

NGHIÊN CỨU SỰ PHÂN HÓA SINH ĐỊA HỌC CỦA NẤM HƯƠNG (*LENTINULA EDODES*) VÀ LOÀI MỚI BẠCH KIM HƯƠNG (*LENTINULA PLATINEDODES* SP. NOV.) PHÁT HIỆN Ở CÁT TIỀN, NAM VIỆT NAM

LÊ XUÂN THÁM, NGUYỄN NHƯ CHUÔNG

Sở Khoa học và Công nghệ Lâm Đồng

PHẠM NGỌC DƯƠNG

Vườn Quốc gia Cát Tiên

BÙI HOÀNG THIÊM

Sở Khoa học và Công nghệ Đồng Nai

Trong các đợt khảo sát về đa dạng nấm hương (Shiitake) thuộc chi *Lentinula* Earle, chúng tôi đã phát hiện nhiều chủng địa lý phân hóa đặc sắc từ vùng núi cao Sa Pa, Cao Bằng, Bắc Việt Nam, từ vùng núi cao Langbiang, Đà Lạt, Lâm Đồng và đến vùng chuyển tiếp từ cao nguyên xuống đồng bằng Vườn quốc gia (VQG) Cát Tiên, Đồng Nai, Nam Việt Nam, đã phân tích so sánh với các chủng ở Nhật Bản, Trung Quốc về hình thái và cấu trúc DNA [20]. Trong đó mới giới thiệu sơ bộ hình thái về 1 loài có tán nấm trưởng thành màu bạch kim, dự kiến là mới: *Lentinula platinedodes*, sp. nov., rất gần với loài chuẩn *Lentinula boryana* chỉ phân bố ở vùng Trung, Nam Mỹ.

Nghiên cứu của Trịnh Tam Kiệt (1981) [8] cho thấy chỉ ghi nhận một loài ở Việt Nam: *Lentinula edodes* (Berk.) Pegl. với nấm hương các vùng núi cao Bắc Việt Nam giáp giới với Trung Quốc, nhất là vùng Cao Bằng, song đã chỉ ra một số nét phân hóa đặc biệt: bao chung dạng bột dễ tan biến, hệ sợi không thuần nhất. Sau này, chúng tôi cũng nhấn mạnh thêm và chủng Sa Pa có nhiều đặc điểm phân hóa gần với loài *Lentinula lateritia* hơn là *L. edodes* và đề nghị là một thứ địa lý mới [20].

Trong công trình này chúng tôi phân tích các chủng nấm hương Shiitake ở Bắc và Nam Việt Nam sâu về hình thái và phân tử, so sánh với các chủng loài mới phát hiện ở Nam Cát Tiên, trong đó xác lập cơ sở đầy đủ cho loài mới *Lentinula platinedodes* sp. nov., tiến một bước về quan hệ chủng loại phát sinh, sự phát sinh

hình thái cá thể và phân hóa sinh địa học của *Lentinula edodes* và khả năng cùng nguồn gốc của chi *Lentinula*.

I. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Chủng nấm hương

Mười chủng nấm hương thuộc chi *Lentinula*: (1). Chủng nấm hương Sa Pa (SP) nguồn gốc hoang dại, được thu thập tại huyện Sa Pa, Lào Cai khi mọc rõ vào những tháng mùa đông (3/2008, 2011) giá lạnh ($\leq 7^{\circ}\text{C}$), do người dân bản địa thu hái trong rừng cung cấp; (2). Chủng nấm hương *Lentinula edodes* nguồn gốc hoang dại ở Cao Bằng, từ Sở Khoa học & Công nghệ Cao Bằng; (3, 4). Chủng nấm hương D2 và L170 được nuôi trồng nhiều năm tại Đà Lạt, từ Viện Nấm Tottori, Nhật Bản; (5). Chủng nấm hương Vân Nam, Trung Quốc (YuC) do Lê Xuân Thám sưu tập; (6). Chủng nấm hương ở thành phố Trường Sa, Trung Quốc (ChsC); (7). Chủng nấm hương nguyên gốc núi Langbiang, Đà Lạt thuộc *Lentinula edodes* do Trương Bình Nguyên sưu tập; (8, 9). Hai chủng thuộc loài *Lentinula lateritia* (L.1, L.1') hoang dại được thu thập tại vùng Bắc Cát Tiên (Cát Lộc, Bù Sa) và núi Langbiang, Lâm Đồng ở độ cao gần 2000 m; (10). Trong đợt khảo sát giữa mùa mưa (5-10/2008) và đầu năm (4/2009) tại tuyến Thác Trời, Nam Cát Tiên thu được mẫu của một loài rất giống với loài chuẩn *Lentinula boryana*, có thể là mới *Lentinula* sp., bao gồm 2 dạng *Lentinula* sp.2 và *Lentinula* sp.3. Các chủng loài

này hiện đang được lưu giữ tại Bảo tàng Nấm, VQG Cát Tiên và Sở Khoa học và Công nghệ, Lâm Đồng. Toàn bộ vật liệu giống nấm gốc được bảo tồn tại Bảo tàng giống chuẩn VTCC thuộc Viện Vi sinh vật và Công nghệ sinh học, Đại học quốc gia Hà Nội và Phòng Công nghệ Vi sinh ứng dụng, Sở Khoa học và Công nghệ Lâm Đồng.

2. Phân tích hình thái

Các mẫu vật sau khi phân tích, chụp ảnh được định loại trên cơ sở các tư liệu của: Pegler (1975, 1983) [14, 15], Singer (1986) [19], Hibbett và nnk. (1998) [5], Hibbett (2001) [6], Trịnh Tam Kiệt (1981) [8], Mata & Petersen (2000, 2001) [9, 10], kết hợp tra cứu và so sánh trên internet.

3. Phân lập giống nấm

PGA (Potato Glucose Agar) cải tiến là môi trường tách giống thuần khiết và khảo sát hệ sợi trên môi trường thạch có thành phần cho một lít môi trường: 200 g khoai tây, 100 g cà rốt, 1 g peptone, 100 g giá đỗ, 0,5 g KH_2PO_4 , 0,5g MgSO_4 , 15 g glucose, 15 g agar. Khoai tây, cà rốt được gọt vỏ và giá đỗ được rửa sạch đun sôi khoảng 15-20 phút, lọc lấy nước chiết, bỏ xác bã. Môi trường PGA được hấp khử trùng ở 121°C , 1 atm trong 30 phút. Môi trường cấy chuyển giống cấp hai và khảo sát hệ sợi trên môi trường hạt: 1000 g gạo lức, 600-700 ml nước, 0,5 g CaCO_3 . Gạo lức được nấu chín rồi trộn với CaCO_3 cho vào ống nghiệm và hấp khử trùng ở 120°C , 1 atm trong 60 phút.

4. Nuôi trồng ra quả thể

Mùn cưa là nguyên liệu chính được bổ sung 10% cám gạo, 10% cám bắp, 5% bột bánh dầu và 1% CaCO_3 và nước, trộn đều để độ ẩm đạt 60-70%. Sau đó 1 kg cơ chất được cho vào bịch và hấp khử trùng 120 phút ở 121°C , 1 atm và tiếp tục hấp khử trùng lần 2 sau 24 h. Giống được cấy từ môi trường hạt sang môi trường mùn cưa trong phòng sạch, kín, dưới ngọn lửa đèn cồn, ủ ở $18-25^\circ\text{C}$, không cần ánh sáng. Sau khi sợi nấm lan hết bịch mùn cưa, bịch nylon được lật bỏ và cho ra nhà trồng nấm ở nhiệt độ thích hợp $15-20^\circ\text{C}$ với độ ẩm không khí 80-90%, kín gió, bịch giống được đặt trên kệ theo chiều thẳng đứng. Các chủng nấm hương được nuôi trồng theo thứ tự: Thu hái nấm ngoài tự nhiên;

Phân lập giống thuần khiết trên môi trường PGA cải tiến; Khảo sát tốc độ lan tơ trên môi trường hạt; Khảo sát tốc độ lan tơ trên môi trường mùn cưa; Khảo sát quá trình ra quả thể.

5. Quy trình phân tích rDNA

Các bước phân tích rDNA được tiến hành theo Lê Xuân Thám và nnk. (2010) [20].

Các sản phẩm PCR tinh sạch được khuếch đại với bộ kit ABI PRISM Cycle sequencing và đệm 5x sequence (Perkin-Elmer Applied Biosystem) với hỗn hợp phản ứng.

Trình tự của ITS và D1/D2 26S rDNA của các chủng nấm được đọc trực tiếp trên máy đọc trình tự tự động 3100 Avant. Sau đó, kết quả trình tự được so sánh với các trình tự của các loài đã được xác định trong GenBank.

Cây phát sinh chủng loại được xây dựng sử dụng phần mềm ClustalX 1.83. Kết hợp với phân loại truyền thống, các mối quan hệ phát sinh tiến hóa của các taxon được thẩm định và đánh giá.

II. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

1. Phát hiện nấm bạch kim hương *Lentinula platinedodes* sp. nov. Cát Tiên

Dự kiến đây cũng là loài mới ghi nhận cho khu hệ *Lentinula* ở Việt Nam, đưa tổng số hiện biết lên 2-3 loài. Mẫu thu được ở Nam Cát Tiên bao gồm 2 dạng hình hết sức đặc sắc. Lần đầu tiên ở vùng Thác Trời nóng ẩm đầu mùa mưa nhiệt đới ($\sim 30^\circ\text{C}$), nấm hương mọc rõ, thể hiện những nét giống với *L. lateritia*, song khá phù hợp với mô tả loài chuẩn *L. boryana* ở Trung Mỹ. Nhà nấm học Earle xác định loài chuẩn *L. cubensis*, tìm thấy ở Cu Ba, Trung Mỹ, khi đó, đây là loài duy nhất cho chi mới *Lentinula* tách ra từ *Lentinus* Fr., vào năm 1909, dựa vào mẫu vật do Berkeley và Curtis xác lập: *Lentinus cubensis* Berk. & Curt. (1869). Thực ra, đó là đồng vật của một tên loài trước đó: *Agaricus boryanus* Berk. & Mont. (1849) - tức là sớm hơn 20 năm. Hơn 100 năm sau, Singer R. ở Trường Đại học Tổng hợp Vienna, Austria mới khẳng định tính ưu tiên của định ngữ loài *boryanus* và chỉnh lý là: *Lentinus boryanus* (Berk. & Mont.) Singer (1952, 1986) [18, 19]. Cũng khoảng 20 năm sau, Pegler (1975) [14] ở Vườn Thực vật

Hoàng gia Kew, Anh, mới kết hợp tính đúng đắn của Earle (1909) và Singer khi xác lập loài chuẩn: *Lentinula boryana* (Berk. & Mont.) Pegler.

Chúng tôi xin đề nghị tên tiếng Việt cho loài này là nấm Bạch kim hương (vì màu bạch kim của thể quả).



Hình 1. Dạng hình bạch kim và nâu vẩy (giống với *Lentinula edodes*) của loài mới *Lentinula platinedodes*

a. Mô tả

Dạng hình bạch kim (*Lentinula* sp.2): Dạng *boryana* - Mũ nấm có đường kính 3,5-5,5(-8) cm, chất thịt mềm, lõi đến phẳng, dẹt hay hơi lõm, có lúc lõm hơi sâu, khi trưởng thành có màu vàng bạch kim đến trắng ngà, hoặc lột màu tùy theo tuổi, có dải gân sọc hay có đốm màu nâu vàng, sáng, hơi trong mờ, nhẵn và không có lông hay chỉ có những vẩy nhỏ, không có đường khía, mép uốn cong vào, khi già hơi uốn cong lên, lượn sóng và phân thùy, mặt trên có vẩy nhỏ trắng gần mép mũ nấm, thường lượn sóng ít nhiều. Phiến nấm phẳng hoặc hơi lượn, cuối

cùng tách ra khỏi cuống, màu kem biến thành màu nâu bản, thâm lại khi chạm xước, hẹp, rộng 2-3 mm, sít nhau, phiến dài ngắn khác nhau, mép phiến viền sắc. Cuống dài 2,5-6,5 cm × 3,5-7,5 (15,5) mm, lúc đầu dính ở tâm sau đó hơi lệch tâm, thường hơi cong, đặc. Bề mặt trở nên màu trắng, ở dưới có màu hơi nâu gỉ sắt, với những sợi lông vẩy nhỏ hoặc phủ rộng, lan tỏa khắp chiều dài hoặc chỉ có một phần ở phía dưới đế chân. Bao nấm dạng vẩy, lông xơ mịn mọc dày, màu trắng, một hay nhiều vòng vẩy bao chóng tàn trên cuống rơi tróc dần ra. Lớp thịt nấm dày 2-5 mm ở trung tâm, hơi trắng, hơi

mọng nước, đôi khi có sự tạo thành keo gelatin khi chuyển kho, gom hệ sợi nam đan kết lại với nhau, có đường kính 3-8 μm , phồng lên có đường kính đến 16 μm , màng hơi dày (0,5 μm), có khóa ở vách ngăn nhỏ lên khá rõ.

Bụi bào tử màu trắng, bào tử trong suốt, 5-6 $\times$ 2-3 (5,7 $\pm$ 0,3 $\times$ 2,7 $\pm$ 0,2) μm , Q = 2,2, hình elip thon, không có amylose, màng mỏng, nội chất ít đậm đặc. Đám bào 15-17 $\times$ 3-4 μm , hẹp, hình chùy, mang 4 cuống dính bào tử. Phấn sắc cạnh, hữu thụ. Lõi tầng sinh bào tử không đen, trong suốt, ít nhiều sợi nấm giống nhau, khá đồng nhất, có đường kính 5-12 μm . Hệ sợi trong lớp tầng sinh bào tử hòa lẫn với nhau. Sợi đồng nhất (monomitic) có màng mỏng, đường kính 4-5,7 μm .

có màng mỏng, đường kính 4-5,7 μm .

Dạng hình nâu vẩy (*Lentinula* sp.3):

Dạng hình *edodes* như các dòng Đông Á (Trung Quốc, Nhật Bản...), cuống và tán thường nhiều lông vẩy, dày mập hơn ít nhiều. Cấu tạo giải phẫu hệ sợi thuần nhất (monomitic) và bào tử không khác biệt gì rõ rệt, phù hợp với phân tích của Guzman và nnk. (1997) [2] về kiểu hệ sợi của các loài *Lentinula*, *Pleurotus* và một số đại diện khác, so với *L. edodes* thì loài mới này có bào tử thuần dài hơn đôi chút. Khi non không thể phân biệt với *L. edodes*, song khi nấm già thường vàng nâu nhẹ hoặc nâu nhạt, khác biệt khá rõ.



Hình 2. Hai dạng thể qua kính hiển vi (a) và nhiều lông vẩy (b) và bào tử đồng nhất (c) - chụp dưới vật kính dầu ($\times 100$)

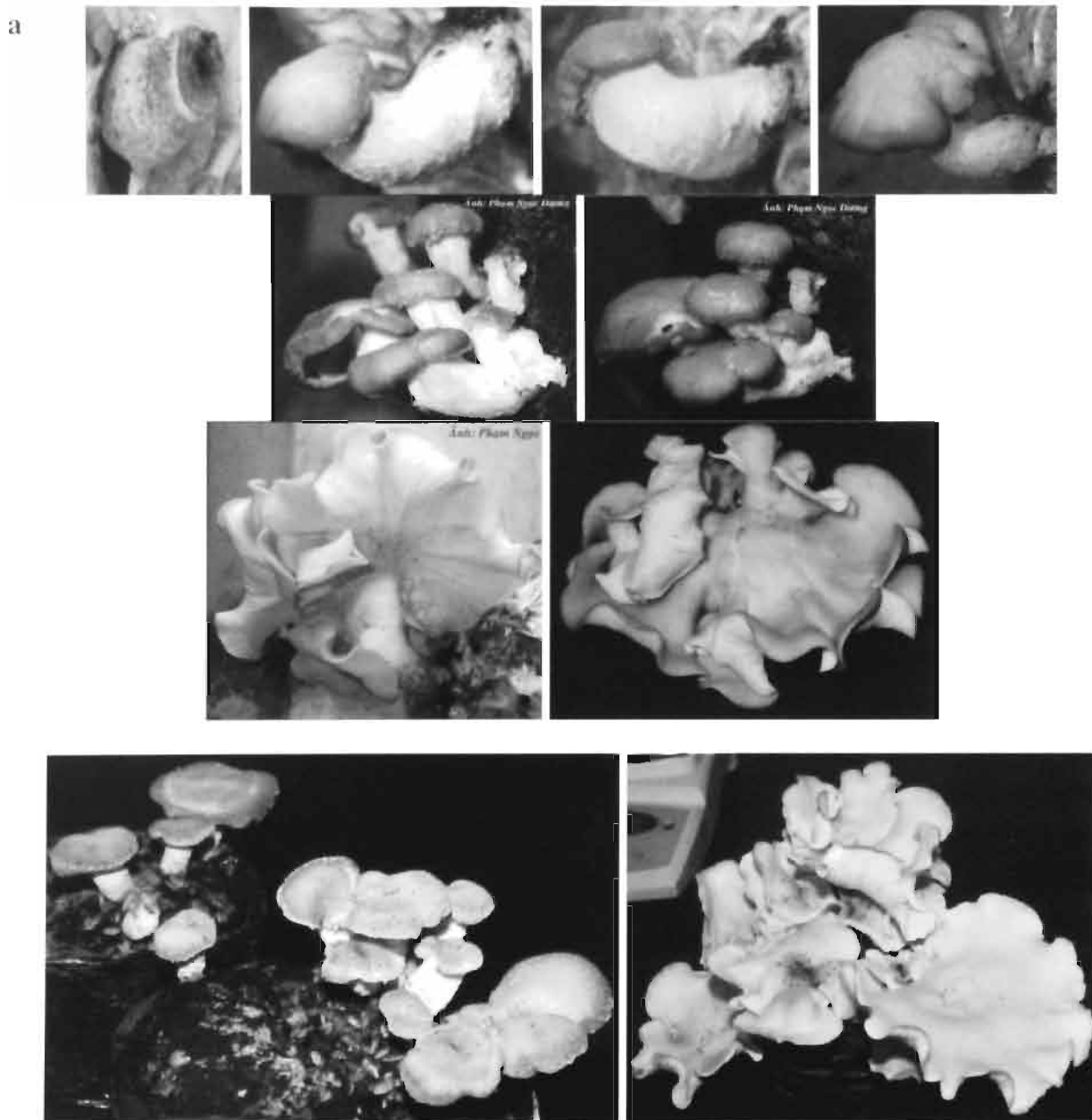
Lưu ý rằng cả 2 dạng này đều gặp mọc trên cùng một gốc cây gỗ lá rộng và phân bố trong phạm vi rất hẹp ở rừng Nam Cát Tiên.

b. Nuôi trồng

Trên cơ chất mùn cưa cao su, dạng bạch kim (*Lentinula* sp.2, hình 3a) lúc hình thành thể quả non cũng rất giống với *L. edodes*, tuy nhiên, chỉ có lông vẩy ít hơn và thường sớm rụng, khi tán xòe rộng thì hầu như nhẵn và khi già thì xòe uốn song rất mạnh, ngả nhạt màu nhanh. Lúc này dạng vàng nhạt (*Lentinula* sp.3, hình 3b) cũng chuyển hóa hình thái tương tự. Khi non rất khó

phân biệt với *L. edodes*, nhưng khi quan sát nấm lớn đến trưởng thành và lúc ngả già khó cho rằng đây là nấm hương Shiitake. Điều này cho thấy giả thiết của chúng tôi cho rằng loài mới *L. platinedodes* thực chất là dạng phân hóa sinh địa học nhiệt đới của *L. edodes*. Cũng tương tự như Pegler (1983) [15] nhận xét rằng có lẽ *L. lateritia* là dạng nhiệt đới của *L. edodes*, nghĩa là dạng nhạt màu, rụng lông vẩy sớm và trở nên nhẵn là phát sinh phân hóa thứ cấp, có thể *L. edodes* là dạng nguyên sơ hơn.

Các chủng khác được nuôi trồng và đã công bố [20].



Hình 3. Thể quả nuôi trồng tại Đà Lạt và Cát Tiên (từ 9/2010-6/2011)

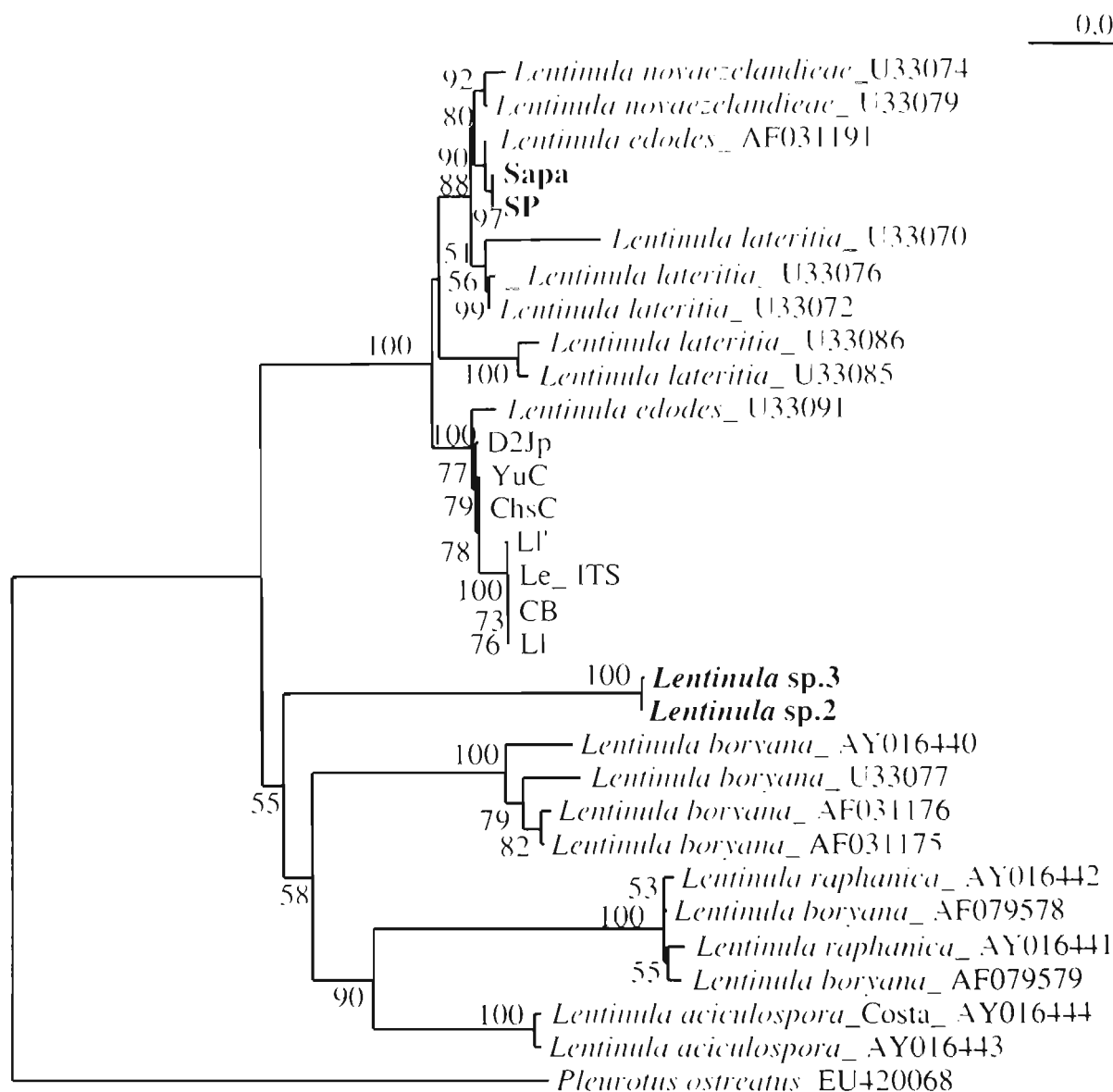
a. khi non dạng hình *L. edodes* nổi trội; b. khi lớn thể quả ngả bạch kim - *L. platinedodes*.

Như vậy, có thể cho rằng *L. edodes* là loài trung tâm, gần nhất với nhóm tổ tiên của *Lentinula*, khi phát tán sang các vùng nhiệt đới đã phân hóa mạnh, có lẽ nhánh phát tán sang châu Mỹ cũng từ *L. edodes* qua châu Âu và qua eo biển Berrhing từ hơn 34 triệu năm về trước [6]. Sự phân hóa tiếp tục đã dẫn đến sự hình thành các loài khác như *L. aciculospora*, *L. boryana* và *L. raphanica*. Điều này thể hiện khá

rõ trong phân tích tiến hóa phân tử và quan hệ chủng loại phát sinh.

c Phân tích giám định gene

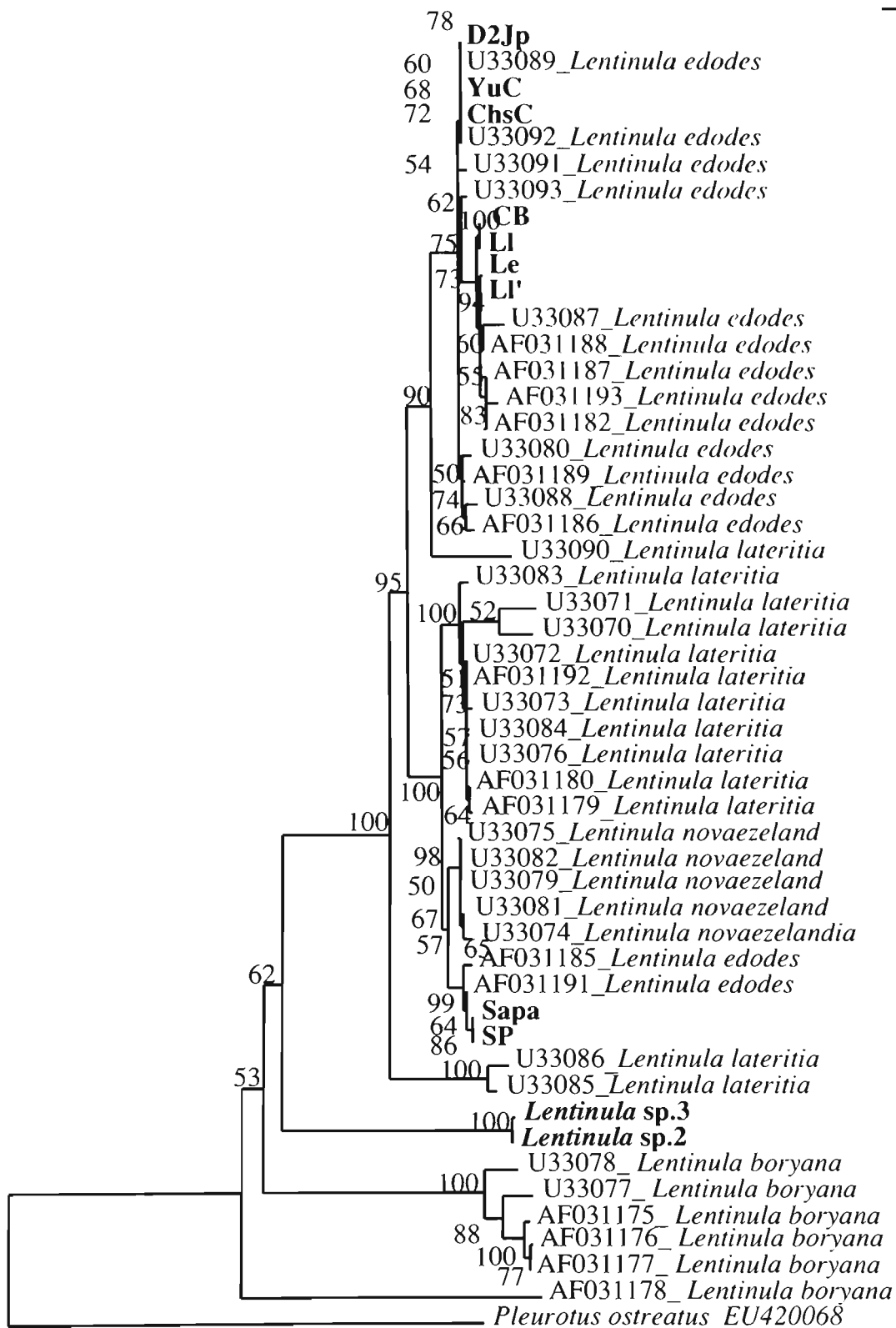
Kết quả giải trình tự rDNA cho thấy loài mới (đồng *Lentinula* sp.2 và *Lentinula* sp.3 thực chất chỉ là một, là những dạng hình thái đang phân hóa) và khá gần với các taxon ở châu Mỹ.



Hình 4. *Lentinula* sp.2, *Lentinula* sp.3 và các taxon gần cận dựa trên rDNA ITS (5.8S) (trên nền dẫn liệu của Mata & Petersen, 2001)

Điều đáng ngạc nhiên là loài mới lại rất gần với các dòng ở Tây bán cầu. Có lẽ chính vì tương đồng với sự hình thành loài mới ở Việt Nam (loài *L. platinedodes*) mà quan hệ khá gần với các dòng phân hóa ở châu Mỹ được chỉ ra khi phân tích trình tự rDNA vùng ITS và vùng D, kể cả khi so sánh quan hệ các chủng trên nền

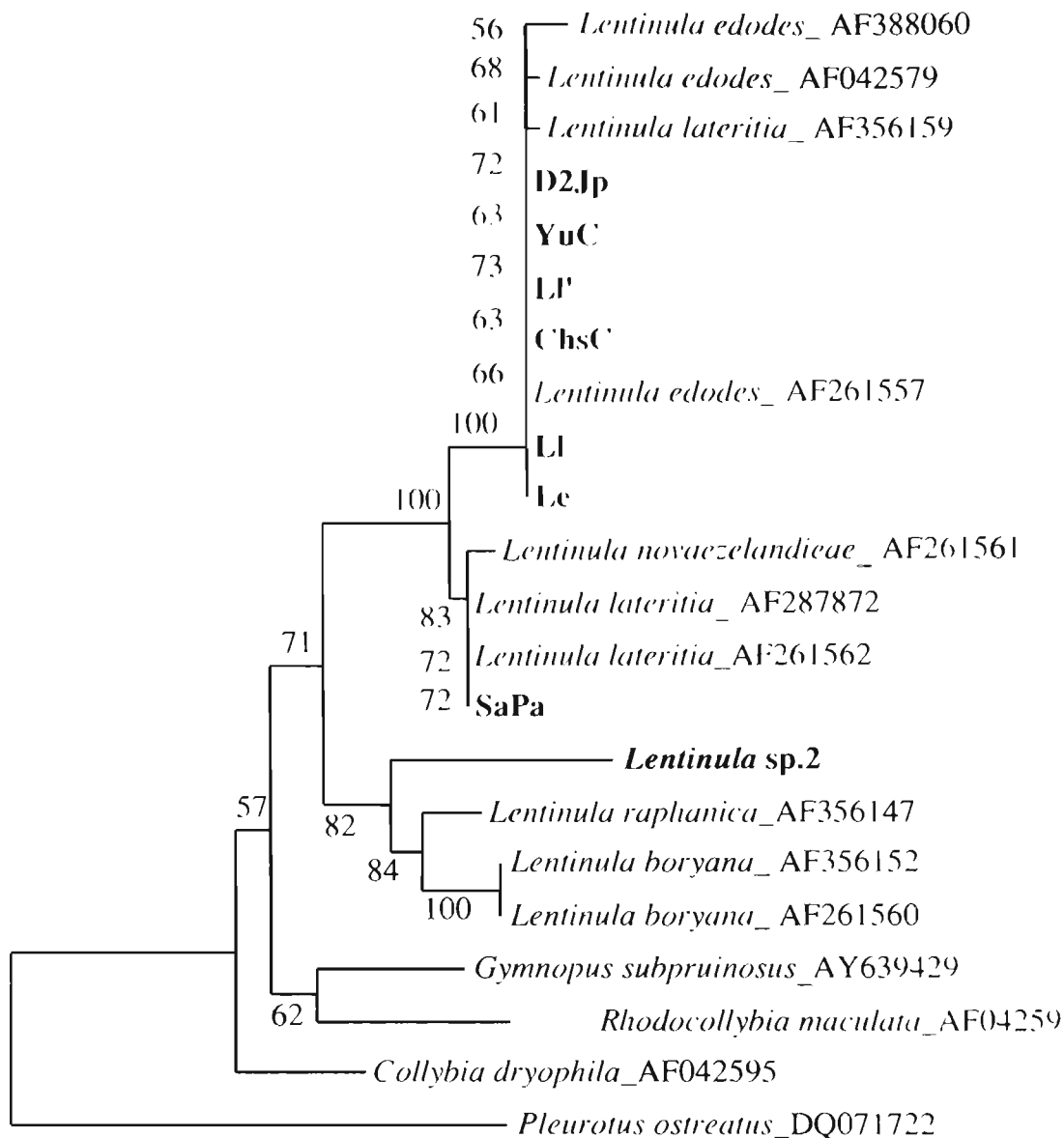
dẫn liệu của nhóm Mata & Petersen (2001) [9, 10] và nhóm Hibbett (1995, 1998) [4, 5]. Rõ ràng, loài mới ở Việt Nam như là nhánh trung gian giữa dòng (lineage) Đông bán cầu và dòng Tây bán cầu (hình 4, 5). Đây là minh chứng đầu tiên về mối quan hệ trực tiếp giữa chúng.



Hình 5. Quan hệ chủng loại phát sinh của các loài *Lentinula* sp.2, *Lentinula* sp.3 và các taxon gần cận dựa trên rDNA ITS (5.8S) - trên nền dẫn liệu của Hibbett, 1998

Các dòng D2 Nhật Bản, YuC Vân Nam và ChS Tràng Sa, Trung Quốc cùng các dòng của Việt Nam: CB, L.e, L.l và L.l' quần tụ quanh *L. edodes* thì cũng nhận thấy Shiitake Sapa (SP)

khá gần với các nhánh (clades) của *L. lateritia* hơn là với *L. edodes*. Cấu trúc vùng D cũng chỉ ra các mối quan hệ này (hình 6).



Hình 6. Quan hệ chủng loại phát sinh dựa vào trình tự rDNA 28S (vùng D1/D2)

Như vậy mối quan hệ trực tiếp giữa các dòng Đông bán cầu và Tây bán cầu đã có bằng chứng với việc bổ sung loài mới *L. platinedodes* và quá trình phát sinh cá thể của loài này góp phần cho thấy có lẽ chính *L. edodes* là taxon trung tâm [16] dẫn đến sự phát tán và phân hóa sinh địa học của các loài Shiitake *Lentinula*.

2. Phân hóa sinh địa học của nấm hương *Lentinula*

Từ những công trình của Hibbett và nnk. (1995, 1998) [4, 5] và Hibbett (1992, 2001) [3, 6], Mata và nnk. (2000, 2001) [9, 10] và một số tác giả khác nhận định rằng nấm hương có tổ tiên từ vùng Tây Nam Thái bình dương Đông

Nam Á, đã phân ly thành 2 nhóm lớn: Dòng Đông bán cầu (bao gồm ít nhất 5 loài) và Dòng Tây bán cầu (3 loài). Đồng thời theo Hibbett vùng Tây Nam Thái bình dương Đông Nam Á là trung tâm đa dạng sinh học và di truyền của *Lentinula*. Nhánh lớn *L. edodes* phát tán rất mạnh và ưu thế ở vùng Đông Á thể hiện những tác động nhân tạo trong lịch sử chọn lọc, nuôi trồng và lai tạo, duy trì và tăng cường (gây ra) tính tương hợp và đa dạng di truyền của các chủng trong khắp vùng châu Á - Úc. Shimomura và nnk. (1992, 2009) [16, 17], Mori và nnk. (1974) [12], Chiu và nnk. (1994) [1], Fukumasa-Nakai và nnk. (1994), cho rằng về thực chất chúng là một loài tương hợp cao (mating):

L. edodes và phân ly cục bộ ở một số vùng địa lý. Vấn đề là cần chỉ ra được những dẫn chứng cho thấy nhóm ở Tây bán cầu cũng có quan hệ trực tiếp với nhóm ở Đông bán cầu, vì trên thực tế chúng rất bất tương hợp [2, 9]. Nhiều dẫn liệu thực nghiệm về giải trình tự nhiều gene (kể cả gene tubulin, gene ty thể) cũng được áp dụng chứng tỏ quá trình phân hóa và mối quan hệ chặt chẽ này [6, 10, 13, 22]. Hiện vẫn chỉ là giả thiết rằng chúng có tổ tiên chung mà chưa có dẫn liệu thuyết phục về khả năng quan hệ trực tiếp. Nhận định của Pegler (1983) [15] cho rằng, những dạng phân hóa sinh địa học vùng nhiệt đới được xác nhận phần nào bởi các phân tích rDNA gần đây về đặc tính nguyên sơ hơn và gần nhau của *L. lateritia* và *L. boryana* (song phân bố là quá cách biệt nhau) và ngụ ý chúng gần nhất với nhóm tổ tiên của Shiitake.

Vùng núi Bắc Việt Nam có một số dòng phân hóa khác biệt với các dòng Đông Á. Dòng ở Cao Bằng (CB) với bao chung dạng bột dễ bong tróc và thể quả trưởng thành thường nhẵn, nhợt màu, hơi nhỏ và rất thơm khi khô, dễ lai tạo với các chủng *L. edodes* nhập ngoại [7]; dòng Sapa (SP) thường nâu đỏ lợt đến nâu đỏ sẫm, cũng khá nhẵn, cuống thon, tương tự như *L. lateritia*. Vùng núi Langbiang, Nam Việt Nam (khá hẹp ở Lâm Đồng - Cát Tiên) có ý nghĩa cực kỳ quan trọng, cho thấy có ít nhất 3 dòng hình thái khác biệt nhau. Dòng ký hiệu L.e rất tương đồng với các dòng Đông Á, như ở Nhật Bản, Trung Quốc. Trong khi đó, hai dòng L.l và L.l' lại thể hiện phân hóa khá mạnh, tán nấm nhẵn thường nâu đỏ đến nâu nhợt, mỏng, hơi giống như *L. lateritia* [20]. Nhận định của Hibbett và nnk. (1998) [5], Hibbett (2001) [6] cho rằng tổ tiên của các loài *Lentinula* có thể là vùng Tây Nam Thái bình dương dựa trên ý kiến về các đại diện có tính nguyên sơ như *L. lateritia* và *L. boryana*. Thực ra, chính Pegler (1983) [15] cho rằng, đại diện nguyên sơ *L. lateritia* chỉ là dạng phân hóa nhiệt đới của *L. edodes*, nghĩa là chúng thứ sinh. Phát hiện của chúng tôi cho phép mở rộng hợp lý là Đông Nam Á - Tây Nam Thái bình dương. Đặc biệt, phân bố Nam Á - Nam Thái bình dương của *L. lateritia* giao hòa hình thái và phân tử với các biến thể phong phú của *L. edodes* chứng tỏ mối quan hệ rất gần gũi của chúng. Các chủng sinh địa học nấm hương *Lentinula edodes* ở Việt

Nam (bản địa) rất gần gũi với nhóm nguồn gốc Đông Nam Á và giao hòa với dòng Đông Á. Kết quả của chúng tôi về phân hóa sinh địa học của *Lentinula* ở Việt Nam có thể góp phần vào tiến trình nghiên cứu sâu này.

III. KẾT LUẬN

1. Đã phân tích những nét phân hóa sinh địa học 10 chủng nấm hương (Shiitake) *Lentinula edodes* thu được ở vùng núi cao Bắc và Nam Việt Nam, so sánh với các chủng ở Trung Quốc và Nhật Bản và phát hiện nấm bạch kim hương (*Lentinula platinedodes* sp. nov.). Ở Vườn quốc gia Cát Tiên như các dạng phân hóa từ *Lentinula edodes* ở vùng sinh thái chuyển tiếp cao nguyên đồng bằng nhiệt đới, với thể quả trưởng thành ngả màu bạch kim, tương đồng cao với loài chuẩn ở châu Mỹ: *Lentinula boryana*, cả về hình thái và phân tử, như một minh chứng cho quan hệ chủng loại phát sinh giữa các nhóm Shiitake ở Đông bán cầu và Tây bán cầu. Sự chuyển hóa hình thái của loài mới thể hiện khá rõ trong nuôi trồng ra thể quả.

2. Có thể giả thiết rằng các nhóm Shiitake ở Tây bán cầu là kết quả của quá trình phân hóa tương tự và phát tán của *Lentinula edodes* Đông bán cầu.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Chiu S. W., Ma A. M., Lin F. C. and Moore D., 1994: Genetic homogeneity of cultivated strains of Shiitake (*Lentinula edodes*) used in China as revealed by the polymerase chain reaction. Mycol Res, 100: 1393-1399.
2. Guzmán G., Salmenes D., Tapia F., 1997: *Lentinula boryana*: morphological variation, taxonomic position, distribution and relationship with *Lentinula edodes* and related species. Rept Tottori Mycol Inst, 35: 1-28.
3. Hibbett D. S., 1992: Towards a phylogenetic classification for Shiitake: taxonomic history and molecular perspectives. Rept of the Tottori Mycol Inst, 30: 30-42.
4. Hibbett D. S., Fukumasa-Nakai Y.,

- Tsuneda A., Donoghue J. M., 1995: Phylogenetic diversity in Shiitake inferred from nuclear ribosomal DNA sequence. *Mycologia*, 87(5): 618-638.
5. **Hibbett D. S., Hansen K., Donoghue J. M.**, 1998: Phylogeny and biogeography of *Lentinula* inferred from an expanded rDNA dataset. *Mycol Res*, 102(9): 1041-1049.
 6. **Hibbett D. S.**, 2001: Shiitake mushrooms and molecular clocks: Historical biogeography of *Lentinula*. *J. Biogeogr*, 28: 231-241.
 7. **Võ Thị Phương Khanh, Phạm Thành Hồ**, 1999: Lai nấm hương (*Lentinula edodes*) Cao Bằng với chủng L170 nhập nội. *Tạp chí Di truyền và Ứng dụng*, 1: 15-19.
 8. **Trịnh Tam Kiệt**, 1981: Nấm lớn ở Việt Nam. Nxb. Khoa học và Kỹ thuật. Hà Nội.
 9. **Mata G., Guzmán G.**, 1989: Hibridación entre una cepa Mexicana de *Lentinus boryanus* y una Asiática de *Lentinus edodes* (Hybridization between a Mexican strain of *Lentinus boryanus* and an Asiatic strain of *Lentinus edodes*). *Rev. Mex. Micol.*, 5: 77-80.
 10. **Mata J. L., Petersen R. H.**, 2000: A new species of *Lentinula* (Agaricales) from Central America. *Mycoscience*, 41: 351-355.
 11. **Mata J. L., Petersen R. H., Hughes K. W.**, 2001: The genus *Lentinula* in the Americas. *Mycologia*, 93: 1102-1112.
 12. **Mori K., Fukai S., Zennyozzi A.**, 1974: Hybridization of shiitake (*Lentinus edodes*) between cultivated strains of Japan and wild strains grown in Taiwan and New Guinea. *Mush. Sci.*, 9: 391-403.
 13. **Nicholson M. S., Bunyard B. A., Royse D. J.**, 1997: Phylogeny of the genus *Lentinula* based on ribosomal DNA restriction fragment length polymorphisms analysis. *Mycologia*, 89: 400-407.
 14. **Pegler D. N.**, 1975: The classification of the genus *Lentinus* Fr. (Basidiomycota). *Kawaka*, 3: 11-20.
 15. **Pegler D. N.**, 1983: The genus *Lentinula* (Tricholomataceae tribe *Collybieae*). *Sydowia*, 36: 227-239.
 16. **Shimomura N., Hasebe K., Fukumasa-Nakai Y., Komatsu K.**, 1992: Intercompatibility between geographically distant strain of Shiitake. *Rept. Tottori Mycol. Inst.*, 30: 26-29.
 17. **Shimomura N., Hasebe K., Terashima K.**, 2009: Intersterility between populations of *Lentinula edodes* from Papua New Guinea. *Mycoscience*, 50: 240-243.
 18. **Singer R.**, 1952: Type studies on agarics III. *Lilloa*, 25: 26-29.
 19. **Singer R.**, 1986: The Agaricales in modern taxonomy. 4th ed. Koeltz Scientific Books, Koenigstein, Germany: 981 pp.
 20. **Lê Xuân Thám, Nguyễn Lê Quốc Hùng, Phạm Ngọc Dương, Trương Thị Hồng, Hoàng Thị Hoan, Trương Bình Nguyên, Đào Thị Lương**, 2010: Nghiên cứu phát hiện sự phân hóa của nấm hương *Lentinula edodes* ở Sapa, (Bắc Việt Nam), *Lentinula cf. lateritia* ở Langbiang, Đà Lạt và *Lentinula* sp. mới tìm thấy ở Cát Tiên (Nam Việt Nam). *Tạp chí Công nghệ sinh học*, 8(1): 87-101.
 21. **Thon M. R. and Royse D. J.**, 1999: Evidence for two independent lineages of shiitake of the Americas (*Lentinula boryana*) based on rDNA and β -tubulin gene sequences. *Mol. Phy. Evol.*, 13: 520-524.

THE BIOGEOGRAPHICAL SPECIATIONS OF SHIITAKE *LENTINULA EDODES* AND A NEW SPECIES *LENTINULA PLATINEDODES* SP. NOV. FOUND IN CAT TIEN, SOUTH VIETNAM

LE XUAN THAM, NGUYEN NHU CHUONG,
PHAM NGOC DUONG, BUI HOANG THIEM

SUMMARY

Lentinula edodes (Berk.) Pegler has been taxonomically studied for 130 years ago with collections of authentic specimens as type of *Lentinus tonkinensis* Pat. (already treated as synonym), collected from Ba Vi mountainous region (near to Hanoi) by Balansa (1887-1888), deposited in Paris (Patouillard, 1928) and recently supplemented with some newly collected strains, native to high mountainous regions, North Vietnam: Cao Bang and Sa Pa shiitake, near to South China.

Some Shiitake strains obtained from Japan, China as representatives of East Asian races of *Lentinula edodes* were analysed comparatively both morphological and molecular characteristics, showing that the Vietnam natively geographical races of Shiitake collected in Sa Pa mountains (1600-2800 m alt.), North Vietnam are so clearly segregated from strains imported from Changsha, Yunnan (China) and Tottori (Japan) - that are East Asian races, typical temperate Shiitake *Lentinula edodes* (similar to Cao bang race), that markedly similar to Southeast Asian - tropical Shiitake forms, but close to the species *Lentinula lateritia* and *L. novaezelandiae*, based on rDNA both D and ITS sequences. In South Vietnam, Shiitake races of *Lentinula edodes*, *L. cf. lateritia* and *L. platinedodes* sp.nov. were newly found on Langbiang mountain (1500-2000 m alt.) in Da Lat city, highland of Lam Dong province and in Cat Tien national park (600-150 m alt.), lowerland of Dong Nai province, particularly among which the last one is showing high similarity in morphological characters with both America's Shiitake type species, *Lentinula boryana* and *L. edodes*, due to the forms at different stages of development of fruitbodies, collected in the wild. This new species showed some phenotype forms similar to each others in their early stages of morphological genesis of young fruitbodies in nature and in cultivations. However, they are the same in rDNA sequences, particularly located in the clades of New World Shiitake lineage. They share common secondary tropically features of speciations in the *Lentinula*, and their ontogenesis of fruitbodies shows the more primary fibrilose forms of *Lentinula edodes* differentiating to the secondary glabrous forms commonly found in species in South East Asia - Australian regions.

The occurrence of tropical Shiitake both *L. cf. lateritia* and *L. platinedodes* in Vietnam would be a new evidence for direct relationships present between Old and New World Shiitake speciation lineages, that China

South East Asia regions would be an origin center of diversity of *Lentinula*, and the South East Asia - Australian regions would be a focus of tropical and subtropical diversity of Shiitake speciations and harbor *Lentinula* morphological species with high similarity and compatibility, and the temperate Shiitake races from the pivotal species *Lentinula edodes* differentiate and disperse, so largely in Australasia, particularly under cultivation, selection and breeding.

Ngày nhận bài: 12-7-2011