

KHẢO SÁT MỘT SỐ ĐÔNG TRÙNG HẠ THẢO CÓ NGUỒN GỐC KHÁC NHAU ĐƯỢC NUÔI TRỒNG TẠI TRƯỜNG ĐẠI HỌC HẢI PHÒNG

Lưu Thúy Hòa

Phòng Khoa học Công nghệ

Email: hoalt@dhhp.edu.vn

Ngày nhận bài: 03/6/2021

Ngày PB đánh giá: 20/8/2021

Ngày duyệt đăng: 03/9/2021

TÓM TẮT: Đoạn trình tự ITS1-5,8S-ITS2 của ba mẫu đông trùng hạ thảo G3, Q1 và Q2 được khảo sát lần lượt có 501, 502 và 484 nucleotit. Dựa trên cơ sở dữ liệu gene NCBI cho thấy cả ba mẫu đều thuộc loài nấm đông trùng hạ thảo *Cordyceps militaris*. Phân tích đặc điểm di truyền của ba mẫu này cho thấy Q1 và Q2 thuộc cùng một nhóm và tách biệt với G3. Trong đó Q2 có đoạn trình tự khuếch đại là ngắn nhất, tỉ lệ GC là cao nhất (59,09 %) và tỉ lệ AT là thấp nhất (40,91%). Bên cạnh sự khác biệt di truyền giữa ba mẫu khảo sát, hàm lượng adenosine và cordycepin của chúng cũng thể hiện sự khác nhau. Ở mẫu nấm G3, hàm lượng adenosine và cordycepin đạt cao nhất và cao hơn nhiều so với hai mẫu còn lại, 48,9mg/100g và 5.58mg/100g. Khi so sánh giữa hai mẫu cùng một nhánh, mẫu Q1 có hàm lượng cordycepin (23.34mg/100g) thấp hơn so với chỉ số này của Q2 (35,5mg/100g) và thấp nhất trong ba mẫu khảo sát. Tuy nhiên, hàm lượng adenosine của mẫu nấm Q2 (1,025mg/100g) thấp hơn so với chỉ số này ở mẫu nấm Q1 (3.72 mg/100g).

Từ khóa: *Cordyceps militaris*, adenosine, cordycepin.

SURVEYING OF SOME *CORDYCEPS* HAVING COLLECTED DIFFERENCES CULTIVATED AT THE HAI PHONG UNIVERSITY

ABSTRACT: The sequences ITS1-5,8S-ITS2 of three surveyed samples of G3, Q1 and Q2 cordyceps have 501, 502 and 484 nucleotides, respectively. Comparing of these sequences on the NCBI gene database reveals that all the samples are classified as the *Cordyceps militaris*. Genetic analysing of these samples shows that the first branch including Q1 and Q2 which is separate from G3 sample. In which, the sample Q2 has the shortest amplification sequence with the highest GC rate (59.09), and the lowest AT rate, (40.91%) Genetic differences between the three samples are also seen in their adenosine and cordycepin contents. In the G3 sample, the adenosine and cordycepin contents are highest and much higher than the other two samples, 48.9mg/100g and 5.58mg/100g. When comparing these contents of two samples in the same branch, the cordycepin content (23.34mg/100g) of the Q1 sample is lower than the content of the Q2 sample (35.5mg/100g); therefore, the Q1 sample's content becomes the lowest of these three. In contrast, the adenosine content of the Q2 sample (1.025mg/100g) is lower than that of the Q1 sample (3.72 mg/100g).

Keywords: *Cordyceps militaris*, adenosine, cordycepin.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Nấm đông trùng hạ thảo còn gọi là hạ thảo đông trùng hay đông trùng thảo là một loại đông dược quý có bản chất là dạng ký sinh của loài nấm thuộc họ *Cordyceps*

trên sâu non, nhộng hoặc cơ thể sâu trưởng thành của một số loài côn trùng thuộc chi *Thitarodes*[4]. *Cordyceps militari* (L.) Link được sử dụng rộng rãi trong y học cổ truyền ở châu Á nhờ có nhiều tác dụng dược lý

quan trọng. Nuôi cấy nấm *C. militaris* được nghiên cứu rộng rãi nhằm tạo thể quả đạt số lượng và chất lượng để sử dụng trong y học và thực phẩm bổ dưỡng [3]. Do nấm *Cordyceps sinensis* có sản lượng rất ít, chỉ mọc trong tự nhiên và cho đến nay chưa có quy trình nuôi trồng thu hái quả thể, cho nên chỉ có một số chủng nấm *Cordyceps militaris* được thu thập và đánh giá trong nghiên cứu này..

Khi tổng kết các kết quả nghiên cứu từ các công bố khoa học nấm *C. militaris* Nguyễn Thị Liên Thương và cộng sự đã cho biết nấm *C. militaris* được nhiều nghiên cứu khẳng định tiềm năng ứng dụng trong điều trị bệnh, đồng thời cũng được sử dụng rộng rãi trong ngành công nghiệp dược phẩm [2]. Cũng trong công bố đó, nhóm tác giả này cho thấy đối với sản xuất nấm *C. militaris* trong điều kiện nhân tạo việc kiểm soát chặt chẽ các yếu tố điều kiện môi trường nuôi trồng nấm như giống, nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng và dinh dưỡng là rất cần thiết để duy trì sản lượng và chất lượng nấm *C. militaris* [2]. Đỗ Thị Gấm và cộng sự (2019) nghiên cứu cho thấy ánh sáng ảnh hưởng quan trọng đến sự sinh trưởng và phát triển quả thể, sinh khối tươi và hàm lượng cordycepin và adenosine tổng số trong quả thể [1].

Thành phần hoạt tính sinh học chính trong quả thể và sợi nấm *C. militaris* được

nghiên cứu ở các công bố trên [1][2][3][4] và được nghiên cứu bởi Lei Huang và cộng sự (2009) đều là cordycepine và adenosine. Các nghiên cứu sử dụng phương pháp xác định hàm lượng hai chất này là HPLC cải tiến. Hàm lượng của hai hoạt chất sinh học được Lei Huang và cộng sự xác định riêng rẽ ở quả thể và ở sợi nấm [5].

Việc đánh giá chất lượng đông trùng hạ thảo trong các nghiên cứu về điều kiện nuôi cấy nhân tạo ảnh hưởng đến sản xuất nấm *C. militaris* đang trong thời kỳ đầu sản xuất công nghiệp dược liệu đông trùng hạ thảo của Việt Nam và của thành phố Hải Phòng. Vì vậy chúng tôi mong muốn tuyển chọn được nhiều nguồn đông trùng hạ thảo hướng đến lựa chọn chủng/giống đông trùng hạ thảo *C. militaris* chất lượng ổn định được đưa vào sản xuất và phân phối đến người tiêu dùng. Đó là lý do chúng tôi khảo sát một số nguồn đông trùng hạ thảo có nguồn gốc khác nhau trong điều kiện nuôi cấy tại trường Đại học Hải Phòng.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1. Vật liệu

Ba nhóm mẫu đông trùng hạ thảo nghiên cứu đều được nuôi cấy trên môi trường cơ chất rắn được thu thập từ ba cơ sở nuôi cấy hộ gia đình (Bảng 1).

Bảng 1. Ba nhóm mẫu đông trùng hạ thảo *C. militaris* nghiên cứu

TT	Ký hiệu	Tên loài	Địa điểm thu thập
	Q1	<i>Cordyceps</i>	Thanh Trì 1
	Q2	<i>Cordyceps</i>	Thanh Trì 2
	G3	<i>Cordyceps</i>	Từ Liêm, Hà Nội

Một số hóa chất thông dụng dùng trong sinh học phân tử của các hãng Sigma, Merck, bao gồm: CTAB, tris base, boric acid, NaCl, dNTPs, EDTA, 6X orange

loading dye solution, tag polymeraza, ethanol, 2-propanol, acetic acid glacial, phenol, chloroform, isoamylalcohol, agarose, các môi ITS.

Bảng 2. Danh sách các môi ITS

Môi	Trình tự nucleotide của môi
ITS4R	TCCTCCGCTTATTGATATGC
ITS5F	GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG

2.2. Phương pháp

2.2.1. Chăm sóc ra quả thể

Các mẫu được nuôi cấy trên môi trường giá thể đặc. Các bình nuôi cấy được thu thập từ các cơ sở nuôi cấy khác nhau, được nuôi cấy đồng nhất trong cùng một điều kiện ánh sáng, độ ẩm và nhiệt độ tại phòng thí nghiệm của trường Đại học Hải Phòng. Để cung cấp ánh sáng cho việc tăng trưởng và phát triển của đồng trùng hạ thảo chúng tôi sử dụng đèn LED nông nghiệp. Đèn LED được bố trí gồm các đèn LED sắc vàng trắng đảm bảo độ chiếu sáng 500lux. Chế độ ánh sáng là 12h sáng và 12h tối. Chế độ bật/tắt đèn được thiết lập tự động. Chế độ nhiệt độ và độ ẩm cũng được thiết lập tự động hóa. Để đảm bảo nhiệt độ nuôi cấy chúng tôi đặt chế độ

điều hòa, chế độ phun ẩm được nối với hệ thống rơ-le, cảm biến nhiệt độ và độ ẩm. Chế độ nhiệt được điều chỉnh trong giới hạn 18°C÷22°C. Chế độ độ ẩm được đặt trong giới hạn 90%-95%.

2.2.2. Phương pháp nghiên cứu đặc điểm phân tử

2.2.2.1. Tách chiết ADN tổng số

Trong nghiên cứu này, chúng tôi đã lựa chọn phương pháp sử dụng CTAB của P. Doyle and Doyle (1987) có một số cải tiến nhỏ để tiến hành tách chiết ADN từ các mẫu nghiên cứu.

2.2.2.2. Thành phần của một phản ứng PCR

- Mỗi phản ứng PCR bao gồm các thành phần:

STT	Thành phần	Thể tích (μl)
1	Nước cất hai lần khử ion	9
2	Buffer Mg ⁺ 25 Mm	1,5
3	dNTPs 10 Mm	0,3
4	Taq ADN polymerase 5 U/μl	0,2
5	Môi ITS4 10 μM	1,5
6	Môi ITS5 10 μM	1,5
7	DNA	1
Tổng thể tích của một phản ứng		15,0

2.2.2.3. Chương trình chạy PCR

Phản ứng PCR được tiến hành trong ống eppendorf 0,2 ml và thực hiện trên máy Mastercycler epgradient S theo chu trình sau:

Các bước	Nhiệt độ(°C)	Thời gian
1	94	5 phút
2	94	1 phút
3	56	45 giây
4	72	50 giây
5	Lặp lại từ bước 2, 35 lần	
6	72	7 phút
7	4	∞

Sau khi hoàn thành chương trình chạy PCR, sản phẩm PCR được bổ sung 4 µl loading dye rồi tiến hành điện di.

2.2.2.4. Giải trình tự

Sản phẩm PCR ITS sau khi được tinh sạch được giải trình tự tại công ty Macrogen (Hàn Quốc). Kết quả giải trình tự được so sánh với các trình tự tương đồng trên NCBI. Sau đó, các trình tự được tập hợp

và phân tích bằng chương trình MEGA 6.0 để tạo cây phả hệ.

2.2.3. Phương pháp định lượng adenosine và cordycepin

Định lượng hợp chất cordycepin theo phương pháp thử NIFC.05.M.163 (HPLC) và adenosine theo phương pháp thử NIFC.05.M.163 (HPLC). Các chỉ số được phân tích tại Viện Kiểm nghiệm An toàn vệ sinh thực phẩm quốc gia.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Hàm lượng adenosin và cordycepine

Mẫu nấm trong nghiên cứu này được nuôi trồng trong cùng điều kiện nhiệt độ, ánh sáng và độ ẩm tại phòng thí nghiệm của trường Đại học Hải Phòng. Việc khảo sát hàm lượng adenosine và cordycepine của quả thể tươi ở các mẫu nấm thu thập sử dụng phương pháp xác định NIFC.05.M.163 (HPLC) thu được bảng 3.

Bảng 3. Hàm lượng adenosine và cordycepine của các mẫu đông trùng hạ thảo *C. militaris* nghiên cứu (quả thể tươi)

Stt	Mẫu nấm	Adenosine (mg/100g)	Cordycepine (mg/100g)
	Q1	3.72	23.34
	Q2	1,025	35,5
	G3	5.58	48,9

Nghiên cứu khảo sát cho thấy hàm lượng các hợp chất có hoạt tính sinh học cordycepin và adenosine của nấm *C. militaris* từ ba nguồn thu thập khác nhau là không giống nhau. Hàm lượng hoạt chất cordycepin và adenosine của quả thể tươi trong các thí nghiệm được tính theo mg/100g nấm tươi. Mẫu nấm G3 có hàm lượng cordycepin cao nhất (48,9mg/100g). Đồng thời mẫu nấm G3 cũng có hàm

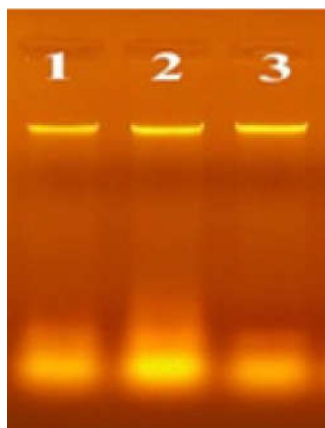
lượng adenosine cao nhất (5.58mg/100g). Tuy nhiên so với kết quả của Đỗ Thị Gấm và cộng sự (2019) về hàm lượng cordycepin và adenosine tổng số trong quả thể là thấp hơn, tương ứng là 64,2mg/100g tươi và 6,37mg/100g tươi [1]. Mẫu nấm Q1 có hàm lượng cordycepin là thấp nhất (23.34mg/100g) nhưng hàm lượng adenosine cao hơn so với hàm lượng chất này của Q2. Ngược lại với mẫu nấm Q1,

hàm lượng adenosine của mẫu nấm Q2 là thấp nhất (1,025mg/100g) và hàm lượng cordycepin của mẫu nấm Q2 cao hơn chỉ số này của mẫu nấm Q1. Sự khác nhau đó không phụ thuộc vào yếu tố nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng vì trong thí nghiệm này các mẫu được nuôi trồng ở giai đoạn quả thể trong điều kiện đồng nhất về các yếu tố đó.

3.2. Phân tích quan hệ di truyền giữa các giống/loài nấm đông trùng hạ thảo từ ba cơ sở nuôi cấy

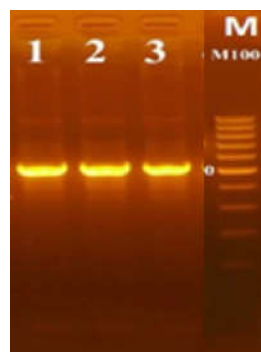
3.2.1. Kết quả chiết DNA tổng số, chạy PCR và tinh sạch các sản phẩm khuếch đại

Kết quả tách chiết DNA tổng số của 03 mẫu được kiểm tra bằng phương pháp điện di trên gel agarose 1% (Hình 1). Qua đó cho thấy các băng DNA thu được của các mẫu nấm khá gọn và đồng đều chứng tỏ chất lượng DNA của các mẫu là khá tốt. Đủ yêu cầu để thực hiện các thí nghiệm tiếp theo.



Hình 1. DNA tổng số của 03 mẫu nấm nghiên cứu

Sau khi thực hiện phản ứng PCR, sản phẩm khuếch đại với cặp mồi ITS4/ITS5 và được điện di trên gel agarose 1,5% cho băng đơn hình với kích thước khoảng 400-500bp (Hình 2).



Hình 2. Phổ điện di sản phẩm PCR với cặp mồi ITS4/ITS5

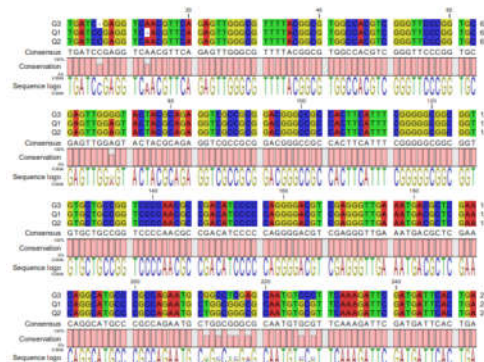
trên 03 mẫu nấm nghiên cứu

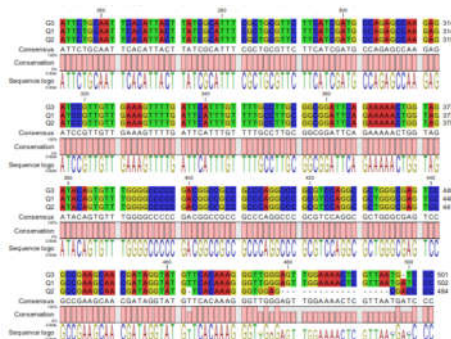
Kết quả khuếch đại sản phẩm PCR của từng mẫu được tiến hành thổi gel, sử dụng cột Sigma GenElute™ Agarose Spin column (USA), nhằm thu được sản phẩm PCR đặc hiệu.

3.2.2. Kết quả giải trình tự vùng ITS-rDNA của các mẫu nấm Cordyceps nghiên cứu

3.2.2.1. Kết quả so sánh trình tự vùng ITS1-5,8S-ITS2 ở các mẫu nghiên cứu

Sản phẩm PCR sau khi được tinh sạch, được giải trình tự tại công ty Macrogen (Hàn Quốc). Kết quả giải trình tự được vùng ITS1-5,8S-ITS2 của các mẫu nghiên cứu được tiến hành so sánh với nhau được thể hiện trong Hình 3.





Hình 3. Trình tự sắp xếp nucleotide vùng ITS1-5,8S-ITS2 của các mẫu nấm *Cordyceps* nghiên cứu

Đoạn khuếch đại của các mẫu nấm *Cordyceps* G3, Q1 và Q2 lần lượt có 501,

502 và 484 nucleotide. Kết quả so sánh trình tự các nucleotide (Hình 3) cho thấy sự khác biệt giữa các trình tự, chủ yếu là các vị trí đa hình đơn nucleotide (SNP), trong đó 1 nucleotide bị thay thế bởi một nucleotid khác hoặc thêm bớt trong trình tự vùng ITS -5,8S- ITS2 ở các mẫu nấm *Cordyceps* được khảo sát. Đặc biệt đoạn ITS1 -5,8S- ITS2 của mẫu nấm Q2 được khuếch đại bởi môi ITS4/ITS5 khuyết đoạn 18 nucleotide vùng 471-500 so với hai mẫu nấm còn lại.

Khảo sát thành phần nucleotide thuộc các trình tự ITS1-5,8S-ITS2 của 3 mẫu nấm thu thập được trình bày trong Bảng 4.

Bảng 4. Thành phần bốn loại nucleotide của 3 mẫu nấm thu thập nghiên cứu

Stt	Mẫu nấm	%T	%C	%G	%A	%GC	%AT	Tổng số Nu
1	Q1	22,71	26.69	30.878	19.522	57,57	42,23	502
2	Q2	21.69	27.69	31.405	19.215	59,09	40,91	484
3	G3	22.75	27.15	30.74	19.36	57,88	42,12	501

Kết quả ở bảng 4 cho thấy đoạn trình tự được khuếch đại bởi ITS4/ITS5 là tỉ lệ phần trăm từng nucleotit Guanin (G), Cytosine (C), Adenine (A) và Thymine (T); tỉ lệ phần trăm AT và GC của ba mẫu nghiên cứu không giống nhau. Các mẫu nghiên cứu đều có tỉ lệ %GC cao hơn tỉ lệ %AT. Mẫu nấm Q2 có thành phần (G+C) cao hơn hai mẫu còn lại (59,09%) và có thành phần (A+T) là thấp nhất (40,91%). Hai mẫu Q1 và G3 có sự chênh lệch không đáng kể về chỉ số này, 57,57% và 57,88%.

Mức độ tương đồng về trình tự nucleotide trong vùng ITS1-5,8S-ITS2 giữa các mẫu khảo sát còn được đánh giá ở hệ số tương đồng (Bảng 5).

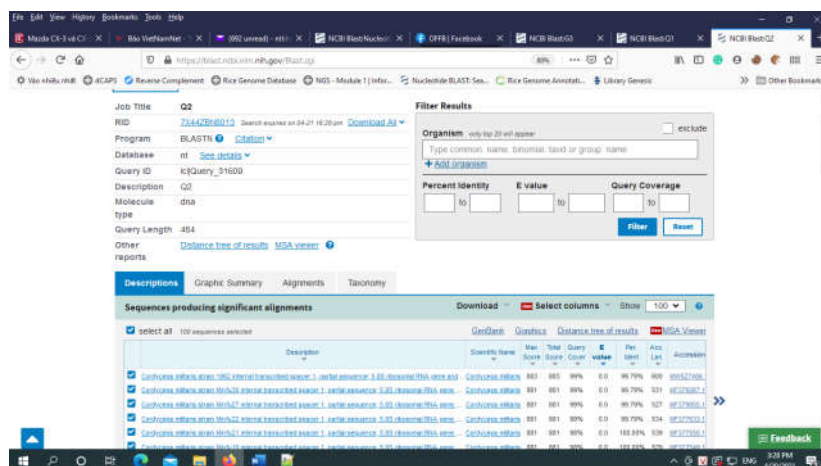
Bảng 5. Hệ số tương đồng của từng cặp mẫu

	1	2	3
G3		0.02	0.03
Q1	97.81		0.01
Q2	93.44	95.23	

Kết quả phân tích hệ số tương đồng của từng cặp mẫu ở bảng 5 cho thấy các mẫu nấm thu thập từ các cơ sở nuôi cấy có sự tương đồng di truyền rất cao. Hệ số tương đồng cao nhất là 97.81% và hệ số thấp nhất là 93.44%. Khoảng cách di truyền dao động từ 0.01 đến 0.03. Đặc điểm phân tử này cho thấy ba nhóm mẫu nấm có quan hệ họ hàng rất gần gũi. Tuy nhiên sự khác nhau và biến động di truyền trong vùng ITS1-5,8S-ITS2 đó thể hiện sự đa dạng của các mẫu nghiên cứu.

Kết quả so sánh trình tự các nucleotide (Hình 3), thành phần bốn loại nucleotit (Bảng 4) và hệ số tương đồng của từng cặp mẫu (Bảng 5) cho thấy các mẫu nấm *Cordyceps* thu thập từ các hộ nuôi cấy khác

nhau có mức độ tương đồng di truyền cao. Khi so sánh đoạn trình tự này của các mẫu trên cơ sở dữ liệu gene NCBI đã khẳng định được cả ba mẫu đều thuộc loài nấm đông trùng hạ thảo *Cordyceps militaris*.

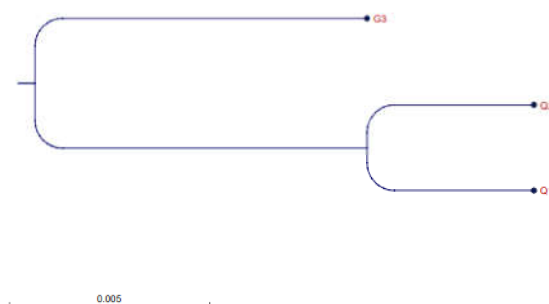


Hình 4. So sánh đoạn trình tự của mẫu Q2 trên cơ sở dữ liệu gene NCBI

3.2.2.2. Kết quả xây dựng cây quan hệ phát sinh giữa các mẫu nghiên cứu dựa trên trình tự nucleotid vùng ITS1-rRNA-ITS2

Để thấy rõ được mối quan hệ chủng loại giữa ba mẫu nấm chúng tôi tiến

hành dựng cây quan hệ phát sinh bằng phần mềm Mega 6.0 theo phương pháp Maximum Likelihood đối với trình tự nucleotid vùng ITS1-rRNA-ITS2 thu được kết quả ở hình 4.



Hình 5. Cây quan hệ phát sinh chủng loại giữa các mẫu nghiên cứu

Dựa vào kết quả phân tích cây quan hệ phát sinh trên hình 5 cho thấy ba mẫu nấm thu thập từ các nguồn thu thập khác nhau cùng thuộc loài nấm đông trùng hạ thảo *C. militaris* và được phân thành 2 nhánh. Nhánh thứ nhất gồm mẫu nấm Q1 và Q2. Nhánh thứ hai có mẫu nấm G3.

4. KẾT LUẬN

Nghiên cứu khảo sát hàm lượng các hợp chất cordycepin và adenosine của nấm *C. militaris* từ ba nguồn thu thập khác nhau là khác nhau. Hoạt chất cordycepin và adenosine của quả thể tươi mẫu nấm G3 có hàm lượng cao nhất 48,9mg/100g và

5.58mg/100g. Mẫu nấm Q1 có hàm lượng cordycepin là thấp nhất nhưng hàm lượng adenosine cao hơn so với hàm lượng chất này của Q2. Ngược lại với mẫu nấm Q1, hàm lượng adenosine của mẫu nấm Q2 là thấp nhất và hàm lượng cordycepin của mẫu nấm Q2 cao hơn chỉ số này của mẫu nấm Q1.

Dựa vào phân tích trình tự nucleotide vùng *ITS1-rRNA-ITS2* cho thấy cả ba mẫu nấm có đặc điểm di truyền khác nhau. Song chúng có mức độ tương đồng di truyền rất cao. Khi đem so sánh trên cơ sở dữ liệu gene NCBI cho thấy cả ba mẫu đều thuộc cùng một loài nấm đông trùng hạ thảo *Cordyceps militaris* và phân chia thành 2 nhánh có một gốc chung. Trong đó mẫu nấm G3 tách thành nhánh riêng rẽ. Kết quả nghiên cứu cho thấy dưới cùng một điều kiện nuôi cấy mà đặc điểm di truyền ở từng chủng giống *Cordyceps militaris* khác nhau có thể ảnh hưởng tới chất lượng của nấm ở hàm lượng Cordycepins và adenosine. Mẫu nấm G3 có hàm lượng cordycepine (48,9 mg/100g) và adenosine (5,58 mg/100g) cao nhất có thể là nguồn chủng giống tiềm năng để lưu trữ, nhân giống nhằm phục vụ công tác thương mại hóa sản phẩm trong tương lai.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Đỗ Thị Gấm, Dương Hương Quỳnh, Phan Thị Lan Anh, Nguyễn Hoàng Dương, Đỗ Thị

Kim Hoa (2019) Đánh giá ảnh hưởng của ánh sáng LED nông nghiệp đến quá trình nuôi cấy in vitro nấm đông trùng hạ thảo *Cordyceps militaris* (Link.) Fries. Tạp chí Công nghệ sinh học 17 (3) 473-481; 2019

2. Nguyễn Thị Liên Thương, Trịnh Diệp Phương Danh và Nguyễn Văn Hiệp 2016 *Nấm đông trùng hạ thảo Cordyceps militaris*: Đặc điểm sinh học, giá trị dược liệu và các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình nuôi trồng nấm. Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ 44 (2016): 9-22

3. Phạm Thị Lan, Đỗ Hải Lan, Nguyễn Thị Hồng Hạnh, Bạc Thị Thu, Phạm Văn Nhã (2016) *Nghiên cứu ảnh hưởng của nhiệt độ và ánh sáng tới sinh trưởng, phát triển và hàm lượng hoạt chất cordycepin của nấm Cordyceps militaris* NBRC 100741 trên nhộng tằm. Tạp chí Khoa học ĐHQGHN: Khoa học Y Dược, Tập 32, Số 2 (2016) 63-72

4. Nguyễn Thị Thanh Mai, Trần Bảo Trâm, Trương Thị Chiên, Nguyễn Thị Hiền, Nguyễn Thị Phương Trang, Mai Thị Đàm Linh (2017) Đặc điểm sinh học, giá trị dược liệu và các phương pháp nuôi trồng nấm đông trùng hạ thảo *Cordyceps militaris*. Báo cáo Khoa học về sinh thái và tài nguyên sinh vật – Hội nghị Khoa học Toàn quốc lần thứ 7 (ISBN: 978- 604-913-615-3): 1720-1730.

5. Lei Huang, Qizhang Li, Yiyuan Chen, Xuefei Wang and Xuanwei Zhou (2009) *Determination and analysis of cordycepin and adenosine in the products of Cordyceps spp.* African Journal of Microbiology Research Vol. 3(12) pp. 957-961 December, 2009.