

TRUNG TÂM KHOA HỌC TỰ NHIÊN VÀ CÔNG NGHỆ QUỐC GIA
NATIONAL CENTRE FOR NATURAL SCIENCE AND TECHNOLOGY OF VIETNAM

ISSN 0866-7160

tạp chí
SINH HỌC

Journal of Biology

TẬP 23 - SỐ 1

THÁNG 3-2001

HÀ NỘI 36

CV 27

TẠP CHÍ
SINH HỌC

Tổng biên tập : ĐẶNG NGỌC THANH
Phó tổng biên tập : NGUYỄN TIẾN BÂN
LÊ XUÂN TÚ

HỘI ĐỒNG BIÊN TẬP

NGUYỄN TÁC AN, ĐÁI DUY BAN, LÝ KIM BẢNG,
NGUYỄN TIẾN BÂN, ĐOÀN CẢNH, VŨ QUANG CÔN,
PHẠM THỊ TRÂN CHÂU, NGUYỄN LÂN DŨNG, NÔNG
VĂN HẢI, TRƯƠNG NAM HẢI, ĐẶNG HUY HUỖNH,
NGUYỄN ĐĂNG KHÔI, NGUYỄN THỊ LÊ, PHAN KẾ LỘC,
NGUYỄN TÀI LƯƠNG, LÊ THỊ MUỘI, HOÀNG ĐỨC
NHUẬN, NGUYỄN HỮU PHỤNG, TRẦN DUY QUÝ, NGÔ
KẾ SƯƠNG, ĐẶNG NGỌC THANH, DƯƠNG ĐỨC TIẾN, LÊ
XUÂN TÚ, NGUYỄN VĂN UYẾN

Thư ký tòa soạn : **Trần Ngọc Trấn**

NĂM LOÀI MỚI THUỘC CHI RONG MƠ - *SARGASSUM* Ở VEN BIỂN VIỆT NAM

NGUYỄN HỮU DINH, HUỲNH QUANG NĂNG

Phân viện Khoa học vật liệu tại Nha Trang

Chi Rong mơ - *Sargassum* C. Ag. là một trong số các chi có số loài nhiều nhất trong khu hệ rong biển Việt Nam. Cho đến nay, mặc dù đã có nhiều kết quả về điều tra định loại chi này ở ven biển Việt Nam (Phạm Hoàng Hộ, 1967, 1969; Nguyễn Hữu Dinh, 1972; Nguyễn Hữu Dinh - Huỳnh Quang Năng, 1993, 1994, 1997; Nguyễn Hữu Đại, 1992, 1997) song vẫn chưa đầy đủ về mẫu vật cũng như về định loại.

Nhằm góp phần hoàn chỉnh dần về mặt định loại chi Rong mơ ở Việt Nam, căn cứ vào các mẫu vật thu được qua các đợt điều tra diện rộng ở ven biển miền Trung, đặc biệt trong các năm 1995-1998, cũng như các thông tin và kết quả mới nhất của thế giới về định loại chi Rong mơ, bài báo này mô tả và công bố 5 loài Rong mơ mới cho khoa học thu thập được ở ven biển miền Trung Việt Nam.

Các loài mới này đã được Giáo sư, Tiến sĩ Tăng Trình Khuê, Viện Hải Dương Thanh Đảo, Trung Quốc, một chuyên gia về định loại rong biển nói chung và chi Rong mơ nói riêng của Trung Quốc và thế giới, trực tiếp xem xét và đóng góp ý kiến.

1. *Sargassum tsengii* Nguyen H. D. et Huynh Q. N. sp. nov.

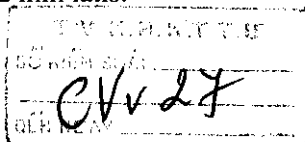
(Bản vẽ 1, hình 1-5)

Rong màu nâu đen, cao 7-25 cm. Bần bám xẻ thùy thành dạng rẽ giả. Thân chính dạng trụ tròn, dài 4-8 mm, đường kính 1,5-2 mm. Từ đỉnh mọc ra 3-4 nhánh chính, dạng trụ tròn, đường kính 1-1,2 mm, dài 10-24 cm; nhánh thứ cấp dạng trụ tròn, mọc chuyển với khoảng cách ngắn 3-15 mm, dài 4-6 cm, đường kính 0,5-0,7 mm, trên nhánh thứ cấp còn có nhánh chót rất nhỏ hoặc trực tiếp mọc dày các lá, thời sinh sản và có khi túi khí dạng lá. Lá trên nhánh chính dạng quạt, ôvan hay hình quả lê, dài 7-14 mm, rộng 6-8 mm, đầu tròn hoặc có bìa đúp mép có

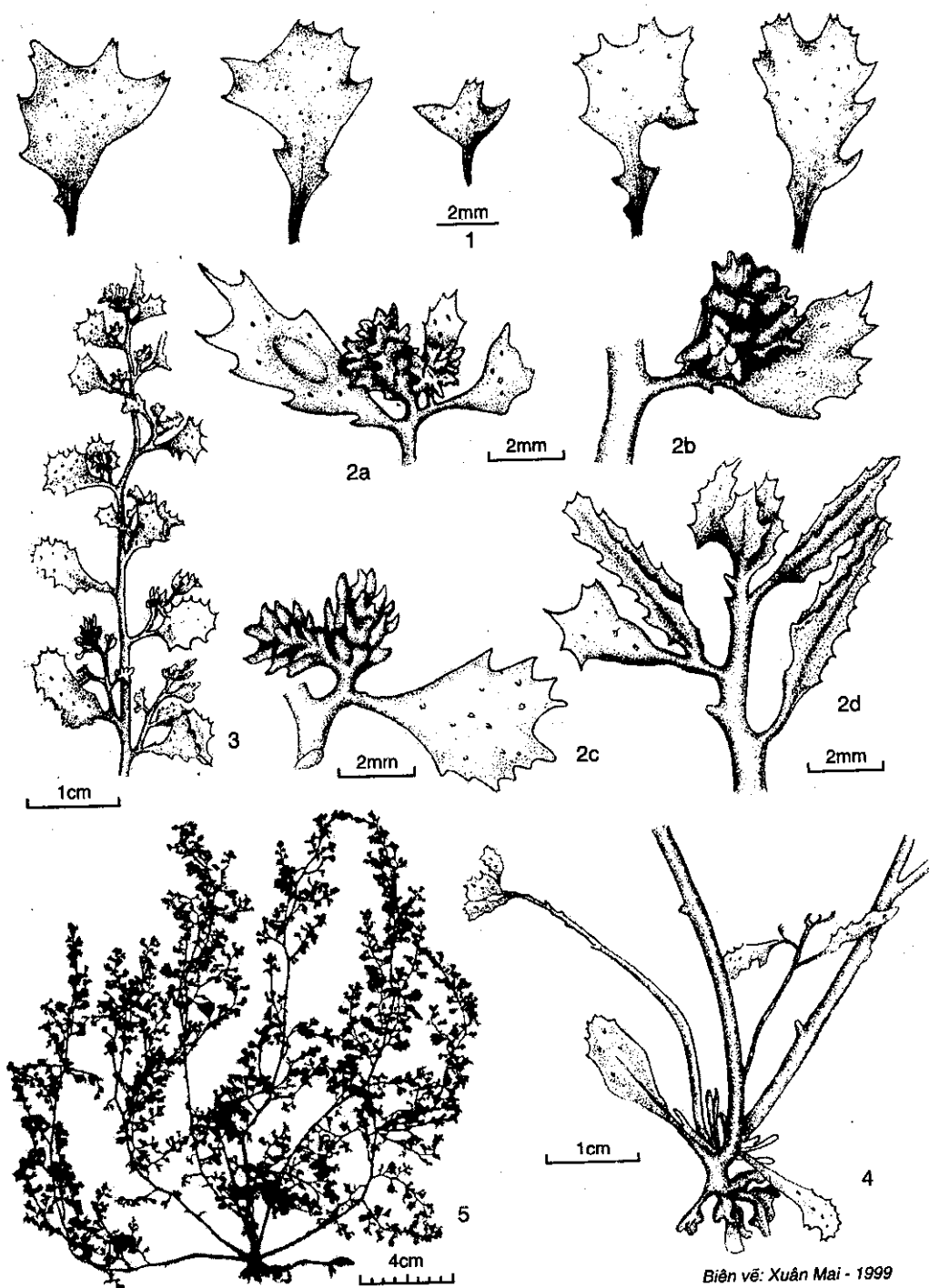
răng cưa nhọn, gốc không đối xứng, gân rõ nhưng không suốt đỉnh, ổ lông 2-3 hàng ở mỗi bên đường gân. Lá trên nhánh thứ cấp nhỏ, nhiều hình dạng khác nhau: loa kèn, elip, vĩ ruồi... dài 3-8 mm, rộng 2-7 mm, đầu tròn và có khi khuyết lõm, viền có răng cưa nhọn, gốc không đối xứng, không có đường gân, ổ lông rải rác. Túi khí dạng lá nhưng ít. Sinh sản hữu tính kiểu cây đực và cây cái riêng. Thoi sinh sản đực dạng tam lăng có gai, dài 2-7 mm, rộng 1-1,5 mm, không chia nhánh; thoi cái hình thù đặc biệt, giống như bông dứa, gai dài 2-3 mm, rộng 1,5-2 mm. Rong mọc trên đá vùng dưới triều, thu được ở bán đảo Phương Mai, Bình Định vào tháng 3-1997. Mẫu chuẩn mang số FMQ2-96 lưu giữ tại phòng mẫu rong biển - Phân viện Khoa học vật liệu tại Nha Trang. Loài mới này thuộc nhóm *Phyllocystum*, nó được tách khỏi các loài khác bằng các đặc tính: thoi sinh sản cái có hình búp hoa, bần bám dạng có rẽ giả và lá đa dạng.

Frons 12-55 cm longis, haptero scutelli-formis vel fibriformis, Caule brevissimo, 5-7 mm longis, tereti, laevi, 1,5-2 mm in diam; ramis primariis tetertis laevis ad 10-24 cm longis, 1-1,2 mm in diam; ramis securduriis cylindrici, 4-6 cm longis, 0,5-0,7 mm in diam; foliis basalibus ovalis vel flyswater formis, 7-14 mm longis, 6-8 mm latis, apicibus obtusia vel duplicatis prominentis-non percurrentis costatis, cryptosomatibus conspiciuis, denticularis ad marginem; foliis ad secudaros ramos noncostis, apicibus duplicatis, cryptosomatibus conspiciuis; vesiculis sparsis phyllocystibus.

Plantae dioeciae, receptaculis maribus, singulis, triquetris-ancipitis, conspicuo dentatis ad marginem, 2-7 mm longis, 1-1,5 mm latis; receptaculis foeminei tetragonici vel ananasformis, marginibus spinosis, 2-3 mm longis, 1,3-2 mm latis.



Specimen typicum FMQ2-96 ad Phuongmai, Beninsula, Binhding Province.



Bản vẽ 1. *Sargassum tsengii* Nguyen H. D. et Huynh Q. N.

H1: Các dạng lá, H2 (a, b): Thời sinh sản đực, H2 (c, d): Thời sinh sản cái,
H3: Phần ngọn của nhánh, H4: Phần gốc với bàn bám, H5: Hình dạng cây rộng

2. *Sargassum bangmeianae* Nguyen H. D et Huynh Q. N. sp. nov.

(Bản vẽ 2, hình 1-5)

Rong cao 40-80 cm hoặc có thể hơn. Bàn bám dạng phiến-chùy tròn, rộng tới 5 mm và sau đó xẻ thùy thành dạng hoa thị, sao biển, thành dạng rế giả, đường kính rế 0,5-1,5 mm. Thân chính rất ngắn, dạng trụ tròn, cao 2-3 mm, đường kính 2-2,5 mm; từ đỉnh thân chính mọc lên 1-4 hoặc nhiều hơn các nhánh chính, dài 40-80 cm, đường kính 0,7-1 mm, từ các nhánh này mọc chi chít các lá, túi khí và thoi sinh sản.

Lá phần gốc hình con thoi thon dài, gốc lá dạng cái chêm, đỉnh lá tròn tù, dài 15-25 mm, rộng 6-10 mm, gân biển mất từ phần giữa lá phía trên, mép lá nguyên hoặc có vài răng cưa, ổ lông xếp thành 2 hàng ở mỗi bên đường gân. Lá phần trên của thân hình con thoi hoặc lưỡi mác, dài 6-15 mm, rộng 1-5 mm, mép nguyên hoặc có ít răng cưa, ổ lông rải rác trên mặt lá. Túi khí có nhiều dạng, từ dạng lá đến hình thuyền, con thoi hoặc hình quả lê, có bao quanh mép hoặc thành cánh, dài 2-8 mm, rộng 1-4 mm, thường có hai mũi như sừng hai bên của đỉnh túi.

Sinh sản hữu tính kiểu đực cái khác cây. Thoi sinh sản mọc từng cái riêng lẻ, trụ tròn ở gốc, rộng dần về phía trên rồi hình thành dạng tam lăng-tứ lăng, đỉnh đầu xòe thành như hoa dứa, dài 2-2,5 mm, rộng 1-1,5 mm, thường có gai trên mặt và viền bên.

Rong mọc trên đá vùng dưới triều, nơi có sóng gió mạnh, thu được ở bán đảo Phương Mai - Qui Nhơn - Bình Định vào tháng 5/1996. Mẫu chuẩn mang số FMQ1-96, lưu giữ tại phòng mẫu rong biển của Phân viện Khoa học vật liệu tại Nha Trang.

Loài này hơi giống loài *S. hemiphyllum* bởi rế giả, với nhóm loài *Phyllocystum* bởi phao dạng lá. Nó tách khỏi các loài thân cận bằng đặc trưng tổng hợp nổi bật: bàn bám dạng rế giả, túi khí dạng lá và thoi sinh sản dạng hoa dứa.

Frons mediocris, radice conicus vel formantisynrhizoidei. Axis brevissimis, 2-3 mm longis, 2-2.5 mm in diam; ramis primariis tertis, 40-80 cm longis, 1.5-2 mm in diam; ramis scurduriis teretis, 6-10 cm longis, marginibus integeris vel serratis, evanescenti costatis, cryptosomatibus conspicuis. Foliis

supraramulos ellipticis, ovalatis vel lanceolatis, apicibus obtusis, 8-15 mm longis, 2.5-5 mm latis, undulatus vel dentibus ad marginem; Vesiculis pyriformis, ellipticis, apicibus obtusis; irregulatis mucronatis vel phyllocystibus. Plantae dioeciae (vel androgynis) receptaculis singulis, triquetris tetragonis vel cactiformis, 2-2.5 mm longis, 1-1.5 mm latis, margine acuto dentalis. Holotypus FMQ1-96 ad Phuongmai Beninsula, Binh Dinh Province, V-1996.

3. *Sargassum baoreni* Nguyen H. D. et Huynh Q. N. sp. nov.

(Bản vẽ 3, hình 1-4)

Rong cao 20-80 cm hoặc hơn, màu nâu vàng lúc tươi và khi khô biến thành màu nâu đen, dai chắc và mập thô. Bàn bám dạng phiến dày, bám rất chắc khó bị tróc gốc, rộng 10-16 mm. Thân chính dạng trụ tròn, thô, dài 3-6 mm, đường kính 1,5-2 mm, từ đỉnh mọc lên 3-7 nhánh chính dạng trụ tròn, đường kính 1,5-2 mm, dài 20-80 cm, nhánh thứ cấp thông thường rất ngắn, chỉ dài 10-60 mm, đôi khi có cây mọc nhánh thứ cấp dài tới 20 cm, khoảng cách giữa các nhánh thứ cấp rất gần, 3-4 mm ở phần gốc nhánh chính và 10-40 mm ở phần trên. Lá gốc và lá ở phần gốc các nhánh chính dạng mũi giáo, dài 50-140 mm, rộng 4-7 mm, nhiều lá thon nhỏ dần về phía ngọn hình thành một tua dài mà chiều rộng chỉ bằng 1/3-1/4 chiều rộng phần giữa lá, viền mép nguyên hoặc đôi khi gợn sóng, gân giữa nhỏ cao thành sóng và biến mất ở phần thon nhỏ hoặc gân đỉnh lá, ổ lông rõ, rải rác; lá ở phần trên dạng kim lưới hẹp, dài trông hay sợi trụ tròn, viền mép nguyên không có đường gân, vài ổ lông nổi cộm lên rất rõ trên bề mặt lá, dài 7-25 mm, rộng 0,3-2 mm. Túi khí hình ô van hay con thoi, dài 2-4 mm, rộng 1-2,5 mm, đỉnh tròn, có gai ngắn hay dài gấp 3 lần chiều dài của túi, cuống túi trụ tròn mảnh, thông thường dài hơn chiều dài túi. Rong sinh sản hữu tính kiểu đực cái khác cây. Thoi sinh sản dạng trụ tròn, dài 4-13 mm, đường kính 0,7-1 mm, không chia nhánh, sắp xếp dịch đặc thành chùm, hoàn toàn không mang túi khí hay lá. Thoi cái hình quả bắp hoặc ô van, đầu tù hoặc hơi thon, rất ít khi chia nhánh, dài 1-2 mm, rộng 0,8-1,2 mm, sắp xếp thành chùm tụ tán, thường mang lá hay túi khí.

Rong mọc trên đá ở vùng triều thấp và dưới triều, tìm thấy ở Núi Thành, Quảng



Biên vẽ: Xuân Mai - 1999

Bản vẽ 2. *Sargassum bangmeianae* Nguyễn H. D. et Huỳnh Q. N.
 H1: Các dạng túi khí, H2a: Thời sinh sản đực, H2b: Thời sinh sản cái,
 H3a: Phần ngọn của nhánh cây cái, H3b: Phần ngọn nhánh cây đực,
 H4: Bàn bám, H5a: Hình dạng cây cái, H5b: Hình dạng cây đực

Nam, trưởng thành vào tháng 5, 6. Mẫu chuẩn mang số NTQ11598, lưu giữ tại phòng mẫu rong biển-Phân viện Khoa học vật liệu tại Nha Trang.

Loài mới này được tách khỏi các loài tương tự như sau:

- Khác với loài *S. capilliforme* bởi:

a. Lá gốc và lá phần gốc các nhánh chính dài và rộng hơn nhiều: 50-140 mm (so với 20 mm ở *S. pepilliforme*) và 4-7 mm (so với 1,5 mm), gân giữa nổi thành gờ.

b. Thời sinh sản cái mang lá hoặc túi khí, thuộc nhóm Zygozarpic.

- Khác với loài *S. nozhouense* bởi:

a. Thời sinh sản đực dài hơn thời cái rất nhiều: 4-13 mm (so với 1-2 mm ở *S. nozhouense*), 405 mm (so với 3-4 mm), thời đực của loài này không có hiện tượng Zygozarpic.

b. Túi khí ít khi có đỉnh tròn, thông thường có gai hoặc vút dài gấp 2-3 lần chiều dài túi khí.

c. Lá dày cộm, gân nổi thành sóng.

Frons 20-80 cm longis, haptero subconico vel discoido 10-16 mm latis; Stem cylindricis, 3-6 mm longis, 1,5-2 mm in diam; Ramis primariis, tereti, 1,5-2 mm in diam, 20-80 cm longis, ramis secundariis, cylindricis 10-60 mm longis; Foliis basalibus lanceolatis, apicibus simatis et constrictis prolongationis vel obtusis, basibus symmetricis, costis elevatoris, cryptosomatibus conspicuis marginibus integris, 50-140 mm longis, 4-7 mm latis; foliis ad supra ramos linearlanceolatis vel cylindricis, integrescentibus, non costis, cryptosomatibus elevatis, 7-22 mm longis, 0,3-2 mm in diam latis; Vesiculis ellipticis vel ovalatis, apicibus obliquis vel mucronatis, stipibus cylindricis.

Plantae dioeciae, receptaculis foemineis ellipticis vel ovalatis 1-2 mm longis, 0,8-1,2 mm latis, racemosus, zygozarpicae, receptaculis maribus cylindricis, 4-13 mm longis, 0,7-1 mm in diam, singulis, zigzag racemosus, non zygozarpicae.

Holotypus NT1-11598 ad Quangnam Province.

4. *Sargassum hieui* Nguyen H. D. et Huynh Q. N. sp. nov.

(Bản vẽ 4, hình 1-5)

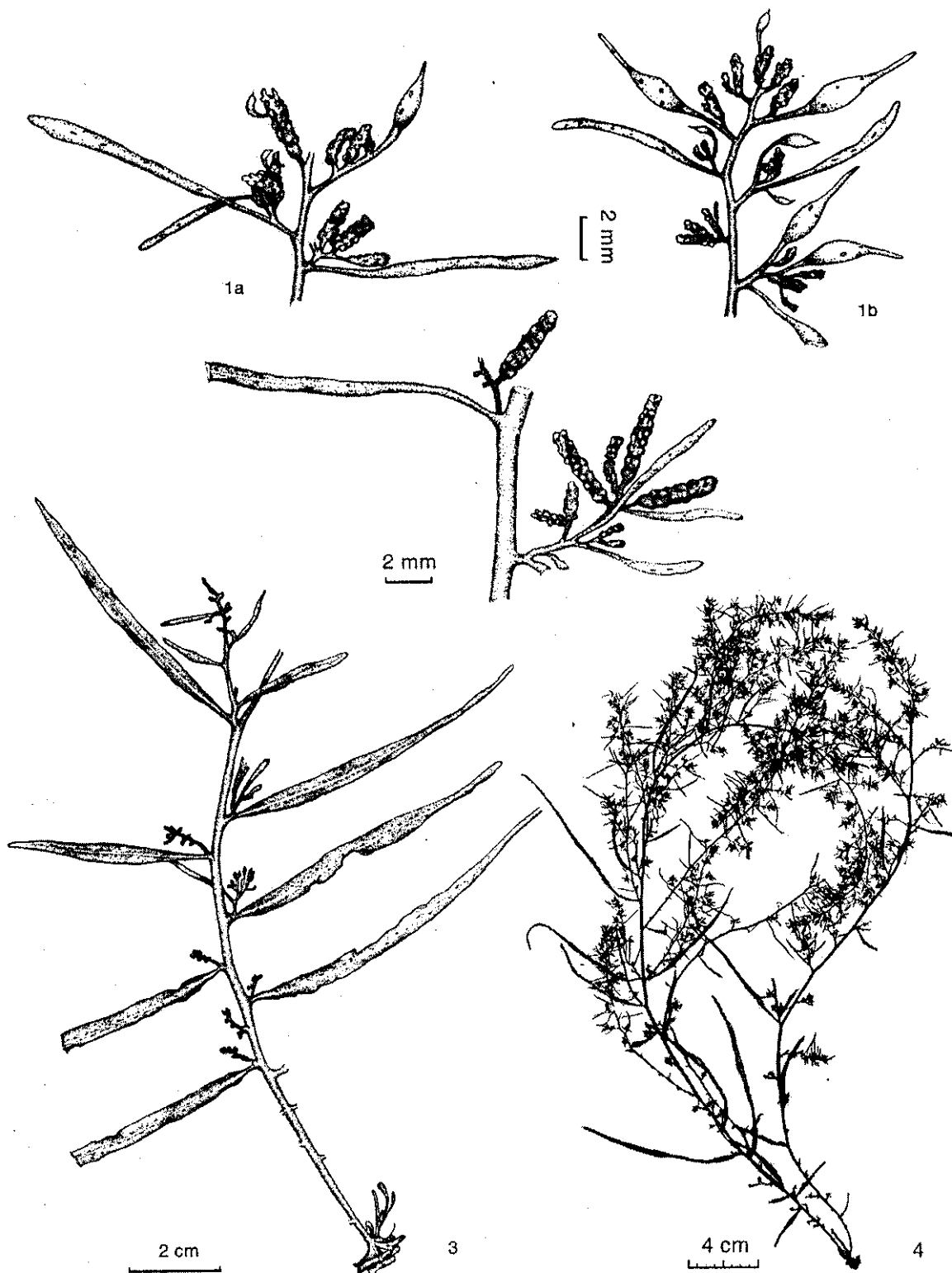
Rong màu nâu vàng, giòn dễ gãy, dài 70-150 cm. Bùn bám dạng phiến nguyên hoặc hơi xé thùy, rộng 7-15 mm. Thân chính dạng trụ tròn, cao 3-6 mm, đường kính 1,5-2 mm, mặt nhẵn, từ đỉnh đầu mọc ra 1-5 nhánh chính. Nhánh chính dạng trụ tròn, nhẵn, dài 70-100 cm, đường kính 1,5-1,7 mm; nhánh thứ cấp dạng trụ tròn, mọc chuyển, dài 40-80 cm, đường kính 1-1,5 mm, nhánh cấp 3 dài 25-40 cm, đường kính 0,7-1 mm và nhánh cấp 4 dạng trụ tròn, dài 5-10 cm và từ đáy mọc rậm rạp lá, túi khí và thời sinh sản. Lá phần gốc thân hình bầu dục hay hình thùy, dài 25-40 mm, rộng 10-12 mm, gốc không đối xứng, đỉnh tròn tù, gân giữa rõ nhưng biến mất ở đỉnh lá, ổ lòng rõ, xếp thành 2 hàng ở mỗi bên gân, viền mép lá có răng cưa nhọn, nhiều lá đầu lóe thành mầm; lá phần trên hẹp hơn, đường gân không rõ hoặc biến mất ở giữa lá, dài 20-45 mm, rộng 10-15 mm, mép có răng cưa nhỏ, đầu lá không lóe thành mầm. Túi khí hình cầu tròn hoặc gần cầu tròn, đỉnh không có gai, đường kính 3-7 mm, cuống trụ tròn hay hơi dẹp về phía trên, chiều dài cuống ngắn hơn, hoặc dài hơn túi.

Rong sinh sản hữu tính theo kiểu đực cái khác cây. Thời sinh sản đực dạng trụ tròn, thon nhỏ về phía ngọn, khi ép khô trông có hình kim lưới, thời đực hoặc chia nhánh 2-3 lần, tròn hoặc có gai, dài 7-20 mm, đường kính 1-2 mm, trên phần lớn các thời mọc ra lá hoặc túi khí. Thời cái ngắn hơn, hơi dẹp hoặc tam lăng, viền mép có răng cưa, đực hoặc ít chia nhánh, có mang lá và túi khí. Rong mọc trên đá hoặc trên san hô, ở độ sâu 3-2,5 m vùng dưới triều. Tìm thấy ở Nha Trang- Khánh Hòa.

Mẫu chuẩn mang số XB-31796, lưu trữ ở phòng mẫu rong biển, Phân viện Khoa học vật liệu tại Nha Trang.

Loài mới này có thể phân biệt với các loài trong nhóm Zygozarpic bởi lá phần gốc có đỉnh lóe thành mầm và thời sinh sản đực rất lớn, đường kính 1-2 mm.

Frons 70-150 cm longis, haptero discoido-sculato 10-16 mm latis; Caule brevissimo, 3-6 cm longis, cylindricis 1,5-2 mm in diam; Ramis



Bản vẽ 3. *Sargassum baorenii* Nguyen H. D. et Huynh Q. N.

H1(a,b): Thời sinh sản cái có mang lá hoặc túi khí
H2: Thời sinh sản đực, H3: Phần gốc với bàn bám, H4: Hình dạng cây rong

primariis, tereti, 70-100 cm longis, 1.5-1.7 mm in diam; ramis secundariis, cylindricis 40-80 mm longis, tereti; Foliis basalibus lanceolatis 25-35 mm longis, 10-15 mm latis; marginibus dentalis, apicibus valde duplicatis vel obtusis; Vesiculis sphaericis, 3-5 mm in diam, stipibus cylindricis vel complanatis. Plantae dioeciae, receptaculis foemineis compressive vel triquetris, margine acuto dentatis, simplicis vel furcatis, singulis, pseudozygocarpicae, receptaculis maribus cylindricis vel compressis, lanceolatis, simplicis vel ramis, pauce dentatis, singulis, zygocarpicae.

Holotypus XB-31796 ad Nhatrang, Khanhhoa Province.

5. *Sargassum buui* Nguyen H. D. et Huynh Q. N. sp. nov.

(Bản vẽ 5, hình 1-6)

Rong màu nâu nhạt lúc tươi, khi khô thành màu nâu đen, cao 80-150 cm. Bám dạng phiến, rộng khoảng 10-15 mm. Thân chính dạng trụ tròn ngắn, cao 2-7 mm, đường kính 2-3,5 mm, từ ngọn thân chính mọc ra 3-5 nhánh chính, dạng dài, rộng 4-6 mm, dài 80 cm hoặc hơn, nhánh thứ cấp mọc đối, luân phiên, dạng dài dẹp, rộng khoảng 2 mm, dài 10-20 cm, nhánh chót hẹp, hơi dẹp, dài 2-5 cm mang nhiều lá, túi khí và thời sinh sản. Lá trên nhánh chính dạng kim lưới, mũi giáo, dài 4-6 cm, rộng 12-15 mm, gốc không đối xứng, viền gợn sóng hoặc có gai nhọn nhưng thưa, gân rõ và suốt đỉnh, ổ lông rải rác hai bên đường gân; lá ở phần trên dạng kim lưới hẹp hoặc gần như trụ tròn, dài 5-35 mm, rộng 0,5-3 mm, viền mép nguyên, gợn sóng hoặc có vài gai, gân không rõ hoặc biến mất ở nửa phần trên lá, ổ lông không rõ hoặc rải rác. Túi khí hình bầu dục hay hình trứng, dài 5-10 mm, rộng 3-5 mm, đỉnh tròn hoặc có gai đơn hay xếp chạc, cuống túi hình gần trụ tròn hình dài dẹp hoặc nguyên cả 1 lá, dài 60 mm, rộng 0,7-13 mm, gần như mỗi lá của phần ngọn đều hình thành một phao ở đỉnh.

Rong sinh sản hữu tính theo kiểu dục cái vùng cây và cùng thời. Thời sinh sản dạng trụ tròn, bề mặt gồ ghề thành hình quả đậu, mọc đơn độc từng thời hay tụ tập thành chùm kiểu ZigZag, xếp chạc 2-3 lần, dài 3-6 mm, rộng 0,3-0,5 mm.

Rong mọc trên đá ở vùng triều thấp và dưới triều, tìm thấy ở núi Thành, Quảng Nam vào

tháng 5-6.

Mẫu chuẩn mang số NTQ1-96. Lưu giữ tại phòng mẫu rong biển của Viện Khoa học vật liệu tại Nha Trang.

Loài mới này có hình thái gần giống như loài *S. olygocystum* hoặc vài loài có nhánh chính dẹp khác, nhưng khác cơ bản là cuống túi khí như một lá hoàn hảo hình dài hoặc kim lưới, dài 50-60 mm, có gân giữa, gai ở mép, ổ lông rải rác.

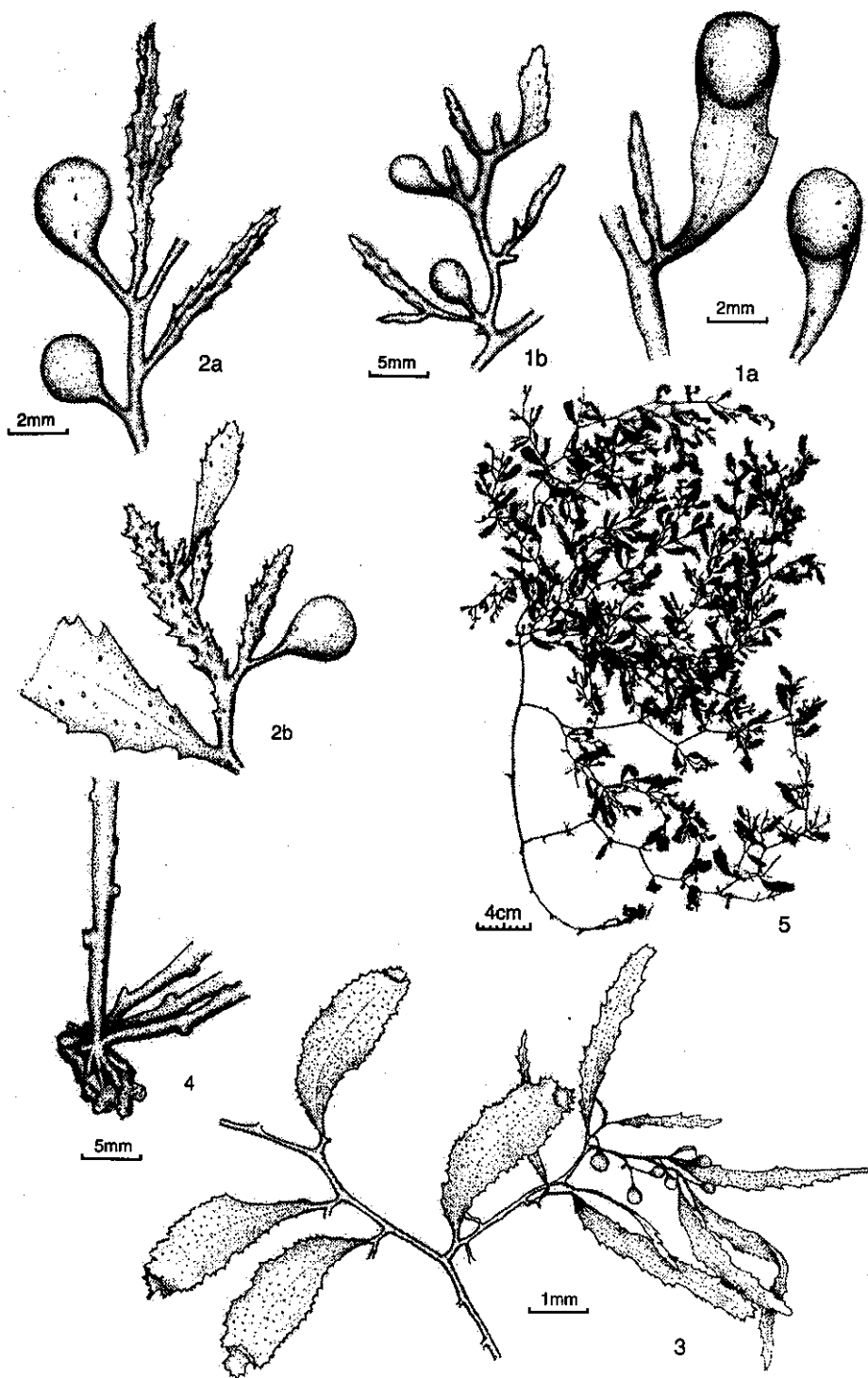
Frons 80-15 cm alta, haptero discoido, 10-15 mm in diam. Axis cylindricis, 2-7 mm alta, 2.5-3.5 mm in diam; Ramis primariis flattenis, 80 cm alta, 4-6 mm latis, ramis secundariis complanatis ad 10-20 cm longis, 20 mm latis; Foliis basalibus lanceolatis 4-6 mm longis, 1.2-1.5 mm latis integerimis vel marginibus irregularis serrulatis, percurrente costis, cryptosomatibus conspicuis, foliis ad supra ramulos linearlanceolatis vel cylindricis, 5-35 cm longis, 0.5-3 mm in diam-latis, marginibus integeris vel irregularis serrulatis, eranescentis costatis vel noncostis, cryptosomatibus sparsis; Vesiculis oratis vel ellipsoidis, apicibus obtusis vel mucronatis, 5-10 mm longis, 2-3.5 mm latis, stipibus foliaceis (folioformibus) vel subcylindricis 10-80 mm longis, 2-5 mm latis.

Receptaculis androgynis tereti, verrucosis, integeris vel sparsis spinulis, singulis vel furcatis, 3-6 mm longis, 0.3-0.5 mm in diam, racemosis.

Holotypus NTQ1-96 ad Quangnam province.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

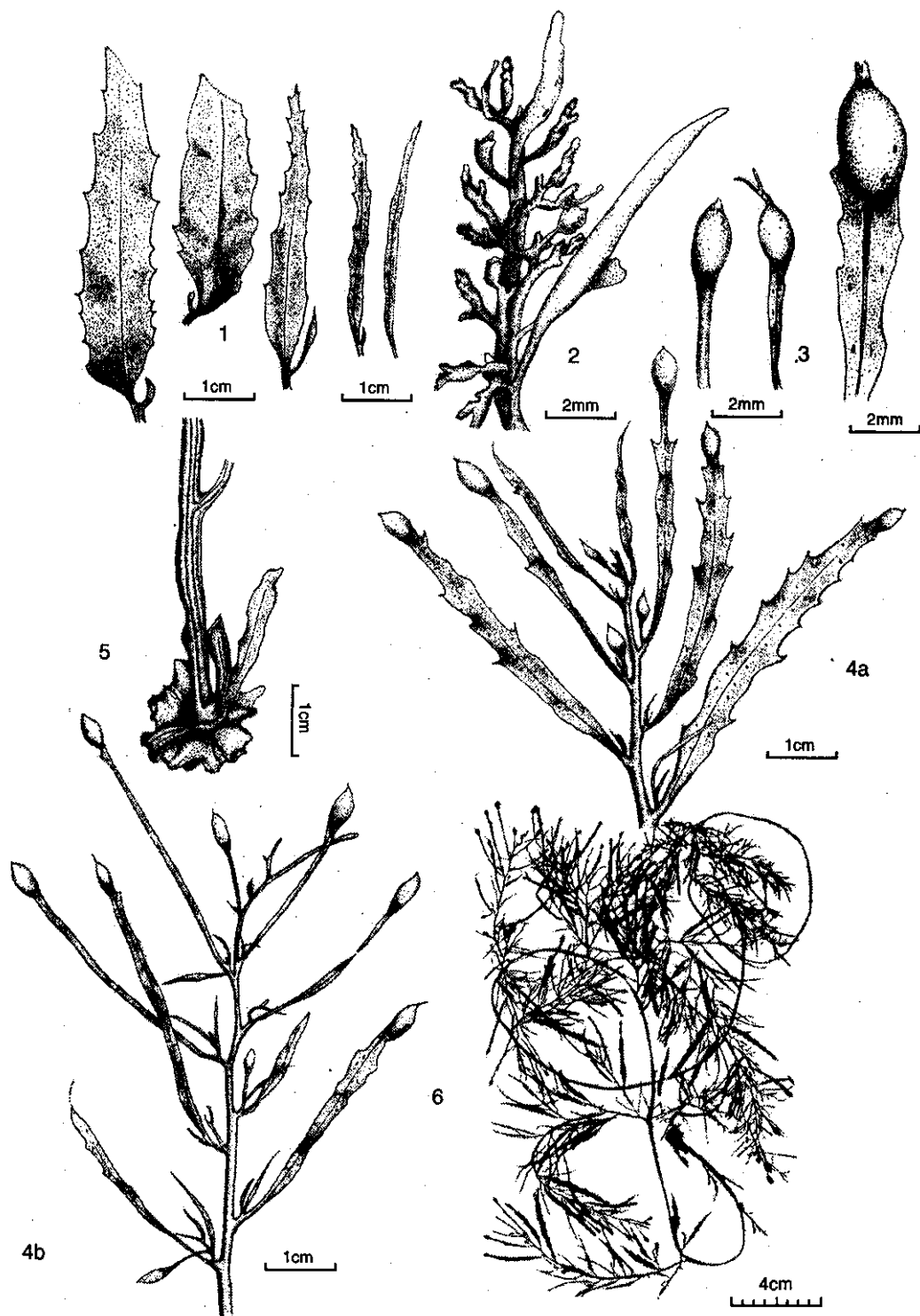
1. Agardh J. G., 1889: *Sargassum Australiae*, descriptae dispoitate etc. Kongl. Sv. Vet. Akad. Handl. 23(3): 1-131, 30 pls, Stockholm.
2. Ajisaka T., Noro T., Yoshida T., 1995: Zygocarpic *Sargassum* species (subgenus *Sargassum*) from Japan, Tax. Econ. Seaweeds V: 11-44, 24 figs.
3. Ajisaka T., Huynh Q. N., Nguyen H. D., Yoshida T., 1997: *Sargassum carpophyllum* J. Ag. var. *nhatrangense* (Pham) Ajisaka comb. nov. and *S. piluliferum* (Turner) C. Ag. var. *serratifolium* Yamada from Vietnam. Tax.



Biên vẽ: Xuân Mai - 1999

Bản vẽ 4. *Sargassum hieui* Nguyen H. D. et Huynh Q. N.

H1 (a,b): Nhánh mang thổi sinh sản dục và túi khí, H2 (a,b): Thổi sinh sản cái
H3: Một đoạn nhánh với lá đỉnh dạng mâm, H4: Bàn bám, H5: Hình dạng cây rong



Biên vẽ: Xuân Mai - 1999

Bản vẽ 5. *Sargassum buui* Nguyen H. D. et Huynh Q. N. sp. nov.

H1: Các dạng lá gốc, H2: Nhánh mang thoi sinh sản, H3: Các dạng túi khí, H4 (a,b): Phần ngọn nhánh với lá phao ở đỉnh, H5: Bàn bám, H6: Hình dạng cây rong

Econ. Seaweeds VI: 51-60, 23 figs.

4. **Grunow A.**, 1915-1916: Additamenta ad cognitionem Sargassum. Verh. Zool. Bot. Ges. Wien. 65: 329-448, 66: 1-48, 136-185.

5. **Nguyễn Hữu Dinh, Huỳnh Quang Năng, Nguyễn Văn Tiến, Trần Ngọc Bút**, 1994: Rong biển miền Bắc Việt Nam. Nhà xuất bản KHKT Hà Nội, 364 trang.

6. **Nguyễn Hữu Đại**, 1993: Một số loài rong mơ (Sargassum C. Ag.) mới tìm thấy ở Việt Nam. Tạp chí Sinh học, 14(3): 1-7.

7. **Nguyễn Hữu Đại**, 1997: Rong mơ (Sargassaceae) Việt Nam, nguồn lợi sử dụng. Nhà xuất bản Nông nghiệp, Thành phố Hồ Chí Minh, 199 trang.

8. **Pham Hoang Ho**, 1967: Contribution a l'etude des algues littorales du Vietnam: Le

genre Sargassum. Ann. Fac. Sci. Saigon: 259-332.

9. **Setchell W. A.**, 1931-1936: Hongkong Seaweeds-Hongkong Nat. II(1): 39-60, fig. 1-9; II(4): 237-253, fig. 1-40; III suppl. (2): 33-49, pl.3-20; IV suppl. (4): 1-24, pl. 1-7; (5): 1-20, pl. 1-8; V suppl. (5): 1-20, pl. 1-8.

10. **Tseng C. K., Lu B. K.**, 1988: Studies on Chinese species of Zygozarpic Sargassum Tax. Econ. Seaweeds II: 23-54, 24 figs.

11. **Tseng C. K., Yoshida T., Chiang Y. M.**, 1985: East Asiatic species of Sargassum subgenus Batrophycus J. Ag. (Sargassaceae, Fucales) with key to sections and species. Tax. Econ. Seaweeds 1: 1-4, figs 1-34.

12. **Trono G. C. Jr** 1989: The genus Sargassum in the Philippines. In: Tax. Econ. Seaweeds III: 43-95.

FIVE NEW SPECIES OF THE GENUS SARGASSUM FROM VIETNAM

NGUYEN HUU DINH, HUYNH QUANG NANG

SUMMARY

Five new species of the genus *Sargassum* collected in Central Vietnam are described and reported: *S. tsengii* Nguyen H. D. et Huynh Q. N., sp. nov., *S. bangmeianae* Nguyen H. D. et Huynh Q. N. sp. nov., *S. baoreni* Nguyen H. D. et Huynh Q. N. sp. nov., *S. hieu* Nguyen H. D. et Huynh Q. N. sp. nov., *S. buia* Nguyen H. D. et Huynh Q. N. sp. nov.

The authors thank Dr. Prof. Tseng C. K from Institute of Oceanology, Academia Sinica, Qing dao, China for his help in indentifying and cheecking specimens.

Ngày nhận bài: 6-8-2000

TÍNH ĐA DẠNG CỦA KHU HỆ DỜI VƯỜN QUỐC GIA CÚC PHƯƠNG

LÊ VŨ KHÔI, HÀ THĂNG LONG

Trường đại học Khoa học tự nhiên - ĐHQG Hà Nội

WALSTON J. L.

FFT

Dơi (Chirotera) là nhóm thú còn ít được nghiên cứu chuyên sâu ở Việt Nam. Tuy nhiên, trong những công trình nghiên cứu thú, cũng đã đề cập tới thành phần các loài dơi ở các địa phương trên lãnh thổ Việt Nam [Bourret, 1942, 1944; Van Peenen et al., 1969, 1971; Lê Hiền Hào, 1971; Đào Văn Tiến, 1985; Đặng Huy Huỳnh et al., Cao Văn Sung et al., 2000]. Khi điều tra khu hệ thú Cúc Phương, Lê Hiền Hào (1971) đã xác định được 12 loài dơi thuộc 4 họ. Từ đó đến nay chưa có công trình công bố chính thức về khu hệ dơi ở Vườn Quốc gia Cúc Phương, ngoại trừ báo cáo về dơi Vườn Quốc gia Cúc Phương của Walston, J. L., B. Hayes, H. T. Long, 1997, nghiên cứu giống *Myotis* và những loài dơi hiếm thuộc giống *Pipistrellus* mới cho Việt Nam thuộc họ Vespertilionidae (Bates et al., 1997, 1999). Vì vậy, điều tra các loài dơi nhằm góp phần xác định mức độ đa dạng sinh học của Vườn Quốc gia Cúc Phương là hết sức cần thiết.

Những đặc điểm cơ bản về điều kiện tự nhiên của Vườn Quốc gia Cúc Phương

Vườn Quốc gia Cúc Phương cách Hà Nội khoảng 100 km về phía Tây - Nam, trong khoảng tọa độ địa lý 20°14' đến 20°24' vĩ độ bắc, 105°29' đến 105°44' kinh độ đông. Tổng diện tích 22.200 ha.

Vườn Quốc gia Cúc Phương nằm trên hai dãy núi đá vôi chạy song song theo hướng Tây Bắc - Đông Nam; giữa là vùng đồi thấp tạo nên một thung lũng trải dài trên 20 km. 3/4 diện tích là núi đá vôi có độ cao trung bình 300 - 400 m so với mặt biển. Cao nhất là đỉnh Mây Bạc 648,2 m. Vườn nằm trọn trong sinh cảnh địa lý dơi karst xâm thực tạo nên nhiều hang động và sông ngầm.

Khí hậu nhiệt đới gió mùa: mùa hè có gió mùa đông-nam, mùa đông có gió mùa đông-bắc. Do địa hình núi đá vôi bao quanh, Cúc Phương ít chịu ảnh hưởng của bão. Nhiệt độ trung bình năm 20,4°C. Độ ẩm 85%. Lượng mưa trung bình năm 2100 mm. Hàng năm trung bình có 200 ngày mưa.

Thực vật giới: Cúc Phương có 1944 loài thực vật thuộc 912 chi, 219 họ, 86 bộ của 7 ngành (Nguyễn Nghĩa Thìn, 1996). Tính đa dạng về các dạng cây của hệ thực vật Cúc Phương khá phong phú. Các cây thân gỗ khổng lồ hợp thành tầng vượt tán của rừng cao đến 50-70 m. Các cây thân gỗ lớn tạo nên tầng chính của rừng tầng ưu thế sinh thái A₁ cao 40 - 50 m, và cây gỗ trung bình tầng dưới tán rừng A₂ cao 20 - 30 m. Các cây gỗ lớn và cây dây leo gỗ tạo cho rừng mang tính chất đặc trưng của rừng nguyên sinh đã tạo nên sự đa dạng sinh học về nơi sống của động vật hoang dã, trong đó có các loài dơi.

Động vật giới: Hệ động vật hoang dã Cúc Phương rất phong phú và đa dạng. Đã biết 71 loài thú, hơn 319 loài chim, 33 loài bò sát, 16 loài lưỡng cư, hàng nghìn loài côn trùng. Cúc Phương bảo tồn nhiều loài động vật quý hiếm, trong đó có các loài đặc hữu của Cúc Phương như Voọc mông trắng (*Trachypithecus francoisi delacouri*), Sóc bụng đỏ Cúc Phương (*Callosciurus erythraeus cucphuongis*) và nhiều loài dơi tìm thấy ở Việt Nam.

I. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Điều tra dơi ở Vườn Quốc gia Cúc Phương đã được tiến hành từ 1 ngày 6 tháng 5 đến 1 ngày 2 tháng 7 năm 1997.

- Bắt dơi bằng 3 loại lưới hình chữ nhật có kích thước, loại 1 : 12,0 m × 2,6 m; loại 2: 9,0 m × 2,6 m và loại 3: 6,0 m × 2,6 m. Đường kính mắt lưới 1,2 cm. Lưới được chăng tại 23 điểm, bao gồm: 5 cửa hang, 12 điểm ven suối và nơi quang đăng, 4 điểm trong vườn cây nhãn và 2 điểm khu dân cư từ 17 giờ 30 hôm trước đến 5 giờ hôm sau. Lưới được kiểm tra 30 phút một lần. Dơi mắc lưới được gỡ ra cho vào túi vải. Đo kích thước cơ thể dơi. Định loại sơ bộ. Những cá thể cùng loài được thả, chỉ giữ lại 1 - 2 cá thể một loài để làm mẫu vật. Dơi được làm ngạt bằng khí clo và ngâm trong cồn 75°.

Định loại dơi theo Lekagul B. và J. A. Meneely (1977), Van Peenen et al. (1971) và tham khảo J. Payne, et al. (1985). Các mẫu vật được chuyển về Bảo tàng động vật Harrison

Anh Quốc lưu trữ và định loại. Đã sử dụng kết quả định loại các mẫu vật thuộc giống *Pipistrellus* và *Myotis* của Việt Nam, trong đó có mẫu vật ở Cúc Phương, của Paul Bates J. J. và cộng sự (1997, 1999). Để xác định đúng danh sách các loài dơi ở Cúc Phương có kế thừa và thẩm định các tài liệu về thành phần loài dơi của các tác giả khác (Lê Hiền Hào, 1973, Đặng Huy Huỳnh và cộng sự, 1994, Corbet và Hill, 1992, Howard, 1998...).

- Trong thời gian điều tra đã bắt được 657 cá thể dơi. Trong đó 152 cá thể được đo các số đo cơ thể, 42 cá thể ngâm làm mẫu vật.

II. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

1. Thành phần loài (bảng 1):

Bảng 1

Danh sách các loài dơi (Chiroptera) ở Vườn Quốc gia Cúc Phương

STT	Tên loài	Phân bố				Tình trạng
		1	2	3	4	
Họ Dơi quả Pteropodidae						
1	Dơi chó tai ngắn <i>Cynopterus brachyotis</i> (Müller, 1838)			++		R
2	Dơi chó Ấn <i>Cynopterus sphinx</i> (Vahl, 1797)			++		
3	Dơi quả lưới dài <i>Eonycteris spelaea</i> (Dobson, 1871)			++		
4	Dơi ăn mật hoa <i>Macroglossus minimus</i> (Geoffroy, 1810)	++		++		
5	Dơi ngựa đuôi lớn <i>Rousettus amplexicaudatus</i> (Geofroy, 1820)			+		
6	Dơi ngựa nâu <i>Rousettus leschenaulti</i> (Desmarest, 1820)			++		
Họ Dơi lá mũi móng ngựa Rhinolophidae						
7	Dơi lá đuôi <i>Rhinolophus affinis</i> Horsfield, 1823	++				
8	Dơi móng ngựa Mắc san <i>Rhinolophus marshalli</i> Thonglongya, 1973	+				
9	Dơi lá quạt <i>Rhinolophus paradoxolophus</i> (Bourret, 1951)		+			R
10	Dơi lá pec xôn <i>Rhinolophus pearsoni</i> Horsfield, 1851	+++	++			
11	Dơi lá muỗi <i>Rhinolophus pusilhui</i> Temminck, 1834	++				
12	Dơi lá tô ma <i>Rhinolophus thomasi</i> Andersen, 1905	+++	++			

STT	Tên loài	Phân bố				Tình trạng
		1	2	3	4	
13	Đơi lá rút <i>Rhinolophus rouxii</i> Temminck, 1835	+				
Họ Đơi bao Emballonuridae						
14	Đơi bao đuôi nâu đen <i>Taphozous melanopogon</i> Temmick, 1841	+++				
Họ Đơi ma Megadermatidae						
15	Đơi ma Nam <i>Megaderma spasma</i> (Linnaeus, 1758)	+				
Họ đơi mũi ba lá Hipposideridae						
16	Đơi mũi ba lá <i>Aselliscus stoliczkanus</i> (Dobson, 1871)	+++				
17	Đơi thùy không đuôi <i>Coelops frithii</i> Blyth, 1848	+				R
18	Đơi mũi quạ <i>Hipposideros armiger</i> (Hodgson, 1835)	+				
19	Đơi mũi xám <i>Hipposideros larvatus</i> (Horsfield, 1823)	+++	+++			
20	Đơi mũi ly lay <i>Hipposideros lylei</i> Thomas, 1913	+				MVN
21	Đơi mũi xinh <i>Hipposideros bicolor</i> (Temminck, 1834)	+				
Họ Đơi muỗi Vespertilionidae						
22	Đơi iô <i>Ia io</i> Thomas, 1902	+				R
23	Đơi mũi nhọn <i>Kerivoula hardwickei</i> (Horsfield, 1824)	+				
24	Đơi cánh gập nhỏ <i>Miniopterus australis</i> Toms, 1858		++			MVN
25	Đơi cánh dài <i>Miniopterus schreibersi</i> (Kuhl, 1819)	++	++			
26	Đơi ống tai tròn <i>Murira cyclotis</i> Dobson, 1872		++			
27	Đơi tai rộng Trung Hoa <i>Myotis chinensis</i> Toms, 1857	++	++			
28	Đơi tai sọ cao <i>Myotis siligorensis</i> (Horsfield, 1855)	++	++			R
29	Đơi tai mô-lac-ca <i>Myotis ater</i> (Peters, 1866)	+				
30	Đơi tai đô ben <i>Myotis daubentonii</i> (Kuhl, 1817)	++				
31	Đơi muỗi cadô <i>Pipistrellus cadornae</i> Thomas, 1916		++			R, MVN
32	Đơi muỗi pô pa <i>Pipistrellus paterculus</i> Thomas, 1915		++			R, MVN
33	Đơi muỗi nâu Trung Hoa <i>Pipistrellus pulveratus</i> (Peters, 1817)	+				R, MVN
34	Đơi muỗi nhỏ <i>Pipistrellus tenuis</i> Temminck, 1840				++	
35	Đơi muỗi Java <i>Pipistrellus javanicus</i> (Gray, 1838)	+++	++		++	
36	Đơi muỗi nâu <i>Pipistrellus coromandra</i> (Gray, 1838)	+				
37	Đơi nghệ <i>Scotophilus heathii</i> (Horsfield, 1831)	+				

STT	Tên loài	Phân bố				Tình trạng
		1	2	3	4	
38	Dơi dóm hoa <i>Scotomanes ornatus</i> (Blyth, 1851)		+++			
39	Dơi chân dẹt thịt <i>Tylonycteris pachypus</i> (Temminck, 1840)	+				
	Số loài	27	13	6	2	

Ghi chú: 1. Hang, động; 2. Ven suối, nơi quang; 3. Vườn cây quả; 4. Khu dân cư

+ Rất ít gặp; ++ gặp ít; +++ gặp nhiều lần

R: hiếm (rare); MVN: Loài mới cho Việt Nam

Qua bảng 1 cho thấy ở Cúc Phương có 39 loài dơi thuộc 18 giống, 6 họ của cả hai phân bộ Megachiroptera và Microchiroptera. Trong đó họ nhiều loài nhất là họ Dơi muỗi (Vespertilionidae) với 19 loài, tiếp theo là họ Dơi lá mũi móng ngựa (Rhinolophidae) có 7 loài, hai họ Dơi nếp mũi ba lá (Hipposideridae) và họ Dơi quả (Pteropodidae) đều có 6 loài, hai họ Dơi bao (Emballonuridae) và họ Dơi ma (Megadermatidae) chỉ có 1 loài. Đợt điều tra lần này không thu được mẫu của loài Dơi lá rút (*Rhinolophus rouxii*) và Dơi muỗi nâu (*Pipistrellus coromandra*). Nhưng theo Lê Hiền Hào (1971), Đặng Huy Huỳnh và cộng sự (1994), 2 loài dơi này có phân bố ở Cúc Phương.

2. Hiệu đính tên loài:

Theo Lê Hiền Hào (1971) ở Cúc Phương có 3 loài dơi *Hipposideros gentilis*, *Rhinolophus blasii* và *Trianops wheeleri*. Kết quả định loại các mẫu vật dơi sưu tầm được trong lần khảo sát này cho thấy:

- Loài *Hipposideros gentilis* thực chất là phân loài *Hipposideros bicolor gentilis* của loài *Hipposideros bicolor* Temminck (Corbet & Hill, 1980). Vì vậy trong danh lục các loài dơi Cúc Phương của chúng tôi lần này không có tên loài *Hipposideros gentilis* như Lê Hiền Hào (1971), mà là *Hipposideros bicolor* (Temminck, 1834).

- Loài *Triaenops wheeleri* có tên đồng nghĩa (Synonym) là *Aselliscus stoliczkanus*

(Dobson, 1871) (theo Lekagul McNeely, 1977; Corbet & Hill, 1992; Đặng Huy Huỳnh và cộng sự, 1994). Chúng tôi lấy tên sau thay thế cho tên loài dơi theo Lê Hiền Hào (1971).

- Loài *Rhinolophus blasii* không có trong danh lục các loài thú Việt Nam (Đặng Huy Huỳnh và cộng sự, 1994) cũng như không có trong danh lục thú Thái Lan (Lekagul McNeely 1977). Theo Corbet & Hill (1992) loài dơi này không có ở Việt Nam.

3. Những loài dơi lần đầu tiên phát hiện Việt Nam:

Đối chiếu với danh lục các loài thú Việt Nam (Đặng Huy Huỳnh và cộng sự, 1994) và theo kết quả phân loại các loài dơi giống *Pipistrellus* ở Việt Nam (Bates et al., 1997) trong 39 loài dơi Cúc Phương khảo sát lần này có 5 loài lần đầu tiên được phát hiện ở Việt Nam. Đó là các loài *Pipistrellus cadornae* Thomas, 1916; *Pipistrellus paterculus* Thomas, 1915; *Pipistrellus pulveratus* (Peters, 1871) (Bates et al., 1997) và *Hipposideros lylae* Thomas, 1913; *Miniopterus australis* Tome, 1858.

4. Những loài dơi hiếm của Việt Nam gặp ở Cúc Phương:

Theo Sách Đỏ Việt Nam (1992), Việt Nam có 7 loài dơi hiếm (mức R), trong đó có 5 loài dơi hiếm phát hiện được ở Cúc Phương:

- Dơi thù không đuôi (*Coelops frithi* Blyth, 1848).

- Dơi i ô (*Ia io* Thomas, 1902)
 - Dơi lá quạt (*Rhinolophus paradoxolophus* (Bourret, 1951))
 - Dơi chó tai ngắn (*Cynopterus brachyotis* (Miiller, 1838))
 - Dơi tai sọ cao (*Myotis siligorensis* (Horsfield, 1855))
- Ngoài ra, 3 loài dơi giống *Pipistrellus* lần đầu tiên phát hiện được ở Việt Nam là ở Cúc Phương và thuộc loài hiếm (R) (Bates et al., 1997).
- Dơi muỗi ca đô (*Pipistrellus cadornae* Thomas, 1916)
 - Dơi muỗi pơ pa (*Pipistrellus paterculus* Thomas, 1915)
 - Dơi muỗi nâu (*Pipistrellus pulveratus* Peters, 1871)

5. Sự phân bố của dơi theo sinh cảnh:

Bảng 1 và bảng 2 cho thấy, 26 loài dơi (59,1% số loài dơi ở Cúc Phương) trú ngụ ở hang động; 13 loài dơi (32,5%) kiếm ăn ở ven suối, nơi quang đãng, 6 loài dơi ăn quả (13,6%) bắt được trong khu vườn cây vải, cây nhãn. Mặc dù ở Cúc Phương có nhiều loài dơi muỗi, nhưng chỉ bắt được 2 loài ở khu dân cư và có thể cũng là loài trú ngụ trong nhà.

Bảng 2

Sự phân bố của dơi theo sinh cảnh
ở Cúc Phương
(Distribution of the bats in Cucphuong)

Dạng sinh cảnh	Số loài đã gặp	%
Hang, động	27	69,2
Ven suối, nơi quang	13	33,3
Vườn cây quả	6	15,4
Khu dân cư	2	5,1

III. KẾT LUẬN

1. Vườn Quốc gia Cúc Phương là khu rừng nguyên sinh nằm trọn trong sinh cảnh địa lý đới

karst xâm thực có nhiều hang động tạo nên sự đa dạng sinh học về thành phần các loài dơi và nơi sống của chúng. Ở Vườn Quốc gia Cúc Phương đã xác định được 39 loài dơi thuộc 18 giống, 6 họ của 2 phân bộ Megachiroptera và Microchiroptera. Trong đó có 5 loài dơi được phát hiện lần đầu tiên ở Việt Nam *Pipistrellus cadornae* Thomas, *Pipistrellus paterculus* Thomas, *Pipistrellus pulveratus* Peters, *Hipposideros lylei* Thomas, *Miniopterus australis* Tomes. 2 loài dơi được hiệu đính tên là *Hipposideros bicolor* Temminck và *Aselliscus stoliczkanus* Dobson. Loài *Rhinolophus blasii* không phân bố ở Việt Nam.

2. Ở Vườn Quốc gia Cúc Phương phát hiện được 8 loài dơi hiếm (R) của Việt Nam, trong đó bổ sung 3 loài lần đầu tiên tìm thấy ở Việt Nam: *Coelops frithii* Blyth, *Ia io* Thomas, *Rhinolophus paradoxolophus* Bourret, *Cynopterus brachyotis* Miiller, *Myotis siligorensis* Horsfield, *Pipistrellus cadornae* Thomas, *Pipistrellus paterculus* Thomas, và *Pipistrellus pulveratus* Peters.

3. Ở Cúc Phương, có 27 loài dơi (69,2%) trú ngụ ở hang, động, 13 loài (33,3%) kiếm ăn ở ven suối, nơi quang đãng; 6 loài dơi quả kiếm ăn ở vườn cây quả và chỉ có 2 loài dơi muỗi kiếm ăn và trú ngụ ở khu dân cư.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bates P. J. J., et al., 1997: Three rare species of *Pipistrellus* (Chiroptera: Vespertilionidae) new to Vietnam. Acta Zoologica Academiae Scientiarum Hungaricae, 43: 359-374.
2. Bates P. J. J., et al., 1999: A review of the mouse-eared bats (Chiroptera: Vespertilionidae: *Myotis*) from Vietnam with significant new records. Acta Chiropterologica, 1(1): 47-74.
3. Bộ Khoa học, Công nghệ và Môi trường, 1992: Sách Đỏ Việt Nam, tập I, phần động vật. NXB Khoa học và Kỹ thuật Hà Nội.
4. Cao Văn Sung, Judith Eger, Ngô Văn Trí, 2000: Kết quả bước đầu khảo sát dơi ở

miền Nam Việt Nam. Tạp chí Sinh học, 22(15)
CD: 136-144.

5. **Corbet G. B., and J. E. Hill**, 1992: The Mammals of the Indomalayan region: A systematic review. Nat. His. Mus. Publ., Oxford Univ Press.

6. **Đặng Huy Huỳnh và cs.**, 1994: Danh lục các loài thú (Mammalia) Việt Nam. NXB Khoa học và Kỹ thuật Hà Nội.

7. **Đào Văn Tiến**, 1985: Khảo sát thú ở miền Bắc Việt Nam. NXB Khoa học và Kỹ thuật Hà Nội.

8. **Howard T.**, 1998: An initial study into the chiropteran composition of Pu Mat Nature Reserve 1998. Fauna & Flora International. Indochina Programme, Hanoi, 20pp. (An unpublished report).

9. **Lekagul B., J. A. McNeely**, 1977: Mammals of Thailand, Bangkok.

10. **Lê Hiền Hào**, 1971: Kết quả bước đầu nghiên cứu động vật giới Cúc Phương (Ninh Bình). Tập san Sinh học - Địa học, IX, 1-2.

11. **Payne J., C. M. Francis, K. Phillipps**, 1985: A field guide to the Mammals of Borneo. The Sabah Society with WWF Malaysia, 1985.

12. **Van Peenen P. F. D., P. F. Ryan, R. H. Light**, 1969: Preliminary Identification manual for Mammals of South Vietnam. US Nat. Mus., Washington.

13. **Walston J. L., B. Hayes, and H. T. Long**, 1997: The bats of Cucphuong National Park, Vietnam BP Conservation Award Programme, 18 pp. (An unpublished report).

DIVERSITY OF CHIROPTERA IN CUC PHUONG NATIONAL PARK

LE VU KHOI, et al.

SUMMARY

A survey on bats in Cuc Phuong National Park was carried out from 6 May to 2 July, 1997. It has recorded 39 bat species belonging to 18 genera, 6 families of two suborders Megachiroptera and Microchiroptera. Five species of them are the first known records for Vietnam: *Pipistrellus cadornae*, *Pipistrellus paterculus*, *Pipistrellus pulveratus*, *Hipposideros lylei* and *Miniopterus australis*.

8 bat species in Cuc Phuong National Park are the rare ones of Vietnam: *Coelops frithii* Blyth, *Ia ia* Thomas, *Rhinolophus paradoxolophus* Bourret, *Cynopterus brachyotis* Müller, *Myotis siligorensis* Horsfield, *Pipistrellus cadornae* Thomas, *Pipistrellus paterculus* Thomas and *Pipistrellus pulveratus* Peters. 5 of them have been listed in the Red Data book of Vietnam (1992).

Among 39 bat species in Cuc Phuong Park, 26 species (59.1%) were collected in caves, 13 species (32.5%) were collected over streams in secondary forest, 6 fruit bat species in the fruit garden and 2 evening bat species in the village.

Ngày nhận bài: 10-7-2000

LOÀI DƠI QUẢ NÚI CAO - *SPHAERIAS BLANFORDI* (THOMAS, 1891) PHÁT HIỆN ĐƯỢC Ở VIỆT NAM

VŨ ĐÌNH THỐNG, PHẠM ĐỨC TIẾN, CAO VĂN SÙNG

Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật

Trước đây, loài Dơi quả núi cao *Sphaerias blanfordi* (Thomas, 1891) chỉ ghi nhận có ở vùng biên giới Thái Lan - Myanmar, Nam Trung Quốc, Bắc Ấn Độ và Đông Nepal (Long, 1971, Bhat, 1968). Đây là loài Dơi quả rất hiếm của thế giới. Mới đây, chúng tôi đã ghi nhận được loài này có ở Trà Mi - tỉnh Quảng Nam, Cúc phương - tỉnh Ninh Bình và Pù Hoạt - tỉnh Nghệ An.

I. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Các điểm nghiên cứu: Pù Hoạt (5/1999) - ở độ cao 1000 m so với mặt biển, Trà Mi (3/1999) - 1200 m và Vườn Quốc gia Cúc Phương (5/2000) - 450 m. Bắt dơi bằng lưới (2,5×6; 2,5×9; 2,5×12). Lưới được treo ngang qua lối mòn, các suối trong rừng và trước cửa hang. Bắt được 3 cá thể (2 đực, 1 cái) ở trong rừng nguyên sinh và rừng thứ sinh. Mẫu vật được định loại theo Bates, 1997 và Lekagul, 1977; Mẫu vật lưu trữ tại Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật, Bảo tàng Hoàng gia Ontario-Canada và Bảo tàng Vườn quốc gia Cúc Phương.

II. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Năm 1891, trong quá trình phân tích các mẫu vật dơi ở Leito-Myanmar, Thomas đã phát hiện một loài dơi lạ trong giống *Cynopterus* Cuvier, 1824 và đặt tên là *C. blanfordi* Thomas, 1891.

Năm 1906, Miller phân tích nhiều mẫu dơi của loài này và xếp chúng vào chi mới và hiệu đính lại tên là *Sphaerias blanfordi* (Thomas, 1891).

Năm 1980, Cai và Zhang xác định loài này có hai phân loài là: *S. b. blanfordi* và *S. b. motuoensis*. Đặc điểm hình thái dễ nhận biết

nhất giữa hai phân loài là ở ngực của phân loài *S. b. motuoensis* có đốm trắng hanh vàng; phân loài *S. b. blanfordi* không có đặc điểm này.

Sphaerias blanfordi là loài Dơi quả không đuôi, có bộ lông rậm màu nâu hơi xám xanh, mọc cả lên xương chày và mặt dưới màng gian đùi. Dơi có kích thước trung bình, chiều dài thân (HB): &(MM: cẳng tay (FA): 51,7-61, nhỏ hơn nhiều so với giống *Pteropus* Brisson, 1762 (FA: 130-210) và giống *Megaerops* Peters, 1865 (FA: 52-63). Tai tròn có đường viền vành tai màu trắng, thùy đối mẫu tai hình tam giác; màng gian đùi tiêu giảm, chỉ còn là một điểm nhỏ chạy dọc theo cạnh xương chày. Theo các đặc điểm hình thái thì mẫu dơi ở vườn Quốc gia Cúc phương thuộc phân loài *S. b. motuoensis* và các mẫu sưu tầm ở Trà Mi và Pù Hoạt thuộc phân loài *S. b. blanfordi* (bảng 1).

Chiều dài trung bình nền sọ là 26,2 mm, ngắn hơn so với các loài trong giống *Cynopterus* (30 mm). Đây là đặc điểm phân biệt giữa hai giống *Cynopterus* và *Sphaerias*.

Chiều dài hàng răng C-M¹ thay đổi từ 8,0-8,1 mm, nhỏ hơn so với giống *Pteropus* (19-29 mm), giống *Megaerops* (8,4-8,6 mm) và giống *Macroglossus* F. Cuvier, 1824 (8,6-8,8). Loài Dơi quả núi cao này tuy không có đuôi như giống *Macroglossus* nhưng phân biệt với giống này bởi lưỡi ngắn và đầu mút lưỡi không có dạng bàn chải. Răng cửa trên thứ nhất và răng cửa trên thứ hai của giống *Sphaerias* nhỏ hơn so với giống *Cynopterus*. Răng cửa trên thứ hai (I²) bé hơn nhiều so với răng cửa trên thứ nhất (I¹) Răng trước hàm trên thứ nhất (pm¹) nhỏ hơn nhiều so với răng cửa hàm trên thứ nhất (I¹). Răng cửa dưới thứ hai (I₂) lớn hơn răng cửa dưới thứ nhất (I₁).

Các tác giả trước đây cho rằng loài Dơi quả này chỉ phân bố ở độ cao từ 300 m so với mặt biển trở lên (Bates et al., 1997; Leakagul et al.,

1977; Corbet et al., 1992). Mẫu vật mà chúng tôi sưu tầm được ở Việt Nam cũng sinh sống trong khoảng độ cao ấy.

Bảng

Các số liệu của mẫu dơi đã sưu tầm được

Mã số	Thông số													XIII	XIV	XV
	I	II	III	IV	V	VI	VII		VIII	IX	X	XI	XII			
							(1)	(2)								
B79	79	0	18	10	56	15	65	36	73	71	30	m	a	t ₁	na	*
F48249	85	0	21	15	61						34	f	a	t ₂	cp	+
f44599	78	0	16	14	55						26	m	a	t ₃	tm	*

Ghi chú

I: chiều dài thân

II: chiều dài đuôi

III: chiều dài tai

IV: chiều dài bàn chân sau

V: chiều dài cẳng tay

m: đực

na: Pù Hoạt - tỉnh Nghệ An

*: phân loài *S. b. blanfordi*

t₁: 26/05/1999

VI: chiều dài ngón cái

VII: chiều dài ngón tay thứ 3

VIII: chiều dài ngón tay thứ 4

IX: chiều dài ngón tay 5

X: trọng lượng

f: cái

cp: Vườn quốc gia Cúc Phương

+: phân loài *S. b. motuoensis*

t₂: 12/05/2000

XIII: thời gian thu mẫu

XIV: địa điểm thu mẫu

XV: ghi chú

XI: giới tính

XII: tuổi

a: trưởng thành

tm: Trà Mi - tỉnh Quảng Nam

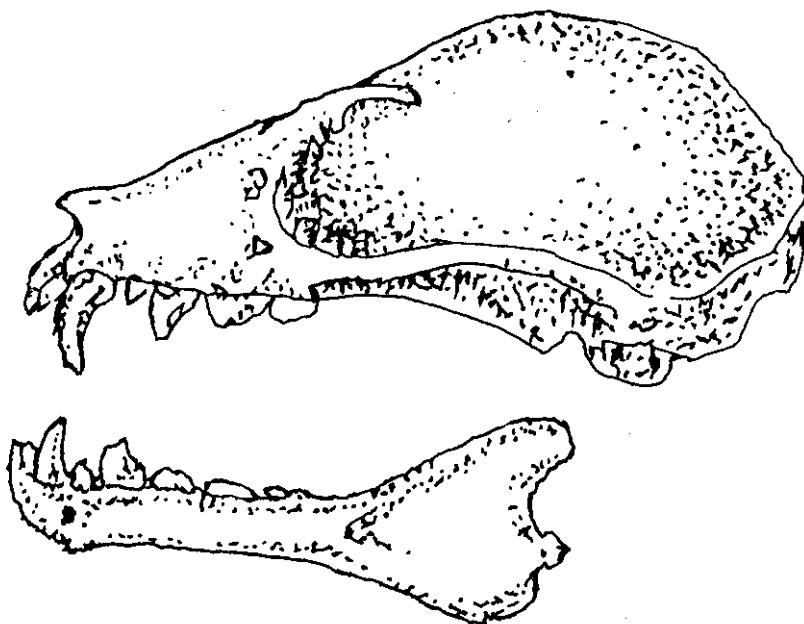
(1), (2): Phần 1 và phần 2

t₃: 12/03/1999



Hình thái ngoài của loài Dơi quả núi cao *Sphaerias blanfordi* (Thomas, 1891)

Ở mỗi khu vực chúng tôi chỉ bắt được một cá thể mặc dù thời gian và phương pháp bẫy được tiến hành rất khoa học và công phu trên địa bàn rộng lớn. Điều đó đã chứng tỏ rằng quần thể lo này đang sinh sống trong các khu vực đó với số lượng cá thể rất ít. Đây có phải là đặc điểm của lo hay là hậu quả của việc săn bắt, chặt phá và khai thác tài nguyên rừng một cách bất hợp lý, chưa có cơ sở khoa học đã và đang làm suy giảm mạnh mẽ về số lượng của loài?



Hình thái sọ của loài Dơi quả núi cao *Sphaerias blanfordi* (Thomas, 1891)

Dơi quả núi cao tuy phân bố rộng suốt phía Nam dãy Himalaya từ Ấn Độ qua Butan, Miến Điện, Nam Trung Quốc và đến nay phát hiện ở một vài địa điểm của Việt Nam nhưng với số lượng cá thể rất ít. Đây là loài Dơi Quả duy nhất trong giống *Sphaerias* nên cần quan tâm khảo sát, bổ sung tư liệu về đề xuất và biện pháp bảo vệ.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Corbet G. B. and J. B. Hill, 1992: The Mammals of the Indo-malayan Region: A systematic review. N. H. M. P. Oxford University Press.

2. Charles A. Acosta, 2000: International Conservation Education. Conservation Biology - The journal of the Society for Conservation Biology. Volume 14, No. 4.

3. Daniel M. Griffith, 2000: A Refuge for tropical Biodiversity after Fire. Conservation Biology - The journal of the Society for Conservation Biology. Volume 14, No. 1.

4. Dieter Kock and Gerhard Storch, 1996: Vietnamese mammals: information pack on Bats and Rodents. H. Z. M. England.

5. Edward O. Wilson, 2000: On the future of Conservation Biology. Conservation Biology - The journal of the Society for Conservation Biology. Volume 14, No. 1.

6. Eger et al., 2000: Preliminary Data recorded in Hoang Lien Son Nature Reserve, Huu Lien Nature Reserve and Cuc Phuong National Park (unpublished). Royal Ontario Museum, Canada.

7. Erwin Bulte G. C. Van Kooten, 2000: Conservation Biology - The journal of the Society for Conservation Biology. Volume 14, No. 1.

8. Gregory A. Thomas, 2000: Private Property and Public Benefit: Habitat Conservation Planning for Endangered species. Conservation Biology - The journal of the Society for Conservation Biology. Volume 14, No. 1.

9. M. S. Fujita, 1998: Flying Fox (Chiroptera: Pteropodidae) Pollination, seed dispersal, and Economic Importance. Resource Publication No. 2.

10. M. S. Fujita, Merlin D. Tuttle, 1991: Flying Foxes (Chiroptera: Pteropodidae): Threatened Animals of Key Ecological and

Economic Importance. The Journal of the Society for Conservation Biology; Volume 5. No. 4.

11. **Joseph R. Fielder**, 2000: Software for teaching conservation Biologists. Conservation Biology - The journal of the Society for Conservation Biology. Volume 14, No. 2.

12. **Karl F. Koopman**, 1999: Distributional Patterns of Indo-Malayan Bats (Mammalia: Chiroptera). American Museum of Natural History Central Park West at 79th street, New York, N. Y. 10024. Number 2942, 19pp.

13. **Lekagul B., Jeffrey A. McNeely**, 1977: Mammals of Thailand. Bangkok: 43-264pp.

14. **Navjot S. Sodhi and L. H. Liow**, 2000:

Improving Conservation Biology Research in Southeast Asia. Conservation Biology - The Journal of the Society for Conservation Biology. Volume 14, No. 4.

15. **Paul JJ Bates and David Harrison**, 1997: Bat of the Indian Subcontinent H. Z. M., 258 pps.

16. **Pham Duc Tien, Eger**, 1999: Report of Small Mammals Collected in Tra Mi District, Quang Nam Province, Vietnam 9 March-3 April, 1999 (unpublished).

17. **Pham Duc Tien and Vu Dinh Thong**, 1999: Report of Small Mammal Recorded in Pu Hoat Nature Reserve, Nghe An Province (unpublished).

MOUNTAIN FRUIT BAT *SPHAERIAS BLANFORDI* (THOMAS, 1891) THE RARE SPECIES AND GENUS FIRST FOUND IN VIETNAM

VU DINH THONG, et al.

SUMMARY

From March 1999 to May 2000, we conducted the surveys and researches on the bat fauna of Vietnam in co-operation with such organisation as Royal Ontario Museum (ROM-Canada), Hungarian Nature Museum (HNM), Society for Environmental exploration (Frontier-Vietnam), etc. Three bat individuals were collected in different times from separate areas that belong to species of mountain fruit bat (*Sphaerias blanfordi* and *Sphaerias blanfordi motuoensis*). This is Blandford's bat species, which has been first recorded in Vietnam.

Sphaerias blanfordi is a rare fruit bat species of the world. There have only been few studies on them at some small areas in Northern India, Eastern Nepal, Bhutan, Burma, NorthWestern, Shouthern China and Vietnam.

According to the results of previous researches, this species lives mainly in tropical and subtropical forests of the altitude from 800 m to 2700 m. But the specimen from Cuc Phuong National Park was collected at the altitude of 600 m. The probably distribute from 600 m or lower.

Especially, only one individual in each area was collected even though the trapping were carried out with strong effort in a long time. Is this the ecological Behaviour of Blandford's bat or the results of the irrational exploitation of forest resources.

The species are being threatened because of local people's hunting for food therefore *Sphaeria blanfordi* risks extinction. Researchs for conservating the mountain fruit bat species must be done as soon as possible.

Ngày nhận bài: 6-1-2001

SÁU LOÀI COLLEMBOLA MỚI THUỘC HỌ ENTOMOBRYIDAE ĐƯỢC PHÁT HIỆN Ở VIỆT NAM

NGUYỄN TRÍ TIẾN

Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật

Trong thành phần loài Collembola ở Việt Nam, Entomobryidae là 1 trong 2 họ lớn, chiếm 19,67% số giống và 30,16% số loài của cả khu hệ (Tiến, 1995). Trước năm 1979, đã phát hiện 12 loài (Stach, 1965), từ 1979 đến 1995, bổ sung thêm 22 loài, trong đó mô tả 2 loài mới cho khoa học (Tiến, 1995). Đến năm 1998, bổ sung tiếp 3 giống và 5 loài mới cho khu hệ Collembola ở Việt Nam (Thủy, 1998). Từ năm 1998 đến nay, khi nghiên cứu vai trò chỉ thị của nhóm này trong các sinh cảnh khác nhau thuộc nội dung đề tài 6.3.18/99 và đề mục Collembola Việt Nam - của động vật chí - 1999, chúng tôi đã phát hiện thêm 6 loài mới cho khoa học, được mô tả trong bài báo này gồm: 3 loài của giống *Seira*: *S. urbana* sp. nov., *S. camgiangensis* sp. nov., *S. oligomacrochaeta* sp. nov., 1 loài của giống *Homidia*: *H. glassa* sp. nov., 1 loài của giống *Wilowsia*: *W. mesothoraxa* sp. nov. và 1 loài của giống *Lepidocyrtus*, phân giống *Ascocyrtus*: *L. (Asc) concolourus* sp. nov. Với 6 loài mới này, họ Entomobryidae ở Việt Nam hiện nay đã biết có 5 loài thuộc 15 giống.

Các mẫu vật được bảo quản tại Phòng Thí nghiệm sinh thái môi trường, Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật, Nghĩa Đô, Cầu Giấy, Hà Nội.

1. *Seira urbana* sp. nov.

Địa điểm: Đống Đa, Hà Nội, trong nhà ở, 24.VI.1999, nhiều cá thể.

Mô tả: Con cái: Cơ thể dài 2,38 mm. Màu nền thân trắng với các vẩy màu xám nhạt. Sắc tố xanh xám tạo thành đám ở mép bên đốt ngực II, III và đốt bụng I-III. Sắc tố cũng có ở phần mép sau của đốt bụng IV. râu có màu xanh tím nhạt ở hai đốt cuối. Các phần còn lại không có màu (H. 1A). Đốt râu IV bị gãy, 3 đốt còn lại với tỷ

lệ 25/36/35 (ở các mẫu đã kiểm tra, tỷ lệ 4 đốt râu là 9 : 10 : 11 : 15). Tỷ lệ đốt râu II/đầu là 36/38 (ở mẫu khác, tỷ lệ râu/đầu là 45/12). Đốt râu IV kết vòng không rõ ràng. Vẩy có từ gốc râu đến đốt râu thứ III. Các lông trên râu dài, ngắn khác nhau, đều có mao mịn. Tổ chức AO là 2 lông cảm giác nhỏ nằm trong 2 rãnh tự do. Lông của môi trên 4/5, 5, 4. Phần nhẵn của mép ngoài lõm vào dạng chữ V. Mép ngoài cũng có hai gờ nhỏ ở giữa và hai gờ rộng, hình ôvan ở hai bên (H. 1C). 8 + 8 mắt trong một vết mắt đen, đậm, trong đó G, H nhỏ hơn 6 cái kia (H. 1B). Đốt ngực II không trùm lên đầu. Vuốt nhỏ, với mép trong có 1 + 1 răng ở gốc và 2 răng ở khoảng nửa chiều dài mép trong. Đệm vuốt dạng dao găm nhọn đầu, dài khoảng 2/3 vuốt. Lông leo bám khỏe, gốc nở rộng, đầu lông bẹt và không vắn, dài bằng vuốt (H. 1D). Vẩy phủ đến đốt ống bàn.

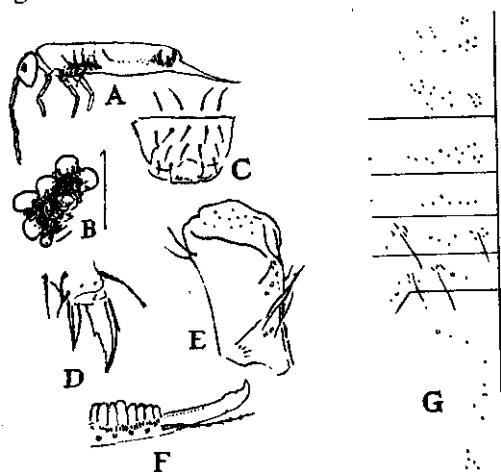
Tổ chức T. O gồm 20-25 lông dạng gai bố trí trong một hình bốn cạnh. Túi bụng mặt trước có vẩy, với 2 + 2 lông lớn ở phía trên, 1 + 1 lông ở khoảng giữa và 2 + 2 lông lớn ở gần gốc, ngoài ra còn có 2 - 3 + 2 - 3 lông mềm, khá dài, phủ mao. Mặt sau chỉ có 1 + 1 lông với mao mịn. Cạnh bên gần gốc có tổ hợp gồm 4-5 lông dạng gai nhọn, trong đó có 1 lông dài gấp 3-4 lần các lông khác (H. 1E). Cánh túi có trên 20 lông nhẵn, cứng. Chạc chày có tỷ lệ 50/61. Mặt bụng đế và thân chạc phủ vẩy với các khía sâu. Vẩy có dạng lá rộng hay ôvan, tương tự như ở thân, nhưng màu nhạt hơn. Mặt lưng thân chạc với các vết khía răng cưa chạy dài từ gốc đến gần đỉnh. Phần nhẵn còn lại của thân chạc dài gấp hai lần chiều dài đỉnh chạc. Đỉnh chạc hình liềm với 1 răng, hơi ruồi ra (H. 1F). Lông lớn trên thân bố trí như hình vẽ và tương đối giống nhau ở các mẫu kiểm tra (H. 1G).

Loài mới có cách xếp lông lớn rất gần với

Seira cinera tìm thấy ở Ấn Độ (Yosii, 1966) nhưng khác ở các điểm: kiểu màu sắc, số lượng mắt đơn của *S. cinerea* chỉ có 6 + 6 và ở mặt trước túi bụng loài này chỉ có 2 + 2 lông lớn. Tổ hợp lông bên gồm 4 cái có chiều dài như nhau.

Holotyp: 1 cá thể cái (♀), Hà Nội (Đống Đa), 24.VI.1999.

Paratyp: 3 cá thể {2 đực (♂), 1 cái (♀)}, cũng như trên.



Hình 1. *Seira urbana* sp. nov.

A: Hình dạng chung; B: Mắt; C: Mảnh môi trên; D: vuốt chân sau; E: Túi bụng; F: Đỉnh chạc nhảy; G: Cách sắp xếp lông lớn trên thân

2. *Seira camgiangensis* sp. nov.:

Địa điểm: Cẩm Giàng, Hải Dương, đất hoang gần nhà ở, 7.III.1999, 14 cá thể; Khê Hối, Thường Tín, Hà Tây, đất trồng màu, 12.V.1999, 7 cá thể; Thị xã Thái Bình, đất hoang, 2.VIII.1999, 40 cá thể; Đống Đa, Hà Nội, đất cỏ hoang, 25.III.1999, 24 cá thể.

Mô tả: Kích thước (ở con cái): Dài 2,1 mm. Màu xanh xám phủ mép ngực III-bụng II. Râu 4 đốt, tỷ lệ các đốt râu: 13 : 21 : 27 : 39. Các đốt râu phủ lông, có mao mịn với các kích thước dài khác nhau. Đốt râu 4 phủ lông rậm, xen với các lông ngắn, cứng. Đỉnh râu tròn với một nhú cảm giác dạng hành, nhô cao.

Tổ chức AO là hai lông cảm giác dạng roi ngắn, nằm trong hai rãnh hẹp riêng rẽ (H. 2C). Vẩy phủ ở mặt lưng đốt râu I, II và phần cuối của đốt râu III. Mắt 8 + 8 với sắc tố đen, trong đó G và H có kích thước nhỏ hơn những mắt

khác. Mũi trên với cấu trúc lông 4/5 5 4. Bó lông ở hàng trên cùng phủ mao mịn. Mép ngoài môi có cấu trúc hai vết lõm rộng ở hai bên, giữa nổi lên hai gờ nhỏ, khó phân biệt. Dây lông ngoài cùng của tam giác môi dày, phủ mao (H. 2B). Ba cặp chân phủ lông dày với mao mịn và vẩy có đến đốt ống bàn. Mặt bụng đốt ống bàn có các lông mập, chắc, rộng bản, phủ mao. Bên cạnh các lông mượt, dài. Mặt lưng phủ nhiều vẩy nhỏ, hẹp. Vuốt khỏe, mép trong với một răng gần gốc và một răng ở khoảng giữa còn lại của vuốt. Đệm vuốt dạng dao găm, nhọn đầu dài bằng ba phần tư chiều dài mép trong vuốt. Đốt chuyển với 25-30 lông dạng gai, phát triển trong một hình thang bốn cạnh (H. 2D). Túi bụng phía trước có 3 + 3 lông lớn với 8 - 10 lông nhỏ, dài, mảnh, phủ mao (H. 2E). Mặt sau có + 1 lông ngắn, cứng (H. 2F). Mặt bên cánh trước có 10-12 lông ngắn, cứng và ngắn. Quai móc có 4 + 4 răng và 1 lông ở gốc quai. Chạc nhảy phát triển. Tỷ lệ giữa đế/thân + đỉnh chạc là 40 : 60. Mặt bụng đế và thân chạc phủ đầy vẩy, tù đầu hay óvan rộng. Ngoài vẩy, mặt bụng đế chạc còn có một số lông dài, phủ mao, cứng. Mặt lưng đế chạc chỉ có lông dài, dài, và mềm với các chiều dài khác nhau. Những lông ở phần gốc cuối đế, giáp với thân chạc dày và mập hơn. Mặt lưng thân chạc với các vết bầm ngang, lược sóng. Tỷ lệ phần nhún ở cuối thân chạc với đế chạc 10 : 7. Đỉnh chạc nhảy với 1 răng lớn, hơi liềm doãi ra (H. 2G). Lông lớn trên thân bố trí như hình vẽ (H. 2I), vẩy trên thân phớt xám, tù đầu hoặc dạng óvan (H. 2H). Những vẩy lớn nhất xếp sấp ở phần lưng của các đốt bụng II và IV. Vẩy trên râu, chân, chạc nhảy có cùng hình dạng nhưng kích thước nhỏ hơn.

Loài mới có cách bố trí lông lớn ở đốt bụng I và ngực III giống với *Seira indica* Ritter nhưng khác về màu sắc thân, lông ở túi bụng và cấu trúc ở gốc thân chạc.

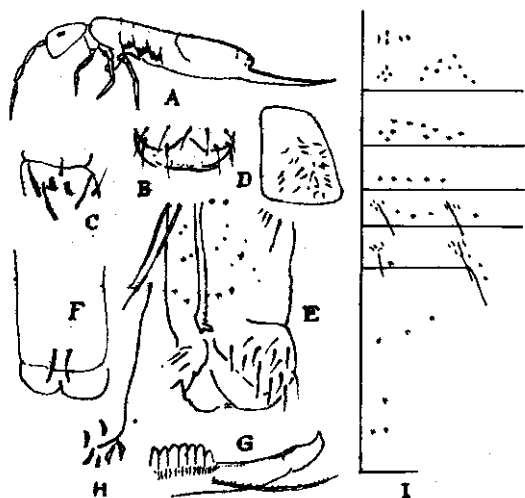
Holotyp: 1 cá thể cái (♀), Hải Dương (Cẩm Giàng), đất cỏ hoang 7.III.1999.

Paratyp: 2 cá thể cái (♀), cũng như trên.

2. *Seira oligomacrochaeta* sp. nov.:

Địa điểm: Cầu Tre, Hải Phòng, gốc cây dọc đường, 28.II.1998, 14 cá thể; Vũ Thư, Thái Bình, đất vườn quanh chùa, 14.VII.1997, 7 cá thể; Mỹ Lộc, Nam Định, đất cỏ hoang, 1.VIII.1999, 3 cá thể. Thị xã Phan Thiết, Bình

Thuận, gốc cây đơn ven đường, 4.XI.1998, 1 cá thể.



Hình 2. *Seira camgiangensis* sp. nov.

A: Hình dạng chung; B: Mảnh môi trên; C: AO; D: Đốt chuyển; E: Mặt trước túi bụng; F: Mặt sau túi bụng; G: Đỉnh chạc; H: Vảy phủ ở gốc lông rung cảm giác trên đốt bụng III; I: Cách sắp xếp lông lớn trên thân.

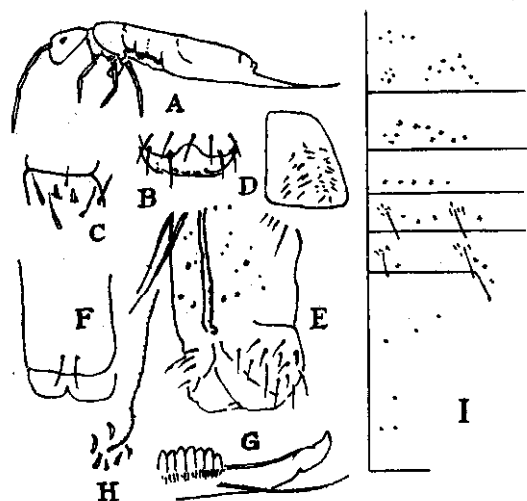
Mô tả: Con cái: Cơ thể dài 1,9 mm. Thân có màu nền trắng nhạt. râu có sắc tố xanh tím ở một nửa đốt II, khoảng 3/4 đốt III và toàn bộ đốt IV (Trong 14 cá thể được kiểm tra, có một số cá thể râu với 3 đốt, 2 cá thể có một bên râu 3 đốt, một bên râu 4 đốt). Sắc tố xanh xám phân bố ở hai bên mép đốt ngực II đến hết đốt bụng IV. Ở mép trên của đốt ngực II, mép ngực III phần cuối đốt bụng IV có màu đậm hơn. Mặt lưng của phần ngực và bụng không phủ sắc tố (H. 3A). Vảy màu nâu nhạt, có dạng trùng với các khía nông, vảy trên thân rộng hơn vảy ở chân, râu và chạc nhảy. Chân có sắc tố xanh ở mặt ngoài các đốt háng, đốt đùi. Các phần khác của thân còn lại không có sắc tố. Độ đậm, nhạt của sắc tố chuyển từ cá thể có dạng đậm đến cá thể có dạng nhạt hơn nhiều. Dấu sao vẫn nhận ra dấu vết phân bố của sắc tố trên thân và trên mép đốt ngực II, III. Có một vết xanh xám tròn, đậm nằm trên một dải mờ nối giữa hai mắt. Tỷ lệ râu/dấu là 28 : 10. Tỷ lệ các đốt râu 4 : 5 : 7 : 12. Đỉnh đốt râu IV tròn với một nhú cảm giác nhỏ phân thùy. Đốt râu IV hình trụ đều từ gốc đến đỉnh, mặt trong có 2, 3 dây lông cảm giác hình que, tù đầu, cong và ngắn. Mặt ngoài phủ lông dày với mao mịn xen giữa hai loại lông này là các lông cứng dạng gai nhọn, ngắn. Lông trên

đốt râu I - III dài và mảnh hơn. Vảy phủ đến đốt râu III. 8 + 8 mắt, trong đó 3 mắt phía trong nhỏ hơn 5 cái còn lại (H. 3C). Mép môi trên có các gờ nhỏ nhô lên tạo thành 2 vòng cung nhỏ ở trung tâm và 2 vòng cung rộng hơn ở 2 bên mép. Lông ở tam giác môi có dạng MrEE/LL, trong đó r rất nhỏ, dạng gai, còn các lông khác của dây ngoài cùng dây, phủ mao mịn (H. 3B). Chân phủ vảy đến hết đốt ống bàn. Vuốt khỏe với một răng ở gần gốc và hai răng phía trên của mép trong, một răng ở cạnh bên phía ngoài. Đệm vuốt dạng dao găm thuận ở đỉnh, mép ngoài có răng cửa rất nhỏ (có thể nhìn thấy dưới kính hiển vi phóng đại 400 lần), với chiều dài bằng 3/4 chiều dài cạnh trong vuốt (H. 3E). Mặt lưng, gần cuối đốt ống bàn có một lông leo bám khỏe, bẹt đầu, rộng bản, dài tương tự vuốt. Túi bụng cả mặt trước và sau phủ vảy rộng ở phần thân túi, phía trước có 2 + 2 lông dây, phủ mao, dài ở phía trên và 2-3 + 2-3 lông lớn, khá dài ở phía dưới (H. 3D). Mặt sau với 1 + 1 lông ở phần trên và một cái lông ngắn, ngắn ở dưới. Hai bên cánh túi, mỗi bên có 12 - 14 lông dây, phủ mao, ngắn. Tổ chức cảm giác ở đốt chuyển khoảng 22 - 24 lông dạng gai nhọn, bố trí trong một hình bốn cạnh. Chạc nhảy có tỷ lệ 10 : 13. Cả đế và thân chạc có nhiều lông dây, phủ mao, dài ở mặt lưng, còn mặt bụng phủ đầy vảy. Mặt lưng thân chạc với các vết bám ngang gần sát đến đỉnh, phần nhẵn còn lại khoảng hơn hai lần chiều dài đỉnh chạc. Đỉnh chạc hình liềm (H. 3F). Lông lớn trên cơ thể màu nâu sáng, với cách sắp xếp như hình vẽ (H. 3G). Cách xếp lông này ổn định ở tất cả các mẫu kiểm tra.

Màu sắc thân của loài mới gần tương tự với *S. cinerea* Yosii, 1966 ở Ấn Độ, nhưng khác hẳn về số lượng mắt, bố trí lông của túi bụng và kiểm xếp lông lớn trên thân. Loài mới cũng gần với *S. lateralis* Yosii, 1966 ở Ấn Độ: có cùng kiểu xếp lông lớn trên đốt ngực III, bụng II và III, số lượng mắt đơn, nhưng khác về màu sắc thân và nhiều chi tiết khác (vuốt, lông ở túi bụng,...). Trong số các loài *Seira* nêu trên, loài mới có số lượng lông ở đốt bụng I ít nhất (4 lông ở một nửa thân) và số lượng lông lớn ở đốt ngực II, III cũng ít hơn các loài khác.

Holotyp: 1 cá thể cái (♀), Hải Phòng (Cầu Tre), gốc cây đơn lẻ dọc đường 28.II.1998.

Paratyp: 2 cá thể cùng nhàn.



Hình 3. *Seira oligomacrochaeta* sp. nov.

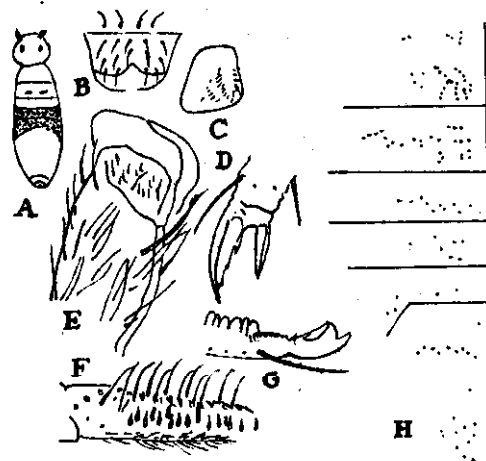
A: Cơ thể nhìn nghiêng (A1: mẫu Hải Phòng, A2: Mẫu Bình Thuận); B: Mảnh tam giác môi; C: Mắt; D: Túi bụng (mặt trước); E: Vuốt chân sau; F: Đỉnh chạc; G: Kiểu xếp lông lớn trên thân.

4. *Homidia glassa* sp. nov.:

Địa điểm: Ba Đình, Hà Nội, vườn quanh nhà, 29.VI.1999, 22 cá thể; đất hoang quanh trạm nước Thụy Khuê, 20.III.1999, 14 cá thể; Bình Vọng, Thường Tín, Hà Tây, đất trồng màu, 12.V.1999, 36 cá thể.

Mô tả: Chiều dài cơ thể 2,16 mm (từ 1,94 đến 2,64 ở mẫu Paratype). Nền thân màu trắng-vàng bẩn, sắc tố xanh xám nhạt tạo thành hai vết hình chữ nhật đối xứng ở mặt lưng đốt ngực III, trên đốt bụng II, III có vết sắc tố xám nhạt nhưng vạch gian đốt giữa chúng thì đậm hơn. Một đốm nhỏ, xanh xám ở giữa hai mắt (H. 4A). Râu 4 đốt với tỷ lệ 22/31/30/57. Đỉnh đốt râu IV tròn với một nhú cảm giác nhỏ, phân thùy. Trên đốt râu I, II mặt lưng có những lông lớn, phủ mao, dài như dây lông mọc ở phần trán, giữa 2 mắt. 8 + 8 mắt đen với G, H nhỏ. Lông của tấm môi trên là 4/5, 5, 4 với 4 lông dây trên cùng phủ mao mịn. Mép ngoài nhẵn, không có cấu trúc (H. 4B). Lông lớn trên cơ thể sắp xếp như hình bên (H. 4H). Cách xếp này là tương đối cố định ở các mẫu đã kiểm tra. Vuốt khỏe với một răng bao lưng, 2 răng gần gốc và 2 răng đơn. Đệm vuốt dạng lưỡi dao găm nhọn đầu, dài 2/3 chiều dài mép trong vuốt. Lông leo bám bẹt ở đỉnh, dài bằng vuốt (H. 4D). Tổ chức T.O gồm 25-28 lông dạng gai ngắn (H. 4C). Túi bụng mặt

trước có 1 + 1 lông lớn, dạng xẻ lông chim và nhiều lông mảnh, dài, phủ mao mịn. Mặt sau v 1 + 1 lông mịn, cứng ở gần đỉnh và nhiều lông mềm, ở trung tâm và gần gốc. Mặt bên túi v hơn 20 lông vừa lông nhẵn, cứng và lông mềm phủ mao mịn (H. 4E). Quai móc 4 + 4 răng và lông ở gốc. Chạc nhảy với các lông mềm, phủ mao mịn, khá dài. Tỷ lệ giữa đế chạc/thân đỉnh chạc là 51 : 60.



Hình 4. *Homidia glassa* sp. nov.

A: Cơ thể nhìn mặt lưng; B: Mảnh môi trên; C: Đốt chuyển; D: Vuốt chân sau; E: Túi bụng (mặt bên); F: Phần gốc thân chạc; G: Phần đỉnh chạc; H: Cách sắp xếp lông lớn trên thân

Trên thân chạc có số lượng gai, dao động 4-25, không màu, nhỏ, phân bố đến 2/5 chỉ dài thân chạc (H. 4F). Phần lưng sọc của thân chạc gần sát với đỉnh chạc. Đỉnh chạc nhảy răng, trong đó răng đỉnh nhỏ hơn và nhọn hơn răng gần đỉnh, với 1 gai ở gốc, khỏe, nở ở gốc (H. 4G). Tỷ lệ giữa đốt bụng III/bụng IV là 1 : 65.

Loài này về màu sắc gần giống với *Homidia subcingula* Denis, 1948 nhưng sắc tố ở đốt bụng II và III nhạt màu hơn nhiều và 2 vết sắc tố trên mặt lưng đốt ngực III, dễ nhận biết, ở loài này thay vì trên đốt ngực II của *H. subcingula*. Loài mới có sự xếp lông lớn trên thân gần với *sociai* Denis, 1929 nhưng phần màu thì hoàn toàn khác.

Holotyp: 1 cá thể cái (♀), Hà Nội (Ba Đình) vườn quanh nhà, 29.VI.1999.

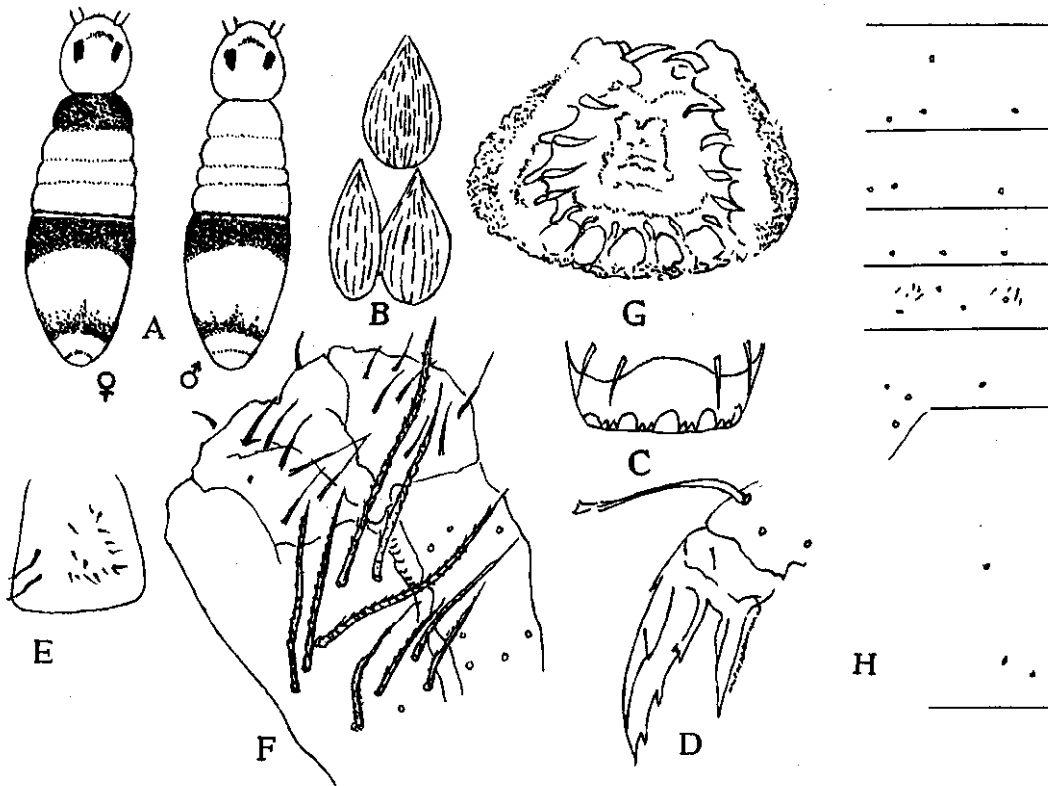
Paraatyp: 2 cá thể (♀), cùng nhẵn.

5. *Willowsia mesothorax* sp. nov.:

Địa điểm: Thị xã Thái Bình, đất hoang gần nhà ở, 2.VIII.1999, nhiều cá thể; Vĩnh Phúc, Tam Đảo, đất hoang chân núi, 2.IV.1999, 3 cá thể; Hưng Yên, đất quanh nhà, vườn hoa, 5.IV.1998, nhiều cá thể. Sóc Sơn, Hà Nội, đất cỏ hoang, 19.V.1998. 2 cá thể.

Mô tả: Cơ thể con cái dài 1,87 mm, màu xám đen phủ toàn bộ mặt lưng đốt ngực II, đốt bụng III, mép sau đốt bụng II và đốt bụng IV, sắc tố nhạt hơn ở điểm nối giữa hai mắt, mép sau đốt trước háng và háng chân trước, một vết nhỏ ở mặt trước, cuối đốt đuôi chân sau. Các

phần khác không màu (H. 5A). Râu dài gấp 2,6 lần đường kính đầu, bằng 0,47 lần chiều dài thân với tỷ lệ 4 đốt là 22 : 22 : 23 : 29. Đốt râu IV tròn, không kết vòng, đỉnh râu có một nhú cảm giác dạng hành. Cả 4 đốt râu không có vảy, phủ lông mịn dài, ngắn khác nhau. Môi trên có kiểu lông 4/5, 5, 4 với mép ngoài nhẵn, có gờ răng cửa tạo thành 4 nhú nhỏ lên (mỗi nhú có 3 răng) (H. 5C). 8 + 8 mắt, với G, H nhỏ hơn nhiều so với 6 mắt còn lại. Lông ở tam giác môi có dạng xẻ lông chim ở dây ngoài cùng. Cơ quan cảm giác ở đốt chuyển có 11 - 12 lông dạng gai ngắn, xếp thành hình chữ L (H. 5E).



Hình 5. *Willowsia mesothorax* sp. nov.

A: Cơ thể nhìn từ mặt lưng: cá thể cái (trái) và đực (phải); B: Dạng vảy; C: Mép môi ngoài; D: Vuốt chân sau; E: Đốt chuyển; F: Túi bụng (mặt trước); G: Lỗ sinh dục (con đực); H: Kiểu xếp lông lớn trên thân.

Vuốt khỏe rộng với 1 răng ở gốc lưng, 1 răng bên, mép trong vuốt với 2, 1, 1 răng. Cặp răng gần gốc có lamên rộng chạy dài từ gốc vuốt đến gần một nửa chiều dài mép trong vuốt. Đệm vuốt dạng dao găm nhọn đầu, dài bằng 2/3 chiều dài mép vuốt, mép ngoài có vết răng cửa rất nhỏ. Lông leo bám rộng bản, bet đầu, dài bằng vuốt (H. 5D). Túi bụng ở mặt trước có 10 + 10 lông lớn dạng xẻ lông chim, mặt sau có 1 + 1 lông nhẵn, gần đỉnh (H. 5F). Mỗi bên cánh túi có 7 - 8 lông có cả lông nhẵn, cứng và lông mềm, phủ mao mịn. Quai móc 4 + 4 răng và 1 lông gốc. Chạc nhảy không phủ vảy, với tỷ lệ đế/thân + đỉnh là 25 : 39. Cả hai mặt lưng, bụng đế và thân chạc phủ lông dầy, với mao

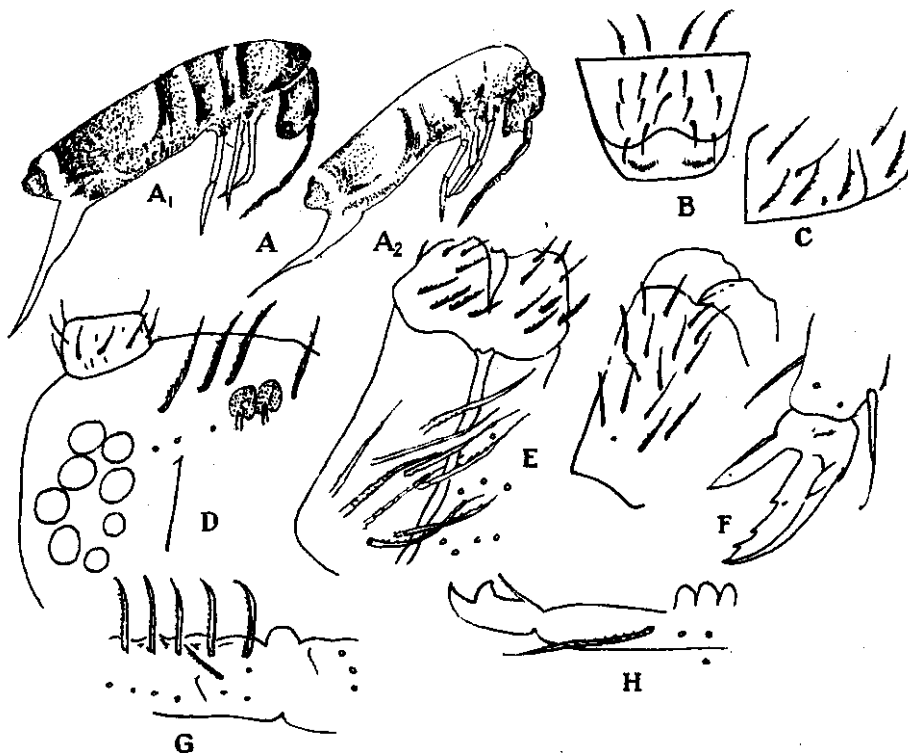
mịn, ở gốc thân chạc, mặt lưng trong số các lông dày có 1,2 lông lớn hơn, dài và lớn gấp đôi những cái khác. Phần nhẵn của cuối thân dài gấp 2 lần chiều dài đỉnh chạc. Đỉnh chạy nhảy 2 răng và 1 gai gốc. Vẩy trên thân dạng lá nhọn đầu, nở ở gốc với các vết khía sâu, chạy song song tụ về đỉnh nhọn (H. 5B). Vẩy dày đặc ở các mép gian đốt, phần lưng và bụng. Lông lớn trên thân ít, bố trí như ở hình vẽ (H. 5H).

Cá thể đực (♂): Có các đặc điểm như ở cá thể cái, chỉ khác về sắc tố: ở cá thể đực, ngực II không có sắc tố xám đen. Kích thước nhỏ hơn cá thể cái, dao động từ 1,25 - 1,40 mm.
Loài mới có dạng vẩy giống với *W. platini f. nigromaculata* (Lubb.) nhưng phân bố sắc tố hoàn toàn khác. Ở loài mới có số lượng lông lớn, màu cơ thể, dạng vẩy khác so với các loài *W. pseudosocia*, *W. bartkei* và Stach đã mô tả từ mẫu thu được ở Sa Pa (Lào Cai).

Holotyp: 1 ♀ 1 ♂ và paratyp (2 ♀, 2 ♂). Thái Bình (Thị xã), đất hoang gần nhà ở, 2. VIII.1999.

6. *Lepidocyrtus (Ascocyrtus) Concolourus* sp. nov.:

Địa điểm: Đất vườn hoa thành phố, Nam Định, dưới lớp thảm lá vụn trên mặt đất, 1. VIII.1999, 14 cá thể (8 cá thể dạng đậm, 6 cá thể dạng nhạt).



Hình 6. *Lepidocyrtus (Ascocyrtus) concolourus* sp. nov.

A: Cơ thể nhìn nghiêng (A1: Dạng đậm; A2: Dạng nhạt); B: Môi trên; C: Tam giác môi; D: Phần mắt và trán; E: Túi bụng (bên trái: mặt trước, bên phải: mặt sau); F: Vuốt chân sau; G: Phần gốc thân chạc; H: Đỉnh chạc

Mô tả: Cơ thể con cái dài 1,61 mm. Toàn thân phủ màu xanh xám (trừ các vạch gian đốt - ở dạng đậm, ở các dạng nhạt hơn thì mặt lưng của các đốt ngực, đốt bụng I - III không có sắc tố (H

6A). Râu 4 đốt với tỷ lệ: 8: 13 : 7: 18. Tỷ lệ râu/dầu là 42 : 30. Các đốt râu đều có màu xanh xám, phủ lông dày với mao mịn, không có vẩy, đỉnh râu IV tròn, không có nhú cảm giác. AO là 2 roi cảm giác cùn đầu, mọc song song trong 2 rãnh riêng biệt. Môi trên có cấu trúc lông 4/5, 5, 4. Bốn dãy lông đầu tiên phủ mao mịn. Mép ngoài có 2 hố lõm, bên trong có các khía dạng răng lược (H. 6B). Lông ở tam giác môi có dạng M. M (r) E/LL. Các lông M, M, E, L là lông dày, xẻ răng cưa, còn lông r rất nhỏ, dạng gai (H. 6C). 8 + 8 mắt phủ sắc tố đậm. Phần trước trán có một số lông biến dị dạng vẩy hình trứng (H. 6D). Vuốt khỏe với 1 cặp răng ở mặt lưng, 1, 1, 1 răng ở mép trong. Đệm vuốt dạng dao găm nhọn đầu, dài bằng 3/4 chiều dài mép trong vuốt, lông leo bám có đỉnh lông bẹt (H. 6F). Vẩy có ở các đốt háng; đuôi và đốt ống bàn không phủ vẩy. Túi bụng mặt trước có 9-10 + 9-10 lông dày, lớn, dạng xẻ lông chim, mặt sau nhiều lông ngắn, cứng. Mặt bên có 8-9 lông ở mỗi cánh túi vừa lông dày phủ mao, vừa có lông ngắn, nhọn (H. 6E). Quai móc 4 + 4 răng và 1 lông gốc. Tỷ lệ đế/thân + đỉnh chạc là 31 : 30. Gốc thân chạc mặt lưng có nhú phụ tròn đầu, hơi nhô cao (nhìn nghiêng rõ hơn khi nhìn từ trên xuống) (H. 6G). Đỉnh chạc 2 răng lớn bằng nhau và 1 gai gốc dài (H. 6H).

Loài mới có màu sắc thân giống với *Lepidocyrtus cyaneus* ở Châu Âu nhưng *L. cyaneus* không có nhú phụ ở gốc thân chạc, lông ở tam giác môi có cấu trúc khác (dạng MMrE/LL).

Holotyp: 1 ♀: Nam Định (Đất vườn hoa thành phố) dưới lớp lá mục trong công viên, 1.VIII.1999. 2. Paratyp và 11 cá thể khác cùng

địa điểm trên.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Kiều Thị Bích Thủy**, 1998: Đặc điểm phân bố Collembola ở khu vực Hà Nội và vai trò chỉ thị của chúng trong môi trường sinh thái. Luận văn thạc sĩ Sinh học, Hà Nội: 1-101.
2. **Nguyễn Trí Tiến**, 1995: Các loại bọ nhảy (Collembola) mới đối với khoa học phát hiện ở Bắc Việt Nam. Tuyển tập các công trình nghiên cứu Sinh thái và Tài nguyên Sinh vật. NXB Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội: 560-566.
3. **Nguyễn Trí Tiến**, 1995: Danh sách và cấu trúc thành phần loài bọ nhảy (Collembola) ở Bắc Việt Nam. Tuyển tập các công trình nghiên cứu Sinh thái và Tài nguyên Sinh vật. NXB Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội: 578-585.
4. **Kim J. T., Lee B. H.**, 1995: Collembola (Insecta) from Is. Chin - do, Korea. The Korea Journal of Systematic Zoology. Vol. 11, No. 4: 447-453.
5. **Stach J. R.**, 1965: On some Collembola of North Vietnam. Acta Zool. cracoviensia 10: 315-372.
6. **Yossi R.**, 1966: Collembola Hymalaya. Journal of the College of Arts and Sciences, China University, Vol.4, No.4, November, 1996: 461-531.
7. **Yossi R.**, 1966: On some Collembola of Afganistan, India and Ceylon. Res. Kyoto Univ. Sci. Exped. Karakoram Hindukush 8: 333-405.
8. **Yosii R.**, 1982: Lepidocyrtid Collembola of Sabah. Entom. Report from the Sabah Forest Research Centre. Japan Inter. Coop. Agency: 1-47.

SIX NEW SPECIES OF COLLEMBOLA (ENTOMOBRYIDAE) FROM VIETNAM

NGUYEN TRI TIEN

SUMMARY

In the species composition of Collembola in Vietnam, *Entomobryidae* is one of two big families with 19.67% amount genus and 30.16% amount of species of the *Collembola* fauna (Tien, 1995). Up to 1998, in Vietnam this family had 39 species belonging to 15 genera (Thuy, 1998).

From 1998 to now, 6 new species belonging to 4 genera are recorded and firstly described in this paper:

1. *Seira urbana* sp. nov.

Female: Body length 2.38 mm. Ground white, slightly gray with scales. Lateral side of the th.II-abd. III with coloured. Antennae slightly gray azure upon two distal segments. Abd. IV coloured posteriorly margin. Other parts pale. Ant.II/head as 36 : 38. Ant. ratio as 25 : 36 : 35 (Ant. IV is missing in Holotype). Scales present from the base until to the ant. III. Eyes 8 + 8, unguis small, with 1 + 1 inner basal and two inner tooth in the middle of unguis. Unguiculus lanceolate, 2/3 length of unguis. Ventral tube is anteriorly scaled with 2 + 2 terminal, 1 + 1 in the middle and 2 + 2 large setae. Beside, has 2 - 3 + 2 - 3 long, ciliated slender setae. Posterior face has 1 + 1 short terminal setae. Lateral comb-like setae consisting from 1 larger and 4 smaller setae. Ratio Man./den. as 50 : 61. Manubrium and dentes ventrally scaled and dorsally with many, long, ciliated setae. No special structure upon dentes. Mucro is falciform. Arrangement of larger body setae is as in Fig. 1G. It is alike to that of *Seira cinerea* Yossi, 1966 of India but different by colour pattern, setae arrangement of ventral tube and number of eyes (Fig. 1).

2. *Seira camgiangensis* sp. nov. (Fig. 2)

Body length up to 2.1 mm. Ground colour white. Gray aruze pigment covering lateral margin of th.III-abd.II. Antenal segment deeply gray on their distal end. Ant. is ratio as 13 : 21 : 27 : 29. Ant. I, II, III prominal dorsally with scales. Eyes 8 + 8, G, H are much smaller than others. Legs scaled until tibiotarsus. Ungui strongly, with paired basal and one inner tooth. Unguiculus acute and lanceolate. Tenent hair long and dilated apically. Ventral tube anteriorly with 2 + 2 terminal and 1 + 1 larger setae and some long, thin, ciliated setae. Posterior face has only 1 + 1 smooth setae. Lateral comb - like setae consisting from 1 larger and 3 smaller setae. Man./dens + mu. is ratio as 40 : 60. Man. ventrally with densely scaled with rounded or oval scales. Mucro is falciform with one apical tooth. Chaetotaxy of body as in F.2, I which is characteristic for species. Arrangement of larger body setae is alike to that of *S. indica* (Ritter) but different from cited species by colour pattern, chaetotaxy of ventral tube and presented species has not rounded blister of the integument upon inner basal part of dentes (Fig. 2).

3. *Seira oligomacrochaeta* sp. nov.

Female: Length body 1.9 mm. Ground colour slightly white. Antenal with blue - violet upon haft of Ant. IV are pigmented. Furthermore, coxa, trochanter and femur of each legs with bluish gray upon outer side. Ant./head as 21 : 10. Ant. ratio as 4 : 5 : 7 : 12. Scales present from the base until to the ant. III. Eyes 8 + 8, in a common black eye patch. Legs scaled until tibiotarsus. Unguis straight, with one inner basal and two inner distal teeth. One lateral teeth of outer side present. Unguiculus lanceolate. Ventral tube is anteriorly scaled and with 5 + 5 larger ciliated setae in three rows. Posterior face is scaled, with 1 + 1 terminal, smooth setae. Furca ratio as 10 : 13. Manubrium and dentes ventrally scaled and dorsally with many long, ciliated setae. Larger setae of body is as in Fig. 3, (Fig. 3).

The nearly related species are *S. cinerea* Yossi, 1966 of India and *S. urbana* sp.nov. but this species is to be distinguished by arrangement of larger setae of body and special by number of larger setae upon abd. I from other member of *Seira*.

4. *Homidia glassa* sp. nov.

Female: Body length ca. 2.16 mm (1.94 mm - 2.64 mm in Paratype). Ground colour yellowish white. The body pigmented are distributed in the following way: head with a small spot between two eyes. Th. III. has a pair of slight quadrangle patch on dorsal side. Slightly gray pigments cover the whole of abd. II, III. Ant. ratio as 22 : 31 : 30 : 57. Ant. IV apically with two sphaerical end. bulbs. Eyes 8 + 8, G, H smaller and all intensely black. No special structure upon labral margin. Chaetal arrangement of larger body setae is as in Fig. 4, H, which is almost constant in all cases examined. Unguis and unguiculus strong, elongate, not different from other species of the genus. Trochanteral organ is composed of 25 - 28 spiny setae. Ventral tube with 1 + 1 feeble, larger setae and some slender many thin, ciliated proximal and basal setae. Lateral flap bearing more than 20 smooth, ciliate setae. Man./den. + mu. as 51 : 60. Dens with feeble setae and along the edge up to its 2/5 length with an irregular double row of 4 - 25 uncoloured spines. Abd. III/abd. IV is ratio as 16 : 65. This species os near *H. subcingula* Denis, 1948 by colour pattern but pigment upon abd. II, III os slighter than cited species. Beside, two-pigmented spots of the species upon th. III, while those upon th. II of *H. subcingula*. This species is near *H. socia* Denis, 1929 by arrangement of larger setae of the body but quite different in the colour pattern (Fig. 4).

5. *Willowsia mesothorax* sp. nov.

Length body 1.87 mm (in female). All. th. II, abd. III, margin of abd. II and posterior part of abd. IV covered dark gray pigment. A spot with slightly gray colour is between two eyes. Legs are pigmented on posterior margin of coxa of fore-legs and on distal end of femur of brigh - legs. Ant./ head being 2, 6 : 1 and Ant./body as 0.47 : 1. Ant. segm. as 22 : 22 : 23 : 29. Ant. IV not annulated, distally with a rounded end buld. All antenal segments unscaled. Labral setae as 4/5, 4, 4. Distal margin with 4 serrated tubercles (3 tooth for one tubercle). Unguis crinate, a pair lateral teeth, and 2, 1, 1 inner teeth. Unguisculus lanceolate with faint serrated outer margin. Ventral tube is anteriorly with 10 + 10 larger setae. Posterior face has 1 + 1 terminal smooth setae. Lateral flap bearing 7 - 8 smooth and ciliated setae. Furca is unscaled on ventral of manubrium and dentes. Man./dens as 25"39. Mucro is typically bidentate, with a basal spine (Fig. 5).

Form of scales are alike to *W. platini f. nigromaculata* (Lubb.). Those are densely upon margin of segment, ventral and dorsal side of the body. Larger setae of the body arranged as Fig. 5, H.

Male: Characters as in females, excluded colour pattern and size: They are unpigmented upon th. II and smaller than female in length (about 1.25-1.40 mm).

6. *Lepidocyrtus (Ascocyrtus) concolourus* sp. nov.

Length body ca. 1.61 mm. The body deeply pigmented and segments in the dark form, in the pale from the body is almost slightly colour, with bluish-gray pigments laterally side on head to abd. IV. Dorsal side of th. II-abd. III and anterior half of abd. IV pale. Ant./head as 42:30. Ant. ratio as 8 : 13 : 17 : 18. Antennae gray azure pigmented all segments, with many ciliated setae and unscales. Ant. IV without apical bulbs. Labral margin with two groove in serrated shaped. Setae of labial basis are as MMrE/LL. M, E, L is larger, feeble setae, but r is very small, spine seta. Unguis strong, with a pair of long, distally broad and truncate. Scales present upon coxa, femur. Tibiotarsus is unscaled. Ventral tube anteriorly with 9 - 10 + 9 - 10 larger, feeble setae. Posterior face has many smooth setae. Lateral flap bears some smooth and ciliated setae. Man./dens as 31 : 30 (fig. 6).

Dentes with dorsal appendix in sharp - rounded (subg. Ascocyrtus). Mucro is equally bidentate and with one basal spine.

This species is near *L. cyaneus* of Europe in the body colour but differs from it by present of appendix upon basal dentes and by structure of setae on labral margin.

All holotype and paratype specimens are stored in the collection of the Department of Environmental Ecology, IEBR, Nghia Do, Cau Giay, Hanoi.

Ngày nhận bài: 6 - 8 - 2000

NHỮNG DẪN LIỆU MỚI VỀ *RANA CHAPAENSIS* - LOÀI CHÀNG SA PA (BOURRET, 1937)

NGUYỄN QUẢNG TRƯỜNG, HỒ THU CÚC, NGUYỄN VĂN SÁI

Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật

Loài chàng Sa Pa - *Rana chapaensis* (Bourret, 1937) là loài đặc hữu của Việt Nam và rất hiếm gặp. Loài này được phát hiện ở Sa Pa và được Bourret mô tả với tên khoa học đầu tiên là *Hylarana chapaensis* sau đó đổi thành *Rana chapaensis*; từ đó đến nay vẫn chưa được tìm thấy lại ở Việt Nam. Số lượng mẫu của chúng hiện nay rất ít, chỉ có một mẫu hiện đang lưu giữ tại Bảo tàng Động vật - Đại học Quốc gia Hà Nội, mẫu Syntype thu được vào khoảng tháng 8-9/1937 tại Sa Pa được chuyển về Pháp cùng những tài liệu khác. Mặc dù chưa được ghi vào Sách Đỏ Việt Nam (2000) nhưng có thể coi đây là loài hiếm của Việt Nam cũng như của thế giới.

Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật và Bảo tàng Khoa học tự nhiên Tru Hoa (MNNS).

Trong quá trình nghiên cứu chúng tôi đã dụng phương pháp nghiên cứu truyền thống thu thập mẫu vật, sau đó tiến hành đo đếm (chỉ số đo được tính với mức độ chính xác 0,1 mm) và mô tả mẫu. Mẫu được cố định bằng fomalin 10% trong 24 giờ sau đó ngâm trong cồn etylic 70%. Các mẫu nội quan để phân tích ADN được bảo quản trong cồn etylic 95%. nghiên cứu về sinh thái học của loài, chúng tôi đã ghi âm tiếng kêu, thu mẫu nòng nọc, trứng chụp ảnh sinh cảnh nơi tìm thấy loài này sống.

I. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Trong thời gian làm việc với tổ chức FRONTIER (Anh), chúng tôi lần đầu tiên tìm thấy loài này tại Tả Van (Sa Pa, Lào Cai/tọa độ: 24°46'N, 103°67'N) nhưng số lượng mẫu cực kỳ ít ỏi: chỉ sưu tầm được 02 mẫu (1 mẫu là con chưa trưởng thành) trong suốt tháng 2/1998. Sau đó, một số mẫu nữa cũng đã được tìm thấy ở Sa Pa và hiện đang lưu giữ tại Phòng Bảo tàng động vật, Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật.

Thực hiện công tác nghiên cứu đa dạng sinh học (ĐDSH) ở một số khu vực Bắc Trường Sơn, Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật đã phối hợp với Bảo tàng Lịch sử Tự nhiên Hoa Kỳ (AMNH) nghiên cứu khu hệ động vật tại Hương Sơn (Hà Tĩnh). Trong vòng 2 tháng (4 và 5/1998), chúng tôi đã phát hiện và thu được 26 mẫu loài chàng Sa Pa tại khu vực Rào Ẩn (18°21'N, 105°13'E). Hiện nay, số mẫu này đã gửi đi phân tích ADN tại AMNH. Đây là tiền đề cho việc nghiên cứu kỹ lưỡng hơn về sinh thái học của loài vào tháng 7/1998, với sự hợp tác

II. KẾT QUẢ

1. Hình thái:

Màu sắc: Lưng có màu nâu đồng, có thể màu sẫm hơn, giữa lưng có một đường rãnh trắng đục từ phía sau ổ mắt đến tận hậu mông. Bên sườn màu đen, phía gần bụng màu trắng đục. Tay vàng xỉn có các vệt đen ngang. Trên đùi, cổ chân, cẳng chân có những vệt ngang màu đen sẫm xen kẽ vệt sáng. Phía cẳng chân dưới có vệt trắng bạc kéo dài đến tận phía dưới cẳng chân màu đen.

Kích thước: Đây là loài ếch có kích thước nhỏ (đài thân 39,25 mm). Các số đo như bảng 1.

Đầu: Đầu hơi lõm, dài hơn rộng. Mồm hơi tròn, gờ mồm rõ, má gần như thẳng đi. Mắt nhô rõ, thường màu đen, đường kính hơn đường kính mắt chút ít. Lỗ mũi cách mắt mồm và mắt. Khoảng cách gian mũi thuôn hơn gian mí mắt. Có gờ da rõ nét từ chạy qua ổ mắt viền theo nếp bên lưng đến đuôi.

Chi: Ngón tay khá dài, ngón III dài nhất và vượt mõm, ngón I thường dài bằng hoặc hơn ngón II. Cũ bàn tay lồi, củ dưới khớp lồi và khá lớn. Chân khá dài (68,35 mm) gần gấp đôi chiều dài thân, khớp cổ bàn vượt quá mõm. Khi gấp chân vuông góc với thân, gót đè lên nhau. Cẳng chân dài gấp ba lần rộng. Đầu ngón chân hơi phình nhưng xẻ rãnh rất rõ. Các ngón 1/3 - 1/2 có màng. Ngón IV rất dài, ba đốt của ngón IV hoàn toàn tự do, ít nhất hai đốt của ngón III và V tự do. Củ dưới khớp vừa phải. Củ bàn trong rõ, củ bàn ngoài nhỏ nhưng phân biệt được. Da nhẵn, đôi khi có hạt nhỏ trên lưng, đùi và vùng hậu môn.

Con đực nhỏ hơn con cái.

2. Sinh thái học của loài:

Theo các tài liệu trước đây, phân bố của loài chàng Sa Pa là khu vực Sa Pa (Lào Cai). Nhưng việc tìm thấy mẫu của loài này ở miền Trung Việt Nam đã bổ sung thêm vùng phân bố mới của loài ếch nhái này là khu vực Hương Sơn (Hà Tĩnh).

Điểm đáng chú ý trong phân bố của loài này chúng chỉ phân bố ở độ cao trên 1000 m (ở Sa Pa là 1400 - 1600 m, ở Hương Sơn là 1010 - 1200 m), ở độ cao thấp hơn chúng tôi chưa thu được cá thể nào. Có thể cho rằng đây chính là độ cao thích hợp cho sinh trưởng và phát triển của loài này. Sự phân bố hẹp này là do yêu cầu về sinh cảnh sống của loài. Chúng thường cư ngụ ở ven bờ các suối nhỏ, lượng nước không lớn và lưu lượng dòng chảy yếu. Quan sát ở các suối đã thu được mẫu vật thì hầu hết lòng suối đều là đất xen lẫn đá, hai bên suối có nhiều cây bụi rậm rạp, bờ suối thoải và có những khoảng trống nhất định. Ban ngày, chúng thường trú ẩn trong các hốc nhỏ ven suối, lúc xẩm tối chúng bắt đầu tiến ra sát mép nước để hoạt động.

3. Sinh sản:

Vào mùa sinh sản (tháng 4 - 7 hàng năm) chúng đẻ trứng thành các tổ trong những vũng nước đọng nhỏ sát bên mép nước suối, phần lớn thể tích trứng chìm trong nước. Trứng màu vàng chanh số lượng khoảng 20 - 30 trứng/1 ổ. Kì nở nòng nọc nhỏ và thường hoạt động ở cả vũng nước đọng. Chúng kêu cả ngày và đêm tiếng kêu của con trưởng thành rất đặc trưng (âm cao, vang: 3 tiếng 1 lần, 2 - 3 lần liên tục) chúng tôi tiến hành ghi âm tiếng kêu tại Hương Sơn và cũng đã thu mẫu, nòng nọc, trứng, là mẫu nước để phân tích một số chỉ tiêu hóa sau này.

Trên đây là những thông tin mới nhất mà chúng tôi có được qua các lần nghiên cứu những thời điểm khác nhau, ở 2 khu vực hoàn toàn khác biệt về điều kiện địa lý; kết quả nghiên cứu ban đầu về sinh thái học của loài sẽ góp phần làm cơ sở khoa học để đưa những biện pháp bảo tồn thích hợp cho loài riêng và khu hệ bò sát, ếch nhái nói chung.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bourret R., 1942: Les Batraciens de l'Indochine Hanoi, 517 pp.
2. Nguyễn Văn Sáng, Hồ Thu Cúc, 1995: Danh lục bò sát và ếch nhái Việt Nam, NXB K và KT: 264.
3. Nguyễn Quảng Trường, Dav Kizirian, 1998: Báo cáo kết quả nghiên cứu dạng sinh học về bò sát, ếch nhái một số khu vực Bắc Trường Sơn. Hà Nội, 4 - 5/1998: 18.
4. Nguyễn Quảng Trường, Wen H Chou, 1998: Báo cáo kết quả nghiên cứu sinh thái học một số loài ếch nhái tại Hương Sơn, Hà Tĩnh 7/1998: 6.

THE NEW DATA OF *RANA CHAPAENSIS* (BOURRET, 1937) SPECIES

NGUYEN QUANG TRUONG, et

SUMMARY

Rana chapaensis is an endemic species of Vietnam. Although it is not recorded in Red Data Book Vietnam (2000) but it is a rare species. After surveys conducted in Sa Pa (Lao Cai Province) and in Hương Sơn (Hà Tĩnh Province) in November (1997), February, April, May and July 1998, we have the new data about morphology, distribution and ecological characteristics of this species.

Ngày nhận bài: 6 - 2 - 2000

NGHIÊN CỨU HỆ THỐNG TÁI SINH VÀ CHUYỂN GIEN Ở CÂY ĐẬU XANH (*VIGNA RADIATA* L.)

PHẦN I: HỆ THỐNG TÁI SINH CÂY ĐẬU XANH TỪ CUỐNG TỬ DIỆP NUÔI CẤY *IN VITRO*

MAI TRƯỜNG, NGUYỄN HỮU HỒ, LÊ TẤN ĐỨC,
NGUYỄN VĂN UYÊN

*Viện Sinh học Nhiệt đới
Thành phố Hồ Chí Minh*

Cây họ đậu được xem là cây trồng quan trọng đối với nhiều nước đang phát triển ở vùng châu Á và ở vùng Nam Mỹ, trên thế giới có khoảng 700 triệu người sử dụng nguồn protein này trong khẩu phần thiết yếu hàng ngày (Nagl W., 1997). Đối với vùng Đông Nam Á, cây đậu xanh hiện đang được trồng nhiều ở các nước đang phát triển. Việc thiếu 1 hệ thống tái sinh cây hiệu quả đã làm chậm đi sự cải tiến loài này qua con đường chọn lọc nuôi cấy mô và chuyển gen đối với thực vật (Gulati và Jaiwal, 1990).

Trước đây, có một số công trình công bố cho rằng đã thành công trong việc tái sinh cây qua con đường phát sinh hình thái chồi từ nốt lá mầm (Mathew, 1987; Gulati và Jaiwal, 1990; Jayanti Sen và Spira Guha - Mukherjee, 1998), đỉnh chồi (Bajaj và Dhanju, 1979; Glulati và Jaiwal, 1992). Nhưng cho đến nay vẫn chưa có nghiên cứu nào công bố và áp dụng thành công các phương pháp tái sinh nói trên trong lĩnh vực chuyển nạp gen vào thực vật (Nagl W., 1997).

I. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Giống đậu xanh ĐX 208 mua tại Công ty giống cây trồng miền Nam, năng suất đạt khoảng 2.000 - 5.000 kg/ha.

- Môi trường MSB: muối đa lượng, vi lượng MS (Murashige và Skoog, 1962), vitamin B5 (Gamborg và cộng sự, 1968), đường 30 g/l, nước dừa 50 ml/l, agar 8 g/l, pH: 5,8.

- Môi trường MSB4 : MSB + 4 mg/l BAP

- Môi trường B5: muối đa lượng, vi lượng và vitamin B5 (Gamborg và cộng sự, 1968) đường 30 g/l, nước dừa 50 ml/l, agar 8 g/l, pH: 5,8.

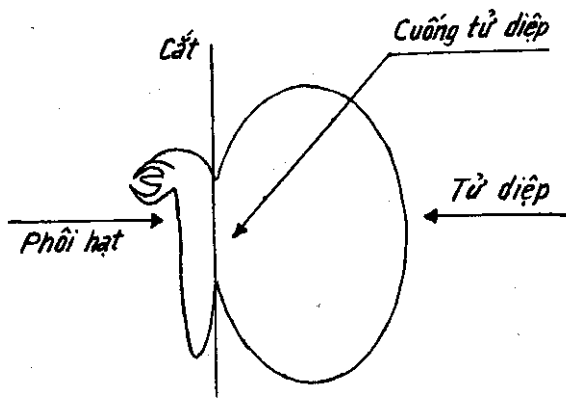
Điều kiện nuôi cấy: T°: 28°C, thời gian chiếu sáng: 12 g/ngày, cường độ ánh sáng: 2000-3000 lux.

- Cấy chuyển sang môi trường mới 1 tuần/lần.

- Hạt đậu xanh được rửa sạch bằng xà phòng và xử lý trong cồn 70° trong 1 phút, rửa sạch bằng nước cất vô trùng rồi ngâm trong dung dịch hypochloride calcium 12,5%. Sau đó rửa hạt đậu nhiều lần bằng nước cất vô trùng, thấm khô và gieo hạt trên môi trường MSB.

- Sau 3 ngày, khi hạt nảy mầm lộ ra hai tử diệp dùng dao mổ loại bỏ hoàn toàn trục phôi (xem hình 1). Phần còn lại cấy trên môi trường MSB4, khoảng 10 ngày chồi bắt đầu hình thành ở vùng cuống tử diệp. Khi chồi đạt chiều cao 2 cm sau 4 tuần, cắt bỏ hoàn toàn phần tử diệp và cấy sang môi trường B5 + BAP 0,1 mg/l để phát triển chiều cao trong 2-3 tuần. Sau đó chuyển sang môi trường ra rễ B5 + IBA 0,1 mg/l. Các thí nghiệm như trên được lặp lại 3 lần, mỗi thí nghiệm sử dụng 100 tử diệp.

- Sau 4 tuần, cây hoàn chỉnh với bộ rễ phát triển tốt đạt chiều cao từ 7-8 cm. Rửa sạch phần thạch dính vào rễ và đem trồng ra chậu trong nhà lưới, thành phần đất: cát, tro theo tỷ lệ 2 : 1, bón lót bằng phân hữu cơ. Cây ra hoa và kết quả bình thường sau khi trồng ra chậu khoảng 5 tuần.



Hình 1. Phần tử diệp hạt đậu xanh dùng nuôi cấy

II. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

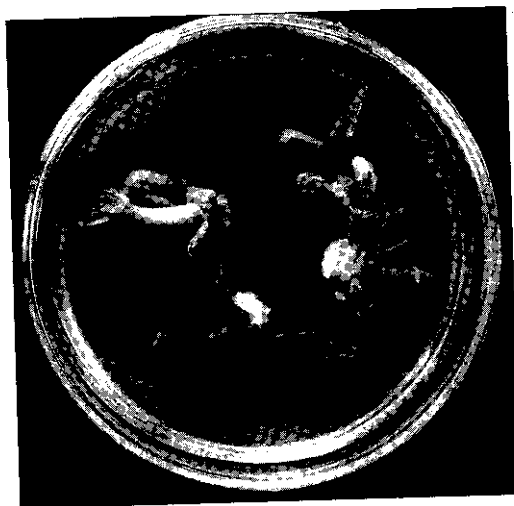
Ở cây họ đậu, đại diện là cây đậu xanh, sự tái sinh cây hoàn chỉnh từ mô sẹo nói chung khó khăn hơn ở nhiều cây khác. Chúng tôi đã nhận được cây tái sinh từ mô cuống tử diệp. Sau khi cấy tử diệp đã cắt bỏ trực phôi trên môi trường MSB4 sau 1 tuần, bắt đầu quan sát thấy sự hình thành các đám mô sẹo ở vùng mô cuống tử diệp. Tỷ lệ hình thành mô sẹo là 100% so với số tử diệp được nuôi cấy.

Sau 10 ngày bắt đầu quan sát thấy xuất hiện các chồi xanh với số lượng từ 1-2 chồi trên 1 tử diệp. Số lượng chồi tái sinh tối đa trên 1 tử diệp là 3. Tỷ lệ tử diệp hình thành từ một chồi trở lên so với số tử diệp có hình thành mô sẹo là 60%. Chồi đậu xanh thu được trên môi trường MSB4 được cho phát triển chiều cao trên môi trường B5 bổ sung BAP 0,1 mg/l và hệ rễ được hình thành sau khi chuyển qua môi trường B5 với IBA 0,1 mg/l, sau khi nuôi cấy 6 tuần. Cây đậu xanh tái sinh sau khi ra rễ được trồng ra chậu cho đến khi ra hoa kết quả.

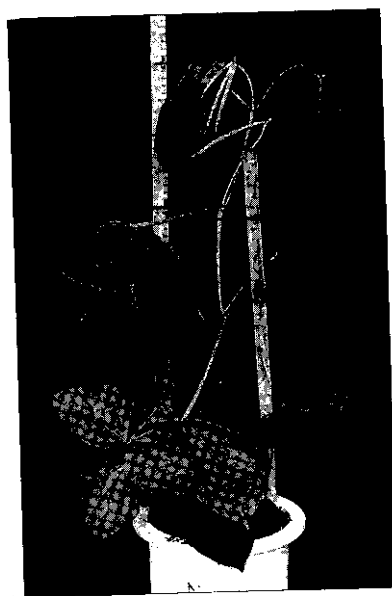
Hệ thống tái sinh trình bày ở trên cho phép tái sinh một số lượng lớn cây đậu xanh thông qua nuôi cấy tử diệp. Kết quả thu được thống nhất với kết quả nhận được của nhóm Gulati (1994), tuy nhiên thời gian tái sinh chồi trong thí nghiệm của chúng tôi ngắn hơn (10-14 ngày so với 20-21 ngày). Có thể đó sử dụng các giống đậu xanh khác nhau.

Trong thực tế hạt giống đậu xanh được sản xuất dễ dàng và hoàn toàn không có nhu cầu nhân giống vô tính bằng kỹ thuật cấy mô. Tuy

nhiên, như đã nói trong phần mở đầu, các nghiên cứu chuyển gen vào đậu xanh không thể thực hiện được và không có ý nghĩa nếu trước hết không thực hiện được việc tái sinh cây đậu xanh hoàn chỉnh từ mô sẹo hoặc phôi vô tính.



Hình 2. Số lượng tối đa 3 chồi hình thành trên 1 mẫu tử diệp



Hình 3. Cây đậu xanh tái sinh được trồng trong nhà lưới cho đến khi ra hoa kết quả

Các kết quả thực nghiệm ở trên cho thấy nếu lựa chọn mô cấy thích hợp (ở đây là tử diệp cắt bỏ phôi) thì có thể dễ dàng tái sinh cây đậu xanh từ mô sẹo cây đậu xanh.

Hướng nghiên cứu này có thể áp dụng cho các đối tượng cây họ Đậu khác, thường rất khó tái sinh so với cây không phải họ đậu.

III. KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

Đã xây dựng được hệ thống tái sinh từ mô cuống tử diệp đậu xanh nuôi cấy trên môi trường MSB4. Kết quả đạt được phù hợp với những công trình đã công bố cho rằng chỉ sử dụng duy nhất 1 loại cytokinin và BAP trong sự tái sinh chồi từ tử diệp đậu xanh (Gulati và Jaiwal, 1994; Jayanti Sen và Sipra Guha-Mukherjee, 1998).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bajaj Y. P. S. and Dhanju, M. S., 1979: Regeneration of plants from apical meristem tips of some legumes. *Current Sci.*, 48: 906-907.
2. Gamborg O. L., Miller R. A. and Ojima, K., 1968: Nutrient requirements of suspension culture of soybean root cells. *Exp. Cell Res.*, 50: 151-158.
3. Gulati A. and Pawan K., 1992: *In vitro* induction of multishoots and plant regeneration from shoot tips of Mung bean (*Vigna radiata* L. Wilczek). *Plant Cell Tissue Organ Cult.*, 29: 199-205.
4. Gulati A. and Pawan K., 1994: Plant regeneration from cotyledonary node explants of Mung bean (*Vigna radiata* L. Wilczek). *Plant Cell Tissue Organ Cult.*, 13: 523-527.
5. Jayanti Sen and Sipra Guha-Mukherjee, 1998: *In vitro* introduction of multiple shoots and plant regeneration in *Vigna*. *In Vitro Cell. Dev. Biol.-Plant*. 34: 276-280.
6. Mathew H., 1987: Morphogenesis responses for *in vitro* culture seedling explants of Mung bean (*Vigna radiata* L. Wilczek). *Plant Cell Tissue Organ Cult.*, 11: 163-168.
7. Murashige T. and Skoog, F., 1962: A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Physiol. Plant*, 15: 473-497.
8. Nagl W. et al., 1997: Genetic engineering and regeneration of *Phaseolus* and *Vigna*. State of the art and new attempt. *J. Plant Physiol*, Vol.150: 625-644.
9. Nguyễn Văn Uyển, 1995-1996: Những phương pháp công nghệ sinh học thực vật. NXB Nông nghiệp, tập 1-2.

STUDY ON REGENERATION AND GENETIC TRANSFORMATION OF MUNG BEAN (*VIGNA RADIATA* L.)

PART I: REGENERATION OF MUNG BEAN THROUGH *IN VITRO* CULTURE OF CYTOLEDONARY STALK

MAI TRUONG, et al.

SUMMARY

Leguminous plant is one of recalcitrant plant species for *in vitro* shoot regeneration via embryogenesis and morphogenesis. We have obtained an efficient *in vitro* shoot formation system from cotyledonary stalk of Mung bean. Cotyledons, after seed embryonic axis were completely removed, were cultured for callus and shoot formation on medium containing MS salts (Murashige & Skoog, 1962), B5 vitamins (Gamborg et al., 1968) with BAP 4 mg/l. After 7-10 days of culture, shoots and calli were observed to appear at the cotyledonary stalk region. The regeneration frequency is 60%. Shoots were isolated from cotyledons and placed on B5 medium (Gamborg et al., 1968) with BAP 0.1 mg/l for elongation. When shoots reached 4-5 cm in height, they were rooted on B5 medium with IBA 0.1 mg/l in a 4-week culture period. Plants transplanted to greenhouse and reached flowering and pod forming stage. The results showed that mature plants had normal phenotypes.

Ngày nhận bài: 26-10-2000

ĐÁNH GIÁ HOẠT TÍNH CMC_α CỦA MỘT SỐ CHỦNG VI SINH VẬT PHÂN HỦY XENLULO

NGUYỄN THỊ KIM CÚC

Viện Công nghệ sinh học

Ở Việt Nam cùng với sự nghiệp công nghiệp hóa, hiện đại hóa đất nước, ô nhiễm môi trường ở những thành phố, khu dân cư tập trung và các khu công nghiệp đang trở thành một nguy cơ thật sự. Việc điều tra, đánh giá mức độ ô nhiễm đã được chú trọng trong những năm gần đây để báo động tình hình và định hướng giải quyết. Tuy nhiên, xử lý rác thải, nước thải và các loại phế thải công, nông, lâm nghiệp đang là vấn đề bức xúc của nước ta cũng như nhiều nước trên thế giới hiện nay. Các loại phế thải công nông lâm nghiệp nói chung thay đổi rất lớn cả về số lượng lẫn chất lượng. Bình thường các phế thải này thường tập trung và đôi khi chúng có chứa cả các chất độc hại, vì vậy, việc quản lý các phế thải đòi hỏi có sự nghiên cứu kỹ lưỡng và kế hoạch lâu dài.

Có nhiều phương pháp lý, hóa, sinh, cơ học để xử lý phế thải nhưng biện pháp sinh học vẫn là hướng tích cực, có nhiều ưu điểm so với các phương pháp khác và đang rất được quan tâm khai thác. Nhiều phòng thí nghiệm trên thế giới đã đưa ra những quy trình công nghệ khác nhau. Sản phẩm của quy trình phân hủy chất hữu cơ trong phế thải là mùn, có thể dùng làm phân bón rất tốt cho cây trồng và cũng là nguồn nguyên liệu để sản xuất các dạng phân vi sinh khác nhau, các loại phân bón chất lượng cao phù hợp các đối tượng cây trồng, đặc biệt dùng cho việc sản xuất rau sạch.

Thành phần chính trong phế thải rắn (sinh hoạt, công, nông, lâm nghiệp) là xenlulo và các hợp chất hữu cơ, vì vậy những vi sinh vật có khả năng phân giải các hợp chất này đóng vai trò to lớn trong quy trình công nghệ xử lý các phế thải rắn bằng các biện pháp sinh học [4,7, 10].

Chúng tôi đã phân lập và tuyển chọn được một số chủng vi sinh vật có khả năng phân giải xenlulo từ đất và bùn mĩa. Xenulaza là một phức hệ enzym trong đó có exoglucanaza là một enzym quan trọng và phổ biến ở mọi vi sinh vật phân giải xenlulo. Cơ chất để nghiên cứu exoglucanaza là CMC tan trong nước lại không bị enzym hấp thụ (Haliwell G. et al., 1981) những đánh giá bước đầu về hoạt tính của chúng trên các nguồn cơ chất khác nhau đã được tiến hành nghiên cứu.

I. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

- Các chủng vi sinh vật phân giải xenlulo được phân lập từ đất, bùn mĩa.

- Nguồn cơ chất cho nấm là than bùn, bùn mĩa, bã mĩa (lấy từ Nhà máy đường Sơn La), ngô, cám gạo.

- Các chủng nấm được phân lập trên môi trường Czapek-Dox có bổ sung bột giấy.

- Các chủng vi khuẩn được phân lập trên môi trường Lemberk và Colmer với một dải giá lọc.

- Phương pháp xác định hoạt tính xenlulaz ngoại bào (theo Williams, 1983) bằng khuếch tán trên thạch, dựa trên nguyên tắc là xenlulaz của nấm sợi sẽ thủy phân CMC có trong thạch tạo ra màu vàng khi có mặt của đồ Congo.

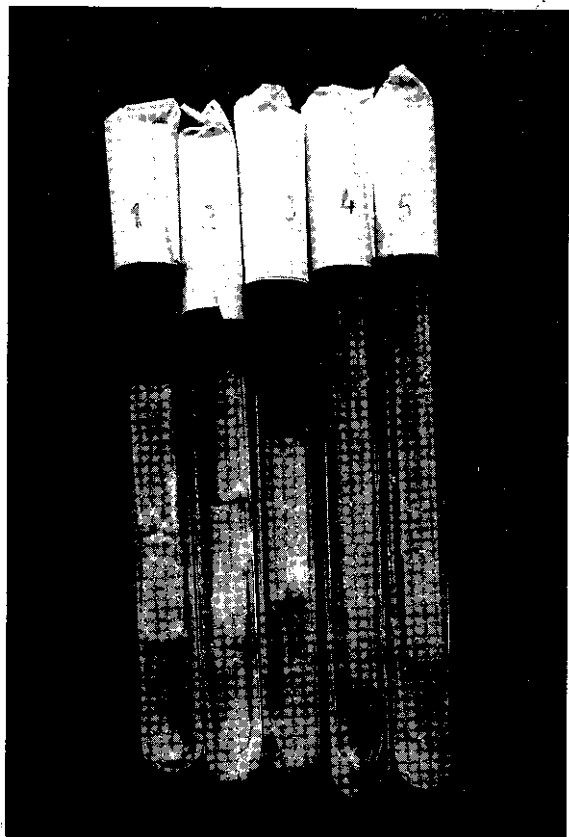
- Phương pháp xác định hoạt tính xenlulaz theo Nelson & Somogyi (dựa trên nguyên tắc xác định đường khử bằng cách đo độ hấp thụ quang ở bước sóng 530 nm trên máy ERMA của Nhật Bản).

Tác giả xin bày tỏ lòng biết ơn chân thành đến TS. Phạm Việt Cường và CN. Nguyễn Mạnh Hùng đã giúp đỡ rất nhiệt tình trong quá trình thực hiện thí nghiệm.

II. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

1. Phân lập vi sinh vật phân giải xenlulo:

Các mẫu đất và bùn mĩa sau khi đã loại bỏ rác, rễ cây, được nghiền nhỏ, nuôi cấy tích lũy trên môi trường Czapek-Dox với bột giấy hoặc trong môi trường của Lemberk & Colmer (1967) có thêm một dải giấy lọc nhỏ. Để phân lập vi khuẩn, khi chỗ tiếp xúc với môi trường chuyển thành màu vàng do có sự phát triển của vi khuẩn thì lấy ra pha loãng và cấy trên môi trường cơ sở nói trên bổ sung 2% thạch và bột giấy rồi lại tiếp tục làm thuần khiết trong các môi trường dịch thể có chứa giấy lọc (ảnh 1).



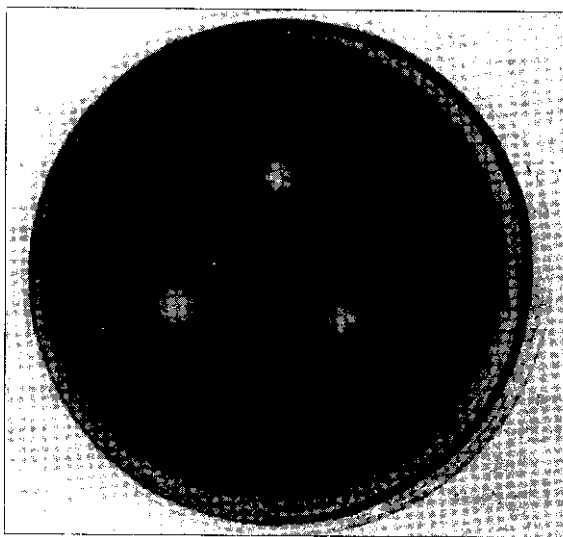
Ảnh 1. Phân lập vi khuẩn phân giải giấy lọc

- Ống số 1, 2, 3: thí nghiệm
- Ống số 4, 5: đối chứng

Các chủng vi khuẩn đều thuộc loại Gram (-), không sinh bào tử. Tế bào hình roi, đứng riêng rẽ hoặc đôi, chuyển động theo kiểu trườn. Trên

môi trường nước thịt-pepton khuẩn lạc của đa số chủng đều sinh sắc tố vàng chanh, tan vào môi trường. Một số chủng có khuẩn lạc màu da cam hoặc không màu. Dựa trên môi trường phân lập đặc hiệu và các tính chất đã được nghiên cứu, một số chủng có những đặc điểm tương ứng với chủng *Sporocytophaga myxococcoides* [1]. Cần có những nghiên cứu toàn diện hơn để khẳng định vấn đề này.

Các chủng nấm được tiếp tục làm sạch trên môi trường Czapek-Dox với bột giấy bằng phương pháp rĩa cấy.



Ảnh 2. Hoạt tính CMCase ngoại bào của chủng N1 trên môi trường bùn mĩa

2. Hoạt tính CMCase của các chủng nấm bằng phương pháp khuếch tán trên thạch:

Các chủng nấm (1-2 ml bào tử có mật độ 10^6 - 10^7 /ml) được nuôi trên các nguồn cơ chất vô trùng khác nhau ở 30°C trong vòng 72 giờ. Enzym được chiết rút bằng nước cất vô trùng theo tỷ lệ 1/5 (m/w) sau khi đã nghiền mẫu, giữ trong tủ lạnh hai giờ và lọc. Hoạt tính của dịch men được xác định bằng giá trị D-10 (mm), trong đó D là đường kính vòng phân giải CMC sau khi ủ 20 giờ ở nhiệt độ phòng (bảng 1, ảnh 2).

Kết quả trên bảng 1 cho ta thấy các nguồn cơ chất khác nhau có ảnh hưởng lên hoạt tính CMCase của các chủng vi sinh vật. Chủng N₁,

Hoạt tính CMCaza của các chủng nấm theo phương pháp Williams (D-10 mm)

Cơ chất Chủng nấm	Cám gạo	Bùn mía	Bã ngô	Than bùn+bã mía	Than bùn+Bùn mía + Cám gạo
N ₁	11	20	16	10	21
N ₂	9	22	19,5	9	19,5
N ₃	10	19	4	2	22
BM ₁			21,5	10	
BM ₂			23	11	
ĐM			19	9,5	

N₂, N₃ thích hợp với môi trường bùn mía, vì vậy khi bổ sung thêm than bùn, cám gạo vào bùn mía với tỷ lệ 1 : 1 : 1 cũng không làm ảnh hưởng đến hoạt tính CMCaza của các chủng này. Các chủng BM₁, BM₂ và ĐM cho hoạt tính cao trên môi trường bã ngô. Trên môi trường than bùn + bã mía, cả 6 chủng đều cho hoạt tính enzym yếu. Thông thường, theo kinh nghiệm của một số tác giả, khi cơ chất cho vi sinh vật phân hủy xenlulo là bã mía, vỏ lạc, lõi ngô... chúng được xử lý trước bằng axit hoặc kiềm yếu để tăng tác dụng của xenlulaza (1, 2, 7). Trong thí nghiệm này, bã mía chưa qua xử lý và bản thân than bùn cũng chưa phải là nguồn dinh dưỡng tối ưu cho sự phát triển của nấm, nên dẫn đến sự phát triển của các chủng nấm trên môi trường này yếu và đương nhiên hoạt tính

MCaza của chúng cũng yếu.

3. Hoạt tính CMCaza của các chủng vi khuẩn ưa khí:

Các chủng vi khuẩn ưa khí có khả năng phân giải giấy lọc phân lập được trên môi trường Lember & Colmer, được cấy chấm vào giữa thạch có thành phần môi trường như sau (%):

CMC-0,2; KNO₃-0,5; KH₂PO₄-0,3; MgSO₄-0,6245; cao men-0,025; thạch-2; pH 7,1-7,2. Nuôi vi khuẩn ở 30°C trong 48 giờ, nhuộm dung dịch bằng thuốc thử Lugol để xác định vòng phân giải CMC. Hoạt tính của enzym được xác định bằng giá trị (D-d) mm, trong đó D là đường kính vòng phân giải, d là đường kính khuẩn lạc. Kết quả được trình bày trên bảng 2.

Bản

Hoạt tính CMCaza của các chủng vi khuẩn ưa khí

Chủng	MSV	MS M1	MS M	Lc M	Lc M12	Lc M1	LC M11	Lc M2	Lc V	Lc V11	Lc V12	Lc V13	Lc V1	Lc V2	Lc V3
Đường kính vòng phân giải (mm)	20	30	25	8	10	15	10	10	10	15	16	18	10	15	16
Đường kính khuẩn lạc (mm)	5	15	12	5	5	8	5	5	6	4	5	1	6	4	5
Hoạt tính (D-d) (mm)	15	15	13	3	8	7	5	5	4	11	11	7	4	11	11

Như vậy, 15 chủng vi khuẩn được phân lập trên cơ sở phân hủy giấy lọc đều có hoạt tính CMCaza, trong đó 8 chủng có hoạt tính kém (< 10 mm) so với các chủng còn lại.

Mặc dù hoạt tính phân hủy xenlulo của vi khuẩn thường thấp hơn so với nấm nhưng enzym của chúng có thể bổ sung cho nhau trong quá trình xử lý phế thải nông nghiệp, bởi sự phân giải xenlulo tự nhiên là một quá trình phức tạp, đòi hỏi sự tham gia phối hợp của nhiều loại enzym.

khác nhau. Tác dụng hiệp đồng này phụ thuộc vào tỷ lệ giữa các enzym, mức độ bão hòa cơ chất và loại cơ chất.

4. Hoạt tính CMCaza của các chủng nấm theo phương pháp của Nelson và Somogyi:

1 ml dung dịch enzym thô được ủ với 1 ml dung dịch CMC 1% trong 30 phút ở 37°C, pH = 5,8. Sau khi kết thúc phản ứng, hỗn dịch được xác định lượng đường khử với dung dịch Nelson & Somogyi. Hoạt tính của dịch men được xác định dựa theo đồ thị chuẩn của gluco (mg/ml). Kết quả nhận được trên bảng 3.

Bảng 3

Hoạt tính CMCaza của các chủng nấm theo Nelson & Somogyi (mg gluco/ml)

Cơ chất	Bùn mía	Bã ngô	Than bùn + bã mía	Than bùn + Bùn mía + cám gạo
N ₁	2,5	1,0	0,1	2,1
N ₂	10,2	1,2	0,8	1,0
N ₃	2,4	0,6	0,1	6,8
BM ₁		1,6	0,9	
BM ₂		2,6	0,6	
ĐM		1,1	1,0	
Đối chứng	0,023	0,048	0,07	0,03

Từ bảng 3 ta thấy chủng N₂, N₃ có hoạt tính enzym cao nhất tương ứng trên môi trường bùn mía và hỗn hợp than bùn, bùn mía, cám gạo (tỷ lệ 1 : 1 : 1). So sánh kết quả nhận được giữa 2 phương pháp xác định hoạt tính CMCaza của các chủng nấm (bảng 1 và 3), ta thấy các chủng N₁, N₂, N₃ và BM₂ là những chủng có tiềm năng ứng dụng trong thực tế.

Đây là những kết quả sơ bộ về hoạt tính phân giải xenlulo của các chủng vi sinh vật mà chúng tôi phân lập được. Trên cơ sở đó có thể chọn ra được các chủng có hoạt tính cao với những môi trường thích hợp để ứng dụng trong công nghệ xử lý các phế thải có chứa xenlulo.

III. KẾT LUẬN

- Đã phân lập được 6 chủng nấm và 15 chủng vi khuẩn có hoạt tính xenlulaza.

- Ba chủng vi khuẩn và bốn chủng nấm có hoạt tính CMCaza cao có tiềm năng sử dụng trong quy trình xử lý phụ phế phẩm công nông nghiệp.

- Nguồn cơ chất có ảnh hưởng rõ rệt lên hoạt tính CMCaza của các chủng nấm nghiên cứu.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Daniel G., 1994: Use of electron microscopy for aiding our understanding of wood biodegradation. FEMS Microbiol. Rev., v13 (293): 199-233.
2. Kuzmanova S., Vandeska E., Dimitrovki A., 1991: Production of mycelian protein and cellulosic enzymes from food wastes. J. of Industrial Microbiology, v.7(4): 257-262.
3. Lê Ngọc Tú, La Văn Chứ, Phạm Thị Trân Châu, Nguyễn Lân Dũng, 1982: Enzym vi sinh vật, tập 2, NXB Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội 1982.
4. Nitisinprasert S., Temmes A., 1991: The characteristic of new non-spore-forming cellulosic mesophilic anaerobe strains CM 126 isolated from municipal sewage sludge. J. of Applied bacteriology, v.72(2): 154-161.

5. Nguyễn Đức Lương, 1996: Luận án PTS khoa học sinh học, Đại học Tổng hợp Hà Nội.

6. Nguyễn Thị Hồng Mai, 1996: Luận án PTS khoa học sinh học, Đại học Tổng hợp Hà Nội.

7. Patel R. N., Thakker G. D., Rao K. K., 1994: Potential use of a white-rot fungus *Antrodieela sp. RK1* for biopulping. J. Bacteriol. Amsterdam: Elsevier Science B. V., 36(1): 19-23.

8. Saddler J. N., 1982: Enzyme Microbio Technol., 4.

9. Somogyi M., Nelson N., 1952: J. Bio Chem. 153: 375-380.

10. Sprey B., Bochem HP., 199 Electronic microscopic observation of cellulose microfibril degradation by endocellulase from *Trichoderma reesei*. FEMS microbiology letters, 78(2-3): 183-188.

CMCaza ACTIVITY OF SOME CELLULOSE DEGRADING MICROORGANISM STRAINS

NGUYEN THI KIM CUC

SUMMARY

We have isolated 21 microorganism strains from soil and the sludge of sugarcane processing. The CMCaza activity was evaluated on various substrates. The results have shown that the sugarcane sludge has a good effect on the CMCaza activity of the N_1 , N_2 , N_3 isolates, so adding peat and rice bran in ratio 1 : 1 : 1 does not affect their CMCaza activity. On peat and bagasses, all six fungal isolates have exhibited a low CMC activity.

All 15 bacterial strains were isolated on the basis of their ability to degrade paper. They have shown a low CMCaza activity on the investigated medium.

The 3 bacterial and 4 fungal isolated strains were practical potential strains in cellulose waste treatment.

Ngày nhận bài: 20-2-2001

THIẾT KẾ VECTOR BIỂU HIỆN BẰNG CẢM ỨNG ĐOẠN FAB CỦA KHÁNG THỂ KHÁNG 2,4-DICLOROPHENOXYAXETIC AXIT Ở *E. COLI*

ĐẬU HÙNG ANH, NGUYỄN VĂN CUỒNG

Viện Công nghệ sinh học

TILL T. BACHMANN, ROLF D. SCHMID

*Viện Kỹ thuật Sinh hóa, Đại học Tổng hợp
Stuttgart, CHLB Đức*

Nhờ những tiến bộ của kỹ thuật gen, trong những năm gần đây nhiều kháng thể tái tổ hợp (*recombinant antibody-recAb*) đã được biểu hiện [4]. Ưu điểm của phương pháp này:

- Có thể thu nhận kháng thể mà không phải dùng đến kháng nguyên, tránh được nguy hiểm tiếp xúc với tác nhân như virus HIV, virus viêm gan B, các độc tố....

- Có thể dùng kỹ thuật di truyền để thay đổi vùng cố định (*constant region-C*), vùng biến đổi (*variable region-V*), hay vùng xác định liên kết bổ sung đối với kháng nguyên (*Complementarity Determining Region-CDR*) của kháng thể để tăng tính đặc hiệu và ái lực của kháng thể đối với kháng nguyên.

- Tạo phức kháng thể-enzym, kháng thể-thuốc.... dùng để điều trị bệnh hiểm nghèo như ung thư.

- Sản xuất lượng lớn kháng thể qua lên men vi sinh vật [1, 3, 5, 8].

Kháng thể được sử dụng chủ yếu trong y học, tuy nhiên trong những năm gần đây nó còn được sử dụng để phát triển phương pháp phân tích môi trường [2, 4, 5, 6]. Để tiến tới sản xuất *recAb* phục vụ phát hiện thuốc trừ cỏ 2,4-dichlorophenoxyaxetic axit (2,4-D), *vector* pASK24D mang gen mã hóa đoạn liên kết kháng nguyên (*antigen binding fragment-Fab*) của kháng thể kháng 2,4-D đã được thiết kế và biểu hiện ở *E. coli* [3]. Tuy nhiên *vector* pASK2,4-D còn tồn tại là không kiểm soát được sự biểu hiện của nó (biểu hiện liên tục trong môi

trường nuôi cấy). Để khắc phục điểm yếu này, 2 *vector* mới đã được thiết kế và biểu hiện thử.

I. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Các chủng *E. coli* DH5 α , W3110, BL21, XL1Blue khả kiến (Viện Kỹ thuật sinh hóa Stuttgart, Đức). *Vector* pASK-IBA2 (Viện Phân tích sinh học, Đức); *Vector* pASK24D đã được thiết kế từ trước [3]. Các đoạn mồi (*primer*) được đặt tổng hợp ở hãng ARK, Damstadt, Đức. *Pfu* DNA polymerase (Strategene); các hóa chất dùng trong nghiên cứu này mua của các hãng Sigma, Fluka-Deisenhofen. Phương pháp đột biến điểm định hướng được thực hiện theo bộ chuẩn QuickChange™ Site Directed Mutagenesis Kit (Strategene); phương pháp tách chiết và tinh sạch ADN thực hiện theo bộ chuẩn QIAquick gel extraction Kit, QIAspin miniprep Kit (QIAGEN, Hilden). Phương pháp đột biến bằng PCR được tiến hành theo [7].

Thiết kế vector biểu hiện đoạn Fab ở *E. coli*

Plasmid pASK24D (4611 bp) (hình 1a) mang vùng khởi động phiên mã của gen *tet A*, đoạn gen cấu trúc mã hóa cho phần chuỗi nặng (VH-CH1) của kháng thể kháng 2,4-D có dấu N gắn với peptid tín hiệu của protein *ompA* (*out membrane protein A*). Đoạn tín hiệu tiết này thực hiện chức năng vận chuyển chuỗi polypeptid đã được tổng hợp từ vùng tế bào chất ra vùng chu chất.

Đầu C của chuỗi nặng gắn với trình tự

6 Histidine (His-tag) dùng cho nhận biết và tinh chế protein được biểu hiện. Đoạn gen cấu trúc mã hóa cho chuỗi nhẹ (VL-CL) của kháng thể kháng 2,4-D, đầu N của nó gắn với peptid tín hiệu của protein *phoA* (alkaline phosphatase) có chức năng giống như *ompA*. Chủng *E.coli* mang tổ hợp này đã biểu hiện đoạn Fab đặc hiệu với 2,4-D, tuy nhiên plasmid này có nhược điểm là nó không thể kiểm soát được quá trình biểu hiện, vì vậy có tình trạng biểu hiện liên tục (permanent expression) của đoạn Fab. Để khắc phục tình trạng trên, chúng tôi đã tiến hành cắt và chuyển gen mã hóa đoạn Fab (bao gồm hai đoạn gen cấu trúc chuỗi nặng và chuỗi nhẹ) từ plasmid pASK24D sang vector pASK-IBA2 nhằm mục đích tạo ra vector mới, có khả năng biểu hiện đoạn Fab của kháng thể kháng 2,4-D khi được gây cảm ứng bởi anhydrotetracyclin (AHT).

Vector biểu hiện pASK-IBA2 (3286 bp) (hình 1b) mang vùng khởi động phiên mã của gen *tetA*, peptid tín hiệu của protein *ompA*, poly-linker của vector mang vị trí nhận biết của *Bsa* I (*Eco*311) và *Bsm* FI (New England Biolabs, Fermentas) cho phép gen cấu trúc nối chính xác với các yếu tố chức năng của vector (peptid tín hiệu, trình tự *Strep* II, mã khởi đầu, kết thúc). Trình tự *Strep* II, (-Try-Ser-His-Pro-

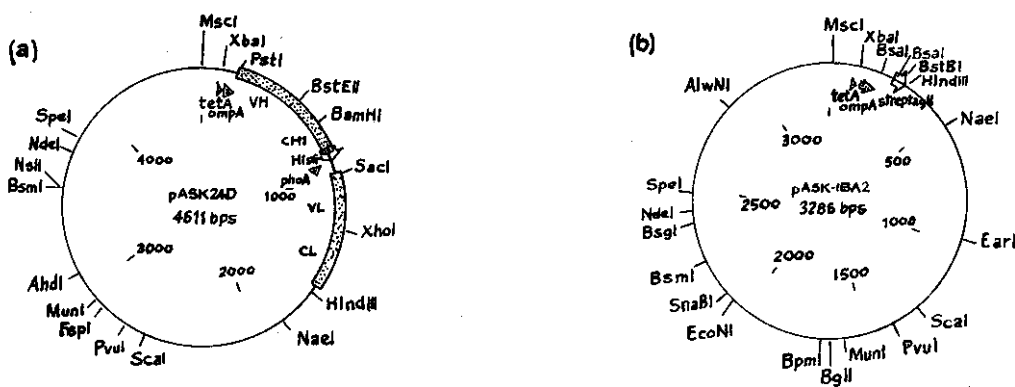
Gln-Phe-Glu-Lys-) cũng dùng cho tinh chế protein được biểu hiện.

Biểu hiện đoạn Fab ở chủng vi khuẩn *E.coli* BL21:

Hai vector trên được biến nạp vào chủng vi khuẩn *E.coli* BL21 bằng phương pháp sốc nhiệt [7], khuẩn lạc được chuyển sang ống 3 ml môi trường LB chứa ampicillin, lắc 200 vòng/phút qua đêm, 37°C trong khoảng 2,5-3 giờ đến khi giá trị OD_{500nm} đạt từ khoảng 0,5-1, thêm 10 µM AHT (anhydrotetracyclin, 2 mg/ml) là chất cảm ứng, hoạt hóa quá trình tổng hợp các chuỗi polipeptid của đoạn Fab. Tiếp tục lắc 20 vòng/phút, 30°C và thu sinh khối sau 4-6 giờ nuôi cấy. Tiến hành tách protein ở vùng chấy của tế bào bằng lysozym (dùng đệm 10 mM Tris/HCl pH = 8,0, 500 mM sucrose, 1 mM EDTA, lysozym 0,75 mg/ml) hoặc bằng siêu âm. Dịch tách chiết được kiểm tra bằng điện di SDS-PAGE biến tính theo [7].

Xác định hoạt tính của đoạn Fab bằng kỹ thuật ELISA:

Hoạt tính kháng thể của đoạn Fab được xác định bằng kỹ thuật ELISA trên phiên nhựa 96 giếng, dùng phức hợp 2,4-D-peroxidase là kháng nguyên và được tiến hành theo Cường et al. [2].



Hình 1. (a) pASK 24D(4611 bp); (b) pASK-IBA2 (3286 bp)

Các primer dùng cho đột biến định hướng và tạo đột biến bằng PCR
(Primers designed for Site Directed Mutagenesis and PCR mutant)

Primer	Trình tự
24D-35	5-GTT GCA GGT GAC GGT TTC GCT GGG CCA GGT G-3
24D-53	5-CAC CTG GCC CAG CGA AAC CGT CAC CTG CAA C-3
Bsa24D53	5'-CTA CCG GGT CTC AGG CCG AAG TTA AAC TGC AGC AGT C-3'
Bsa24D35	5'-ATG GTG GGT CTC GGC GCT GCA GTC GCG CGG TAC GAT TT-3'
Bsa24DVL	5'-CTA TAA TAA GCT TGG AGA AAA TAA AGT GAA ACA AAG-3'
Hind-53	5'-CAT TAA GCT TGG AGA AAA TAA AGT GAA ACA AAG-3'
Hind-35	5'-CAG GTC AAG CTT ACC TGC TAT CAG CAG CAT CAG GAC-3'

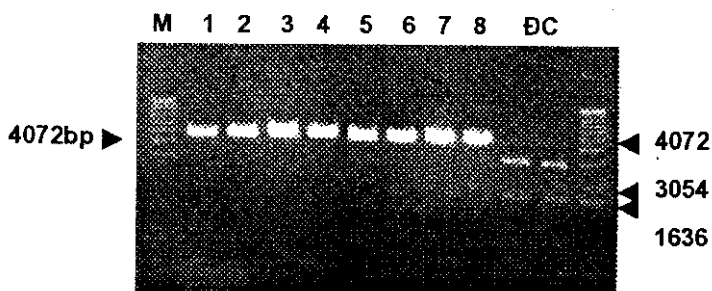
Các primer dùng cho đọc trình tự các vector được thiết kế
(Primers designed for sequencing)

Seq24D1	5'-CGA ATG GCC AGA TGA TTA ATT CC-3'
Seq24D2	5'-CAC AGT CTA CAT GCA GCT CAG C-3'
Seq24D3	5'-AAG CAC TAT TGC ACT GGC ACT C-3'
Seq24D4	5'-CCA GTG AGC AGT TAA CAT CTG-3'

II. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

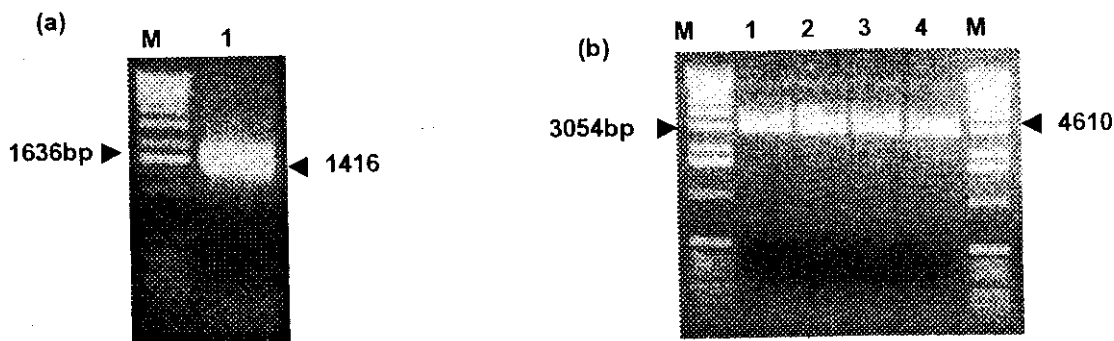
1. Thiết kế vector biểu hiện pIBA24DH và pIBA24DSH:

Sử dụng phương pháp đột biến điểm định hướng đã loại bỏ được 1 trình tự giới hạn của *Bsa* I ở vị trí 789 bp trên plasmid pASK24D mà không thay đổi trình tự của chuỗi polypeptid sẽ được tổng hợp. Plasmid đột biến này được kiểm tra bằng cách cắt với *Bsa* I và *Nde* I (ở vị trí 3765 bp trên plasmid pASK24D). Đây là hai enzym giới hạn mà mỗi enzym chỉ có một trình tự nhận biết trên pASK24D. Kết quả điện di (hình 2) cho thấy, chỉ nhận được một băng duy nhất có độ lớn 4611 bp, tương ứng với độ lớn của pASK24D thẳng. Nếu đột biến điểm không thành công, sau khi cắt với hai enzym trên, sẽ nhận được hai băng có độ lớn (1635 bp) và (2976 bp).



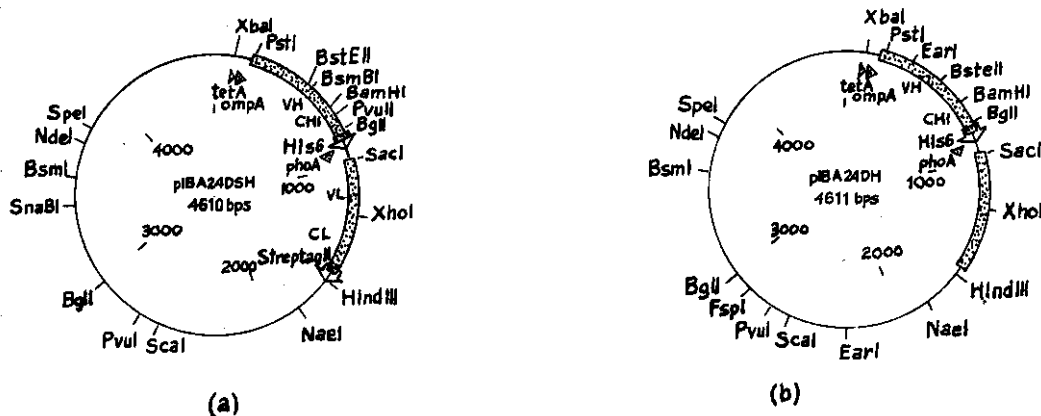
Hình 2. Kết quả gây đột biến, loại bỏ trình tự nhận biết của *Bsa*I trên plasmid pASK24D (Removal of restriction site for *Bsa*I in VH-CH1 region)
1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8: Các plasmid pASK24D mang đột biến;
ĐC: đối chứng pASK24D không đột biến. M: marker

Dùng hai *primer* Bsa24D53 và Bsa24DVL để đưa hai trình tự nhận biết của *Bsa* I vào hai đầu 5' và 3', đồng thời để nhân và tạo thành đoạn 5'-*Bsa*I-*ompA*-VL-CH1-6His-*phoA*-VL-CL-*Bsa*I-3' (1416 bp). Kết quả thể hiện trên ảnh điện di (hình 3a). Sản phẩm PCR này được cắt bằng *Bsa* (hình 3a) và đưa vào *vector* biểu hiện mới pASK-IBA2 (đã bị cắt bằng *Bsa*I) để tạo thành *vector* pIBA24DSH (4610 bp) (hình 3b, 4a).



Hình 3a. (1) Sản phẩm PCR sử dụng hai *primer* Bsa24D53 và Bsa24DVL 3'(1416 bp);
3b: pASK-IBA2 sau khi được đưa vào đoạn 5'-*Bsa*I-*ompA*-VH-CH1-6His-*phoA*-VL-CL-*Bsa*I-3' (1416 bp) để tạo thành plasmid pIBA24DSH (4610 bp);
1,2,3,4: Bốn dòng tế bào *E.coli* BL21 mang *vector* pIBA24DSH. M: Marker
(1) PCR amplified 5'-*Bsa*I-*ompA*-VH-CH1-6His-*phoA*-VL-CL-*Bsa*I-3' fragment
(2) New *vector* pIBA24DSH were constructed.

Dùng hai *primer* Bsa24D53 và Hind35 để đưa hai trình tự nhận biết của *Bsa*I và *Hind* III vào hai đầu 5' và 3' tương ứng, đồng thời để nhân và tạo thành đoạn 5'-*Bsa*I-*ompA*-VH-CH1-6His-*phoA*-VL-CL-*Hind*III-3'. (1445 bp) (các kết quả điện di không nêu trong bài). Sau đó, sản phẩm PCR này được cắt bằng *Bsa*I và *Hind* III và đưa vào *vector* biểu hiện mới pASK-IBA2 (đã bị cắt bằng *Bsa*I và *Hind* III) để tạo thành *vector* pIBA24DH (4611 bp) (hình 4b).



Hình 4. (a) pIBA24DSH (4610 bp); (b) pIBA24DH (4611 bp)

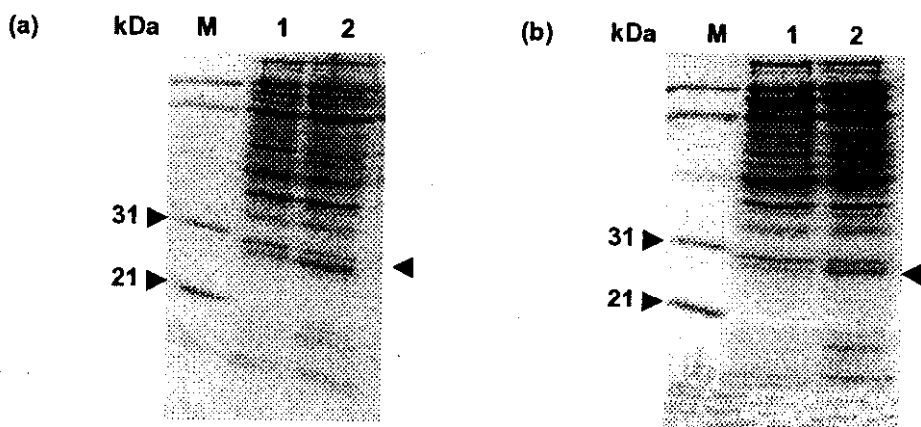
Với 1 *primer* thiết kế cho việc đọc trình tự gen đã được giới thiệu trên, các *vector* pIBA24DH và pIBA24DSH đã được kiểm tra trình tự trên thiết bị ABI PRISM™ 377 DNA Sequencer của Perkin Elmer, Mỹ (trình tự không đưa trong bài báo này). Kết quả cho thấy, gen mã hóa đoạn Fab (bao gồm hai đoạn gen cấu trúc nêu trên, đã được đưa vào đúng tại các vị trí mong muốn. Kết quả còn cho thấy, các *vector* mới được tạo thành không có các đột biến trình tự ở những vùng gen cấu trúc (các đoạn VH-CH1, VL-CL) và các trình tự chức năng (*tet A* promoter, *phoA*, *ompA*...).

2. Biểu hiện đoạn 2,4D Fab ở chủng *E.coli* BL21:

Hai tổ hợp mang gen mã hóa đoạn Fab của kháng thể kháng 2,4-D đã được biến nạp và biểu hiện ở chủng *E.coli* BL21 như đã mô tả trong phần vật liệu và phương pháp. Dịch tách chiết từ

vùng chu chất của tế bào được kiểm tra bằng điện di SDS-PAGE biến tính (hình 5a, b). Nếu trong dung dịch protein tách chiết chứa đoạn Fab (45kDa), thì đoạn này sẽ bị tách thành hai chuỗi polypeptid (27-29kDa) tương ứng với chuỗi nhẹ (VL-CL) và phần chuỗi nặng (VH-CH1) vì các cầu disulfid liên kết giữa hai chuỗi bị phá vỡ trong điều kiện biến tính [1, 8].

Với dịch protein được tách chiết tại thời điểm trước khi chất cảm ứng AHT được đưa vào (đường chạy 1 (hình 5a, b), ở vị trí khoảng 28 kDa, thấy có một băng protein mảnh. Trong khi đó, cũng tại vị trí này ở đường chạy 2 (hình 5a, b), là dịch protein được tách chiết tại thời điểm 6 giờ sau khi chất cảm ứng AHT được đưa vào, thấy có một băng đậm hơn gồm hai băng protein phân biệt không rõ ràng. Rất có khả năng băng đậm ở vị trí 28 kDa ở đường chạy 2 chính là hai chuỗi polypeptid tương ứng với chuỗi nhẹ VL-CL và phần chuỗi nặng VH-CH1) của đoạn Fab.

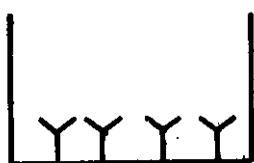


Hình 5. (a), (b): Dịch protein tách chiết ở hai dòng

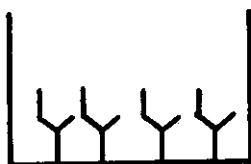
vi khuẩn *E.coli* BL21 mang *vector* pIBA24DH; pIBA24DSH, tương ứng. Trên các bản gel, M: marker; 1: Dịch protein tách chiết trước thời điểm gây cảm ứng; 2: Dịch protein tách chiết sau thời điểm gây cảm ứng 6 giờ.

(a, b: SDS-PAGE of periplasmic protein extracts from two strains *E.coli* BL21 harbouring pIBA24DH; pIBA24DSH, respectively. M: marker, 1: protein expression before induction; 2: protein expression 6 hours after induction)

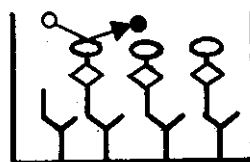
Điều này có nghĩa là đoạn recFab có thể đã được biểu hiện sau khi đưa chất cảm ứng AHT vào dịch nuôi cấy. Còn ở vị trí tương ứng 28 kDa trên đường chạy 1, không thấy sự có mặt hai chuỗi trên, điều này cho thấy đoạn Fab có thể đã không biểu hiện trước khi chất cảm ứng AHT được đưa vào.



Bước 1: Phủ RAM IgG
(rabbit anti mouse IgG)



Bước 2: Phủ lên đĩa dịch chiết
chứa đoạn Fab



Bước 3: Phủ lên đĩa phức hợp
2,4-D-HRP (HRP-horseradish
peroxidase), sau đó, tiến hành
phản ứng lên màu

Hình 6. Mô hình kỹ thuật ELISA (enzyme linked immunosorbent assay), thực hiện trên đĩa (microtiter plate-Polysorp™ Nalge Nunc). Kết quả được đọc trên thiết bị Microtiter reader, Model 550, Bio-Rad. (Schematic of ELISA - enzyme linked immunosorbent assay - technique. Measurements were carried out on Microtiter reader device, Model 550, Bio-Rad)

Để xác định đoạn recFab của kháng thể kháng 2,4-D có được tạo ra hay không, chúng tôi tiến hành đánh giá hoạt tính của đoạn này đối với kháng nguyên là 2,4-D-peroxidase. Hoạt tính kháng thể của dịch protein tách chiết tại thời điểm 6 giờ sau khi cảm ứng được xác định bằng kỹ thuật ELISA theo sơ đồ hình 6. Kết quả xác định tín hiệu ELISA được trình bày ở bảng 1 và hình 7

Bảng

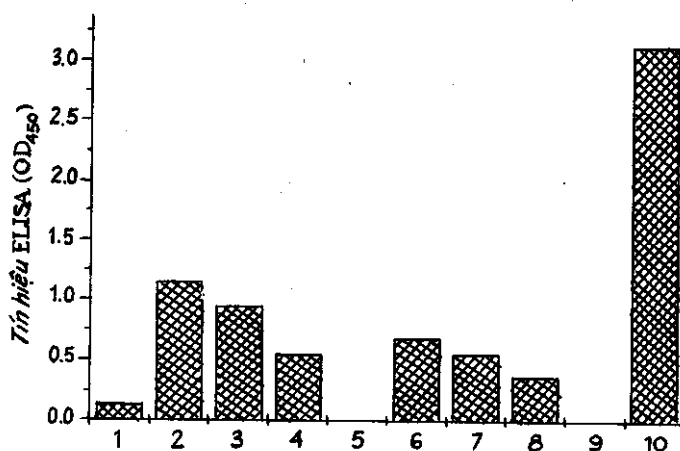
**Kết quả đánh giá hoạt tính kháng thể với 2,4-D của đoạn recFab
(Expressed recombinant Fab anti 2,4-D activities)**

Vector	Tín hiệu ELISA (OD _{450nm}) của recFab ở độ pha loãng khác nhau			Đối chứng (trước cảm ứng)	mAb-pha loãng 1/10.000
	1/10	1/20	1/30		
pIBA24DH	1,143	0,948	0,562	0,1365	3,116
pIBA24DSH	0,682	0,562	0,378		

Kết quả ở bảng 1 cho thấy dịch chiết vùng chu chất từ hai dòng vi khuẩn mang hai tổ hợp trên có tín hiệu ELISA, với kháng nguyên là 2,4-D ngay cả ở độ pha loãng 1 : 30. Bước đầu tiên thấy dòng mang tổ hợp pIBA24DH biểu hiện tốt hơn dòng pIBA24DSH. So với kết quả dùng kháng thể đơn dòng (mAb - độ pha loãng 1/10000), các giá trị này chỉ đạt từ 21 - 36,7%. Như vậy hoạt tính của recFab so với mAb vẫn còn thấp.

III. KẾT LUẬN

Hai vector biểu hiện pIBA24DH và pIBA24DSH mã hóa đoạn Fab của kháng thể kháng 2,4-D đã được thiết kế. Sự hiện diện của các đoạn ADN quan trọng trong tổ hợp như: gen điều khiển



Hình 7. Biểu đồ kết quả đánh giá hoạt tính kháng thể với 2,4-D của đoạn recFab (Recombinant Fab anti 2,4-D activity diagram) 1: Đối chứng; 2,3,4: Dịch chiết vùng chất của dòng vi khuẩn mang tổ hợp pIBA24DH ở độ pha loãng lần lượt là: 1 : 10, 1 : 20, 1 : 30; 6,7,8: Dịch chiết vùng chu chất của dòng vi khuẩn mang tổ hợp pIBA24DSH ở độ pha loãng lần lượt là 1 : 10, 1 : 20, 1 : 30; 10: Kháng thể đơn dòng

(1: Control; 2,3,4: and 6,7,8: Periplasmic protein extracts at three different dilutions from two strains *E.coli* BL21 harbouring pIBA24DH pIBA24DSH, respectively; 10: mAb anti 2,4-D)

hai đoạn gen cấu trúc mã hóa 2 chuỗi polypeptid (chuỗi nặng và chuỗi nhẹ) của đoạn Fab đã được xác minh bằng đọc trình tự nucleotide (sequencing). Chủng *E.coli* BL21 mang các tổ hợp trên bước đầu xác định đã biểu hiện đoạn recFab đạo hiệu với 2,4-D sau khi được gây cảm ứng với anhydrotetracylin. Tuy nhiên hoạt tính kháng thể của đoạn recFab thấp so với kháng thể đơn dòng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Campbell A. M., 1991: Monoclonal antibody and immunosensor technology. Elsevier, Amsterdam-London-NewYork-Tokyo.
2. Cuong N. V., T. T. Bachmann, R. D. Schmid, 1999: Development of a dipstick immunoassay for quantitative determination of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid in water, fruit and urine samples. Fresenius J. Anal. Chem. 364: 584-589.
3. Nguyễn Văn Cường, Nguyễn Diệu Thúy, T. T. Bachmann, R. D. Schmid, 1999: Thiết kế và biểu hiện đoạn Fab của kháng thể

kháng 2,4-dichlorophenoxyacetic acid ở *E.coli*. Báo cáo khoa học (Proceedings) , Hội nghị Công nghệ sinh học toàn quốc, Hà Nội, 9-10/12/1999: 1136-1143.

4. Frank Breitling and Stefan Dubel, 1999: Rekombinante Antikoper. Spektrum, Akademische Verlag. GmbH Heidelberg-Berlin.

5. Hock B., A. Dankwardt, K. Kramen, A. Marx, 1995: Immunochemical techniques: antibody production for pesticide analysis. A review Analytica. Chimica. Acta 311: 393-405.

6. Kerry A., Chester and Rober E. Hankins, 1995: Clinical issues in antibody design. Tibtech August, 13: 294-300.

7. Sambrook J., E. F. Fritsch, T. Maniatist, 1989: Molecular Cloning. A Laboratory Manual, 2nd ed. Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY.

8. Skerra A., 1994: Use of the tetracycline promoter for the tightly regulated production of a murine antibody fragment in *Escherichia coli*. Gene 151: 131-135.

9. Wolfram Schiweck and Arne Skerra,

1995: Fermentative production of an artificial Fab fragment, rationally designed for the antigen cystatin and its optimized crystallization through constant domain shuffling. *Proteins: Structure, Function and Genetics* 23: 561-565.

CONSTRUCTION OF VECTORS FOR THE INDUCED EXPRESSION OF THE FAB FRAGMENT OF THE ANTIBODY AGAINST 2,4- DICHLOROPHENOXYACETIC ACID IN *E. COLI*

DAU HUNG ANH, et al.

SUMMARY

From the precursor plasmids pASK24D and pASK-IBA2, two expression vectors pIBA24DH and pIBA24DSH harbouring the Fab fragment gene of the antibody against 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid were constructed.

The new constructions were identified by sequencing using the dideoxy method. The time course analysis of the periplasmic fraction on SDS-PAGE under reducing condition showed that the bands of molecular size 28 kDa from the samples taken after AHT (anhydrotetracycline) induction were thicker than that before induction.

The analysis for the presence of the antigen binding activity of the Fab fragment using 2,4-D-HRI (horseradish peroxidase) as antigen showed that the antigen binding activity was found in the extracts of the cells bearing the new expression vectors pIBA24DH and pIBA24DSH. However, the ELISA signals of *Fab* were rather low in comparison with *mAb*.

Ngày nhận bài: 20-11-2000

(Tiếp theo trang 60)

ASSESSMENT OF PRODUCTIVITY, QUALITY AND COMPETENCE TO STAND OF DROUGHT-RESISTANT OF SOME MUNGBEAN (*VIGNA RADIATA* (L.) WILLZEECK) MUTANT LINES

CHU HOANG MAU, et al.

SUMMARY

The agronomy and biochemical characteristics of mungbean mutant lines: MX26, MXU21, MX110, TXU21 and TX16012 in M_3 generation were studied. The results showed mutant lines have productivity and have competence to stand of drought-resistant better original cultivars.

The total proteins content in seeds of mungbean mutant lines is from 24.14% to 35.74% of dry weight and this value is highest in MX26, MX1103, TX16012 mutant lines. Total lipids content from 3.53% to 5.44% of dry weight.

Competence to stand of drought-resistant of mutant lines to have a connection with protein content, activity of amylase, catalase and protease enzymes in phase of germinate cultivars.

Ngày nhận bài: 6-8-2000

ĐỘ DÀI MIỄN DỊCH CỦA VAXIN GUMBORO VÔ HOẠT NHŨ DẦU VIỆT NAM

PHẠM CÔNG HOẠT, ĐOÀN THỊ THANH HƯƠNG,
LÊ KIM XUYẾN, ĐÁI DUY BAN

Viện Công nghệ sinh học

Một trong những chỉ tiêu quan trọng nhất mà vacxin cần phải đạt được đó là độ dài miễn dịch. Vacxin Gumboro vô hoạt nhũ dầu dùng cho gà sinh sản có độ dài miễn dịch đạt yêu cầu, hết sức có ý nghĩa. Bởi nếu thời gian miễn dịch ngắn, số lần tiêm vacxin phải lặp lại nhiều, yếu tố stress do bắt gà, do tiêm vacxin sẽ ảnh hưởng tới năng suất chăn nuôi, nhất là đối với đàn gà sinh sản.

Vacxin Gumboro vô hoạt nhũ dầu không chỉ phòng bệnh trực tiếp cho đàn gà mẹ được tiêm vacxin mà từ hàm lượng kháng thể chủ động này được duy trì lâu dài, thường xuyên ổn định thì hàm lượng kháng thể thụ động ở đàn gà con của chúng sẽ đầy đủ, ổn định và đủ khả năng phòng chống bệnh Gumboro ở giai đoạn gà mẫn cảm với mầm bệnh.

I. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

- Trong nghiên cứu chúng tôi chọn gà hậu bị sinh sản giống Tam hoàng (18 tuần tuổi) để tiêm vacxin Gumboro vô hoạt nhũ dầu do Viện Công nghệ sinh học - Trung tâm KHTN và CNQG sản xuất và so sánh với vacxin Gumboriffa của Pháp.

- Giống virus cường độc Gumboro 52/70 có nguồn gốc từ phòng thí nghiệm Trung tâm Weybridge nước Anh.

- Các nguyên liệu, hóa chất nuôi cấy tế bào xơ phôi gà 1 lớp: môi trường MEM, huyết thanh bê.

- Các dụng cụ của phòng thí nghiệm vi rút: tủ ấm CO₂ Hitachi của Nhật Bản, tủ lạnh sâu Vesfrost Rectech của Hàn Quốc, máy lắc ổn nhiệt HY của Trung Quốc, Laminair EHRET của Đức, pipetman các loại của hãng Biorad.

- Phương pháp lấy huyết thanh: gà được tiêm vacxin Gumboro vô hoạt nhũ dầu, sau 21 ngày lấy máu, các lần sau đó cách nhau 1 tháng, máu gà không có chất chống đông để nghiêng 45°, kết hợp giữ ở nhiệt độ phòng và nhiệt độ 4°C để lượng huyết thanh tách ra nhiều. Thu giữ huyết thanh, bảo quản lạnh, dùng huyết thanh này kiểm tra hàm lượng kháng thể.

- Phương pháp làm phản ứng trung hòa: kháng nguyên pha loãng ở 100 TCID₅₀, huyết thanh pha ở các nồng độ khác nhau theo cơ sở 10, trộn theo tỷ lệ 1 : 1, cấy vào môi trường làm phản ứng, đọc kết quả hàng ngày.

- Phương pháp định lượng hàm lượng kháng thể thụ động ở gà con: hàng tháng thu trứng của đàn gà mẹ cho ấp nở, lấy máu gà con thời điểm 1 ngày tuổi chất huyết thanh định lượng thông qua phản ứng trung hòa.

II. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

1. Hàm lượng kháng thể kháng Gumboro của đàn gà sinh sản qua các tháng:

Đàn gà Tam hoàng được nuôi theo hướng sinh sản, trên 4 tháng tuổi tiêm vacxin Gumboro vô hoạt nhũ dầu Việt Nam, theo dõi các chỉ tiêu về sinh sản và hàng tháng lấy máu để định lượng hàm lượng kháng thể. Trong quá trình thí nghiệm chúng tôi có bố trí so sánh với lô đối chứng âm không tiêm vacxin, lô đối chứng dương tiêm vacxin Gumboriffa của Pháp. Thời gian theo dõi đàn gà 9 tháng, kết quả sự biến động hàm lượng kháng thể trong máu gà được trình bày ở bảng 1.

Hiệu giá kháng thể trung hòa trung bình của 2 lô gà được tiêm vacxin Việt Nam, cũng như

Biến động hàm lượng kháng thể kháng Gumboro qua các tháng

Thời gian sau khi tiêm vaccin (tháng)		Hiệu giá kháng thể trung hòa																	
		Lô vaccin Việt Nam (30 mẫu)									Lô vaccin Pháp (30 mẫu)								
		1/320			1/640			1/1280			1/2560			X			1/10		
		n	%		n	%		n	%		n	%		n	%		n	%	
1	-	8	26,66	14	46,67	8	26,67				-	-	6	20,00	16	53,33	8	26,67	1493,33 ±1,60
2	-	8	26,66	16	53,28	6	20,00				-	-	6	20,00	16	53,33	8	26,67	1493,33 ±1,60
3	-	10	33,33	14	46,67	6	20,00				-	-	7	23,31	16	53,33	7	23,31	1429,33 ±0,90
4	-	10	33,33	15	50,00	5	16,65				-	-	8	26,67	17	56,61	5	16,65	1322,66 ±0,88
5	-	14	46,67	12	39,96	4	13,33				-	-	12	39,96	14	46,67	4	13,33	1194,66 ±0,88
6	-	15	30,00	11	36,67	4	13,33				-	-	14	46,67	13	43,33	3	10,00	1109,33 ±0,75
7	-	16	53,33	10	33,33	4	13,33				-	-	15	30,00	12	39,96	3	10,00	1088,00 ±0,95
8	-	16	53,33	13	43,33	1	3,33				-	-	18	60,00	11	36,67	1	3,33	938,67± 1,00
9	-	22	73,33	8	26,67	-	-				-	-	20	66,67	10	33,33	-	-	853,33± 0,91

của Pháp đến tháng thứ 9 và đạt ngưỡng trên 800 tức là đàn gà tiêm vaccin Gumboro vô hoạt nhũ dầu vẫn duy trì được hàm lượng kháng thể có khả năng bảo hộ với bệnh Gumboro (Lucio và Hitchner, 1979). Số lượng mẫu huyết thanh đạt ngưỡng 640 tăng nhanh từ 8-10 mẫu ở tháng thứ 4, đến tháng thứ 9 tăng lên 22 mẫu và không có mẫu nào đạt ngưỡng 2560. Nếu dựa theo cách tính hàm lượng kháng thể thụ động ở đàn gà con của các tác giả Skeel, 1979; Nguyễn Văn Việt, 1995 tại thời điểm sau 9 tháng tiêm vaccin cho gà mẹ, gà con của chúng sẽ có một số lượng nhất định không đủ kháng thể bảo hộ với bệnh Gumboro.

Điều này một phần giải thích được đối với gà ở giai đoạn miễn cảm mặc dù được dùng vaccin nhược độc, song vẫn có một số lượng khoảng 20 - 30% cá thể trong đàn gà bị bệnh Gumboro

Qua kết quả bảng 1 cho thấy gà được tiêm vaccin Việt Nam cũng như vaccin Pháp đều có đáp ứng miễn dịch tốt, thời gian duy trì miễn dịch dài (6-9 tháng), không có sự sai khác giữa 2 lô gà này ($P \geq 0,5$). Dựa vào biến động hàm lượng kháng thể ở bảng 1 cả 2 loại vaccin nên tiêm nhắc lại cho gà đẻ vào tháng thứ 7 tính từ lần tiêm phòng trước.

2. Hàm lượng kháng thể thụ động kháng Gumboro ở gà con nở ra từ gà mẹ được tiêm vaccin Gumboro vô hoạt nhũ dầu qua các tháng:

Đàn gà mẹ có hàm lượng kháng thể chủ động cao thì đàn gà con của chúng có hàm lượng kháng thể thụ động cao, thông thường duy trì ở mức 80 - 90% so với gà mẹ (Skeel, 1979; Schneider, 1982; Nguyễn Văn Việt, 1995). Sau khi tiêm vaccin cho đàn gà sinh sản chúng tôi thu trứng theo tháng ấp nở gà con, lấy máu gà con ở 1 ngày tuổi để kiểm tra hàm lượng kháng thể thụ động.

Hàm lượng kháng thể thụ động ở đàn con giảm từ tháng 1 đến tháng thứ 7 tới 50%, số mẫu dương tính ở hiệu giá 1/320 tăng từ 20% ở tháng thứ nhất đến 30% ở tháng thứ 7, ở ngưỡng này đàn gà con chỉ được bảo hộ từ 40 - 60% số con trong đàn (Lucio và Hitchner, 1979). Số mẫu dương tính ở ngưỡng 1/2560 giảm từ 30% ở tháng thứ nhất tới 0,00% ở tháng thứ 7, song

hiệu giá kháng thể trung hòa trung bình ở tháng thứ 7 vẫn đạt trên 600. Như vậy trong đàn gà con nở ra từ đàn gà mẹ được tiêm vaccin Gumboro vô hoạt nhũ dầu nhận được hàm lượng kháng thể thụ động không đều nhau do đó trong giai đoạn miễn cảm với bệnh vẫn có một số lượng gà nhất định vẫn bị nhiễm Gumboro.

Kết quả đạt được của vaccin Gumboro vô hoạt nhũ dầu Việt Nam so với vaccin của Pháp nhập về không có sự sai khác ($P > 0,5$).

3. Mối tương quan giữa hàm lượng kháng thể thụ động và chủ động:

Hàm lượng kháng thể thụ động của gà con hoàn toàn phụ thuộc vào hàm lượng kháng thể chủ động của gà mẹ. Sau các tháng gà mẹ được tiêm vaccin Gumboro vô hoạt nhũ dầu, hàm lượng kháng thể kháng Gumboro của gà mẹ giảm dần thì hàm lượng kháng thể của con cũng giảm theo.

Giữa hàm lượng kháng thể ở gà con với gà mẹ có sự tương quan chặt chẽ ($R = 0,998$). Theo các tác giả Skeels 1980, Schneider 1982, đàn gà bố mẹ được tiêm vaccin Gumboro vô hoạt nhũ dầu có khả năng truyền cho gà con một lượng kháng thể trung hòa tương đương với 90% lượng kháng thể của gà mẹ. Ở Việt Nam tác giả Nguyễn Văn Việt 1995, đã sử dụng vaccin của Pháp cho đàn gà tại trại gà Thụy Phương cũng cho kết quả 80-90%. Theo kết quả ở bảng 3 cả hai loại vaccin chỉ từ tháng thứ nhất đến tháng thứ 5 đạt được tỷ lệ này, tháng thứ 6 và thứ 7 đều có tỷ lệ dưới 80%. Như vậy đàn gà sinh sản được tiêm vaccin Gumboro vô hoạt nhũ dầu sau 7 tháng tiêm vaccin nhắc lại lần 2 là hợp lý nhất.

III. KẾT LUẬN

- Vaccin Gumboro vô hoạt nhũ dầu của Việt Nam có hiệu lực tốt thời gian kéo dài tới 9 tháng, thời điểm tiêm vaccin nhắc lại thích hợp nhất 7 tháng sau lần tiêm vaccin trước.

- Gà mẹ được tiêm vaccin Gumboro vô hoạt nhũ dầu của Việt Nam có khả năng truyền kháng thể thụ động cho đàn gà con. Hàm lượng kháng thể thụ động hoàn toàn phụ thuộc vào hàm lượng kháng thể chủ động của gà mẹ, hàm lượng kháng thể này trực tiếp chống bệnh

Gumboro cho đàn gà ở giai đoạn miễn cảm với bệnh.

Bảng 2

Biến động hàm lượng kháng thể thụ động ở đàn gà con qua các tháng

Thời gian (tháng)	Hiệu giá kháng thể trung hòa																			
	Lô vaccin Việt Nam (20 mẫu)										Lô vaccin của Pháp (20 mẫu)									
	1/160					1/320					1/640					1/1280				
	n	%	n	%	X	n	%	n	%	X	n	%	n	%	X	n	%	n	%	X
1	-	-	4	20,00	1312,00± 2,84	6	30,00	5	25,00	1312,00± 2,84	5	25,00	4	20,00	1328,00± 2,25	5	25,00	8	40,00	1328,00± 2,25
2	-	-	4	20,00	1216,00± 2,25	5	25,00	5	25,00	1216,00± 2,25	6	30,00	5	25,00	1296,00± 2,66	5	25,00	7	35,00	1296,00± 2,66
3	-	-	6	30,00	1056,00± 1,62	4	20,00	4	20,00	1056,00± 1,62	6	30,00	4	20,00	1282,00± 2,12	5	25,00	7	35,00	1282,00± 2,12
4	-	-	6	30,00	1024,00± 1,63	4	20,00	3	15,00	1024,00± 1,63	7	35,00	6	30,00	1104,00± 1,69	4	20,00	5	25,00	1104,00± 1,69
5	-	-	6	30,00	896,00± 2,14	2	10,00	5	25,00	896,00± 2,14	7	35,00	6	30,00	928,00± 2,30	2	10,00	6	30,00	928,00± 2,30
6	-	-	7	35,00	784,00± 0,98	1	5,00	5	25,00	784,00± 0,98	7	35,00	7	35,00	832,00± 1,75	1	5,00	6	30,00	832,00± 1,75
7	-	-	7	35,00	688,00± 1,80	-	-	5	25,00	688,00± 1,80	8	40,00	7	35,00	688,00± 1,00	-	-	5	25,00	688,00± 1,00

Mối tương quan giữa hàm lượng kháng thể của gà mẹ và gà con

Thời gian (tháng)	Hiệu giá kháng thể trung bình							
	Vaccin Việt Nam				Vaccin Pháp			
	Gà mẹ	Gà con	% con/mẹ	Hàm tương quan (R)	Gà mẹ	Gà con	% con/mẹ	Hàm tương quan (R)
1	1365,53	1312,00	96,08	0,998	1493,33	1328,33	88,93	0,998
2	1322,66	1216,00	91,99		1429,33	1296,00	90,67	
3	1280,00	1056,00	82,50		1322,66	1282,00	96,93	
4	1152,00	1024,00	88,89		1194,66	1104,00	92,41	
5	1130,00	896,00	79,29		1109,33	928,00	83,65	
6	1109,33	784,00	70,69		108,00	832,00	76,47	
7	981,33	688,00	70,11		938,67	688,00	73,30	

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Phương Song Liên**, 1996: Nghiên cứu dịch tễ bệnh Gumboro của gà công nghiệp ở một số tỉnh phía Bắc Việt Nam. Luận án PTS Khoa học nông nghiệp, Hà Nội 1996.

2. **Lê Văn Năm**, 1997: Gumboro - bệnh SIDA ở gà. Nhà xuất bản Nông nghiệp.

3. **Nguyễn Văn Việt**, 1995: Tình hình nhiễm bệnh Gumboro ở gà công nghiệp tại trung tâm nghiên cứu gia cầm Thụy Phương 1990 - 1993 và xác định lịch sử dụng vaccin

thích hợp. Luận án Thạc sĩ Khoa học nông nghiệp, Hà Nội 1995.

4. **Lucio H. and S. B. Hitcher**, 1970: Infectious bursal disease emulsified vaccine: effect upon neutralizing antibody levels in the dam and subsequent of the protection of the progeny. Avidan Dis.23: 466-478.

5. **Skeels et al.**, 1980: An age related coagulation disorder associated with experimental infectious bursal disease virus. Am. J vet.

IMMUNITY THE EFFECTIVE OF VIETNAMESE GUMBORO VACCINE FOLLOW ON THE TIME

PHAM CONG HOAN, et al.

SUMMARY

The longevity of vaccine is one of the most important subject. In this study the effective of Vietnamese vaccine reach until 9 months after vaccinated and Ab-titers exceed the cut-off protective (1/640).

7 months after the first vaccination, revaccinate the hens to be suitable.

The hens were vaccinated with Vietnamese vaccine, it can be transferred maternal antibodies to the chickens.

The level of passived antibodies depend on Ab-meternal.

Ngày nhận bài: 18-5-2000

ĐÁNH GIÁ NĂNG SUẤT, CHẤT LƯỢNG HẠT VÀ KHẢ NĂNG CHỊU HẠN CỦA CÁC DÒNG ĐẬU XANH ĐỘT BIẾN - *VIGNA RADIATA* (L.) WILLZECK

CHU HOÀNG MẬU, NÔNG THỊ MAN

Đại học Thái Nguyên

LÊ TRẦN BÌNH

Viện Công nghệ sinh học

Đậu xanh - *Vigna radiata* (L.) Willzeck là cây trồng cạn, có vị trí quan trọng trong cơ cấu cây trồng nông nghiệp, được xếp vị trí thứ ba sau đậu tương và lạc. Hạt đậu xanh có hàm lượng protein cao, dễ tan và chứa hầu hết các loại axit amin không thay thế. Rễ cây đậu xanh chứa vi khuẩn cố định nitơ, có tác dụng cải tạo đất.

Trong những năm gần đây năng suất và sản lượng đậu xanh ở nước ta chỉ đạt ở mức thấp. Một trong những nguyên nhân cơ bản làm hạn chế phát triển cây đậu xanh là các giống đậu xanh đã bị thoái hóa do nguyên nhân di truyền hoặc do những tác động xấu của môi trường. Các giống đậu xanh địa phương ở miền núi không những năng suất thấp, mà còn phải thu hái nhiều lần do chín không tập trung, khả năng chống chịu hạn kém. Do vậy cải tạo các nhược điểm trên của các giống đậu xanh địa phương đồng thời với việc nâng cao khả năng chống chịu của cây đối với hạn và các yếu tố bất lợi khác của ngoại cảnh là vấn đề đặt ra trong chương trình nghiên cứu, chọn tạo giống đậu xanh. Đột biến thực nghiệm là phương pháp có hiệu quả trong việc cải tiến các giống cây đậu đỗ nói chung và cây đậu xanh nói riêng. Tuy nhiên, ở nước ta ít thấy công trình tạo giống đậu xanh bằng đột biến thực nghiệm và khi đánh giá vật liệu tạo giống người ta chủ yếu quan tâm đến tính trạng năng suất và chất lượng hạt [8, 10]; còn khả năng chống chịu hạn của chúng và mối liên quan với các chỉ tiêu sinh hóa ở giai đoạn cây non còn chưa được quan tâm nghiên cứu.

I. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Các dòng đậu xanh MX26, MXU2 MX1103, TXU21, TX16012 được tạo ra bằng phương pháp đột biến thực nghiệm. Ba dòng MX26, MXU21, MX1103 chọn từ giống đậu xanh mỡ chợ Đồn (Bắc Kạn). Trong đó dòng MX26 chọn từ công thức xử lý hạt khô bởi gamma với liều lượng 6 kiloronghen (kr); dòng MXU21 chọn từ công thức xử lý hạt ướt bởi gamma với liều lượng 21 kr; dòng MX11 chọn từ công thức xử lý hạt bởi tia gamma với liều lượng 11 kr phối hợp với hóa chất etylenimine (EI) nồng độ 0,03%. Các dòng TXU21, TX16012 chọn từ giống đậu xanh mỡ tiêu Bảo Lạc (Cao Bằng). Dòng TXU21 chọn công thức xử lý hạt ướt bởi tia gamma với liều lượng 21 kr; còn dòng TX16012 chọn từ công thức xử lý hạt bởi tia gamma với liều lượng 1 kr phối hợp với hóa chất nitrosomethyl (NMU) nồng độ 0,012%. Các kết quả phân tích đều được so sánh với hai giống là đậu xanh mỡ chợ Đồn (Bắc Kạn) và đậu xanh mỡ tiêu Bảo Lạc (Cao Bằng) trong cùng điều kiện nghiên cứu.

Phân tích các tính trạng số lượng bằng thống kê sinh học trên máy vi tính với chương trình Excel [14].

Đánh giá khả năng chịu hạn của các dòng đậu xanh bằng phương pháp đánh giá nhai giai đoạn cây non theo Lê Trần Bình và cộng sự [1].

Phương pháp xác định chỉ số hạn tương đối Hệ số tương đối về khả năng chịu hạn của dòng nghiên cứu được tính bằng diện tích

đồ thị hình radar gồm các trục a, b, c, d.... x mang các trị số tương ứng $a_n, b_n, c_n, d_n, \dots$

Diện tích đồ thị hình radar được tính theo công thức:

$$S_n = \frac{1}{2} (a_n b_n + b_n c_n + c_n d_n + d_n e_n + e_n g_n + g_n h_n + h_n i_n + i_n k_n + k_n l_n + l_n a_n) \times \sin \alpha$$

Góc α được tạo bởi 2 trục mang trị số gần nhau và góc $\alpha = 360^\circ/X$.

X (X=10) là những chỉ tiêu theo dõi bao gồm: % cây không héo sau 3 ngày hạn, % hồi phục sau hạn 3 ngày, % cây không héo sau 5 ngày hạn, % hồi phục sau 5 ngày hạn, % chất khô của thân, lá sau 5 ngày hạn, % chất khô của rễ sau 5 ngày hạn, % cây không héo sau 7 ngày hạn, % hồi phục sau 7 ngày hạn, % chất khô của thân, lá sau 7 ngày hạn, % chất khô của rễ sau 7 ngày hạn. n là ký hiệu các dòng đột biến và đối chứng.

Phân tích hàm lượng nitơ tổng số theo phương pháp Keldjal, phân tích lipit tổng số theo phương pháp Soxhlet [3, 7].

Phân tích hàm lượng protein hòa tan theo phương pháp Lowry, xác định hoạt độ của enzym proteaza theo phương pháp Anson cải tiến, hoạt độ amylaza theo phương pháp Heinkel, hoạt độ catalaza theo phương pháp chuẩn độ [3, 7].

II. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

1. Kết quả phân tích nông sinh học:

Kết quả phân tích một số đặc điểm nông sinh học của các dòng đột biến và giống gốc được trình bày ở bảng 1.

Đối với dòng đột biến chọn từ giống mỡ, bảng 1 cho thấy chiều cao cây của các dòng đột biến đều thấp hơn giống gốc từ 13,17 - 16,22 (cm), nhưng các tính trạng số quả/chắc/cây, khối lượng hạt/cây, khối lượng 1000 hạt và năng suất lý thuyết lại cao hơn giống gốc. Thời gian sinh trưởng của các dòng MX26, MXU21 ít hơn giống gốc 8-10 ngày, đây là những dòng chín sớm; còn dòng MX1103 là dòng chín muộn, có thời gian sinh trưởng dài hơn giống gốc 10 ngày. Số lần thu hái của các dòng đột biến dao động từ 2,90-3,13 lần, đều ít hơn giống gốc và ổn định so với M₄. Đáng chú ý là các dòng đột

biến đều chín tập trung, số lần thu hái ít giống gốc. Đó là kết quả của quá trình chọn lọc qua nhiều thế hệ đột biến. Các tính trạng chiều cao cây, số quả/chắc/cây, khối lượng hạt/cây và số lần thu hái đều có hệ số biến dị thấp hơn giống gốc.

Đối với các dòng đột biến chọn từ giống mốc tiêu, bảng 1 cho thấy các dòng TXU21, TX16012 đều có số quả/chắc/cây, khối lượng hạt/cây và khối lượng 1000 hạt cao hơn giống gốc. Số lần thu hái của các dòng đột biến ít hơn giống gốc và chín tập trung thuận lợi cho việc thu hoạch. Mức độ biến dị các tính trạng chiều cao cây, số quả/chắc/cây, khối lượng hạt/cây và số lần thu hái của các dòng đột biến đều ít hơn giống gốc.

Mức độ biến dị một số tính trạng như chiều cao cây, số quả/cây, khối lượng hạt trên cây và số lần thu hái quan trọng của các dòng đột biến MX26, MXU21, MX1103, TXU21, TX1602 đều thấp và ít hơn giống gốc cho thấy dấu hiệu ổn định của các dòng đột biến được chọn lọc. Một điều thú vị mà chúng tôi nhận thấy là các dòng đột biến MX26, MXU21, TXU21, TX16012 chọn tạo từ công thức xử lý hạt bởi tia gamma hoặc phối hợp tia gamma NMU có thời gian sinh trưởng ngắn hơn giống gốc; còn dòng MX1103 chọn từ công thức xử lý hạt bởi sự phối hợp tia gamma với EI lại có thời gian kéo dài hơn giống gốc.

2. Hàm lượng nitơ và lipit tổng số:

Phân tích hàm lượng protein và lipit là cơ sở đánh giá chất lượng hạt của các dòng đột biến trên phương diện hóa sinh, kết quả được trình bày ở bảng 2.

Đối với các dòng đột biến chọn lọc từ giống mỡ, bảng 2 cho thấy hàm lượng nitơ tổng số của các dòng đột biến dao động từ 30,53% đến 35,74% và 2 dòng MX26 và MX1103 có hàm lượng nitơ tổng số cao hơn giống gốc (giống gốc: 30,53%). Trong đó dòng MX1103 có hàm lượng protein cao nhất (35,74%).

Các dòng đột biến chọn lọc từ giống mốc tiêu có hàm lượng nitơ tổng số dao động từ 31,71% đến 33,37% cao hơn giống gốc 5,75% đến 9,23%. Dòng TX16012 có hàm lượng nitơ tổng số cao nhất (33,37%). Bảng 2 còn cho thấy hàm lượng nitơ của các dòng đột biến chọn lọc từ giống mỡ cao hơn các dòng đột biến

Đặc điểm nông học của các dòng đậu xanh đột biến ở M_5 ($n = 30$; $\alpha = 0,05$)

Đặc điểm	Mỡ gốc	MX26	MXU21	MX1103
Giống đậu xanh mỡ				
Chiều cao cây (cm)	48,77±1,49	34,53±0,89	32,55±0,60	35,60±0,75
Cv (%)	16,74	12,23	10,04	11,61
Đặc điểm	Mỡ gốc	MX26	MXU21	MX1103
Số quả/cây (quả)	10,10±0,72	14,72±1,23	15,97±0,55	15,10±1,50
Cv (%)	41,95	22,13	19,29	18,10
Khối lượng hạt/cây (g)	3,36±0,17	5,20±0,40	5,74±0,14	5,44±0,13
Cv (%)	27,79	17,34	13,44	13,56
Khối lượng 1000 hạt (g)	50	65	72	67
Năng suất lý thuyết (tạ)	9,60	14,62	16,40	15,54
Thời gian sinh trưởng (ngày)	75	67	65	15,54
Số lần thu hái (lần)	4,23±0,24	3,08±0,16	2,90±0,12	3,13±0,13
Cv (%)	30,82	21,87	22,82	23,31
Giống đậu xanh mốc tiêu				
Đặc điểm	Mốc tiêu gốc	TXU21	TX16012	
Chiều cao cây (cm)	53,28±1,81	43,44±0,81	41,92±0,78	
Cv (%)	18,60	10,16	10,17	
Số quả/cây (quả)	10,17±0,69	16,87±0,48	18,70±17,49	
Cv (%)	36,99	15,70	17,49	
Khối lượng hạt/cây (g)	4,22±0,34	5,67±0,15	5,95±0,09	
Cv (%)	43,75	14,11	8,09	
Khối lượng 1000 hạt (g)	52	68	74	
Năng suất lý thuyết (tạ)	12,06	16,46	17,00	
Thời gian sinh trưởng (ngày)	78	65	64	
Số lần thu hái (lần)	4,04±0,35	3,47±0,12	3,10±0,12	
Cv (%)	43,29	19,66	21,35	

chọn lọc từ giống mốc tiêu.

Về hàm lượng lipid tổng số, kết quả ở bảng 2 cho thấy hàm lượng lipid tổng số dao động từ

4,71% đến 5,44% (các dòng chọn từ giống mỡ) Dòng MXU21 có hàm lượng nitơ tổng số thấp nhất trong các dòng đột biến (30,53%) nhưng lại

có hàm lượng lipid tổng số cao nhất (5,44%). hàm lượng lipid tổng số dao động từ 3,53% - 4,55% và thấp hơn giống gốc. Các dòng đột biến chọn lọc từ giống mốc tiêu,

Bảng 2

Hàm lượng nitơ và lipid tổng số của một số dòng đậu xanh đột biến M₂

Dòng và giống gốc	Hàm lượng nitơ (% so với khối lượng khô)	Hàm lượng lipid tổng số (% so với khối lượng khô)
Giống mỡ gốc	30,53	4,38
MX26	33,84	4,71
MXU21	30,53	5,44
MX1103	35,74	5,22
Giống mốc tiêu gốc	24,14	5,04
TXU21	31,71	4,55
TX16012	33,73	3,35

3. Đánh giá khả năng chịu hạn của các dòng đậu xanh đột biến:

Khả năng chịu hạn của các dòng đậu xanh đột biến được đánh giá bằng chỉ số hạn tương đối. Xác định chỉ số chịu hạn tính bằng diện tích đồ thị hình rada, đó là tổng diện tích các hình tam giác trong đồ thị rada đó. Dòng đột biến nào có chỉ số chịu hạn tương đối cao thì khả năng chịu hạn càng lớn.

Kết quả tổng hợp khả năng chịu hạn của các dòng đậu xanh đột biến chọn lọc từ hai giống đậu xanh mỡ và mốc tiêu được trình bày ở bảng 3. Bảng 3 cho thấy, trong số các dòng đột biến chọn tạo từ giống đậu mỡ thì dòng MX11041 có khả năng chịu hạn cao nhất (chỉ số hạn là 24019,66) sau đó là dòng MXU21 (17551,45), dòng MX26 (9546,22). Giống gốc có chỉ số chịu hạn tương đối thấp nhất (7833,55) (hình 1). Các dòng đột biến chọn từ giống mốc tiêu có chỉ số hạn cao hơn giống gốc, cao nhất là dòng TX16012 (17143,41), sau đến dòng TXU21 (15800,46) trong khi đó giống gốc có chỉ số chịu hạn tương đối là 9284,84 (hình 2).

Đồng thời có việc đánh giá khả năng chịu hạn chúng tôi còn tiến hành kiểm tra một số chỉ tiêu hóa sinh ở giai đoạn cây mầm của các dòng đậu xanh đột biến và giống gốc. Các chỉ tiêu sinh hóa được phân tích là hàm lượng protein tan tổng số, hoạt độ của một số enzyme như proteaza, amylaza và catalaza (bảng 4). Mục tiêu của những phân tích này tìm hiểu mối liên quan giữa các chỉ tiêu sinh hóa trên với sự sinh trưởng và phát triển của các dòng đậu xanh đột biến và giống gốc.

Bảng 4

Hàm lượng protein hòa tan và hoạt độ của một số loại enzyme ở giai đoạn cây mầm

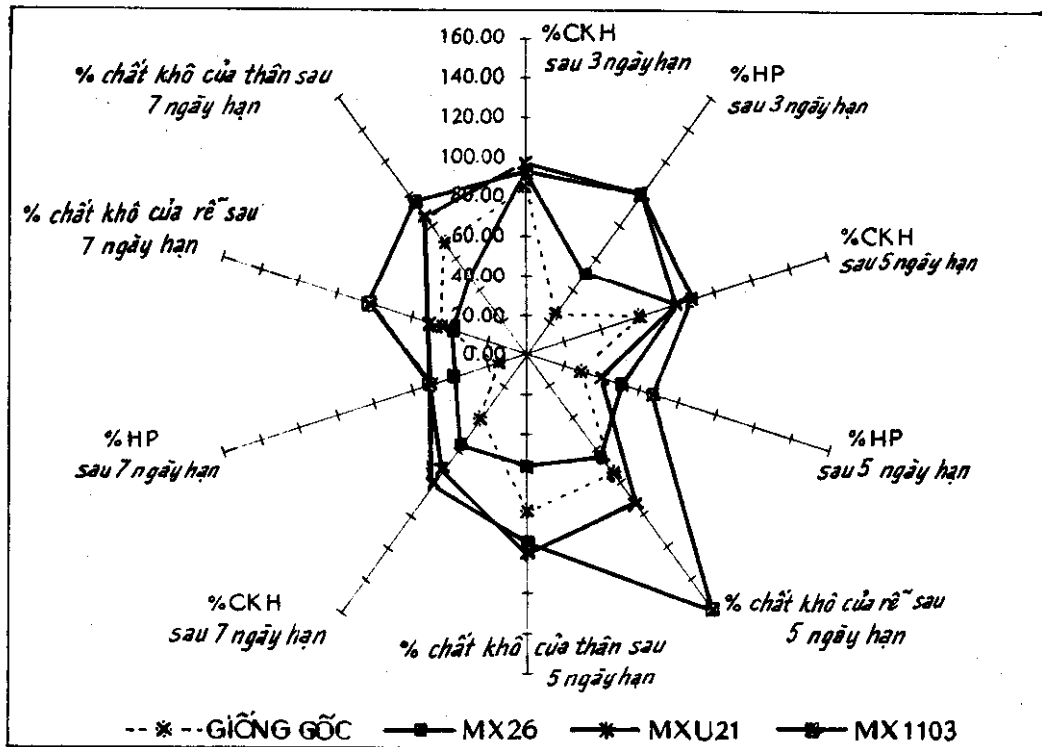
Dòng đột biến và giống gốc	Hàm lượng protein mg/ml	Hoạt độ của một số loại enzyme		
		Amilaza đơn vị/ml	Catalaza đơn vị/ml	Proteaza đơn vị/ml
Mỡ gốc	1,340	0,18	0,0714	0,0045
MX26	1,486	0,19	0,0680	0,0060
MXU21	1,482	0,22	0,0612	0,0070
MX1103	1,680	0,23	0,0595	0,0080
Mốc tiêu gốc	1,456	0,14	0,0680	0,0041
TXU21	1,700	0,18	0,0680	0,0050
TX16012	1,680	0,22	0,0512	0,0050

Khả năng chịu hạn của các dòng đậu xanh đột biến ở M₅ (CKH: Cây không héo, HP: Hối phục)

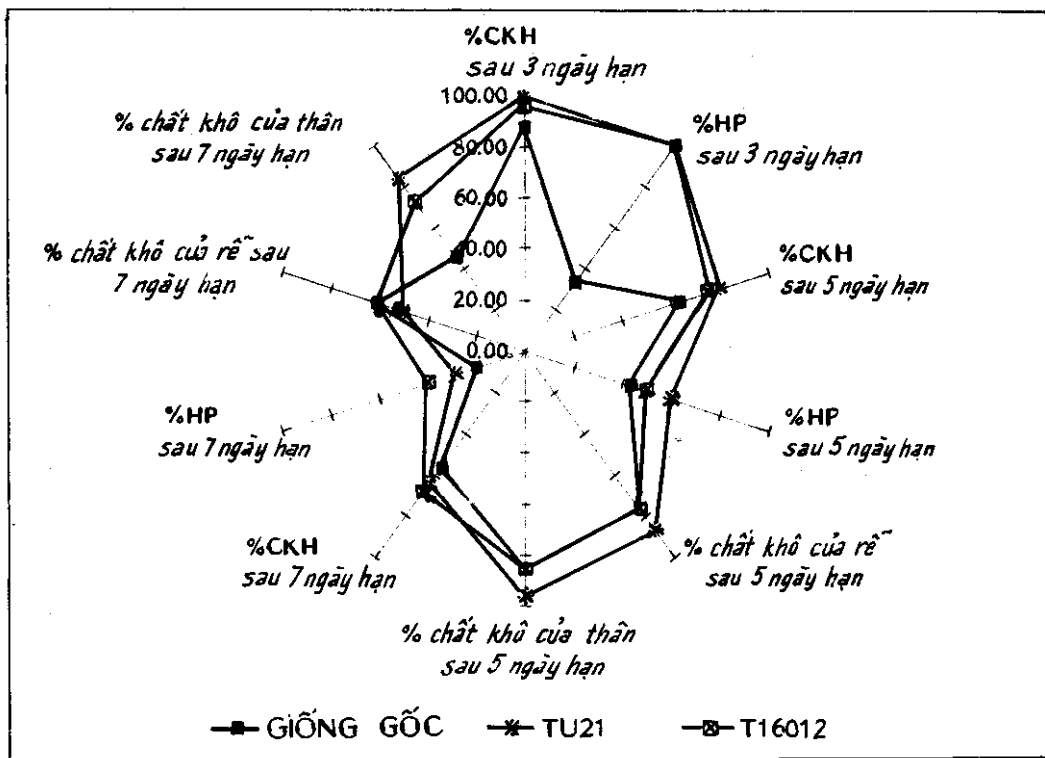
Dòng đột biến và giống gốc	%CHK sau 3 ngày hạn	%HP sau 3 ngày hạn	%CHK sau 5 ngày hạn	%CHK sau 5 ngày hạn	% chất khô của rễ sau 5 ngày hạn	% chất khô của thân sau 5 ngày hạn	%CKH sau 7 ngày hạn	%HP sau 7 ngày hạn	% chất khô của rễ sau 7 ngày hạn	% chất khô của thân sau 7 ngày hạn	Chỉ số chịu hạn tương đối
Giống đậu xanh mỡ											
Mỡ gốc	84,00	25,00	60,00	28,57	73,96	79,25	40,00	14,29	45,73	69,15	7833,55
MX26	92,00	50,00	80,00	50,00	64,25	56,81	56,00	37,50	38,58	48,18	9546,22
MXU21	96,00	100,00	80,00	40,00	93,31	99,42	72,00	50,00	50,93	85,80	17551,45
MX1103	92,00	100,00	88,00	66,67	158,93	94,54	80,00	50,00	82,44	94,91	24019,66
Giống đậu xanh mốc tiêu											
Mốc tiêu gốc	88,00	33,33	64,00	42,86	76,87	85,40	56,00	20,00	61,02	45,64	9284,84
TXU21	96,00	100,00	76,00	50,00	76,05	85,84	68,00	40,00	60,95	72,87	15800,46
TXU16012	100,00	100,00	80,00	60,00	86,86	95,81	64,00	28,57	50,06	84,02	17143,41

Bảng 4 cho thấy các dòng MX26, MXU21, MX1103 đều có hàm lượng protein ở giai đoạn cây mầm cao hơn giống gốc 0,142 - 0,34 (mg/ml), cao nhất là dòng MX1103 (1,680 mg/ml). Dòng TXU21 và TX16012 có hàm lượng protein cao hơn giống gốc 0,224-0,0244 (mg/ml). Về hoạt độ của các enzym, bảng 4 cho thấy enzym amylaza của các dòng MXU21, MX1103 và TX16012 có hoạt độ cao nhất, dao động từ 0,22-0,23 (đơn vị/ml). Các dòng MX26, MXU21, MX1103 đều có hoạt độ enzym catalaza dao động từ 0,0595-0,0680 (đơn vị/ml) thấp hơn giống gốc (giống gốc: 0,0714 đơn vị/ml), nhưng lại có hoạt độ proteaza cao hơn giống gốc (dao động từ 0,006-0,008 đơn vị/ml; giống gốc: 0,0045 đơn vị/ml). Các dòng chọn lọc từ giống mốc tiêu cũng biểu hiện tương tự.

Thích nghi với ngoại cảnh bất lợi trong đó có thích nghi với điều kiện hạn hán là đặc điểm của thực vật nói chung và của cây trồng nói riêng [4, 6, 11, 12]. Tuy nhiên tính thích nghi được tăng cường dần qua nhiều thế hệ và là kết quả của quá trình chọn lọc. Kỹ thuật chọn các



Hình 1. Đồ thị biểu diễn khả năng chịu hạn tương đối của các dòng dậu xanh mỡ dọt biến và giống gốc (CKH: Cây không héo, HP: Hồi phục)



Hình 2. Đồ thị biểu diễn khả năng chịu hạn tương đối của các dòng dậu xanh mốc tiêu dọt biến và giống gốc (CKH: Cây không héo; HP: Hồi phục)

đồng cây chịu hạn đã được tiến hành ở nhiều loại cây trồng khác nhau như ở cây ngô non [2, 13], ở cây đậu tương [5, 9], ở lúa nước [1]. Về khả năng chịu hạn của cây trồng có hai cơ chế chính được thảo luận tới nhiều, đó là vai trò của bộ rễ và khả năng điều chỉnh áp suất thẩm thấu. Hình thái và chức năng của bộ rễ liên quan nhiều đến khả năng chịu hạn của những cây trồng cạn. Đậu xanh là loại cây trồng cạn, do vậy sự khác nhau về khối lượng khô của bộ rễ giữa các dòng đột biến và giống gốc đã giải thích sự khác nhau về khả năng chịu hạn của chúng. Ngoài ra khả năng chịu hạn của cây đậu xanh còn liên quan đến hàm lượng các chất hòa tan trong tế bào của thân, rễ và lá. Khi mất cân bằng thẩm thấu sẽ dẫn đến những thay đổi tinh vi trong sinh hóa tế bào dẫn đến sự tích lũy các chất hòa tan, các protein đặc biệt, các axit amin. Những thay đổi này đều liên quan đến khả năng chịu mất nước của tế bào [1].

III. KẾT LUẬN

Các dòng đột biến có những ưu điểm về nông học hơn hẳn các giống gốc. Các tính trạng như chiều cao cây, số quả/chắc/cây, khối lượng hạt/cây, số lần hái đều có hệ số biến dị thấp hơn giống gốc, đây là dấu hiệu ổn định của các dòng đột biến. Dòng MX26, MX1103 và TX16012 có hàm lượng protein tổng số cao nhất (33,37%; 33,84%; 35,74%).

Các dòng đột biến có khả năng chịu hạn cao hơn giống gốc, biểu hiện ở chỉ số chịu hạn tương đối. Dòng MX1103 và TX16012 có chỉ số chịu hạn cao nhất (24019,66; 17143,14) do vậy khả năng chống chịu hạn của các dòng này là tốt nhất. Khả năng chịu hạn của các dòng đột biến có liên quan với tỷ lệ chất khô của rễ và hàm lượng protein hòa tan, hoạt độ proteaza, hoạt độ catalaza ở giai đoạn cây mầm. Những dòng có khả năng chịu hạn cao thì có hàm lượng protein hòa tan cao và hoạt độ enzym proteaza tăng, còn hoạt độ catalaza giảm.

Sự biểu hiện khác nhau về các đặc điểm nông học, khả năng chịu hạn, hàm lượng nitơ và lipid tổng số của các dòng biến và giống gốc đã chứng tỏ các dòng đột biến khác nhau và khác với giống gốc genotyp. Cần có những nghiên cứu sâu hơn về bộ gen của các dòng đột biến để làm sáng tỏ nhận xét này.

Hai dòng có triển vọng nhất là MX1103 và TX16012 có thể tiến hành khảo nghiệm và giới thiệu cho sản xuất.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Lê Trần Bình, Lê Thị Muội, 1998: Phân lập gen và chọn dòng chống chịu ngoại cảnh bất lợi ở cây lúa. Nhà xuất bản Đại học Quốc gia Hà Nội.
2. Bolanos J., Edmeades GO., Martines L., 1993: Field Crops Res. 31(3)-4: 233-252.
3. Phạm Thị Trân Châu, Nguyễn Thị Hiền, Nguyễn Gia Trường, 1997: Thực hành hóa sinh học. NXB Giáo dục.
4. Guei RG., Wassom CE., 1993: Genetics of osmotic adjustment in breeding maize for drought tolerance. Heredity 71: 436-441.
5. Nguyễn Huy Hoàng, 1992: Luận án PTS Hà Nội.
6. Holmstrom KO., Mantyla E., Weilin B., Mandal A., 1996: Drought tolerance in tobacco. Nature 379(6567): 683-684.
7. Trần Ích, 1983: Thực hành hóa sinh học. Nhà xuất bản Giáo dục, 154 trang.
8. Kết quả nghiên cứu khoa học cây đậu đỗ 1991-1995, 1995: Viện Khoa học kỹ thuật nông nghiệp Việt Nam - Trung tâm nghiên cứu và thực nghiệm đậu đỗ: 80-103.
9. Knypl JS., Knypl MA., 1993: Acta Physiol 15(1): 3-9.
10. Trần Đình Long, 1991: Những nghiên cứu mới về chọn tạo giống đậu đỗ. Tiến bộ kỹ thuật về trồng lạc và đậu đỗ ở Việt Nam. Nhà xuất bản Nông nghiệp: 199-223.
11. McElrory D., Blowers AD., Jenes B., Wu R., 1991: Mol. Gen Genet 213(1): 150-160.
12. McElrory D., Zhang WG., Jenes B., Wu R., 1990: Plant cell 2(2): 163-171.
13. Dương Văn Sơn, 1996: Luận án phó tiến sĩ khoa học nông nghiệp.
14. Nguyễn Hải Tuất, Ngô Kim Khôi, 1996: Xử lý thống kê kết quả nghiên cứu thực nghiệm trong nông lâm nghiệp trên máy vi tính. Nhà xuất bản Nông nghiệp Hà Nội.

(Xem tiếp trang 48)

ẢNH HƯỞNG CỦA THUỐC DIỆT CỎ FUSILADE S VÀ MOLORAN 50 WP LÊN PHÔI GÀ

L. VÁRNAGY

Trường đại học Nông nghiệp Pannon-Hungary

V. KERTÉSZ, I. HLUBIC

Trường đại học Nông nghiệp Godollo-Hungary

VŨ KIM CẦU

Viện Công nghệ sinh học

Trong hai thập kỷ qua, nhiều công trình nghiên cứu độc hại của các hóa chất lên môi trường sinh thái đã được công bố, đặc biệt là những kết quả của các chất hóa học lên phôi chim (Lutz-O sterag, 1970; Meiniel-Lutz, 1970; Hoffman-ALbers, 1984; Várnagy, 1981, 1982, 1985, 1993, 1995). Ngày nay những khảo sát mang tính bảo vệ môi trường là điều tối cần thiết khi chúng ta cho phép sử dụng bất kỳ một loại thuốc bảo vệ thực vật nào. Trong bảo vệ môi trường và tự nhiên, ngày càng đòi hỏi sử dụng nhiều phương pháp nghiên cứu để khảo sát tác dụng của những loại thuốc - ví dụ như các loại kháng sinh mới - lên sự phát triển của các loài vật sống khác nhau.

Nói đến các loại thuốc diệt cỏ, đầu tiên chúng ta phải nhắc tới các loại thuốc được chế tạo từ phenoxy axit. Đây là nhóm thuốc được nghiên cứu sâu rộng nhất, do ảnh hưởng độc hại của nó lên phôi. Những tác giả đi đầu trong lĩnh vực nghiên cứu này là Lutz - Lutz - Ostertag và Didier (1971, 1972). Nhiều tác giả (Hilbig và cộng sự, 1976; Spittler, 1976; Hoffman và Albert, 1984) nghiên cứu về ảnh hưởng độc hại của 2,4-D (2,4-D dichlorophenoxyacetat) và 2,4,5-T (2,4,5-trichlorophenoxyacetat) lên trứng. Họ xác định rằng nếu xử lý trứng theo phương pháp phun thuốc và phương pháp tắm thì tỷ lệ nở của trứng gà nuôi và gà lôi chỉ thấp đi trong trường hợp sử dụng liều lượng cao hơn bình thường. Hoffman và Albert đã xếp loại 14 loại thuốc diệt cỏ theo trình tự độc hại dựa theo chỉ số LC 50 (từ 1,8 đến 479 g/l) được xác định trên trứng vịt rừng. Ở Mỹ dựa theo liều lượng tối

đa có thể sử dụng thì mức độ độc của các chất được xếp như sau: trifluralin, paraquat, prometon, diclofop-metil, propanil, bromoxynil, picloram, amitrol, 2,4,5-T, 2,4-D, glifozat, atrazin và dicamba.

Dunachie và Fletcher (1970) đã sử dụng phương pháp tiêm để nghiên cứu ảnh hưởng của 25 loại thuốc diệt cỏ lên phôi gà. Theo kết quả nghiên cứu thì những chất độc hại nhất có nguồn gốc từ bipyridinium và đặc biệt nó chứa paraquat.

Fusilade S có nguồn gốc từ phenoxy axit. Một axit béo với chuỗi cacbon nhỏ gắn vào gốc fenoxi. Số lượng nguyên tử cacbon trong axit béo ảnh hưởng đến tốc độ của hoạt tính sinh học. Hoạt tính sinh học giảm dần khi số nguyên tử cacbon trong chuỗi tăng lên. Mối quan hệ với axit béo này được tiếp nối bởi một nhóm phân tử cystine thuộc một protein có nhiệm vụ đón nhận. Những chất diệt cỏ có nguồn gốc từ fenoxi hoạt động bằng cách hủy hoại các tế bào đang ở thời kỳ phân chia. Một điều quan trọng nữa là, những chất có nguồn gốc từ auxin, ở nồng độ thấp cũng có tác dụng ngăn chặn sự tăng trưởng của tế bào.

Chất hoạt tính của Fusilade S là fluazifop-P-butyl (125 g/l). Chất này còn được gọi là chất diệt cỏ có chứa chất có hoạt tính hormon (có chứa hoạt tính auxin) điều khiển tăng trưởng. Người ta sử dụng nó trong các loại đất canh tác và các cánh đồng trồng nho, hoa quả, rau xanh để chống lại những loại cỏ dại sống lâu năm và

có khả năng nảy mầm từ những hạt vùi sâu trong đất. Đối với ong thì nó là độc cấp trung, đối với cá thì ít độc hơn.

Maloran 50 WP là chất diệt cỏ có nguồn gốc cacbarnit. Chất hoạt tính của nó là clorbromuron (50%). Thuốc này được sử dụng rộng rãi để diệt cỏ trong đất canh tác, đặc biệt đất trồng các loại cây như hướng dương, đậu nành, cà rốt, hành tía, cây ăn quả trên 5 tuổi, trừ tảo thì trên 4 tuổi đã sử dụng được.

Tác dụng của thuốc diệt cỏ là ngăn cản sự chuyển dịch của các điện tử trong hệ thống quang hợp, chẳng hạn như phản ứng Hill (phản giải nước) và còn ngăn cản sự tạo thành NADPH. Do kết quả này, ATP không được tổng hợp đầy đủ cho các loại cỏ, và sự hấp thụ CO_2 cũng không xảy ra. Cỏ bị vàng úa, rậm rạp, sau đó thì bị chết hàng loạt.

I. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Chúng tôi sử dụng trứng gà đã được lai tạo và nuôi dưỡng theo tiêu chuẩn Shaver Starcross 288. Tiêm 0,1 ml cả hai loại thuốc diệt cỏ vào buồng khí của trứng trước lúc cho vào máy ấp 24 giờ. Ở lô thí nghiệm khác thì dùng phương pháp ngâm trứng với nồng độ 1% cũng với cả hai thuốc nói trên - đồng thời còn thí nghiệm với nồng độ pha loãng 10 lần và nồng độ đậm đặc hơn 10 lần cho những lô thí nghiệm tương tự. Ở tất cả các lô thí nghiệm đều tiến hành kiểm tra đối chứng. Như thế có tất cả 15 lô thí nghiệm với 754 trứng đã được xử lý với cả hai loại Fusilade S và Molaran 50 WP.

Dùng máy ấp trứng kiểu eggstar-600 của Hungary sản xuất. Khảo sát trứng trong giai đoạn ấp 9 ngày đầu tiên. Lần đầu tiên kiểm tra là sau 36 giờ ấp. Giải phẫu lấy phôi. Lần kiểm tra cuối cùng là khi phôi được 9,5 ngày. Trong 5 ngày đầu tiên, mỗi ngày giải phẫu và phân tích 50 trứng và làm tiêu bản bằng phương pháp nhuộm màu osmium. Sau đó kiểm tra dưới kính hiển vi để xác định các giai đoạn phát triển phôi và sự biến đổi hình thái phôi theo tiêu chuẩn phân loại Lillie. Cân trọng lượng phôi chứa nước và trọng lượng phôi khô từ ngày thứ 6 đến ngày thứ 10 rồi xác định trọng lượng các hợp chất hữu cơ có trong phôi.

Các số liệu phân tích được tính toán bằng máy điện toán với phương pháp thống kê sinh học.

II. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

1. Phương pháp:

Trong hai phương pháp xử lý mẫu - không phụ thuộc vào xử lý với loại thuốc diệt cỏ nào thì phương pháp tiêm vào buồng khí của trứng có ảnh hưởng sâu sắc hơn so với phương pháp ngâm trứng, bởi vì bằng phương pháp tiêm thì 0,1 ml thuốc đã được đưa vào trứng, còn bằng phương pháp ngâm trứng trong dung dịch thuốc thì chúng ta không thể xác định được chính xác hàm lượng của thuốc đưa vào trứng là bao nhiêu. Mặt khác, thuốc ngâm vào trứng còn phụ thuộc vào nhiều yếu tố khác, tốc độ di chuyển của thuốc, v.v...

2. Vấn đề về phôi chết:

Bảng

Ảnh hưởng của Fusilade S và Maloran 50 WP đến khối lượng phôi (giữa ngày ấp thứ 6-10)

	K_{50}		0,1% Fusilade S		1% Fusilade S		10% Fusilade S		0,1% Molaran WP		0,1% Molaran WP		0,1% Molaran WP	
	Tiêm	Tắm	Tiêm	Tắm	Tiêm	Tắm	Tiêm	Tắm	Tiêm	Tắm	Tiêm	Tắm	Tiêm	Tắm
Khối lượng ướt đối chứng	NS	NS	NS	NS	NS	**	Bị chết khi xử lý	***	Phân lớn bị chết	NS	NS	NS	Phân lớn bị chết	NS
Khối lượng khô đối chứng	NS	NS	NS	NS	*	NS	Bị chết khi xử lý	NS	Phân lớn bị chết	NS	NS	NS	Phân lớn bị chết	NS
Lượng nước	NS	NS	NS	NS	NS	**	Bị chết khi xử lý	***	Phân lớn bị chết	NS	NS	NS	Phân lớn bị chết	NS

*: $p < 0,05$

** $p < 0,01$

***: $P < 0,001$

NS: không đáng kể

Dung dịch Fusilade S 10% khi tiêm vào trứng gây ra phôi chết nhiều nhất (95,5%). Còn khi dùng 1% dung dịch Fusilade S - là nồng độ được áp dụng trong thực tiễn - thì tỷ lệ chết phôi chỉ là 23%. Còn ở dung dịch 1% Marolan 50 WP thì thấy tỷ lệ chết phôi là 45% và trong trường hợp nồng độ 10% thì tỷ lệ là 30%. Bằng phương pháp ngâm trứng trong cả hai dung dịch thuốc với các nồng độ khác nhau cũng thấy rõ số phôi chết là ít hơn hẳn so với phương pháp tiêm. Chẳng hạn với Fusilade S và Marolan 50 WP 1% và 10% thì tỷ lệ phôi chết cũng chỉ từ 6 - 10%. Còn với cả hai loại thuốc trên khi dùng nồng độ 1% (nồng độ được áp dụng trong thực tiễn), nhận thấy số phôi chết tăng lên gấp 2-3 lần so với đối chứng.

3. Về thời điểm chết của phôi:

(xem bảng 1 và đồ thị 1-11)

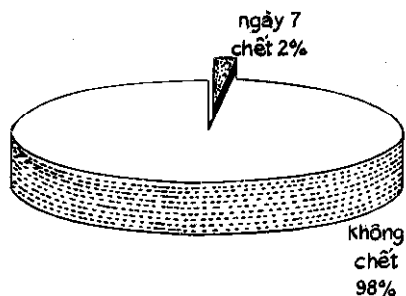
Nghiên cứu thời điểm chết của phôi khi xử lý với hai loại thuốc diệt cỏ có nồng độ là 1% và 10%, chúng tôi nhận thấy chúng làm phôi chết

vào tất cả các ngày ấp trứng (đồ thị 2, 3, 5, 6). Tất nhiên tỷ lệ chết của phôi thay đổi theo thời gian và nồng độ của thuốc đã dùng. Ở nồng độ 1% số phôi chết ít hơn và xảy ra tại các thời điểm khác (xem đồ thị 1, 4, 9). Khi tiêm trứng với Fusilade S có nồng độ 0,1% thì thấy chỉ có ngày thứ 7 là gây ra phôi chết với tỷ lệ 2%, còn đối với Marolan 50 WP thì với nồng độ tương tự, cả hai phương pháp tiêm và ngâm đều làm phôi chết vào các ngày thứ 8, 9 và 10 của quá trình ấp trứng.

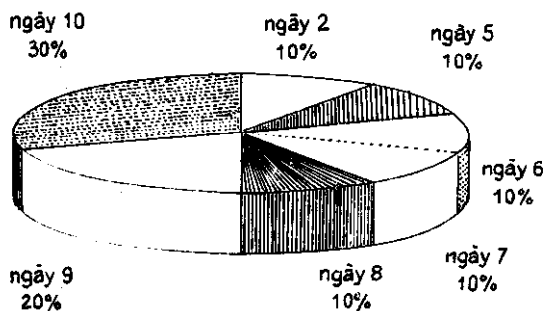
Một điều đặc biệt cần nhắc đến là khi dùng dung dịch 10% Fusilade S để tiêm cho trứng thì tiếp theo quá trình xử lý, sau 24 giờ đầu tiên của quá trình ấp, tỷ lệ chết của phôi là 34% (đồ thị 3).

Vào ngày thứ hai của quá trình ấp (24 - 48 giờ) cũng có nhiều phôi bị chết trong trường hợp trứng được xử lý với Fusilade S có nồng độ 1% và 10% (đồ thị 7-8), cũng như khi xử lý với dung dịch Maloran 50 WP 10%.

THỜI ĐIỂM CHẾT PHÔI CỦA NHÓM ĐƯỢC TIÊM (%)



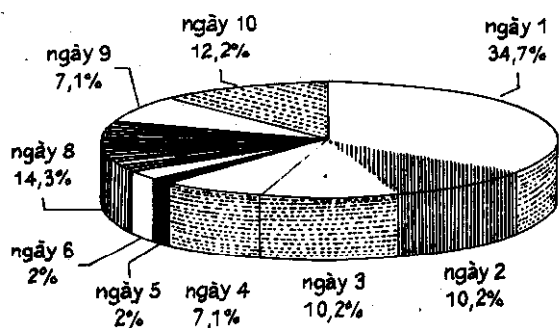
Hình 1. 0,1% Fusilade S



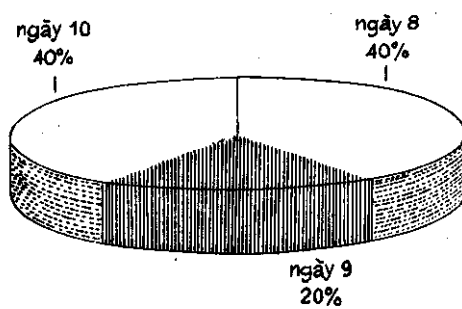
Hình 2. 1% Fusilade S

Giữa 48 và 72 giờ, tức là ngày thứ ba của quá trình ấp trứng thì cả ba dung dịch Maloran 50 WP nồng độ khác nhau và dung dịch Fusilade S có nồng độ 10% đều làm nhiều phôi chết hơn. Theo dõi sự phát triển của phôi thì ngày này có thể được xem là thời điểm nhạy cảm nhất của phôi (đồ thị 8, 9, 10).

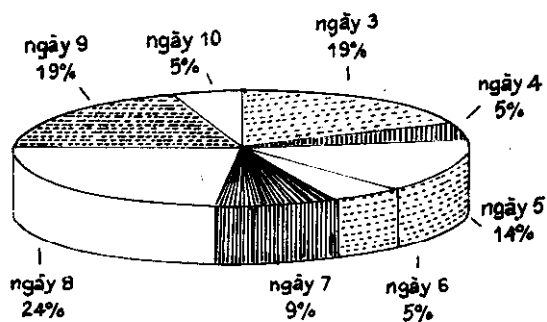
Chúng tôi cũng nhận thấy, tiêm Fusilade S 1% và 10% đều dẫn đến tỷ lệ chết đáng kể của phôi trong khoảng thời gian từ ngày thứ 8 đến 10 của quá trình ấp trứng (đồ thị 2, 3). Bên cạnh những thay đổi về hình thái học (sự khác nhau về chi, xoang miệng, phân hóa của mỏ, xuất hiện của chân lông, hình thành mí mắt) còn có những thay đổi quá trình trao đổi chất của phôi.



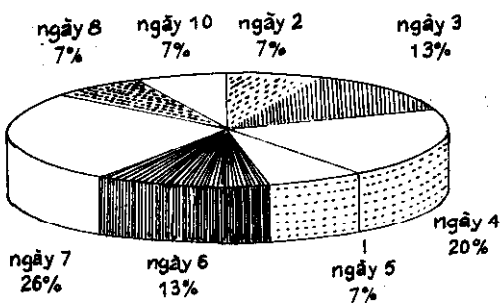
Hình 3. 10% Fusilade S



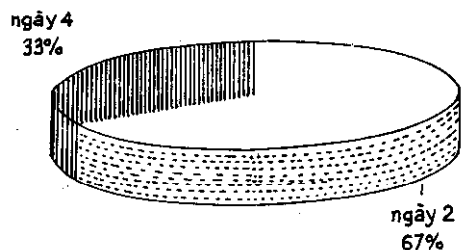
Hình 4. 0,1% Marolan 50 WP



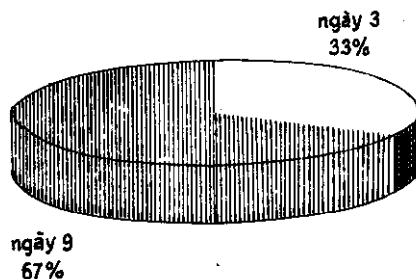
Hình 5. 1% Marolan 50 WP



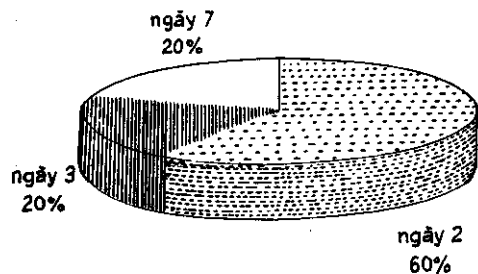
Hình 6. 10% Marolan 50 WP



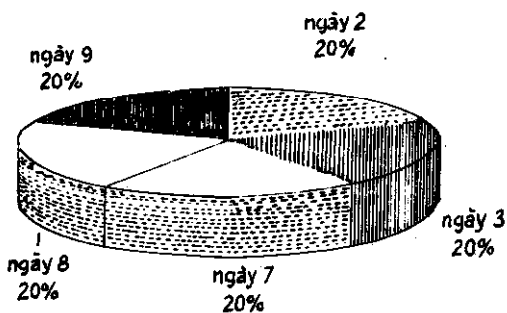
Hình 7. 1% Fusilade S



Hình 8. 10% Fusilade S



Hình 9. 0,1% Marolan 50 WP



Hình 10. 1% Marolan 50 WP

4. Về sự phát triển không bình thường của phôi:

Chúng tôi nhận thấy là sự phát triển không bình thường của phôi thường gặp nhiều ở các phôi bị chết hơn là các phôi còn sống. Kết quả nổi bật là ở những nhóm được xử lý với dung dịch 0,1% Maloran 50 WP thì sự phát triển không bình thường xảy ra ở tất cả các phôi đã bị chết (100%). Tuy nhiên, ở đây số lượng cá thể nghiên cứu còn ít nên chúng mực nào đó ta phải chấp nhận tỷ lệ nêu trên.

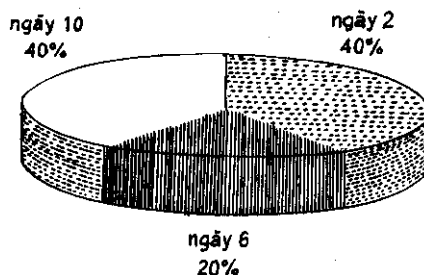
Tỷ lệ thay đổi giữa các nhóm phôi bị chết bằng phương pháp tắm và phương pháp tiêm trong dung dịch nước cất cũng tương tự (78% và 50%). Nguyên nhân này không giản đơn. Người ta có thể giả định rằng nước cất cũng có tác dụng gây ra sự phát triển không bình thường của phôi. Song, do số lượng cá thể được khảo sát còn ít, nên còn phải khảo sát nhiều cá thể hơn nữa mới có thể kết luận một cách chính xác.

Ở cả ba nhóm: tắm với 1% dung dịch Fusilade S; tắm với 0,1% và tiêm với 10% dung dịch Maloran 50 WP thì đều thấy có sự phát triển không bình thường ở 1/3 số phôi đã chết.

Ở các phôi còn sống ít gặp hơn những cá thể có sự thay đổi trong quá trình phát triển. Cũng có thể kể vài số liệu đáng nhắc đến là ở nhóm tiêm 10% Maloran 50 WP là 23% và ở nhóm tiêm 1% Fusilade S là 21%.

Trong quá trình thí nghiệm, chúng tôi thu nhận được 18 kiểu phát triển không bình thường khác nhau. Chúng có thể xảy ra cùng trong một phôi. Chúng tôi cũng thấy phôi dị dạng chiếm tỷ lệ cao nhất ở lô thí nghiệm nước cất và ở lô tiêm dung dịch Maloran 50 WP 1% và 10%. Tỷ lệ thấp hơn tiếp theo đó là khi tiêm với dung dịch 1% và 10% Fusilade S. Hiện tượng phôi phát triển không bình thường, thường gặp nhất là xoang cơ thể mở rộng (18%) và hiện tượng lùn (15%).

Sự phát triển không bình thường không chỉ nhận thấy ở ngoại hình phôi, mà còn thấy rõ ở hệ mao mạch của chúng phát triển rất yếu, hoặc thiếu hẳn. Tiếp theo đó, điều đáng nhắc nữa là



Hình 11: 10% Marolan 50 WP

sự phát triển không bình thường của mắt (17%). Mắt hoặc thiếu, hoặc các bộ phận của mắt không phát triển, chẳng hạn như mắt rất nhỏ, hoặc màu của mắt rất nhạt.

Ngoài ra, đầu không phát triển ở 4% số phôi.

5. Về sự tăng trưởng:

Việc xử lý bằng nước cất trong các lô thí nghiệm không gây ảnh hưởng đến trọng lượng phôi (kể cả trường hợp tiêm và tắm cho trứng).

Những số liệu có liên quan đến trọng lượng phôi được tóm tắt trong bảng 1.

Chúng ta có thể rút ra kết luận là, khi tiêm thì dưới ảnh hưởng của dung dịch Fusilade S 1% (nồng độ dùng trong thực tiễn), trọng lượng khô của phôi giảm một cách đáng kể so với nhóm đối chứng. Khi xử lý với dung dịch Fusilade S cùng nồng độ, trong các nhóm dùng phương pháp tắm, thì khối lượng ướt của phôi với hàm lượng nước của nó lại được tăng lên một cách đáng kể.

Còn khi dùng 10% dung dịch Fusilade S để tắm cho trứng thì khối lượng ướt của phôi và hàm lượng nước của nó tăng lên một cách đáng kể so với đối chứng.

Trên cơ sở đó, có thể xác định rằng trong hai loại thuốc diệt cỏ thì chỉ có dung dịch 1% và 10% Fusilade S là có ảnh hưởng lên sự tăng trọng của phôi.

III. THẢO LUẬN

1. Về thời điểm chết phôi:

Chúng tôi đã tìm thấy những thời điểm tới hạn của sự phát triển phôi, những thời điểm mà phôi chết nhiều nhất. Trong những thời điểm này phôi rất nhạy cảm và những tác nhân độc hại cũng gây ra những ảnh hưởng nhiều nhất.

Một sự thật là 34% số phôi bị chết trong vòng 24 giờ đầu tiên sau khi ấp trứng do tác dụng của dung dịch Fusilade S 10%. Điều này chỉ ra ảnh hưởng của độc hại của thuốc đến sự phân chia tế bào phôi. Cũng có thể thấy rằng quá trình phát triển phôi thai diễn ra qua các giai đoạn phân chia tế bào là quá trình hình thành hệ thống tiêu hóa và tế bào thần kinh, sau đó từ những tế bào này được phân hóa thành các tổ chức và những cơ quan khác nhau. Thời gian phát triển ban đầu này được xem là giai đoạn phát triển quan trọng nhất, quyết định sự sống của cá thể, và cũng trong thời gian này, phôi rất nhạy cảm và rất dễ chết.

Needham (1972) khi nghiên cứu sự trao đổi chất ở phôi gà, ông đã phát hiện và chứng minh hiệu quả của sự chuyển hóa các chất trong phôi bằng chỉ số "hệ số sử dụng chất dẻo" (Plastic Efficiency Coefficient). Chỉ số này biểu thị sự hấp thụ chất dinh dưỡng của trứng gà. Chỉ số càng cao thì lượng chất dinh dưỡng phôi sử dụng càng thấp so với lượng chất dinh dưỡng dự trữ. Chỉ số này thấp nhất vào ngày thứ 8, 9 của quá trình ấp trứng, khi có 66% chất dinh dưỡng phôi tiếp thu chuyển biến thành hợp chất sống. Điều này nói lên rằng quá trình phát triển phôi đạt hiệu quả kinh tế thấp nhất khi lượng chất dinh dưỡng mà phôi sử dụng cao hơn so với chất lượng chất dinh dưỡng dự trữ. Ngày 8-9 có thể xem là thời điểm nhạy cảm nhất của quá trình phát triển. Do vậy, ngoài tác hại của thuốc ra, điều này cũng góp phần làm phôi có tỷ lệ chết cao.

2. Về sự phát triển không bình thường của phôi:

Không phải ở bất cứ thời điểm nào, ảnh hưởng của tác nhân hóa học (pesticides) cũng làm phôi lùn. Rõ ràng là có nhiều yếu tố dẫn đến sự phát triển không bình thường của phôi,

trong đó phải kể đến yếu tố di truyền, sự phát triển của các giai đoạn, hàm lượng và chất lượng của những hợp chất gây ra sự biến đổi đó, cũng như những yếu tố đặc biệt khác. Sự phát triển theo từng giai đoạn của các cá thể cũng có ý nghĩa quan trọng, bởi vì ở những giai đoạn phát triển khác nhau, cơ thể chúng cũng có những sự nhạy cảm khác nhau đối với mỗi loại thuốc. Chúng ta cũng có thể thấy rằng những thời điểm rất nhạy cảm của phôi đối với các chất gây dị dạng là giai đoạn bắt đầu phát triển của phôi, thời kỳ phân chia tế bào và hình thành các cơ quan. Trong trường hợp phôi gặp các chất gây biến dạng vào những thời điểm này, lúc đó tất cả các sự biến dạng sẽ đồng thời được nhận thấy trên phôi (Várnagy, 1995 b).

Trong thí nghiệm này, xử lý trước khi ấp tạo điều kiện cho chúng ta quan sát được ảnh hưởng của hai loại thuốc diệt cỏ lên giai đoạn phát triển ban đầu của phôi. Chúng ta có thể thấy nhiều dạng dị dạng xảy ra đồng thời cùng một lúc ở những cá thể bị biến dạng, vì các phân tử của hai loại thuốc nói trên có thể cùng một lần tấn công vào nhiều vị trí (cơ quan) khác nhau của phôi. Từ quan sát sự phát triển không bình thường của chúng, chúng ta có thể rút ra kết luận là các hóa chất gây dị dạng khi nào thì tác động lên cơ thể sống.

Những kết quả được công bố ở trên sẽ làm cho chúng ta hiểu biết thêm về các chất diệt cỏ có nguồn gốc từ fenoxi axit và carbamid, cũng như về ảnh hưởng của nó đến thế giới động vật xung quanh.

IV. KẾT LUẬN

1. Maloran 50 WP gây ra sự chết phôi gà nhiều hơn.

2. Tỷ lệ phát triển không bình thường quan sát được ở những phôi đã chết từ trứng ngâm trong dung dịch Fusilade S. Như vậy Fusilade S có tác dụng gây đột biến cao hơn.

3. Các thuốc diệt cỏ này không chỉ ảnh hưởng độc hại đến khả năng sống và phát triển của phôi gà mà còn ảnh hưởng đến mức độ tăng trưởng của nó. Điều này không thể hiện ở khối lượng phôi giảm mà thể hiện ở chỗ khối lượng phôi tăng trưởng có hàm lượng nước cao.

1. Dunachie J. F., Fletcher W. W., 1970: The toxicity of certain herbicides to hens' eggs assessed by the egg-injection techniques. *Ann. Appl. Biol.*, 66: 505-520.
2. Hilbig V. V., Lucas K., Sebek V., Muchow H., 1976: Untersuchungen zur Ermittlung toxischer Wirkungen von Derivaten der 2,4-Dichlor- und 2,4,5-Trichlorphenoxy essigsäure (2,4-D und 2,4,5-T) auf Bruteier von Fasanen, Wachstein und Hühnern. *Anz Schadlingskd Pflanz Umweltschutz*, 49: 65-68.
3. Hoffman D. J., Albers P. H., 1984: Evaluation of potential embryotoxicity and teratogenicity of 42 herbicides, insecticides, and petroleum contaminants to mallard eggs. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 13: 15-17.
4. Korhonen A., Hemminki K., Vanio H., 1982a: Embryotoxicity of industrial chemicals on the chicken embryo: Thiourea derivatives. *Acta Pharmacol. et Toxicol.*, 1982, 51: 38-44.
5. Korhonen A., Hemminki K., Vanio H., 1982b: Application of the chicken embryo in testing for embryotoxicity. *Scand. J. Work Environ. Health*, 1982, 8: 63-69.
6. Lutz H., Lutz-Ostertag Y., 1972: The action of different pesticides on development of bird embryos. *Advan. Exp. Med. Biol.*, 27: 127-149.
7. Lutz-Ostertag Y., Didier R., 1971: 2,4,5-T and embryonal sterility. *C. R. Soc. Biol.*, 165: 2365-2366.
8. Várnagy L. E., 1981: Preliminary toxicity and teratogenicity testing of Captan in Japanese quail embryos. *Acta Vet. Acad. Sci. Hung.*, Tomus 29(2): 193-196.
9. Várnagy L. E., 1995a: Teratogenicity testing of pesticides on bird fetuses. *Hungarian Agricultural Research*, 1995/2: 30-33.
10. Várnagy L. E., 1995b: Novényvédelem és környezetvédelem. *Egyetemi jegyzet, Veszprém*.

INFLUENCE ON THE FUSALADE S AND MALORAN 50 WP HERBICIDES ON THE CHICKEN EMBRYO

L. VÁRNAGY, et al.

SUMMARY

In this work, the results of the experiments on the influence of the Fusilade S and Maloran 50 WP herbicides on the chicken embryo were presented. The observations were carried out during the 9 first days of the embryonic development process and there are following conclusion:

1. Maloran 50 WP caused more mortality of the embryos.
2. The highest rate of abnormal development was observed in the dead embryos from the eggs immersed in the Fusilade S solution. So the Fusilade S caused the higher mutation.
3. These herbicides not only influenced on the embryonic vitality and development but also influenced on their growth level. That not only represented the decrease of the embryo weight but also represented the increase of the embryo weight with high water content.

Ngày nhận bài: 15-7-2000

ORDER FORM

Name: _____ Position: _____

Organization: _____

Address: _____

Country: _____

Telephone: _____ Fax: _____ E-mail: _____

Please send me:

Publications	Language	Page numbers	Issues/ year	Price/ issue (US\$)	Order for (issue, year)	Cost (US\$)
☐ Vietnamese Journal of Science and Technology	V	64	6	12.00		
☐ Vietnam Journal of Mathematics (*)	E	96	4	75.00		
☐ Journal of Computer Science and Cybernetics	V-E	64	4	12.00		
☐ Communications in Physics	E	64	4	12.00		
☐ Vietnam Journal of Mechanics	E	64	4	12.00		
☐ Journal of Chemistry	V-E	96	4	12.00		
☐ Journal of Sciences of the Earth	V	64	4	9.00		
☐ Journal of Biology	V	64	4	9.00		
☐ Advances in Natural Sciences	E	128	4	15.00		
All articles have the summary in English V: in Vietnamese; E: in English; V-E: in Vietnamese or/and in English (*) : VJM should be published by Springer-Verlag Singapore				Subtotal:		
				Postage & handling(**) :		
				Total:		

(**) Airmail Postage & Handling per issue

- Asian countries: US\$ 3.50

- Other countries: US\$ 6.05

Surface Mail Postage & Handling per issue

- Asian countries: US\$ 2.00

- Other countries: US\$ 2.85

• **Order should be paid only by cheque in US\$**

• **All orders must be prepaid**

I enclosed a cheque made payable to the **Bank for Foreign Trade of Vietnam**

A/C No.: 001.1.37.0174283 for US\$ _____

Account Number: _____ Valid until _____

Signature _____ Date _____

• **All orders should be sent to:**

To: Director Mai Ha

Institute for Scientific Information (ISI) - National Centre for Natural Sciences and Technology of Vietnam

Trung tâm Thông tin Tư liệu - Trung tâm Khoa học tự nhiên và Công nghệ Quốc gia

Hoang Quoc Viet, Cau Giay, Hanoi, Vietnam

or fax: 84 4 8 352 483; or E-mail: Maiha @ isi.ac.vn

CONTENTS

	<i>Pages</i>
1. NGUYEN HUU DINH, HUYNH QUANG NANG : Five new species of the genus <i>Sargassum</i> from Vietnam.	1-10
2. LE VU KHOI, et al. : Diversity of chiroptera in Cuc Phuong National Park.	11-16
3. VU DINH THONG, et al. : Mountain Fruit bat <i>Sphaerias blanfordi</i> (Thomas, 1891) the rare species and genus first found in Vietnam.	17-20
4. NGUYEN TRI TIEN : Six new species of Collembola (<i>Entomobryidae</i>) from Vietnam.	21-29
5. NGUYEN QUANG TRUONG, et al. : The new data of <i>Rana chapaensis</i> (Bourret, 1937) species.	30-32
6. MAI TRUONG, et al. : Study on Regeneration and Genetic Transformation of Mung bean (<i>Vigna radiata</i> L.). Part I: Regeneration of Mung bean through <i>in vitro</i> culture of cytoledonary stalk.	33-35
7. NGUYEN THI KIM CUC : CMCase activity of some cellulose degrading micro-organism strains.	36-40
8. DAU HUNG ANH, et al. : Construction of <i>vectors</i> for the induced expression of the Fab fragment of the antibody against 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid in <i>E.coli</i> .	41-48
9. PHAM CONG HOAT, et al. : Immunity the effective of Vietnamese gumboro vaccine follow on the time.	49-53
10. CHU HOANG MAU, et al. : Assessmetn of productivity, quality and competence to stand of drought-resistant of some mungbean (<i>Vigna radiata</i> (L.) Willzeck) Mutant lines.	54-60
11. L. VÁRNAGY, et al. : Influence on the Fusalade S and Maloran 50 WP herbicides on the chicken embryo.	61-67

TRUNG TÂM KHOA HỌC TỰ NHIÊN VÀ CÔNG NGHỆ QUỐC GIA
TẠP CHÍ SINH HỌC
TẬP 23 - SỐ 1
3 - 2001

MỤC LỤC

	Trang
1. NGUYỄN HỮU DINH. HUỲNH QUANG NĂNG	: Năm loài mới thuộc chi rong mơ - <i>Sargassum</i> ở ven biển Việt Nam. 1-10
2. LÊ VŨ KHÔI và cộng sự	: Tính đa dạng của khu hệ dơi vườn quốc gia Cúc Phương. 11-16
3. VŨ ĐÌNH THỐNG và cộng sự	: Loài dơi quả núi cao - <i>Sphaerias blanfordi</i> (Thomas 1891) phát hiện được ở Việt Nam. 17-20
4. NGUYỄN TRÍ TIẾN	: Sáu loài Collembola mới thuộc họ Entomobryidae được phát hiện ở Việt Nam. 21-29
5. NGUYỄN QUANG TRƯỜNG và cộng sự	: Những dân liệu mới về <i>Rana chapaensis</i> - loài chàng Sa Pa (Bourret, 1937). 30-32
6. MAI TRƯỜNG và cộng sự	: Nghiên cứu hệ thống tái sinh và chuyển gen ở cây đậu xanh (<i>Vigna radiata</i> L.) Phần I: Hệ thống tái sinh cây đậu xanh từ cuống từ điệp nuôi cây <i>in vitro</i> . 33-35
7. NGUYỄN THỊ KIM CÚC	: Đánh giá hoạt tính CMCaza của một số chủng vi sinh vật Phân hủy xenlulo. 36-40
8. ĐÀU HÙNG ANH và cộng sự	: Thiết kế vector biểu hiện bằng cảm ứng đoạn Fab của kháng thể 2,4-dichlorophenoxyacetic axit ở <i>E.Coli</i> . 41-48
9. PHẠM CÔNG HOẠT và cộng sự	: Độ dài miễn dịch của vacxin gumboro vô hoạt nhũ dầu Việt Nam. 49-53
10. CHU HOÀNG MẬU và cộng sự	: Đánh giá năng suất, chất lượng hạt và khả năng chịu hạn của các dòng đậu xanh đột biến <i>Vigna Radiata</i> (L. Willzeck. 54-60
11. L. VÁRNAGY và cộng sự	: Ảnh hưởng của thuốc diệt cỏ fusilade S và moloran 50 WP lên phối gà. 61-67