

NGHIÊN CỨU NUÔI TRỒNG ĐÔNG TRÙNG HẠ THẢO *CORDYCEPS MILITARIS* TRÊN GIÁ THỂ TỔNG HỢP CÓ BỔ SUNG BỘT NHỘNG (*BOMBYX MORI*) KHÔ

Đoàn Thị Tuyết Lê^{1*}, Lê Thị Thu Hương², Đỗ Minh Anh³, Nguyễn Thị Hồng Nghi⁴, Nguyễn Thị Huệ⁵
¹ Trường Đại học Lạc Hồng, Số 10 Huỳnh Văn Nghệ, Bửu Long, Biên Hòa, Đồng Nai, Việt Nam
* Tác giả liên hệ: tuyetledt@lhu.edu.vn

THÔNG TIN BÀI BÁO

Received: 08/05/2023

Revised: 15/6/2023

Accepted: 20/7/2023

Published: 25/9/2023

KEYWORDS

Cordyceps militaris;

Bột nhộng khô;

Điều kiện nuôi cấy;

Quả thể nấm.

TÓM TẮT

Nấm Đông trùng hạ thảo (ĐTHT, *Cordyceps militaris*) là loài nấm ký sinh trên sâu non, nhộng có giá trị dược liệu quý và kinh tế cao nên bị khai thác quá mức dẫn đến khan hiếm ngoài tự nhiên. Vì thế nghiên cứu này được tiến hành nhằm xây dựng được quy trình nuôi trồng ĐTHT trên giá thể nhân tạo có bổ sung bột nhộng tằm (*Bombyx mori*) khô từ đó đáp ứng được nhu cầu về ĐTHT trên thị trường. Kết quả cho thấy môi trường PDA cải tiến thích hợp cho quá trình nhân giống cấp I nấm ĐTHT với thành phần bao gồm: 200g khoai tây + 20g đường dextrose + 20g agar + 0,1 g/l KH₂PO₄ + 0,1 g/l MgSO₄.7H₂O, pH = 5,5. Môi trường tổng hợp gồm 30g gạo lứt/bình + 8% bột nhộng khô + 50ml dịch khoáng (Dịch khoáng gồm 100ml/l nước dừa + 10g/l bột đậu nành + 1g/l vitamin B1 + 150mg/l B6 + 100g/l dịch chiết khoai tây + 20g đường glucose + 0,5g/l MgSO₄.7H₂O + 0,25g/l KH₂PO₄) phù hợp cho quá trình hình thành quả thể nấm ĐTHT (*C. militaris*), hệ sợi nấm phát triển nhanh, thời gian hình thành quả thể ngắn, cho số lượng quả thể nhiều nhất, quả thể có kích thước lớn và đặc biệt là có hàm lượng dược tính cordycepin cao 776 mg/kg.

STUDY ON CULTIVATION OF *CORDYCEPS MILITARIS* ON ARTIFICIAL GROWING MEDIA SUPPLEMENTED WITH DRIED SILKWORM PUPAE POWDER (*BOMBYX MORI*)

Doan Thi Tuyet Le^{1*}, Le Thi Thu Huong², Do Minh Anh³, Nguyen Thi Hong Nghi⁴, Nguyen Thi Hue⁵
¹ Lac Hong University, No. 10 Huynh Van Nghe, Bui Long Ward, Bien Hoa, Dong Nai, Vietnam
*Corresponding Author: tuyetledt@lhu.edu.vn

ARTICLE INFO

Received: May 8th, 2023

Revised: Jan 12th, 2023

Accepted: Sep 6th, 2023

Published: Sep 25th, 2023

KEYWORDS

Microorganisms;

Cellulose;

Digestive tract;

Giraffa camelopardalis.

ABSTRACT

Cordyceps militaris is a parasitic fungus on larvae and pupae with high medicinal and economic value, so it is over-exploited, leading to scarcity in the wildlife. Therefore, this study was conducted in order to develop the cultivation process of *C. militaris* on the artificial growing media supplemented with dried silkworm pupae powder (*Bombyx mori*), thereby meeting the demand for *C. militaris* in the market. The results showed that the improved PDA (200g potato + 20g dextrose + 20g agar + 0.1 g/l KH₂PO₄ + 0,1 g/l MgSO₄.7H₂O, pH = 5.5) was the suitable medium for the propagation *C. militaris*. The artificial medium including 30g brown rice/jar + 8% dried pupae powder + 50ml mineral solution (mineral solution includes 100ml/l coconut water + 10g/l soybean powder + 1g/l vitamin B1 + 150mg/l B6 + 100g/l potato extract + 20g glucose + 0.5g/l MgSO₄.7H₂O + 0.25g/l KH₂PO₄) was suitable for fruiting body formation *C. militaris*. This medium showed the fastest mycelium growth, the shortest time for fruiting body formation, the highest number of fruiting bodies and especially the highest content of cordycepin (776mg/kg).

1. Giới thiệu

Từ lâu nấm dược liệu đã trở thành một phần quan trọng của văn hoá và nền văn minh nhân loại, đặc biệt là các loài thuộc giống *Cordyceps* được đánh giá cao do có chứa nhiều dược chất [1]. Trong đó, loài *C. militaris* chứa hàm lượng các hoạt chất có hoạt tính sinh học cao như cordycepin, mannitol, axit amin, adenosine,... Đồng thời loài này dễ dàng nuôi trồng thành công trong môi trường nhân tạo [2, 3]. Do chứa nhiều dược chất quý nên nấm đông trùng hạ thảo (ĐTHT) rất tốt cho cơ thể, giúp điều hòa miễn dịch, hỗ trợ hệ tiêu hóa, tuần hoàn, thần kinh, hô hấp và hệ sinh dục của cơ thể [4, 5, 6]. Với giá trị dược liệu cao, nấm ĐTHT ngoài tự nhiên đang bị khai thác quá mức dẫn đến cực kỳ khan hiếm và giá cả vô cùng đắt đỏ. Vì thế, việc phát triển các nghiên cứu về nuôi trồng nấm ĐTHT trong điều kiện nhân tạo nhằm chủ động về công nghệ và tăng quy mô sản xuất, nâng cao năng suất, chất lượng góp phần giảm giá thành sản phẩm để nhiều tầng lớp người tiêu dùng có thể tiếp cận đến sản phẩm chăm sóc sức khỏe là rất cần thiết. Mục tiêu của nghiên cứu này là xây dựng quy trình nuôi trồng nấm Đông trùng hạ thảo (*C. militaris*) trên giá thể tổng hợp có bổ sung bột nhộng tằm khô đạt hiệu quả cao.

2. Nội dung

2.1 Vật liệu nghiên cứu

Giống nấm *C. militaris* được cung cấp bởi công ty TNHH MTV BIO HOPE, tỉnh Lâm Đồng.

Các loại nguyên liệu: Khoai tây, agar, peptone, cao nấm men, glucose (các nguyên liệu được sản xuất tại Việt Nam). Bột nhộng tằm do cơ sở nhộng tằm Kinh Thành tại địa chỉ 37/7 Phan Đăng Lưu, phường 1, TP. Bảo Lộc cung cấp.

Các chất khoáng và vitamin: $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, KH_2PO_4 , B1, B6.

Các thiết bị được dùng trong nghiên cứu này gồm: Tủ cấy vi sinh, phòng nuôi cấy có thiết bị điều hòa, máy lạnh, máy phun ẩm, kim tiêm dùng một lần, hệ thống đèn.

2.2 Nghiên cứu sự sinh trưởng, phát triển hệ sợi nấm Đông trùng hạ thảo (*C. militaris*) trong giai đoạn nhân giống cấp I

Chuẩn bị môi trường dinh dưỡng (môi trường thạch)

Tiến hành nuôi cấy nấm trên 5 loại môi trường khác nhau, thí nghiệm được bố trí lặp lại 3 lần, mỗi 1 công thức làm 3 đĩa petri.

P0: PDA

P1: PDA cải tiến

P2: PDA cải tiến + 5% bột nhộng tằm

P3: PDA cải tiến + 10% bột nhộng tằm

P4: PDA cải tiến + 15% bột nhộng tằm

P5: PDA cải tiến + 20% bột nhộng tằm

PDA (Potato dextrose agar) cải tiến: 200g/l khoai tây + 20g/l dextrose + 20g/l agar + 0,1g/l KH_2PO_4 + 0,1g/l $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, pH = 5,5 hấp khử trùng ở nhiệt độ 121°C, trong 30 phút.

Nuôi cấy trong 15 ngày trong điều kiện tối hoàn toàn, độ ẩm 65 - 75%, nhiệt độ từ 18°C đến 20°C.

Chỉ tiêu theo dõi:

Tốc độ phát triển hệ sợi: Là khả năng kéo dài của hệ sợi trên bề mặt thạch trong một đơn vị thời gian. Đơn vị:

cm/ngày. (Kể từ khi nấm hình thành sau 3,6,9,12,15 ngày dùng thước đo, ghi nhận lại sự phát triển của nấm theo thời gian).

Hình thái hệ sợi: Màu sắc hệ sợi nấm, quan sát bằng mắt thường và đánh giá màu sắc của hệ sợi nấm.

Mật độ hệ sợi nấm: Quan sát bằng mắt thường và đánh giá mật độ hệ sợi nấm theo thang điểm:

(+) Mật độ sợi mỏng, (++) Mật độ sợi trung bình, (+++) Mật độ sợi dày.

2.3 Nghiên cứu sự sinh trưởng, phát triển hệ sợi nấm Đông trùng hạ thảo (*C. militaris*) trên giá thể tổng hợp

Việc bổ sung đồng thời gạo lứt, bột nhộng khô, đậu nành vào môi trường cấy thích hợp để thay thế nuôi hoàn toàn trên côn trùng. Hỗn hợp gạo trộn với bột nhộng tằm được cho là cơ chất tốt nhất (Shrestha et al. 2012).

Môi trường nuôi: Mỗi công thức gồm 30g gạo lứt huyết rồng + bột nhộng tằm khô + 50ml dịch khoáng cho vào lọ thủy tinh có đường kính 7cm và được hấp khử trùng ở 121°C trong 30 phút.

Bố trí thí nghiệm: Thí nghiệm được bố trí 7 nghiệm thức (C1 - C7). Thí nghiệm lặp lại 3 lần, 1 công thức có 3 bình, các điều kiện nuôi cấy đảm bảo ổn định và giống nhau.

C1: 30g Gạo lứt/bình + 50ml dịch khoáng

C2: 30g Gạo lứt/bình + 2% bột nhộng khô + 50ml dịch khoáng

C3: 30g Gạo lứt/bình + 4% bột nhộng khô + 50ml dịch khoáng

C4: 30g Gạo lứt/bình + 6% bột nhộng khô + 50ml dịch khoáng

C5: 30g Gạo lứt/bình + 8% bột nhộng khô + 50ml dịch khoáng

C6: 30g Gạo lứt/bình + 10% bột nhộng khô + 50ml dịch khoáng

C7: 30g Gạo lứt/bình + 12% bột nhộng khô + 50ml dịch khoáng

Dịch khoáng: 100ml/l nước dừa + 10g/l bột đậu nành + 1g/l vitamin B1 + 150mg/l B6 + 100g/l dịch chiết khoai tây + 20g đường glucose + 0,5g/l $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ + 0,25g/l KH_2PO_4

Cách thức thực hiện: Cấy 5ml dịch giống lỏng sau 5 ngày nuôi trong tối có thành phần giống như nghiệm thức được chọn ở thí nghiệm 1 nhưng không có agar. Nuôi tối trong 7 ngày, sau đó kích sáng với cường độ 700-1000 lux, 12 h sáng/tối, độ ẩm 70-90%, 20-25°C.

Các chỉ tiêu theo dõi: Thời gian hệ sợi lan kín môi trường (ngày), thời gian bắt đầu xuất hiện quả thể (ngày), tốc độ phát triển quả thể (cm/ngày), đặc điểm và số lượng quả thể và hàm lượng cordycepin sau 45 ngày nuôi cấy.

Phương pháp xử lý số liệu

Tất cả các thí nghiệm được xử lý số liệu bằng phần mềm Statgraphic Centurion XV và Excel 2010.

3. Kết quả và thảo luận

3.1. Kết quả sự sinh trưởng, phát triển hệ sợi nấm (*C. militaris*) trong giai đoạn nhân giống cấp I

Từ kết quả bảng 1 cho thấy trên cả 6 môi trường dinh dưỡng nấm đều sinh trưởng, phát triển. Tuy nhiên có sự sai khác nhau về tốc độ lan tơ, thời gian lan kín mặt cũng như là hình thái hệ sợi. Yếu tố dẫn đến sự khác nhau là do thành phần dinh dưỡng. P0 có thành phần dinh dưỡng nghèo nên mật độ hệ sợi trung bình, P1 thêm khoáng nên nấm lan nhanh và ổn định hơn (lan kín mặt trong vòng 10 ngày). P2 và P3 có mật độ hệ sợi không chênh lệch nhau, nhưng giữa hai môi trường này nấm lại có xu hướng già hóa (chuyển vàng). Cuối cùng là P4 và P5 mật độ hệ sợi thấp, không thể lan kín bề mặt, có xu hướng chuyển sang vàng và xù bông lên.

Môi trường PDA là môi trường thông dụng để nuôi cấy nấm. Tuy nhiên Hur và cs vào năm 2008 đã chứng minh đối với ĐTHT thì điều đó vẫn chưa đạt được hiệu quả cao, nên khi bổ sung thêm khoáng K^+ , Mg^{2+} ở nồng độ thích hợp có thể làm tăng khả năng lan tơ [7]. Còn khi bổ sung vào 15% và 20% bột nhộng tằm thì tốc độ lan tơ chậm rõ rệt, có xu hướng đi lên và không lan mạnh đó là do nấm *C. militaris*

yêu cầu về hàm lượng nitơ tương đối thấp, nếu quá nhiều sẽ làm chậm quá trình lan tơ cũng như là biệt hóa. Như vậy, môi trường phù hợp cho nhân giống ĐTHT là môi trường P1 (PDA cải tiến) (hình 1).



Hình 1. Kết quả tốc độ lan tơ của ĐTHT

Bảng 1. Kết quả sự sinh trưởng, phát triển trên 6 môi trường

NT	Tốc độ phát triển hệ sợi (cm/ngày)	Mật độ hệ sợi	Thời gian lan kín mặt (ngày)	Đặc điểm hình thái
P0	0,48±0,01 ^{de}	++	12	Sợi màu trắng, hệ sợi phát triển cân đối xung quanh giống được cấy vào ban đầu
P1	0,50±0,01^e	+++	10	Sợi to màu trắng mịn, phân bố đồng đều, hệ sợi phát triển mạnh quanh giống được cấy ban đầu
P2	0,46±0,01 ^d	+++	13	Ban đầu hệ sợi có màu trắng sau dần chuyển sang màu vàng đậm hơn từ trong ra ngoài
P3	0,40±0,04 ^c	++	15	Hệ sợi có màu vàng đậm, hệ sợi có xu hướng xù bông trên bề mặt
P4	0,36±0,02 ^b	+	KL	Hệ sợi có xu hướng nhô lên, lan tơ yếu, có màu vàng đậm
P5	0,19±0,01 ^a	+	KL	Hệ sợi phát triển yếu, hầu như không lan, có màu vàng đậm và xu hướng nhô lên

Ghi chú: (+) Mật độ sợi mỏng (++) Mật độ sợi trung bình (+++) Mật độ sợi dày

KL: Không lan kín hết

3.2. Kết quả nghiên cứu sự sinh trưởng, phát triển của nấm Đông trùng hạ thảo (*C. militaris*) trên giá thể tổng hợp

Từ bảng 2 và bảng 3 cho thấy 7 nghiệm thức bị chi phối bởi dinh dưỡng cơ chất nuôi trồng. Tốc độ lan tơ kín bề mặt môi trường là 7 ngày, thời gian xuất hiện mầm quả thể đầu

tiên là qua 13 ngày, nhanh nhất là C5 (9 ngày), chậm nhất là C2 (13 ngày). Môi trường C5 (8% bột nhộng tằm) cho sinh trưởng tốt nhất về chiều cao, số lượng quả thể cũng như là năng suất sinh học. Tiếp theo là môi trường C6 (10% bột nhộng tằm), C4 (6% bột nhộng tằm), 2 môi trường này cho thấy sinh trưởng của nấm có sự chênh lệch nhưng sự biến động này không đáng kể.

Dựa vào kết quả hình 2 và hình 3 cho thấy chiều cao quả thể theo từng ngày và kích thước quả thể nấm phụ thuộc rất nhiều vào lượng dinh dưỡng có trong môi trường nuôi cấy. Theo Shrestha và cs (2012) gạo lứt là một chất hữu cơ được chứng minh là cơ chất thay thế tốt nhất cho côn trùng và gạo lứt được sử dụng như một thành phần chủ yếu cung cấp dinh dưỡng cho sự sinh trưởng phát triển hình thành quả thể. Đồng thời, nghiên cứu cũng chứng minh rằng để bổ sung thêm dinh dưỡng nitơ cho *C. militaris*, các nhà nghiên cứu đã sử dụng hỗn hợp gạo trộn với bột nhộng tằm và được chứng minh là cơ chất tốt nhất cho nuôi trồng nấm *C. militaris* [10]. Môi trường giàu dinh dưỡng thì kích thước quả thể càng lớn (C5, C6). Tuy nhiên không phải bổ sung càng nhiều dinh dưỡng nấm càng sinh trưởng nhanh, nên bổ sung liều lượng phù hợp với nhu cầu của nấm là từ 8% - 10%, liều lượng này không những cho năng suất tốt, quả thể to mà còn cho hàm lượng dược tính cao (cordycepin là 776mg/kg), nhưng nếu môi trường có quá nhiều dinh dưỡng thì chiều cao của quả thể sẽ kém phát triển (như ở môi trường C7).

Kết quả cho thấy nguồn dinh dưỡng nitơ thích hợp cho nấm là hỗn hợp giữa gạo và nhộng tằm khô [8]. Một nghiên cứu khác của Chen và cs (2011) chứng minh nguồn nhộng tằm trên 10% không có lợi cho sự phát triển của *C. militaris* và giảm hàm lượng cordycepin [9]. Hàm lượng cordycepin thu được từ nghiệm thức C5 (8% bột nhộng tằm) là 0,776mg/g. Trong khi đó Shrestha và cs (2012) thu được từ giống *C. militaris* cho hàm lượng cordycepin là 0,288mg/g, ngoài tự nhiên hàm lượng cordycepin đạt được là 0,006mg/g [10].



Hình 2. Quá trình sinh trưởng và phát triển của Đông trùng hạ thảo

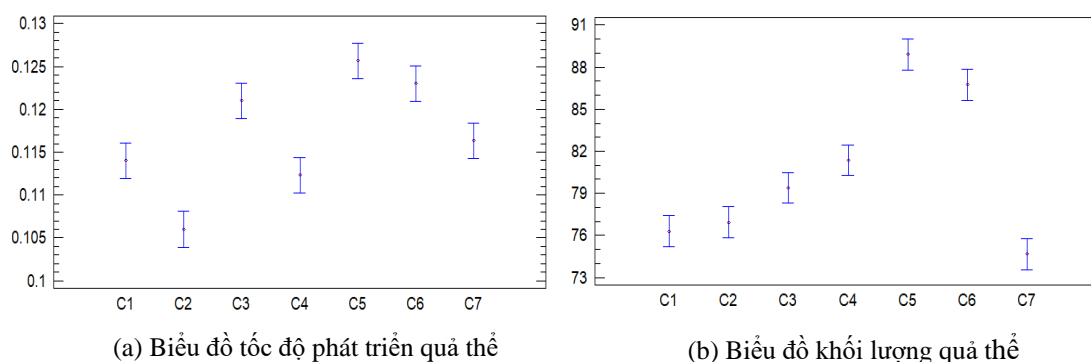
Bảng 2. Đặc điểm sinh trưởng, phát triển của nấm ĐHTH

Môi trường	Thời gian mọc kín (ngày)	Thời gian xuất hiện mầm quả thể đầu tiên (ngày)	Đặc điểm hệ sợi nấm khi đưa lên sáng		
			Sau 13 ngày	Sau 30 ngày	Sau 60 ngày
C1	6	12	Mầm quả thể xuất hiện nhiều và có màu trắng	Quả thể cao lớn, chuyển sang màu vàng	Quả thể có màu vàng sậm
C2	6	13	Mầm quả thể mới xuất hiện có màu trắng	Quả thể có màu vàng phát triển chậm	Quả thể có màu vàng cam
C3	7	12	Mầm quả thể nhiều và dày hơn, hơi ngả vàng nhẹ	Quả thể có màu cam, phát triển nhanh	Quả thể cao lớn và có màu đậm hơn
C4	5	11	Mầm quả thể nhiều có màu hơi vàng	Quả thể phát triển nhanh, có màu cam	Quả thể cao lớn, to và có màu cam
C5	5	9	Mầm phát triển nhiều, cao, dày và có màu hơi vàng	Quả thể phát triển nhanh. Có màu cam đậm	Quả thể có màu cam đậm, cao và to
C6	5	10	Mầm phát triển nhiều, dày mọc kín môi trường	Quả thể phát triển tốt, có màu cam đậm	Quả thể to và có màu cam đậm
C7	6	12	Mầm phát triển hơi chậm, mầm có màu trắng	Quả thể phát triển hơi chậm, màu vàng cam	Quả thể to, lớn có màu cam

Bảng Error! No text of specified style in document.. Kết quả sự sinh trưởng phát triển của ĐTHT

Stt	Nghiệm thức	Tỉ lệ bổ sung BNT (%)	Tốc độ phát triển quả thể (cm/ngày)	Số lượng quả thể (Quả thể/lọ)
1	C1	0	0,114 ± 0,002 ^b	136,93 ± 1,46 ^a
2	C2	2	0,106 ± 0,005 ^a	145,37 ± 1,20 ^b
3	C3	4	0,121 ± 0,001 ^c	154,40 ± 1,31 ^c
4	C4	6	0,122 ± 0,002 ^b	157,17 ± 1,55 ^d
5	C5	8	0,126 ± 0,002 ^d	178,63 ± 1,90 ^e
6	C6	10	0,123 ± 0,002 ^{cd}	177,13 ± 0,29 ^e
7	C7	12	0,116 ± 0,002 ^b	144,43 ± 1,15 ^b

* Các mẫu tự khác nhau a, b, c, d... biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa với $P \leq 0,05$ bằng phép thử LSD



Hình 3. Kết quả về tốc độ phát triển và khối lượng quả thể của ĐTHT

Kết quả này góp phần vào việc nghiên cứu lựa chọn giá thể nhân tạo thích hợp để nuôi trồng ĐTHT. Từ các kết quả trên, nhận thấy môi trường C5 (30g Gạo lứt/bình + 8% bột nhộng khô + 50ml dịch khoáng) là thích hợp nhất cho sự sinh trưởng, phát triển hệ sợi, hình thành quả thể cũng như là được chất có được. Kết quả nghiên cứu này phù hợp với kết quả của Chen và cs (2011) cũng như là kết quả nghiên cứu của Shrestha và cs (2012) [9],[10].

4. Kết luận

Môi trường nhân giống cấp I thích hợp cho nấm ĐTHT là PDA cải tiến với thành phần: 200g khoai tây + 20g đường dextrose + 20g agar + 0,1 g/l KH_2PO_4 + 0,1 g/l $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, pH = 5,5.

Môi trường tổng hợp gồm: 30g Gạo lứt/bình + 8% bột nhộng khô + 50ml dịch khoáng (Dịch khoáng: 100ml/l nước dừa + 10g/l bột đậu nành + 1g/l vitamin B1 + 150mg/l B6 + 100g/l dịch chiết khoai tây + 20g đường glucose + 0,5g/l $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ + 0,25g/l KH_2PO_4) phù hợp

cho việc hình thành quả thể nuôi cấy nấm ĐTHT (*C. militaris*).

5. Cảm ơn

Chúng tôi xin chân thành cảm ơn Ban Giám hiệu Trường Đại học Lạc Hồng, Lãnh đạo Khoa Kỹ thuật Hóa học và Môi trường, Trung tâm NCKH và Ứng dụng Trường Đại học Lạc Hồng đã tạo điều kiện cho chúng tôi hoàn thành nghiên cứu này.

6. Tài liệu tham khảo

- [1] McKenna, D. J.; Jones, K.; Hughes, K. *Botanical medicines: the desk reference for major herbal supplements*, 2nd edn, Haworth, 2002.
- [2] Choi, Y.S.; Lee, H.K.; Kim, S.H. Production of fruiting body using cultures of entomopathogenic fungal species. *Korean Journal of Mycology*. **2009**, 27, 15-19.

- [3] Dong, J.Z.; Lei, C.; Ai X. R. Selenium enrichment on *Cordyceps militaris* Link and analysis on its main active components. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, **2012**, 166, 1215–1224.
- [4] Das, S.; K, Masuda, M.; Mikio, S. Medicinal uses of the mushroom *Cordyceps militaris*: current state and prospects. *Fitoterapia*, **2010**, 81, 961–968.
- [5] Kim, G.Y.; Ko, W.; S, Lee, J. Y.; Lee, J.O.; Ryu, C.H.; Choi, B.T.; Park, Y.M.; Jeong, Y.K.; Lee, K.J.; Choi, K.S.; Heo, M.S.; Choi, Y.H. Water extract of *Cordyceps militaris* enhances maturation of murine bone marrow- derived dendritic cells in vitro. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, **2006**, 29, 354-360.
- [6] Wang, J.F.; Yang, C.Q. Research survey on artificial cultivation and product development of *Cordyceps militaris*. *Lishizhen Medicine And Material Medical Research*, **2006**, 17, 268–269.
- [7] Hur, H. Chemical ingredient of *Cordyceps militaris*. *Mycobiology*, **2008**, 36(4), 233-235.
- [8] Choi, Y.S.; Lee, H.K.; Kim, S.H. Production of fruiting body using cultures of entomopathogenic fungal species. *Korean Journal of Mycology*, **2009**, 27, 15-19.
- [9] Chen, Y.S.; Liu, B.L.; Chang, Y.N. Effects of light and heavy metals on *Cordyceps militaris* fruit body growth in rice grain-based cultivation. *Korean J Chem Eng*, **2011**, 28, 875-879.
- [10] Shrestha, B.; Zhang, W.; Zhang, Y.; Liu, X.H. The medicinal fungus *Cordyceps militaris*: Research and development, *Mycology Progress DOI*, 2012: pp: 012-0825.