

PHÁT HIỆN NẤM ĐÔNG TRÙNG HẠ THẢO *CORDYCEPS TAKAOMONTANA* YAKUSHIJI VÀ KUMAZAWA Ở VIỆT NAM

Phạm Quang Thu¹, Nguyễn Mạnh Hà²

TÓM TẮT

Đông trùng hạ thảo *Cordyceps takaomontana* Yakushiji & Kumazawa lần đầu tiên được phát hiện và mô tả ở Việt Nam. Loài nấm này phân bố ở rừng nhiệt đới lá rộng thường xanh ở độ cao từ 800 - 1000 m so với mực nước biển ở Vườn Quốc gia (VQG) Ba Vì, Hà Nội và Vườn Quốc gia (VQG) Tam Đảo, Vĩnh Phúc. Nấm mọc đơn lẻ hoặc mọc thành cụm, chùm trên nhộng thuộc bộ Cánh vẩy, nấm có màu vàng chanh nhạt, cuống nấm hình trụ, kích thước chiều dài 10 - 45 mm, đường kính cuống nấm 1,5 - 2 mm. Thể quả có hình dạng bình nổi trên bề mặt của phần chóp nấm. Túi bào tử hình chùy, kích thước 1100 - 1200 x 2,4 - 3,0 μ m, phần mũ của túi bào tử có hình trứng đến gần cầu, kích thước 1,5 - 2,0 x 1,8 - 2,5 μ m. Bào tử túi dài, mảnh và dễ bị gãy thành đoạn bào tử, đoạn bào tử có kích thước 6 - 8 x 0,5 - 0,8 μ m. Giai đoạn vô tính của nấm được xác định là loài *Isaria japonica* Yasuda, với 2 tên đồng nghĩa là *Paecilomyces tenuipes* (Peck.) Samson và *Paecilomyces japonica* Ellis. Hợp chất hóa học 4-acetyl-12,13-epoxyl-9-trichothecene-3,15-diol chiết xuất từ thể quả nấm *Cordyceps takaomontana* được dùng để chữa trị các bệnh ung thư, đặc biệt là chữa trị bệnh máu trắng ở người với tế bào HL-60.

Từ khóa: Chống khối u, *Cordyceps takaomontana*, Bộ cánh vẩy, rừng lá rộng thường xanh.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cordyceps takaomontana Yakushiji & Kumazawa là một loài nấm được liệu được nuôi trồng và sử dụng lâu đời ở Hàn Quốc. Trong tự nhiên, trên cùng một ký chủ, rất dễ dàng thấy 2 dạng thể quả: Dạng thể quả chứa bào tử hữu tính (stromata) và dạng thể quả chứa bào tử vô tính (synnemata). Một hợp chất hóa học có hoạt tính sinh học có giá trị dược liệu chứa trong thể quả ở giai đoạn hữu tính của nấm *C. takaomontana* và ở giai đoạn vô tính của loài nấm này là *Isaria japonica* Yasuda là 4-acetyl-12,13-epoxyl-9-trichothecene-3,15-diol (Oh, G.S. et.al. 2001). Đây là hợp chất đang được dùng để điều trị bệnh ung thư, đặc biệt là bệnh máu trắng ở các nước trên thế giới, đặc biệt được sử dụng rộng rãi ở Hàn Quốc (Eiji Yokoyama et al., 2003). Đây là một loài nấm dược liệu quý và lần đầu tiên được mô tả và được ghi nhận phân bố có ở Việt Nam. Qua các đợt điều tra đã thu được hai mẫu Đông trùng hạ thảo được ký hiệu là BV8 tại VQG Ba Vì và mẫu TD13 tại VQG Tam Đảo. Kết quả giám định cả hai mẫu đều là Đông trùng hạ thảo *Cordyceps takaomontana*. 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 Đông trùng hạ thảo *Cordyceps takaomontana* có ở Việt Nam.

II. NỘI DUNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Nội dung

Nghiên cứu đặc điểm hình thái, giải phẫu và giám định 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 takaomontana* Yakushiji & Kumazawa.

2. Phương pháp

Điều tra phân bố và thu mẫu nấm được tiến hành ở rừng tự nhiên thuộc VQG Ba Vì, Hà Nội và VQG Tam Đảo, tỉnh Vĩnh Phúc 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 khác nhau về địa hình, loài cây và độ tàn che khác nhau. Tại các điểm 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 đặc điểm của điểm điều tra, đặc điểm hành 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).

¹ PGS. TS. Viện Khoa học Lâm nghiệp Việt Nam

² Viện Khoa học Lâm nghiệp Việt Nam

Đặc điểm phân bố của nấm được 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, đường dextroza, thạch) bằng phương pháp nuôi cấy mô nấm và hũng bào tử hữu tính phóng ra từ thể quả trên môi trường thạch nước. Khi bào tử nảy mầm cấy chuyển sang môi trường dinh dưỡng PDA.

Giá trị được liệu của nấm trên cơ sở tổng quan tài liệu của các tác giả Oh, G. S. *et. al.*, 2001 và Eiji Yokoyama *et. al.*, 2003.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

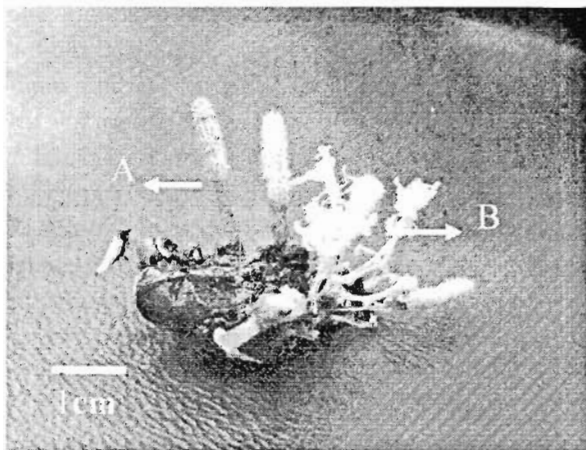
1. Đặc điểm hình thái, giải phẫu và giám định đến loài mẫu nấm thu được

Tại rừng tự nhiên lá rộng thường xanh của VQG Tam Đảo và VQG Ba Vì đã thu được 2 mẫu nấm Đông trùng hạ thảo, được ký hiệu TD13 và BV8. 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. Nấm ký sinh trên nhộng thuộc bộ Cánh vẩy (Lepidoptera). Trên cùng một ký chủ có 2 loài nấm và mang 2 loại bào tử khác nhau. Một loại nấm chứa cơ quan sinh sản của nấm ở giai đoạn hữu tính là thể quả dạng chai, bên trong có các túi bào tử, mỗi túi bào tử chứa 8 bào tử túi. Loài nấm này được xác định là *Cordyceps takaomontana* Yakushiji & Kumazawa. Một loại nấm khác mang bào tử vô tính, gồm cành mang bào tử và tế bào sinh bào tử (thể bình) và chứa rất nhiều bào tử vô tính. Loài nấm này được xác định là *Isaria japonica* Yasuda

(Hình 1 và 2).

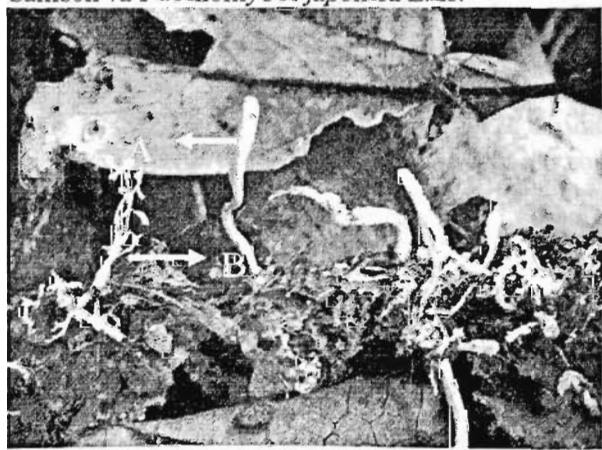
Giai đoạn hữu tính: Nấm (stromata) mọc đơn lẻ hoặc mọc thành cụm, chùm trên nhộng thuộc bộ Cánh vẩy, nấm màu vàng chanh nhạt, cuống nấm hình trụ, kích thước 10 - 45 x 1-1,5 mm. Thể quả dạng chai (perithecia) có hình dạng bình nổi trên bề mặt của phần chóp nấm (Hình 1, 2 - A). Túi bào tử hình chùy, kích thước 1100 - 1200 x 2,2-3,0 μ m, phần mũ của túi bào tử có hình trứng đến gần cầu, kích thước 2,5 x 3,0 μ m. Bào tử túi dài, mảnh và dễ bị gãy thành đoạn bào tử, đoạn bào tử có kích thước 6 - 8 x 0,5-0,8 μ m (Hình 3). Căn cứ vào đặc điểm mô tả ở trên loài nấm thu được được xác định là loài *Cordyceps takaomontana* Yakushiji & Kumazawa, thuộc họ *Clavicipitaceae*, bộ *Hypocerales*, lớp *Sordariomycetes*, ngành phụ nấm túi *Ascomycota*.

Giai đoạn vô tính: Hình thái của thể quả nấm (synnemata) bao gồm 2 phần chính: Cuống nấm và tế bào sinh bào tử vô tính (conidiogenous structures). Cuống của nấm màu vàng chanh, kích thước rất biến động tùy thuộc vào điều kiện mọc và số lượng thể quả có trên một ký chủ, thường có chiều dài từ 0,5 đến 4,5 cm. Phía trên của cuống nấm là các tế bào sinh bào tử vô tính được phân thành nhiều nhánh và căng phồng chứa đầy bào tử bụi màu trắng, khô và rất dễ rời khỏi tế bào sinh bào tử (Hình 1,2 - B). Bào tử vô tính hình hạt đậu, hơi cong ở giữa, có kích thước nhỏ 0,5 - 1,0 x 2,5 - 3,0 μ m (Hình 4). Căn cứ vào đặc điểm mô tả ở trên loài nấm thu được được xác định là loài *Isaria japonica* Yasuda, với 2 tên đồng nghĩa là *Paecilomyces tenuipes* (Peck.) Samson và *Paecilomyces japonica* Ellis.



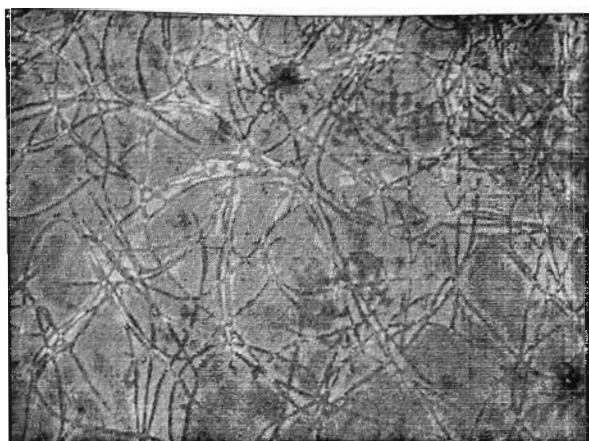
Hình 1. Mẫu BV8

(A: *Cordyceps takaomontana*, giai đoạn hữu tính)
(B: *Isaria japonica*, giai đoạn vô tính)



Hình 2. Mẫu TD13

(A: *Cordyceps takaomontana*, giai đoạn hữu tính)
(B: *Isaria japonica*, giai đoạn vô tính)



Hình 3. Bào tử túi

Đặc điểm phân bố và ký chủ của nấm *Cordyceps takaomontana* Yakushiji & Kumazawa.

Nấm *Cordyceps takaomontana* Yakushiji & Kumazawa phân bố trong rừng tự nhiên lá rộng thường xanh, ở độ cao trên 800 -1000 m so với mực nước biển. 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 (Fagaceae) và họ đậu (Fabaceae) và họ ba mảnh vỏ (Euphorbiaceae).

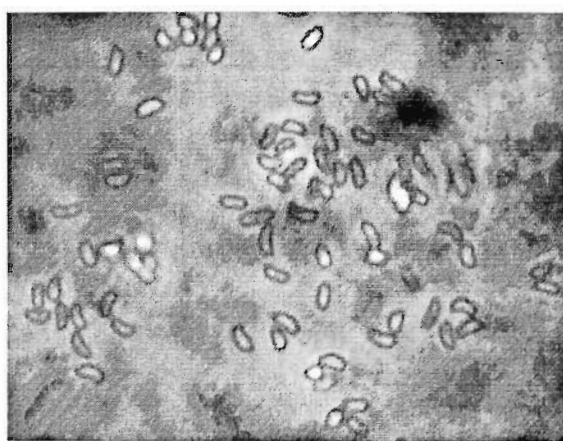
Phân lập và đặc điểm của hệ sợi trong nuôi cấy thuần khiết:

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. Cát 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, sợi nấm 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 tốt nhất trên môi trường PDA (khoai tây, đường dextroza, thạch).

Giá trị dược liệu của nấm *Cordyceps takaomontana*:

Nấm Đông trùng hạ thảo *Cordyceps takaomontana* là loài nấm có giá trị dược liệu, thành



Hình 4. Bào tử vô tính

phần hóa học có chứa hợp chất 4 - acetyl - 12,13 - epoxyl - 9-trichothecene-3,15 - diol. Đây là hợp chất đang được dùng để điều trị bệnh ung thư, đặc biệt là bệnh máu trắng.

IV. KẾT LUẬN

1. Tại Vườn Quốc gia Ba Vì, Hà Nội và Vườn quốc gia Tam Đảo, Vĩnh Phúc, thu được 2 mẫu nấm ký sinh côn trùng được ký hiệu là TD13 và BV8, được giám định là *Cordyceps takaomontana* Yakushiji & Kumazawa. Đây là loài nấm lần đầu tiên được mô tả và ghi nhận có phân bố ở Việt Nam. Cảnh mang bào tử vô tính cũng mọc trên cùng một ký chủ, giai đoạn vô tính của nấm được xác định là *Isaria japonica* Yasuda.

2. Nấm phân bố ở rừng tự nhiên lá 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 được thực hiện trên môi trường PDA. Sợi nấm mọc nhanh trên môi trường dinh dưỡng và hình thành bào tử vô tính trên bề mặt hệ sợi.

4. Nấm Đông trùng hạ thảo *Cordyceps takaomontana* là loài nấm có giá trị dược liệu, thành phần hóa học có chứa hợp chất 4- acetyl-12,13-epoxyl- 9- trichothecene-3,15- diol. Đây là hợp chất đang được dùng để điều trị bệnh ung thư, đặc biệt là bệnh máu trắng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. 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.
2. Eiji Yokoyama, Kenzo Yamagishi, and Akira Hara, 2003. Structures of the Mating-Type Loci of *Cordyceps takaomontana*. *Applied and Environmental Microbiology*, Vol. 69, No 8, p. 5019–5022.
3. Oh, G. S., K. H. Hong, H. Oh, H. O. Pae, I. K. Kim, N. Y. Kim, T. O. Kwon, M. K. Shin, and H. T. Chung, 2001. 4-Acetyl-12,13-epoxyl-9-trichothecene-3,15-diol isolated from the fruiting bodies of *Isaria japonica* Yasuda induces apoptosis of human leukemia cells (HL-60). *Biol. Pharm. Bull.* 24:785–789.
4. Sung Jae Mo, 2000. Insect-born fungus of Korea, Kangwon National Univ., Korea.
5. Yosio Kobayasi, 1982. Keys to the taxa of the genera *Cordyceps* and *Torruriella*. *Trans. Mycol. Soc. Japan* 23:329-364.

NEW RECORD OF *CORDYCEPS TAKAOMONTANA* YAKUSHIJI & KUMAZAWA IN VIETNAM

Pham Quang Thu, Nguyen Manh Ha

Summary

Cordyceps takaomontana Yakushiji & Kumazawa is described and recorded for the first time in Vietnam. The fungal species is distributed in evergreen tropical broadleaf rain forest at an elevation from 800 m to 1000 m above sea level of Ba Vi National Park, Hanoi city and Tam Dao National Park, Vinh Phuc province. *Stromata* single or fasciculate, lemon yellow-colored, arising from different parts of pupae of Lepidoptera. *Stipe* cylindric, 10 - 45 x 1.5-2 mm. *Perithecia* ampullaceous, superficial. *Asci* filiform, 1100-1200 x 2.4-3 µm, with a depressed-globose (1.5-2 µm high, 1.8-2.5 µm thick) to globose cap. *Ascospores* slender, breaking into thin cylindric secondary ascospores, 6-8 x 0.5-0.8 µm. *anamorph*: *Isaris japonica* Yasuda synonym *Paecilomyces tenuipes* (Peck.) Samson or *Paecilomyces japonica* Ellis. The chemical compound 4-acetyl-12,13-epoxyl-9-trichothecene-3,15-diol (AETD) extracted from the fruiting bodies of *Cordyceps takaomontana* use for antitumors, especially treatment of human leukemia HL-60 cells.

Key words: *Antitumor*, *Cordyceps takaomontana*, *evergreen broadleaf forest*, *Lepidoptera*.

Người phản biện: GS. TS. Trần Văn Mão