

PHÁT HIỆN NẤM NHỘNG TRÙNG THẢO *CORDYCEPS MILITARIS* (L.:FR.)LINK. TẠI VƯỜN QUỐC GIA HOÀNG LIÊN TỈNH LÀO CAI

Phạm Quang Thu¹, Nguyễn Mạnh Hà²

TÓM TẮT

Nấm Nhộng trùng hạ thảo *Cordyceps militaris* (L.:Fr.) Link. lần đầu tiên được phát hiện và mô tả ở Việt Nam. Loài nấm này phân bố ở rừng tự nhiên có độ cao từ 1900 - 2100 m so với mực nước biển. Ký chủ của loài nấm này là nhộng thuộc bộ Cánh vẩy Lepidoptera. Nấm dài 2 - 6,5 cm, hình chùy, phần chân và cuống nhỏ phần đầu (phần sinh sản) phình to, có chiều rộng đến 0,6 cm. Màu sắc của phần cuống nấm và phần sinh sản khác nhau, phần cuống nấm nhẵn có màu da cam nhạt, phần sinh sản có màu da cam đậm và có nhiều mụn nhỏ. Thể quả dạng chai được gắn rất lỏng lẻo trên bề mặt hoặc cắm sâu một phần vào mô của nấm ở phần sinh sản. Túi bào tử có kích thước 300 - 510 μ x 3,5 - 5 μ , phần mũ gắn trên túi thể quả có kích thước 3,5 - 5 μ . Bào tử túi dài dạng sợi chỉ và đứt thành các đoạn bào tử hình trứng dài, có kích thước 2 - 4,5 x 1 - 1,5 μ . Nhộng trùng hạ thảo được coi là một dược liệu truyền thống của Trung Quốc và chữa trị được nhiều bệnh nan y như bệnh phổi, đường hô hấp, bệnh về gan, thận và tim, mạch, dùng cho những bệnh nhân rối loạn miễn dịch và hỗ trợ điều trị ung thư.

Từ khóa: *Cordyceps militaris* (L.:Fr.)Link., dược liệu, Lepidoptera, rừng tự nhiên.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Khi nói đến Đông trùng hạ thảo, trước đây rất nhiều người chỉ nghĩ tới loài *Cordyceps sinensis* (Berk.) Sacc một dược liệu quý hiếm, là loài nấm thuộc lớp nấm Túi Ascomycetes ký sinh sâu non của trên 40 loài thuộc giống *Hepialus*, bộ Cánh vẩy Lepidoptera, nhưng thường gặp nhất là nấm ký sinh trên sâu non thuộc loài *Hepialus armoricanus*. Nấm “Đông trùng hạ thảo” xuất phát từ quá trình sinh trưởng và phát triển của nấm, mùa đông nấm ký sinh còn trùng, mùa hạ hình thành thể quả. Loài nấm này chỉ được phát hiện trên các cao nguyên đồng cỏ của dãy núi Himalaya có độ cao so với mực nước biển từ 3.500 đến 5.000 m, là loại dược liệu quý. Đến nay, có khoảng trên 400 loài nấm thuộc chi *Cordyceps* đã được phát hiện và mô tả (Gi-Ho Sung et.al., 2007). Một loài nấm khác được người Trung Quốc gọi là Nhộng trùng thảo, có tên khoa học là *Cordyceps militaris* (L.:Fr.) Link. Nấm ký sinh nhộng của một số loài sâu thuộc bộ Cánh vẩy Lepidoptera và cũng tồn tại ở dạng hệ sợi trong mùa đông trong nhộng, đến mùa hè nấm hình thành thể quả. Nghiên cứu về thành phần hóa học và những thử nghiệm trên lâm sàng, nấm Nhộng trùng thảo có giá trị dược liệu không kém so với loài nấm Đông trùng hạ thảo. Trong quá trình điều tra thu thập mẫu nấm Đông

trùng hạ thảo ở Việt Nam, đã thu được mẫu nấm Nhộng trùng thảo *Cordyceps militaris* tại Vườn Quốc gia (VQG) Hoàng Liên, Lào Cai. Bài viết mô tả đặc điểm hình thái, giải phẫu, đặc điểm phân bố và kết quả phân lập hệ sợi phục vụ cho nghiên cứu nuôi trồng thể quả của các chủng nấm Nhộng trùng thảo có ở Việt Nam.

II. NỘI DUNG, PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Nội dung

Nghiên cứu đặc điểm hình thái, giải phẫu và giám định đến loài mẫu nấm thu được.

Đặc điểm phân bố, ký chủ.

Phân lập và đặc điểm của hệ sợi trong nuôi cấy thuần khiết.

Giá trị sử dụng và dược liệu của nấm *Cordyceps militaris*.

2. Phương pháp

Điều tra phân bố và thu mẫu nấm ở rừng tự nhiên thuộc VQG Hoàng Liên, tỉnh Lào Cai được thực hiện theo tuyến điều tra. Tuyến điều tra thiết kế đi men theo suối và dọc theo suối cạn từ dưới thấp lên đến vùng thượng nguồn. Trên tuyến điều tra cứ 20 m đặt 1 điểm điều tra có các đặc trưng về tiểu khí hậu khác nhau, tại đây điều tra kỹ phía dưới thân cây đổ, dưới lớp lá mục và các khoảng đất trống trong rừng. Phát hiện được mẫu nấm tiến hành mô tả về

¹ PGS. TS. Viện Khoa học Lâm nghiệp, ² Viện KH Lâm nghiệp

đặc điểm của điểm điều tra; hình thái của nấm, đào thu mẫu nấm kể cả côn trùng bị ký sinh còn dính với cây nấm. Mẫu được bọc trong giấy khô và đưa về phòng thí nghiệm nghiên cứu đặc điểm giải phẫu, bào tử và phân lập thuần khiết nấm. Giám định mẫu dựa trên đặc điểm hình thái, giải phẫu, đối chiếu, so sánh với chuyên khảo về *Cordyceps* của Gi-Ho Sung *et al.* (2007), Yosio Kobayasi (1982), Sung Jae Mo (2000) và Mao X. L. (2000).

Đặc điểm phân bố: Dựa trên mô tả của phiếu điều tra.

Phân lập và đặc điểm của hệ sợi trong nuôi cấy thuần khiết: Phân lập nấm được thực hiện trên môi

trường PDA (Khoai tây, d-glucosa, thạch) bằng phương pháp nuôi cấy mô nấm và húng bào tử hữu tính phóng ra từ thể quả trên môi trường thạch nước. Khi bào tử này mầm cấy chuyển sang môi trường dinh dưỡng PDA.

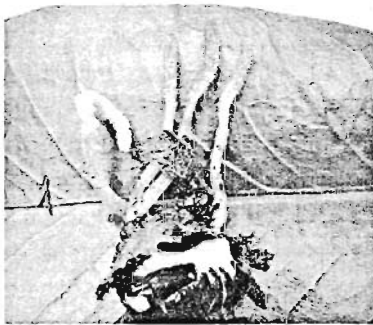
Giá trị dược liệu của nấm trên cơ sở tổng quan tài liệu của các tác giả Mao X. L (2000), Nan J. X. *et al.* (2001), Yoo H.S. *et al.* (2004) và các công trình nghiên cứu khác.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

1. Đặc điểm hình thái, giải phẫu và giám định đến loài mẫu nấm thu được



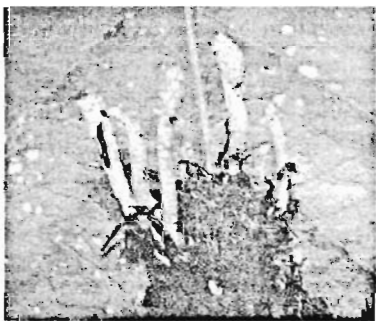
Hình 1: mẫu HL1



Hình 2: mẫu HL35



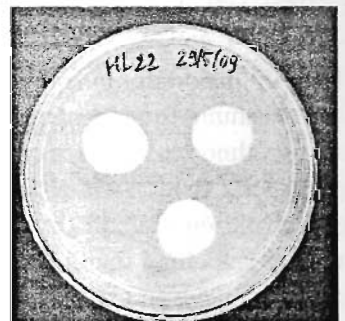
Hình 3: mẫu HL22



Hình 4: mẫu HL34



Hình 5: mẫu HL2



Hình 6: hệ sợi nấm (HL22)

Tại rừng tự nhiên của VQG Hoàng Liên đã thu được 5 mẫu nấm Nhộng trùng hạ thảo, được ký hiệu HL1, HL2, HL22, HL34 và HL35. Hiện nay các mẫu này đang được lưu giữ tại Phòng nghiên cứu bảo vệ thực vật rừng, Viện Khoa học Lâm nghiệp Việt Nam. Tất cả các mẫu nấm thu được đều có màu vàng da cam và ký sinh trên nhộng của bộ Cánh vẩy Lepidoptera. Nấm dài 2 - 8 cm, hình chùy, phần chân và cuống nhỏ được mọc lên từ thân hoặc đầu của nhộng; phần đầu (phần sinh sản) phình to, có chiều rộng đến 0,5 cm. Màu sắc của phần cuống nấm và phần sinh sản khác nhau. Phần cuống nấm nhẵn có màu da cam nhạt, phần sinh sản có màu da cam đậm và có nhiều mụn nhỏ. Thể quả dạng chai (perithecia)

được gắn rất lỏng lẻo trên bề mặt hoặc cắm sâu một phần vào mô của nấm ở phần sinh sản. Túi bào tử (asci) có kích thước $300 - 500 \mu \times 3 - 5 \mu$; phần mũ gắn trên túi thể quả có kích thước $3,5 - 5,0 \mu$. Bào tử túi (ascospores) dài dạng sợi chỉ và đứt thành các đoạn bào tử hình trứng dài, có kích thước $2,0 - 4,1 \times 1,0 - 1,5 \mu$. Trong điều kiện độ che phủ của rừng lớn > 80%, nấm mọc dài, cuống nấm có màu vàng nhạt và chậm hình thành thể quả dạng chai trên phần sinh sản (Hình 1, Hình 2). Trong điều kiện độ che phủ của rừng thấp hơn, khoảng 70%, có nhiều ánh sáng tán xạ chiếu trên đất rừng, cuống nấm to, ngắn và phần sinh sản phình to chứa rất nhiều mụn nhỏ đó là thể quả hình chai chứa túi bào tử (Hình 3, 4, 5). Hệ

sợi nấm được phân lập trực tiếp từ mô nấm ở phần sinh sản hoặc phân lập từ bào tử hữu tính. Hệ sợi nấm có màu trắng đục, khi già sợi nấm chuyển màu hơi vàng; sợi nấm mọc dày và bông trên bề mặt môi trường dinh dưỡng PDA (Hình 6).

Căn cứ vào đặc điểm mô tả ở trên loài nấm thu được được xác định là loài *Cordyceps militaris* (L.: Fr.) Link., thuộc họ *Clavicipitaceae*, bộ *Hypocrales*, lớp *Sordariomycetes*, ngành phụ nấm túi *Ascomycota*.

2. Đặc điểm phân bố và ký chủ của nấm *Cordyceps militaris* (L.:Fr.) Link.

Nấm *Cordyceps militaris* (L.: Fr.) Link. phân bố trong rừng tự nhiên ở độ cao trên 1900 m so với mực nước biển, không tìm thấy mẫu nào ở độ cao trên 2100 m. Đây là một loài nấm ưa ẩm, phân bố dọc theo khe cạn, nấm hình thành thể quả trong điều kiện có ánh sáng tán xạ yếu, độ tàn che thích hợp từ 0,7 đến 0,8. Tổ thành thực vật chủ yếu là các loài thuộc họ Sồi, Dẻ (thuộc họ *Fagaceae*), các loài Đỗ quyên (thuộc họ *Ericaceae*), Hồi núi và có Sặt gai mọc rải rác với các loài cây gỗ. Nhộng trùng thảo trong thiên nhiên phát triển trên nhộng tằm (*Bombyx mori*) và trên nhiều loại côn trùng khác: *Leucodonta bicoloria*, *Semidonta biloba*, *Notodonta olembowskii*, *Phalera assimilis*, *P. bucephala*, *Smerinthus planus*, *Clanis deucalin*, *C. bilineata*, *Antheraeu perayi*, *Thosea sinensis*, *Biston marginata*, *Dendrolimus letipennis*, *Dendrolimus punctatu*, *Ostrinia farnacalis*, *Holotricha serobiculata*, *Oxyetonia jucunde*, *Tipula paludosa*.

3. Phân lập và đặc điểm của hệ sợi trong nuôi cấy thuần khiết

Phân lập nấm được tiến hành tại phòng thí nghiệm Phòng Nghiên cứu bảo vệ thực vật rừng, Viện Khoa học Lâm nghiệp Việt Nam với môi trường PDA. Thể quả nấm được cắt gọt vô trùng lớp vỏ ngoài. Cắt thịt nấm thành từng miếng nhỏ với kích thước 1 x 1 mm, đặt trực tiếp trên môi trường dinh dưỡng, băng kín đặt trong tủ định ôn với nhiệt độ 25°C. Sau 4-5 ngày từ trên mô nấm bắt đầu xuất hiện sợi nấm màu trắng xám. Tách và cấy vô trùng trên môi trường dinh dưỡng mới.

Sợi nấm ban đầu màu trắng xám sau đó chuyển thành màu xám vàng, sợi nấm bông xốp và hơi ngắn và mọc bám chặt trên bề mặt thạch. Sinh trưởng của hệ sợi nấm trên môi trường dinh dưỡng khác nhau là khác nhau. Sinh trưởng của hệ sợi nấm trên môi trường PDA (khoai tây, đường d-glucosa, thạch) chỉ đạt 52,1 µ/giờ.

4. Giá trị dược liệu của nấm *Cordyceps militaris*

Hợp chất cordycepin là một hợp chất quan trọng, quyết định phẩm chất, chất lượng của nấm Đông trùng hạ thảo và Nhộng trùng thảo (Mina Masuda *et al.*, 2005). Cordycepin (3'- deoxyadenosine) là một dạng nucleotide có hoạt tính sinh học phổ rộng, thường được chuyển đổi thành 5'- mono, di và triphosphate, hợp chất này ức chế sự hoạt động của quá trình sinh tổng hợp mới của các tế bào ung thư. Những nghiên cứu của Trung Quốc, Hàn Quốc và Mỹ tập trung chủ yếu vào tuyển chọn và nâng cao hàm lượng cordycepin trong thể quả hoặc trong dịch nuôi cấy hệ sợi. Khi nuôi cấy hệ sợi trên môi trường lỏng, nấm đã sản sinh ra cordycepin, hàm lượng đạt 26,8 mg/lít. Nếu cung cấp đủ lượng oxy cho quá trình nuôi cấy, hàm lượng này được tăng lên nhiều từ 114,8 đến 167,5 mg/lít (Xian-Bing Mao và Jian-Jiang Zhong, 2004). Tuy nhiên sản lượng cordycepin thu được từ thể quả nấm phụ thuộc vào khối lượng theo thể tích dung môi chiết xuất, thời gian chiết xuất và nồng độ của cồn làm dung môi. Sản lượng đạt cực đại khi sử dụng cồn có nồng độ 20,21%, thời gian chiết xuất là 101,88 phút, khối lượng dung môi là 33,13 ml/gam thể quả nấm (Jiang-Feng Song *et al.*, 2007). Như vậy qua phần phân tích ở trên, hợp chất cordycepin là một hợp chất quan trọng, quyết định phẩm chất, chất lượng của nấm Nhộng trùng hạ thảo. Nấm Nhộng trùng hạ thảo được coi là một dược liệu truyền thống của Trung Quốc và chữa trị được nhiều bệnh nan y. Theo y học cổ truyền của Trung Quốc, nấm Nhộng trùng hạ thảo được dùng để điều trị thành công các chứng rối loạn lipid máu, viêm phế quản mạn, hen phế quản, viêm thận mạn tính, suy thận, rối loạn nhịp tim, cao huyết áp, viêm mũi dị ứng, viêm gan B mạn tính, ung thư phổi và thiếu năng sinh dục. Tại Viện nghiên cứu nội tiết Thượng Hải (Trung Quốc), nấm Nhộng trùng hạ thảo đã được dùng để chữa liệt dương có hiệu quả tốt. Nan J.X. và đồng tác giả (2001) chứng minh nấm Đông trùng hạ thảo *Cordyceps militaris* có hiệu quả để chữa trị bệnh rối loạn chức năng gan. Tác dụng chống ung thư được đề cập đến trong nhiều công trình nghiên cứu của các tác giả ở nhiều quốc gia trên thế giới. Dịch chiết từ thể quả *Cordyceps militaris* có tác dụng chống ung thư, hiệu quả đối với hai loại tế bào màng trong tĩnh mạch rốn là HT1080 và B16 - F10 do có khả năng chống lại sự tạo thành các mạch máu mới bằng cách giảm sự biểu hiện của bFGF, một trong

những nhân tố kích thích quá trình này. Do có vai trò kim hãm quá trình tạo thành các mạch máu mà có thể ngăn chặn được quá trình di căn và sự phát triển của tế bào ung thư (Yoo H. S *et al.*, 2004). Dịch chiết nấm Đông trùng hạ thảo có tác dụng kim hãm sự phát triển của tế bào ung thư vú, ung thư phổi (Ahn Y. J. *et al.*, 2001). Dịch chiết bằng nước ấm nấm *Cordyceps militaris* có tác dụng kim hãm sự phát triển của dòng tế bào ung thư máu ở người bằng cách gây ra hiện tượng tự chết của các tế bào thông qua sự hoạt hoá enzym caspase - 3 (Lee H. *et al.*, 2006). Thí nghiệm của Kim G. Y. và đồng tác giả (2006) cũng cho kết quả tương tự với khả năng điều trị ung thư máu của dịch chiết từ nấm *Cordyceps militaris*. Các nhà khoa học cũng đã sử dụng dịch chiết từ loài nấm này để thử nghiệm trên các dòng tế bào bình thường và các dòng tế bào ung thư. Kết quả cho thấy hai dòng tế bào K562 (tế bào ung thư máu-leukemia) và Du145 (tế bào ung thư tuyến tiền liệt-prostate carcinoma) bị ức chế mạnh bởi dịch chiết bằng dung môi butanol. Chống lão hoá, chống các chứng viêm tẩy được thể hiện trong công trình nghiên cứu của Won S. Y và Park E. H. (2005). Ahn Y. J. và đồng tác giả (2000) cho rằng nấm Nhộng trùng thảo có tác dụng chống viêm nhiễm kim hãm sự phát triển của một số virus, vi khuẩn và nấm. Ngoài ra nấm Nhộng trùng thảo *Cordyceps militaris* còn có tác dụng kim hãm sự oxy hoá của lipid, lipoprotein và lipoprotein tỷ trọng thấp (Klaunig J. E và Kamendulis L. M., 2004).

IV. KẾT LUẬN

1. Tại Vườn Quốc gia Hoàng Liên, tỉnh Lào Cai, Quá trình điều tra thu mẫu đã phát hiện loài nấm Nhộng trùng thảo và được giám định là *Cordyceps militaris* (L.:Fr.) Link. Đây là loài nấm lần đầu tiên được mô tả và ghi nhận có phân bố ở Việt Nam.

2. Nấm phân bố ở rừng tự nhiên là rộng thường xanh, với điều kiện độ che phủ trên 70%, có ánh sáng tán xạ yếu. Màu sắc và kích thước của thể quả thay đổi nhỏ theo độ che phủ của rừng. Nấm ký sinh trên nhộng của một số loài côn trùng bộ Cánh vẩy Lepidoptera.

3. Phân lập thuần khiết nấm trên môi trường PDA, sợi nấm mọc chìm sâu trong môi trường, tốc độ sinh trưởng của sợi nấm chậm trên môi trường sinh dưỡng PDA đạt 52,1 μ /giờ.

4. Nhộng trùng thảo *Cordyceps militaris* (L.:Fr.) Link. là loài nấm có giá trị dược liệu và được dùng

thay thế đối với loài nấm Đông trùng hạ thảo *Cordyceps sinensis* (Berk.) Sacc.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

(1) Ahn Y. J., Park 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.*, 48:2744-2748.

(2) Gi-Ho Sung, Nigel L. Hywel-Jones, Jae-Mo Sung, J. Jennifer Luangsa-ard, Bhushan Shrestha and Joseph W. Spatafora, 2007. Phylogenetic classification of *Cordyceps* and the clavicipitaceous fungi. *Studies in Mycology* 57: 5-59.

(3) Jiang-Feng Song, Chun-Quan Liu, Da-Jing Li and Bang-Quan Jin, 2007. Optimization of cordycepin extraction from cultured *Cordyceps militaris* by HPLC-DAD coupled with uniform design. *J. Chem. Technol. Biotechnol.* 82:1122-1126.

(4) John Holliday and Matt Cleaver, 2008. Medicinal value of the Caterpillar Fungi Species of the genus *Cordyceps* (Fr.) Link. (Ascomycetes). A Review. *International Journal of Medicinal Mushrooms*, 10(3):219-234 (2008).

(5) Lee H., Kim Y. J., Kim H. W., Lee D. H., Sung M. K., Park T., 2006. Induction of apoptosis by *Cordyceps militaris* through activation of caspase-3 in leukemia HL-60 cells. *Biol. Pharm. Bull.* 29: 670-674.

(6) Mao X. L. (2000). The macrofungi in China. Henan Technical and Science Publication House.

(7) Mina Masuda, Eriko Urabe, Akihiko Sakurai, Mikio Sakakibara, 2005. Production of cordycepin by surface culture using the medicinal mushroom *Cordyceps militaris*. *Enzyme Microbial Technol.* 39 (2006) 641-646.

(8) Nan J. X., Park 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.* 24:327-332.

(9) Schwantes, O. und Salttler, P. W. (1971). Methode zur messung der Wachstumsgeschwindigkeit von Pilzmycelien. *Oberhess. Naturwiss, Zeitschr*, 38, pp. 5-18.

(10) Sung Jae Mo, 2000. Insect-born fungus of Korea, Kangwon National Univ., Korea.

- (11) Won S. Y. and Park E. H., 2005. Anti-inflammatory and related pharmacological activities of cultured mycelia and fruiting bodies of *Cordyceps militaris*. *J. Ethnopharmacol.* 96: 555- 561...

NEW RECORD OF *CORDYCEPS MILITARIS* (L. : FR.) LINK.
IN HOANG LIEN NATIONAL PARK, LAO CAI PROVINCE

Pham Quang Thu, Nguyen Manh Ha

Summary

Cordyceps militaris (L.:Fr.) Link. is described and recorded for the first time in Vietnam. The fungal species is distributed in natural forest at an elevation from 1900 m to 2100 m above sea level of Hoang Lien National Park, Lao Cai province. *Cordyceps militaris* is found on pupae of Lepidoptera. Stroma is 2-6.5 cm long; up to about 0.6 cm wide; club-shaped, with the top wider than the base; the upper portion orange and pimply, the lower portion smooth and orange to pale orange. Perithecia embedded in a layer of loosely interwoven cells; sometimes appearing half-embedded or superficial. Asci 300-510 x 3.5-5 μ , with caps 3.5-5 μ thick. Spores segmented and threadlike; breaking into elliptical segments 2-4.5 x 1-1.5 μ . In traditional Chinese medicine, *Cordyceps militaris* has been used to treat conditions including respiration and pulmonary diseases; renal, liver, and cardiovascular diseases; hyposexuality; and hyperlipidemia. It is also used in the treatment of immune disorders and as an adjunct to modern cancer therapies.

Keywords: *Cordyceps militaris* (L. : Fr.) Link., *Lepidoptera*, *medicine*, *natural forest*.

Người phản biện: GS. TS. Trần Văn Mão