

ĐÁNH GIÁ ẢNH HƯỞNG CỦA ÁNH SÁNG LED NÔNG NGHIỆP ĐẾN QUÁ TRÌNH NUÔI CẤY *IN VITRO* NẤM ĐÔNG TRÙNG HẠ THẢO *Cordyceps militaris* (Link.) Fries

Đỗ Thị Gấm^{1,✉}, Dương Hương Quỳnh¹, Phan Thị Lan Anh¹, Nguyễn Hoàng Dương¹, Đỗ Thị Kim Hoa²

¹Trung tâm Phát triển Công nghệ cao, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

²Công ty TNHH Dược Phẩm Y-Med

✉Người chịu trách nhiệm liên lạc. E-mail: honggam@htd.vast.vn

Ngày nhận bài: 17.12.2018

Ngày nhận đăng: 30.3.2019

TÓM TẮT

Trong nghiên cứu này chúng tôi tiến hành đánh giá ảnh hưởng của các loại đèn LED nông nghiệp (LED NN), bao gồm đèn LED đỏ đơn sắc (R), đèn LED xanh đơn sắc (B), đèn do LED xanh và LED đỏ kết hợp với LED trắng ấm (W) theo các tỷ lệ khác nhau (BR, BRW1, BRW2 và BRW3) đến quá trình sinh trưởng phát triển và chất lượng quả thể của nấm *Cordyceps militaris* (Link.) Fries (*C. militaris*) trong điều kiện nuôi cấy *in vitro*. Sau 7 ngày theo dõi thí nghiệm, nhận thấy dưới ánh sáng đèn LED NN nấm *C. militaris* có thời gian phát sinh mầm quả thể ngắn hơn và tỷ lệ mẫu phát sinh mầm quả thể cao so với đèn huỳnh quang T5 (đối chứng). Sau 2 tháng nuôi cấy, kết quả cho thấy các loại đèn LED có nhiều ánh sáng đỏ như đèn LED đỏ đơn sắc và LED BR đã gây ức chế đến sự sinh trưởng phát triển của quả thể nấm *C. militaris*. Ngược lại, ở những loại đèn LED có sự kết hợp giữa ánh sáng xanh, đỏ và trắng ấm như đèn LED BRW1, LED BRW2 và LED BRW3 lại ảnh hưởng tích cực lên sự sinh trưởng và phát triển của nấm *C. militaris*. Đặc biệt, dưới ánh sáng đèn LED BRW2 quả thể nấm có chiều cao (5,79 cm), sinh khối tươi (3,67 g/20 cây), hàm lượng cordycepin và adenosine tổng số trong quả thể (tương ứng là 64,2 mg/100 g tươi và 6,37 mg/100 g tươi) đều cao hơn so với công thức đối chứng và các công thức đèn LED còn lại. Qua quá trình khảo sát chúng tôi nhận thấy ánh sáng LED kết hợp theo tỷ lệ BRW2 = 1:5:1 có cường độ chiếu sáng là $45 \pm 2 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ (tương ứng với 511,59 Lux) phù hợp cho sự sinh trưởng, phát triển của nấm *C. militaris* khi nuôi cấy trên môi trường đặc và có khả năng ứng dụng làm nguồn sáng thay thế đèn huỳnh quang trong nuôi cấy nhân tạo nấm *C. militaris*.

Từ khóa: adenosine, *Cordyceps militaris* (Link.) Fries, cordycepin, đèn LED, quả thể

MỞ ĐẦU

Nấm đông trùng hạ thảo (ĐTHT) còn gọi là hạ thảo đông trùng hay đông trùng thảo là một loại đông dược quý có bản chất là dạng ký sinh của loài nấm thuộc họ *Cordyceps* trên sâu non, nhộng hoặc cơ thể sâu trưởng thành của một số loài côn trùng thuộc chi *Thitarodes* (Nguyễn Thị Thanh Mai *et al.*, 2017). Nấm đông trùng hạ thảo dùng để sản xuất dược liệu được xác định gồm hơn 680 loài khác nhau và chỉ riêng ở Trung Quốc đã tìm thấy hơn 60 loài (Park *et al.*, 2001). Tuy nhiên cho đến nay người ta mới chỉ nghiên cứu nhiều nhất được về 2 loài là *Cordyceps sinensis* (Berk) Sacc và *Cordyceps militaris* (L. ex Fr) Link, ở Việt Nam loài thứ hai được gọi là Nhộng trùng thảo (Đái Duy Ban, Lư Tham Mưu, 2018). Khác với nấm *Cordyceps sinensis* với sản lượng rất ít và chỉ mọc trong tự nhiên, loài nấm *Cordyceps militaris* có thể dễ dàng nuôi trồng trong môi trường nhân tạo. Do

vậy, đã có nhiều nghiên cứu về quy trình nuôi trồng nấm *C. militaris*, đặc tính sinh hóa và dược lý của nấm *C. militaris*. Phần dược tính của nấm ĐTHT đã được chứng minh là do các chất chiết xuất từ nấm *Cordyceps*. Thành phần hóa học của nấm *C. militaris* trong tự nhiên và nuôi trên môi trường nhân tạo là tương tự nhau (Li *et al.*, 2006), tuy nhiên có sự khác biệt lớn giữa thành phần hoạt chất của các chủng *Cordyceps* khác nhau và giữa các sản phẩm tạo thành trong quá trình nuôi nhân tạo. Các phân tích hoá học cho thấy trong sinh khối (biomass) của nấm ĐTHT có từ 17-19 loại acid amin khác nhau, có nhiều nguyên tố vi lượng (Na, K, Ca, Mg, Al, Mn, Cu, Zn, Bo, Fe... trong đó cao nhất là phospho); và quan trọng hơn cả là có các hợp chất tự nhiên có hoạt tính sinh học như cordiceptic acid, cordycepin, adenosine, hydroxyethyladenosine; ngoài ra còn có khoảng 25-30% protein, 8% chất béo và đường mannitol. Nhiều công bố khoa học cho thấy nấm *C. militaris* là loại

nấm dược liệu quý và có tiềm năng ứng dụng lớn trong ngành công nghiệp dược phẩm, thường được sử dụng để điều trị nhiều loại bệnh nan y như bệnh ung thư, suy giảm miễn dịch, suy giảm chức năng gan, thận... (Seulmee *et al.*, 2009; Shonkor *et al.*, 2010).

Trong nuôi trồng nấm ĐTHT *C. militaris*, ngoài các yếu tố như giống, thành phần môi trường dinh dưỡng thì nhiệt độ và ánh sáng là hai yếu tố môi trường có ảnh hưởng lớn đến việc duy trì sản lượng và chất lượng nấm *C. militaris*. Nhiều nghiên cứu đã cho biết nhiệt độ phù hợp để nuôi cấy *C. militaris* là từ 20-25°C và độ ẩm là từ 85-95%. Ánh sáng là yếu tố môi trường quan trọng nhất ảnh hưởng đến việc nuôi cấy tạo thể quả nấm *C. militaris*. Sau khi tiếp xúc với ánh sáng, màu sắc của hệ sợi nấm thay đổi từ màu trắng sang màu vàng hoặc màu cam, sau đó bắt đầu hình thành quả thể và không có quả thể được tạo thành trong bóng tối (Sato, Shimazu, 2002; Yang, Dong, 2014). Các báo cáo gần đây cho thấy rằng cường độ ánh sáng thích hợp cho việc sản xuất thể quả nấm trong khoảng từ 500-1000 Lux tùy thuộc vào chủng nấm nuôi cấy và thời gian chiếu sáng dài hay ngắn (Sung *et al.*, 1999; Gao *et al.*, 2000; Sato, Shimazu, 2002).

Ngoài ra, nấm đông trùng hạ thảo *C. militaris* là loài ưa lạnh nên việc hạn chế nhiệt lượng tỏa ra từ thiết bị chiếu sáng thật sự cần thiết cho quá trình nuôi cấy. Do đó, nhiều nhà khoa học trên thế giới đã thực hiện các nghiên cứu về ảnh hưởng của các nguồn chiếu sáng LED khác nhau (nguồn sáng có nhiều đặc tính ưu việt như tiết kiệm điện, bước sóng xác định, tuổi thọ cao, không tỏa nhiệt...) đến quá trình nuôi trồng nấm *C. militaris*. Nghiên cứu của Dong và đồng tác giả đã cho biết bước sóng ánh sáng có ảnh hưởng đáng kể đến sự phát triển của sợi nấm, hàm lượng hoạt chất adenosine và cordycepin trong nấm *C. militaris* khi nuôi cấy trên môi trường lỏng. Thí nghiệm được thực hiện ở điều kiện ánh sáng tự nhiên, điều kiện tối và các loại đèn LED có bước sóng khác nhau, nhưng đều có cường độ chiếu sáng là 400 Lux, chu kỳ chiếu sáng là 12h/12h. Đối với sự phát triển của sợi nấm và sự tích lũy adenosine thì đèn LED đỏ (bước sóng 620-630 nm) là phù hợp nhất sau đó đến đèn LED hồng (gồm 1/3 LED xanh phối hợp với 2/3 LED đỏ) và thấp nhất là ở đèn LED xanh (bước sóng 450-460 nm). Đèn LED đỏ được đánh giá là không phù hợp cho sự tích lũy cordycepin, ngược lại đèn LED xanh là thích hợp nhất cho sự tích lũy cordycepin (Dong *et al.*, 2012). Trong một nghiên cứu khác vào năm 2013, Dong và đồng tác giả cũng đã đánh giá ảnh hưởng của các loại đèn LED trên đến quá trình sản xuất quả thể và chất lượng quả thể của nấm *C. militaris* khi nuôi trồng trên

môi trường đặc. Kết quả cho thấy đèn LED hồng có hiệu suất sinh học và hàm lượng chất khô (6,77% và 40,06%) quả thể cao nhất, sau đó là ánh sáng LED xanh (4,86% và 24,44%), tiếp theo là ánh sáng huỳnh quang (4,55% và 22,69%) và cuối cùng là ánh sáng LED đỏ (4,17% và 22,06%). Đèn LED hồng được đánh giá là tối ưu nhất cho sự tích lũy hàm lượng cordycepin và carotenoid, tuy nhiên đèn LED đỏ lại phù hợp nhất cho sự tích lũy hàm lượng adenosine trong quả thể nấm *C. militaris* (Dong *et al.*, 2013). Theo nghiên cứu của Yi và đồng tác giả (2014), trọng lượng thể quả (tươi và khô) của nấm *C. militaris* khi nuôi trồng ở điều kiện ánh sáng LED đỏ (630-660 nm) và LED đỏ xa (730 nm) là thấp hơn đáng kể so với nuôi trồng dưới đèn huỳnh quang, nhưng không có khác biệt nhiều giữa ánh sáng LED kết hợp (LED đỏ kết hợp với LED xanh dương theo tỷ lệ 2:1, trong đó có 10% là LED đỏ xa) so với ánh sáng huỳnh quang. Hàm lượng cordycepin cao hơn đáng kể khi nuôi trồng dưới ánh sáng đèn LED kết hợp và đèn LED đỏ, được đánh giá là tăng 62% so với ánh sáng huỳnh quang. Hàm lượng carotenoid thấp hơn đáng kể khi nuôi trồng dưới ánh sáng LED đỏ và đỏ xa, nhưng lại cao hơn ở ánh sáng LED kết hợp. Hàm lượng polysaccharide không khác biệt đáng kể giữa các công thức đèn LED và đèn huỳnh quang (Yi *et al.*, 2014). Báo cáo của Chao và đồng tác giả (2019) cho biết ánh sáng đèn LED đỏ (bước sóng 625-630 nm) và LED xanh lá cây (bước sóng 520-530 nm) có tác dụng rút ngắn thời gian phát sinh mầm quả thể. Ánh sáng LED đỏ làm tăng số lượng mầm quả thể. Đèn LED kết hợp giữa LED đỏ và LED xanh Blue (bước sóng 465-475 nm) theo tỷ lệ 8: 1, cường độ chiếu sáng 500 Lux, chu kỳ chiếu sáng là 16h sáng/8h tối có tác dụng làm tăng sinh khối quả thể và tăng tích lũy hàm lượng cordycepin (Chao *et al.*, 2019).

Như vậy, các nghiên cứu về ảnh hưởng của ánh sáng LED đến đặc điểm quả thể và chất lượng quả thể của nấm *C. militaris* đa phần đều là các nghiên cứu của nước ngoài và trên loại đèn LED do LED đỏ và LED xanh kết hợp với nhau theo các tỷ lệ khác, hiện chưa có nghiên cứu nào được thực hiện trên loại đèn LED do LED xanh và LED đỏ kết hợp với LED trắng ấm (W) theo các tỷ lệ khác nhau. Ở Việt Nam, các công trình nghiên cứu về ảnh hưởng của ánh sáng LED đến quá trình nuôi trồng nấm *C. militaris* còn rất hạn chế và chưa chi tiết trên nhiều loại đèn LED khác nhau. Bước đầu mới có nghiên cứu của nhóm tác giả Phạm Thị Lan và đồng tác giả cho biết, khi nuôi cấy nấm *C. militaris* dưới ánh sáng đèn compact thì thu được kết quả tốt hơn so với ánh sáng đèn LED do thu được số lượng, kích thước quả thể và hàm

lượng cordycepin cao hơn (Phạm Thị Lan et al., 2016). Loại đèn LED được sử dụng trong thí nghiệm gồm 750 bóng LED nhỏ do ánh sáng xanh dương và ánh sáng đỏ kết hợp với nhau theo tỉ lệ 1:2, đèn có công suất là 716 Lux, nhưng trong báo cáo chưa nêu rõ về bước sóng của các loại bóng LED sử dụng. Còn theo Trung tâm Ứng dụng tiến bộ Khoa học và Công nghệ tỉnh Quảng Trị (thuộc Sở Khoa học và Công nghệ tỉnh Quảng Trị) điều kiện nuôi cấy nấm *C. militaris* thích hợp là ở nhiệt độ $21 \pm 1^\circ\text{C}$, độ ẩm không khí 80-90%, cường độ ánh sáng 400-600 Lux, thời gian chiếu sáng 14 giờ/ngày bằng ánh sáng đèn LED và cũng không chi tiết rõ về bước sóng của loại đèn LED sử dụng (<http://elib.dostquangtri.gov.vn>). Do đó, trong báo cáo này chúng tôi tiến hành thí nghiệm đánh giá ảnh hưởng của các loại đèn LED nông nghiệp (đèn LED của Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam) có bước sóng và cường độ chiếu sáng khác nhau đến quá trình nuôi trồng nhân tạo nấm *C. militaris*, với mong muốn là tìm được nguồn chiếu sáng thích hợp cho việc tạo thành quả thể, nâng cao chất lượng quả thể và giảm được chi phí trong sản xuất nấm đông trùng hạ thảo *C. militaris* thương phẩm tại Việt Nam, đáp ứng nhu cầu thị trường trong và ngoài nước.

VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

Vật liệu

- Chủng nấm *Cordyceps militaris* (Link.) Fries có số hiệu NBRC 100741 được cung cấp bởi Trung tâm tài nguyên sinh vật thuộc Viện Công nghệ và Đánh giá Quốc gia của Nhật Bản.

- Hệ thống chiếu sáng LED nông nghiệp (LED NN): gồm đèn LED đỏ đơn sắc (Red) (có bước sóng 630 nm); đèn LED xanh đơn sắc (Blue) (có bước sóng 450 nm) và đèn do LED xanh đơn sắc và đỏ đơn sắc phối hợp với LED trắng ấm (Warm White) (vùng quang phổ rộng) theo các tỉ lệ khác nhau (LED BR, LED BRW1, LED BRW2, LED BRW3). Các loại đèn LED NN sử dụng trong thí nghiệm là đèn LED dạng tuyp dài 0,6 m, công suất 9 W, có bước sóng khác nhau, có cường độ sáng từ 30 - 79 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ và là đèn LED do Trung tâm Phát triển công nghệ cao, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam thiết kế và chế tạo ra. Đèn huỳnh quang (FL) T5 dài 1,2 m, công suất 36 W, có cường độ chiếu sáng là $46 \pm 1 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ do công ty Cổ phần Bóng đèn phích nước Rạng Đông cung cấp được sử dụng làm nguồn chiếu sáng đối chứng.

- Mật độ dòng photon quang hợp ($\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) ở vùng bước sóng 400 nm-700 nm và độ rọi (Lux) của các loại đèn trong thí nghiệm được đo bằng máy đo Li-Cor- 250 A .

- Vật tư, hóa chất: K_2HPO_4 , $\text{MgSO}_4.7\text{H}_2\text{O}$, glucose, aga, pepton, cao nấm men, gạo lứt, dịch chiết nhộng tằm, nước dừa, dịch chiết khoai tây...

Bảng 1. Thông tin về các loại đèn LED NN sử dụng trong thí nghiệm.

TT	Tên đèn	Tỉ lệ LED màu	Cường độ ánh sáng		Khoảng cách (cm) chiếu sáng (từ đèn xuống mặt giàn)
			Mật độ dòng photon quang hợp ($\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$)	Độ rọi (Lux)	
1	FL		46±1	459,06	40
2	LED đỏ (Red)	100 %, LED đỏ (gồm R=630 nm)	51±7	516,38	40
3	LED xanh (Blue)	100 %, LED xanh (B=450 nm)	79±3	755,12	40
4	BRW 1	B:R:W=1:4:2 (B=450 nm, R=630 nm, W=trắng ấm)	53±7	526,18	40
5	BRW 2	B:R:W=1:5:1 (B=450 nm, R=630 nm, W=trắng ấm)	45±2	511,59	40
6	BRW 3	B:R:W = 1:2:2 (B=450nm, R=630 nm, W=trắng ấm)	49±5	512,22	40
7	BR	B:R=1: 4 (B=450nm, R=630 nm/660 nm=1/1)	30±1	311,12	40

Phương pháp

- Phương pháp bố trí thí nghiệm: Nấm đông trùng hạ thảo *C. militaris* được nuôi cấy trên môi trường giá thể đặc gồm: 20 g gạo lứt huyết rồng + 40 ml dịch chiết (200 g/lít khoai tây + 100 g/lít nhộng tằm + 100 ml/lít nước dừa + 1 g/lít MgSO₄ + 6 g/lít pepton + 6 g/lít cao nấm men + 15 g/lít glucose). Mỗi bình thí nghiệm được cấy 5 ml dịch giống nấm *C. militaris* và được chuyển vào nuôi trồng trong điều kiện tối. Khi sợi nấm đã mọc và lan kín bề mặt giá thể thì chuyển các bình thí nghiệm vào các giàn đèn LED và đèn Huỳnh quang. Mỗi công thức chiếu sáng khảo sát với 30 bình thí nghiệm. Các chỉ tiêu đánh giá của thí nghiệm gồm: thời gian hình thành mầm quả thể sau khi ra sáng (ngày), chiều dài quả thể (cm), đặc điểm quả thể, sinh khối nấm (g) và chất lượng quả thể (phân tích hàm lượng chất cordycepin, adenosine).

- Định lượng hợp chất cordycepin theo phương pháp HD/HS1/138 và adenosine theo phương pháp HD/HS1/073, các chỉ tiêu này được phân tích tại Trung tâm Chứng nhận Phù hợp (Quacert) thuộc Tổng cục Tiêu chuẩn Đo lường Chất lượng.

- Các số liệu được xử lý với phần mềm Microsoft excell 2007 và Statgraphic XV theo phương pháp Duncan với $\alpha = 0,05$.

KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Ảnh hưởng của các loại đèn LED NN đến thời gian và tỷ lệ hình thành mầm quả thể của nấm đông trùng hạ thảo *C. militaris* (Link.) Fries

Để đánh giá ảnh hưởng của các điều kiện chiếu sáng khác nhau đến thời gian và tỷ lệ hình thành mầm quả thể của nấm đông trùng hạ thảo *C. militaris* nuôi cấy, thí nghiệm được thực hiện ở 7 điều kiện chiếu sáng khác nhau, bao gồm đèn huỳnh quang và 6 loại đèn LED khác nhau (LED Red, LED Blue, LED BR, LED BRW1, LED BRW2 và LED BRW3). Sau khi cấy giống xong các bình thí nghiệm được nuôi trong buồng tối (pha tối), khi sợi nấm đã mọc kín bề mặt giá thể nuôi trồng thì chuyển các bình thí nghiệm sang nuôi ở pha sáng tức là chuyển vào các giàn nuôi có lắp các loại đèn khác nhau về bước sóng và cường độ chiếu sáng. Các kết quả thu được trình bày ở Bảng 2.

Bảng 2. Ảnh hưởng của các loại đèn LED NN đến thời gian và tỷ lệ hình thành mầm quả thể của nấm đông trùng hạ thảo *Cordyceps militaris* (Link.) Fries.

Điều kiện chiếu sáng	Tỷ lệ chip LED	Thời gian cảm tạo mầm quả thể (ngày)	Tỷ lệ (%) phát sinh mầm quả thể sau 7 ngày	Tỷ lệ (%) phát sinh mầm quả thể sau 14 ngày
FL (n=32)	Đèn huỳnh quang	7	28,12	100
LED Red (n=32)	100% LED đỏ (R)	5	42,85	100
LED Blue (n=30)	100% LED xanh (B)	5	56,67	100
LED BR (n=30)	BR=1:4	6	48,27	100
LED BRW1(n=30)	BRW=1:4:2	5	53,84	100
LED BRW2 (n=30)	BRW=1:5:1	6	51,17	100
LED BRW3(n=30)	BRW=1:2:2	6	53,57	100

Khi chuyển ra nuôi trồng ở pha sáng, nhận thấy sau 1-2 ngày các sợi nấm đã bắt đầu chuyển từ màu trắng sang màu vàng nhạt và sau 3 ngày thì đã chuyển sang màu vàng cam đậm. Dưới ánh sáng đèn LED NN, nấm *C. militaris* có thời gian phát sinh mầm quả thể ngắn hơn so với dưới ánh sáng đèn huỳnh quang. Ở công thức đèn LED Red, LED Blue và LED BRW1 thì chỉ sau 5 ngày mầm quả thể đã được hình thành. Còn ở các công thức đèn LED còn lại như LED BR, LED BRW2 và LED BRW3 thì sau 6 ngày cũng đã xuất hiện mầm quả thể. Công thức đèn huỳnh quang

có thời gian cảm ứng tạo mầm quả thể dài nhất trong các công thức nghiên cứu, tức là sau 7 ngày thì mới xuất hiện mầm quả thể. Các kết quả thu được trong thí nghiệm được đánh giá là phù hợp với kết quả nghiên cứu của Chao và đồng tác giả (2019), cho biết ánh sáng đèn LED đỏ và LED xanh lá cây có tác dụng rút ngắn thời gian phát sinh mầm quả thể của nấm *C. militaris*. Sau 7 ngày theo dõi, nhận thấy các công thức đèn LED NN đều có tỷ lệ hình thành mầm quả thể cao hơn so với công thức đèn huỳnh quang và tỷ lệ hình thành mầm quả thể cao nhất là ở công thức

LED Blue (56,67%). Tuy nhiên, sau 14 ngày thì 100% các bình nuôi cấy nấm *C. militaris* ở tất cả các công thức đèn đều đã xuất hiện mầm quả thể.

Ảnh hưởng của các loại đèn LED NN đến hình thái quả thể của nấm *C. militaris* (Link.) Fries

Ảnh hưởng khác nhau của ánh sáng LED đến sự phát triển hình thái đã được ghi nhận trên nhiều đối tượng thực vật khác nhau. Các nghiên cứu cho thấy ánh sáng đỏ và xanh đơn sắc thường có tác động trái ngược nhau đến hình thái của thực vật. Ánh sáng đỏ

đơn sắc thường có tác động kích thích kéo dài thân trong khi ánh sáng xanh đơn sắc lại gây ức chế đến sự phát triển của chồi cây. Bên cạnh đó, sự kết hợp giữa ánh sáng đỏ và xanh ở tỷ lệ thích hợp là cần thiết cho sự sinh trưởng và phát triển của thực vật (Dương Tấn Nhựt, Nguyễn Bá Nam, 2014). Tương tự như ở thực vật, gần đây nhiều báo cáo cũng cho biết ánh sáng LED có bước sóng khác nhau có ảnh hưởng khác nhau đến việc tạo thành quả thể và chất lượng quả thể của nấm *C. militaris* (Dong et al., 2013; Yi et al., 2014; Chiang et al., 2017, Chao et al., 2019).

Bảng 3. Ảnh hưởng của các loại đèn LED NN đến sự phát triển hình thái quả thể của nấm *Cordyceps militaris* (Link.) Fries.

Điều kiện chiếu sáng	Tỷ lệ chip LED	Số lượng quả thể/100 g môi trường nuôi cấy	Chiều dài quả thể (cm)	Tỷ lệ (%) quả thể phân nhánh	Đặc điểm hình thái quả thể của nấm <i>C. militaris</i>
FL	Đèn huỳnh quang	110	4,44 ^a ± 0.26	4,5	Quả thể hình trụ, màu vàng cam nhạt, quả thể nhỏ với đỉnh nhọn, số quả thể bị phân nhánh 5/110 quả thể
LED Red	100% LED đỏ (R)	128	3,72 ^a ± 0.30	14,06	Quả thể hình trụ, màu vàng cam, ngắn và nhỏ, mọc không đều, số quả thể bị phân nhánh dị dạng là 18/128 quả thể.
LED Blue	100% LED xanh (B)	128	5,15 ^d ± 0.21	11,7	Quả thể hình trụ, màu vàng cam, mọc không đều và nhỏ, số quả thể phân nhánh dị dạng là 15/128 quả thể.
LED BR	BR =1:4	128	4,12 ^b ± 0.48	8,59	Quả thể hình trụ, màu vàng cam, mọc không đều và nhỏ, số quả thể phân nhánh dị dạng là 8/128 quả thể.
LED BRW1	BRW=1:4:2	126	5,48 ^d ± 0.70	7,71	Quả thể hình trụ, màu vàng cam, mọc không đều, đầu quả thể phình to và dài từ 2-3 mm, số quả thể phân nhánh dị dạng là 9/126 quả thể.
LED BRW2	BRW=1:5:1	125	5,79 ^e ± 0.57	1,60	Quả thể hình trụ, màu vàng cam, mọc đều, đầu quả thể phình to và dài 4-5 mm, số quả thể phân nhánh dị dạng là 2/125 quả thể.
LED BRW3	BRW=1:2:2	128	5,63 ^{de} ± 0.43	1,56	Quả thể hình trụ, màu vàng cam, mọc đều, quả thể nhỏ, đầu quả thể phình to và dài 2-3 mm, số quả thể phân nhánh dị dạng là 2/128 quả thể.

Ghi chú: Các chữ cái khác nhau trong cùng một cột thể hiện sự khác biệt ở mức ý nghĩa với $\alpha=5\%$.

Sau 2 tháng theo dõi, nhận thấy số lượng quả thể (trong 100 g môi trường đặc nuôi cấy) thu được ở các công thức chiếu sáng bằng đèn LED đều nhiều hơn so với công thức đèn huỳnh quang (Bảng 3). Ánh sáng LED có tác động khác nhau đến hình thái quả thể của nấm đồng trùng hạ thảo *C. militaris*. Chiều dài quả thể nấm *C. militaris* ở các công thức chiếu sáng giảm dần

theo trình tự sau: LED BRW2 > LED BRW3 > LED Blue > LED BRW1 > FL > LED BR > LED Red. Ánh sáng LED đơn sắc đỏ và đơn sắc xanh có tác động trái ngược nhau đến chiều dài quả thể nấm *C. militaris*. Trong khi ánh sáng xanh đơn sắc có khả năng kích thích tăng trưởng chiều dài quả thể (đạt tới 5,15 cm) thì ánh sáng đỏ đơn sắc lại gây hiệu ứng ngược lại, tức là có

chiều dài thấp nhất trong các công thức nghiên cứu, chiều dài chỉ đạt 3,72 cm. Về hình thái, quả thể nấm thu được từ 2 công thức đèn này đều có màu vàng cam, mọc không đều và nhỏ, có nhiều quả thể bị phân thành các nhánh nhỏ như sừng hươu và có màu trắng nhạt. Đây cũng là 2 công thức đèn có tỷ lệ quả thể phân nhánh cao nhất trong tất cả các công thức nghiên cứu, tỷ lệ quả thể phân nhánh ở công thức đèn LED đỏ đơn sắc và LED xanh đơn sắc tương ứng là 14,06% và 11,7%. Ở công thức đèn LED BRW2 quả thể nấm *C. militaris* có chiều dài (5,79 cm) lớn hơn tất cả các công thức nghiên cứu và sự khác biệt này được đánh giá là có ý nghĩa thống kê. Tại công thức đèn LED này quả thể nấm mọc khá đồng đều, có màu vàng cam đậm, đầu quả thể phình to (dài từ 4-5 mm) và tỷ lệ quả thể bị phân nhánh thấp, chỉ chiếm 1,6% (Bảng 3, Hình 1).

Ở công thức đèn LED BRW3, quả thể nấm *C. Militaris* cũng có chiều dài khá tốt (5,63 cm) chỉ kém công thức đèn LED BRW2, quả thể mọc rất đồng đều và tỷ lệ phân nhánh thấp, chỉ chiếm 1,56% (Hình 1). Quả thể nấm ở công thức đèn LED BRW1 có chiều dài là 5,48 cm và được đánh giá là tương đương với đèn LED Blue. Về hình thái nhận thấy ở công thức đèn LED BRW1, quả thể có màu vàng cam, có đầu phình to dài từ 2-3 mm, tuy nhiên lại mọc không đồng đều và có tỷ lệ phân nhánh là 7,71%. Quả thể thu được từ công thức đèn LED BR có chiều cao là thấp nhất (4,12 cm) và mọc không đồng đều, tỷ lệ quả thể bị phân nhánh là 8,59%. Từ những kết quả thu được nhận thấy, trong 7 công thức nghiên cứu thì công thức đèn LED BRW2 và LED BRW3 là phù hợp cho sự phát triển quả thể của nấm đông trùng hạ thảo *C. militaris*.

Ảnh hưởng của các loại đèn LED NN đến chất lượng nấm đông trùng hạ thảo *C. militaris* Link.

Bên cạnh sự thay đổi về chiều dài và hình thái quả

hể của nấm *C. militaris*, ánh sáng đèn LED NN còn ảnh hưởng tới chất lượng quả thể thông qua một số chỉ tiêu theo dõi như sinh khối tươi, hàm lượng chất khô và hàm lượng hoạt chất cordycepin và adenosine trong thể quả nấm đông trùng hạ thảo *C. militaris*.

Sinh khối tươi của quả thể nấm *C. militaris* cao nhất là ở công thức đèn LED BRW2 (3,67 g/20 quả thể) và đèn LED BRW3 (3,68 g/20 cây), kết quả này cũng phù hợp với sự phát triển hình thái quả thể do ở các công thức đèn này quả thể thu được đều to và dài hơn so với các công thức đèn khác. Sinh khối tươi và hàm lượng chất khô thấp nhất ở công thức đèn LED đỏ đơn sắc (tương ứng là 2,29 g/20 quả thể và 24,73%). Kết quả nghiên cứu này cũng phù hợp với nghiên cứu của Dong và đồng tác giả (2013), cho biết ở điều kiện ánh sáng LED đỏ thì hiệu suất sinh học và hàm lượng chất khô của thể quả nấm *C. militaris* là thấp hơn so với ánh sáng LED kết hợp và ánh sáng đèn huỳnh quang. Hàm lượng chất khô cao nhất là ở công thức đèn LED xanh đơn sắc (29,71%) và công thức đèn huỳnh quang (27,77%), còn thấp nhất là ở công thức đèn LED BR (24,73%) và đèn LED BRW1 (24,83%). Hàm lượng sinh khối tươi tỷ lệ nghịch với hàm lượng chất khô trong quả thể nấm *C. militaris*, điều này cho thấy ở những công thức có hàm lượng sinh khối tươi lớn thì cũng tích lũy nhiều nước hơn ở những công thức có hàm lượng sinh khối tươi thấp.

Chất lượng ánh sáng của các loại đèn LED khác nhau có ảnh hưởng rõ rệt đến việc tích lũy các chất chuyển hóa khác nhau trong thực vật (Bian *et al.*, 2015). Sự gia tăng các chất chuyển hóa của thực vật, bao gồm cả hợp chất sơ cấp và thứ cấp (như đường, tinh bột, vitamin-C, protein và polyphenol) đã nhận thấy rõ ở ánh sáng LED đỏ hoặc LED xanh so với ánh sáng huỳnh quang.

Bảng 4. Ảnh hưởng của các loại đèn LED NN đến sinh khối tươi, hàm lượng chất khô và hàm lượng cordycepin, adenosine trong quả thể nấm *C. militaris*.

Điều kiện chiếu sáng	Tỷ lệ chip LED	Sinh khối tươi (g) của 20 quả thể	Hàm lượng chất khô (%)	Hàm lượng Cordycepin (mg/100 g tươi)	Hàm lượng Adenosine (mg/100 g tươi)
FL	Đèn huỳnh quang	2,98	27,77	60,00	6,47
LED Red	100% LED đỏ (R)	2,29	24,73	45,40	6,46
LED Blue	100% LED xanh (B)	2,49	29,71	55,33	3,26
LED BR	BR =1:4	2,87	24,73	51,60	4,67
LED BRW1	BRW=1:4:2	3,10	24,83	50,40	4,96
LED BRW2	BRW=1:5:1	3,67	25,95	64,2	6,37
LED BRW3	BRW=1:2:2	3,68	25,54	54,34	5,87

Trong nghiên cứu này, chúng tôi cũng đã tiến hành đánh giá ảnh hưởng của các loại đèn LED NN khác nhau đến hàm lượng các hợp chất có hoạt tính sinh học trong nấm ĐTHT *C. militaris* là cordycepin và adenosine. Hàm lượng hoạt chất cordycepin và adenosine trong các công thí nghiệm được tính theo mg/100 g nấm tươi. Hàm lượng cordycepin cao nhất là ở công thức LED BRW2 (64,20 mg/100 g), sau đó là ở công thức FL (60,0 mg/100 g) và thấp nhất là ở công thức LED Red (45,40 mg/100 g). Kết quả này cũng tương đồng với kết quả của Yi và đồng tác giả (2014), cho biết hàm lượng cordycepin của nấm *C. militaris* khi nuôi trồng dưới ánh sáng đèn LED kết hợp (đỏ: xanh: đỏ xa=6:3:1) cao hơn đáng kể so

với nuôi trồng dưới ánh sáng huỳnh quang. Hàm lượng adenosine cao nhất ở công thức đèn LED Red (6,46 mg/100 g) và được đánh giá là tương đương với công đèn huỳnh quang (6,47 mg/100 g). Trong 4 loại đèn LED kết hợp, đèn LED BRW2 cũng có hàm lượng adenosine tương đối cao (6,37 mg/100 g). Hàm lượng adenosine thấp nhất là ở công thức đèn LED Blue, tại công thức này hàm lượng adenosine là 3,26 mg/100 g. Điều đó cho thấy ánh sáng LED đỏ có tác dụng tăng tích lũy adenosine và kết quả nghiên cứu này cũng phù hợp với nghiên cứu của Dong và đồng tác giả (2012, 2013) đã cho biết ánh sáng LED đỏ phù hợp nhất cho sự lũy hàm lượng adenosine.



Hình 1. Hình ảnh của nấm đông trùng hạ thảo *C. militaris* Link khi nuôi cấy ở các điều kiện ánh sáng khác nhau (a, FL; b, LED Red; c, LED Blue; d, LED BR; e, LED BRW1; f, LED BRW2; g, LED BRW3; h, i, hình ảnh nấm quả thể sau 14 ngày nuôi cấy (h, đèn FL; i, đèn LED BRW2).

Từ những kết quả thu được nhận thấy đèn LED có nhiều ánh sáng đỏ như đèn LED Red và đèn LED BR là không phù hợp cho việc sản xuất quả thể nấm *C. militaris* trên môi trường đặc. Các loại đèn LED được phối hợp giữa ánh sáng LED đỏ đơn sắc, LED xanh đơn sắc và LED trắng ấm theo tỷ lệ phù hợp thì đã có ảnh hưởng tích cực đến hình thái và chất lượng quả thể của nấm *C. militaris*. Đèn LED phối hợp BRW2 và BRW3 có cường độ chiếu sáng tương đương nhau (tương ứng là: $45 \pm 2 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$; 511,59 Lux và $49 \pm 5 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$; 512,22 Lux) được đánh giá là những công thức đèn LED phù hợp cho việc sản xuất quả thể nấm *C. militaris*. Tuy nhiên, công thức đèn

LED BRW2 do có nhiều chỉ tiêu sinh trưởng, phát triển hoặc là vượt trội hơn hoặc là tương đương so với điều kiện ánh sáng đèn huỳnh quang nên được đánh giá là nguồn sáng có thể thay thế đèn huỳnh quang trong quá trình nuôi trồng nhân tạo nấm ĐTHT *C. militaris*. Kết quả nghiên cứu này là phù hợp với kết quả đã công bố của nhiều tác giả như Dong và đồng tác giả (2013), Yi và đồng tác giả (2014), Chiang và đồng tác giả (2017) cũng như của Chao và đồng tác giả (2019) về việc khẳng định đèn LED kết hợp giữa bước sóng LED xanh và LED đỏ theo tỷ lệ phù hợp đã có tác động tích cực đến việc sản xuất sinh khối quả thể cũng như việc tích lũy các hợp chất hoạt có

tính sinh học trong nấm *C. militaris*. Theo Yi và đồng tác giả, đèn LED kết hợp giữa LED đỏ + LED đỏ xa + LED xanh theo tỷ lệ 6:1:3 và 4:4:3 được đánh giá là nguồn ánh sáng tốt nhất cho quá trình sản xuất quả thể nấm *C. militaris* (Yi et al., 2014). Chao và đồng tác giả lại cho biết đèn LED kết hợp giữa LED đỏ và LED xanh theo tỷ lệ 8:1 ở cường độ chiếu sáng 100 Lux có tác dụng làm tăng sinh khối quả thể và tăng tích lũy hoạt chất cordycepin, ở cường độ chiếu sáng 300 Lux lại làm tăng hàm lượng manitol, còn ở cường độ chiếu sáng 500 - 1000 Lux lại làm tăng hàm lượng adenosine và polysaccharides. Đèn LED BRW2 được tạo ra từ sự kết hợp giữa LED đỏ đơn sắc có bước sóng 630 nm và LED xanh đơn sắc có bước sóng 450 nm, nên cũng khá tương đồng với các loại đèn LED sử dụng trong nghiên cứu của những tác giả trên. Tuy trong đèn LED BRW2 không sử dụng LED đỏ xa có bước sóng 660 - 730 nm như trong đèn LED của Yi và đồng tác giả, nhưng vùng phổ thiếu hụt này đã được bù lại bằng cách sử dụng LED trắng ấm (W) vì LED trắng ấm có dải phổ rộng bao gồm cả dải phổ ánh sáng đỏ, đỏ xa cho đến 730 nm. Hơn nữa đèn LED này có cường độ chiếu sáng là khoảng 500 Lux nên rất phù hợp cho việc sản xuất nấm đông trùng hạ thảo *C. militaris* như nhiều tác giả đã công bố. Do đèn LED BRW2 có công suất là 9 W, nên khi sử dụng để chiếu sáng trong nuôi trồng nấm đông trùng hạ thảo *C. militaris* sẽ tiết kiệm được ít nhất khoảng 50% chi phí điện năng so với đèn Huỳnh quang T5 (công suất 36-40 W) hoặc đèn Compact (công suất 20 W) nhờ đó sẽ giảm được chi phí sản xuất và các sản phẩm thương mại từ nấm *C. militaris* sẽ được giảm giá đáp ứng nhu cầu tiêu dùng của thị trường.

KẾT LUẬN

Các kết quả nghiên cứu đã chỉ ra rằng ở các điều kiện chiếu sáng bằng đèn LED NN khác nhau có ảnh hưởng đáng kể đến sự sinh trưởng, phát triển của nấm đông trùng hạ thảo *in vitro*. Ánh sáng LED NN có tác dụng kích thích sự hình thành mầm quả thể của nấm đông trùng hạ thảo nhanh hơn từ 1-2 ngày so với ánh sáng huỳnh quang. Trong điều kiện chiếu sáng bằng đèn LED kết hợp giữa ánh sáng LED xanh đơn sắc (B), đỏ đơn sắc (R) và LED trắng ấm (W) theo tỷ lệ BRW 2=1:5:1, có cường độ sáng là $45 \pm 2 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ (tương ứng với 511,59 Lux), quả thể nấm đông trùng hạ thảo *C. militaris* phát triển tốt nhất với chiều cao là 5,79 cm, khối lượng tươi là 3,67 g/20 cây, hàm lượng cordycepin là 64,2 mg/100 g nấm tươi và hàm lượng adenosine là 6,37 mg/100 g nấm tươi. Điều đó cho thấy đèn LED BRW2 với các chỉ số như trên có thể sử dụng để thay

thế đèn huỳnh quang T5 trong quá trình nuôi cấy nhân tạo nấm đông trùng hạ thảo *C. militaris*.

Lời cảm ơn: Tập thể tác giả xin chân thành cảm ơn đề tài “Nghiên cứu ảnh hưởng của ánh sáng LED NN đến sinh trưởng, phát triển của nấm đông trùng hạ thảo *Cordyceps militaris*” mã số HTD.CS.03/18 và đề tài “Nghiên cứu phát triển công nghệ chiếu sáng LED phục vụ nông nghiệp Tây Nguyên”, mã số TN3/C09 thuộc chương trình Tây Nguyên 3 đã cung cấp kinh phí, thiết bị, vật liệu để thực hiện nghiên cứu.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Bian ZH, Yang QC, Liu WK (2015) Effect so flight quality on the accumulation of phytochemic alsin vegetables produced in controlled environments: A review. *J Sci Food Agricult* 95: 869-877.

Chao SC, Chang SL, Lo HC, Hsu WK, Lin YT, and Hsu TH (2019) Enhanced Production of Fruiting Body and Bioactive Ingredients of *Cordyceps militaris* with LED Light Illumination Optimization. *J Agricult Sci Technol* 21(2): 451-462

Chiang SS, Liang ZC, Wang YC, Liang CH (2017) Effect of light-emitting diodes on the production of cordycepin, mannitol and adenosine in solid-state fermented rice by *Cordyceps militaris*. *J Food Composit Anal* 60: 51-56

conditions for the mycelial growth and exobiopolymer production by *Cordyceps militaris*. *Lett Appl Microbiol* 32: 1-6.

Đái Duy Ban, Lưu Tham Mưu (2018) *Đông trùng hạ thảo một dược liệu quý hỗ trợ điều trị các bệnh virus, ung thư, HIV/AIDS, đái tháo đường, suy giảm tình dục... và nghiên cứu phát hiện loài đông trùng hạ thảo mới ở Việt Nam*. Nhà xuất bản Y học Hà Nội.

Dong JZ, Liu MR, Lei C, Zheng XJ, Wang Y (2012) Effects of Selenium and Light Wavelengths on Liquid Culture of *Cordyceps militaris* Link. *Appl Biochem Biotechnol* 166: 2030-2036.

Dong JZ, Lei C, Zheng XJ, Xun RA, Wang Y, Wang Q (2013) Light wavelengths regulate growth and active components of cordyceps militaris fruit bodies. *J Food Biochem* 37: 578-584.

Dương Tấn Nhựt, Nguyễn Bá Nam (2014) Đèn LED (Light - Emitting Diode) - Nguồn sáng nhân tạo trong nuôi cấy mô tế bào thực vật. *Tạp chí Công nghệ Sinh học* 12(3): 393-407

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

<http://elib.dostquangtri.gov.vn/ttudqt/Article.aspx?TabID=171>

- Li SP, Yang FQ, Tsim KW (2006) Quality control of *Cordyceps sinensis*, a valued traditional Chinese medicine. *J Pharmaceut Biomed Anal* 41:1571-1584.
- Nguyễn Thị Thanh Mai, Trần Bảo Trâm, Trương Thị Chiên, Nguyễn Thị Hiền, Nguyễn Thị Phương Trang, Mai Thị Đàm Linh (2017) Đặc điểm sinh học, giá trị dược liệu và các phương pháp nuôi trồng nấm đông trùng hạ thảo *Cordyceps militaris*. Báo cáo Khoa học về sinh thái và tài nguyên sinh vật – Hội nghị Khoa học Toàn quốc lần thứ 7 (ISBN: 978-604-913-615-3): 1720-1730.
- Park JP, Kim SW, Hwang HJ, Yun JW (2001) Optimization of submerged culture conditions for the mycelial growth and exo-biopolymer production by *Cordyceps militaris*. *Lett Appl Microbiol* 33: 76- 81.
- Phạm Thị Lan, Đỗ Hải Lan, Nguyễn Thị Hồng Hạnh, Bạc Thị Thu, Phạm Văn Nhã (2016) Nghiên cứu ảnh hưởng của nhiệt độ và ánh sáng tới sinh trưởng, phát triển và hàm lượng hoạt chất cordycepin của nấm *Cordyceps militaris* NBRC 100741 trên nhộng tằm. *Tap chí Khoa học ĐHQGHN: Khoa học Y Dược* 32 (2): 63-72.
- Sato H, Shimazu M (2002) Stromata production for *Cordyceps militaris* (Clavicipitales: Clavicipitaceae) by injection of hyphal bodies to alternative host insects. *Appl Entomol Zool* 37: 85-92.
- Suulmee S, Sungwon L, Jeonghak K, Sunhee M, Seungjeong L, Chong KL, Kyunghae C, Nam JH, Kyungjae K (2009) Cordycepin Suppresses Expression of Diabetes Regulating Genes by Inhibition of Lipopolysaccharide-induced Inflammation in Macrophages. *Immune Network* 9 (3): 98-105.
- Shonkor KD, Mina M, Akihiko S, Mikio S (2010) Medicinal uses of the mushroom *Cordyceps militaris*: current state and prospects. *Fitoterapia*. 81: 961-968.
- Sung JM, Choi YS, Lee HK (1999) Production of fruiting body using cultures of entomopathogenic fungal species. *Korean J Mycol* 27:15-19.
- Yang T, Dong CH (2014) Photo morphogenesis and photo response of the blue-light receptor gene *Cmwc-1* in different strains of *Cordyceps militaris*. *FEMS Microbiol Lett* 352 (2): 190-197.
- Yi ZL, Huang WF, Ren Y, Onac E, Zhou Gf, Peng S, Wang XJ, Li HH (2014) LED lights increase bioactive substances at low energy costs in culturing fruiting bodies of *Cordyceps militaris*. *Sentia Horticult* 175: 139-143.

EVALUATION OF THE EFFECTS OF AGRICULTURAL LED LIGHTING ON INVITRO PROPAGATION OF *Cordyceps militaris* (Link.) Fries

Do Thi Gam¹, Duong Huong Quynh¹, Phan Thi Lan Anh¹, Nguyen Hoang Duong¹, Chu Thi Hoa¹, Do Thi Kim Hoa²

¹Center for High Technology Development, Vietnam Academy of Science and Technology

²Y-Med Pharmaceutical Co., Ltd.

SUMMARY

In this study, the effects of various agricultural LED lights (LED NN), including single red LED (R), single blue LED (B), and four combinations of blue, red, and warm white (W) LED (BR, BRW1, BRW2, BRW3) on the growth and development of *C. militaris* (Link.) Fries were evaluated *in vitro*. After 7 days, samples subjected to LED NN showed shorter sporocarp sprouting time and higher sprouting ratio than the control, which was subjected to T5 fluorescent light. After 2 months, LED lights with high red ratio, such as single red LED and LED BR, had suppressing effect on the growth and development of *C. militaris* (Link.) Fries. On the other hand, combinations of red, blue, and warm white such as LED BRW1, LED BRW2, and LED BRW3 had the positive impact on the growth and development of this fungus. Notably, samples subjected to LED BRW2 reached 5.79 cm in height, fresh biomass of 3.67 g/20 samples. Cordycepin and Adenosine levels were 64.2 and 6.37 mg/100 g fresh mass, respectively. All of studied indicators were the higher compared to those of the control and other LED lighting schemes. Therefore, it can be concluded that LED lighting combination with BRW2 ratio of 1:5:1 and luminous intensity of $45 \pm 2 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ (511,59 Lux) was suitable for the growth and development of *C. militaris* (Link.) Fries and a potential replacement of fluorescent light for *C. militaris* (Link.) Fries *in vitro* propagation.

Keywords: adenosine, *Cordyceps militaris* (Link.) Fries, cordycepin, LED lighting, fruiting body