

PHÁT HIỆN BỔ SUNG MỚI CHO CHI *OMPHALOTUS* Ở VIỆT NAM MỘT LOÀI NẤM ẨNH TRẮNG KHÔNG PHÁT QUANG

Lê Xuân Thám¹, Nguyễn Thị Hiền¹, Mai Thị Việt Hằng¹, Phạm Ngọc Dương¹, Đặng Ngọc Quang², Đào Thị Lương³

¹Sở Khoa học và Công nghệ Lâm Đồng

²Trường Đại học Sư phạm, Hà Nội

³Viện Vi sinh vật và Công nghệ sinh học, Đại học Quốc gia, Hà Nội

TÓM TẮT

Một loài nấm không phát quang mới được tìm thấy và mô tả chi tiết dự kiến là một loài mới *Omphalotus* sp.nov với các bộ mẫu thực thu ở Lâm Đồng, Việt Nam, đặc biệt gần gũi với loài *Omphalotus japonicus* (Kawam.) Kirchmair & O.K. Mill., hay *Omphalotus guepiniformis* (Kawam.: Kirchmair & O.K. Mill.) Neda được chính lý từ *Lampteromyces japonicus* (Kawam.) Sing. xác định ở Nhật Bản, và cũng gần gũi với *Omphalotus mangensis* (= *Lampteromyces mangensis* Jian Z. Li & X.W. Hu) thu ở vùng Mang Sơn, Trung Quốc. Tuy nhiên loài này không phát quang, có chứa 2 dẫn chất illudines lạ, không phát hiện thấy 4 illudines đặc trưng S,M,A và B cho các loài *Omphalotus*, và bào tử lớn (12,5 - 17,5 µ đường kính) và vỏ bào tử rất mỏng, sinh trưởng hệ sợi tạo thành khuẩn lạc dây màu nâu hung - màu cam (không thâm nâu đen như ở loài chuẩn và cũng không ngà trắng kem như ở các loài *Omphalotus*), đồng thời có những phân hóa nhỏ trong trình tự vùng ITS và D rDNA. Chúng tôi đề nghị xác lập một loài mới có tiềm năng cho nuôi trồng trên cơ chất hỗn hợp cung cấp nguồn dược liệu triển vọng giàu hoạt chất (các dẫn chất illudines cải tiến cho hoạt tính chống ung thư). Hiệu suất sinh học trong nuôi trồng hoàn chỉnh 60 - 66 ngày ở 25 - 28°C đạt khoảng 35 - 40% cho đợt thu hoạch đầu tiên với thể quả lớn (đường kính ~11 - 14 cm).

Từ khóa: *Illudines*, *Nấm vòng Việt*, nuôi trồng, *Omphalotus* sp. = *Lampteromyces* sp., vùng ITS và D rDNA

MỞ ĐẦU

Chi *Omphalotus* Fayod thường được biết ở Việt Nam chỉ có một loài điển hình - loài chuẩn: *O. olearius*, thường được gọi là nấm đèn lồng (O'Lantern), rất độc (Trịnh Tam Kiệt, 2001), các tài liệu chỉ ra rằng có khả năng phát sáng. Mới đây nhóm tác giả ở Đại học Quốc gia Tp. Hồ Chí Minh thông báo phát hiện loài thứ hai: *Omphalotus* sp. (*Neonothopanus nambi*?) ở vùng Bình Dương (chúng tôi cho rằng có thể là biến thể bạch tạng của loài: *O. nidiformis*, hoặc là biến thể bạch tạng của *O. illudens*, có độc tính rất cao, có hoạt tính độc tế bào chống ung thư và đặc biệt phát quang khá mạnh - tính ngữ loài La tinh: *illudens* có nghĩa là phát sáng (Đào Thị Vân et al., 2008). Một đại diện thường gặp ở vùng Nhật Bản ôn đới cũng phát quang được xác định là *Lampteromyces japonicus* (Kawamura) Sing., song đã được giám định với các dẫn liệu phân tích hóa sinh các nhóm hoạt chất và rDNA, được đề nghị xếp lại vào chi *Omphalotus*: *O. japonicus* (Kawam.) Kirchmair & O.K. Mill. (2002), hiện còn đang trong tiến trình thẩm định điều chỉnh về hệ thống học (Mata et al., 2004). Sự thống nhất cơ bản giữa

Omphalotus và *Lampteromyces* thể hiện hầu như nhất quán trong hệ hoạt chất illudines - vừa là cơ chất trong quá trình phát quang vừa gây nên độc tính cao và độc tế bào chống ung thư (Britten 1999, Hu et al., 1999, Dick, Kelner, 2004, Kelner et al., 1996, Burgess, Barrow, 1999,...), có ít nhất 4 dẫn chất điển hình (illudines S,M,A,B) trong thể quả, hệ sợi và dịch cây. Đồng thời các chủng loài của cả 2 nhóm này đều cho thấy giao hòa trong cấu trúc rDNA. Chi *Lampteromyces* được cho là có một vài loài và có thể phân bố xuống phía Nam tới Malaya và Borneo (Singer, 1986), có những khác biệt với *Omphalotus* chủ yếu là về hình thái với kiểu vòng nấm đặc trưng, vùng mô cuống ngà thâm đen khi xé dọc, đám và bào tử rất lớn và hệ sợi khi nuôi cấy có sắc tố đậm. Điều lý thú là đã có đề xuất đưa chi này cùng với chi *Omphalotus* thành một họ riêng biệt: *Omphalotaceae* Bresinsky (1985).

Trong các chuyến khảo sát nấm Bắc Cát Tiên - Lâm Đồng, chúng tôi đã phát hiện lần đầu ở Việt Nam, ở vùng cao khoảng 1500 m, vào cuối mùa mưa (12/2008), một đại diện đặc biệt, bổ sung một loài dự kiến là mới - loài thứ hai cho chi *Lampteromyces*, theo quan niệm kinh điển của Singer (1986) thuộc họ

Paxillaceae R. Maire apud Maire, Dumée & Lutz (1909) ở Việt Nam. Nếu vẫn giữ nguyên chỉ: *Lampteromyces* thì đây là đại diện đầu tiên của chi mới ở Việt Nam, và có thể là một loài riêng biệt vì một số đặc điểm khác biệt và không có khả năng phát sáng. Theo Singer (1986) các loài trong chi *Onphalotus* và trong *Lampteromyces* cùng có khả năng phát sáng, chưa có ghi chú nào về sự không phát sáng trong chúng. Các nghiên cứu phân hóa gene (rDNA) gần đây: toàn bộ 6 loài đã biết thuộc *Onphalotus* và *Lampteromyces japonicus*, và thành phần hoạt chất gây độc tiêu diệt tế bào ung thư (Illudines) cho thấy sự thống nhất lại của chúng - là cần nghiên cứu sâu thêm để khẳng định và công nhận trong thời gian tới

VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Đối tượng nghiên cứu

Bộ mẫu vật (ký hiệu PS-Lamp.1) thu được cuối mùa mưa, song rừng vẫn còn khá ẩm ướt ở vùng K'LongK'Lanh, Lạc Dương, Đà Lạt, Lâm Đồng (cuối 12/2008). Lưu giữ tại Bảo tàng Năm, Trung tâm Ứng dụng KHCN, Sở KHCN Lâm Đồng. Sau đó (2009, 2010) một số nhóm nghiên cứu ở Đà Lạt thông báo cũng phát hiện vào giữa mùa mưa ở nhiều vùng khác thuộc Bắc Cát Tiên, Lâm Đồng.

Vật liệu và phương pháp

Mô tả hình thái giải phẫu: dựa theo mô tả chuẩn hiện đại của Singer (1986), có đối chiếu với Kawamura (1915) và chỉnh lý danh pháp của Kirchmair và đồng tác giả (2004), đặc biệt là Neda (2004). Phân tích hình thái và chụp ảnh bảo tử trên kính hiển vi quang học Olympus.

Sơ bộ phân tích thành phần hoạt chất: chúng tôi tập trung kiểm tra nhanh nhóm illudines.

Phân tích phân hóa cấu trúc rDNA: theo các quy trình kỹ thuật đã công bố (Lê Xuân Thám *et al.*, 2009, 2010), cơ sở dữ liệu giải trình tự vùng ITS1-5.8S-ITS2 và D28S, và lưu giữ tại Viện Vi sinh vật và Công nghệ sinh học, Đại học Quốc gia Hà Nội;

Hệ sợi nấm được nuôi 10 ngày trong môi trường PG lỏng cải tiến (g/l: 15 g glucose, 1 g peptone, 200 g khoai tây, 100 g cà rốt, 100 g giá đỗ) ở 25°C. Mẫu được lấy 2 vòng que cấy, nghiền trong ống Eppendorf 1,5 ml và trùng với 400 µl đệm phá tế bào Triton-X100. Sau đó được bổ sung 0,3 g hạt thủy tinh, lắc rung đều, bổ sung 400 µl PCI ((Phenol-chloroform-isomylalcohol - 25:24:1)), lắc rung đều

2-3 phút. Sau khi ly tâm 15 phút với 15.000 rpm, dịch nổi được bổ sung 200 µl TE, trộn nhanh, bổ sung 30 µl proteinase (3 mg/ml), đảo đều. Hỗn hợp được ủ 15 - 30 phút ở 56°C, bổ sung 50 µl RNase A (1 mg/ml), đảo đều. Sau khi ủ 30 phút ở 37°C, hỗn hợp được bổ sung 1x PCI, trộn đều, ly tâm 15 phút với 15.000 rpm. Dịch nổi phía trên được nhắc lại 2 lần nữa và dịch nổi cuối cùng được bổ sung 2x isopropanol để lạnh. Tủa được lấy ra bằng pipet Pasteur, rửa sạch bằng ethanol 70%. Tủa được làm khô 5 - 10 phút trong không khí, hòa tan trong 30-50 µl nước và bảo quản ở -20°C.

Khuếch đại ITS và D1/D2

PCR được tiến hành nhằm khuếch đại vùng ITS và đoạn D1/D2 28S của rDNA với các thành phần và tỷ lệ sau: 10 µl 10x đệm, 16 µl hỗn hợp dNTP, 2 µl mỗi ITS1, 2 µl mỗi NL4, 1,2 µl Taq™, 2 µl DNA (-50-100 ng), nước cất đến 100 µl. Phản ứng PCR: 94°C/1'; 35x (94/45", 53/45", 72/45"); 72/7'. Mỗi xuất ITS1: 5'-GTCGTAACAAGGTTTCCGTAGGTG-3', NL1: 5'-GCATATCAATAAGCGGAGGAAAAG-3', ITS4: 5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3', và mỗi ngược NL4: 5'-GGT CCG TGT TTC AAG ACG G-3'. Sản phẩm PCR được kiểm tra bằng điện di và nhuộm bằng dung dịch ethidium bromide loãng và soi bằng máy soi gel sau đó, sản phẩm PCR được tinh sạch theo kit QIAgen (Đức).

Phản ứng PCR

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 gồm: Terminator ready reaction mix: 8 µl mẫu DNA sau PCR: 200 ng/ml. Môi: 1 µl. Nước cất đến 20 µl.

Phản ứng khuếch đại DNA: 96°C/1'; 25x (96°C/10"; 50°C/5", 60°C/4"). Sau khi phản ứng kết thúc, mẫu được chuyển sang ống Eppendorf 1,5 ml, thêm 5 µl 1,25 M EDTA và 60 µl 100% ethanol, trộn thật nhẹ nhàng, để ở nhiệt độ phòng 15 phút. Sau khi ly tâm 15.000 rpm 15 phút, đổ bỏ dịch phía trên, rửa được rửa bằng 100 µl 70% ethanol. Sau khi ly tâm 15.000 rpm 10 phút. Mẫu được làm khô bằng máy sấy quay chân không trong 3 - 5 phút.

Đọc trình tự DNA

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 thăm định và đánh giá.

Tách phân lập giống và nuôi trồng: tách thuần khiết giống nguyên chủng PS trên môi trường PGA, nuôi cấy khảo sát sinh trưởng của hệ sợi trên đĩa Petri, so sánh với loài chuẩn nuôi cấy ở Nhật Bản; nuôi cấy trên môi trường lỏng, đánh giá tốc độ tăng sinh khối. Nhân giống trên môi trường hạt lúa và nuôi trồng ra thể quả ở Vườn Quốc gia Cát Tiên và Đà Lạt, theo các quy trình của chúng tôi (Lê Xuân Thám, 2005), so sánh với kết quả của các tác giả Nhật Bản (Endo *et al.*, 1970) và Hàn Quốc gần đây nhất (Kan *et al.*, 2010).

KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Mô tả hình thái mẫu

Nấm vòng Việt *Lampteromyces* = *Omphalotus* sp. nov., ký hiệu mẫu chuẩn PS.Lamp.1

Loài này dự kiến là mới, xác định về hình thái thể quả đại thể cũng khá giống với loài chuẩn *Lampteromyces japonicus*, nhạt màu, rất khó tách biệt chúng với nhau. Thể quả thường có sắc tố đỏ, nhạt là phần trung tâm tán, thường có nhiều vảy lông thô màu nâu hung - nâu đen - nâu đỏ hồng, nhạt dần khi ra phía mép. Nhìn chung thường nhạt màu hơn so với loài chuẩn, thường khi trưởng thành có màu nâu kem hồng nhạt. Tán hình tròn, thường thấy hơi lệch bên (giống nhóm *Pleurotus*), gọi là kiểu pleurotoid, khá dày, mập. Mép tán nấm hơi cong cuộn, đôi khi rách ít nhiều, hơi giống với nấm bào ngư (dạng pleurotoid): do vậy mà Kawamura (1915) khi nghiên cứu mẫu loài chuẩn đã xác định xếp vào: *Pleurotus japonicus* Kawam. (1915). Thực ra chính Harriot và Patouillard (1902) đã xác lập vị trí này với danh pháp: *Pleurotus harmandii* Harr. & Pat. Tán không nhảy ướt và cũng không mọc nước, thực tế mô thịt nấm khá chắc đặc. Lưu ý đặc điểm mô thịt nấm ở vùng cuống khi xẻ ra thường biến màu xanh đen, thẫm đen phân biệt rõ với nhóm *Omphalotus*. Phiến nấm khá dày (~1,5 - 2,2 mm), trắng kem - nâu kem lợt, hơi hẹp (~2,2 - 3,7 mm), xếp hơi thưa, men suốt xuống tới vòng nấm và tách xa nhau tạo thành các khoảng lõm rộng, các gốc phiến gỗ lên mép vòng nấm tạo thành một đai bờ thô dày. Chính kiểu vòng nấm bền (permanent) gỗ như đai bờ này là đặc điểm

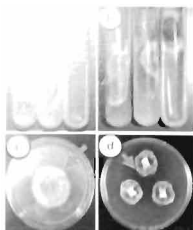
chẩn đoán chính xác cho *Lampteromyces* (Hình 3a-g), tách biệt với các loài *Omphalotus*. Mép vòng đai bờ có thể còn nhiều tua xơ rỗng của thô, giống như ở mép tán nấm. Hệ sợi lưỡng dạng (dimitic) có khóa, việc tách khỏi chi *Pleurotus* (hệ sợi đơn điệu monomitic) là đúng.

Bụi bào từ màu trắng xám kem. Bào tử khá lớn, trong suốt, bề mặt hầu như nhẵn, không có amyloid, thường có vỏ rất mỏng, hình cầu, đường kính ~12,5 - 17,5 μ (loài chuẩn của chi gốc *Lampteromyces japonicus* có bào tử nhỏ hơn ~8,5 - 11,5 μ , hơi bầu, thường có giọt nội chất tròn khá trong suốt ở giữa và nhiều hạt nội chất lớn nhỏ, màu xanh lục. Một đầu bào tử vuốt nhọn như một mấu nùm nhỏ (Hình 2a-d). Khác với loài chuẩn bởi kích thước lớn hơn, vỏ bào tử mỏng hơn, và ở loài chuẩn thường có dạng hơi bầu (subglobose) - gần cầu. Trên ảnh chụp mẫu vật ở Nhật Bản thấy khá rõ vỏ bào tử dày (Hình 2 e). Lưu ý rằng ở các loài *Omphalotus* bào tử thường nhỏ hơn nhiều (< 6 μ m) và thường thót lại ở đầu có mấu dính trên tiêu binh.

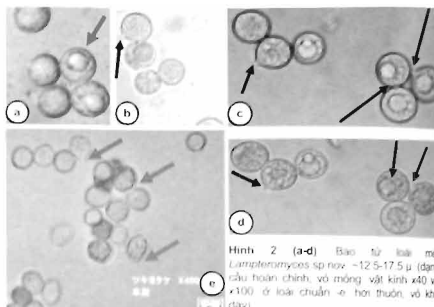
Cuống to mập, hình trụ (đường kính ~1,4 - 2,4 cm), dài ~2,6 - 4,2 cm, màu xám nâu nhạt - nâu kem, vùng gần gốc thường ngả tím xanh hoặc xanh đen, đỉnh thường gần tâm hay kiểu trung tâm, thường có các mạng gân lưới thẫm đen chạy dọc về gốc. Phía dưới nơi tiếp giáp vào giá thể cuống thường trơn lại. Phía trên cuống loe rộng dần, tiếp với vòng nấm như một đai thô dày với các phiến men sát xuống và gồ lên tạo thành dạng bờ vành. Mép bờ vành của vòng nấm thường có lông vẩy tua rách.

Mọc thành rừng cụm 3 - 5 thể quả to nhỏ, hoặc thành đám dày đặc trên thân cây gỗ là rộng, có thể mọc lên rất cao (hàng chục m trên thân cây cách mặt đất) trong rừng hỗn loại và rừng thông, từ giữa đến cuối mùa mưa. Lưu ý là các loài *Omphalotus* lại thường mọc thành đám thể quả quanh gốc cây mà không thấy phân bố mọc lên cao. Cần nhấn mạnh thêm là các loài *Omphalotus* khi tách phân lập hệ sợi nuôi cấy tạo dạng khuẩn lạc trắng bông, không tạo và tiết sắc tố.

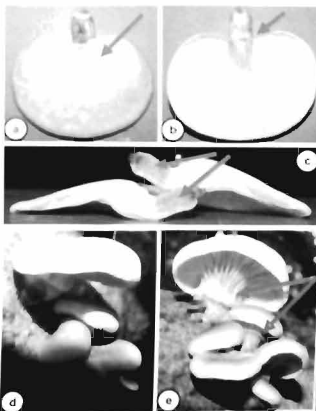
Thường gặp loài chuẩn - được coi là duy nhất ở Nhật Bản, song các tác giả cho rằng về phía nam có thể gặp ở bán đảo Malaya và Borneo. Có tìm thấy ở Trung Quốc. Nay phát hiện được loài mới này ở Việt Nam, minh chứng cho khả năng mở rộng chi *Lampteromyces* với khả năng phân bố trong vùng Đông Á xuống Đông Nam Á. Khác biệt rõ nhất với loài chuẩn bởi thể quả lợt màu hơn, không phát quang và bào tử hình cầu rất lớn.



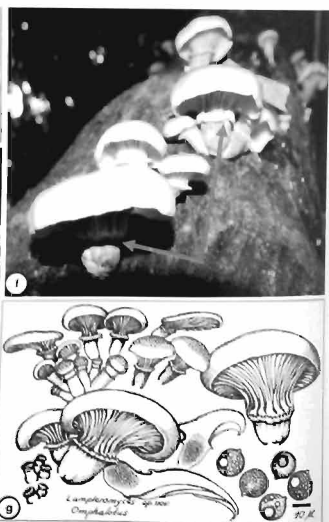
Hình 1. (a) Thể bào tử trưởng thành của nấm *Lampteromyces* sp. nov. (b) thể bào tử đơn bào, (c) thể bào tử đơn bào, (d) thể bào tử đơn bào.



Hình 2. (a-d) Bào tử loài mới *Lampteromyces* sp. nov. ~12.5-17.5 μ m (đơn cầu hoàn chỉnh, vỏ mỏng, vật kính x40 và x100 ở loài chuẩn -e) hình tròn, vỏ khá dày.



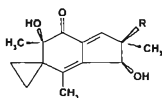
Hình 3. (a-g) Thể quả của loài dự kiến mới *Lampteromyces* sp. nov. mọc thành từng cụm trên thân cây gỗ là rừng và lát cắt dọc thể quả (lưu ý phần thịt mô nấm bên màu nâu xanh đen chỉ tập trung ở cuống - gốc, khác với các loài *Omphalotus*, thu lần đầu vào cuối mùa mưa, 12/2008, vòng nấm rất rõ, ~1/3 kích thước thực). Bào tử đơn hình cầu lớn (giọt nội chất lớn nhớt, vỏ rất mỏng)



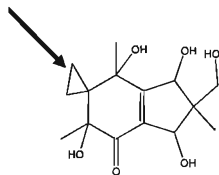
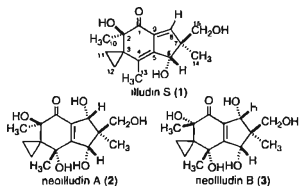
Phân tích hoạt chất

Thành phần hoạt chất đã ghi nhận là rất độc từ các loài *Omphalotus*: *O. illudens*, *O. subilludens*, *O. olearius*, *O. olivascens*, *O. nidiformis*, *O. mexicanus*... và tương tự gặp ở *Lampteromyces japonicus*; gọi chung là "illudoids", có cấu trúc kiểu sesquiterpene - illudin, có một ở cả 2 chi rất gần nhau nêu trên (đây cũng là một lý do đề nghị gộp 2 chi lại). Đã xác định có ít nhất 2 illudin lạ ở loài mới này, trong khi chưa thấy 4 loại thường gặp gây độc tính cao (illudines S,M,A,B) ở các loài khác (Hình 4). Nhiều nghiên cứu cố gắng tổng hợp các dẫn chất mới từ khung illudin - sesquiterpene (chủ yếu tách ly từ *Omphalotus illudens* và *O. nidiformis*) nhằm làm giảm độc tính và duy trì đặc tính chống ung thư, kháng virus, song chưa khả quan, mặc dù có khá nhiều nhóm nghiên cứu sâu về hóa được và kiểm tra đặc tính dược lý. Hàng loạt các nghiên cứu của các nhóm tác giả (Britten, 1999; Burgess *et al.*, 1999; McMorris *et al.*, 1990; 2002; Gregerson *et al.*, 2003;

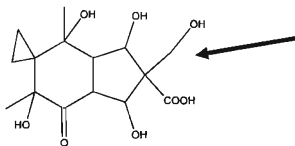
McCloud *et al.*, 1996; Kelner *et al.*, 1996; Lehmann *et al.*, 2003; Erhardt *et al.*, 1999; Kanamori-Kataoka *et al.*, 2006),... đã sàng lọc từ nhiều loài *Omphalotus*, trong đó có cả *O. japonicus* đều phát hiện có illudins với hoạt tính chống ung thư, song lại rất độc, chưa tạo được những dẫn chất ít độc có khả năng áp dụng lâm sàng. Đây vẫn còn là thách thức lớn cho các nghiên cứu, nhất là vấn đề chất độc nấm có liên quan chặt với khả năng phát quang. *Lampteromyces japonicus* là một loài nấm độc mạnh điển hình ở Nhật Bản, chất độc đã biết: lunamycin: $C_{15}H_{22}O_4$ theo Shirahama (1962), Tada và đồng tác giả (1964). Singer (1986) đã tách phân lập được illudin S và xác định chính là lunamycin. Kuramoto và đồng tác giả (1999) tách xác định Neoilludines A,B có hoạt tính chống ung thư, còn có gyroporin, atrotomentin, atrotomentinic acid, thelephoric acid.... (Kammerer *et al.*, 1985). Ngay từ 1975, 1978 Fukuda và đồng tác giả đã xác định Polysaccharides chống ung thư từ loài chuẩn này.



illudin S, R = CH₂OH
illudin M, R = CH₃



$C_{15}H_{22}O_6$
Exact Mass: 298.1416
Ta nhìn thay pic m/z tại 299.35. time = 4.57



$C_{15}H_{22}O_8$
Exact Mass: 330.1315
Ta nhìn thay pic ở 353.30 và 353.33 là [M+Na]⁺

Hình 4. Cấu trúc của illudin S (lunamycin) - khung sesquiterpen và các dẫn chất đặc trưng M,A,B ở loài chuẩn *Lampteromyces japonicus* và các loài *Omphalotus* đã biết và 2 illudines sơ bộ xác định ở loài mới *Lampteromyces* sp.

Điều này có thể cũng liên quan đến hiện tượng không phát quang ở loài mới này (một phần vì không chứa 4 illudin đặc thù S.M.A.B được coi là các cơ chất của quá trình phát quang).

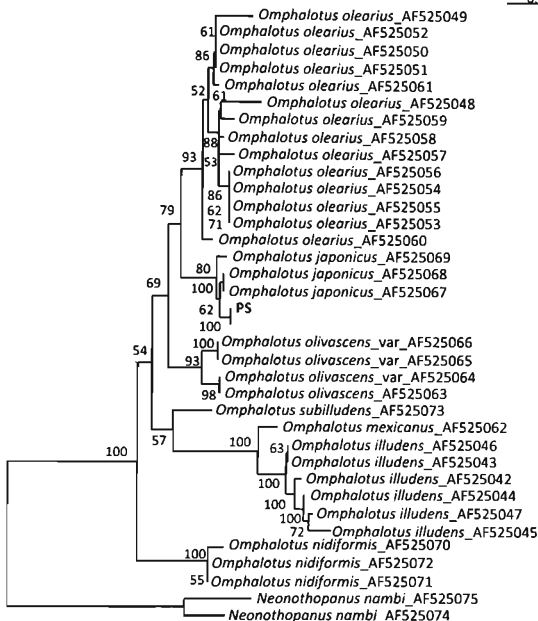
Vai trò sinh lý học của sự phát quang ở nấm còn chưa rõ, có lẽ liên quan đến quá trình phân hóa (+, -), chín và phát tán bào tử (có thể liên quan đến sự dẫn dụ động vật (Kobayashi, 1937). Các nhà nghiên cứu (Niitsu et al., 2000) đã xác định phổ phát xạ lân quang ở *Myrcena chlorophos* và bước sóng cực đại chính xác ở 522 nm, kể cả khi nuôi trồng, với nhiệt độ tối thích ở 27°C. *Lampteromyces japonicus* phát sáng cực đại ở 524 nm (Isobe et al., 1987, 1994). Như vậy, khá gần với *Myrcena chlorophos*, song nhiệt độ tối thích thấp hơn đến 8°C (19°C là tối thích cho *Lampteromyces japonicus*). Trong phát sáng lân quang ở các loài nấm, có lẽ tổ hợp các thành tố cơ bản là giống nhau (Endo et al., 1970 cho là phát bức xạ huỳnh quang - fluorescent), khi oxy hóa có sự tham gia của enzyme Superoxide dismutase (Shimomura, 1992). Tuy nhiên ở từng loài có thể nhiều chi tiết phân hóa riêng chưa được khảo cứu.

Những nghiên cứu sâu về cấu trúc rDNA bắt đầu từ nhóm Hughes và đồng tác giả (1998), Kirchmair và đồng tác giả (2002; 2004) và sau đó là Mata và đồng tác giả (2004) đã thống nhất chỉ ra tính tương đồng rất cao của các loài *Omphalotus*, theo đó khẳng định bao hàm cả *O. japonicus*, kể cả phân hóa vùng LSU (D1,2) và ITS. Chúng tôi đang tiến hành phân tích so sánh rDNA theo quy trình đã công bố (Lê Xuân Thám et al., 2009; 2010). Thực ra từ 2002, Kirchmair và đồng tác giả đã đề nghị xác lập hệ thống mới của *Omphalotus* bao hàm cả *Lampteromyces japonicus* trên cơ sở đồng nhất cao trong phoát chất Illudin. Tuy nhiên cần lưu ý rằng Moncalvo và đồng tác giả (2002) duy trì *Lampteromyces* là chi độc lập, với loài duy nhất có vòng nấm đặc biệt, quan hệ gần cận với *Omphalotus*, *Nothopanus* và *Neonothopanus*. Các tác giả đã phân tích so sánh trình tự 1000 bp. từ đầu kết thúc 5' của tiểu đơn vị lớn LSU (vùng D) rDNA và cho rằng *Lampteromyces* và *Omphalotus* là đồng nghĩa - đồng nhất với nhau. Gần đây ở Bình Dương và Cát Tiên, Nam Việt nam đại diện của *Neonothopanus nambí*? đã được phát hiện, lúc ban đầu xác định là *Omphalotus* sp. - loài này phát quang rất mạnh (ngay cả hệ sợi nuôi cấy cũng phát sáng mạnh) và cũng có độc tính rất mạnh (Đào Thị Vân et al., 2008), được kỳ vọng chứa các dẫn xuất illudin, thể quả màu trắng kem nhợt, so với mẫu *Neonothopanus nambí* thu ở Thailand thể quả dạng bán cầu - hình chuông khác biệt rõ. Do vậy tôi cho rằng đây là biến chủng bạch

tạng của loài phổ biến ở Đông Nam Á - Australia: *O. nidiformis*. Vấn đề là nếu kết quả phân tích chứng tỏ loài này có chứa illudin thì cần phải xếp vào chi *Omphalotus*, còn nếu như xác định là thuộc *Neonothopanus* thì khả năng không chứa illudin là cao, và khả năng hoạt tính chống ung thư sẽ không có triển vọng như mong đợi (và đương nhiên độc tính rất cao). Mẫu vật thể quả loài này mới đây (2/2010) do GS. TS. Kovalenko từ Viện Thực vật Komarov, Saint Petersburg thu được ở Nam Cát Tiên cũng thể hiện kiểu thể quả hình phễu (Clitocyboid) và phát sáng (như hầu hết các loài *Omphalotus*). Nhìn chung nhóm các taxon rất gần cận nhau này đều phân bố và phân hóa mạnh trong vùng Đông Á - Đông Nam Á - Úc, mà việc phát hiện loài mới *Lampteromyces* sp. là minh chứng và báo hiệu sẽ có tìm kiếm mới. Thực tế đã có thông báo về 2 loài *Lampteromyces* phân bố ở Trung Quốc: *L. luminescens* (1979) và *L. mangensis* (1993), đều phát sáng, có vòng và tán nấm màu kem nhợt, khá nhẵn, song Kirchmair et al. (2002) mới chỉ xác nhận và đề xuất chỉnh lý loài sau: *O. mangensis*, mà chưa có tư liệu bổ sung thẩm định, nhất là các dẫn liệu phân tử.

Về danh pháp, loài chuẩn *Lampteromyces japonicus* cũng cần thẩm định lại, trên cơ sở kiểm tra mẫu vật theo Neda (2004), chúng tôi tán thành rằng nếu chỉnh lý đúng và hợp lý nhất phải là: *Omphalotus guepiniformis* (Berk.: Sacc.) Neda com. nov. và nếu cần mẫu vật có cuồng hoàn chỉnh hơn và đặc trưng thì phải chọn: *Omphalotus harmandii* (Har. & Pat.: Sing.)?, dựa trên mẫu do ông Bộ trưởng người Pháp M. le D'Harmand thu được ở vùng Tokyo từ 1902. Tuy nhiên từ sau chuyên khảo chi tiết của Kawamura (1915) xác lập: *Pleurotus japonicus* Kawam., thì hầu hết các tác giả tiếp đó đều căn cứ vào công trình này (sử dụng tính ngữ loài japonicus), chẳng hạn đến 1947 Singer tách ra thành: *Lampteromyces japonicus* (Kawam.) Sing. trên cơ sở mẫu chuẩn do Đại tướng Mỹ MacArthur gửi từ Nhật Bản sau Thế chiến thứ 2, song thực tế tính ngữ loài guepiniformis đã có trước japonicus như đề nghị của Kawamura đến 37 năm bởi: *Agaricus guepiniformis* Berk. (1878), nghĩa là phải được chọn ưu tiên hơn.

Như vậy, tổng hợp lại có những đặc điểm hình thái sinh lý sau đây giám định cho loài mới khác biệt khá rõ với loài chuẩn: Thể quả thường màu kem nâu hồng nhợt, không phát quang, bào tử hình cầu đường kính lớn tới 12,5-17,5 µ, vỏ rất mỏng và hệ sợi nuôi cấy màu nâu cam - vàng cam (không trắng như ở các loài *Omphalotus* và không nâu đen thẫm và mọc chậm, yếu trên PDA như ở loài chuẩn *L. japonicus*).



Hình 5. Quan hệ chủng loại phát sinh của *Lampteromyces* sp. (ký hiệu PS) với các nhóm gần gũi dựa vào rDNA đoạn ITS1-5.8S-ITS2 (trên nền dẫn liệu GenBank Kirchmair, 2004).

Nghiên cứu cấu trúc rDNA và hệ thống học

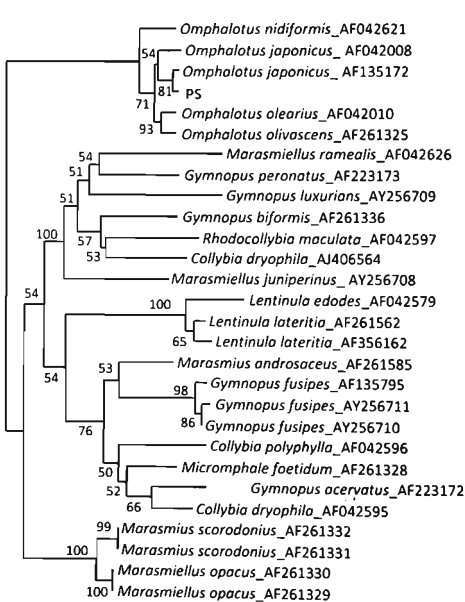
Vùng ITS và vùng D rDNA đã được khảo sát khá chi tiết (Hughes *et al.*, 1998) ở *Omphalotus*, mẫu của chúng tôi cho thấy sự khác biệt khá nhỏ với 3 nucleotid sai biệt ở ITS1-5.8S-ITS2 và chỉ 1 nucleotid ở vùng D-26S khi so sánh với các trình tự tương ứng ở các chủng gần nhất thuộc loài chuẩn *Lampteromyces japonicus* (Hình 5, 6), và cũng k

cận với loài chuẩn *Omphalotus olearius*, phù hợp với các phân chia các nhánh (clade) theo Kirchmair *et al.* (2004) và Mata & Petersen (2004) và cũng phù hợp với kết quả phân tích hệ thống chủng loài phát sinh nấm tán của Moncalvo *et al.* (2002). Nhìn chung vẫn nên coi trọng cả 2 quan điểm, hoặc là thống nhất vào *Omphalotus* duy nhất của họ Omphalotaceae hoặc nên để tách biệt *Lampteromyces* và *Omphalotus* trong cùng họ này. Cần nhận thấy độ phân hóa ITS

tuy không cao (khác biệt 3 bp) song có lẽ những phân hóa sẽ tách biệt hơn ở những gene liên quan đến sinh tổng hợp hệ hoạt chất và cơ chất của quá trình phát sáng. Do vậy cần tăng cường thêm các nghiên cứu về chủng loại phát sinh để thẩm định hệ thống họ Omphalotaceae Bresinsky (1985).

Theo kiến nghị từ nhóm nghiên cứu ở Nhật Bản, danh pháp *Lampteromyces japonicus* chỉ nên duy trì

hiệu lực đến năm 2010. Vì những tương đồng lớn giữa *Omphalotus* và *Lampteromyces* về hệ hoạt chất, về cấu trúc rDNA... nên gộp chung lại. Tuy nhiên nếu lưu ý rằng *Lampteromyces* có vòng nấm đặc trưng, có đám lớn, bào tử lớn, hệ sợi có sắc tố,... thì sự tách biệt của 2 chi độc lập này vẫn cần phải cân nhắc như 2 dòng phân hóa lớn, bởi thế chúng tôi tạm thời vẫn theo hệ thống họ Omphalotaceae Bresinsky.



Hình 6. Quan hệ chủng loại phát sinh của *Lampteromyces* sp. (ký hiệu PS) với các nhóm gần gũi dựa vào rDNA 26S đoạn D1/D2 (trên nền dẫn liệu GenBank theo Mata *et al.*, 2004)

Nghiên cứu nuôi trồng

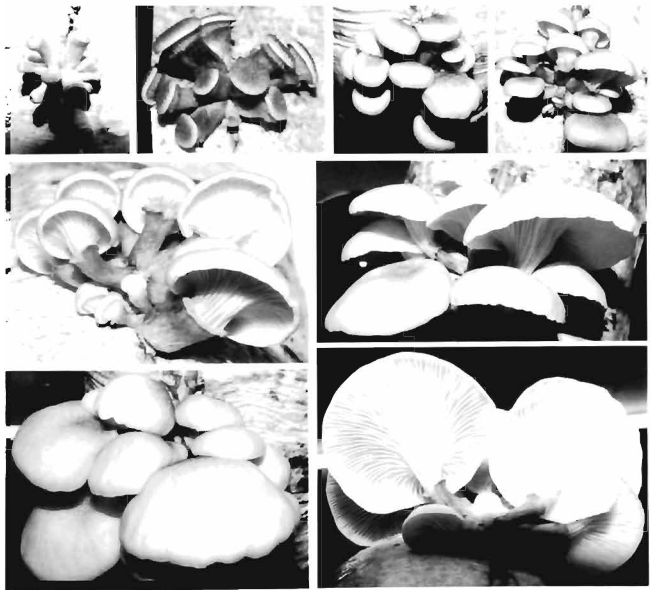
Đã phân lập và thuần khiết giống nguyên chủng thành công trên môi trường PGA. Hệ sợi tăng trưởng

khá nhanh, tạo thành khuẩn lạc tròn, dày dạng u cục màu nâu hung - vàng cam rất đặc trưng, kể cả khi lên men hệ sợi trong dịch thể tĩnh, tiết dịch nâu vào môi trường (Hình 1a-c). Hình thái hệ sợi tạo khuẩn lạc rất

khác biệt với loài chuẩn (chẳng hạn chủng ở Nhật Bản tạo khuẩn lạc thâm đen và chắc đặc rất rõ, khó lan rộng trên bề mặt môi trường - Hình 1d), có thể áp dụng làm đặc điểm chẩn đoán khi định loại. Các loài *Omphalotus* phát sinh tăng trưởng hệ sợi màu trắng.

Hệ sợi phát triển khá mạnh trên cơ chất mùn cưa

bổ sung phân khoáng theo quy trình của chúng tôi cho nhiều loài nấm lớn (Lê Xuân Thám, 2005). Tại Cát Tiên tốc độ tăng trưởng trên cơ chất nhanh hơn so với ở Dalat (tương ứng trên bịch ~1,2 kg cơ chất, hệ sợi lan kín khối cơ chất khoảng 35 - 43 và 46 - 52 ngày và bắt đầu tiết dịch vàng nâu ở những điểm xuất hiện bện kết).



Hình 7. Thể quả non hình thành với vòng cuống đặc trung màu nâu hồng tím - hoàn chỉnh nuôi trồng tại Dalat mọc thành chùm (lưu ý vòng nấm rất rõ).

Tiến hành rạch 4 - 5 đường dọc theo chiều dài bịch và chuyển vào buồng tưới phun sương tạo độ ẩm không khí 65 - 70%. Nhiệt độ trại nuôi ở Cát

Tiên khá cao ~27 - 30°C và ở Dalat thấp hơn ~21 - 24°C. Mầm thể quả hình thành từng chùm hàng chục mầm dạng dùi trống vào khoảng 60 - 66 ngày, phần

gốc màu thâm nâu, phần đỉnh nhiều lông vẩy tưa. Thê quả lớn khá nhanh, trong vòng 4 - 6 ngày đạt hoàn chỉnh với tán xòe tới > 10 cm đường kính, lúc non màu nâu vàng có sắc thái tím hồng, với nhiều vẩy thâm đen ở vùng trung tâm tán, lọt dần ra phía mép, cuống dính lệch bên và dài hơn so với ngoài tự nhiên, lơ lửng về phía trên, màu nâu thâm tím đen, vòng nằm dạng vẩy tưa răng cưa nâu thâm rất rõ và to thành vòng ngăn cách với phần nấm màu trắng kem. Thê quả càng lớn càng lọt màu, thường có sắc hồng tím nhạt, ở Cát Tiên có thể đạt tới ~11-14 cm đường kính tán và ở Dalat đạt ~8-12 cm, và dạng tán điển hình hình đĩa lệch bên lệch pleurotoid, khác với các loài *Omphalotus* kiểu phễu clitocyboid. Hiệu suất sinh học ngay từ đợt thu hái đầu tiên đã khá cao (35-40%), với trọng lượng chùm 5-9 thê quả tươi đạt trung bình ~220-280 g. Bước đầu thử nghiệm cho động vật ăn liền 1 tuần lễ không thấy biểu hiện độc tính, có lẽ cũng liên quan đến việc không phát hiện thấy 4 loại illudines độc đặc trưng cho loài chuẩn *L. japonicus* (S,M,A,B) và hầu hết các loài *Omphalotus* khác (với khoảng 5-7 dẫn xuất illudines khác nữa: G,H,F,...). Nhiều tác giả thu hệ sợi nuôi cấy và cũng xác định được khá nhiều loại illudines. Kết quả nuôi trồng ra thê quả gần đây nhất ở Hàn Quốc (Kan et al., 2010) cho thấy hiệu suất không lớn như trong thực nghiệm này. Và do vậy cũng có cơ sở hơn để dự kiến đây là một loài mới. Chúng tôi đã nghiên cứu thử nghiệm nuôi trồng hoàn chỉnh và kiểm tra kỹ hơn khẳng định loài mới này đặc trưng bởi không có khả năng phát quang. Điều này tương tự trường hợp loài *Panellus stipticus*: các chủng ở châu Âu và Bắc Mỹ thì phát quang, song các chủng vùng châu Á có lẽ do khuyết thiếu di truyền hoặc đột biến không còn khả năng phát sáng. Cần nghiên cứu sâu hơn về các phân hóa nhóm hoạt chất illudines và phân hóa các gene, nhất là các gene liên quan đến khả năng phát quang. Vấn đề là chủng *Lampteromyces* sp. ở Lâm Đồng có những biến đổi gene đến mức độ nào, đã đủ lớn để phân hóa thành một loài mới hay không?

KẾT LUẬN

Lần đầu tiên đã phát hiện đại diện của chi mới ở Việt Nam *Lampteromyces*, có nhiều nét khác biệt về hình thái và sinh lý sinh trưởng với loài chuẩn *L. japonicus*, đặc biệt có lẽ là loài duy nhất trong cả *Lampteromyces* và *Omphalotus* không có khả năng phát quang. Dự kiến đây là một loài mới. Tuy nhiên sự phân hóa trong rDNA không cao, có một số khác

biệt trong phổ hoạt chất illudin so với các loài đã phân tích.

Đã nuôi trồng hoàn chỉnh với hiệu suất sinh học cao trong khoảng 60 - 66 ngày tại Cát Tiên và Dalat, có triển vọng cho phân tích sâu hơn về hoạt tính dược lý.

Lời cảm ơn: Công trình được sự tài trợ theo đề tài "Phát triển sản xuất nấm trên cơ sở điều tra xây dựng bảo tàng nấm Cát Tiên, Đồng Nai". Tập thể tác giả xin trân trọng cảm ơn Sở Khoa học và Công nghệ Đồng Nai đã tận tình hỗ trợ và đảm bảo tài chính cho các nghiên cứu này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Britten CD, Hilsenbeck SG, Eckhardt SG, Marty J, Mangold G, MacDonald JR, Rowinsky EK, Von Hoff DD, Weitman S (1999) Enhanced antitumor activity of 6-Hydroxymethylacylfulvene in combination with irinotecan and 5-Fluoracil in HT 29 human colon tumor xenograft model *J Amer Assoc Canc Res* 59(5): 1049-1053.
- Burgess ML, Zhang YL, Barrow KD (1999) Characterization of new illudanes, illudin F, illudin G and illudin H from the basidiomycetes *Omphalotus nidiformis* *J Nat Prod* 2(11): 1542-1544.
- Burgess ML, Barrow KD (1999) Biosynthesis of illudisin, a farnanose-type sesquiterpene, by the Basidiomycete *Omphalotus nidiformis*. *J Chem Soc Perkin Trans 1*: 2461-2466.
- Cornier EJM (1983) The agaric genera *Lentinus*, *Panus* and *Pleurotus*. Cramer, Vaduz.
- Dick RA, Yu X, Kensler TW (2004) NADPH Alkenal/one oxidoreductase activity determines sensitivity of cancer cells to the chemotherapeutic Alkylating agent Irofulven. *Clin Canc Res* 10: 1492-1499.
- Eckhardt SG, SD Baker, CD Britten, M Hidalgo, L Siu, LA Hammond, MA Villalona-Calero, S Felton, R Drengler, JG Kuhn, GM. Clark, SL Smith, JR. MacDonald, C Smith, J Moczygemba, S Weitman, DD Von Hoff, EK Rowinsky (2000) Phase I and pharmacokinetic study of Irofulven, a novel mushroom-derived cytotoxin, administered for five consecutive days every four weeks in patient with advanced solid malignancies. *J Clin Oncol* 18(24): 4086-4097.
- Endo M, Kajiwara M, Nakanishi K (1970) Fluorescent constituents and cultivation of *Lampteromyces japonicus*. *Chem Comm* 5: 309-310.
- Gregerson LN, Mc Morris TC, Siegel JS, and KK Baldrige (2003) *Ab Initio* structure/reactivity



investigations of illudin-based antitumor agents. *Helv Chim Acta* 86: 4112.

Fukuda K, Uematsu T, Hamada A, Akiya S, Komatsu N, Okubo S (1975) The polysaccharide from *Lampteromyces japonicus*. *Chem Pharm Bull* 23(9): 1955-1959.

Fukuda K, Hamada A (1978) 3-O-methyl galactose found in polysaccharides of *Lampteromyces japonicus*. *Biachim Biophys Acta* 544: 445-447.

Hughes KW, Petersen RH (1998) Relationship among *Omphalotus* species (Paxillaceae) based on restriction sites in the ribosomal ITS1-5.8S-ITS2 region. *Pl Syst Evol* 211: 231-237.

Isobe M, Uyakul M, Goto T (1987) *Lampteromyces* bioluminescence-1. Identification of riboflavin as the light emitter in the mushroom *L. japonicus*. *J Biolumin Chemilumin* 1: 181-188.

Isobe M, Takahashi H, Usami K, Hattori M (1994) Bioluminescence mechanism on new systems. *Pur Appl Chem* 66: 765-772.

Kan KH, Park H, Hut TC, Bak WC (2010) Formation of fruiting body of *Omphalotus japonicus* by sawdust cultivation. *Kor J Mycol* 38(1): 80-82.

Kärmerer A, Besl H, Bresinsky A (1985) *Omphalotaceae* fam. nov. and Paxillaceae ein chemotaxonomischer Vergleich zweier Pilzfamilien der Boletales. *Pl Syst Evol* 150: 101-117.

Kanamori-Kataoka M, Seto Y, Kuramoto M (2006) Development of a method for determining illudin S in food by gas chromatography-mass spectrometry. *J Health Sci* 52(3): 237-242.

Kawamura S (1915) Studies on the luminous fungus, *Pleurotus japonicus* sp. nov. *J Coll Sci Imp Univ Tokyo* 35(3): 1-29.

Trịnh Tam Kiệt (1981) *Nấm lớn ở Việt Nam. Tập I*. Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật

Trịnh Tam Kiệt (2001) *Danh lục Thực vật Việt Nam Phần Nấm*.

Kirchmair M, Pöder R, Huber CG (1999) Identification of illudins in *Omphalotus nidiformis* and *Omphalotus olivaceus* var. *indigo* by column liquid chromatography-atmospheric pressure chemical ionization tandem mass spectrometry. *J Chromat A* 832: 247-252.

Kirchmair M, Pöder R, Huber CG, Miller OK (2002) Why *Omphalotus illudens* (Schwein.) Bresinsky and Besl is an independent species. *Revista Catalana de Micologia* 24: 215-223.

Kirchmair M, Pöder R, Huber CG, Miller OK (2002) Chemotaxonomical and morphological observations in the genus *Omphalotus* (Omphalotaceae). *Persoonia* 17: 583-600.

Kirchmair M, Morandell S, Stolz D, Pöder R, Sturmbauer C (2004) Phylogeny of the genus *Omphalotus* based on nuclear ribosomal DNA-sequences. *Mycologia* 96(6): 1253-1260.

Kobayashi Y (1937) Several luminous Mycomycetes from Bonin Islands. *Bull Biogeogr Soc Japan* 7: 1-10.

Kuramoto M, Tsukihara T, Ono N (1999) Neoilludin A and B, new bioactive components from *Lampteromyces japonicus*. *Chem Lett* 28: 1113-1114.

Lehmann VKB, Huang A, Ibanez-Calero S, Wilson GR, KL Rinehardt (2003) Illudin S, the sole antiviral compound in mature fruiting bodies of *Omphalotus illudens*. *J Nat Prod* 66: 1257-1258

Mata JL, Hughes KW, Petersen RH (2004) Phylogenetic placement of *Marasmiellus juniperis*. *Mycoscience* 45: 214-221

McMorris TC, MJ Kelner, W Wang, M Diaz, LA Estes, R Taetle (1996) Acylfulvenes, a New Class of Potent Antitumor Agents. *Experientia* 52: 75.

McMorris TC, Kelner MJ, W Wang, J Yu, LA Estes, R Taetle (1996) Hydroxymethylacylfulvene (HMAF) an illudin derivative with superior antitumor properties. *J Nat Prod* 59: 896.

McMorris TC, Kelner MJ, Wang W, Moon S, Taetle R (1990) On the mechanism of toxicity of illudins: the role of Glutathione. *Chem Res Toxicol* 3: 574-579.

McMorris TC, Kashinathana A, Liraa R, Rundgren H, Gantzela KP, Kelner MJ, Dawec R (2002) Sesquiterpenes from *Omphalotus illudens*. *Phytochemistry* 61: 165-170.

Moncalvo JM, R Vilgalys, SA Redhead, JE Johnson, TY James, MC Aime, V Hofstetter, SJW Verduin, E Larsson, TJ Baroni, RG Thorn, S Jacobsson, H Cléménçon, OK Miller (2002) One hundred and seventeen clades of euagarics. *Mol Phylog Evol* 23: 357-400

Neda H (2004) Type studies of *Pleurotus* reported from Japan. *Mycoscience* 45: 181-187.

Niitsu H, Hanyuda N, Sujiyama Y (2000) Cultural properties of a luminous mushroom, *Mycena chlorophos*. *Mycoscience* 41: 551-558.

Niitsu H, Hanyuda N (2000) Fruit-body production of a luminous mushroom, *Mycena chlorophos*. *Mycoscience* 41: 559-564.

Shimomura O (1992) The role of superoxide dismutase in regulating the light emission of luminescent fungi. *J Exp Bot* 43: 1519-1525.

Singer R (1947) New genera of fungi. III. *Mycologia* 39: 77-89.

Singer R (1986) The Agaricales in modern taxonomy. Koeltz Scientific Books.

Lê Xuân Thám (2005) *Nấm Linh chi Ganodermataceae – Tài nguyên dược liệu quý ở Việt Nam* Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật.

Lê Xuân Thám (2007) Bổ sung loài nấm phát quang mới cho khu hệ nấm bậc cao Việt Nam ở Vườn Quốc gia Cát Tiên: *Mycena chlorophos* (Berk. Curt.) Sacc. *Tạp chí Sinh học* 1: 32-36.

Lê Xuân Thám, Nguyễn Lê Quốc Hùng, Đặng Ngọc Quang, Đào Thị Lương (2009) Phân tích loài nấm Linh chi đen mới phát hiện ở Vườn Quốc gia Cát Tiên, Đồng Nai - Lâm Đồng. *Tạp chí Sinh học* 4: 55-64.

Lê Xuân Thám, Nguyễn Lê Quốc Hùng, Trương Thị

Hồng, Hoàng Thị Hoan, Phạm Ngọc Dương, Trương Bình Nguyễn, Đào Thị Lương (2010) Nghiên cứu sự phân hóa của nấm hương *Lentinula edodes* ở Sapa (Bắc Việt Nam), *Lentinula* cf. *lateritila* phát hiện ở Langbiang, Dalat và *Lentinula* sp. mới tìm thấy ở Cát Tiên (Nam Việt Nam) *Tạp chí Công nghệ Sinh học* 8(1): 1-15.

Đào Thị Vân, Nguyễn Hoàng Vũ, Lê Duy Thắng, D Maguire, A Rayner (2008) Bước đầu khảo sát đặc điểm sinh học và nuôi trồng thành công nấm phát quang *Omphalotus* sp. nhằm cung cấp nguyên liệu cho nghiên cứu chiết tách một số hoạt chất kháng ung thư hữu hiệu *Tạp chí Phát triển Khoa học công nghệ. Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh* 11(7): 1-11.

A NEWLY-RECORDED NON-BIOLUMINESCENT LAMPTEROMYCETOUS MUSHROOM – A SUPPLEMENT SPECIES FOR MACROFUNGI FLORA FROM VIETNAM *OMPHALOTUS* SP.

Le Xuan Tham^{1, *}, Nguyen Thi Hien¹, Mai Thi Viet Hang¹, Pham Ngoc Duong¹, Dang Ngoc Quang², Dao Thi Luong³

¹Department of Science and Technology of Lam Dong

²Hanoi Pedagogy University

³Institute of Microbiotechnology and Biotechnology, Vietnam National University, Hanoi

SUMMARY

A newly-recorded non-luminous mushroom was described in details as a new species *Omphalotus* sp.nov. with authentic specimens collected in South Vietnam, closely similar to *Omphalotus japonicus* (Kawam) Kirchmair & O.K. Mill that was revised and treated from *Lampteromyces japonicus* (Kawam) Sing. from Japan, and *Omphalotus mangensis* (= *Lampteromyces mangensis* Jian Z. Li & X.W. Hu) from Mangshan, China. However it is not bioluminescent, containing 2 novel illudine derivatives, but without 4 specific illudines S,M,A and B, with large globose basidiospores (12.5 - 17.5 µm in diam.) and very thin spuroderma, the mycelial colony growth is buff tan - orange (not so dark brown-black as of that of the type species and not so cream white as in *Omphalotus* spp.), and also little speciations in ITS and D sequences from rDNA. We suggest to establish a new species with potentials of fruitful cultivations on mixed substrates for supply of promising material medica containing active ingredients (modified illudine derivatives with anticancer activity). The biological efficiency of complete cultivation during 60 - 66 days at 25 - 28°C, obtaining approx. 35 - 40% for the first flush with large fruitbodies (diam ~11 - 14 cm).

Keywords: cultivation, *Lampteromyces* sp., illudines, *Omphalotus* sp., ITS and D rDNA Viet ring mushroom.

* Author for correspondence: Tel: 84-63-3577644; E-mail: thambiotech@yahoo.com