

ĐẶC ĐIỂM HÌNH THÁI, KHẢ NĂNG SINH TRƯỞNG VÀ SINH TỔNG HỢP CYCOOLIGOMER DEPSIPEPTIDES CỦA CHŨNG NẤM *CORDYCEPS* SP. CPA14V

Nguyễn Thị Thùy Vân^{(1),(2)}, Nguyễn Đình Việt⁽¹⁾, Dương Minh Lam⁽¹⁾

¹ Trường Đại học Sư phạm Hà Nội, 136 Xuân Thủy, Cầu Giấy, Hà Nội

² Học viện Cảnh sát nhân dân, Cổ Nhuế 2, Bắc Từ Liêm, Hà Nội

Ngày nhận bài 28/01/2021, ngày nhận đăng 22/3/2021

Tóm tắt: Cyclooligomer depsipeptides (CODs) đã và đang được sử dụng trong nhiều lĩnh vực khoa học công nghệ khác nhau. Tuy nhiên, những nghiên cứu và ứng dụng CODs từ nấm kí sinh côn trùng ở Việt Nam vẫn còn rất mới mẻ. Trong nghiên cứu này, chúng tôi đã phân lập được chủng nấm *Cordyceps* sp. CPA14V từ mẫu côn trùng thu được từ Khu bảo tồn thiên nhiên Copia - Sơn La. Chủng nấm *Cordyceps* sp. CPA14V có khả năng sinh tổng hợp CODs tốt. Môi trường phù hợp cho quá trình sinh tổng hợp CODs có thành phần sucrose 30g/L; NaNO₃ 3g/L; KH₂PO₄ 1g/L; MgSO₄.7H₂O 0,5 g/L; KCl 0,5g/L; FeSO₄.7H₂O 0,01g/L. Hàm lượng CODs tích lũy trong sinh khối tế bào cao nhất trong khoảng từ 6-8 ngày, ngày thứ 6 đạt 6,45 mg/g. Với khả năng sinh tổng hợp CODs cao, chủng nấm *Cordyceps* sp. CPA14V có nhiều tiềm năng ứng dụng, cần được tiếp tục nghiên cứu định loại và các điều kiện phù hợp cho công nghệ sản xuất CODs.

Từ khóa: Nấm kí sinh côn trùng; *Cordyceps*; Cyclooligomer depsipeptides; Copia.

1. Mở đầu

Cyclooligomer depsipeptides (CODs) là các nonribosomal peptides đặc biệt thuộc các nhóm hợp chất peptolides tuần hoàn. CODs dùng để mô tả các peptide vòng, trong đó mỗi vòng là các amino acid và các hydroxy-acid liên kết với nhau bằng các liên kết amide và liên kết ester [1, 2]. Thông thường cyclooligomer depsipeptides gồm 2, 3 hoặc 4 đơn phân. Trong đó mỗi đơn phân được cấu tạo bởi ít nhất một 2-hydroxycarboxylic acid và một 2-amino acid [15]. CODs là hoạt chất tự nhiên được tìm thấy ở một số loại nấm, đặc biệt là nấm kí sinh côn trùng thuộc các chi như *Beauveria*, *Fusarium*, *Isaria*, *Metarhizium*, *Cordyceps* [18].

CODs từ nấm có phổ hoạt tính sinh học rộng như khả năng gây độc tế bào [16], kháng virus [7], diệt côn trùng [20], chống sốt rét [6], kháng khối u [10], hạn chế sự hình thành các amyloid ở người bệnh Alzheimer [5]. Các nghiên cứu gần đây cũng cho thấy khả năng ức chế của CODs đối với các dòng ung thư khác nhau ở người [4, 11, 19]. Hiện nay, các hoạt chất CODs từ nấm kí sinh côn trùng được coi là nguồn nguyên liệu tự nhiên mới có tiềm năng ứng dụng trong y dược.

Ở Việt Nam, đã có một số nghiên cứu về nấm kí sinh côn trùng. Tuy nhiên, có ít nghiên cứu về CODs và ứng dụng của CODs. Hầu hết nghiên cứu tập trung vào sử dụng sinh khối nấm kí sinh côn trùng để sản xuất các chế phẩm ứng dụng làm thuốc trừ sâu sử dụng trong lĩnh vực nông nghiệp. Nghiên cứu về CODs từ nấm kí sinh côn trùng và ứng dụng của CODs trong các lĩnh vực khác vẫn là vấn đề mới và cần được quan tâm nghiên cứu.

Ở nấm kí sinh côn trùng, đặc điểm hình thái tế bào, đặc điểm nuôi cấy của các chủng nấm trong giai đoạn sinh sản vô tính là dữ liệu có giá trị trong định loại. Tuy nhiên, trong hơn 2 thập kỉ gần đây, nghiên cứu định loại nấm nói chung, nấm kí sinh côn trùng nói riêng cần nhiều dữ liệu phân tử, cùng với đặc điểm hình thái và hóa sinh để có kết quả đáng tin cậy hơn [3, 13].

Việt Nam có mức độ đa dạng sinh học cao. Tuy nhiên, hiện nay những hiểu biết của chúng ta về nấm và những tiềm năng ứng dụng của nấm còn hạn chế. Trong bài báo này, chúng tôi tập trung nghiên cứu đặc điểm hình thái, khả năng sinh trưởng và sinh tổng hợp CODs của chủng nấm kí sinh côn trùng *Cordyceps* sp. CPA14V. Kết quả nghiên cứu này góp phần cung cấp những hiểu biết về CODs và tiềm năng sinh tổng hợp CODs của các chủng nấm của Việt Nam.

2. Phương pháp nghiên cứu

- Mẫu vật: Mẫu nấm kí sinh côn trùng trên kí chủ thuộc bộ Blattodea, được thu thập từ Khu bảo tồn thiên nhiên Cópia - Sơn La, ngày 24 tháng 12 năm 2016 và đang được lưu giữ tại Bộ môn Công nghệ sinh học - Vi sinh, Trường Đại học Sư phạm Hà Nội.

- Phân lập: Mẫu côn trùng được loại bỏ đất, sau đó cắt một phần mẫu khoảng 1-2 cm mọc trên kí chủ khử trùng bề mặt bằng cách ngâm trong dung dịch natri hypoclorit 1% trong 2 phút và được rửa lại bằng nước vô trùng 05 lần, sau đó được để trong cối sứ vô trùng. Bổ sung 45 ml nước cất vô trùng vào cối sứ. Mẫu nấm được nghiền đến khi tạo thành dạng huyền phù. 0,1 ml dịch huyền phù được hút và trải đều trên các đĩa Petri chứa môi trường Sabouraud vô trùng (40 g/L glucose; 20 g/L peptone; 20 g/L agar; 0,2 g/L chloramphenicol; pH = 5,6). Phần kí chủ còn lại được ngâm trong dung dịch natri hypoclorit 1% trong 2 phút sau đó lấy phần hệ sợi nấm bên trong kí chủ ra và cấy trên môi trường Sabouraud vô trùng. Các đĩa nấm được nuôi cấy ở 25 - 28 °C và quan sát đặc điểm trong khoảng thời gian từ 3 - 14 ngày. Các khuẩn lạc nấm riêng rẽ được tách và lưu giữ trong môi trường Sabouraud để sử dụng cho các nghiên cứu tiếp theo [12].

- Lựa chọn môi trường lên men thu nhận CODs: Chủng nấm đã được hoạt hóa 36 giờ trong môi trường Sabouraud, ở 25 °C, lắc 150 vòng/phút được bổ sung (5% v/v) vào các bình tam giác 1,0 lít chứa 600 ml môi trường dịch chiết khoai tây (PBG: dịch chiết khoai tây 250 g/L; glucose 20 g/L); môi trường Sabouraud (SBR: glucose 40 g/L; pepton 10 g/L); môi trường khoáng tối thiểu (MM: glucose 20 g/L; cao nấm men 1 g/L; NH₄NO₃ 3 g/L; KH₂PO₄ 0,5 g/L; MgSO₄.7H₂O 0,5 g/L, CaCl₂ 0,5 g/L), môi trường Czapek-Dox (CzD: sucrose 30 g/L; NaNO₃ 3,5 g/L; K₂HPO₄ 1,5 g/L; MgSO₄.7H₂O 0,5 g/L; FeSO₄.7H₂O 0,1 g/L, KCl 0,5 g/L); môi trường xác định fusarium (FDM: sucrose 25 g/L; NaNO₃ 4,25 g/L; K₂HPO₄ 1,36 g/L; MgSO₄.7H₂O 2,5 g/L; FeSO₄.7H₂O 0,01 g/L, sZnSO₄.7H₂O 0,029 g/L, NaCl 5 g/L). Nấm được nuôi trong điều kiện lắc với tốc độ 150 vòng/phút ở nhiệt độ 25 °C trong vòng 12 ngày. Lượng sinh khối tế bào và CODs được xác định mỗi ngày, bước nhảy 24 giờ.

- Xác định khối lượng tế bào khô (CDW): Các ống eppendorf 2 ml được đánh số thứ tự, sấy khô đến khối lượng không đổi và cân để xác định khối lượng ban đầu (M₀) của từng eppendorf. Mẫu nấm ở mỗi môi trường nuôi cấy được hút 1,5 ml và cho vào ống eppendorf, sau đó được li tâm 12000 v/p trong 5 phút. Dịch thể được loại bỏ và giữ lại sinh khối, 1,5 ml dịch nuôi cấy được bổ sung và li tâm. Sinh khối kết tủa được rửa bằng nước cất, sau đó được đông khô đến khối lượng không đổi. Khối lượng sau đông

khô của ống và sinh khối là (M_1). Mỗi mẫu nghiên cứu được lặp lại 3 lần. Khối lượng tế bào khô (CDW) được tính theo công thức:

$$CDW (g/L) = (M_1 - M_0)/3 \times 1000.$$

- Định lượng CODs: Hàm lượng CODs tích lũy trong tế bào được xác định bằng máy sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC) sử dụng cột hypersil BDS-C18 và hệ dung môi acetonitril-nước. Phân tích được thực hiện với tốc độ dòng 0,3 ml/phút với gradient nước-acetonitril, bắt đầu từ acetonitril-nước (15:85) tới 100% acetonitril trong 40 phút, duy trì 100% acetonitril trong 5 phút, trước khi quay trở lại điều kiện bắt đầu trong 8 phút và cân bằng trong 5 phút. Bước sóng đầu dò: 203 nm [14]. Beauvericin tinh sạch (Sigma - Mỹ) được sử dụng để xây dựng đồ thị chuẩn.

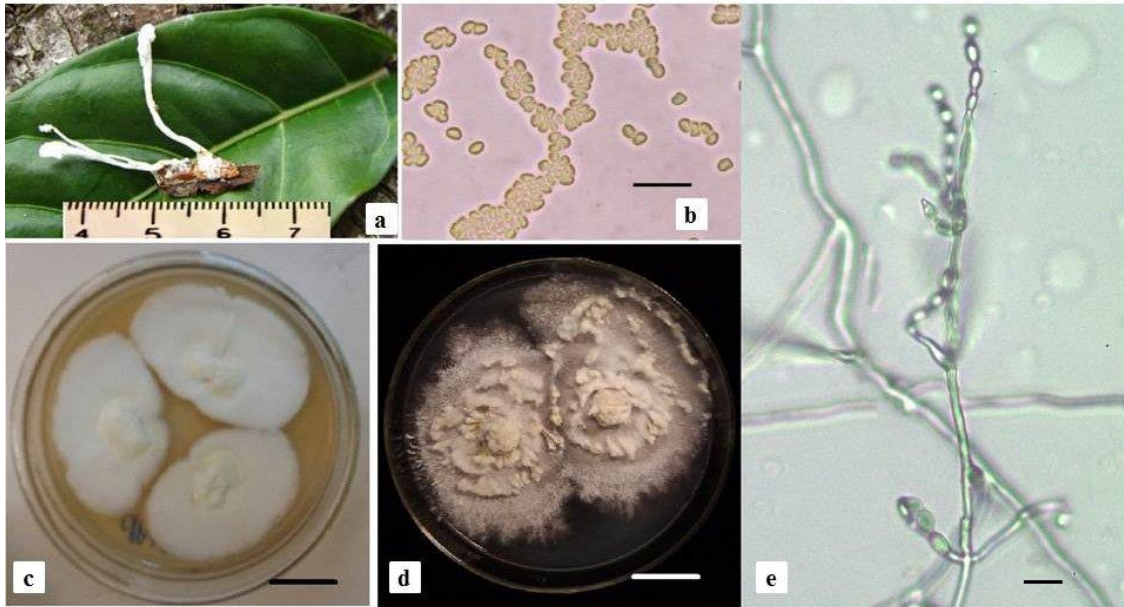
- Xử lý số liệu thống kê: Số liệu được xử lý bằng Microsoft Office Excel 2013 and SPSS 20.

3. Kết quả nghiên cứu

3.1. Phân lập chủng nấm *Cordyceps sp. CPA14V*

Chủng nấm *Cordyceps sp. CPA14V* được phân lập từ mẫu nấm kí sinh trên bộ *Blattodea* thu được tại Khu bảo tồn thiên nhiên Cópia - Sơn La (Hình 1a).

Trạng thái vô tính ngoài tự nhiên: Bó sợi mọc thẳng, đơn độc, màu trắng kích thước 2,5 - 3 cm, phần đỉnh có phân nhánh kích thước 0,5 - 0,7 cm, có lớp bào tử dạng bột mịn, màu trắng. Các bào tử không có màng bao bọc, hình oval, kích thước 2,5 - 3 μ m, bào tử không bắt màu với thuốc nhuộm Melzer's (Hình 1a, 1b).



Hình 1: a) Trạng thái vô tính ngoài tự nhiên của chủng nấm *Cordyceps sp. CPA14V*; b) Bào tử chủng *Cordyceps sp. CPA14V*; c) Khuẩn lạc chủng *Cordyceps sp. CPA14V* trên môi trường Sabouraud; d) Khuẩn lạc chủng *Cordyceps sp. CPA14V* trên môi trường Czapek-Dox; e) Bào tử và cuống sinh bào tử chủng *Cordyceps sp. CPA14V* trên môi trường Czapek-Dox (scale bar: b,e=10 μ m; c,d=2cm)

Đặc điểm nuôi cấy: Trên môi trường Sabouraud, khuẩn lạc nấm bông, dày, mịn, các sợi có màu trắng đục. Trên môi trường Czapek-Dox, khuẩn lạc có màu trắng, sau 20 ngày nuôi cấy ở điều kiện 25 °C chiếu sáng 12 giờ hình thành bó sợi và bào tử vô tính (Hình 1b, 1d). Thể bình phình to thuôn dài có dạng cổ hẹp, kích thước 5-11,5 μm x 1,3-3,0 μm. Bào tử đính dạng chuỗi trên đó có các bào tử vô tính hình oval kích thước 2,5 - 3 μm (Hình 1e).

Đặc điểm hình thái trạng thái sinh sản vô tính của chủng nấm CPA14V đã phân lập giống với các đặc điểm của chi *Paecoelomyces*, một trong những chi nấm ở trạng thái vô tính của các loài *Cordyceps* [21].

3.2. Khả năng sinh trưởng của chủng nấm *Cordyceps* sp. CPA14V trong 5 loại môi trường nghiên cứu

Trong 05 loại môi trường nuôi cấy khác nhau (môi trường PGB, môi trường Sabouraud (SBR), môi trường MM, môi trường Czapek-Dox (CzD), môi trường FDM), chủng *Cordyceps* sp. CPA14V đều có khả năng sinh trưởng và sinh CODs. Kết quả nghiên cứu về khả năng sinh trưởng được thể hiện trong Bảng 1 và khả năng sinh CODs được thể hiện trong Bảng 2.

Bảng 1: Khả năng sinh trưởng của chủng nấm *Cordyceps* sp. CPA14V trong 05 loại môi trường nghiên cứu

Thời gian nuôi cấy (ngày)	Khối lượng tế bào khô (g/L)				
	PBG	SBR	MM	CzD	FDM
1	2,6 ^d ± 0,082	2,11 ^c ± 0,055	2,91 ^e ± 0,014	0,89 ^a ± 0,014	1,09 ^b ± 0,041
2	6,75 ^e ± 0,014	4,99 ^d ± 0,068	3,96 ^c ± 0,055	2,96 ^a ± 0,042	3,57 ^b ± 0,028
3	9,44 ^e ± 0,069	6,65 ^d ± 0,014	5,52 ^b ± 0,014	4,4 ^a ± 0,136	6,08 ^c ± 0,068
4	9,42 ^d ± 0,022	7,68 ^c ± 0,122	6,87 ^b ± 0,055	5,43 ^a ± 0,028	7,5 ^c ± 0,124
5	9,89 ^e ± 0,069	8,8 ^d ± 0,124	7,81 ^c ± 0,082	5,82 ^a ± 0,095	7,33 ^b ± 0,082
6	10,23 ^e ± 0,109	9,84 ^d ± 0,097	7,23 ^a ± 0,082	8,06 ^b ± 0,069	8,59 ^c ± 0,096
7	11,55 ^d ± 0,041	11,81 ^d ± 0,136	7,14 ^a ± 0,125	8,71 ^b ± 0,191	9,09 ^c ± 0,095
8	11,85 ^d ± 0,014	12,76 ^e ± 0,027	7,16 ^a ± 0,055	8,43 ^b ± 0,178	9,11 ^c ± 0,136
9	11,48 ^d ± 0,014	14,07 ^e ± 0,055	6,86 ^a ± 0,055	8,27 ^b ± 0,028	8,62 ^c ± 0,095
10	11,47 ^c ± 0,055	15,36 ^d ± 0,151	6,66 ^a ± 0,055	8,2 ^b ± 0,028	8,01 ^b ± 0,041
11	11,07 ^d ± 0,021	15,43 ^e ± 0,082	6,63 ^a ± 0,109	7,03 ^b ± 0,027	7,97 ^c ± 0,036
12	10,88 ^d ± 0,041	15,29 ^e ± 0,357	6,62 ^a ± 0,063	7,15 ^b ± 0,095	8,17 ^c ± 0,028

Ghi chú: So sánh giữa các công thức trong cùng một hàng, các chữ cái khác nhau (a, b, c, d, e...) thể hiện sự sai khác có ý nghĩa thống kê ở mức α=0,05 với độ tin cậy 95%

Môi trường PGB và Sabouraud là hai loại môi trường phù hợp cho sự sinh trưởng của chủng *Cordyceps* sp. CPA14V. Trong 3 ngày nuôi cấy đầu tiên, tốc độ sinh trưởng của chủng nghiên cứu ở môi trường PGB vượt trội so với các môi trường còn lại, sinh khối khô đạt 9,44 g/L; tiếp theo là môi trường Sabouraud, đạt 6,65 g/L. Tuy nhiên, sinh

khối tích lũy của chủng nghiên cứu là gần bằng nhau ở 02 loại môi trường PGB và Sabouraud vào ngày thứ 6 của quá trình nuôi cấy, đạt lần lượt ở môi trường PGB và Sabouradu là 10,23 g/L và 9,84 g/L. Đến ngày thứ 7 của quá trình nuôi cấy, sinh khối tích lũy trong môi trường Sabouraud là cao nhất, đạt 11,81 g/L; tiếp tục tăng cho tới ngày nuôi cấy thứ 10, đạt 15,36 g/L và duy trì khá ổn định cho tới ngày thứ 12 của quá trình nghiên cứu. Trong khi đó, ở 04 môi trường nghiên cứu còn lại, sinh khối của chủng *Cordyceps* sp. CPA14V đạt cực đại vào ngày thứ 7-8 lần lượt ở các môi trường PGB, FDM, CzD và MM là 11,85 g/L; 9,11 g/L; 8,71 g/L và 7,16 g/L; biểu hiện sự suy giảm chậm ở các ngày tiếp theo (Hình 2). Mặc dù Sabouraud là môi trường phù hợp cho sinh trưởng của chủng nghiên cứu nhưng lượng sinh khối tích lũy cực đại thấp hơn so với khả năng sinh trưởng của *Cordyceps militaris*, một trong những loài nấm được nghiên cứu nhiều, đạt $16,7 \pm 1,3$ g/L [17].

Bảng 2: Khả năng sinh tổng hợp CODs của chủng nấm *Cordyceps* sp. CPA14V trong 05 loại môi trường nghiên cứu

Thời gian nuôi cấy (ngày)	Hàm lượng CODs (mg/g)				
	PBG	SBR	MM	CzD	FDM
1	0,438 ^b ± 0,147	0,141 ^a ± 0,012	0 ^a ± 0,000	0 ^a ± 0,000	0,035 ^a ± 0,013
2	0,125 ^{ab} ± 0,009	0,077 ^a ± 0,003	0,101 ^{ab} ± 0,002	0 ^a ± 0,000	0,326 ^b ± 0,214
3	0,204 ^a ± 0,036	0,083 ^a ± 0,013	0,35 ^a ± 0,385	0,111 ^a ± 0,008	0,07 ^a ± 0,035
4	0,057 ^a ± 0,023	0,047 ^a ± 0,001	0,373 ^a ± 0,413	0,11 ^a ± 0,065	0,044 ^a ± 0,032
5	0,382 ^a ± 0,026	0,641 ^a ± 0,021	0,121 ^a ± 0,040	2,17 ^b ± 0,844	0,13 ^a ± 0,036
6	0,809 ^a ± 0,265	4,306 ^b ± 0,171	0,16 ^a ± 0,088	6,452 ^c ± 0,406	0,186 ^a ± 0,004
7	0,785 ^a ± 0,252	3,139 ^b ± 0,444	0,24 ^a ± 0,029	5,537 ^c ± 0,307	0,116 ^a ± 0,029
8	0,379 ^a ± 0,042	2,51 ^b ± 0,396	0,051 ^a ± 0,037	5,334 ^c ± 0,210	1,685 ^b ± 0,530
9	0,382 ^a ± 0,088	2,472 ^b ± 0,970	0,21 ^a ± 0,141	1,666 ^{ab} ± 0,801	0,501 ^a ± 0,279
10	0,055 ^a ± 0,008	0,22 ^a ± 0,011	0,202 ^a ± 0,146	1,522 ^b ± 0,225	0,201 ^a ± 0,019
11	0,02 ^a ± 0,008	0,197 ^a ± 0,010	0,012 ^a ± 0,005	2,385 ^b ± 0,193	0,181 ^a ± 0,004
12	0,006 ^a ± 0,045	0,094 ^a ± 0,069	0,104 ^a ± 0,037	2,3 ^b ± 0,644	0,477 ^a ± 0,162

Ghi chú: So sánh giữa các công thức trong cùng một hàng, các chữ cái khác nhau (a, b, c...) thể hiện sự sai khác có ý nghĩa thống kê ở mức $\alpha=0,05$ với độ tin cậy 95%

3.3. Khả năng sinh tổng hợp CODs của chủng nấm *Cordyceps* sp. CPA14V trong 05 loại môi trường nghiên cứu

Chủng *Cordyceps* sp. CPA14V có khả năng sinh tổng hợp CODs ở tất cả 05 loại môi trường được sử dụng trong nghiên cứu này. Tuy nhiên, CODs được hình thành và tích lũy nhiều nhất trong tế bào khi nuôi cấy trong môi trường Czapek-Dox vào ngày thứ 6 của quá trình nuôi cấy, đạt 6,45 mg/g và duy trì nồng độ cao trong hai ngày tiếp theo, đạt lần lượt là $5,537 \pm 0,307$ mg/g và $5,334 \pm 0,210$ mg/g. Hàm lượng CODs giảm nhanh chóng ở ngày thứ 9, chỉ đạt $1,666 \pm 0,801$ mg/g (chỉ bằng 25,8% so với hàm lượng CODs ở ngày thứ 6). Trong môi trường Sabouraud, hàm lượng CODs tích lũy trong tế bào đạt giá trị cao nhất ($0,809 \pm 0,265$ mg/g) ở ngày thứ 6, thứ 7. Khả năng sinh tổng hợp CODs

của chủng *Cordyceps* sp. CPA14V tương đối thấp khi được nuôi cấy trong môi trường PGB, môi trường MM và môi trường FDM. Sau 24 giờ nuôi cấy, mặc dù sinh khối chưa nhiều nhưng ở các môi trường PGB, Sabouraud và FDM đã có sự hình thành và tích lũy CODs. CODs được phát hiện ở môi trường MM sau 48 giờ và trong môi trường CzD sau 72 giờ nuôi cấy. Ở cả 05 loại môi trường nuôi cấy, lượng CODs cao nhất được xác định ở thời điểm 01 ngày trước khi sinh khối đạt cực đại và duy trì nồng độ cao trong 2 - 3 ngày, sau đó giảm đột ngột về giá trị thấp, mặc dù sinh khối khá ổn định hoặc giảm chậm trong các ngày tiếp theo. Kết quả nghiên cứu này rất có ý nghĩa cho các nghiên cứu tìm điều kiện tối ưu cho chủng sinh tổng hợp CODs cũng như nghiên cứu quá trình thu nhận và tinh sạch sản phẩm.

Kết quả nghiên cứu về đặc điểm hình thái của trạng thái vô tính ngoài tự nhiên và đặc điểm nuôi cấy cho thấy chủng phân lập được thuộc chi *Cordyceps*, một trong những chi nấm có nhiều loài có giá trị quý. Trong nghiên cứu này, chủng *Cordyceps* sp. CPA14V sinh trưởng tốt trong môi trường Sabouraud và tích lũy CODs cao khi nuôi cấy trong môi trường Czapek-Dox. Đây là những kết quả có ý nghĩa cho công nghệ. Khả năng sinh tổng hợp CODs của chủng CPA14V đạt $6,452 \pm 0,406$ mg/g, tương ứng với trên 64 mg/L là tốt và cao hơn kết quả nghiên cứu đã được công bố trước đây (khi tính toán hiệu suất trên 1 lít môi trường) của chủng *Fusarium sambucinum* ITEM-846 đạt 0,23 mg/g [8], chủng *Cordyceps takaomontana* BCC1409 đạt 16,2 mg/L; chủng *Isaria tenuipes* BCC1382 đạt 32,2 mg/L [9].

4. Kết luận

Chủng nấm *Cordyceps* sp. CPA14V được phân lập từ mẫu nấm kí sinh côn trùng từ khu bảo tồn thiên nhiên Cobia - Sơn La có khả năng sinh trưởng khá tốt và sinh tổng hợp CODs trong 05 môi trường nghiên cứu. Sabouraud là môi trường sinh trưởng phù hợp nhất với chủng nấm *Cordyceps* sp. CPA14V. Czapek-Dox là môi trường phù hợp nhất với chủng nấm *Cordyceps* sp. CPA14V để sinh tổng hợp CODs, ở 25 °C, thời gian nuôi cấy 6 ngày, tốc độ lắc 150 vòng/phút, đạt hàm lượng 6,45mg/g, sinh khối khô đạt 8,06g/L.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Calò L., Fornelli F., Ramires R., Nenna S., Tursi A., Caiaffa M. F., Macchia L., "Cytotoxic effects of the mycotoxin beauvericin to human cell lines of myeloid origin," *Pharmacological Research*. 49(1), pp. 73-77, 2004.
- [2] Cuomo V., Randazzo A., Meca G., Moretti A., Cascone A., Eriksson O., Novellino E., Ritieni A., "Production of enniatins A, A1, B, B1, B4, J1 by *Fusarium tricinctum* in solid corn culture: Structural analysis and effects on mitochondrial respiration," *Food Chemistry*. 140(4), pp. 784-793, 2013.
- [3] Das S., Deb B., "DNA barcoding of fungi using Ribosomal ITS Marker for genetic diversity analysis: a review," *Int. J. Pure Appl. Biosci.* 3, pp. 160-167, 2015.
- [4] Huang H., She Z., Lin Y., Vrijmoed L., Lin W., "Cyclic peptides from an endophytic fungus obtained from a mangrove leaf (*Kandelia candel*)," *Journal of Natural Products*. 70(11), pp. 1696-1699, 2007.

- [5] Huttunen H. J., Greco C., Kovacs D. M., “Knockdown of ACAT-1 reduces amyloidogenic processing of APP,” *FEBS Letters*. 581(8), pp. 1688-1692, 2007.
- [6] Isaka M., Yangchum A., Sappan M., Suvannakad R., Srikitikulchai P., “Cyclohexadepsipeptides from *Acremonium* sp. BCC 28424,” *Tetrahedron*. 67(41), pp. 7929-7935, 2011.
- [7] Liang X., Nong X.-H., Huang Z.-H., Qi S.-H., “Antifungal and antiviral cyclic peptides from the deep-sea-derived fungus *Simplicillium obclavatum* EIODSF 020,” *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 65(25), pp. 5114-5121, 2017.
- [8] Logrieco A., Moretti A., Castella G., Kosteci M., Golinski P., Ritieni A., Chelkowski J., “Beauvericin Production by *Fusarium* Species,” *Appl. Environ. Microbiol.* 64(8), pp. 3084-3088, 1998.
- [9] Luangsa-Ard J. J., Berkaew P., Ridkaew R., Hywel-Jones N. L., Isaka M., “A beauvericin hot spot in the genus *Isaria*,” *Mycological research*. 113(12), pp. 1389-1395, 2009.
- [10] Luque-Ortega J. R., Cruz L. J., Albericio F., Rivas L., “The antitumoral depsipeptide IB-01212 kills *Leishmania* through an apoptosis-like process involving intracellular targets,” *Molecular Pharmaceutics*. 7(5), pp. 1608-1617, 2010.
- [11] Lv F., Daletos G., Lin W., Proksch P., “Two new cyclic depsipeptides from the endophytic fungus *Fusarium* sp,” *Natural Product Communications*. 10(10), pp. 1667-1670, 2015.
- [12] Sangdee A., Sangdee K., “Isolation, identification, culture and production of adenosine and cordycepin from cicada larva infected with entomopathogenic fungi in Thailand,” *African Journal of Microbiology Research*. 7(2), pp. 137-146, 2013.
- [13] Schoch C. L., Seifert K. A., Huhndorf S., Robert V., Spouge J. L., Levesque C. A., Chen W., Consortium F. B., “Nuclear ribosomal internal transcribed spacer (ITS) region as a universal DNA barcode marker for Fungi,” *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 109(16), pp. 6241-6246, 2012.
- [14] Smedsgaard J., “Micro-scale extraction procedure for standardized screening of fungal metabolite production in cultures,” *Journal of Chromatography A*. 760(2), pp. 264-270, 1997.
- [15] Süßmuth R., Müller J., Von Döhren H., Molnár I., “Fungal cyclooligomer depsipeptides: from classical biochemistry to combinatorial biosynthesis,” *Natural Product Reports*. 28(1), pp. 99-124, 2011.
- [16] Tian J., Han J. J., Zhang X., He L. W., Zhang Y. J., Bao L., Liu H. W., “New cyclohexadepsipeptides from an entomogenous fungus *Fusarium proliferatum* and their cytotoxicity and autophagy-inducing activity,” *Chemistry & Biodiversity*. 13(7), pp. 852-860, 2016.
- [17] Wang C.-C., Wu J.-Y., Chang C.-Y., Yu S.-T., Liu Y.-C., “Enhanced exopolysaccharide production by *Cordyceps militaris* using repeated batch cultivation,” *Journal of Bioscience and Bioengineering*. 127(4), pp. 499-505, 2019.
- [18] Wang X., Gong X., Li P., Lai D., Zhou L., “Structural diversity and biological activities of cyclic depsipeptides from fungi,” *Molecules*. 23(1), tr. 169, 2018.

- [19] Wang Y., Ke A., Wang F., Zhang X., Fan Y., Lu X., Zheng Z., Jiang Q., Zhang H., Zhao B., "F04W2166A, a proteasome inhibitor from fungal metabolites," *Chin. J. Antibiot.* 9, pp. 662-666, 2011.
- [20] Zaher A. M., Makboul M. A., Moharram A. M., Tekwani B. L., Calderón A. I., "A new enniatin antibiotic from the endophyte *Fusarium tricinctum* Corda," *The Journal of Antibiotics.* 68(3), pp. 197, 2015.
- [21] Kepler R. M., Luangsa-Ard J. J., Hywel-Jones N. L., Quandt C. A., Sung G.-H., Rehner S. A., Aime M. C., Henkel T. W., Sanjuan T., Zare R., "A phylogenetically-based nomenclature for Cordycipitaceae (Hypocreales)," *IMA Fungus.* 8(2), pp. 335-353, 2017.

SUMMARY

MORPHOLOGICAL CHARACTERISTICS, GROWTH AND CYCLOOLIGOMER DEPSIPEPTIDES PRODUCING ABILITY OF *CORDYCEPS* SP. CPA14V

Nguyen Thi Thuy Van ^{(1),(2)}, Nguyen Dinh Viet ⁽¹⁾, Duong Minh Lam ⁽¹⁾

¹ Hanoi National University of Education, 136 Xuan Thuy, Cau Giay, Ha Noi

² The People's Police Academy, Co Nhue 2, Bac Tu Liem, Ha Noi

Received on 28/01/2021, accepted for publication on 22/3/2021

Cyclooligomer depsipeptides (CODs) has been applied in many different fields of science and technology. However, studies on CODs and application of CODs from entomopathogenic fungi in Vietnam are still new. In this paper, the *Cordyceps* sp. CPA14V strain was isolated from insect samples that were collected from Copia Nature Reserve - Son La. The strain *Cordyceps* sp. CPA14V produced and intracellularly accumulated CODs with relatively high concentration. The strain grew best on Sabouraud medium. CODs production was highest in Czapek-Dox medium, at the 6th day of incubation, reached 6.45 mg/g. Due to its ability to biosynthesize CODs, the strain *Cordyceps* sp. CPA14V has great potential of application. Further studies are needed to identify the strain *Cordyceps* sp. CPA14V to species and to optimize conditions for CODs production.

Keywords: Entomopathogenic fungi; *Cordyceps*; Cyclooligomer depsipeptides; Copia.