lập, mỗi bộ gồm đầy đủ bốn nghiệm thức và ba lần lặp. Mỗi bình tam giác được xem là một đơn vị thí nghiệm và chỉ được thu mẫu một lần tại các thời điểm quy định.

Chỉ tiêu theo dõi và đánh giá: dựa trên đặc điểm, mật độ và sinh khối khô của hệ sợi nấm sau các mốc thời gian nuôi cấy tương ứng. Sinh khối được thu bằng lọc chân không qua giấy lọc đã được sấy và cân trước. Sau đó, sinh khối được rửa hai lần bằng nước cất vô trùng để loại bỏ môi trường bám ngoài, rồi sấy ở 60 °C đến khối lượng không đổi trước khi xác định sinh khối khô. Sinh khối khô được tính theo công thức:

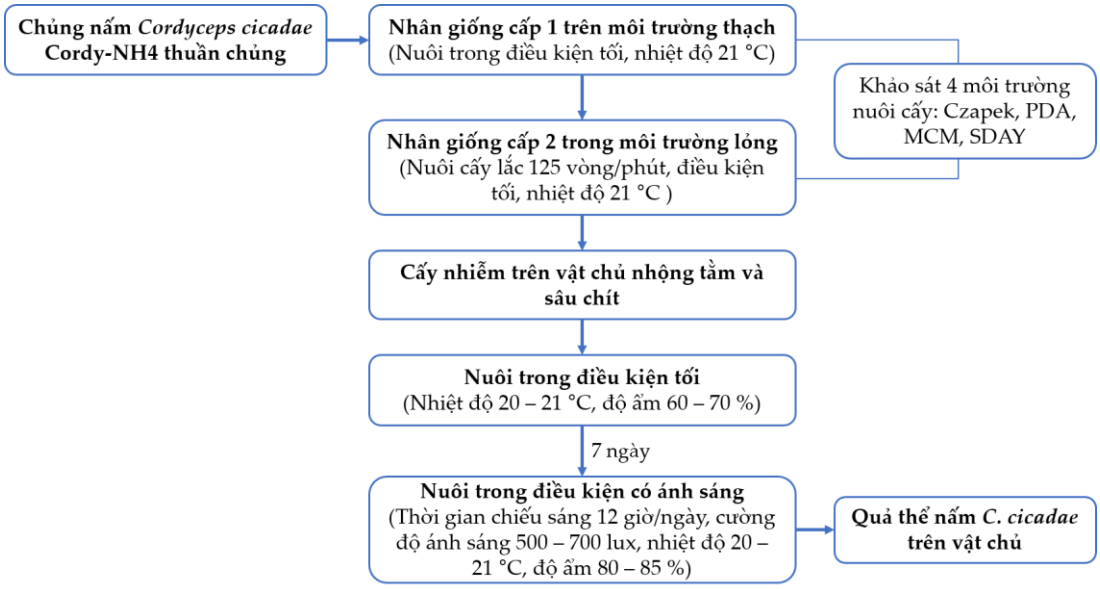
$$\text{Sinh khối khô (mg/mL)} = (m - m_o)/V \qquad (2)$$

Trong đó: m (mg) là khối lượng khô tuyệt đối của giấy lọc có chứa sinh khối; m_o (mg) là khối lượng khô tuyệt đối của giấy lọc; V = 250 mL là thể tích môi trường nhân giống.

2.2.3. Thử nghiệm nuôi cấy trên vật chủ nhộng tằm và sâu chít

Sau khi xác định được môi trường nhân giống phù hợp, tiến hành cấy 0,5 mL dịch giống thuần có mật độ $10^6 – 10^8$ bào tử/mL vào cá thể nhộng tằm và sâu chít còn sống, đã được khử trùng sơ bộ bằng tia UV trước khi cấy. Dịch giống được tiêm trực tiếp vào khoang cơ thể của vật chủ bằng bơm tiêm vô trùng. Sau khi cấy, vật chủ được nuôi trong hộp nhựa PP có nắp đậy ở điều kiện tối, nhiệt độ 20 – 21 °C, độ ẩm 60 – 70 % trong 7 ngày để nấm phát triển và ký sinh vào vật chủ. Sau đó, chuyển sang nuôi trong điều kiện có ánh sáng với thời gian chiếu sáng 12 giờ/ngày, cường độ ánh sáng 500 – 700 lux, nhiệt độ 20 – 21 °C, độ ẩm 80 – 85 % để hình thành quả thể nấm trên vật chủ. Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên, gồm hai nghiệm thức vật chủ (nhộng tằm và sâu chít), mỗi nghiệm thức được lặp lại 03 lần. Mỗi lần lặp gồm 15 cá thể vật chủ sống, trong đó mỗi cá thể được xem là một đơn vị thí nghiệm.

Chỉ tiêu theo dõi và đánh giá: Theo dõi tỷ lệ nhiễm, tỷ lệ hình thành cấu trúc dạng quả thể trên vật chủ, màu sắc, đặc điểm hình thái và chiều dài quả thể trên mỗi vật chủ sau 45 ngày nuôi cấy.



Hình 1. Sơ đồ quy trình nhân giống và nuôi cấy tạo quả thể *C. cicadae* Cordy-NH4 trên vật chủ.

2.2.4. Xử lý số liệu

Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên và lặp lại ba lần độc lập. Số liệu thu thập được xử lý bằng phần mềm Microsoft Excel 2019 và phân tích ANOVA (Duncan's Test $p < 0,05$) bằng chương trình SPSS 20.0.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Ảnh hưởng của các loại môi trường thạch đến sự sinh trưởng và phát triển của giống nấm cấp 1

Từ giống thuần gốc, chủng nấm *C. cicadae* Cordy-NH4 được cấy chuyền trên các môi trường thạch khác nhau nhằm xác định môi trường nhân giống cấp 1 phù hợp cho sự sinh trưởng, phát triển của hệ sợi nấm. Ở thời điểm 2 ngày sau cấy, hệ sợi nấm mới bắt đầu phát triển từ mép mảnh cấy nên mức tăng trưởng của tản nấm là không đáng kể. Giá trị trình bày trong Bảng 1 là phần đường kính tăng thêm so với kích thước ban đầu của mảnh cấy (5 mm). Sau 8 ngày nuôi cấy, tất cả các nghiệm thức đều ghi nhận hệ sợi nấm có màu trắng đặc trưng, không có dấu hiệu tạp nhiễm khuẩn hoặc nấm mốc ngoại lai. Tuy nhiên, có sự thay đổi rõ rệt về hình thái học và tốc độ sinh trưởng của hệ sợi nấm ở các công thức thí nghiệm khác nhau. Trên môi trường thạch SDAY, hệ sợi phát triển mạnh mẽ, tản nấm lan rộng, cấu trúc sợi bông, dày đặc và đồng nhất, với đường kính trung bình đạt 23,27 ± 0,37 mm sau 8 ngày nuôi cấy. Tương tự, môi trường thạch MCM cũng cho kết quả khả quan với hệ sợi nấm phát triển tốt, đường kính trung bình tản nấm đạt 20,27 ± 0,26 mm. Trên môi trường thạch PDA, hệ sợi nấm phát triển tương

đối khá, mật độ sợi dày ở tâm nhưng tốc độ ăn lan chậm hơn, với đường kính trung bình tản nấm đạt 13,05 ± 0,39 mm. Trong khi đó, trên môi trường Czapek nghèo dinh dưỡng, hệ sợi nấm sinh trưởng kém nhất với hệ sợi thưa, mảnh, ăn lan chậm và đường kính trung bình chỉ đạt 12,78 ± 0,48 mm sau 8 ngày nuôi cấy (Bảng 1, Hình 2). Nhìn chung, mặc dù có thể nhận thấy ở nhóm các môi trường giàu dinh dưỡng hệ sợi nấm đều phát triển tốt nhưng cũng có sự khác biệt đáng kể, với mật độ và tốc độ sinh trưởng của hệ sợi nấm giảm dần theo thứ tự: **SDAY > MCM > PDA > Czapek**. Điều này phản ánh vai trò quan trọng của nguồn carbon và nguồn nitrogen hữu cơ dễ hấp thu trong việc thúc đẩy sự sinh trưởng, phát triển của hệ sợi nấm. Như vậy, môi trường thạch SDAY (20 g/L D-glucose; 5 g/L peptone; 5 g/L cao nấm men; 20 g/L agar) là môi trường phù hợp cho sự sinh trưởng, phát triển hệ sợi của chủng nấm *C. cicadae* Cordy-NH4 trong giai đoạn nhân giống cấp 1. Sự sinh trưởng mạnh của hệ sợi trên môi trường SDAY có thể được lý giải bởi thành phần dinh dưỡng phong phú của môi trường, đặc biệt là peptone và cao nấm men, vốn là nguồn cung cấp nitrogen hữu cơ, amino acid, vitamin và các yếu tố sinh trưởng thiết yếu. Những thành phần này tạo điều kiện thuận lợi cho hoạt động trao đổi chất, thúc đẩy quá trình tổng hợp protein và hình thành sinh khối của hệ sợi.

Bảng 1. Ảnh hưởng của các môi trường nhân giống cấp 1 đến sự sinh trưởng, phát triển chủng nấm *C. cicadae* Cordy-NH4.

Công thức	Môi trường nuôi cấy	Đường kính trung bình tản nấm (mm)				Đặc điểm hệ sợi nấm
		2 ngày	4 ngày	6 ngày	8 ngày	
CT1	Czapek	0,23 ± 0,15^{b}	4,28 ± 0,21^{c}	8,58 ± 0,43^{d}	12,78 ± 0,48^{c}	Hệ sợi mảnh, thưa, ăn lan chậm
CT2	PDA	1,58 ± 0,29^{a}	6,23 ± 0,34^{b}	10,37 ± 0,33^{c}	13,05 ± 0,39^{c}	Hệ sợi khỏe, dày, ăn lan đồng đều
CT3	MCM	1,65 ± 0,19^{a}	9,32 ± 0,31^{a}	16,32 ± 0,52^{b}	20,27 ± 0,26^{b}	Hệ sợi có cấu trúc sợi bông, khỏe, dày, ăn lan đồng đều
CT4	SDAY	1,67 ± 0,28^{a}	9,65 ± 0,36^{a}	17,22 ± 0,31^{a}	23,27 ± 0,37^{a}	Hệ sợi có cấu trúc sợi bông, khỏe, dày đặc, ăn lan đồng đều

Ghi chú: các chữ cái khác nhau trên cùng một cột chỉ sự sai khác trung bình mẫu có ý nghĩa thống kê với p<0,05 (Duncan's test).



Hình 2. Sự sinh trưởng, phát triển của chủng nấm *C. cicadae* Cordy-NH4 trên các môi trường thạch nhân giống cấp 1 khác nhau sau 8 ngày nuôi cấy. (A) Môi trường Czapek, (B) Môi trường PDA, (C) Môi trường MCM và (D) Môi trường SDAY.

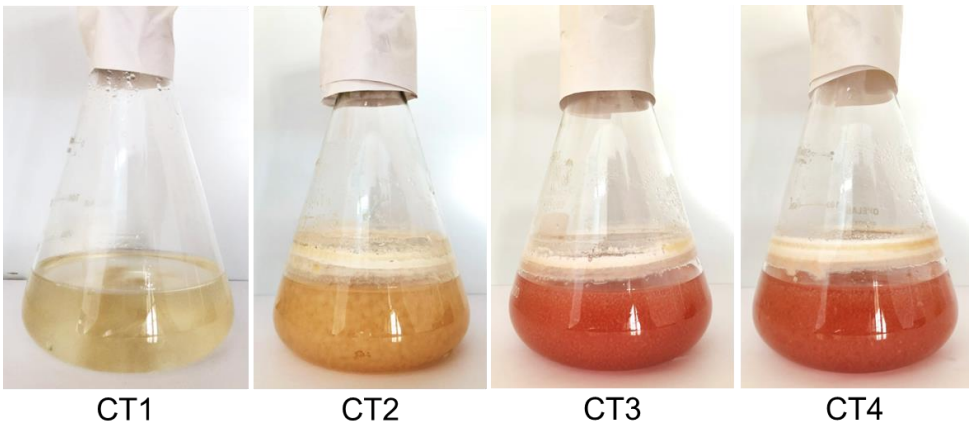
3.2. Ảnh hưởng của các loại môi trường lỏng đến sự sinh trưởng, phát triển của giống nấm cấp 2

Ảnh hưởng của các môi trường lỏng nhân giống cấp 2 đến khả năng sinh trưởng, phát triển của chủng nấm *C. cicadae* Cordy-NH4 được đánh giá thông qua hàm lượng sinh khối khô trong 7 ngày nuôi cấy lắc với tốc độ 125 vòng/phút ở điều kiện tối và nhiệt độ 21 °C. Kết quả cho thấy thành phần môi trường có tác động rõ rệt đến khả năng sinh trưởng và tích lũy sinh khối của chủng *Cordyceps cicadae* Cordy-NH4 (Bảng 2, Hình 3). Ở tất cả các công thức thí nghiệm, sinh khối khô tăng nhanh từ ngày thứ 2 đến ngày thứ 5, sau đó có xu hướng ổn định hoặc giảm nhẹ từ ngày thứ 6 đến ngày thứ 7. Trong đó, ở công thức 4 (môi trường SDAY lỏng) cho hiệu suất tích lũy sinh khối cao nhất, đạt cực đại 10,11 ± 0,02 mg/mL sau 5 ngày nuôi cấy và duy trì ổn định đến ngày thứ 7 (10,04 ± 0,08 mg/mL). Ngược lại, ở công thức 1 (môi trường Czapek lỏng) cho sinh khối thấp nhất, chỉ đạt 1,39 ± 0,08 mg/mL sau 5 ngày. Hai công thức còn lại cũng thúc đẩy sinh trưởng đáng kể, với sinh khối khô đạt 9,69 ± 0,08 mg/mL (CT2) và 8,71 ± 0,08 mg/mL (CT3) tại cùng thời điểm. Về mặt hình thái, môi trường SDAY lỏng tạo dịch nuôi sánh, pellet nhỏ, đồng đều và mật độ dày đặc hơn so với các môi trường còn lại. Kết quả này cho thấy môi trường SDAY lỏng không chỉ tạo điều kiện thuận lợi cho sự phát triển của hệ sợi mà còn đạt hiệu quả tích lũy sinh khối cao nhất trong các môi trường khảo sát. Điều này có thể liên quan đến thành phần dinh dưỡng của môi trường SDAY, trong đó D-glucose cung cấp nguồn carbon dễ hấp thu, còn peptone và cao nấm men cung cấp nguồn nitơ hữu cơ, amino acid, vitamin và các yếu tố sinh trưởng cần thiết cho sự phát triển của hệ sợi. Như vậy, môi trường SDAY lỏng (20 g/L D-glucose; 5 g/L peptone; 5 g/L cao nấm men) được xác định là công thức phù hợp nhất cho nhân giống cấp 2 chủng nấm *C. cicadae* Cordy-NH4 trong điều kiện khảo sát. Kết quả này là cơ sở khoa học quan trọng cho việc lựa chọn môi trường nhân giống cấp 2 phù hợp nhằm tối ưu hóa quy trình sản xuất giống và nâng cao hiệu quả nuôi trồng trong điều kiện nhân tạo.

Bảng 2. Ảnh hưởng của các môi trường lỏng nhân giống cấp 2 đến sự sinh trưởng, phát triển chủng nấm *C. cicadae* Cordy-NH4.

Công thức	Sinh khối khô (mg/mL)						Đặc điểm sinh khối nấm
	2 ngày	3 ngày	4 ngày	5 ngày	6 ngày	7 ngày	
CT1	0,25 ± 0,05^{c}	0,49 ± 0,06^{c}	0,65 ± 0,12^{c}	1,39 ± 0,08^{d}	1,37 ± 0,11^{c}	1,32 ± 0,13^{d}	Dịch nuôi lỏng, pellet nhỏ li ti, mật độ thấp
CT2	0,63 ± 0,06^{ab}	6,04 ± 0,14^{a}	8,83 ± 0,05^{a}	9,69 ± 0,08^{b}	9,67 ± 0,20^{ab}	9,71 ± 0,18^{b}	Dịch nuôi sánh, pellet to, đồng đều, mật độ dày đặc
CT3	0,56 ± 0,11^{b}	4,37 ± 0,08^{b}	7,55 ± 0,12^{b}	8,71 ± 0,08^{c}	8,73 ± 0,16^{b}	8,76 ± 0,11^{c}	Dịch nuôi sánh, pellet nhỏ, đồng đều, mật độ dày đặc
CT4	0,77 ± 0,02^{a}	6,21 ± 0,12^{a}	8,96 ± 0,04^{a}	10,11 ± 0,02^{a}	10,05 ± 0,12^{a}	10,04 ± 0,08^{a}	Dịch nuôi sánh, pellet nhỏ, đồng đều, mật độ dày đặc

Ghi chú: các chữ cái khác nhau trên cùng một cột chỉ sự sai khác trung bình mẫu có ý nghĩa thống kê với p<0,05 (Duncan's test).



Hình 3. Sự sinh trưởng, phát triển của chủng nấm *C. cicadae* Cordy-NH4 trên các môi trường lỏng nhân giống cấp 2 khác nhau sau 7 ngày nuôi cấy. (CT1) Môi trường Czapek lỏng, (CT2) Môi trường PDB, (CT3) Môi trường MCM lỏng và (CT4) Môi trường SDAY lỏng.

3.3. Sự sinh trưởng, phát triển và hình thành quả thể của chủng nấm *C. cicadae* Cordy-NH4 trên vật chủ nhộng tằm và sâu chít

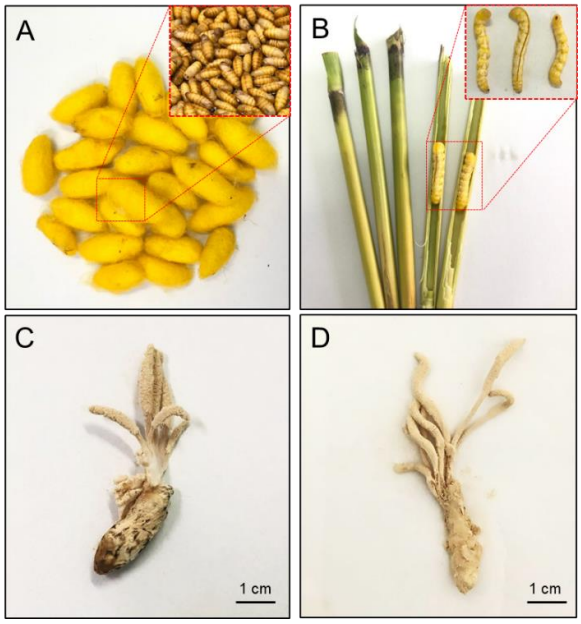
Chủng nấm *C. cicadae* Cordy-NH4 sau khi được nhân giống trên môi trường nuôi cấy phù hợp đã được cấy nhiễm lên hai nguồn vật chủ là nhộng tằm và sâu chít nhằm đánh giá khả năng sinh trưởng, phát triển và hình thành quả thể trong điều kiện nhân

tạo. Kết quả cho thấy các chỉ tiêu về sinh trưởng và hình thành quả thể của chủng nấm trên hai loại vật chủ không có sự sai khác có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$), thể hiện qua thời gian bắt đầu hình thành quả thể, tỷ lệ nhiễm, tỷ lệ hình thành quả thể, chiều dài và đặc điểm hình thái của quả thể sau 45 ngày nuôi cấy (Bảng 3, Hình 4). Thời gian bắt đầu xuất hiện quả thể dao động từ 9 – 10 ngày sau cấy nhiễm, trong đó quả thể hình thành trên sâu chít sớm hơn 1 ngày so với nhộng tằm nhưng sự chênh lệch này không đáng kể về mặt sinh học. Trên nhộng tằm, tỷ lệ nhiễm và tỷ lệ hình thành quả thể đạt lần lượt 86,67 % và 71,11 %, trong khi trên sâu chít các giá trị tương ứng là 82,22 % và 66,67 %; tuy nhiên, sự khác biệt giữa hai loại vật chủ không có ý nghĩa thống kê. Chiều dài quả thể trung bình đạt 29,78 – 35,89 mm, tùy theo loại vật chủ. Về hình thái học, quả thể mọc tập trung thành cụm, chủ yếu từ vùng đầu hoặc cổ của vật chủ; có dạng hình trụ đến hình chùy (clavate), phân nhánh không đồng đều và có màu trắng đục đặc trưng. Sau 45 ngày nuôi cấy, trên đỉnh quả thể xuất hiện lớp bào tử bao phủ dày đặc; các đặc điểm hình thái đại thể của quả thể nấm nuôi trồng trong điều kiện nhân tạo có sự tương đồng với quả thể *C. cicadae* thu nhận từ tự nhiên đã được nhóm tác giả công bố trước đây [3]. Như vậy, kết quả này chứng tỏ chủng nấm *C. cicadae* Cordy-NH4 có khả năng xâm nhiễm và hình thành quả thể trên cả hai nguồn vật chủ khảo sát, đồng thời cung cấp cơ sở khoa học cho việc lựa chọn vật chủ phù hợp trong quy trình nuôi trồng nhân tạo. Mặc dù không ghi nhận sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về các chỉ tiêu khảo sát, nhộng tằm có ưu thế về tính sẵn có và khả năng chủ động nguồn cung so với sâu chít, vốn phụ thuộc nhiều hơn vào nguồn nguyên liệu tự nhiên và tính mùa vụ. Do đó, nhộng tằm có thể được xem là vật chủ phù hợp hơn cho việc triển khai và mở rộng quy mô nuôi trồng *C. cicadae*, trong khi hiệu quả kinh tế cần được đánh giá cụ thể trong các nghiên cứu tiếp theo. Đây là tiền đề quan trọng cho việc sản xuất nguồn nguyên liệu có chất lượng ổn định, phục vụ phát triển dược liệu theo hướng bền vững.

Bảng 3. Khả năng sinh trưởng, phát triển và hình thành quả thể của chủng nấm C. *cicadae* Cordy-NH4 trên vật chủ khác nhau sau 45 ngày nuôi cấy.

Vật chủ ký sinh	Thời gian bắt đầu hình thành quả thể (ngày)	Tỷ lệ nhiễm (%)	Tỷ lệ hình thành quả thể (%)	Chiều dài trung bình quả thể (mm)	Đặc điểm quả thể nấm
Nhộng tằm	10	86,67 ± 6,67	71,11 ± 7,70	35,89 ± 5,62	Quả thể mảnh, dài, phân nhánh không đồng đều, màu trắng đục đặc trưng và có lớp bào tử bao phủ dày đặc trên đỉnh quả thể
Sâu chít	9	82,22 ± 3,85	66,67 ± 6,67	29,78 ± 5,56	Quả thể mảnh, dài, phân nhánh không

đồng đều, màu trắng đục đặc trưng và có lớp bào tử bao phủ dày đặc trên đỉnh quả thể



Hình 4. Sự hình thành quả thể của chủng nấm *C. cicadae* Cordy-NH4 trên các loại vật chủ khác nhau sau 45 ngày. (A) Nhộng tằm, (B) Sâu chít, (C) Quả thể nấm hình thành trên nhộng tằm và (D) Quả thể nấm hình thành trên sâu chít.

4. KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã xác định được môi trường nhân giống phù hợp cho chủng nấm dược liệu *Cordyceps cicadae* Cordy-NH4 ở cả hai giai đoạn nhân giống cấp 1 và cấp 2. Ở giai đoạn nhân giống cấp 1, môi trường thạch SDAY (20 g/L D-glucose; 5 g/L peptone; 5 g/L cao nấm men; 20 g/L agar) cho tốc độ sinh trưởng và mật độ hệ sợi cao nhất, với đường kính trung bình tản nấm đạt 23,27 ± 0,37 mm sau 8 ngày nuôi cấy. Ở giai đoạn nhân giống cấp 2, môi trường SDAY dạng lỏng cho hiệu suất tích lũy sinh khối cao nhất, đạt 10,11 ± 0,02 mg/mL sau 5 ngày nuôi cấy. Thử nghiệm nuôi cấy trên vật chủ nhộng tằm và sâu chít cho thấy chủng nấm có khả năng thích nghi tốt và hình thành quả thể trong điều kiện nhân tạo. Thời gian bắt đầu xuất hiện quả thể dao động từ 9 – 10 ngày sau cấy nhiễm, chiều dài quả thể đạt 29,78 – 35,89 mm sau 45 ngày nuôi cấy. Kết quả nghiên cứu cho thấy chủng *C. cicadae* Cordy-NH4 có khả năng nhân giống và bước đầu nuôi trồng trong điều kiện nhân tạo, góp phần tạo cơ sở cho việc chủ động nguồn nguyên liệu và giảm sự phụ thuộc vào nguồn nấm tự nhiên. Kết quả này là tiền đề cho các nghiên cứu tiếp theo nhằm tối ưu hóa và hoàn thiện quy trình nhân giống, nuôi trồng *C. cicadae* trong điều kiện nhân tạo, góp phần định hướng phát triển nguồn dược liệu chất lượng cao và bền vững tại Việt Nam.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này là kết quả của đề tài Khoa học và Công nghệ cấp Thành phố được cấp ngân sách nhà nước thành phố Huế, mã số: THH.2023-KC.04.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

[1]. Nxumalo W, Elateeq AA, Sun Y. (2020). Can *Cordyceps cicadae* be used as an alternative to *Cordyceps militaris* and *Cordyceps sinensis*? – A review. *J. Ethnopharmacol.*, Vol. 257(April), pp. 112879.

[2]. Bình DN, Giang NT, Lý LT, Tuyên ĐT, Tạo VX, Điệp LH. (2017). Phân lập và nuôi cấy thành công *Cordyceps cicadae* tại Việt Nam. *Tạp chí Khoa học ĐHQGHN Khoa học Tự nhiên và Công nghệ*, Vol. 33(1S), pp. 33–39.

[3]. Châu NĐ, Kính NC, Nhung NTÁ, Hải NTT. (2025). Phân lập và định danh loài nấm dược liệu Đông trùng hạ thảo *Cordyceps cicadae* thu thập ngoài tự nhiên tại thành phố Huế. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Trường Đại học Khoa học*, Vol. 29(2), pp. 65–73.

[4]. Zhu Y, Yu X, Ge Q, Li J, Wang D, et al. (2020). Antioxidant and anti-aging activities of polysaccharides from *Cordyceps cicadae*. *Int. J. Biol. Macromol.*, Vol. 157, pp. 394–400.

[5]. Olatunji OJ, Feng Y, Olatunji OO, Tang J, Ouyang Z, Su Z. (2016). Cordycepin protects PC12 cells against 6-hydroxydopamine induced neurotoxicity via its antioxidant properties. *Biomed. Pharmacother.*, Vol. 81, pp. 7–14.

[6]. Xu J, Tan Z-C, Shen Z-Y, Shen X-J, Tang S-M. (2021). *Cordyceps cicadae* polysaccharides inhibit human cervical cancer hela cells proliferation via apoptosis and cell cycle arrest. *Food Chem. Toxicol.*, Vol. 148, pp. 111971.

[7]. Chau ND, Kinh NC, Hai NTT, Quy PT, Phu NV, et al. (2026). Identification of potential antidiabetic activities in *Cordyceps cicadae* ethanol extracts: Experimental and computational analyses. *Phytochem. Lett.*, Vol. 73, pp. 104151.

[8]. Liu T, Liu Z, Yao X, Huang Y, Qu Q, et al. (2018). Identification of cordycepin biosynthesis-related genes through de novo transcriptome assembly and analysis in *Cordyceps cicadae*. *R. Soc. Open Sci.*, Vol. 5(12), pp. 181247.

[9]. Liu K, Wang F, Liu G, Dong C. (2019). Effect of environmental conditions on synnema formation and nucleoside production in cicada flower, *Isaria cicadae* (Ascomycetes). *Int. J. Med. Mushrooms*, Vol. 21(1), pp. 59–69.

[10]. Shi C, Song W, Gao J, Yan S, Guo C, Zhang T. (2022). Enhanced production of cordycepic acid from *Cordyceps cicadae* isolated from a wild environment. *Brazilian J. Microbiol.*, Vol. 53(2), pp. 673–88.

[11]. Zhuansun W, Xu J, Liu H, Zhao Y, Chen L, et al. (2022). Optimisation of the production of a selenium-enriched polysaccharide from *Cordyceps cicadae* S1 and its structure and antioxidant activity. *Front. Nutr.*, Vol. 9, pp. 1032289.

EFFECTS OF DIFFERENT SPAWN PRODUCTION MEDIA ON THE GROWTH OF THE MEDICINAL MUSHROOM *Cordyceps cicadae*

Nguyen Cong Kinh[1,2], Nguyen Dai Chau[3], Tran Quang Huy[2,3], Nguyen Thi Ai Nhung[2,3], Nguyen Thi Thanh Hai[2,3] *

[1] Faculty of Pharmacy, Duy Tan University

[2 1]Faculty of Chemistry, University of Sciences, Hue University

[3]Institute of Applied Research for Science and Technology, University of Sciences, Hue University

*Email: nguyenthanhhai@hueuni.edu.vn

ABSTRACT

This study aimed to determine a suitable culture medium for inoculum production of the medicinal mushroom *Cordyceps cicadae* (*C. cicadae*) strain Cordy-NH4 and to evaluate its growth on insect hosts under artificial cultivation conditions. A completely randomized design was applied using four culture media formulations at two inoculum stages: primary spawn (solid medium) and secondary spawn (liquid medium). The results demonstrated that SDAY medium was the most suitable among the tested media for both cultivation production stages. In the primary spawn stage, the mean colony diameter reached 23.27 ± 0.37 mm after 8 days of incubation. In the secondary spawn stage, the maximum dry biomass attained 10.11 ± 0.02 mg/mL after 5 days of shaking cultivation at 125 rpm, and 21 °C, under dark conditions. Artificial cultivation on silkworm pupae (*Bombyx mori)* and bamboo caterpillars (*Brihaspa atrostigmella*) showed the formation of fruiting body-like structures after 9 – 10 days, with average lengths ranging from 29.78 to 35.89 mm after 45 days of cultivation. The results indicate that SDAY medium is suitable for spawn production of the Cordy-NH4 strain and that the resulting inoculum is capable of growing and forming fruiting body-like structures on insect hosts under artificial cultivation conditions. These findings provide a scientific basis for further studies to improve inoculum production and cultivation techniques for *C. cicadae* in Viet Nam.

Keywords: *Cordyceps cicadae*, culture medium, primary spawn, secondary spawn, *Bombyx mori, Brihaspa atrostigmella*.