

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 22 - SỐ 3

THÁNG 9-2000

HÀ NỘI

36 CW 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, 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 SƯỜNG, ĐẶNG NGỌC THANH,
ĐƯƠNG ĐỨC TIẾN, LÊ XUÂN TÚ, NGUYỄN VĂN UYÊN

Thư ký tòa soạn : Trần Ngọc Trấn

VỀ 9 LOÀI TUYẾN TRỪNG ĂN THỊT LẦN ĐẦU TIÊN ĐƯỢC PHÁT HIỆN Ở VIỆT NAM (NEMATODA: MONONCHIDA)

NGUYỄN VŨ THANH

Viện Sinh Thái và Tài nguyên sinh vật

Tuyến trùng ăn thịt bao gồm toàn bộ các loài trong bộ Mononchida [1, 4, 9, 10, 12, 13], một ít loài thuộc các bộ Aphelenchida, Rhabditida, Enoplida và Dorylaimida [10, 12, 13]. Từ thập niên 70 một số nước trên thế giới đã sử dụng chúng như một tác nhân sinh học quan trọng trong quá trình làm giảm mật độ tuyến trùng ký sinh trên một số cây trồng [9, 10]. Trong phạm vi bài báo, tác giả trình bày các kết quả nghiên cứu ban đầu về thành phần tuyến trùng ăn thịt thuộc bộ Mononchida ở Việt Nam. Tiêu bản tuyến trùng được đánh số, bảo quản và lưu giữ tại Phòng tuyến trùng học, Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật thuộc Trung tâm Khoa học tự nhiên và Công nghệ quốc gia.

Mononchus aquaticus Coetzee, 1968

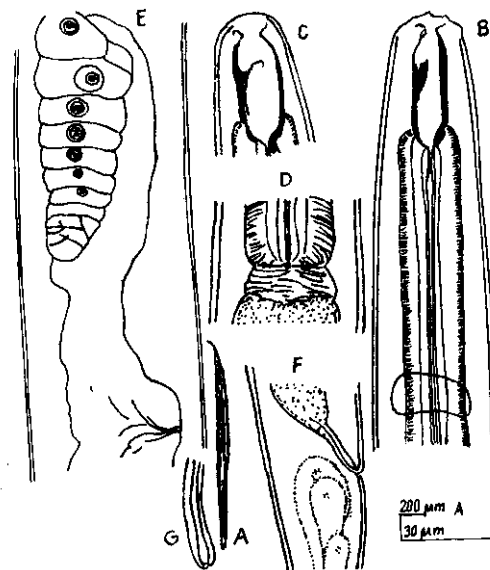
(Hình 1, A-G)

Mẫu vật và số đo: ♀: (n = 2): L = 1,80-1,84 (1,82) mm; thực quản = 400-425 (412,2) µm; rộng thân = 59,4-69 (64) µm; chiều cao đầu = 6,3-7,2 (6,75) µm; rộng đầu = 22,5-23,4 (22,95) µm; L xoang miệng = 36-40 µm; rộng xoang miệng = 9-11,7 µm; L đuôi = 177-202 (192) µm; a = 26,7-30,3 (28,5); b = 4,1-4,3 (4,2); c = 8,9-10,1 (9,5); c' = 5,0-6,09 (5,5); V = 53-55 (54%); amphid cách đầu 6,3-16,2 µm; rộng 4-4,5 µm.

Mô tả:

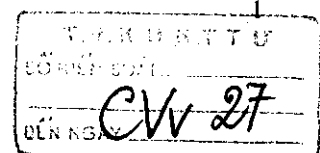
♀: Cơ thể thẳng sau định hình. Vùng môi rộng 22,5-23,4 µm, cao 63,72 µ; Lỗ amphid rộng 4-4,5 µm, nằm cách đỉnh đầu khoảng cách 6,3-16,2 µm và cách đáy miệng khoảng 27-38 µm. Xoang miệng dài 36-40 µm; rộng 9-

11,7 µm với răng bên lưng có kích thước trung bình, nằm về nửa phía trước của xoang miệng, đỉnh răng hướng về phía trước và ở cách đáy xoang miệng 24,3-29,7 µm hoặc chiếm 70-73% chiều dài xoang miệng tính từ đáy. Vách xoang miệng bên bụng không có răng nhỏ. Vòng thần kinh cách đỉnh đầu 126-140 µm. Lỗ bài tiết quan sát thấy. Hệ sinh dục kép với hai nhánh buồng trứng trải về phía trước và phía sau. Cơ thất có ở ranh giới tiếp giáp giữa tử cung với ống dẫn trứng. Đuôi dài hình chóp có chiều dài 177-202 µm, hoặc bằng 5,0-6,1 chiều rộng cơ thể tại hậu môn với mút đuôi tròn tù. Tuyến đôi rất phát triển, ống nhả (Spinneret) nằm ở chính giữa đuôi.



Hình 1. *Mononchus aquaticus* (A-G). ♀. A. Toàn bộ cơ thể; B. C. Phần đầu cơ thể; D. Đoạn nối thực quản với ruột; E. Hệ sinh dục; F. Tuyến đuôi; G. Cấu tạo ống nhả và mút đuôi (Nguyễn Vũ Thanh, 1999).

Công trình được hoàn thành với sự hỗ trợ về kinh phí của Chương trình nghiên cứu cơ bản.



♂: Không phát hiện thấy.

Cây chủ: Đất quanh rễ cây chuối (*Musa paradisiaca* var. *sapientum*).

Nơi phát hiện: Bạch Mã (Thừa Thiên-Huế).

***Mylonchulus amurus* Khan & Jairajpuri, 1979**

(Hình 2, A-K)

Mẫu vật và số đo: ♀: (n = 10): L = 0,89-1,01 ($0,93 \pm 0,05$) mm; thực quản = 250-312 ($276,3 \pm 24,5$) μ m; rộng thân = 32,41,4 ($37,2 \pm 3,8$) μ m; chiều cao đầu = 7,2-9 ($8,0 \pm 0,7$) μ m; rộng đầu = 18-19,8 ($18,8 \pm 0,7$) μ m; L xoang miệng = 15,3-23,4 μ m; rộng xoang miệng = 4,5-10,8 μ m; L đuôi = 30,6-36,9 ($33,4 \pm 2,4$) μ m; a = 22,6-26,9 ($24,8 \pm 1,7$); b = 3,2-3,6 ($3,4 \pm 0,1$); c = 25,9-30 ($27,9 \pm 1,6$); c' = 1,36-1,52 ($1,4 \pm 0,1$); V = 55-58 ($56,8 \pm 1,3$)%; amphid cách đầu 10-10,8 μ m; rộng 3,1-4 μ m.

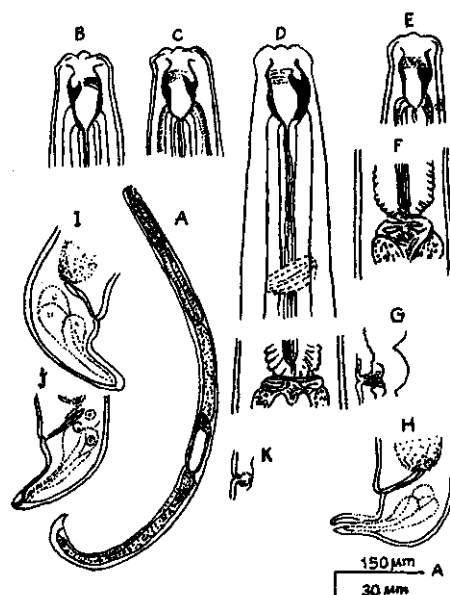
Mô tả:

♀: Cơ thể thường cong về phía bụng. Vùng môi rộng 18-19,8 μ m; cao 7,2-9 μ m; Lỗ amphid rộng 3-4 μ m, cách đỉnh đầu 10-10,8 μ m và cách đáy miệng khoảng 18 μ m. Xoang miệng dài 15,3-23,4 μ m; rộng 4,5-10,8 μ m với răng bên lưng có kích thước trung bình, đỉnh răng dài 15,1-17,1 μ m hoặc bằng 74-79% chiều dài khoang miệng tính từ đáy. Vách xoang miệng bên bụng có 5 hàm răng nhỏ xếp ngang. Răng giữa xoang miệng không có. Vòng thần kinh nằm cách đỉnh đầu 78-85 μ m hoặc chiếm 27-31% tổng chiều dài của thực quản. Lỗ bài tiết không quan sát thấy. Hệ sinh dục với hai nhánh buồng trứng. Cơ thất không có, trứng ở tử cung có kích thước $81,2-92,7 \times 22,5-26,1$ μ m. Đuôi hình chóp có chiều dài 30,6-36,9 ($33,4 \pm 2,4$) μ m, hoặc bằng 1,3-1,5 chiều rộng cơ thể tại hậu môn, cong từ phía lưng gập về phía bụng với mút đuôi tròn tù. Tuyến đuôi dạng nhóm, rất phát triển, ống nhả (Spinneret) nằm ở chính giữa đuôi.

♂: Không phát hiện thấy.

Cây chủ: Đất quanh rễ cây rừng, cây dong riềng (*Queensland arrowroot*), cây đỗ xanh (*mung bean*), cây lạc (*Arachis hypogaea*), cây chuối (*Musa paradisiaca* var. *sapientum*).

Nơi phát hiện: Thọ Xuân (Thanh Hóa), Nghi Lộc (Nghệ An), Bạch Mã (Thừa Thiên-Huế), Nam Cát Tiên (Đồng Nai) và Ba Vì (Hà Tây).



Hình 2. *Mylonchulus amurus* (A-K). ♀. A. Toàn bộ cơ thể; B-E. Phần đầu cơ thể và thực quản; F. Đoạn nối thực quản với ruột; G. Hệ sinh dục; H-J. Đuôi và ống nhả; K. Lỗ âm đạo (Nguyễn Vũ Thanh, 1999)

***Mylonchulus lacustris* (Cobb, 1915)
Andrassy, 1958**

(Hình 3, A-I)

Mẫu vật và số đo: ♀: (n = 10): L = 1,04-1,22 ($1,12 \pm 0,06$) mm; thực quản = 297-329 ($315 \pm 10,7$) μ m; rộng thân = 45,1-51,8 ($48,1 \pm 2,8$) μ m; Chiều cao đầu = 8,1-10,8 ($9,7 \pm 1,0$) μ m; rộng đầu = 24,3-26,3 ($25,4 \pm 0,8$) μ m; L xoang miệng = 18-28 μ m; rộng xoang miệng = 6,3-12,6 μ m; L đuôi = 38,7-49,5 ($44,3 \pm 4,4$) μ m; a = 21,1-26,2 ($23,3 \pm 1,8$); b = 3,3-3,8 ($3,5 \pm 0,2$); c = 22,9-30,4 ($25,6 \pm 2,5$); c' = 1,4-1,72 ($1,6 \pm 0,1$); V = 53-60 ($57,3 \pm 2,3$)%; amphid cách đầu 10,8 = 11,7 μ m; rộng = 3,4-3,8 μ m.

Mô tả:

♀: Cơ thể thường cong về phía bụng. Vùng môi rộng 24,3-26,3 μm , cao 8,1-10,8 μm . Lỗ amphid rộng 3,4-3,8 μm , cách đỉnh đầu khoảng 10,8-11,7 μm và cách đáy miệng khoảng 18,9-22,5 μm . Xoang miệng dài 18-27 μm ; rộng 6,3-12,6 μm với răng bên lưng to khỏe, đỉnh răng có chiều dài 18,9-20,7 μm hoặc đạt 72,4-76% chiều dài khoang miệng tính từ đáy. Vách xoang miệng phía bên hông-bụng có 7 hàng răng nhỏ xếp ngang. Răng giữa xoang miệng khá phát triển. Vòng thân kinh nằm cách đỉnh đầu 91,5-153 μm chiếm khoảng 30-46,5% tổng chiều dài của thực quản. Hệ sinh dục kép với hai nhánh buồng trứng; nhánh trước có chiều dài 76-117 μm , nhánh sau dài 99,2-126,3 μm . Cơ thắt không phát hiện thấy, trứng ở tử cung có kích thước 81-86 $\times$ 29-36 μm . Đuôi hình chóp có chiều dài 38,7-49,5 μm , hoặc bằng 1,4-1,7 chiều rộng cơ thể tại hậu môn, cong từ lưng về phía bụng với mút đuôi tròn tù. Tuyến đuôi phát triển, dạng nối tiếp, ống nhả nằm ở chính giữa đuôi.

♂: Không phát hiện thấy.

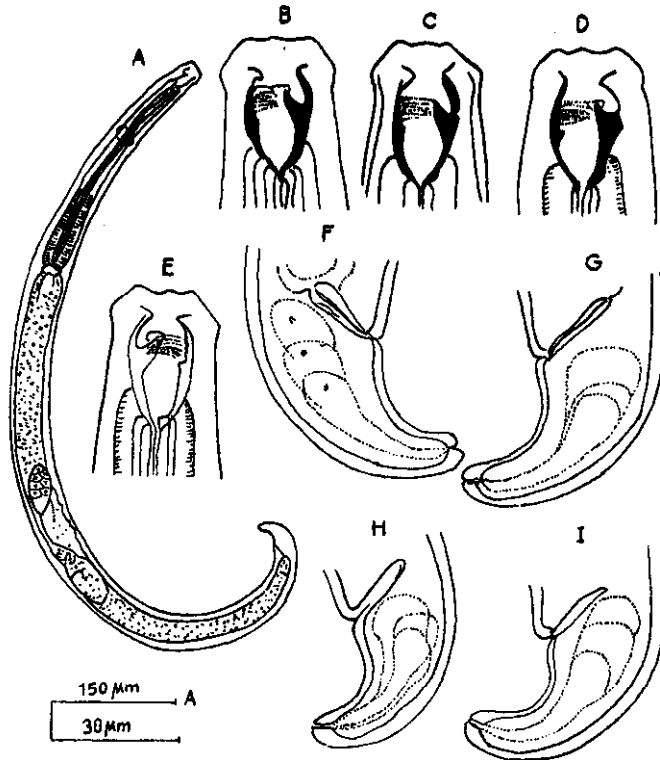
Cây chủ: Đất quanh rễ cây rừng, chuối tiêu (*Musa paradisaca* var. *sapientum*), chuối rừng (*Musa* sp.), lạc (*Arachis hypogaea*), cam ngọt (*Citrus chinensis*).

Nơi phát hiện: Cao Phong (Hòa Bình), Nam Đàn (Nghệ An), Bạch Mã (Thừa Thiên-Huế), Nam Cát Tiên (Đồng Nai) và Hà Giang.

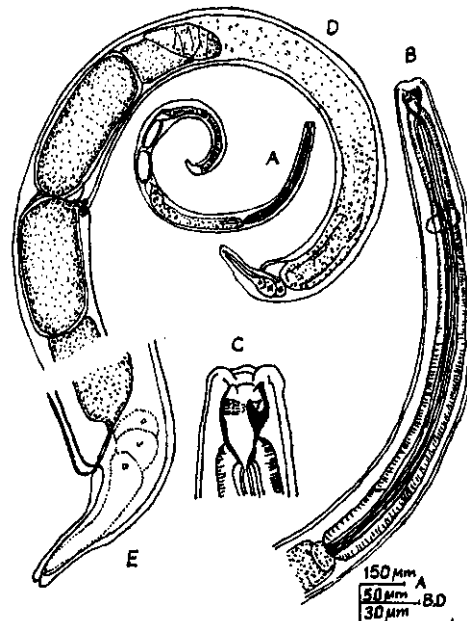
***Mylonchulus sigmaturus* (Cobb, 1917) Altherr, 1953**

(Hình 4, A-E)

Mẫu vật và số đo: ♀: (n = 10): L = 1,19-1,42 (1,34 $\pm$ 0,01) mm; thực quản = 382-416 (399 $\pm$ 17) μm ; rộng



Hình 3. *Mylonchulus lacustris* (A-I). ♀. A. Toàn bộ cơ thể; B-E. Phần đầu cơ thể; F-I. Các dạng đuôi và ống nhả (Nguyễn Vũ Thanh, 1999)



Hình 4. *Mylonchulus sigmaturus* (A-E). ♀. A. Toàn bộ cơ thể; B-C. Phần đầu cơ thể và thực quản; D. Cấu tạo hệ sinh dục; E. Các dạng đuôi và ống nhả (Nguyễn Vũ Thanh, 1999)

thân = 45,9-57,1 ($51,51 \pm 5,6$) μm ; chiều cao đầu 8,1-10,3 ($9,2 \pm 1,1$) μm ; rộng đầu = 24,3-25,2 ($24,7 \pm 0,4$) μm ; L xoang miệng = 18-27 μm ; Rộng xoang miệng = 7,2-12,6 μm ; L đuôi = 44-47,7 ($45,8 \pm 1,9$) μm ; a = 25,4-26,2 ($25,8 \pm 0,4$); b = 3-3,6 ($3,3 \pm 0,3$); c = 26,5-31,4 ($28,9 \pm 2,5$); c' = 1,3-1,65 ($1,45 \pm 0,1$); V = 60,7-65,2 ($62,9 \pm 2,3$)%; amphid cách đầu 11 = 11,5 μm ; Rộng = 4,5-5,0 μm .

Mô tả:

♀: Cơ thể thường có hình chữ C hoặc số 6. Vùng môi không tách biệt với đường viền cơ thể, rộng 24,3-25,2 μm , cao 8,1-10,3 μm . Lỗ amphid rộng 4,6-5,0 μm , nằm cách đỉnh đầu khoảng cách 11, -11,5 μm và cách đáy miệng khoảng 10-20 μm . Xoang miệng dài 18-27 μm ; rộng 7,2-12,6 μm , răng lưng có kích thước trung bình, thường ở phần nửa trên của xoang miệng; đỉnh cách răng có chiều dài 18-20,7 μm hoặc đạt 70-74% chiều dài xoang miệng tính từ đáy. Vách xoang miệng phía bụng có 5-6 hàng răng nhỏ xếp ngang. Răng giữa xoang miệng phát triển. Vòng thần kinh nằm đỉnh đầu 99-117 μm . Hệ sinh dục kép với hai nhánh buồng trứng cân đối trải về phía trước và phía sau. Cơ thắt không phát hiện thấy, trứng ở tử cung có kích thước 108-126 $\times$ 46-48,3 μm . Đuôi hình chóp với müt đuôi tròn tù cong từ phía lưng có chiều dài 44-47,7 μm , hoặc bằng 1,3-1,65 chiều rộng cơ thể tại hậu môn. Tuyến đuôi phát triển dạng nổi tiếp, ống nhả nằm ở chính giữa đuôi.

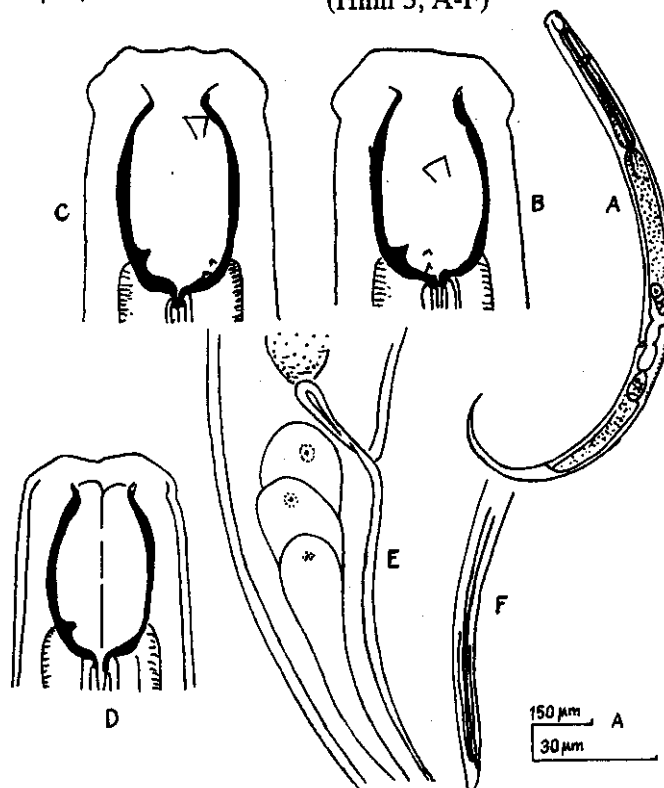
♂: Kích thước 1,11 mm, có cấu tạo về hình thái tương tự như con cái trừ cơ quan sinh dục. Gai sinh dục cong hình lưới kiếm, dài 40,5 μm , trợ gai nhỏ, mảnh và thẳng, dài 6,3 μm .

Cây chủ: Đất quanh rễ cây mận (*Prunus triphlora*)

Nơi phát hiện: Sa Pa (Lào Cai).

Iotonchus thailandensis Buangsuwon & Jensen, 1966

(Hình 5, A-F)



Hình 5. *Iotonchulus thailandensis*. (A-F). ♀. A. Toàn bộ cơ thể; B-D. Phần đầu cơ thể và thực quản; E. Cấu tạo tuyến đuôi; F. Müt đuôi (Nguyễn Vũ Thanh, 1999)

Mẫu vật và số đo: ♀: (n = 7): L = 1,47-1,75 ($1,6 \pm 0,1$) mm; thực quản = 360-386,6 ($376,5 \pm 9,8$) μm ; rộng thân = 53,4-69,9 ($65,2 \pm 5,9$) μm ; chiều cao đầu = 15,4-17,1 ($16,2 \pm 0,6$) μm ; rộng đầu = 40,5-45 ($43,1 \pm 1,7$) μm ; L xoang miệng = 44,1-50,6 ($47,1 \pm 2,2$); rộng xoang miệng = 23,9-25,8 ($24,8 \pm 0,6$) μm ; L đuôi = 286,8-342 ($316,1 \pm 23,4$) μm ; a = 22,7-27,5 ($24,9 \pm 1,8$); b = 4,0-4,5 ($4,3 \pm 0,2$); c = 4,8-5,4 ($5,1 \pm 0,2$); c' = 7,6-9 ($8,5 \pm 0,6$); V = 53,6-58,5 ($56 \pm 1,7$)%; amphid cách đầu 15,6 = 23,9 μm ; rộng = 5,3-6,4 ($5,9 \pm 0,5$) μm .

Mô tả:

♀: Cơ thể có hình chữ C mở hoặc cong về phía bụng phần phía sau cơ thể sau vulva. Vùng môi rộng 40,5-45 μm , cao đầu 15,4-17,1 μm , hơi tách biệt với đường viền cơ thể bằng vòng thắt ở

cổ. Lỗ amphid rộng 5,3-6,4 μm , nằm cách đỉnh đầu khoảng cách 15,6-23,9 μm và cách đáy miệng khoảng 25,7-41,4 μm . Xoang miệng dài 44,1-50,6 μm ; rộng 23,9-25,8 μm , răng lưng có kích thước nhỏ, nằm ở đáy của xoang miệng, đỉnh răng cách đáy 8,3-11 μm . Vòng thần kinh nằm cách đỉnh đầu 138-148 μm . Hệ sinh dục kép với hai nhánh buồng trứng một phía trước và một phía sau. Cơ thắt không thấy ở ranh giới tiếp giáp giữa tử cung với ống dẫn trứng. Đuôi dài hình chóp với nút đuôi tù có chiều dài 228-343 μm , hoặc bằng 7,6-9 chiều rộng cơ thể tại hậu môn. Tuyến đôi kém phát triển, ống nhỏ nằm ở phía bên bụng của nút đuôi.

Con đực: Không phát hiện thấy.

Cây chủ: Đất quanh rễ cây cam ngọt (*Citrus chinensis*).

Nơi phát hiện: Cao Phong (Hòa Bình).

***Iotonchus longicaudatus* Baqri,
Baqri & Jairajpuri, 1978**

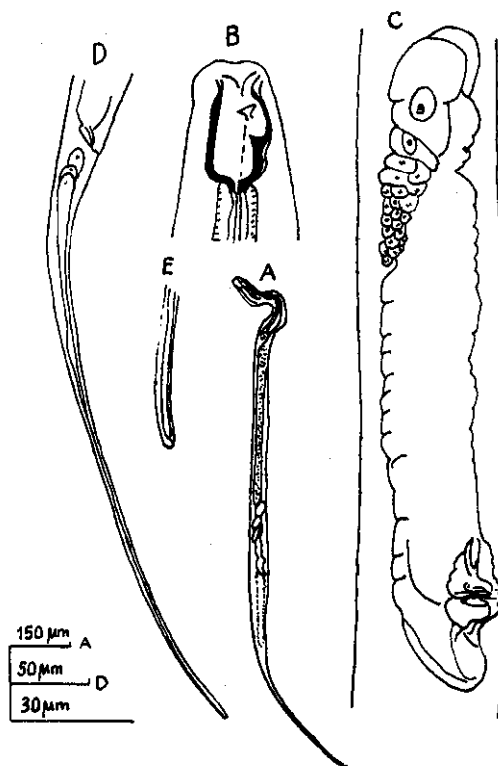
(Hình 6, A-E)

Mẫu vật và số đo: ♀ (n = 1): L = 1,34 mm; thực quản = 243 μm ; rộng thân = 35,1 μm ; chiều cao đầu = 9,0 μm ; rộng đầu = 19,8 μm ; L xoang miệng = 11-22,5 μm ; rộng xoang miệng = 9-13,5 μm ; L đuôi = 370 μm ; a = 38,3; b = 5,5; c = 3,6; c' = 15,3; V = 60%; amphid cách đầu 9,9 μm ; rộng 4 μm .

Mô tả:

♀: Có thể hơi cong về phía bụng. Vùng môi rộng 19,8 μm , không tách biệt với đường viền cơ thể cao 9,0 μm ; Lỗ amphid rộng 4 μm , nằm cách đỉnh đầu 9,9 μm và cách đáy miệng khoảng 18 μm . Xoang miệng dài 11-22,5 μm ; rộng 9-13,5 μm , răng lưng có kích thước trung bình, thường ở giữa hoặc lùi về nửa phân đầu của xoang miệng, đỉnh răng cách đáy 11 μm hoặc chiếm 49% chiều dài của xoang miệng tính từ đáy. Vòng thần kinh nằm cách đỉnh đầu 90 μm . Lỗ bài tiết không nhìn thấy. Hệ sinh dục

đơn với một nhánh buồng trứng phía trước dài 135 μm . Có cơ thắt. Đuôi dài dạng chỉ với nút đuôi tròn tù có chiều dài 370 μm , hoặc bằng



Hình 6. *Iotonchus longicaudatus*. (A-E). ♀. A. Toàn bộ cơ thể; B. Phần đầu cơ thể và thực quản; C. Cấu tạo hệ sinh dục; D. Cấu tạo đuôi và tuyến đuôi; E. Mút đuôi (Nguyễn Vũ Thanh, 1999)

15,3 chiều rộng cơ thể tại hậu môn. Tuyến đuôi nối tiếp, ống nhỏ nằm ở giữa của nút đuôi.

♂: Không phát hiện thấy.

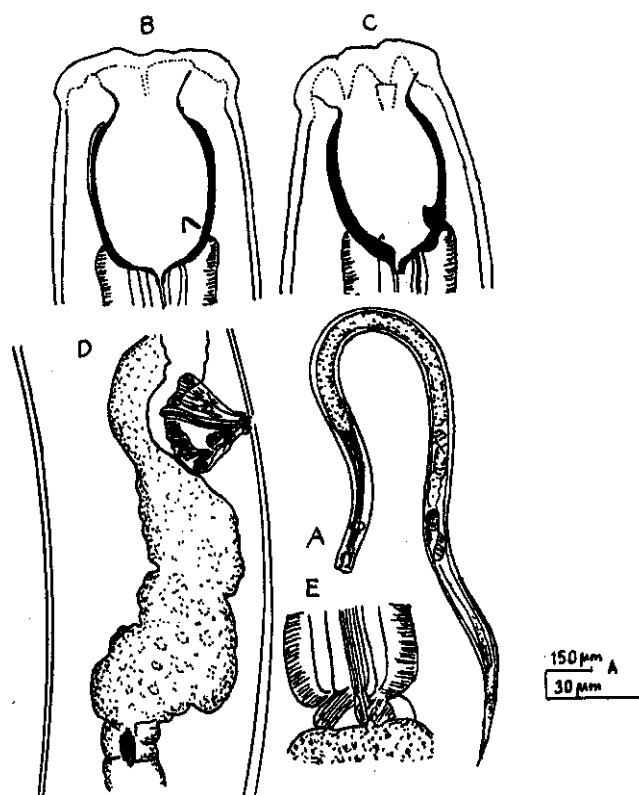
Cây chủ: Đất quanh rễ rừng (*Grass* sp.).

Nơi phát hiện: Vườn quốc gia Cát Tiên (Đồng Nai).

***Itonchus risocellae* (Carvalho, 1955)
Andrassy, 1958**

(Hình 7, A-E)

Mẫu vật và số đo: ♀ (n = 2): L = 2,13-2,35 (2,24±0,1) mm; thực quản = 405-444 (424±19,5) μm ; rộng thân = 65-66,6 (65,81±0,8) μm ; chiều cao đầu = 10,3-15,3 (12,8±2,5) μm ; rộng đầu = 45,9-54 (49,9±4,05) μm ; L xoang



Hình 7. *Iotonchus risoceiae* (A-E). ♀. A. Toàn bộ cơ thể; B-C. Phần đầu cơ thể; E. Đoạn nối thực quản với một; D. Cấu tạo hệ sinh dục (Nguyễn Vũ Thanh, 1999)

miệng = $37,8-54,0 \mu\text{m}$; rộng xoang miệng = $19,8-33,3 \mu\text{m}$; L đuôi = $248-249,8 (249,1 \pm 0,7) \mu\text{m}$; a = $31,9-36 (33,9 \pm 2,1)$; b = $5,2-5,3 (5,3 \pm 0,05)$; c = $8,5-9,4 (8,9 \pm 0,45)$; c' = $5,4-6,2 (5,8 \pm 0,4)$; V = $60,2-64 (62,1 \pm 1,9)\%$; amphid cách đầu $13,5-15,0 \mu\text{m}$; rộng $5,0-6,0 \mu\text{m}$.

Mô tả:

♀: Cơ thể thẳng hoặc cong không điển hình. Vùng môi rộng $45,9-54 \mu\text{m}$, tách biệt với đường viền cơ thể bằng vòng thắt ở cổ, vùng muối cao $10,3-15,3 \mu\text{m}$. Lỗ amphid rộng $5,0-6,0 \mu\text{m}$, nằm cách đỉnh đầu khoảng cách $13,5-15,0 \mu\text{m}$ và cách đáy miệng khoảng $39-49,5 \mu\text{m}$. Xoang miệng dài $38-54,0 \mu\text{m}$; rộng $20-33,3 \mu\text{m}$, răng lưng có kích thước trung bình hoặc nhỏ, thường nằm ở gần đáy của xoang miệng, đỉnh răng cách đáy $14-15,5 \mu\text{m}$. Vòng thần kinh nằm cách đỉnh

đầu $130,8-138,7 \mu\text{m}$. Lỗ bài tiết không nhìn thấy. Hệ sinh dục kép với hai nhánh buồng trứng một phía trước và một phía sau. Có cơ thắt. Đuôi dài hình chóp với mút đuôi tù có chiều dài $248,4-249,8 \mu\text{m}$, hoặc bằng $5,4-6,2$ chiều rộng cơ thể tại hậu môn. Tuyến đuôi thường phát triển, ống nhả nằm ở giữa mút đuôi.

Cây chủ: Đất quanh rễ cây phi lao (*Sequoja sempervirens*)

Nơi phát hiện: Thạch Khê (Hà Tĩnh)

Coomansus parvus (de Man, 1880)
Jairajpuri et Khan, 1977

(Hình 8, A-E)

Mẫu vật và số đo: ♀: (n = 1): L = $1,04 \text{ mm}$; thực quản = $312,8 \mu\text{m}$; rộng thân = $47,7 \mu\text{m}$; chiều cao đầu = $8,1 \mu\text{m}$; rộng đầu = $24,3 \mu\text{m}$; L

xoang miệng = 19-28,8 μm ; rộng xoang miệng = 9,4-9,9 μm ; L đuôi = 75,6 μm ; a = 21,8; b = 3,3; c = 13,8; c' = 3,3; V = 61%; amphid cách đầu 10 μm ; rộng 3 μm .

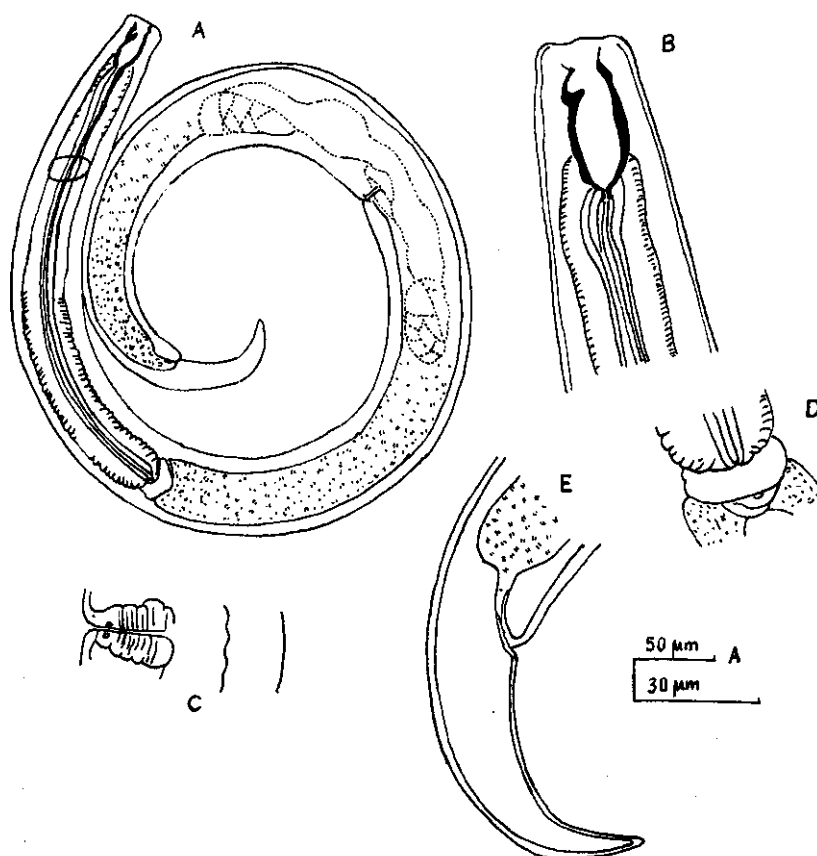
Mô tả:

Con cái: Cơ thể có hình xoắn ốc. Vùng môi rộng 24,3 μm , cao 8,1 μm và không tách biệt với đường viền cơ thể. Lỗ amphid rộng 3,0 μm , cách đỉnh đầu khoảng 10 μm và cách đáy miệng khoảng 23 μm . Xoang miệng dài 19-28,8 μm ; rộng 9,4-9,9 μm , răng lưng có kích thước nhỏ, thường ở giữa hoặc phần đầu của xoang miệng,

đỉnh răng cách đáy 20 μm hoặc chiếm 69% chiều dài của xoang miệng tính từ đáy. Thành xoang miệng phía bên bụng không có các răng nhỏ. Vòng thần kinh nằm cách đỉnh đầu 103,5 μm . Hệ sinh dục kép với hai nhánh buồng trứng một phía trước và một phía sau. Không có cơ thắt. Đuôi hình chóp cong về bên bụng với müt đuôi tù có chiều dài 75,6 μm , hoặc bằng 3,3 chiều rộng cơ thể tại hậu môn. Tuyến đuôi không phát triển, ống nhả không quan sát thấy.

Cây chủ: Đất quanh rễ cây pơmu (*Pinus* sp.)

Nơi phát hiện: Sa Pa (Lào Cai).



Hình 8. *Coomansus parvus* (A-E). ♀. A. Toàn bộ cơ thể; B. Phần đầu cơ thể và thực quản; C. Cấu tạo hệ sinh dục; D. Cấu tạo đuôi và thực quản; E. Mút đuôi (Nguyễn Vũ Thanh, 1999)

***Parahadronchus shakili* (Jairajpuri, 1969) Mulvey, 1978**

(Hình 9, A-G)

Mẫu vật và số đo: ♀: (n = 3): L = 2,18-2,31 (2,24±0,06) mm; thực quản = 455-538,2 (504±39,2) μm ; rộng thân = 55,8-62,1 (58±3,1) μm ; chiều cao đầu = 13,1-17,1 (15±1,8) μm ;

rộng đầu = 37,8-44,1 ($41 \pm 2,9$) μm ; L xoang miệng = 47,7-55,8 μm ; rộng xoang miệng = 20-30 μm ; L đuôi = 460-552 ($501 \pm 42,2$) μm ; a = 35,2-41,2 ($38 \pm 2,7$); b = 4,1-4,8 ($4,4 \pm 0,1$); c = 3,9-5,0 ($4,0 \pm 0,5$); c' = 14,3-17,1 ($16 \pm 1,3$); V = 54-61 ($57 \pm 3,2$)%; amphid cách đầu 16,2-18,9 μm ; rộng 5,4-7,2 μm .

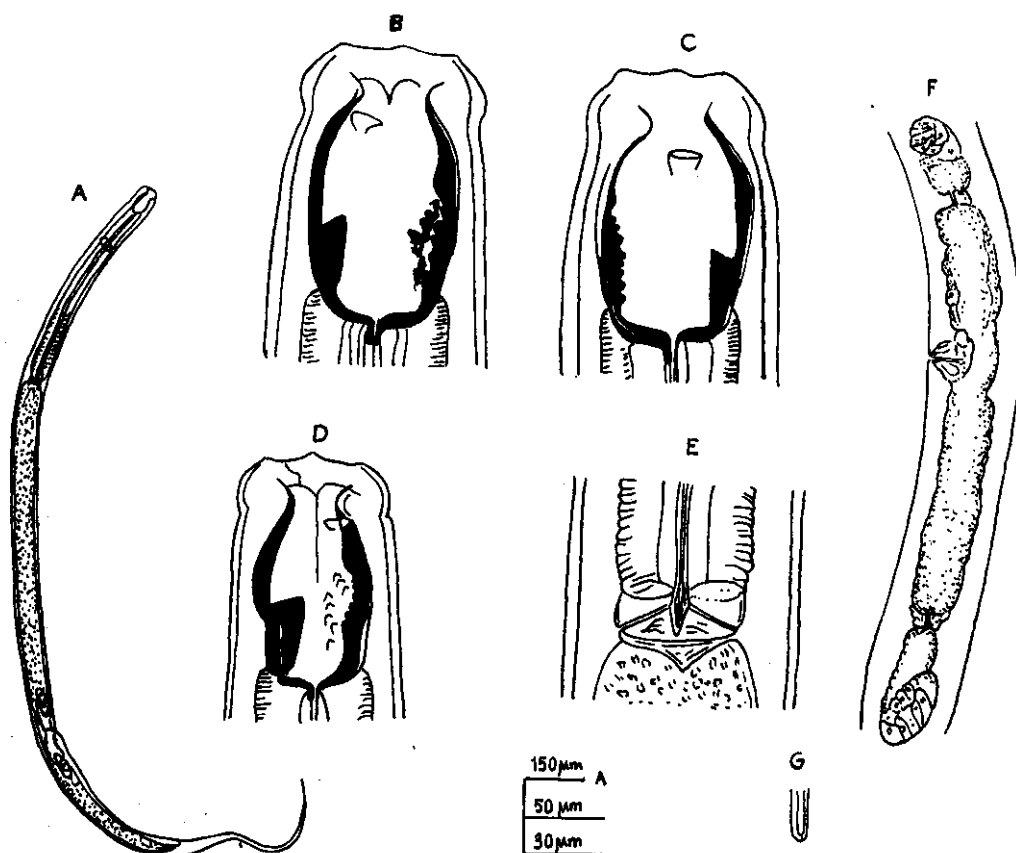
Mô tả:

♀: Cơ thể sau xử lý nhiệt thường cong hình chữ C. Vùng môi rộng 37,8-44,1 μm tương đối tách biệt với đường viền cơ thể bằng vòng thắt ở cổ, vùng môi cao 13,1-17,1 μm . Lỗ amphid rộng 5,4-7,2 μm , nằm cách đỉnh đầu khoảng 116,2-18,9 μm và cách đáy khoang miệng khoảng 42-47 μm . Xoang miệng dài

47,7-55,8 μm ; rộng 20-30 μm . Răng lưng có kích thước lớn, thường nằm ở đáy của xoang miệng, đỉnh răng cách đáy 19,8-22,5 μm hoặc chiếm 37-44% chiều dài xoang miệng. Thành xoang miệng phía bên bụng có 6 răng nhỏ. Vòng thần kinh nằm cách đỉnh đầu 130,8-138,7 μm . Hệ sinh dục kép với hai nhánh buồng trứng một phía trước có chiều dài 184-237 μm và một phía sau với chiều dài 149-165 μm . Cơ thắt phát triển và quan sát rất rõ. Nhú âm đạo nằm trước và sau âm hộ. Đuôi dài hình chóp với mút đuôi tù tròn, dài 460-552 μm , hoặc bằng 14,3-17,1 lần chiều rộng cơ thể tại hậu môn. Tuyến đôi rất phát triển, ống nhả nằm ở giữa mút đuôi.

Cây chủ: Đất quanh rễ cây rừng (*Grass* sp.).

Nơi phát hiện: Vườn quốc gia Cát Tiên (Đồng Nai).



Hình 9. *Paraharonychus shakili*. (A-G). ♀. A. Toàn bộ cơ thể; B-D. Phần đầu cơ thể và thực quản; E. Đoạn nối thực quản với ruột; F. Cấu tạo hệ sinh dục; G. Mút đuôi (Nguyễn Vũ Thanh, 1999)

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Andrassy I.**, 1958: Uber das System der Mononchiden (Mononchidae Chitwood, 1937 Nematoda). Ann. Hist. Nat. Mus. Nat. Hungar., 50: 151-171.
2. **Coetzee V.**, 1967a: Species of the genus *Mylonchulus* (Nematoda: Mononchidae) Occuring in Southern Africa. *Nematologica* 12: 557-5567.
3. **Coetzee V.**, 1967b: Species of the genus *Mylonchulus* (Nematoda: Mononchidae) Occuring in Sourthern Africa. *Nematologica* 13: 367-377.
4. **Coetzee V.**, 1968: Southern African species of the genera *Mononchus* and *Princhulus* (Mononchidae). *Mematologica* 14: 63-76.
5. **Esser R. P.**, and **F. Donaldson**, 1963: Methods of extracting nematodes from various Substrates. Florida Department of Agriculture, Division of Plant Industry, Gaine Sville, USA Technical Report N-47, 12pp.
6. **Eroshenko A. S.**, 1972: New species of carnivorous nematodes (Mononchida) in Primorsk Territory. *Zool. Zh.*, 51: 13-20.
7. **Jairajpury M. S.**, 1969: Studies on Mononchida of India. I. The genera *Hadronchus*, *Iotonchus*, *Miconchus* and a revised classification of Mononchidae, New order. *Nematologica*, 15: 557-581.
8. **Jairajpury M. S.**, 1970b: Studies on Mononchida of India. III. The genera *Mylonchulus* (Family Mylonchulidae Jairajpury, 1969). *Nematologica* 16: 434-456.
9. **Jairajpury M. S.** and **Khan W. U.**, 1981: Predatory nematodes (Mononchida) with special reference to India. *Associated Publishing company* New Delhi.
10. **Jairajpury M. S.** and **Ahmad Wasim.**, 1992: Free-living, Predaceous and Plant-parasitic Nematodes. Oxford and IBH Publishing Co. Pvt. Ltd. New Delhi.
11. **Khan W. U.** and **Jairajpury M. S.**, 1979: Study on Mononchida of India. XII. The genus *Iotonchus* (Cobb, 1916) Altherr, 1950 with a key to the species. *Nematologica* 26: 1-9.
12. **Kirjanova E. S.** & **Krall E. L.**, 1969: Plant parasitic nematodes and their control (Russian). Vol. 1, Publ., House "Nauka" Leningrad. 447 pp.
13. **Mulvey R. H.**, 1973: Nematodes of the family Mononchidae (Dorylaimida: Mononchoidea) from Sable Island, Canada. *Can. J. Zool.*, 51: 237-242.

NINE PREDATORY NEMATODES (MONONCHIDAE: NEMATODA) RECORDED THE FRIST TIME FROM VIETNAM

NGUYEN VU THANH

SUMMARY

Soil samples collected from some tropical forests in Vietnam during the last 1997-1998 year. Nine known species Monochids which are: *Mononchus aquaticus* Coetzee, 1968, *Mylonchulus amurus* Khan & Jairapuzu, 1979, *Mylonchulus lacustris* (Cobb, 1915) Andrassy, 1958, *Mylonchulus sigmaturus* (Cobb, 1917) Altherr, 1953, *Iotonchus thailandensis* Buangsuwon & Jensen, 1966, *Iotonchus risoceiae* (Carvalho, 1955) Andrassy, 1958, *Iotonchus longicaudatus* Baqri et al., 1978, *Parahadronchus shakili* (Jairaipuri, 1969), Mulvey, 1978 and *Coomansus parvus* (Deman, 1880) Jairajpuri et al., 1977 were recorded and described as the new ones for the nematode fauna of Vietnam.

The *Mononchus aquaticus* Coetzee, 1968 has lip region wide, high. Amphidia apertures 4.0-4.5 μm wide, located at 6.3-16.2 μm from anteroir end of body and 27-37.8 μm from base of buccal

cavity. Buccal cavity 36-40 μm long, 9-11.7 μm wide. Dorsal tooth of medium size, in anterior half of buccal cavity, its apex 24.3-29.7 μm or 70-73% the length of buccal cavity from base. Subventral wall without any denticles. Reproductive system amphidelphic. Tail elongate conoid, rounded at tip, 177-107 μm or 5-6 anal body widths long. Caudal glands well developed, terminal opening terminus.

The *Mylonchulus amurus* Khan & Jairajpuri, 1979 has lip region 18-19.8 μm wide, 7.2-9 μm high. Amphilida apertures 3.1-4.0 μm wide, located at 10-11 μm from anterior end of body and about 18 μm from base of buccal cavity. Buccal cavity 14.4-21.6 μm long, 4.5-10.8 μm wide. Dorsal tooth of medium size, its apex 15.1-17.1 μm or 74-79% of the length of buccal cavity from base. Subventral wall with 5 transverse rows of denticles. Submedian teeth absent. Excretory system not observed. Reproductive system amphidelphic. Spineter not present at oviduct-uterus junction. Tail conoid with round terminus, 30.6-37 μm or 1.3-1.5 anal body widths long. Caudal glands well developed, grouped, spinneret terminal. Male: Not found.

The *Mylonchulus lacustris* (Cobb, 1915), Andrassy, 1958 has lip region 24.3-26.3 μm wide, 8.1-10.8 μm high. Amphids 3.4-3.8 μm wide, located at 10.7-11.4 μm from anterior end of body and 18.9-22.5 μm from base of buccal cavity. Buccal cavity 18-27 μm long, 6.6-12.6 μm wide. Dorsal tooth massive, its apex 18.9-20.7 μm or 72.4-76% of the length of buccal cavity from base. Subventral walls with 7 transverse rows of denticles. Submedian teeth well developed. Excretory system not observed. Reproductive system amphidelphic. Spineter not present at oviduct-uterus junction. Tail conoid with round terminus, 38.7-49.5 μm or 1.4-1.7 anal body widths long. Caudal glands tandem spinneret terminal.

Male: Not found.

The *Mylonchulus sigmaturus* (Cobb, 1917) Altherr, 1953 has lip region 24.3-25.2 μm wide, 8.1-10.3 μm high. Amphids 4.6-5.0 μm wide, located at 11-11.5 μm from anterior end of body and 18-20 μm from base of buccal cavity. Buccal cavity 18-27 μm long, 7.2-12.6 μm wide. Dorsal tooth of medium size, situated in anterior half of buccal cavity, its apex at 18.9-20.7 μm or 70-74% of the length of buccal cavity from base. Subventral walls with 5-6 transverse rows of denticles. Submedian teeth present. Excretory system not observed. Reproductive system amphidelphic. Spineter not present at oviduct-uterus junction. Tail conoid with round terminus, 44-47.8 μm or 1.3-1.65 anal body widths long. Caudal glands tandem, spinneret terminal. Male: L = 1.12 mm; spicules = 40.5 μm ; gubernaculum = 6.3 μm .

The *Iotonchus thailandensis* Buangsuwon & Jensen, 1966 with following measurements: lip region 40-45 μm wide, 15.4-17.1 μm high. Amphids 5.3-6.4 μm wide, located at 15.6-23.9 μm from anterior end of body and 25.7-41.4 μm from base of buccal cavity. Buccal cavity 44.1-50.6 μm long, 23.9-25.8 μm wide. Dorsal tooth small, situated in base of buccal cavity, its apex at 8.3-11 μm from base of buccal cavity. Excretory system not observed. Reproductive system amphidelphic. Spineter not present at oviduct-uterus junction. Tail elongate, conoid, tapering regularly, 286.8-342 μm or 7.6-9 anal body widths long. Caudal glands poorly developed, spinneret terminal. Male not found.

The *Iotonchus risoceiae* (Carvalho, 1955) Andrassy, 1958 with following measurements: lip region 45.9-54 μm wide, 10.3-15.3 μm high. Amphids 5.0-6.0 μm wide, located at 13.5-15.0 μm from anterior end of body and 13.5-15.0 μm from base of buccal cavity. Buccal cavity 37.8-54.0 μm long, 19.8-33.3 μm wide. Dorsal tooth small nearly basal, its apex at 14-15.5 μm from base of buccal cavity. Excretory system not observed. Reproductive system amphidelphic. Spineter present at oviduct-uterus junction. Tail elongate, conoid, tapering regularly, 248.4-249.8 μm or 5.4-6.2 anal

body widths long. Caudal glands well developed, opening terminal. Male not found.

The *Iotonchus longicadatus* Baqri, Baqri & Jairajpuri, 1978 has lip region 19.8 μm wide, 9.0 μm high. Amphids 4.0 μm wide, located at 9.9 μm from nateroir end of body and 18 μm from base of buccal cavity. Buccal cavity 22.5 μm long, 13.5 μm wide. Dorsal tooth of medium size, situated in anterior half of buccal cavity, its apex 11 μm or 49% of the lenght of buccal cavity from base. Excretory system not observed. Reproductive system mono-prodelphic. Spincter present at oviduct-uterus junction. Tail long filiform, 370 μm or 15.3 anal body widths long. Caudal glands tandem, spinneret terminal. Male not found.

The *Parahadronchus shakili* (Jairajpuri, 1969) Mulvey, 1978 has body long $L = 2.22\text{-}2.31$ mm, lip reginon 38-41 μm wide, 13.1-17.1 μm high. Amphids 5.4-7.2 μm wide, located at 16.2-18.9 μm from anterior end of body and 42-47 μm from base of buccal acvity. Buccal cavity 47-56 μm long, 20-330 μm wide. Dorsal tooth large suprabasal, its apex at 19.8-22.5 μm or 37-44% of the leng of buccal acvity from base. Subventral wall with 5-6 transverse rows of denticles. Excretory system not observed. Reproductive system amphidelphic. Well developed spincter present at oviduct-uterus junction. Tail elongate-conoid, tapering sharply, 460-55 μm or 14.3-17.1 anal body widths long. Caudal glands well developed, opening terminal.

The *Coomansus parvus* (De man, 1880) Jairajpuri et al., 1977 has body long 1.04 mm, lip region 24.3 μm wide, 8.1 μm high. Amphids 3.0 μm wide, located at 10 μm from anterior end of body. Buccal cavity 28 μm long, 10 μm wide. Dorsal tooth small in size, situated in anterior half of buccal cavity, its apex 23 μm or 78% of the length of buccal cavity from base. Subventral wells without denticles or ridges. Reproductive system amphidelphic. Spincter not present at oviduct-uterus junction. Tail conoid, vertrally arcuate, 75.6 μm or 3.3 anal body widths long. Caudal glands and terminal opening absent. Male not found.

Ngày nhận bài: 6-9-1999

BỔ SUNG MỘT CHI MỚI GARDNERIA WALL. (HỌ MÃ TIỀN - LOGANIACEAE) CHO HỆ THỰC VẬT VIỆT NAM

VŨ VĂN HỢP, VŨ XUÂN PHƯƠNG

Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật

Gần đây khi tiến hành nghiên cứu họ Mã tiền (Loganiaceae) ở Việt Nam, chúng tôi có dịp nghiên cứu và phân tích các mẫu vật của họ này được thu thập và lưu giữ ở các phòng tiêu bản của nước ta, và đã phát hiện một chi mới Gardneria Wall. - Họ Mã tiền Loganiaceae cho hệ Thực vật Việt Nam.

Chi Gardneria đã được ghi nhận ở một số nước Đông và Đông Nam Á, nhưng chưa được ghi nhận có ở Việt Nam. Đây là lần đầu tiên phát hiện chi này ở Việt Nam. Mẫu vật của chi Gardneria được Lê Kim Biên thu tại xã Đắc Môn, huyện Đắc Glây, tỉnh Kon Tum trong chương trình điều tra tổng hợp Tây Nguyên (1978-1980). Mẫu vật hiện lưu giữ ở phòng Tiêu bản thực vật - Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật Hà Nội (HN). Dưới đây là những đặc điểm khác nhau giữa chi Gardneria với các chi khác của họ Mã tiền (Loganiaceae).

1A. Cỏ một hoặc nhiều năm

2A. Lá có gân hình lông chim rõ. Hoa mẫu 5; tràng và đài có tiền khai lõp; bao phấn hướng trong.....1. Mitreola.

2B. Lá chỉ có một gân giữa, hiếm khi ba gân. Hoa mẫu 4; tràng và đài có tiền khai van; bao phấn hướng ngoài.....2. Mitrasacme.

1B. Cây gỗ, cây bụi hoặc dây leo gỗ

3A. Lá có gân hình cung, thường có móc.....3. Strychnos.

3B. Lá có gân hình lông chim, không có móc.

4A. Thùy tràng có tiền khai lõp. Quả nang.....4. Gelsemium.

4B. Thùy tràng có tiền khai van. Quả mọng.....5. Gardneria.

Đặc điểm nhận biết chi Gardneria

GARDNERIA Wall. in Roxb - GÁC NÊ

Roxb. 1820. Fl. Ind. 1: 400

Dây leo gỗ hay cây bụi trườn. Cành non hình tròn hay vuông. Lá đơn mọc đối, có gân lông chim; giữa 2 cuống lá có dải lá kèm nhỏ dính lại. Cụm hoa xim 2 ngã ở nách lá và ở đỉnh cành; lá bắc nhỏ. Hoa mẫu 4-5; đài 4-5, thùy xếp lõp; tràng 4-5 thùy dày, xếp van; nhị 4-5 dính trên ống tràng, chỉ nhị đẹp, ngắn; bao phấn dính hoặc rời, gốc có 2 thùy, dính lưng, hướng trong, có 2 hoặc 4 ô, thò ra khỏi ống tràng; bầu thượng 2 ô, mỗi ô có 1 - 4 noãn; vòi nhụy thường dài hơn nhị, dính vòi hình đầu hay xẻ 2(4) thùy ngắn. Quả mọng hình cầu, thường có 1 hạt thuần hay tròn, vỏ dày; phối nhũ cứng.

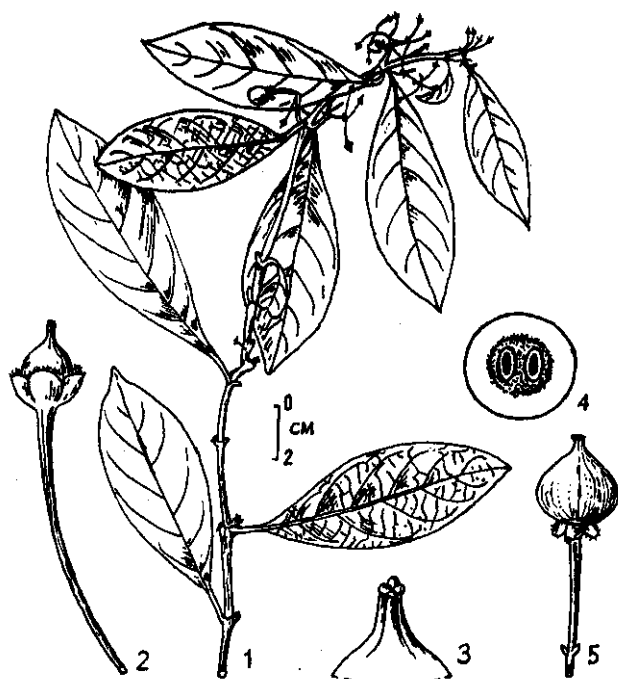
Typus: G. ovata Wall.

Có 6 loài, phân bố ở Đông Á và Đông Nam Á như Ấn Độ, Xrilanca, Mianma, Trung Quốc, Thái Lan, Malaixia, Indônêxia. Việt Nam mới gặp 1 loài.

GARDNERIA OVATA Wall. in Roxb -
GÁC NÊ HÌNH TRÚNG

Roxb. 1820. Fl. Ind. 1: 400; Kurz, 1877. For. Fl. Brit. Burm. 2: 227; C. B. Clarke, 1883. Fl. Brit. Ind. 4: 93; Kerr, 1951. Fl. Siam. Enum 3: 63; Leenh. 1962. Fl. Malesiana, 6(2): 363; Back. & Bakh. f. 1965. Fl. Jav. 2: 210; P. T. Li, 1992. Fl. Reipubl. Pop. Sin. 61: 246; O. Griffin & J. Parnell, 1997. Fl. Thailand, 6(3): 206.
- G. wallichii Wall. 1832. Pl. As. Rar. 3: 49.

Dây leo gỗ dài 1 - 5 m, cành non hình tròn, nhẵn. Lá mọc đối, hình trứng hay thuôn - ngọn giáo cỡ 6-16 × 2,5-8 cm, mỏng và dai; chóp lá nhọn hay tù, gốc hình nêm rộng, mép nguyên, hai mặt nhẵn; gân bên 4-8 đôi cong hướng lên phía mép lá, lõm lên ở mặt dưới; cuống lá dài 1-1,5 cm, lõm ở phía trên; ở các đốt có lá kèm nhỏ nối liền 2 cuống lá. Cụm hoa xim ở nách lá phía



Gardneria ovata Wall. - Gác nê hình trứng

1. cành mang cụm hoa; 2. dài và nhụy; 3. đầu nhụy; 4. bầu cát ngang; 5. quả
(Hình vẽ theo mẫu Lê Kim Biên 557 (Hà Nội))

đỉnh cành, dài 4-8 cm; cuống cụm hoa dài 1-3 cm; cuống hoa dài 0,5-1,5 cm, ở cuống cụm hoa và cuống hoa có 2 lá bắc nhọn; dài 4 thùy dài 1-1,5 mm đỉnh gần tròn; tràng màu vàng cam sau vàng nhạt, ống dài 3-4 mm, dày, có lông lún phún phía trong; nhị 4, đính ở gốc ống tràng, chỉ nhị ngắn; bao phấn dạng ngọn giáo hay hình trứng - ngọn giáo, dài 1,5-4 mm dính nhau, gốc có 2 thùy hướng trong, 2 ô mở theo khe dọc; bầu gần tròn, dài 1-1,5 mm, 2 ô, mỗi ô 1 noãn, vòi nhụy dài 1-2 mm đầu nhụy xẻ 2 hay 4 thùy ngắn. Quả mọng hình cầu, đường kính 6 - 8 mm, có 1 - 2 hạt hình cầu đường kính 4-5 mm màu xám sẫm, bóng láng.

Loc. Class.: North India

Sinh học và sinh thái: Ra hoa tháng 3-5, quả tháng 8-10, mọc ở rừng núi đất, khô ở độ cao 200 - 2000 m.

Phân bố: Kon Tum (Đác Glây: Đác Môn). Còn có ở Ấn Độ, Xrilanca, Mianma, Trung Quốc, Thái Lan, Malaixia, Indônêxia.

Mẫu nghiên cứu: Kon Tum (Đác Glây), Lê Kim Biên 557 (HN).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Backer C. A. & Bakhuizen R. C., 1965: Flora of Java 2: 206-212. Netherlands.
2. Clarke C. B., 1883: Flora of British India 4: 76-93. London.
3. Dop. P., 1912: Flore Générale de l'Indochine, tom 4: 154-177. Paris.
4. Giffin O. & Parnell J., 1997: Flora of Thailand 6(3): 197-225. Bangkok.
5. Kurz. W. S., 1877: Forest Flora of British Burmani 2: 227. Calcuta.
6. Leenhouts, 1962: Flora Malesiana 6(2): 293-387. Netherlands.
7. Li H. L., 1963: Woody Flora of Taiwan: 772-779. Narberth.
8. Li. P. T., 1992: Flora Reipublicae Popularis Siniceae 61: 223-309. Pekin.
9. Nguyễn Tiến Bàn, 1997: Cẩm nang tra cứu và nhận biết các họ thực vật Hạt kín (Magnoliophyta, Angiospermae) ở Việt Nam, Hà Nội.

10. Tirel-Roudet C., 1972: Flore du Cambodge du Laos et du Vietnam, 13: 3-89. Paris.

NEW GENUS GARDNERIA WALL. (LOGANIACEAE) FOR THE FLORA OF VIETNAM

VU VAN HOP, VU XUAN PHUONG

SUMMARY

The Genus *Gardneria* (Loganiaceae) distributes in some countries of East and South-East Asia with 6 species but is not yet acknowledged in Vietnam. It is the first time we have collected this genus with one species *G. ovata* Wall. The specimen of this species was collected in Kontum province and kept in the Herbarium of the Institute of Ecology and Biological Resources in Hanoi (HN).

Ngày nhận bài: 11-12-1999

(Tiếp theo trang 40)

BIOLOGICAL CHARACTERISTICS OF PHOTOSYNTHETIC BACTERIA FROM ISOLATED SEVERAL POLLUTED WATER-BODIES IN VIETNAM

DO THI TO UYEN, TRAN VAN NHI

morphology, the photosynthetic pigments and the N_2 -fixation capacity of each representative of these genera was carried out. It was showed that there were considerable differences of tested strains in maximum positions in vivo absorption spectra indicating great variety of their bacteriochlorophylla-complexes. Spectral data also indicated the difference in major carotenoid compositions of these PSB. Three of them were shown to be capable to grow on N_2 as sole source of nitrogen and were active in acetylen reduction.

Ngày nhận bài: 18-11-1999

ẤU TRÙNG SÁN LÁ Ở ỐC *PARAFOSSARULUS STRIATULUS* (HỌ BITHYNIIDAE) VÙNG NGỌC TẢO VÀ BA VÌ, TỈNH HÀ TÂY

NGUYỄN THỊ LÊ, PHẠM NGỌC DOANH, ĐẶNG TẤT THẾ

Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật

Ốc nước ngọt là nhóm động vật giữ vai trò trung gian truyền bệnh sán lá cho người và động vật, vì vậy nghiên cứu về khu hệ ấu trùng sán lá ở nhóm động vật này có ý nghĩa khoa học và thực tiễn, giúp cho việc nghiên cứu sinh học sán lá, làm cơ sở cho công tác phòng chống chúng. Các công trình nghiên cứu về vấn đề này ở một số loài ốc nước ngọt thuộc các họ Pilidae, Viviparidae, Lymnaeidae đã được công bố từ những năm 1980. Để bổ sung dẫn liệu cho nghiên cứu sinh học và khu hệ ấu trùng sán lá ở ốc nước ngọt, tiếp theo các công trình của Nguyễn Thị Lê, 1980; Nguyễn Thị Lê và cs. (1993, 1995), chúng tôi thông báo kết quả nghiên cứu về ấu trùng sán lá ở ốc *Parafossarulus striatulus* (họ Bithyniidae) thu thập ở hai vùng Ngọc Tảo và Ba Vì, tỉnh Hà Tây.

I. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

- Từ tháng 1 đến tháng 12/1996, định kỳ hàng tháng thu ốc ở các thủy vực thuộc 2 vùng: Ba Vì và Ngọc Tảo - Phúc Thọ, tỉnh Hà Tây.
- Định loại ốc theo Đặng Ngọc Thanh, 1980.
- Ép ốc giữa 2 tấm kính, kiểm tra dưới kính lúp để thu ấu trùng sán lá (sporocyt, redia, ceraia và metacercaria) rồi quan sát, đo vẽ, mô tả khi còn sống dưới kính hiển vi và kính vẽ PA4. Riêng Cercaria được mô tả, đo vẽ từ cercaria già tự chui ra khỏi ốc.
- Gây nhiễm các dạng metacercaria cho động vật thí nghiệm, thu sán trưởng thành.

II. KẾT QUẢ

1. Một vài nhận xét về ốc *Parafossarulus striatulus*:

Ốc *P. striatulus* thuộc họ Bithyniidae, có

kích thước nhỏ $\approx 10 \times 5$ mm (hình 1), màu xanh hay vàng tùy thuộc vào môi trường sống, có 6 vòng xoắn, đỉnh tầy, giữa các vòng xoắn có các đường vòng thô. Ốc thường sống ở những thủy vực tĩnh, bám vào các cây thủy sinh hoặc ở mặt đất và phát triển quanh năm, nhưng mạnh nhất từ tháng 3 đến tháng 9.



Hình 1. Ốc *P. striatulus*
(từ sách của Đặng Ngọc Thanh, 1980)

2. Các dạng ấu trùng sán lá ở ốc *P. striatulus*:

Kết quả xét nghiệm 1080 cá thể ốc *P. striatulus* ở vùng Ba Vì và 1025 cá thể ở vùng Ngọc Tảo cho thấy: ốc *P. striatulus* ở cả 2 vùng đều nhiễm 5 dạng cercaria thuộc 5 nhóm Echinostomata, Furcocercaria, Gymnocephala, Monostomata, Xiphidiocercaria (theo hệ thống của T.A. Ghinhecinskaja, 1968) và 7 dạng metacercaria.

Dưới đây là kết quả mô tả và định loại các dạng ấu trùng ở ốc *P. striatulus*.

A. CERCARIA

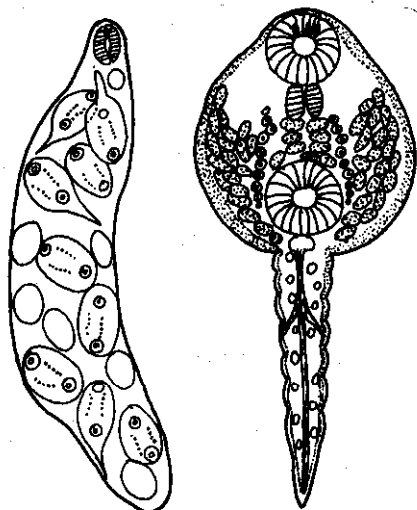
a. Nhóm Echinostomata

Họ: Echinochasmidae (Odhnier, 1910)
Odning, 1963

Giống: Echinochasmus Dietz, 1909

Loài: *Echinochasmus beleocephalus*
Linstow, 1873

Cercaria có kích thước nhỏ $0,100 - 0,161 \times 0,088 - 0,100$ mm, đuôi dài $0,076 - 0,100$ mm. Giác miệng và giác bụng có đường kính gần bằng nhau $0,027 - 0,030$ mm. Hầu lớn, nhưng không nhìn rõ ruột vì hai bên cơ thể phía sau hầu và trước giác bụng có nhiều tế bào tạo nang. Bóng bài tiết hình tròn và mỗi bên cơ thể có 6 - 8 hạt bài tiết. Cercaria rất hoạt động, có thể sống ngoài môi trường tới 6 ngày.



Hình 2. Redia và cercaria của *Echinochasmus beleocephalus*

Cercaria phát triển từ redia (hình 2) có kích thước $0,594 - 0,792 \times 0,178$ mm, mỗi redia chứa 7 - 10 cercaria non và một tế bào mầm. Cercaria già hóa nang ngay trong ốc hoặc thoát khỏi ốc và xâm nhập vào vật chủ trung gian hai cũng là ốc *P. striatulus* phát triển thành metacercaria (xem hình 9).

b. Nhóm Furcocercaria

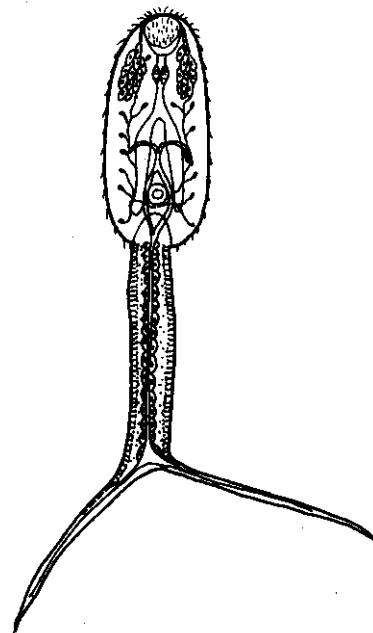
Họ: Cyathocotylidae Poche, 1925

Giống: Cyathocotyle Muhling, 1892

Loài: *Cyathocotyle orientalis* Faust, 1922.

Cercaria dài, mảnh (hình 3), phần thân dài $0,188 - 0,210$ mm, rộng $0,10 - 0,12$ mm, đuôi dài, chẻ đôi ở phía cuối và chiều dài đuôi bao giờ cũng lớn hơn chiều dài cơ thể, kích thước đuôi $0,210 - 0,220 \times 0,036$ mm, đoạn chẻ đôi dài $0,017 - 0,020$ mm. Giác miệng có kích thước $0,040 - 0,046 \times 0,030 - 0,034$ mm, giác bụng hình tròn và nhỏ hơn giác miệng, đường kính $0,012 - 0,015$ mm. Hầu dài $0,012$ mm, thực quản nhỏ, nhưng 2 nhánh ruột lớn và kéo dài

quá giác bụng. Các tế bào xâm nhập ở 2 bên hầu. Bóng bài tiết hình quả lê.

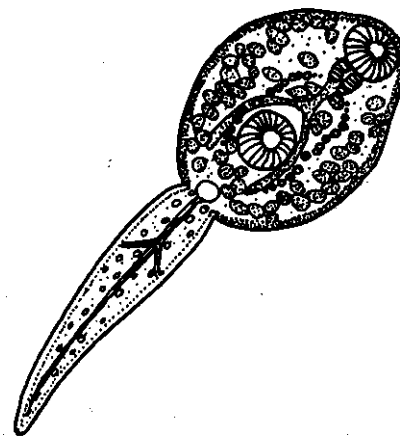


Hình 3. Cercaria của *Cyathocotyle orientalis*

c. Nhóm Gymnocephala

Cercaria Gymnocephala sp.

Cercaria có kích thước tương đối lớn, thân dài $0,240 - 0,343$ mm, rộng $0,176 - 0,296$ mm, đuôi dài $0,245 - 0,352$ mm. Kích thước giác miệng $0,048 - 0,063 \times 0,060 - 0,061$ mm, giác bụng $0,064 - 0,068 \times 0,067 - 0,076$ mm, hầu lớn $0,039 - 0,040 \times 0,032$ mm, ruột kéo dài tới phía sau cơ thể. Nhiều tế bào tạo nang nằm khắp cơ thể. Bóng bài tiết hình tròn, mỗi bên cơ thể có 13 - 15 hạt bài tiết (hình 4).



Hình 4. *Cercaria Gymnocephala* sp.

d. Nhóm Monostomata

Họ: Notocotylidae Luhe, 1909

Giống: Notocotylus Diesing, 1839

Loài: *Notocotylus intestinalis* Tubangui, 1932

Cercaria gồm 2 phần thân và đuôi. Kích thước thân 0,217 - 0,220 × 0,155 - 0,178 mm, đuôi dài 0,297 - 0,346 mm. Không có giác bụng, chỉ có giác miệng, kích thước 0,029 - 0,036 × 0,029 - 0,031 mm. Cercaria khi còn non có 2 mắt, khi già có 3 mắt. Cơ thể có nhiều tế bào tạo nang, nhiều hạt bài tiết từ bóng bài tiết và chia làm 2 hàng đến tận giác miệng. Cercaria phát triển từ redia. Redia già có kích thước 0,653 - 0,940 × 0,217 - 0,267 mm, có hầu 0,049 × 0,059 - 0,069 mm và ống ruột dài quá 1/2 chiều dài redia, mỗi redia có từ 3 - 5 cercaria và 2 - 3 tế bào mầm (hình 5).

Cercaria ra khỏi ốc thì nhanh chóng rụng đuôi, và hóa nang thành Adolescaria ngay trên vỏ ốc, thời gian hóa nang trong vòng 10 - 30 phút. Nang có dạng hình tròn được bao bọc bởi 2 lớp vỏ, đường kính nang là 0,18 - 0,20 mm, vỏ dày 0,012 mm. Cho gà ăn ốc có các nang này sau 12 ngày thu được sản trưởng thành *Notocotylus intestinalis*.

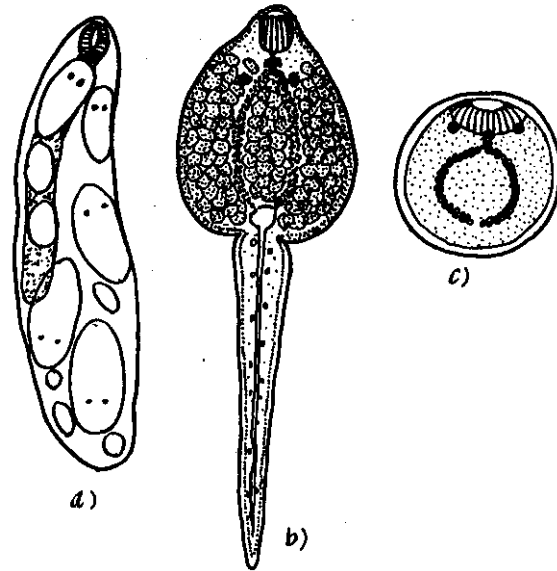
e. Nhóm Xiphidioceraria

Họ: Prosthogonimidae Nicoll, 1924

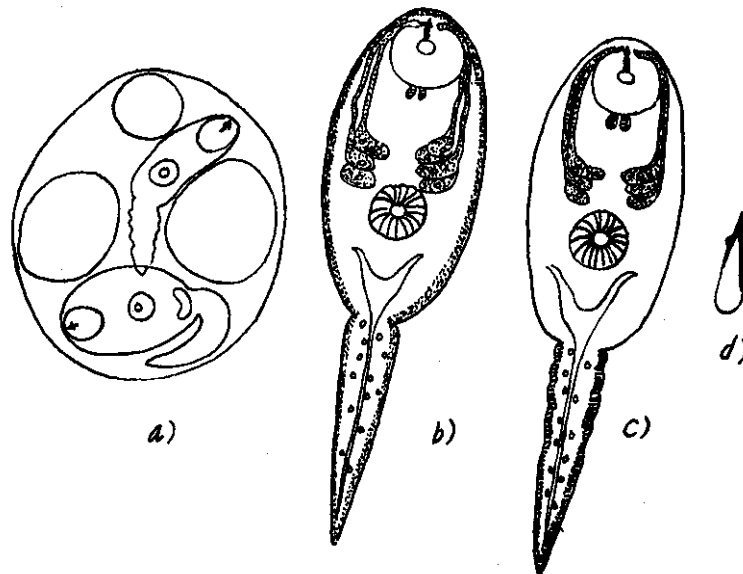
Giống: Prosthogonimus Luhe, 1899

Loài: *Prosthogonimus* sp.

Cơ thể gồm 2 phần thân và đuôi, nét đặc trưng của dạng này là ở đỉnh đầu có Stiles dài 0,0138 mm (hình 6).



Hình 5. Redia, cercaria và adolescaria của *Notocotylus intestinalis*



Hình 6. Sporocyst và Cercaria của *Prosthogonimus* sp.
a: Sporocyst; b: Cercaria non; c: Cercaria già; d: Stylet

Kích thước thân 0,012 - 0,159 × 0,085 - 0,090 mm, đuôi dài 0,134 - 0,150 mm. Kích thước giác miệng 0,036 - 0,040 × 0,033 - 0,036 mm, giác bụng hình tròn, nhỏ hơn giác miệng, đường kính 0,022 - 0,025 mm, hầu dài 0,007 mm, không nhìn rõ ruột. Mỗi bên cơ thể phía trước giác bụng có 4 tế bào xâm nhập, ở cercaria non thì 4 tế bào này thấy rõ hơn, khi già thường quan sát rõ 3 tế bào, còn tế bào kia tùy thuộc trạng thái của cercaria. Bóng bài tiết dạng hai sừng. Cercaria phát triển từ sporocyst hình tròn, kích thước 0,277 - 0,300 × 0,168 - 0,200 mm, mỗi sporocyst chứa 2 - 3 cercia và 2 - 3 tế bào mầm.

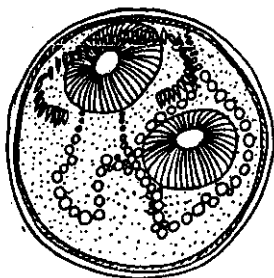
B. METACERCARIA

1. Họ Echinostomatidae Dietz, 1909

Giống Echinostoma Rudolphi, 1809

Loài *Echinostoma revolutum* (Frohlich, 1802) (hình 7)

Metacercaria nằm cuộn trong nang hình tròn, bao bọc bởi 2 lớp vỏ, đường kính nang cả vỏ ngoài 0,168 - 0,178 mm, đường kính lớp vỏ trong 0,138 - 0,148 mm, đường kính giác miệng 0,049 - 0,055 mm, giác bụng 0,059 - 0,069 mm. Viên cổ có 37 móc ở vị trí khác nhau tùy trạng thái của metacercaria. Các hạt bài tiết gần như xếp thành 2 hàng ở hai bên cơ thể. Gây nhiễm cho gà sau 11 ngày thu được sản trường thành.



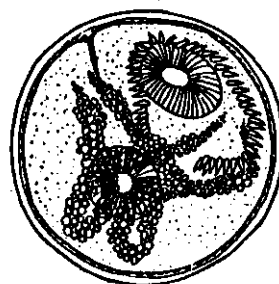
Hình 7. Metacercaria của *Echinostoma revolutum*

Giống Echinoparyphium Dietz, 1909

Loài *Echinoparyphium recurvatum* (Linstow, 1873) (hình 8)

Metacercaria nằm trong nang hình tròn, có 2 lớp vỏ, đường kính nang 0,138 - 0,170 mm, khoảng cách giữa 2 lớp vỏ 0,007 mm. Trông rất giống metacercaria của *Echinostoma revolutum*, nhưng viên cổ có 45 móc, và có nhiều hạt bài

tiết hơn, các hạt bài tiết tập trung ở phần giữa nang, thường che lấp giác bụng, đường kính giác miệng 0,027 - 0,041 mm.



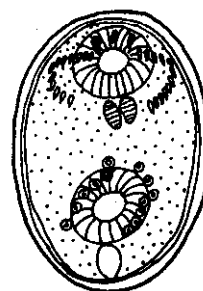
Hình 8. Metacercaria của *Echinoparyphium recurvatum*

2. Họ Echinochasmidae (Odhner, 1910) Odning, 1963

Giống Echinochasmus Dietz, 1909

Loài *Echinochasmus beleocephalus* Linstow, 1873 (hình 9)

Metacercaria nằm trong nang dạng thon dài, có 2 lớp vỏ bao bọc, kích thước nang rất nhỏ 0,083 - 0,090 × 0,055 - 0,060 mm. Giác miệng và giác bụng gần như bằng nhau. Viên cổ có móc nhỏ xếp thành 1 hàng ngắn ở mặt lưng, thường chỉ thấy 11 móc mỗi bên. Bóng bài tiết hình tròn, mỗi bên có 6 - 7 hạt bài tiết. Cho gà ăn ốc có nhiễm nang này sau 5 - 6 ngày thu được sản trường thành *Echinochasmus beleocephalus*.



Hình 9. Metacercaria *Echinochasmus beleocephalus*

3. Họ Strigeidae Railliet, 1919

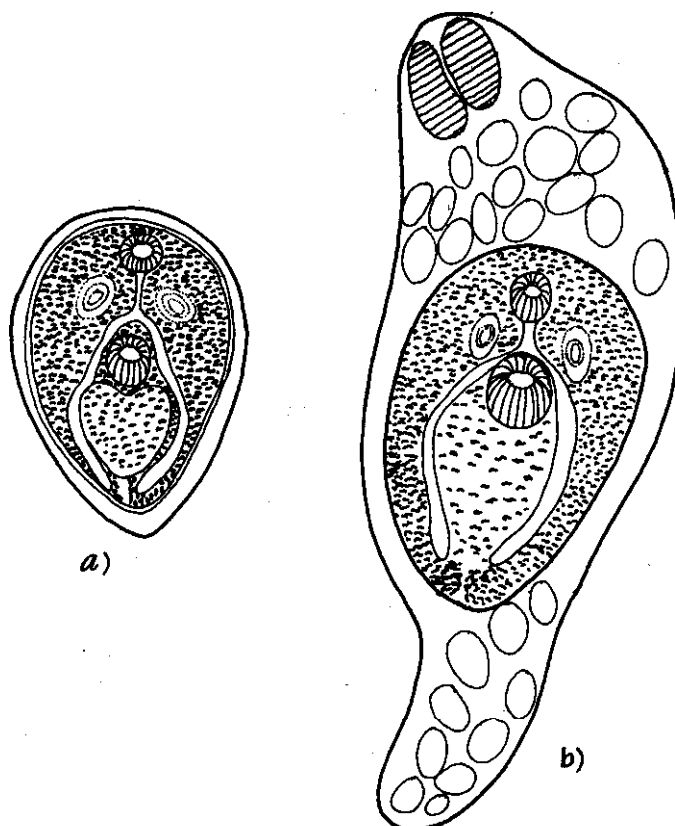
Giống Cotylurus Szidat, 1928

Loài *Cotylurus cornutus* (Rudolphi, 1808) Szidat, 1928 (hình 10)

Có hình quả lê, phần trước rộng và hẹp dần

về phía sau. Kích thước 0,297 - 0,442 × 0,310 - 0,346 mm, có ba lớp vỏ. Kích thước giác miệng 0,039 - 0,060 × 0,049 - 0,068 mm, giác bụng lớn hơn giác miệng, 0,049 - 0,052 × 0,055 - 0,060 mm. Có 2 giác giả, sau giác bụng có quan brandesa. Hai nhánh ruột kéo dài xuống phía cuối cơ thể. Cơ thể chứa nhiều thể vôi và các giọt mỡ.

Metacercaria của loài này còn gặp ở ốc *Sinotaia aeruginosa*, *Angulyagra polyzonata* và đôi khi ở cả redia của một số loài sán lá khác.

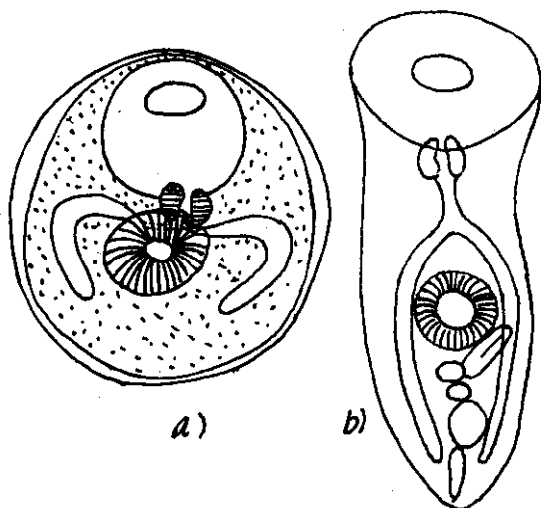


Hình 10. Metacercaria của *Cotylurus cornutus* riêng lẻ và ở trong redia của *Echinochasmus beleocephalus*

4. Họ Monorchidae Odher, 1911

Giống *Asymphylogora* Looss, 1899

Loài *Asymphylogora* sp. (hình 11)



Hình 11. Metacercaria của *Asymphylogora*

Loài này ký sinh ở cá. Metacercaria chỉ có 1 lớp vỏ mỏng. Kích thước lớn 0,396 - 0,420 × 0,410 - 0,450 mm. Giác miệng 0,188 × 0,207 mm, giác bụng 0,099 × 0,148 mm. Metacercaria thoát ra khỏi vỏ nang trông như một sán non, kích thước 0,792 - 0,910 × 0,346 mm, giác miệng 0,336 - 0,356 × 0,227 - 0,237 mm, hầu 0,079 × 0,089 mm, giác bụng 0,148 - 0,158 × 0,138 mm. Có mầm sinh dục gồm tinh hoàn, buồng trứng, túi sinh dục rất phát triển. Lỗ sinh dục đổ ra ở phía sau giác bụng.

5. Họ Lissorichidae Poche, 1926

Giống *Lissorichis* Magath, 1917

Loài *Lissorichis* sp. (hình 12)

Loài này ký sinh ở cá. Metacercaria có dạng hình tròn, đường kính 0,266 - 0,300 mm, có 1 lớp vỏ mỏng. Metacercaria thoát ra khỏi vỏ nang trông như một sán non, kích thước cơ thể 0,594 - 0,600 × 0,128 - 0,135 mm, giác miệng 0,118 - 0,122 × 0,099 - 0,110 mm, hầu dài 0,059

mm, giác bung tròn, đường kính 0,148 - 0,155 mm. Các tế bào ngọn lửa nhìn rất rõ ở phía trên giác bung. Dạng metacercaria này ít gặp.

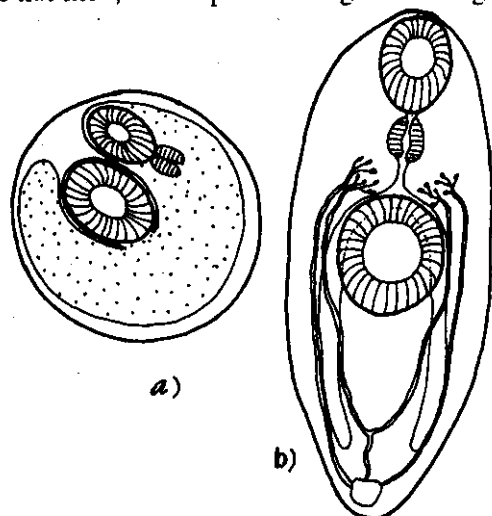
6. Pleurogenidae Looss, 1899

Pleurogenidae gen. sp. (hình 13)

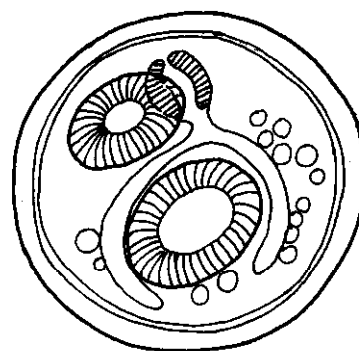
Loài này ký sinh ở cá, lưỡng cư. Metacercaria có hình dạng không ổn định, thường hình tròn hoặc hơi méo, có 2 lớp vỏ. Đường kính vỏ ngoài

0,147 - 0,154 mm, khoảng cách giữa 2 lớp vỏ dày 0,015 mm. Giác miệng 0,046 - 0,056 × 0,031 - 0,036 mm, giác bung 0,068 × 0,058 mm, hầu dài 0,368 mm. Có khoảng 14 - 16 hạt bài tiết xung quanh giác bung.

Như vậy, ở ốc *P. striatulus* đã xác định được các dạng ấu trùng cercaria và metacercaria của 10 loài sán lá thuộc 9 họ (xem bảng dưới đây) và 1 dạng cercaria *Gymnocephala* sp.



Hình 12. Metacercaria của *Lissorthis* sp.
a. Trong nang; b. Thoát ra khỏi nang



Hình 13. *Pleurogenidae* gen. sp.

Họ sán lá	Loài sán lá	Vật chủ	Vật chủ trung gian I*	Vật chủ trung gian II*
Cyathocotylidae	<i>Cyathocotyle orientalis</i>	gia cầm	<i>Parafossarulus striatulus</i>	<i>Parafossarulus striatulus</i>
Echinochasmidae	<i>Echinochasmus beleocephalus</i>	gia cầm	<i>Parafossarulus striatulus</i>	<i>Parafossarulus striatulus</i>
Echinostomatidae	<i>Echinostoma revolutum</i>	gia cầm		<i>Parafossarulus striatulus</i>
	<i>Echinoparyphium recurvatum</i>	gia cầm		<i>Parafossarulus striatulus</i>
Lissorchiidae	<i>Lissorthis</i> sp.	cá		<i>Parafossarulus striatulus</i>
Monorchidae	<i>Asymphyiodora</i> sp.	cá		<i>Parafossarulus striatulus</i>
Notocotylidae	<i>Notocotylus intestinalis</i>	gia cầm	<i>Parafossarulus striatulus</i>	<i>Parafossarulus striatulus</i>
Pleurogenidae	<i>Pleurogenidae</i> sp.	cá, lưỡng cư		<i>Parafossarulus striatulus</i>
Prosthogonimidae	<i>Prosthogonimus</i> sp.	gia cầm	<i>Parafossarulus striatulus</i>	<i>Parafossarulus striatulus</i>
Strigeidae	<i>Cotylurus cornutus</i>	gia cầm		<i>Parafossarulus striatulus</i>

* Vật chủ trung gian còn có thể là loài ốc khác hoặc nhóm động vật khác.

III. KẾT LUẬN

- Ốc *Parafossarulus striatulus* rất phổ biến ở 2 vùng Ba Vì và Ngọc Tảo. Ấu trùng sán lá ở loài ốc này của cả 2 vùng đều gặp 5 dạng cercaria và 7 dạng metacercaria.

Các dạng ấu trùng cercaria thuộc 5 nhóm: Echinostomata, Furcocercaria, Xiphidiocercaria, Monostomata, Gymnocephala (theo hệ thống của Ghinhecskaja, 1968). Trong đó 4 dạng là của sán lá ký sinh ở gia cầm.

Trong 7 dạng metacercaria thì có 4 dạng là của sán lá ký sinh ở gia cầm và 3 dạng của sán lá ký sinh ở cá và lưỡng cư.

- Phần lớn các dạng ấu trùng ở ốc *P. striatulus* là của các loài sán lá ký sinh ở gia cầm (7 loài) và cá (3 loài). Trong số đó, ốc *P. striatulus* giữ vai trò là vật chủ trung gian thứ hai của 7 loài sán lá (4 loài ký sinh phổ biến ở gia cầm và 3 loài ký sinh ở cá), tức là khi gia cầm và cá ăn phải ốc có chứa các dạng ấu trùng này thì chúng phát triển thành sán trưởng thành và gây hại cho vật chủ. Vì vậy khi dùng ốc *P. striatulus* làm thức ăn cho gia cầm và cá cần chú ý đến vấn đề này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. K. U. Skrjabin, 1955: Sán lá ký sinh ở người và động vật, tập 6. Matxcova (tiếng Nga).

2. K. U. Skrjabin, 1958: Sán lá ký sinh ở người và động vật, tập 14. Matxcova (tiếng Nga).

3. K. U. Skrjabin, 1959: Sán lá ký sinh ở người và động vật, tập 16. Matxcova (tiếng Nga).

4. K. U. Skrjabin, 1961: Sán lá ký sinh ở người và động vật, tập 19. Matxcova (tiếng Nga).

5. T. A. Ghinhecskaja, 1968: Sán lá, chu trình sống, sinh học và sự tiến hóa của chúng. Lenigrat, 400 tr (tiếng Nga).

6. Nguyễn Thị Lê, 1980: Sán lá ký sinh ở chim, thú Việt Nam (khu hệ, hệ thống phân loại, sinh thái, địa động vật). Tóm tắt luận án tiến sĩ sinh học, Matxcova, 27tr (tiếng Nga).

7. Nguyễn Thị Lê và cs., 1993: Các dạng ấu trùng sán lá ở ốc ăn họ Pilidae và Viviparidae thuộc hai tỉnh Hà Tây và Hòa Bình. Tuyển tập các công trình nghiên cứu sinh thái và tài nguyên sinh vật (1990 - 1992) tr. 318-323. Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật.

8. Nguyễn Thị Lê và cs., 1995: 17 (1), 1995.

9. Nguyễn Thị Lê, 1995: Danh mục các loài sán lá ký sinh ở chim và thú Việt Nam. Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật, 250 tr.

10. Đặng Ngọc Thanh và cs., 1980: Định loại động vật không xương sống nước ngọt Bắc Việt Nam. Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật: 440 - 490.

TREMATODE LARVAE IN THE SNAIL-PARAFOSSARULUS STRIATULUS (BITHYNIIDAE) COLLECTED FROM BAVI AND NGOCTAO AREAS OF HA TAY PROVINCE

NGUYEN THI LE, et al.

SUMMARY

In 1996, from January to December of 1996, 1080 individuals of *Parafossarulus striatulus* (Bithyniidae) collected in Bavi area and 1025 one in Ngoc tao area were dissected. The result showed that: the trematodes larvae in these snails include 5 forms of cercaria and 7 forms of metacercaria. These cercariae belong to 5 cercaria groups: Furcocercaria, Xiphidiocercaria, Echinostomata, Monostomata, Gymnocephala (According to Ghinhecskaja, 1968's scheme) corresponding to the adult trematode species *Cyathocotyle orientalis*, *Prosthogonimus* sp., *Echinochasmus beleocephalus*, *Notocotylus intestinalis* and *Gymnocephala* sp. Four of seven metacercaria forms are to be of trematodes parasitizing in poultry: *Echinostoma revolutum*, *Echinoparyphium recurvatum* (Echinostomatidae), *Echinochasmus beleocephalus* (Echinochasmidae), *Cotylurus cornutus* (Strigeidae), two forms of trematodes parasitize in fish: *Lissorhis* sp. (Lissochidae), *Asymphylogora* sp. (Monorchidae) and *Metacercaria* sp. (Pleurogenidae) parasitizes in fish and Amphibia. So, it should pay attention in this problem if using the snail *Parafossarulus striatulus* for poultry and fish (as food).

Ngày nhận bài: 20-6-1999

QUAN HỆ DI TRUYỀN CỦA VOOC VÁ VIỆT NAM QUA TRÌNH TỰ ADN CỦA TY THỂ

ĐẶNG TẮT THẾ, LÊ XUÂN CẢNH

Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật

Voọc vá ở nước ta được chia thành 3 phân loài: Voọc vá chân đỏ (*Pygathrix nemaeus nemaeus*), Voọc vá chân xám (*P. n. cinerius*) và Voọc vá chân đen (*P. n. nigripes*) (Fooden, 1996), chỉ có một số tác giả cho rằng chúng là những loài riêng biệt (Brandon-Jones, 1984). Voọc vá phân bố hẹp ở một số vùng của Đông Dương và đang bị đe dọa tuyệt chủng. Để tạo cơ sở khoa học cho chiến lược bảo tồn và phát triển bền vững các loài voọc quý này, việc phân loại chính xác và nghiên cứu sâu về mặt di truyền của chúng là hết sức cần thiết và cấp bách.

ADN của ty thể (Mitochondrial DNA-mtDNA) ở thể đơn bội, không tái tổ hợp và di truyền theo dòng mẹ. Những tính chất này làm cho việc phân tích quan hệ họ hàng và tiến hóa của sinh vật ở mức độ phân tử trở nên đơn giản nhưng chính xác (Avice, 1994). Đoạn mtDNA bao gồm các gen mã hóa protein NADH dehydrogenase subunit 3 (ND3), NADH

dehydrogenase subunit 4L (ND4L), NADH dehydrogenase subunit 4 (ND4) và các gen cấu trúc RNA vận chuyển như tRNA^{Gly}, tRNA^{Arg}, tRNA^{His}, tRNA^{Ser}, tRNA^{Leu}, đã được xác nhận có tỷ lệ biến đổi trình tự nucleotit cao trong các loài Linh trưởng (Melnick et al., 1993), nên rất thích hợp cho phân tích tiến hóa phân tử ở mức độ loài và quần thể. Vì vậy, chúng tôi đã chọn các gen trên trong nghiên cứu này.

I. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Chúng tôi đã tiến hành phân tích 1 tiêu bản *P. n. cinerius*, 3 tiêu bản *P. n. nemaeus* và 3 tiêu bản *P. n. nigripes*. Bảng 1 liệt kê tên phân loài, mã số cá thể và địa điểm thu mẫu. Các mẫu T.01, T.02, T.07, T.08 thu từ voọc nuôi cứu hộ, nên địa điểm sống tự nhiên của chúng không được biết đầy đủ. Mẫu máu được bảo quản trong đệm EASY, mẫu mô được giữ trong cồn 85%.

Bảng 1

Danh sách phân loài, mã số cá thể và địa điểm thu mẫu

Tên phân loài	Mã số	Địa điểm thu mẫu
<i>P.n.cinerius</i>	T.01	Cúc Phương - Ninh Bình
<i>P.n.nemaeus</i>	T.02	Cúc Phương - Ninh Bình
<i>P.n.nemaeus</i>	T.03	Bắc Giang
<i>P.n.nemaeus</i>	T.08	Cúc Phương - Ninh Bình
<i>P.n.nigripes</i>	T.04	Quảng Nam
<i>P.n.nigripes</i>	T.05	Quảng Nam
<i>P.n.nigripes</i>	T.07	Cúc Phương - Ninh Bình

Phân tích mẫu vật và số liệu được tiến hành tại Trung tâm nghiên cứu và bảo tồn môi trường (Center for Environmental Research and Conservation - CERC), Trường đại học Tổng hợp Columbia, USA, trong thời gian từ tháng 9/1998 đến 5/1999.

PCR và đọc trình tự: ADN tổng số được tách chiết từ mẫu máu và mô cơ bằng bộ hóa chất QIAamp blood and tissue kits, No. 29106 và 29306 (QIAGEN Inc.). Dùng phản ứng chuỗi bằng polymerase (polymerase chain reaction-PCR) để nhân bản đoạn mtDNA đích. Các cặp

mỗi PCR (PCR primers) đã được thiết kế dựa trên sự đối chiếu các trình tự tương đồng và vùng bảo thủ ở gen tRNA^{Gly} và tRNA^{Leu} của người và các loài Linh trưởng khác. Hai cặp mỗi PCR để nhân bản trình tự đích được sử dụng riêng rẽ hoặc kết hợp trong kỹ thuật PCR lồng (nested PCR) nhằm thu được sản phẩm PCR đặc hiệu. Trình tự các cặp mỗi và thông số chu kỳ nhiệt của PCR trên máy chu trình nhiệt Perkin Elmer 9600 như sau: Cặp mỗi I: T-32PF: 5'-TTA GTA TAA ATA GTA CAG CCG ACT TCC A-3' và T-2412PR: 5'-TAC GGA GGC ATG GAT TAG CAG TCC TTG-3'. Chu kỳ nhiệt có hai giai đoạn kế tiếp nhau, giai đoạn một gồm biến tính ở 94°C-3', tiếp theo là 5 chu kỳ: 94°C-30", 72°C-1'30", giai đoạn hai có 33 chu kỳ: 94°C-30", 68°C-45", 72°C-1' và mỗi chu kỳ được tự động kéo dài thêm 2". Cặp mỗi II: T-46PF: 5'-CTT CAA ATT AGC TAG TTT CGA TA-3' và T-2409PR: 5'-GCA TGG ATT AGC AGT CCT TGC AAG CT-3'. Chu kỳ nhiệt cũng có hai giai đoạn, giai đoạn một gồm biến tính ở 94°C-3', tiếp theo là 5 chu kỳ: 94°C-45", 59°C-45", 72°C-2', giai đoạn hai có 33 chu kỳ: 94°C-30", 57°C-45", 72°C-1'45". Gen giả (pseudogene) của các gen mtDNA thật ở trên, nhưng chèn trong bộ gen nhân (nuclear insertion of mtDNA-nuc-mtDNA) được nhân bản bằng PCR với cặp mỗi: GLYLF: 5'-ACT TCC AAT TAG CTA GTT T-3' và T-2435 PR: 5'-TGG TTC TTA AGA CCA ATG GA-3' với thông số chu kỳ nhiệt gồm bước biến tính ở 94°C-3', tiếp theo là 35 chu kỳ: 94°C-45", 50°C-45", 72°C-2'.

Sản phẩm PCR được tinh chế bằng bộ hóa chất QIAquick PCR purification kit, No.28106 (QIAGEN Inc.). Chúng tôi đã thiết kế 11 môi trong (internal primer) để dùng cho phản ứng giải trình tự bằng máy chu trình nhiệt (cycle sequencing) và phản ứng được tiến hành bằng bộ hóa chất FS-DNA sequencing kit, No. 402079 (Perkin Elmer). Sản phẩm của phản ứng giải trình tự được tinh chế, điện di trên gel polyacrylamid, đọc và giải mã trình tự bằng máy tự động ABI-377 PRISM và chương trình máy tính Factura và Autoassemble (Perkin Elmer). Sắp xếp, đối chiếu trình tự tương đồng của từng cá thể bằng chương trình máy tính Sequence Navigator. Các trình tự mới này đã được đối chiếu với các trình tự tương đồng của người và một số loài linh trưởng khác trong ngân hàng

Genbank, để đảm bảo các gen đích đã được đọc trình tự.

Phân tích số liệu: Dùng các chương trình máy tính Phylogenetic Analysis Using Parsimony (PAUP), Version 4.0b2 (Swofford, 1999) và Kimura 2-parameter model (Kimura, 1981), để phân tích số liệu trình tự đã thu được.

II. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Đối chiếu 2148 trình tự tương đồng giữa các cá thể *P.n.nemaeus* cho thấy: T.08 có 3 thay đổi trình tự tại vị trí 189, 285, 827 và T.02 có một thay đổi tại vị trí 1025 (bảng 2). Tất cả các thay đổi trình tự này đều là thay thế đồng hoán (transition) và thay thế tĩnh (silent substitution). Khoảng cách di truyền (genetic distance) giữa các cá thể thấp, chỉ dao động từ 0,046 đến 0,230 (bảng 4). Vì vậy, sự đa hình trong cấu trúc ADN của Voọc vá chân đỏ có thể là tương đối thấp.

So với các cá thể *P.n.nemaeus*, *P.n.cinerius* có 14 thay đổi trình tự, tất cả đều là các thay thế đồng hoán và thay thế tĩnh, ngoại trừ 1 biến đổi thay thế axit amin (replacement substitution) tại vị trí 2035 (bảng 2 và 6). Khoảng cách di truyền giữa hai nhóm này tương đối thấp, từ 0,462 đến 0,648 (bảng 4), chỉ tương đương với mức phân hóa giữa các quần thể của loài phân bố rộng, nhưng là khá lớn với loài phân bố hẹp và cỡ quần thể nhỏ. Vùng phân bố của *P.n.cinerius* ở phía nam miền Trung Việt Nam, chỉ chồng chéo một phần nhỏ với vùng phân bố của *P.n.nemaeus*. Vì vậy, việc xếp Voọc vá chân xám như là một phân loài của Voọc vá chân đỏ là hoàn toàn có cơ sở khoa học.

Lần đầu tiên chúng tôi đã phát hiện được đoạn nuc-mtDNA của các gen trên ở *P.n.cinerius* và *P.n.nemaeus*, cũng như ở họ Colobidae nói chung. Cho đến nay, đây là đoạn nuc-mtDNA dài nhất được phát hiện trong các loài Linh trưởng. Mức độ phân hóa trình tự giữa các đoạn nuc-mtDNA này gần giống như mtDNA thật của chúng. Giữa các cá thể *P.n.nemaeus*, chỉ có 2 thay thế đồng hoán ở vị trí 72 và 1995. *P.n.cinerius* có 10 thay đổi trình tự so với *P.n.nemaeus*, không kể các mất đoạn (deletion). Một điều lý thú là *P.n.cinerius* và *P.n.nemaeus* đều bị mất đoạn từ vị trí 2049 đến 2071. Ngoài ra, *P.n.nemaeus* còn bị mất đoạn từ vị trí 1282 - 1286, trong khi *P.n.cinerius* chỉ mất

một trình tự ở vị trí 722 (bảng 3 và 7). Những thông tin này củng cố cho quan hệ họ hàng rất gần gũi giữa Voọc vá chân xám và Voọc vá chân đỏ, nhưng giữa chúng vẫn có những khác biệt có ý nghĩa.

Bảng 2

Sự thay đổi trình tự ở *P.n.nemaeus* và *P.n.cinerius*

Vị trí của trình tự	Cá thể T.02		Cá thể T.08		Cá thể T.03		Cá thể T.01	
	Trình tự	Tham gia mã hóa aa	Trình tự	Tham gia mã hóa aa	Trình tự	Tham gia mã hóa aa	Trình tự	Tham gia mã hóa aa
144	T	R	T	R	T	R	C	R
153	C	F	C	F	C	F	T	F
189	G	L	A	K	G	L	G	L
195	C	F	C	F	C	F	T	F
276	C	I	C	I	C	I	T	I
285	T	I	C	I	T	I	T	I
388	A		A		A		G	
779	T	N	T	N	T	N	C	N
872	C	F	T	F	C	F	C	F
1169	T	G	T	G	T	G	C	G
1334	T	G	T	G	T	G	C	G
1502	A	W	G	W	A	W	G	W
1829	T	I	T	I	T	I	C	I
2035	T	F	T	F	T	F	C	S

*aa: axit amin

Bảng 3

Sự thay đổi trình tự của nuc-mtDNA ở *P.n.nemaeus* và *P.n.cinerius*

Vị trí thay đổi trình tự	Cá thể T.02	Cá thể T.03	Cá thể T.01	Vị trí thay đổi trình tự	Cá thể T.02	Cá thể T.03	Cá thể T.01
	Trình tự	Trình tự	Trình tự		Trình tự	Trình tự	Trình tự
72	A	G	A	722	C	C	-
90	T	T	C	1184	G	G	A
112	T	T	G	1282-1286	----	----	AACTT
312	T	T	G	1655	T	T	C
388	G	G	T	1995	T	C	C
613	G	G	C	2049-2071	-----	-----	-----
633	C	C	T				

Sự phân hóa trình tự giữa *P.n.nemaeus* và *P.n.nigripes* là rất sâu sắc. Có 336 thay đổi trình tự giữa các cá thể của hai loài này, bao gồm 284 thay thế đồng hoán và 52 thay thế dị hoán (transversion) với tỷ lệ là 5,46 : 1 (bảng 5 và 6). Khoảng cách di truyền giữa hai loài này rất cao,

trung bình trên 18,2. Để tiện so sánh, chúng tôi đưa vào ma trận Kimura 2 tham số trình tự tương đồng của *Pygathrix roxellana* (*P.rox.*) và *Trachypithecus francoisi* (*T.fra.*), *T. phayrei* và *T. leucocephalus* (trình tự Genbank U92961, U92961, U92952, U92969, U92967). Kết quả

cho thấy khoảng cách di truyền giữa *P.n.nemaeus* và *T. fra.* rất cao (trung bình trên 18,2), tương đương với *P.n.nigripes*, nhưng tương đối thấp so với *P. rox* (trung bình trên 15,8). Ngược lại *P.n.nigripes*, có khoảng cách di truyền cao so với *P.rox* (17,48), nhưng rất thấp so với *T.fra.* (8,16) (bảng 4), *T. phayrei* (7,81) và *T. leucocephalus* (8,47) (không trình bày số liệu). Vùng phân bố của *P.n.nemaeus* ở phía bắc miền Trung Việt Nam, còn *P.n.nigripes* phân bố ở phía nam miền Trung Việt Nam, chỉ chồng chéo một phần nhỏ ở giữa hai vùng. Từ những

kết quả phân tích trên, việc tách Voọc vá chân đỏ và Voọc vá chân đen thành hai loài riêng biệt là có cơ sở khoa học. Do khoảng cách di truyền giữa hai loài này rất cao, hơn cả khoảng cách di truyền giữa *P.n.nigripes* và giống *Trachypithecus*, nên có thể hai loài này không có nguồn gốc đơn phát sinh. Không có một thay đổi trình tự nào giữa 3 cá thể *P.n.nigripes*, nên có thể tính đa hình trong cấu trúc di truyền của loài này là rất thấp và sẽ bất lợi cho sức sống và sự bảo tồn loài, nhất là những loài có phân bố hẹp và cỡ quần thể nhỏ.

Bảng 4

Ma trận khoảng cách di truyền Kimura 2 tham số
(Kimura 2-parameter distance matrix), $\times 100$

	1	2	3	4	5	6	7
1. T.fra	-						
2. P.rox.	16.835	-					
3. T.01	18.414	15.856	-				
4. T.02	18.317	15.794	0.509	-			
5. T.03	18.251	15.855	0.462	0.046	-		
6. T.08	18.060	15.924	0.648	0.230	0.184	-	
7. T.04	8.160	17.483	18.317	18.318	18.252	18.053	-

Bảng 5

Sự thay đổi trình tự giữa *P.n.nigripes* và *P.n.nemaeus*

A $\leftrightarrow$ G = 42	G $\leftrightarrow$ A = 32	C $\leftrightarrow$ T = 102	T $\leftrightarrow$ C = 105
A $\leftrightarrow$ T = 12	A $\leftrightarrow$ C = 12	C $\leftrightarrow$ A = 8	C $\leftrightarrow$ G = 2
T $\leftrightarrow$ A = 11	T $\leftrightarrow$ G = 1	G $\leftrightarrow$ T = 4	G $\leftrightarrow$ C = 2

Thay thế đồng hoán = 284. Thay thế dị hoán = 52

Trình tự ND3, tRNA^{Arg}, ND4L, ND4 và tRNA^{Ile} của T.01, T.02 và T.04 (dấu - biểu thị những trình tự giống với trình tự của T.02)

[illegible]

Bảng 7

Trình tự nuc-mtDNA của T.01 và T.02 (dấu - biểu thị trình tự giống với T.02)

T.02. Ins	ATTAATCTAGCATTAGCTCTAACAATTAATACCCCTCCTAACCCCTACTACTGATAATCATTATATTTTGGCTACCCCAACTCAGCTTCTAT	90
T.01. Ins	-----C-----	
T.02. Ins	GCAGAAAAAGCCAAACCCCTTACTAATGTGGATTTGACCCACTAACTCCGCTCGCATTCTTTCTCCATAAAATTTTCTAGTCGCCATC	180
T.01. Ins	-----G-----	
T.02. Ins	ACTTTCCTACTATTTCGACTTAGAAATTGCCCTGCTATTACCCCTGCCATGGGCTCTCCAAACAACAATCTTCCCATATAATCAAATCA	270
T.01. Ins	-----C-----	
T.02. Ins	TCAATTATATTAATCACTATTCTAACCCCTCAGCCTAGCCTATGAATGAACTCAAAGGGACTGGACTGAACTGAATTGGTAAGTAGTTTA	360
T.01. Ins	-----C-----	
T.02. Ins	AATAAAACAAATGATTCGACTCATTAGATTATGATAATCATACTAACCAAATGCCATTATTTACATAAATATTGCATTAGCATTCAACC	450
T.01. Ins	-----T-----	
T.02. Ins	ATTTCACTCCTAGGCATATTAACCTATCGCTCGCACCTAATATCATCCCTACTATGCCTAGAGGGAATAACTCTCCTATTATTCATA	540
T.01. Ins	-----C-----	
T.02. Ins	AGTACCCCTCATGGCCTTAAACATACACTTCCCCCTAGCTAATATTGTACCTATTGCCCTACTAGTATTGCGCGCTTGTGAAGCAGCAGTA	630
T.01. Ins	-----C-----	
T.02. Ins	GGCCTTGCCTTACTAATTTCAATCTCAAACACATATGGCCTAGACCAGSTCCACAACCTAAGCTTACTTCAATGTTAAAAATAATTTTTC	720
T.01. Ins	--T-----	
T.02. Ins	CCACAATTATGCTATTACCAACAACATGATTTTCCAAAAACAATATAATCTGAATTAACCTAACCACACACAGCTTAATTATCAGTCTCA	810
T.01. Ins	- -----	
T.02. Ins	TCCCCCTTCTATTCTTCAATCAAACCTAACAGCAACCTCATTAGCTATTCAACCTATTGTCTTCCGACCCATTAGCAACACCTCTTCTAA	900
T.01. Ins	-----	
T.02. Ins	CGTTAACTGCCTGACTCTTACCCCTCATAATTATAGCAAGCCAATATCATTGTCATAATGAAAGTCCTTTACGAAAAAACTTTATCTCT	990
T.01. Ins	-----	
T.02. Ins	CCATAATAATTTTCTACAAATTTCCCTAATCATAACATTTATAGCCACAGAATTAATCTTATTTTATTTCTTATTTGAAACTACCCCTCA	1080
T.01. Ins	-----	
T.02. Ins	TCCCCACCCCTAATTTATTATTACCCAATGAGGCAATCAAGCAGAAGCGCTCAATGCAAGTACATAGTTCCTATTCTATACATTAGCTGGCT	1170
T.01. Ins	-----	
T.02. Ins	CTCTCTCCTTACTGATTATATTAATACTTACACATAATAGTCTAGGCTCATTAAACATCACACTACTAACCTTACAGCCCCAAAACTAA	1260
T.01. Ins	-----A-----	
T.02. Ins	CAACCACCTGATCCCATAACTT-----GACTAGCATGCATAATAGCTTTCATAGTAAAAATACCCTTATATGGCCTACACTTATGGCTCC	1350
T.01. Ins	-----A-ACCT-----	
T.02. Ins	CTAAAGCCCACGCTGAAGCTCCCATTTGCCGGATCAATAGTTCTTGCCACAGTACTTTTAAACTGGGTGGCTATGGTATAATACGACTTA	1440
T.01. Ins	-----	
T.02. Ins	CCTCAATCTCAACCCCTGACAGAATACATAGCCTACCCCTTCTCATATTATCTCTATGAAGCATTATTATAACAAGCTCAACCTGCC	1530
T.01. Ins	-----	
T.02. Ins	TCCGACAAACGGACCTGAAATCACTTATCGCATACTCTCCATAAGCCACATAGCCCTGGTAATTATAGCCTCCCTCATCCAACTCCCT	1620
T.01. Ins	-----	
T.02. Ins	GAAGCTTTACTGGCGCTATTATCCTTATAATCGCTCATGGACTCACTTCATCTATACTATTCTGCCTAGCAAATTCAAATTATGAACGAA	1710
T.01. Ins	-----C-----	
T.02. Ins	CCCACAGTCGCATTATAATACTCTCTCGAGGACTTCAAACCCCTACTTCCACTGATAGCCTTCTGATGGTTCATGGCAAACCTCACCATC	1800
T.01. Ins	-----	
T.02. Ins	TAGCCCTACCCCCACTATTAATCTAATTGGGAGAACTATTAGTAGTAATAACTTCATTTTCTTGGTCACACATTACCATTATATTACAG	1890
T.01. Ins	-----	
T.02. Ins	GACTAAATATACTAATCACTGCCCTTTATTCCTTACACATATTCATTACAACACAATGAGGAATACTCACCTCTCACATCATCAACATAA	1980
T.01. Ins	-----	
T.02. Ins	AACCTTCCTTCACATGAGAAAACTAATAATTATACATATCTCCCCCTATTATTCTTCTGTCCCTCA-----	2070
T.01. Ins	-----C-----	
T.02. Ins	-ACCCCTTGTAATATAGTTTAACTAAACATTAGATTGTGAATCTAAACATAGAAGCCCACTTCTTATTATACCG	2148
T.01. Ins	-----	

III. KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

- Voọc vá chân xám có quan hệ họ hàng rất gần với Voọc vá chân đỏ, vì vậy việc xếp Voọc vá chân xám như một phân loài của Voọc vá chân đỏ là có cơ sở khoa học.

- Sự phân hóa về cấu trúc di truyền giữa Voọc vá chân đen và Voọc vá chân đỏ là hết sức sâu sắc, hơn cả mức độ phân hóa cấu trúc di truyền giữa Voọc vá chân đen và một số loài trong giống *Trachypithecus*, vì vậy chúng là hai loài riêng biệt và có thể không phải là hai loài đơn phát sinh.

- Tính đa hình trong cấu trúc di truyền có thể là tương đối thấp ở Voọc vá chân đỏ và rất thấp ở Voọc vá chân đen.

- Lần đầu tiên, một dãy gen giả bao gồm tRNA^{Gly}, ND3, tRNA^{Arg}, ND4L, ND4, tRNA^{His}, tRNA^{Ser}, tRNA^{Leu} đã được phát hiện ở Voọc vá chân đỏ và Voọc vá chân xám, cũng như ở họ Colobidae nói chung.

Voọc vá Việt Nam hiện có phân bố hẹp, cơ quần thể nhỏ, nhưng có vốn di truyền rất khác biệt, vì vậy chúng có giá trị bảo tồn cao. Cần khẩn trương nghiên cứu voọc vá, cũng như các loài voọc quý hiếm khác, để tạo cơ sở khoa học cho chiến lược bảo tồn chúng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Avise J. C.**, 1994: Molecular markers, natural history and evolution. Chapman and Hall, New York.

2. **Fooden J.**, 1996: Zoogeography of Vietnamese primates. International Journal of Primatology. Vol. 17, No. 5, 845 - 899.

3. **Groves C. P.**, 1989: A theory of human and primate evolution. Clarendon press. Oxford.

4. **Hillis D. M., Mritz C. and Mable B. K.**, 1996: Molecular systematics. Sinauer associate. USA.

5. **Melnick D. J. and Hoelzer G. A.**, 1993: What is mtDNA good for in the study of primate evolution ? Evol. Anthropol. No.2: 191 - 199.

6. **Melnick D. J., D. T. The et al.**, 2000: Reconstructing the evolutionary history of Asian primates using mitochondrial, Y-chromosome and autosomal DNA sequences. Columbia University, New York.

7. **Wang W. et al.**, 1997: A phylogeny of chinese leaf monkeys using mitochondrial ND3-ND4 gene sequences. International Journal of Primatology. Vol. 18, No.3, 305-320.

GENETICAL RELATIONSHIP AMONG VIETNAMESE DOUC LANGURS BASED ON MITOCHONDRIAL DNA SEQUENCES

DANG TAT THE, LE XUAN CANH

SUMMARY

We have analyzed the mitochondrial ND3, ND4L, ND4, tRNA^{Arg} and tRNA^{His} gene sequences from red-shanked douc langur (*Pygathrix nemaneus nemaneus*), grey-shanked douc langur (*P.n.cinereus*) and black-shanked douc langur (*P.n.nigripes*). Our results indicate that *P.n.cinereus* is genetically very close to *P.n.nemaneus* and represents as subspecies. The large genetic distance between *P.n.nigripes* and *P.n.nemaneus* suggests that they are valid species. *P.n.nigripes* is closer to *Trachypithecus* than to *Pygathrix*. The gene polymorphism is rather low between *P.n.nemaneus* individuals and very low for *P.n.nigripes* individuals as well.

This is first time we have found pseudogenes of tRNA^{Gly}, ND3, tRNA^{Arg}, ND4L, ND4, tRNA^{His}, tRNA^{Ser}, tRNA^{Leu} genes that inserted in the cell nuclear from *P.n.nemaneus* and *P.n.cinereus*.

Ngày nhận bài: 16-12-1999

TÁC DỤNG CỦA MOMOSERTATIN ĐẾN PROTEINAZ NGOẠI BÀO CỦA VI KHUẨN MỦ XANH *PSEUDOMONAS* PHÂN LẬP TỪ MỦ BÔNG

PHAN THỊ HÀ, PHẠM THỊ TRẦN CHÂU

Trung tâm Công nghệ sinh học, Đại học Quốc gia Hà Nội

Momosertatin là chế phẩm protein proteinaz inhibitor (PPI) tách từ hạt gấc (*Momordica cochinchinensis*) có chứa ít nhất 6 chất ức chế trypsin (TI) và các dạng đồng đẳng (isoform) [6]. **Momosertatin** (*Mos*) làm giảm tác dụng phá hoại của sâu hại rau và ức chế hoạt động proteinaz của một số loại sâu hại rau [2]. Các nghiên cứu ban đầu của chúng tôi đã thông báo *Mos* có tác dụng ức chế sinh trưởng của các vi sinh vật [16] bao gồm cả vi sinh vật phân lập từ mủ bông như vi khuẩn mủ xanh (*Pseudomonas aeruginosa*) và tụ cầu vàng (*Staphylococcus aureus*). Vi khuẩn mủ xanh gây các nhiễm trùng có mủ mầu xanh ở vết thương, vết bỏng v.v.... Tần suất gặp vi khuẩn mủ xanh và tụ cầu vàng trong các mẫu bệnh phẩm bỏng rất cao [1]. Theo Lê Thế Trung [8], bỏng nhiễm vi khuẩn mủ xanh chiếm tỷ lệ 16 - 36% các trường hợp xét nghiệm. Tuy nhiên phần lớn thuốc kháng sinh đã bị vi khuẩn này kháng lại.

Mặc dù đã có nhiều công trình nghiên cứu proteinaz của *Pseudomonas* phân lập từ các bệnh phẩm khác nhau nhưng chúng tôi chưa tìm thấy công trình nào nghiên cứu proteinaz của *Pseudomonas* phân lập từ mủ bông. Các chủng thuộc *Pseudomonas* có thể sinh tổng hợp nhiều proteinaz khác nhau: proteinaz kiềm (3.4.24.40), collagenaz (3.4.24.3), elastaz (một proteinaz trung tính 3.4.24.26), peptidil - Asp metaloproteinaz (3.4.24.33), proteinaz trung tính. Proteinaz cacboxil không nhạy với pepstatin [12]. Mới đây lại phát hiện được một metaloproteinaz khác định vị ở mặt ngoài màng ngoài tế bào, khác với các enzym đã được biết về tính đặc hiệu [4].

Công trình này nhằm tìm hiểu các proteinaz của *Pseudomonas* No.1 phân lập từ mủ bông, cơ

chế tác dụng của *Mos* đến sinh trưởng của vi khuẩn này nhằm góp phần vào nghiên cứu tìm hiểu về triển vọng sử dụng *Mos* trong phòng chống và điều trị nhiễm vi khuẩn *Pseudomonas*.

I. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Mủ bông do Đỗ Lương Tuấn ở Viện bỏng Quốc gia Lê Hữu Trác cung cấp; vết bỏng nhiệt, bỏng độ II và độ III (theo phân loại bỏng của Lê Thế Trung [8]) chưa điều trị một loại thuốc nào, được quét vào tâm bỏng vô trùng sau đó bỏ vào ống nghiệm vô trùng và đem về phòng thí nghiệm.

Phân lập vi khuẩn từ mủ bông (do Bảo tàng Giống chuẩn Vi sinh vật, TT CNSH-ĐHQGHN xác định). *Pseudomonas* No.1 (Pseu No.1) được nuôi cấy ở môi trường thạch thường, cấy chuyển sang môi trường dịch thể có thành phần như sau (g/l): pepton: 5,0; cao thịt: 3,0; NaCl: 1,5; pH: 7,0; lắc 220 vòng/phút, ở 37°C.

Thử tác dụng ức chế sinh trưởng của vi sinh vật: trộn vi khuẩn kiểm định vào môi trường thạch thường, sau khi thạch đông, khoan lỗ, nhỏ dung dịch Momosertatin vào các lỗ.

- Xác định hàm lượng protein theo Lowry [9]; xác định hoạt độ proteinaz theo Anson cải tiến [14]; xác định hoạt độ ức chế proteinaz như đã mô tả trước đây [2].

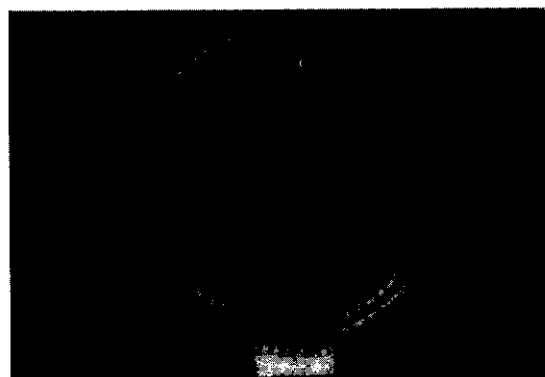
- Điện di protein theo Laemmli [7]; điện di phát hiện proteinaz theo Heussen và Dowdle [5].

II. KẾT QUẢ

1. Thử tác dụng của *Mos* đến sinh trưởng của *Pseudomonas* sp. No.1 (Pseu No.1):

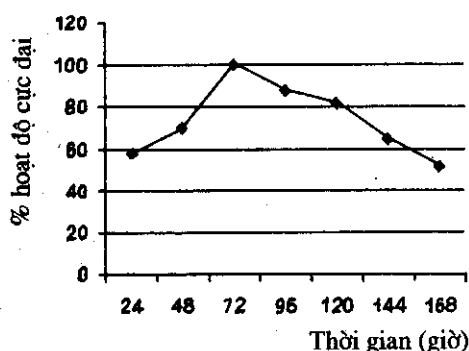
Các chữ viết tắt: DMT: dịch môi trường nuôi cấy; *Mos*: Momosertatin; PA: hoạt độ của proteinaz; PAG: gel poliacrilit; P: proteinaz của Pseu No.1; PPI: protein ức chế proteinaz; Pseu No.1: *Pseudomonas* sp. No.1. TI: chất ức chế trypsin

Kết quả trên ảnh 1 cho thấy sau 48 giờ nuôi cấy xung quanh giếng Mos có vòng vô khuẩn rõ rệt. Điều đó chứng tỏ Mos ức chế mạnh sinh trưởng của *Pseudomonas*. Trong chế phẩm Mos có chứa TI có cấu trúc vòng là MCoTI-I và -II, hơn nữa trên bề mặt phân tử MCoTI-II có phân kỵ nước và cationic [6], mà theo một số tác giả đây cũng là cấu trúc đặc trưng của các peptit có hoạt tính kháng khuẩn. Do đó chúng tôi đã tiến hành nuôi cấy *Pseudomonas* trong môi trường dịch thể để thu nhận enzym. Tuy nhiên sau 72 giờ, vi khuẩn bắt đầu phát triển ở bờ mép vòng vô khuẩn.



Ảnh 1. Tác dụng của Momosertatin đến sự sinh trưởng của vi khuẩn Pseu No.1 phân lập từ mũ bông

2. Xác định thời gian nuôi cấy đạt được PA cao nhất:



Hình 1. Sự biến đổi PA theo thời gian nuôi cấy Pseu No.1

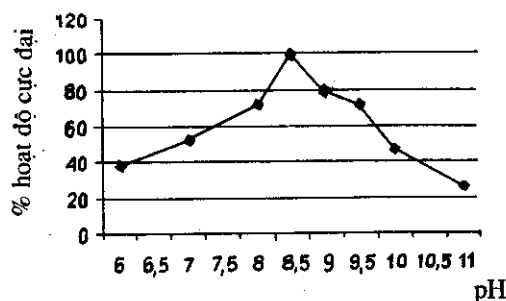
Kết quả trên hình 1 cho thấy sau 72 giờ nuôi cấy PA đạt cao nhất: 1 ml dịch môi trường có 0,16 đơn vị PA, 3,73 mg protein. Dịch môi trường nuôi cấy ở 72 giờ được sử dụng trong các nghiên cứu tiếp theo.

3. Xác định pH thích hợp, nhiệt độ thích hợp:

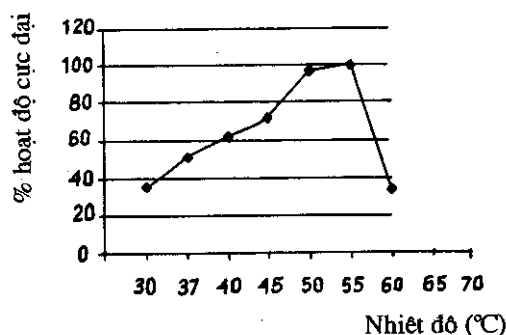
Đã tiến hành xác định PA ở pH 6-11, kết quả cho thấy PA đạt cực đại ở pH 8,5 (hình 2). Ở điều kiện này, PA cao nhất ở nhiệt độ 50 - 55°C (hình 3).

4. Xác định độ bền nhiệt:

Sau khi xử lý dung dịch enzym ở 60°C trong 32 phút, PA còn lại 50% PA ban đầu, nói cách khác $t_{1/2}$ bằng 32 phút (hình 4).



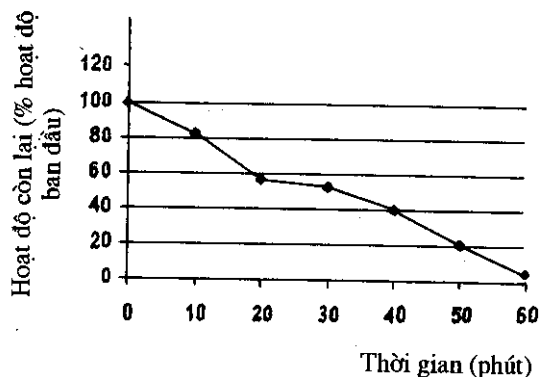
Hình 2. Ảnh hưởng của pH môi trường phản ứng enzym đến PA



Hình 3. Ảnh hưởng của nhiệt độ phản ứng enzym đến PA

5. Ảnh hưởng của các ion kim loại và các chất ức chế đặc hiệu đến PA:

Dùng phương pháp bán định lượng để sơ bộ

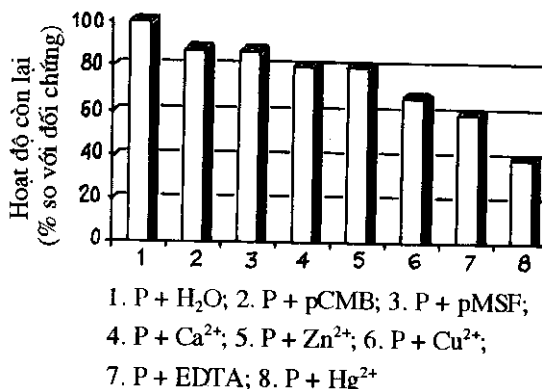


Hình 4. Ảnh hưởng của thời gian xử lý ở 60°C đến PA

xác định ảnh hưởng của 8 chế phẩm PPI ức chế proteinaz xerin khác nhau: TI từ đậu tương, contrical, AT-04 (contrical do chúng tôi sản xuất, sản phẩm của đề tài KC-08-04, giai đoạn 1991-1995) Mos, và các chế phẩm tinh sạch từ Mos (MCoTI-I, -II, -III, -IV). Kết quả cho thấy trừ TI của đậu tương, tất cả các chế phẩm đều ức chế PA của Pseu No.1 ở các mức độ khác nhau, MCoTI-III ức chế mạnh nhất. Tiếp tục xác định hoạt độ ức chế theo phương pháp Anson cải tiến cho thấy: ở những điều kiện xác định (ủ enzym với chất ức chế trong 10 phút ở 30°C), Mos hoặc MCoTI-III ở nồng độ cao đến 15,6 IU cũng chỉ làm giảm hơn 60% hoạt độ enzym. Như vậy còn khoảng hơn 30% PA tổng số không bị ức chế, PA này có lẽ thuộc về các nhóm proteinaz khác với proteinaz xerin. Vì vậy chúng tôi đã nghiên cứu ảnh hưởng của một số chất ức chế khác. Kết quả cho thấy EDTA với nồng độ 10^{-3} M ức chế khoảng 40% PA của DMT (hình 5), điều đó chứng tỏ có proteinaz cần kim loại. Morihara [10], Morihara và Tsuzuki [11] đã giả thiết là proteinaz kiềm của *Pseudomonas aeruginosa* cần canxi để duy trì cấu trúc; enzym này cũng được xếp vào nhóm endopeptidaz chứa kẽm [15]. Tuy nhiên cũng có thể do Pseu No.1 có cả proteinaz trung tính như đã được phát hiện ở *P. aeruginosa*. Metaloproteinaz trung tính ở *P. aeruginosa* còn gọi là pseudolysin, có số ký hiệu trong bảng phân loại enzym năm 1992 là 3.4.24.26.

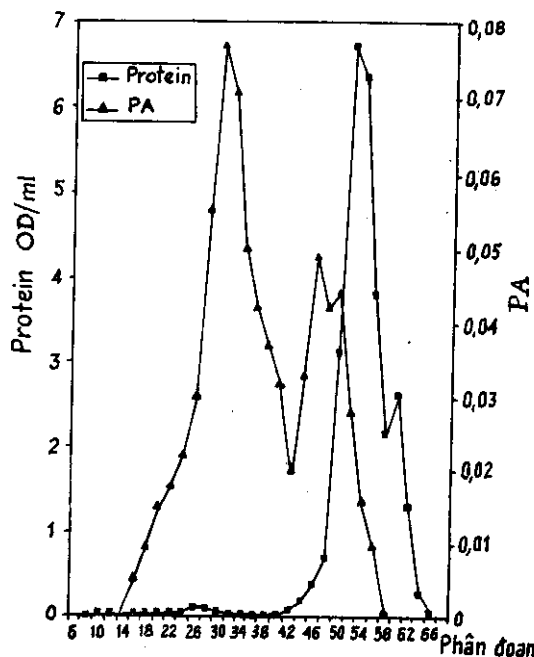
EDTA chỉ làm giảm 40% PA tổng số, $HgCl_2$ làm giảm khoảng 60% PA chứng tỏ còn có proteinaz khác, có thể là proteinaz-tiol, proteinaz kiềm không cần kim loại, proteinaz axit (proteinaz-cacboxyl).

Để làm sáng tỏ vấn đề này chúng tôi đã tiến hành tách từng phần các enzym bằng phương pháp sắc ký cột, điện di trên PAG có cơ chất để phát hiện các băng PA, thử tác dụng của các chất ức chế, để phát hiện các proteinaz thuộc các nhóm khác nhau.



Hình 5. Ảnh hưởng của một số ion kim loại và các chất ức chế đặc hiệu

6. Sắc ký qua cột Sephadex G-75 (hình 6):



Hình 6. Sắc ký đồ qua cột Sephadex G-75 dịch môi trường nuôi cấy *Pseudomonas*

Kích thước cột: 1,0×50 cm;

Đệm chạy: Tris-HCl, pH = 8, 0,05M

Tốc độ chảy: 15 ml/giờ;

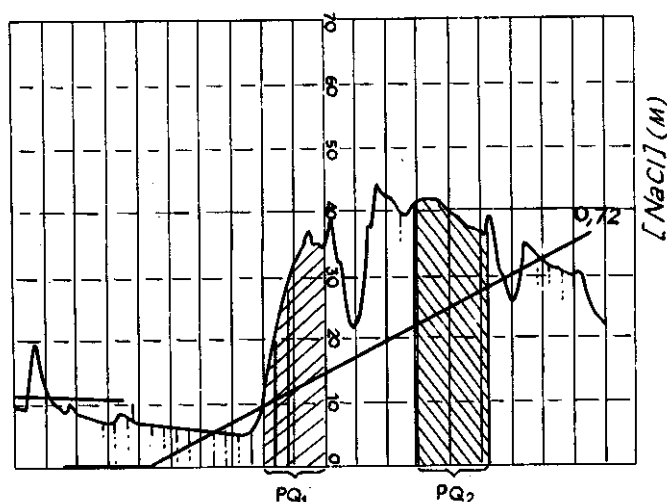
Thể tích mỗi phân đoạn: 1 ml

Sắc ký đồ trên hình 6 cho thấy từ dịch môi trường nuôi cấy Pseu No.1 đã tách được một số đỉnh PA, có thể phân biệt thành 2 vùng đỉnh PA rõ rệt, đỉnh PA chủ yếu (PA_1) được rút xuống trước được nghiên cứu tiếp tục.

7. Điện di PAG phát hiện các băng PA:

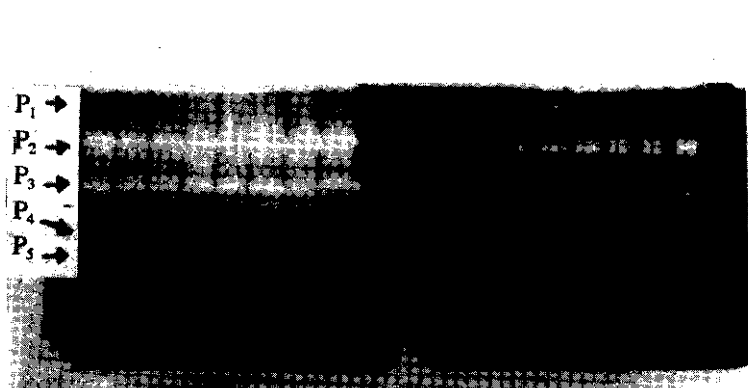
Sau khi điện di đã ủ gel ở pH 8,5 (pH opt) đã phát hiện được từ dịch môi trường nuôi cấy Pseu No.1 ít nhất 3 vùng băng PA và 2 băng rõ rệt (ảnh 3) ký hiệu là P_1 , P_2 , P_3 , P_4 , P_5 theo thứ tự độ di động tăng dần (ảnh 2a). Đỉnh PA_1 nhận được sau khi sắc ký qua cột Sephadex G-75 (ảnh 2b) vẫn còn các vùng băng chính tương ứng với các vùng băng P_1 , P_2 , P_3 của dịch môi trường nhưng vùng băng P_3 đã được tách thành 3 băng rõ hơn. Như vậy PA_1 vẫn chưa được tinh sạch hoặc có thể chằng proteinaz này có cấu trúc bậc 4, khi có SDS bị phân ly thành các phân dưới đơn vị (pddv) và mỗi phần này vẫn còn hoạt tính ?.

Để tìm hiểu thêm về thành phần proteinaz ngoại bào của Pseu No.1, sau khi điện di DMT, PA_1 đã ủ gel ở pH 4,0 đã phát hiện thêm 1 băng PA ở giữa vùng băng P_2 và P_3 (ảnh 3). Như vậy có thể vì proteinaz này hoạt động mạnh ở vùng axit nên khi ủ ở pH trung tính hoặc pH kiềm đã không phát hiện được. Proteinase cacboxyl (proteinaz axit) nhạy với pepstatin cũng đã được phát hiện ở *Pseudomonas* sp. No.101 [12]. Từ các kết quả trên có thể thấy dịch môi trường nuôi cấy *Pseudomonas* phân lập từ mũ bông có chứa ít nhất 6 băng hoặc vùng băng PA (6 proteinaz).



Hình 7. Sắc ký đồ PA_1 qua cột Mono Q, FPLC

Dung dịch cân bằng và rút protein: Đệm A: Tris-HCl 0,05 M; pH 8,0; Đệm B: 2 M NaCl trong dung dịch đệm A; Gradient: 0-50%B; Tốc độ chảy: 0,3 ml/phút; Thể tích mỗi phân đoạn 0,6 ml; Độ nhảy: 0,2; Tốc độ di chuyển của giấy 2 mm/phút.



Ảnh 2. Điện di đồ proteinaza trên PAG

a. Dịch môi trường nuôi cấy (DMT)

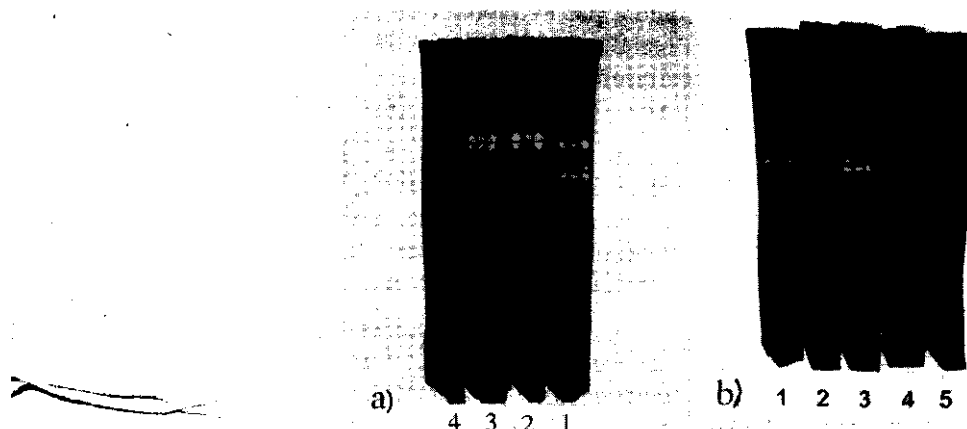
b. PA_1 nhận được sau khi sắc ký DMT qua cột Sephadex G-75



Ảnh 3. Điện di đồ PA trên PAG khi

ủ gel trong dung dịch đệm pH 4

a: DMT; b: PA_1



Ảnh 4. Điện di đồ PA của PQ₁ (a) và PQ₂ (b) trên PAG có gelatin
 (a) 1. PQ₁ + H₂O; 2. PQ₂ + EDTA 3. PQ₁ + Hg²⁺; 2. PQ₁ + Mos;
 (b) 1. PQ₂ + PCMB; 2. PQ₂ + Mos; 3. PQ₂ + H₂O 4. PQ₂ + TI đậu tương; 5. PQ₂ + PMSF

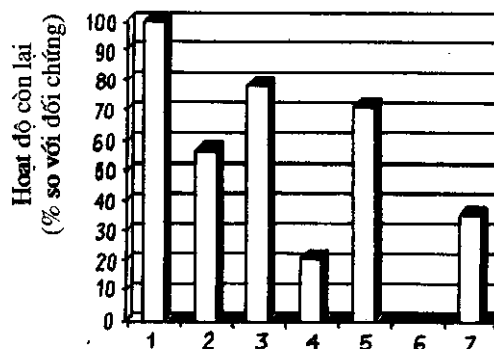
Do PA₁ còn có nhiều băng PA nên đã tiến hành tinh sạch tiếp tục qua FPLC, cột Mono Q. Kết quả đã nhận được 2 vùng đỉnh, ký hiệu PQ₁ và PQ₂ (hình 7). Điện di trên PAG có cơ chất, từ PQ₁ đã phát hiện được 3 băng PA (ảnh 4a) tương ứng với vùng P₃ (ở ảnh 2) và băng P₄. Một trong 3 băng của PQ₁ cũng không phát hiện được khi xử lý gel với EDTA hoặc HgCl₂. Khi ủ gel với Mos đã không phát hiện được băng PA nào (ảnh 4a). Trong cùng điều kiện điện di, mẫu PA₂ có 1 băng PA (ảnh 5) ứng với P₃ (ảnh 2), băng này cũng hầu như không phát hiện được khi xử lý với Mos hoặc TI đậu tương. Phải chăng đây là proteinaz xerin như đã được phát hiện ở *Pseudomonas aeruginosa* [3].

Như vậy trong số các proteinaz kiềm, bằng phương pháp điện di trên PAG có cơ chất đã tách riêng được proteinaz nhạy với EDTA và HgCl₂ (băng C của PQ₁) và proteinaz không nhạy cảm với EDTA và HgCl₂ (PQ₂).

Tóm lại trong DMT nuôi cấy Pseu No.1 có ít nhất là 5 proteinaz (hoặc polipeptit có PA) kiềm có hoạt tính phân giải gelatin, 3 trong số này không bị ức chế bởi EDTA, HgCl₂; 2 enzym khác có thể là metaloproteinaz.

Nhìn chung lại có thể thấy "bộ" proteinaz ngoại bào của Pseu No.1 khá đa dạng và tương ứng với *Pseudomonas aeruginosa*. Điều quan trọng là phần lớn proteinaz của Pseu No.1 bị ức chế bởi Mos, nên đã không sử dụng được nguồn protein từ môi trường để cung cấp các chất dinh dưỡng cần thiết cho sự sinh trưởng của vi khuẩn.

Đó có thể là nguyên nhân chính dẫn đến tác dụng ức chế sinh trưởng của Pseu No.1 dưới tác dụng Mos. Tuy nhiên do sự đa dạng của các proteinaz ở Pseu No.1 như đã phát hiện được do đó còn một lượng ít các proteinaz khác không bị ức chế bởi Mos vẫn tiếp tục hoạt động nên đã có hiện tượng sau 72 giờ vi khuẩn bắt đầu phát triển ở bờ mép vòng vô khuẩn mặc dù rất chậm (như đã nêu ở 3.1). Như vậy, muốn ức chế có hiệu quả có lẽ phải phối hợp Mos với chất khác như EDTA và HgCl₂.



Hình 8. Ảnh hưởng của một số chất ức chế đến PA của DMT

1. P + H₂O + H₂O; 2. P + MCoTI-III + H₂O
3. P + Hg²⁺ + H₂O; 4. P + MCoTI-III
5. P + EDTA + H₂O; 6. P + EDTA + MCoTI-III
7. P + EDTA + Hg²⁺

Thí nghiệm sơ bộ cho thấy quả thật khi dùng hỗn hợp Mos (hoặc MCoTI-III) và EDTA,

HgCl₂ hoặc Mos với HgCl₂ tác dụng ức chế của Mos hoặc MCoTI-III tăng lên rõ rệt (hình 8).

III. KẾT LUẬN

1. Trong điều kiện thí nghiệm này, PA của dung dịch môi trường nuôi cấy *Pseudomonas* sp. No.1 phân lập từ mũ bông cực đại vào khoảng 72 giờ nuôi cấy.

2. PA tổng số của DMT mạnh nhất ở pH 8,5, nhiệt độ 50-55°C. Sau 30 phút xử lý DMT ở 60°C, PA của DMT bị giảm 50% so với ban đầu.

3. DMT có ít nhất 5 protein (polipeptit) có PA ở pH 8,5 (proteinaz kiềm) và 1 proteinaza axit có hoạt tính phân giải gelatin.

4. Momosertatin, MCoTI-III, Contrical, EDTA, HgCl₂ có tác dụng làm giảm mạnh PA của DMT. MCoTI-I, -II, -IV cũng làm giảm PA nhưng không mạnh.

5. Sử dụng phương pháp sắc ký qua cột Sephadex G-75, tái sắc ký qua cột Mono Q đã nhận được 2 đỉnh PA: PQ₁ và PQ₂. PQ₂ chỉ có 1 proteinaz kiềm (1 bằng PA trên PAG có gelatin) không nhạy với EDTA, HgCl₂; PQ₁ có 4 băng PA (trên PAG có gelatin) có thể là 4 proteinaz, 2 trong số này cần kim loại hóa trị 2 còn 2 proteinaz khác không cần các ion này (không bị ức chế bởi EDTA) các proteinaz này đều bị ức chế bởi Mos.

6. Để ức chế hoàn toàn proteinaz của Pseu No.1 cần sử dụng phối hợp Mos hoặc MCoTI-III với các chất ức chế khác.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nguyễn Đình Bảng, Đỗ Lương Tuấn, Phan Thị Trân Châu., 1999. Tạp chí sinh học 21(1b): 168-172.

2. Phạm Thị Trân Châu và cs., 2000: Tác dụng trừ sâu hại rau của chế phẩm Momosertatin tách từ hạt gấc (*Momordica cochinchinensis*). Tạp chí Khoa học, Khoa học Tự nhiên ĐHQG Hà Nội, XVI(1): 1-11.

3. Engel L. S., et al., 1998: Protease IV, a unique extracellular protease and virulence factor from *Pseudomonas aeruginosa*. J. Biol. Chem. 273: 16792-16797.

4. Fricke B., et al., 1994: Characterization

and purification of an outer membrane metalloproteinase from *P. aeruginosa* with fibrinogenolytic activity. Biochim. Biophys. Acta., 1454: 236-250.

5. C. Haussen, E. B. Dowdle, 1980: Electrophoretic analysis of plasminogen activator in polyclamine gels containing sodium dodecylsulfate and copolymerized substrates, Anal Biochem., 102: 196-202.

6. Jean-Francosis Hernandez, et al., 2000: Squash trypsin inhibitors from *Momordica cochinchinensis* contain an atypical macrocyclic structure, Biochemistry, 39: 5722-5730.

7. Laemmli U. K., 1970: Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T₄. Nature, 227: 680-685.

8. Le Thế Trung, 1996: Vietnamese experience in the treatment of burns. The Gioi Publishers, Hanoi 1996, 65.

9. Lowry O. H., et al., 1951: Protein measurement with the Folin phenol reagent, J. Biochem., 1993: 265-273.

10. Morihara K., 1957: Studies on the protease of *Pseudomonas*. Part II. Crystallization of the protease and its physico-chemical and general properties. Bull. Agric. Chem. Soc. Japan. 21: 11-18.

11. Morihara K., Tsuzuki H., 1964: *Pseudomonas aeruginosa* peptide peptidohydrolase, III some characters as a Ca²⁺ metalloenzyme. Biochim. Biophys. Acta, 92: 351-356.

12. Oda K, Nakatani H., Dunn BM., 1992: Substrate specificity and kinetic properties of pepstatin-insensitive carboxyl proteinase from *Pseudomonas* sp. No.101., Biochim. Biophys. Acta, 1120: 208-214.

13. Phạm Thị Trân Châu, Mai N. Toan, Tran Q. Tan, 1997: Effect of momosertatin on the growth and mortality of insect pests, *Plutella xylostella* (PX) and *Spodoptera litura* (SL). 17th International Congress of Biochemistry and Molecular Biology/1997 Annual Meeting of the American Society of Biochemistry and Molecular Biology. August 24-29, 1997, San Francisco, California. Program number 2130, A 1221.

14. Pietrova J. S., Wincjunajte M. M., 1966: Opređenje proteolititreskoi aktivnosti fermentirajućih preparatov mikrobiologi-treskovo proiskhozdenia (Nga). Priklad. Biochem. Microbiol., 2: 232.

15. Stocker W., et al., 1995: The metzincins-topological and sequential relation between the astacins, adamalysins, serralsins

and matrixins (collagenases) define a super family of zinc-peptidases. Protein Sci., 4: 823-840.

16. Tran Chau Pham, et al., 1998: Effect of Momosertatin on the growth of microorganisms. 8th FAOBMB congress, 22-27. November 1998. Kuala Lumpur, Malaysia, Abstracts C26.

EFFECT OF MOMOSERTATIN ON THE EXTRACELLULAR PROTEINASES OF *PSEUDOMONAS* ISOLATED FROM BURN WOUND PUS

PHAN THI HA, PHAM THI TRAN CHAU

SUMMARY

Momosertatin is a proteinaceous proteinase inhibitor (PPI) separated from the seeds of *Momordica cochinchinensis* which contains at least six inhibitors and isoforms. Three of them (MCoTI-I, -II, -III) have been sequenced. Momosertatin inhibits the growth of different microorganisms including *Pseudomonas* isolated from the burn wound pus (Pseu_w).

The cell-free liquid medium of Pseu_w was subjected to study on proteolytic activity (PA). The total PA was highest at pH 8.5, temperature 50-55°C; it lost 50% after treatment in 30 min, at 60°C. PA was strongly decreased in the presence of Momosertatin, MCoTI-III, HgCl₂ and also inhibited by CuCl₂, EDTA, MCoTI-I, MCoTI-II, AT-04.

The fractionation of Pseu_w proteinase prepared on Sephadex G-75 column, FPLC (with Mono Q column) has obtained two PA peaks: PQ₁ and PQ₂.

Using PAGE containing gelatin, PQ₁ has showed 4 PA bands while PQ₂ only one PA band. All PA bands of PQ₁ and PQ₂ have disappeared or left only a trace after soaking the PAG in the buffer solution containing Momosertatin and incubated 6 hrs at 35.5°C; the intensity of PA band of PQ₂ has also decreased after treatment the gel with soybean TI in the same condition.

The obtained results suggest that, using MCoTI-III in combination with other inhibitors of metalloproteinases such as EDTA, could be developed into a medication designed tissue damage during *Pseudomonas* infection.

Ngày nhận bài: 6-12-1999

ĐẶC ĐIỂM SINH HỌC CỦA VI KHUẨN QUANG HỢP PHÂN LẬP TỪ MỘT SỐ THỦY VỰC BỊ Ô NHIỄM HỮU CƠ Ở VIỆT NAM

ĐỖ THỊ TỔ UYÊN, TRẦN VĂN NHỊ

Viện Công nghệ sinh học

Vi khuẩn quang hợp (VKQH) là nhóm vi sinh vật tiên nhân sống quang dưỡng nhưng không thải oxi quang hợp vì trong quá trình đó chúng chỉ có thể sử dụng các hợp chất khử của lưu huỳnh, hydro phân tử hay các axit hữu cơ đơn giản làm nguồn cho điện tử (thay cho nước như ở các sinh vật quang dưỡng khác) [1].

Nhiều đại diện VKQH có khả năng cố định nitơ phân tử, thải H_2 , có khả năng tổng hợp nhiều hợp chất có hoạt tính sinh học cao và có thể phân hủy được nhiều cơ chất khó phân hủy sinh học hay độc hại [2, 3].

Ở nhiều nước trên thế giới, đối tượng này đã được bắt đầu nghiên cứu từ đầu thế kỷ này. Trong những năm gần đây chúng được coi là đối tượng có triển vọng ở nhiều lĩnh vực như nông nghiệp, y dược học, công nghệ môi trường ... [2, 3].

Ở nước ta, nghiên cứu VKQH mới được khởi đầu với một số chủng tìm thấy ở khu vực Hà Nội [4, 5]. Tuy nhiên để có được tập đoàn VKQH nhằm bảo vệ nguồn tài nguyên đa dạng sinh học và ứng dụng vào sản xuất, việc điều tra thu thập, nghiên cứu các đặc điểm sinh học của chúng một cách hệ thống cũng cần phải được đặt ra.

I. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

VKQH phân bố khá rộng, đặc biệt là ở các thủy vực ô nhiễm hữu cơ nặng, chứa hàm lượng sunfua cao. Chúng tôi tiến hành thu thập bùn và nước ở các thủy vực tích tụ nước thải: từ lò mổ (tại huyện Từ Liêm - Hà Nội); từ cơ sở chế biến dong riềng sản xuất miến (tại Hoài Đức - Hà Tây) và chế biến tinh bột sản xuất rượu (tại Việt Yên - Hà Bắc). Nước và mẫu bùn còn thu được từ các ao hồ tù đọng tại một số làng tắm,

các cống thải của thành phố Huế đổ ra sông Hương và đầm, ao nuôi tôm nước lợ ở Thừa Thiên-Huế và Nha Trang.

-VKQH được nuôi tích lũy theo phương pháp Vinogradski [6] trên môi trường nuôi vi khuẩn quang hợp lưu huỳnh [7] hoặc môi trường nuôi vi khuẩn không lưu huỳnh [8]. Quá trình phân lập được tiến hành theo phương pháp cấy ống thạch pha loãng [9].

-Môi trường AT [9] được sử dụng để giữ giống (trong ống thạch bán lỏng) và nuôi cấy (trong môi trường lỏng).

-Hình thái và cấu trúc tế bào được quan sát trên kính hiển vi nền sáng Laboval 4 (Đức) với độ phóng đại $\times 1000$.

-Khả năng tích lũy sinh khối được đánh giá theo độ gia tăng mật độ quang học của huyền dịch tế bào ở bước sóng $\lambda = 660 \text{ nm}$ (OD_{660}).

-Thành phần sắc tố VKQH được nghiên cứu bằng phương pháp quang phổ hấp thụ của huyền dịch tế bào sống trong dung dịch 40 - 60% glyxerin (để giảm tán xạ ánh sáng) của dịch chiết bằng hỗn hợp dung môi hữu cơ [10].

-Hàm lượng protein của vi khuẩn được xác định theo Lowry [11].

-Hoạt tính cố định nitơ được xác định theo khả năng khử C_2H_2 thành C_2H_4 [12].

II. KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

1. Kết quả phân lập:

Từ các mẫu bùn và nước ở các địa bàn đã nêu trên, chúng tôi đã phân lập và thu được 33 chủng VKQH, trong số đó có 5 chủng từ các thủy vực nước lợ (10-15% NaCl) và số chủng còn lại nhận được từ các thủy vực nước ngọt.

Trong quá trình thu mẫu, các thủy vực bị ô nhiễm hữu cơ nặng được chú trọng nên phần lớn các chủng đã phân lập sinh trưởng được trên môi trường chứa nguồn cacbon hữu cơ [8]. Tuy vậy cũng có một số chủng như T12, T11, T30, T31, T32 phân lập được trên môi trường chỉ chứa CO₂ làm nguồn cacbon duy nhất [7]. Các chủng phân lập được đều ưa sống ngoài sáng trong điều kiện kỵ khí, có khả năng sống vi hiếu khí. Theo đặc điểm hình thái tế bào, có thể chia tập hợp các chủng VKQH thu nhận được thành 4 nhóm chính:

Nhóm I: Tế bào hình trứng hay ellip rộng 1,5 – 4 µm, hạt lưu huỳnh dự trữ trong tế bào, chuyển động, phân bào theo kiểu phân đôi. Đây là đặc điểm đặc trưng của chi Chromatium [13]. Nhóm này bao gồm các chủng: T30, T31, PK, TA1, TA2, T43 và T44.

Nhóm II: Tế bào hình gậy, phân cực, chuyển động và không chứa hạt lưu huỳnh trong tế bào, chiều dài 4-6 µm. Theo khóa phân loại Bergey [13], chúng có thể thuộc chi Rhodospseudomonas. Nhóm này bao gồm các chủng: T4, Vq, T36, T37, T38, T42.

Nhóm III: Tế bào hình gậy, chiều dài 2-4 µm, không chứa hạt lưu huỳnh dự trữ trong tế bào, chuyển động và phân bào theo kiểu phân

đôi. Dựa theo khóa phân loại Bergey, chúng có thể thuộc chi Rhodobacter [13]. Nhóm này bao gồm các chủng: T1, T10, T8, T16, T19, T22, T26, T33, T39 và T41.

Nhóm IV: Tế bào hình xoắn có độ dài ngắn khác nhau tùy chủng, không chứa hạt lưu huỳnh dự trữ trong tế bào, chuyển động xoắn đặc trưng cho chi Rhodospirillum [13]. Đó là các chủng T6, T11, T27, T32, T34 và T35.

Ngoài các chủng được nêu trên còn có một số chủng ở dạng tập đoàn, tế bào hình cầu, chứa hạt lưu huỳnh dự trữ trong tế bào, không chuyển động như: Av, Rv và T43.

Tuy nhiên, sự phân chia theo nhóm vừa trình bày chủ yếu chỉ dựa vào các đặc điểm hình thái tế bào. Để có thể tiến tới sự phân nhóm chính xác hơn, việc nghiên cứu chi tiết một số đặc điểm cơ bản cần phải được tiến hành. Dưới đây sẽ trình bày kết quả nghiên cứu một số chủng đại diện cho các nhóm kể trên.

2. Đặc điểm của một số chủng VKQH đại diện:

a. Đặc điểm hình thái

Đặc điểm hình thái tế bào của bốn chủng đại diện được trình bày ở bảng 1.

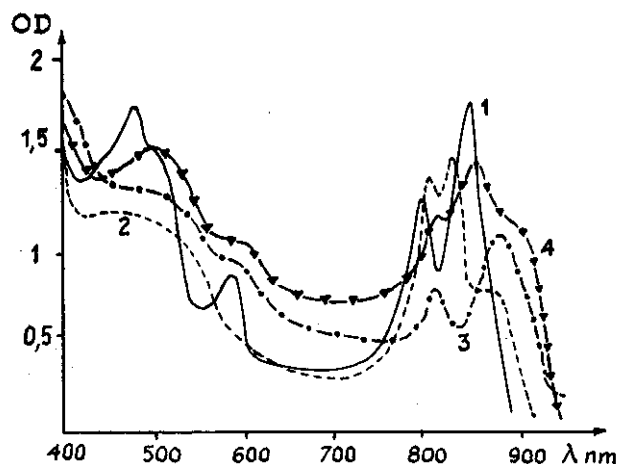
Bảng 1

Đặc điểm hình thái tế bào của một số chủng VKQH

Nhóm	Chủng đại diện	Đặc điểm, hình thái tế bào	Kiểu phân chia tế bào	Màu sắc huyền dịch tế bào
I	PK	Tế bào dạng ellip, rộng 2-3 µm, dài 3,5-5 µm, chứa hạt S trong toàn thân tế bào, chuyển động.	Phân đôi	Vàng nâu
II	T4	Tế bào dạng gậy, hai đầu không đều nhau, rộng 0,7 – 1 µm, dài 4 – 6 µm, các tế bào chuyển động tiến tới chụm đầu với nhau, không tích lũy hạt S dự trữ trong tế bào.	Sinh trưởng phân cực	Đỏ
III	T22	Tế bào dạng gậy, kích thước 0,5-7 × 2 – 3 µm, chuyển động nhanh, không chứa S trong tế bào.	Phân đôi	Đỏ hồng
IV	T35	Tế bào dạng xoắn, kích thước 0,7 – 1 × 7 – 10 µm, chiều dài tế bào tùy thuộc vào số vòng xoắn, không chứa hạt S trong tế bào, chuyển động xoắn.	Phân đôi	Đỏ nâu

b. Hệ sắc tố quang hợp

Từ ống thạch giống, các chủng VKQH được đưa vào môi trường lỏng để nuôi cấy trong điều kiện kỵ khí (không khí trong và trên môi trường được thay thế bằng khí nitơ). Sau 3 ngày dịch huyền phù tế bào có màu đặc trưng của từng chủng. Để đo được phổ hấp thụ huyền dịch tế bào vì khuẩn trên máy quang phổ không có bình cầu tích phân, chúng tôi đã áp dụng biện pháp giảm độ tán xạ của dịch đo bằng cách bổ sung glycerin đến 40 – 60% để biến đổi hệ số chiết quang của môi trường. Trên hình 1 trình bày quang phổ hấp thụ huyền dịch các vi khuẩn nghiên cứu.



Hình 1. Phổ hấp thụ huyền dịch tế bào của các chủng: PK: 1, T4: 2, T22: 3 và T35: 4

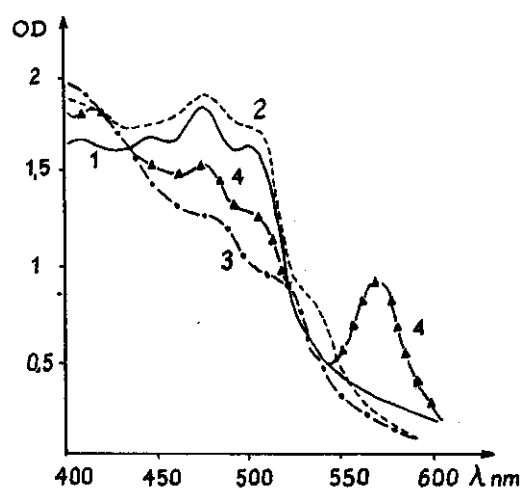
Bảng 2

Cực đại hấp thụ của huyền dịch tế bào nguyên và dịch chiết carotenoid của một số VKQH

Tên chủng	Cực đại hấp thụ (nm) của	
	Caroteinoid (dịch chiết)	Bchl (huyền dịch tế bào)
PK	445, 475, 505	795, 855
T4	470, 510, 530	800, 825, 875
T22	415, 490, 525	800, 875
T35	475, 505, 570	805, 835, 890

Kết quả thu được cho thấy, cả 4 chủng này đều chứa bacteriochlorophyll a (Bchl a) hấp thụ cực đại ở vùng từ 800 – 890 nm (bảng 2). Theo nhiều nhà nghiên cứu [14], ở vi khuẩn tia quang hợp tồn tại 3 phức hợp Bchl hấp thụ cực đại tại $\lambda = 805 - 810$; $850 - 860$ và 890 nm có chức năng sinh học khác nhau mặc dù cùng chứa một loại phân tử Bchl a (hấp thụ cực đại tại $\lambda = 770$ nm khi bị chiết vào dung môi hữu cơ). Sự khác nhau về quang phổ của phức hợp liên quan với trạng thái Bchl và thành phần của chúng [15]. Kết quả chúng tôi thu được cũng chỉ rõ sự khác nhau về cực đại ở trong vùng ánh sáng đỏ của phổ hấp thụ huyền dịch tế bào các chủng đại diện (hình 1, bảng 2).

Để tìm hiểu thành phần sắc tố thuộc nhóm carotenoid, đã tiến hành tách chúng bằng hỗn hợp dung môi hữu cơ và đo phổ hấp thụ của dịch chiết này. Kết quả được trình bày ở hình 2



Hình 2. Phổ hấp thụ carotenoid từ các chủng PK: 1, T4: 2, T22: 3 và T35: 4

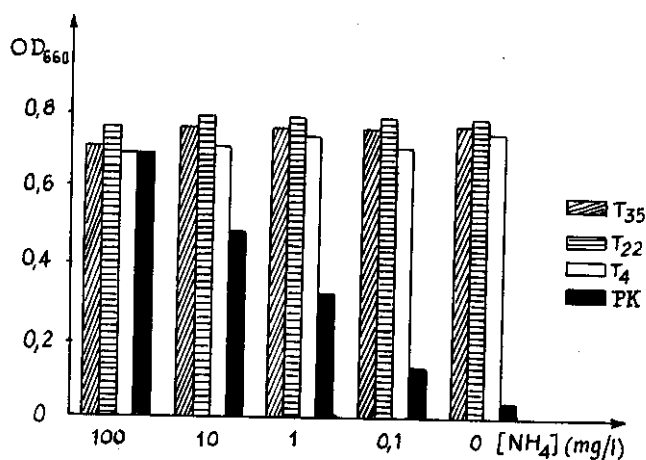
và bảng 2.

Từ các kết quả thu được có thể thấy: Dịch chiết từ chủng T4 có các cực đại hấp thụ tại $\lambda = 470, 510$ và 530 nm gần trùng với phổ hấp thụ của spirilloxanthin [10]. Kết hợp với đặc điểm này với đặc điểm hình thái có thể cho rằng chủng T4 thuộc loài *Rhodopseudomonas palustris* [13]. Dịch chiết từ chủng T22 có các cực đại hấp thụ tại $\lambda = 415, 490$ và 525 nm, có thể trùng với phổ hấp thụ của nhóm spheroidene [10], đặc trưng của chi Rhodobacter [13]. Dịch chiết của chủng T35 có các cực đại hấp thụ tại $\lambda = 475, 505$ và 570 nm, gần trùng với các cực đại hấp thụ của sắc tố P518 và spirilloxanthin [10]. Dựa vào đặc điểm này và đặc điểm hình thái có thể cho rằng T35 thuộc loài *Rhodospirillum rubrum* [13]. Dịch chiết từ chủng PK có các hấp thụ cực đại tại $\lambda = 445, 475$ và 505 nm, gần trùng với phổ hấp thụ của lycopene hay rhodopin [10]. Theo khóa phân loại Bergey, trong chi Chromatium chỉ có loài *C. wamlingii* thường sống ở nước ngọt và chứa carotenoid thuộc nhóm rodopinal [13]. Tuy nhiên khó có thể coi chủng PK thuộc loài này vì sự tích lũy hạt lưu huỳnh trong tế bào của chúng chỉ có ở hai cực mà không phân bố khắp tế bào như PK. Để có thể kết luận chính xác về chủng này cần phải tiến hành các nghiên cứu bổ sung.

c. Khả năng cố định nitơ phân tử

Để xác định khả năng cố định nitơ phân tử của các chủng, chúng tôi tiến hành giảm hàm lượng nitơ liên kết (NH_4^+) trong môi trường nuôi đến các mức độ khác nhau. Kết quả xác định khả năng tích lũy sinh khối được trình bày ở hình 3.

Từ hình 3 ta thấy rằng tích lũy sinh khối của 3 chủng T4, T22 và T35 hầu như không thay đổi khi giảm nồng độ NH_4^+ , trong khi đó sinh trưởng của chủng PK bị giảm dần theo nồng độ



Hình 3. Mức độ tích lũy sinh khối của các chủng vi khuẩn nghiên cứu trong môi trường chứa các nồng độ amôn khác nhau

NH_4^+ và dừng lại trong môi trường chứa $< 0,1$ mg NH_4^+ /l. Điều đó nói lên rằng trong bốn chủng nghiên cứu thì chủng PK không có khả năng sử dụng nitơ phân tử và 3 chủng còn lại có khả năng sử dụng nitơ dạng này cho sinh trưởng.

Để có thể thêm cơ sở cho kết luận đó, chúng tôi tiến hành xác định trực tiếp hoạt tính nitrogenaza của các chủng VKQH theo khả năng khử C_2H_2 thành C_2H_4 . Bốn chủng nghiên cứu được nuôi cấy ở chế độ lắc, dưới ánh sáng 3000 lux, trong môi trường có chứa một hàm lượng NH_4^+ hạn chế (1 mg NH_4^+ /l). Sau 3 ngày mẫu được lấy ra để xác định hoạt tính nitrogenaza. Kết quả được trình bày ở bảng 3.

Bảng 3

Hoạt tính nitrogenaza của một số chủng VKQH

Chủng VKQH	Hoạt tính nitrogenaza (nmC ₂ H ₄ /mgpro.ph)	
	Tối	Sáng
T4	0	86,5
T22	0	162,7
T35	0	118,3
PK	0	0

Từ bảng 3 ta thấy, ở điều kiện kỵ khí trong 4 chủng nghiên cứu một chủng không có hoạt tính nitrogenaza. Hoạt tính nitrogenaza xác định được ở các chủng còn lại phụ thuộc hoàn toàn vào ánh sáng. Kết quả này còn củng cố thêm giả định của chúng tôi về tên loài của 3 chủng vi khuẩn quang hợp: *Rhodopseudomonas palustris*, *Rhodospirillum rubrum* và *Rhodobacter* vì theo nhiều công bố trước đây [3, 16] các loài này cũng có khả năng cố định nitơ phân tử.

III. KẾT LUẬN

1. Đã thu nhận được 33 chủng VKQH trong đó có 5 chủng nước lợ và 28 chủng nước ngọt. Chúng có thể thuộc 4 chi: Chromatin, *Rhodopseudomonas*, *Rhodobacter* và *Rhodospirillum*.

2. Đại diện của 4 chi này: PK, T4, T22 và T35 chứa các carotenoid chính là rhodopin, spirilloxanthin, spheroidene và spirilloxanthin (tương ứng). Chúng đều chứa Bchl a nhưng ở tế bào sống sắc tố này nằm trong các phức hợp khác nhau ở mỗi loài.

3. Phát hiện được khả năng cố định nitơ phân tử ở 3 chủng T4, T22 và T35.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Van Gemerden H. in *Anoxygenic photosynthetic bacteria*, 1985: Ed. R. E. Blankenship et al. Kluwer Acad. Pub. Dordrecht/Boston/Lond: 49-85.
2. Sasikala C, Ramana C. V., 1995: *Advances in applied microbiology*. V.41: 49-85.
3. Sasikala C, Ramana C. V., 1995: : *Advances in applied microbiology*. V.41: 173-279.

4. Đỗ Thị Tố Uyên, Trần Văn Nhị, 1996: *Kỷ yếu annual report 1995*. Viện Công nghệ sinh học. NXB KHKT: 201-205.

5. Trần Văn Nhị, Đỗ Thị Tố Uyên, Nguyễn Thế Trang, 1998: *Kỷ yếu annual report 1995*. Viện Công nghệ sinh học. NXB KHKT: 394-399.

6. Schegel H. G., 1987: *Ovsaya microbiologia*. Mir. 567p. (Rus).

7. Eichler B., Pfennig N., 1988: *Archives of microbiology*. 49: 395-400.

8. Gest. H. et al., 1985: *FEMS Microbil. Ecol*. 31: 317-322.

9. Biebl H., Pfennig H., 1981: In *The prokaryotes A handbook on habitats isolation and identification of bacteria*. Springer Verlas. Berlin: 267-273.

10. Jensen S. L., 1963: *Acta chemica scandinavica*. 17: 303-312.

11. Lowry O. H. et al., 1951: *J. Biol. Chem.* V.193: 265-268.

12. Cosiak A. V., Gogotov I. N., 1978: *Microbiologia*. V.47, N.4: 605-610 (Rus).

13. Pfennig N., Truper H. G. in *Bergey's manual of systematic bacteriology*, 1989: V3. Williams and Wilkins. Baltimor: 1635-1709.

14. Thornber J. P. et al., 1971: *Photochem. Photobiol*. 14: 329-333.

15. Melvin et al., 1982: In *Photosynthesis. V1. Energy conversion by plants and bacteria*. Ed. Govindjee. Acad. Press.: 316-402.

16. Kondratieva E. H., Gogovov I. N., 1981: *Molecular hydrogen in metabolism of microorganisms*. Pub. House. Science Moscow (Rus).

BIOLOGICAL CHARACTERISTICS OF PHOTOSYNTHETIC BACTERIA ISOLATED FROM SEVERAL POLLUTED WATER-BODIES IN VIETNAM

DO THI TO UYEN, TRAN VAN NHI

SUMMARY

From water and sediment samples collected from several polluted water – bodies in various regions of Vietnam, 33 strains of photosynthetic bacteria (PSB) were isolated. According to morphological properties, they may belong to 4 genera: *Chromatin*, *Rhodopseudomonas*, *Rhodobacter* and *Rhodospirillum*. Study on the

(Xem tiếp trang 14)

ẢNH HƯỞNG CỦA PHÂN HÓA HỌC LÔNG CHỨA NITƠ ĐẾN MẬT ĐỘ SINH SẢN CỦA NHỮNG LOÀI CHIM LÀM TỔ TRÊN ĐẤT

VŨ KIM CẦU

Viện Công nghệ sinh học

Á. NÉMETH, I. HLUBIC, V. KERTÉSZ

Trường Đại học Nông nghiệp Godollo-Hungari

L. VÁRNAGY

Trường Đại học Nông nghiệp Pannon-Hungari

Tỷ lệ tăng dân số ngày càng cao trên thế giới trong khi diện tích đất canh tác nông nghiệp ngày càng giảm đi. Điều đó dẫn đến sự thúc đẩy biện pháp canh tác liên tục, và cũng do đó tiêu thụ phân hóa học ngày càng tăng ở Hungary và trên thế giới. Bên cạnh tăng tiêu thụ, tỷ lệ các loại phân sử dụng cũng có thay đổi. Trong những năm thuộc thập kỷ 50 và 60, tiêu thụ các loại phân chứa nitơ và photpho là bằng nhau, ngày nay chúng ta tiêu thụ phân nitơ nhiều hơn.

Như chúng ta biết, sử dụng nhiều phân chứa nitơ sẽ làm cho đất dai giảm cấp, nước có nhiều nitrat, hủy hoại các động vật sống trong đất, làm tăng hàm lượng nitrat trong cây, qua đó năng suất giảm, và qua chuỗi sử dụng dinh dưỡng “cây động vật – người” sẽ làm cho chúng ta bị hội chứng methemoglobin huyết (Ewards và Lofty, 1969, Cooke G. W., 1976, Gast R. G. và cộng sự, 1978; Petrova và Ribcsinszkaja, 1980; Minyejev, 1988; Bakonyi và Kiss, 1995).

Ngoài ra, không những các loại máy gặt, hái mà các chất bảo vệ thực vật cũng là mối nguy hiểm đối với các thú vật như hoẵng, thỏ, gà lôi, gà trĩ v.v.. Tuy nhiên, chưa ai khảo sát vấn đề phân hóa học gây nên những biến đổi gì trong quá trình phát triển của các loài thú này.

I. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Dung dịch Nikrol Uan (urea-ammonium-nitrat) có đặc trưng là chứa amoni (ammonium) không có áp suất hơi đáng kể. Tỷ lệ nitơ trong dung dịch là 27,5% carbamide và 50 - 55% ammonium – nitrat. Nó có tác dụng làm mòn kim loại.

Khi bón cơ bản dùng đậm đặc: bốn thúc khi gieo và phun lên lá dùng tỷ lệ 20 - 50%. Phân thường được dùng chung với thuốc bảo vệ thực vật, nhưng khi đó cần phải chú ý hơn đến phương pháp phun. Hai loại thuốc phải được trộn sao cho không có kết tủa.

Ảnh hưởng của Nikrol lên quá trình phát triển phôi được khảo sát trên trứng gà Shaver Starcross 228. Trứng được để bất động 24 giờ tiếp sau khi nhận trứng, sau đó mới bắt đầu xử lý.

Dung dịch đặc (N1), 50% (N2), 20% (N3) và 1% (N4) được pha với nước vôi ở nhiệt độ phòng. Ngoài các trứng không xử lý, dùng làm đối chứng (ĐC), chúng tôi cũng dùng vài nhóm đối chứng được xử lý chỉ với nước vôi. Các dung dịch với nồng độ khác nhau được đưa vào trứng bằng phương pháp tiêm hoặc tắm. Nhóm đối chứng gồm 100 trứng, những nhóm khác thì 50 trứng. Sau khi tiêm, dùng parafin để bịt lỗ tiêm. Khảo sát ảnh hưởng của 0,1 ml dung dịch bằng phương pháp tiêm. Khi tắm trứng, trứng được ngâm trong các dung dịch có nồng độ khác nhau 30 phút, tiếp đó khảo sát ảnh hưởng của phương pháp phun thuốc thường được sử dụng trong thực tiễn. Sau khi xử lý, trứng được để nghỉ 24 giờ, sau đó trứng được ấp bằng máy ấp Eggstar 600.

Hàng ngày kiểm tra (mở) 60 trứng, mỗi nhóm 5 trứng, riêng nhóm đối chứng 10 trứng. Trong 4 ngày đầu tiên của quá trình phát triển phôi, chúng tôi làm tiêu bản từ tất cả các phôi bằng cách cố định với 0,1% dung dịch osmium tetroxide. Sau khi khảo sát các tiêu bản bằng

kính hiển vi, chúng tôi xác định khả năng sống của phôi, trạng thái phát triển và những thay đổi về hình dạng (Sinkovitsné H. I. Và Benkő Z., 1993). Vào giai đoạn từ ngày thứ 5 đến thứ 10 của quá trình phát triển, do kích thước phôi tăng, nên chúng tôi không làm tiêu bản được, vì vậy, ngoài quan sát khả năng sống, sự hình thành cơ thể, chúng tôi còn theo dõi ảnh hưởng của Nikrol bằng cách xác định trọng lượng khô và ướt của phôi. Tất cả các kết quả được đánh giá bằng thống kê.

II. KẾT QUẢ

1. Sự chết phôi:

Ảnh hưởng làm phôi chết của các dung dịch Nikrol có nồng độ khác nhau được tóm tắt trong bảng 1. Có thể xác định rằng, khi tiêm trứng với Nikrol có các nồng độ: đậm đặc, 50% và 20% thì có 87 – 96% phôi bị chết. Khi tắm trứng với Nikrol có các nồng độ: đậm đặc và 50% thì có 78 – 81% số phôi chết, trong khi với dung dịch 20% thì chỉ có 27% phôi bị chết. Trong trường hợp dùng phương pháp tắm để mô phỏng sự phun phân bón, chúng tôi có nhận xét là khi dùng nồng độ 20% - cũng là nồng độ dùng để phun lên lá khi bón thúc trong thực tiễn - thì tỷ lệ phôi chết tăng lên 1,5 lần so với đối chứng. Dung dịch 1% hoàn toàn không có nguy hiểm

đến phôi.

2. Thời điểm phôi chết:

58,5% của tổng số phôi chết được quan sát thấy ngay sau khi xử lý. Điều này cũng được chứng minh bằng một thực tế là tiêm trứng với dung dịch đặc thì 100%, với dung dịch 50% thì 91% phôi chết vào vài giờ tiếp theo sau khi xử lý (bảng 1).

Cùng với sự giảm nồng độ (dung dịch Nikrol 20%), số lượng phôi chết khi xử lý cũng giảm với tỷ lệ thuận (78%) (bảng 1). Khi xử lý bằng phương pháp tắm, chúng tôi nhận được tỷ lệ phôi chết thấp hơn (15-22%), và thời điểm chết kéo dài cho đến những ngày đầu tiên của quá trình ấp. 20% số phôi chết rơi vào ngày ấp thứ hai. Vì vậy, ngày thứ hai được xem là ngày nhạy cảm nhất của quá trình phát triển phôi, bởi vì lúc này ống tử đã được khép lại, quá trình hình thành mắt, các hốc não bắt đầu, những mảng cơ thể sơ khai hình thành và tim cũng bắt đầu phát triển. Vào ngày ấp thứ ba thì có khoảng 12% phôi bị chết. Nếu chúng ta so sánh các thời điểm trên với các thời điểm phôi chết quan sát được ở các nhóm đối chứng (số phôi chết không cao vào ngày ấp thứ 2, 3 và 5), chúng ta có thể kết luận rằng, ở những nhóm được xử lý Nikrol, những thời điểm phôi chết có thay đổi.

3. Tỷ lệ phát triển không bình thường (bảng 2):

Bảng 2

Tỷ lệ phôi phát triển không bình thường

Các nhóm thí nghiệm	Phương pháp xử lý	Tỷ lệ giữa số phôi còn sống		Tỷ lệ giữa số phôi đã chết	
		N	%	N	%
Đối chứng		2	2,38	4	40
Đối chứng với vôi Ko	Tiêm	6	13,33	2	50
	Tắm	3	6,82	3	560
Nikrol đậm đặc N1	Tiêm	0	0	2	4,55
	Tắm	3	30	22	61,11
Nikrol nồng độ 50% N2	Tiêm	0	0	3	6,82
	Tắm	4	44,44	26	68,42
Nikrol nồng độ 20% N3	Tiêm	3	51,43	2	5
	Tắm	18	50	10	76,92
Nikrol nồng độ 1% N4	Tiêm	6	15	4	50
	Tắm	9	19,57	2	50

Phân loại các kiểu phát triển dị dạng của phổi trong các nhóm được xử lý

Các kiểu phát triển dị dạng	Đối chứng	Đối chứng nước vôi			Nikrol đậm đặc (N1)			Nikrol 50% (N2)			Nikrol 20% (N3)			Nikrol 1% (N4)			Tổng số		
		Tiềm	Tầm		Tiềm	Tầm		Tiềm	Tầm		Tiềm	Tầm		Tiềm	Tầm				
			N	%		N	%		N	%		N	%		N	%	N	%	N
Thiếu mắt	1	14,3				4	5,71										5	1,81	
Một mắt						3	4,29										7	2,54	
Một mắt bé xúu						4	5,71			1	1,49						9	3,26	
Mất nhợt màu						1	1,43			3	4,48						11	3,99	
Không có tiêu điểm, không có trống										1	1,49						1	0,36	
Đầu dị dạng																			
Thiếu đốt thân (somite)						6	8,57	1	33,3	4	5,97						15	5,43	
ít somite						1	1,43			1	1,49						3	1,09	
Xoang bụng nở	1	14,3	1	7,69		4	5,71	1	33,3	1	1,49						10	3,62	
Không tim																	6	2,17	
Chảy máu trên cơ thể						1	1,43										1	0,36	
Mao mạch phát triển yếu	1	14,3								4	5,97						3	1,09	
Không thấy hệ mao mạch						9	12,9			5	7,46	2	22,2	9	13	2	12,5	22	7,97
Thiếu tử chi						5	7,14			2	2,99						7	2,54	
Tử chi phát triển yếu																			
Cơ thể nhỏ	1	14,3	2	33,3						9	13,4						3	1,09	
Nặng học	3	14,3			2	100	11	15,7	1	33,3	14	20,9					44	15,9	
Tim đóng																	39	14,1	
Cột sống mở																	4	1,45	
Tim ống						2	2,86			1	1,49						3	1,09	
Xoang đỏ	1	7,69	1	16,7						2	2,99	2	22,2	1	1,45		8	2,9	
Dương mô không phát triển	1	7,69	1	16,7		1	1,43			2	2,99						1	0,36	
Nội tạng phát triển yếu																			
Hộp não không phân hóa						5	7,14			2	2,99	1	11,1	2	2,9		8	2,9	
Không có đầu						1	1,43										6	2,17	
Duôi dị dạng	1	7,69				1	1,43										2	0,72	
Cơ thể dị dạng						1	1,43			4	5,97	1	11,1	1	1,45		7	2,54	
Không có xoang miệng																	2	0,72	
Mất dạng elip																	2	0,72	
Σ N	13		6		2	70		3		67	9		69	16		14	276		
Tỷ lệ % ở các nhóm được xử lý	2,54	4,71				25,36		1,09		24,28	3,26		25,0	5,80		5,07		100	

5. Phát triển không bình thường:

Hiện tượng phát triển không bình thường hay xảy ra nhất là cơ thể nhỏ (16%), 14% phôi tự tạo thành xung quanh nó một lớp màng bọc bảo vệ, ngăn không cho thuốc vào. Ở những cá thể bị thay đổi thì hệ thống mao mạch hoàn toàn thiếu hoặc là kém phát triển.

6. Tăng trưởng phôi:

Bảng 4 chỉ ra khối lượng khô và ướt trung bình của phôi cũng như lượng nước có trong phôi. Ở những nhóm được tiêm với các dung dịch Nikrol đậm đặc, 50% và 20% thì do phôi bị chết sớm, chúng tôi không quan sát được sự tăng trưởng của chúng. Khi tẩm trứng với dung dịch Nikrol 20% hoặc khi tiêm hoặc tẩm trứng với dung dịch Nikrol 1%, chúng tôi nhận thấy phân hóa học nitơ không có ảnh hưởng đáng kể lên mức độ tăng trọng của phôi.

Bảng 4

Lượng nước và khối lượng trung bình của phôi

	Ngày	Đối chứng	ĐC nước vôi		Nikrol đậm đặc		Nikrol 50%		Nikrol 20%		Nikrol 1%	
			Tiêm	Tắm	Tiêm	Tắm	Tiêm	Tắm	Tiêm	Tắm	Tiêm	Tắm
Khối lượng ướt trung bình (g)	5	0,150	0,164	0,174	*	*	*	*	*	0,113	0,194	0,231
	6	0,420	0,377	0,388	*	*	*	*	*	0,332	0,403	0,342
	7	0,760	0,740	0,692	*	*	*	*	*	0,670	0,403	0,691
	8	1,227	1,291	0,951	1,623	*	*	*	*	1,285	1,158	1,146
	9	1,874	1,875	1,509	0,915	*	*	*	*	1,716	1,720	1,748
	10	2,630	2,800	2,626	*	1,985	*	*	*	2,335	2,621	2,660
Khối lượng khô trung bình (g)	5	0,006	0,008	0,007	*	*	*	*	*	0,008	0,010	0,016
	6	0,023	0,020	0,020	*	*	*	*	*	0,015	0,023	0,021
	7	0,039	0,036	0,036	*	*	*	*	*	0,035	0,049	0,044
	8	0,092	0,073	0,067	0,075	*	*	*	*	0,070	0,077	0,068
	9	0,114	0,116	0,093	0,045	*	*	*	*	0,106	0,108	0,104
	10	0,178	0,193	0,117	*	0,130	*	*	*	0,155	0,173	0,643
Lượng nước trung bình (g)	5	0,114	0,156	0,167	*	*	*	*	*	0,105	0,184	0,215
	6	0,379	0,357	0,368	*	*	*	*	*	0,317	0,380	0,321
	7	0,722	0,704	0,656	*	*	*	*	*	0,635	0,770	0,648
	8	1,155	1,219	1,111	1,188	*	*	*	*	1,215	1,082	1,078
	9	1,759	1,758	1,416	0,870	*	*	*	*	1,610	1,613	1,644
	10	2,452	2,608	2,449	*	1,855	*	*	*	2,180	2,449	2,018

Chú thích: Phôi chết sớm không cân được khối lượng

III. THẢO LUẬN

Môi trường sống tự nhiên của những loài động vật rừng thuộc bộ Chim ngày càng giảm đi do những hoạt động của con người. Những loài chim này ngày càng bị xô đẩy ra những vùng đất canh tác. Trên thực tế, chúng tìm được nhiều chỗ ẩn nấp, nhiều thức ăn hơn ở đó, những "thiên đường"

này cũng là một cái "bẫy sinh thái" nguy hiểm đối với chúng, do có những phương pháp kỹ thuật áp dụng trên những cánh đồng ngũ cốc hay trồng cỏ linh lăng (*medicago sativa*) có ảnh hưởng nguy hại một cách đáng kể lên đời sống của các loài chim ấp và tìm thức ăn trên những cùng đất canh tác đó. Phân nitơ được bón có thể không rơi trên trứng của gà lôi làm tổ ở các cánh đồng trồng cỏ linh lăng không tưới nước, chính vì phân được phun vào đầu xuân, sau lần thu hoạch thứ hai trong giai đoạn gà lôi nuôi con. Nhưng nếu gà lôi làm tổ trong những cánh đồng cỏ linh lăng có tưới nước, lúc đó sau mỗi lần thu hoạch, họ lại phun phân bón thúc (họ dùng Nikrol nồng độ 50%), những phôi nở sẽ không có nhiều khả năng sống. Nếu gà lôi làm ổ trong các cây ngũ cốc - vì mật độ cây trồng cao - trứng ít bị ảnh hưởng hại của các phương pháp kỹ thuật nông nghiệp hơn. Nhưng chúng không thể nào tránh được ảnh hưởng tác hại của thuốc bảo vệ môi trường và phân hóa học. Trước đây, các chuyên gia đề nghị thời điểm bón phân nitơ ở lúa mì là vào mùa thu, ngày nay họ đề nghị lượng phân đó chia ra bón làm ba lần và bón vào mùa xuân. Thời điểm bón cuối cùng là lúc gà đẻ trứng. Thực tế lúc này phân Nikrol phun vào lá có nồng độ chỉ 20%, nhưng chúng ta có thể tính là 27% phôi chết. Tỷ lệ phôi chết cao khi khảo sát chất này ở các trứng bằng phương pháp tiêm cho thấy rằng phân Nikrol rất nguy hiểm đối với các loại động vật rừng nhỏ thuộc bộ Chim. Tuy Nikrol nồng độ 1% không nâng cao tỷ lệ phôi chết và số cá thể phát triển không bình thường, nhưng do nồng độ thấp nên sử dụng Nikrol với nồng độ như vậy không kinh tế. Để bảo vệ thế giới chim làm ổ và sống trong các vùng đất canh tác, chúng ta có thể thay đổi thời điểm bón phân nitơ, qua đó chúng ta có thể bảo vệ hữu hiệu thế giới động vật trong vùng.

IV. KẾT LUẬN

1. Sau khi tiêm trứng với Nikrol Uan ở các nồng độ đặc, 50% và 20%; 87-96% phôi bị chết.
2. Trong trường hợp tẩm, 27-80% phôi bị chết tùy vào liều lượng dung dịch sử dụng.
3. Có 29 trường hợp biến dạng, trong đó những trường hợp thường xuyên nhất là cơ thể nhỏ (16%) và màng bọc (cyst) hình thành xung quanh phôi (14%).

4. Dùng thuật toán phân tích phương sai, chúng tôi thấy rằng dung dịch Nikrol thấm vào trứng qua phương pháp tẩm không ảnh hưởng đến sự tăng trưởng khối lượng phôi vào giai đoạn từ ngày thứ 5-10 của quá trình ấp trứng.

Dung dịch Nikrol Uan có thể nguy hiểm đối với những động vật nhỏ sống trong các cánh đồng trồng cỏ linh lăng hay trồng các loại ngũ cốc gieo vào mùa thu. Để bảo vệ các loài chim, chúng ta nên chọn thời điểm phun phân lên lá sao cho không rơi vào giai đoạn đẻ trứng và ấp của chim. Để bảo vệ các loài thú khác - ngoài những nguyên nhân kinh tế - chúng ta phải giảm lượng phân hóa học sử dụng. Ngày nay nhiều phương pháp sinh học bảo đảm dinh dưỡng đầy đủ cho cây, qua đó làm tăng sản lượng đã được biết đến (phân xanh, phân ủ, cấy vi khuẩn vào đất v.v.).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bakonyi G. and Kiss I., 1995: Some environmental factors regulating the density of Springtails and Mites. Bull. of the Univ. of Agric. Sci. Gödöllő: 29-35.
2. Blazsek E. és Burkus I., 1989: Környezetkímélő műtrágyázási eljárások lehetőségei és fejlődésre gyakorolt hatását állapítotuk meg. Gate Chemolimpek Konferencia előadásai Gödöllő: 60-66.
3. Cooke G. W., 1976: A review of the effects of agriculture on the chemical composition and quality of surface and underground waters. London, Agriculture and Water Quality Techn. Bull. 32.
4. Edwards C. A. and J. R. Lofty, 1969: The influence of agricultural practice on soil microarthropod population. The Soil Ecosystem, London: 237-247.
5. Fischer E., 1982: Xenobiotikumok akumulációja és transformációja gerinctelen állatokban. A biológia aktuális problémái. Medicán Könyvkiadó, Bp. 24: 97-143.
6. Gast R. G. et al., 1978: Nitrate accumulation in soils and loss in till drainage following nitrogen application. J. Env. Qua., 7, N2.
7. Karlinger J., 1987: Folyékony

műtrágyák. Mezőgazdasági Kiadó, Bp: 179.

8. Loch J. és Nostsczius Á., 1992: Agrokémia és növényvédelmi kémia. Mezőgazdasági Kiadó, Bp: 399.

9. Minyejev P., 1988: Agrokémia és

növényvédelmi kémia. Mezőgazdasági Kiadó, Bp: 399.

10. Sinkovitsné H. I. és Benkő Z., 1993: Foszforasvészterek hatása a csirkeembrió fejlődésére állattani Közlemények, 79: 95-103.

EFFECTS OF THE LIQUID NITROGEN FERTILIZER ON THE REPRODUCTION OF BIRDS

VU KIM CAU, et al.

SUMMARY

The aims of the agriculture, the wildlife management and the nature conservation are not entirely similar with the ones of the wildlife, yet their interests coincide in providing the essential condition for our natural wildlife. The natural living-space of wildlife is shrinking due to human activities. 70% of the hunting areas are cultivated today. The majority of wild animals are squeezed into the plough-land, where they are threatened not only by harvesters and mowers, but also by the adverse effects of pesticides and chemical fertilizers. Our experiment was aimed at modelling the effects of NIKROL-UAN solution on chick embryos. In alfalfa-fields, different solutions of NIKROL are used for manuring: concentrated solution for basic fertilization, 50% solution for mulching and 20% solution for foliar fertilization. The time of foliar fertilization coincides with the egg-laying and hatching period of pheasant and partridges, thus endangering the reproductive success of these species. In our experiment, the effects of different NIKROL-UAN solutions (concentrated, 50%, 20%, 1%) on embryonic development were determined.

Main results: Concentrated, 50% and 20% solutions of NIKROL injected into the eggs have caused 87-96% embryonic mortality, right after treatment.

Embryomortality slightly decreased (27-80%) when eggs were immersed in the solution, but still was dose-dependent.

29 different morphological deformities were detected of which the most frequent ones were stunted growth (16%) and cyst over the embryo (14%).

Statistical analysis showed that in the second 5 days of incubation NIKROL did not influence the weight gain of living embryos when eggs were immersed in the solution.

NIKROL-UAN solution proved to be dangerous to small game nestling in alfalfa- and winter-cereal fields. This fact calls for the extension of research on the postembryonic development of birds, and other animal species (deer, rabbit, etc.). Neglecting fertilization is inconceivable these days, but the application of fertilizers should be carried out with circumspection. In order to protect birds foliar fertilization should be completed at a time not coinciding with the egg-laying and hatching period. The protection of other animal species accounts for the reduction of the amount of fertilizer applied. Nowadays, there are numerous biological methods for nutrient supply and yield-increase (green manure, compost, bacterial inoculation of soil, etc.).

Ngày nhận bài: 12-11-1999

SỰ TÍCH LŨY CÁC NGUYÊN TỐ VI LƯỢNG TRONG NÃO CỦA MỘT SỐ LOÀI ĐỘNG VẬT THEO BẬC THANG TIẾN HÓA

ĐOÀN VIỆT BÌNH, NGUYỄN TÀI LƯƠNG

Viện Công nghệ sinh học

Trong lịch sử tiến hóa của hệ thần kinh, ở loài chân đốt (sâu bọ, nhện, cua) và chân đầu (bạch tuộc, mực) đã có não và một dải thần kinh giống như tủy sống. Ở động vật có xương sống các nơ ron, xy nắp tăng dần về số lượng, hình thái và ngày càng chuyên môn hóa về chức năng. Song các công trình nghiên cứu về các nguyên tố vi lượng (NTVL) trong mô não và thần kinh hầu như còn ít được nghiên cứu.

I. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Nghiên cứu được tiến hành trên các loài động vật sau:

- Cá: cá Nục (*Decapterus lajang*), cá Quả (*Ophiocephalus macuratus* L.), cá Rô đồng (*Anabas testudineus* B.), cá Chép (*Cyprinus carpio* Lin.).

- Lưỡng cư:Ếch đồng (*Rana rugulosa* W.), cá Cóc tam đảo (*Paramesotriton deloustali* B.), Cóc (*Bufo melanostictus* Sch.), Châu chấu (*Rana guentheri* B.).

- Bò sát: rắn Cạp nong (*Bungarus fasciatus*), rắn Ráo (*Ptyas kyerros*), rắn Hổ mang (*Naja naja Lineus*), rùa Hộp (*Cuora amboinensis* D.), Ba ba (*Trionyx sinensis* W.), Trăn đất (*Python molurus*).

- Chim: chim Sẻ đồng (*Passer montanus*), Ngan (*Cairina moschata* dom.), Bìm bịp (*Centropus sinensis intermedius*), Bò câu (*Gallus gallus* dom.).

- Thú: Khỉ đuôi dài (*Macaca fascicularis*), Chuột nhắt trắng (*Mus musculus*), Chó (*Canis familiaris*).

Sau khi giết mổ, toàn bộ não được nghiền đồng nhất để làm mẫu nghiên cứu. Sau đó, mẫu được vô cơ hóa bằng dung dịch axit nitric (53% hãng Labosi): axit pecloric (Merk): nước cất hai

lần theo tỷ lệ 4 : 1 : 5 và đo các NTVL trên máy quang phổ hấp thụ nguyên tử AAS 3300 của hãng Perkin Eimer.

NTVL trong não của mỗi loài động vật được tiến hành đo lặp lại ở 3 cá thể khác nhau để lấy số trung bình của loài đó. Các loài động vật ở cùng một lớp được gộp lại để tính trung bình cho cả lớp đó. Các số liệu được xử lý tính toán thống kê trên máy tính theo phần mềm Exce 1997.

II. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Kết quả phân tích hàm lượng các NTV trong não các loài động vật được trình bày trong bảng 1.

Từ bảng 1 có thể rút ra một số nhận xét sau đây:

- Trong não của tất cả các loài động vật cá, lưỡng cư, bò sát, chim, thú có một quy luật chung là hàm lượng các nguyên tố Mg, Fe, Zn được tích lũy nhiều hơn các nguyên tố khác. Theo thứ tự giảm dần hàm lượng các NTV trong từng loài có thể sắp xếp như sau:

Cá: $Mg > Fe > Zn > Se > Cu > Pb > Mn$

Lưỡng cư: $Mg > Fe > Zn > Se > Pb > Cu > Mn$

Bò sát: $Mg > Fe > Zn > Cu > Mn > Pb > Se$

Chim: $Mg > Fe > Zn > Cu > Pb > Se > Mn$

Động vật có vú: $Mg > Fe > Zn > Cu > Se > Mn > Pb$.

Hàm lượng Mg trong não các loài động vật có chiều hướng tăng dần từ (não) cá 69,159±16,243 đến lưỡng cư 114,251±30,804 đạt đỉnh cao ở động vật bò sát 174,315±39,84. Sau đó giảm xuống ở chim và động vật có vú (đao động từ 132,17±31,893 đến thú 100,15±15,893).

Hàm lượng các NTVL trong não một số loài động vật
($\mu\text{g/g}$ mẫu tươi, trung bình $\pm$ độ lệch chuẩn)

Bảng 1

TT	Động vật	Cu	Mn	Zn	Fe	Mg	Pb	Se
1	Cá Nục	1,578 $\pm 0,438$	1,251 $\pm 0,15$	11,014 $\pm 4,253$	32,936 $\pm 4,166$	71,158 $\pm 4,252$	0,701 $\pm 0,36$	1,417 $\pm 0,90$
	Cá quả	0,576 $\pm 0,103$	0,557 $\pm 0,18$	5,815 $\pm 1,993$	15,824 $\pm 10,67$	61,067 $\pm 21,481$	2,652 $\pm 1,22$	5,989 $\pm 4,17$
	Cá rô ron	7,159 $\pm 0,798$	2,357 $\pm 0,52$	5,065 $\pm 2,9$	22,369 $\pm 13,02$	82,519 $\pm 5,219$	3,255 $\pm 0,11$	7,583 $\pm 3,94$
	Cá chép	2,793 $\pm 2,399$	1,61 $\pm 0,81$	8,717 $\pm 7,006$	11,791 $\pm 3,863$	61,893 $\pm 22,207$	4,083 $\pm 0,82$	6,725 $\pm 3,49$
	Trung bình	3,071 $\pm 2,84$	1,444 $\pm 0,80$	7,653 $\pm 4,539$	20,727 $\pm 11,27$	69,159 $\pm 16,243$	2,672 $\pm 1,54$	5,614 $\pm 3,79$
2	Ếch	1,78 $\pm 0,29$	2,226 $\pm 0,26$	22,658 $\pm 9,894$	15,239 $\pm 7,615$	92,725 $\pm 13,315$	4,62 $\pm 2,08$	3,764 $\pm 2,40$
	Cá cóc	3,872 $\pm 1,824$	1,772 $\pm 1,41$	49,151 $\pm 43,23$	46,213 $\pm 24,26$	147,006 $\pm 43,066$	3,212 $\pm 2,68$	5,869 $\pm 5,12$
	Châu chấu	2,102 $\pm 0,09$	2,708 $\pm 1,51$	23,475 8,192	47,014 $\pm 23,47$	102,489 $\pm 23,825$	1,285 $\pm 0,60$	5,62 $\pm 1,92$
	Cóc	3,344 $\pm 0,33$	2,903 $\pm 1,18$	22,37 $\pm 20,12$	57,735 $\pm 45,95$	114,724 $\pm 5,797$	4,353 $\pm 3,55$	6,089 $\pm 2,17$
	Trung bình	2,775 $\pm 1,205$	2,402 $\pm 1,12$	29,414 $\pm 24,19$	41,55 $\pm 29,59$	114,251 $\pm 30,804$	3,368 $\pm 2,52$	5,335 $\pm 2,87$
3	Rắn hổ mang	5,711 $\pm 0,656$	3,094 0,34	52,996 $\pm 33,70$	68,258 $\pm 10,57$	172,743 $\pm 24,536$	1,824 $\pm 0,61$	0,399 $\pm 0,11$
	Rắn cạp nong	6,63 $\pm 1,242$	3,453 $\pm 0,30$	44,607 $\pm 7,246$	71,209 $\pm 6,375$	232,383 $\pm 29,352$	1,99 $\pm 0,81$	0,941 $\pm 0,87$
	Rắn ráo	5,439 $\pm 1,259$	3,383 $\pm 0,52$	43,506 $\pm 43,47$	59,126 $\pm 22,83$	162,341 $\pm 10,67$	1,578 $\pm 0,57$	1,208 $\pm 0,84$
	Rùa hộp	2,792 $\pm 2,064$	3,724 $\pm 0,17$	8,573 $\pm 0,999$	32,067 $\pm 2,753$	171,871 $\pm 29,261$	0,957 $\pm 0,48$	1,852 $\pm 0,87$
	Bà ba	4,79 $\pm 3,181$	3,283 $\pm 1,71$	27,214 $\pm 15,14$	57,714 $\pm 26,28$	154,144 $\pm 44,845$	1,673 $\pm 0,98$	1,899 $\pm 1,64$
	Trăn	6,28 $\pm 1,162$	3,333 $\pm 1,59$	34,698 $\pm 2,648$	74,545 $\pm 12,35$	153,596 $\pm 44,923$	1,962 $\pm 0,69$	2,418 $\pm 1,05$
	Trung bình	5,419 $\pm 1,874$	3,358 $\pm 0,88$	36,836 $\pm 24,51$	62,158 $\pm 18,97$	174,315 $\pm 39,841$	1,695 $\pm 0,68$	1,429 $\pm 1,1$
4	Ngan	1,901 $\pm 0,325$	0,422 $\pm 0,12$	9,607 $\pm 1,38$	25,54 $\pm 4,675$	117,369 $\pm 50,314$	1,567 $\pm 1,04$	1,282 $\pm 0,84$

	Chim Sẻ	2,32 ±1,096	0,64 ±0,32	10,006 ±3,834	15,727 ±12,23	119,07 ±43,428	2,721 ±0,97	1,51 ±0,48
	Chim Bìm bịp	1,381 ±0,758	0,506 ±0,10	10,501 ±1,527	14,976 ±12,23	145,698 ±1,344	1,744 ±1,30	2,861 ±1,39
	Chim Bỏ câu	2,774 ±0,587	0,57 ±0,19	8,373 ±2,111	14,252 ±11,41	146,543 ±2,196	3,882 ±3,07	2,075 ±0,93
	Trung bình	2,064 ±0,819	0,534 ±0,14	9,622 ±2,22	17,627 ±10,25	132,17 ±31,893	2,479 ±1,82	1,932 ±1,04
5	Chuột nhắt	4 ±0,948	0,556 ±0,03	24,504 ±6,618	46,389 ±24,57	215,85 ±72,914	0,563 ±0,50	1,092 ±0,63
	Chó	1,748 ±0,303	0,303 ±0,09	7,318 ±0,472	15,298 ±1,919	81,804 ±14,533	0,233 ±0,20	1,121 ±0,23
	Khỉ đuôi dài	3,35 ±1,29	0,612 ±0,31	14,993 ±5,873	39,475 ±19,95	141,414 ±53,465	0,469 ±0,46	0,883 ±0,43
	Trung bình	3,033 ±1,293	0,49 ±0,21	15,605 ±8,692	33,721 ±21,24	146,356 ±74,023	0,418 ±0,39	1,032 ±0,41

146,356±74,023). Như vậy não cá tích lũy Mg ít nhất so với các loài động vật khác ($P < 0,001$), não bò sát tích lũy Mg nhiều hơn não cá, lưỡng cư ($P < 0,001$) chim ($P < 0,01$).

Vai trò sinh hóa của Mg đã được một số tác giả nghiên cứu. Mg kích hoạt enzym glutamin synthetase ở chim [9] và cá [8]. Mg kích hoạt enzym andehit dehydrogenaza và ngăn chặn N-metyl-D-aspartat Receptor trong các tế bào thần kinh [6]. Theo Henning [4] Mg đảm bảo khống chế các hoạt động thần kinh, đảm bảo giấc ngủ tốt và còn tham gia điều hòa thân nhiệt. Các loài bò sát có hàm lượng Mg cao có lẽ là để đáp ứng các phản ứng enzym trong mô não, điều hòa hoạt động của não và của cơ thể trong điều kiện bình thường và trong điều kiện ngủ đông.

- Sự tích lũy Fe trong não các loài động vật cũng theo quy luật tương tự: Từ cá đến lưỡng cư hàm lượng Fe trong não tăng gấp 2 lần (cá 20,727±11,27, lưỡng cư 41,55±29,59) và đạt đỉnh cao ở loài bò sát (62,158±18,97) và gấp 3 lần so với loài cá. Ở chim và động vật có vú hàm lượng Fe trong não giảm xuống đáng kể: ở chim là 17,627±10,25, còn ở động vật có vú là 33,721±21,24.

Não lưỡng cư có hàm lượng Fe cao hơn não cá, chim ($P < 0,05$). Não bò sát có hàm lượng Fe nhiều hơn não các loài động vật khác ($P <$

0,001).

Điều lý thú là hàm lượng Fe trong não chim đã được Kalisinska và cộng sự nghiên cứu [5] và xác định hàm lượng Fe trong não chim nước (vịt biển) cao hơn các loài chim không lặn dưới nước (ngỗng trời, thiên nga). Chúng ta điều biết rằng Fe là nguyên liệu tạo huyết sắc tố (hemoglobin), mà chức năng của hemoglobin là gắn với O_2 để cung cấp cho các phản ứng tạo năng lượng ATP trong các ty thể (mitochondria) của các tế bào não. Vì lặn lâu dưới nước, nên loài chim này cần nhiều Fe tức là cần nhiều hemoglobin đảm bảo cung cấp O_2 cho các tế bào não nhiều hơn so với các loài chim. Thêm nữa, Fe còn cần cho quá trình sinh tổng hợp protein đặc hiệu - các neurotransmitter dẫn truyền các xung thần kinh; Fe còn là nhân tố cùng tác động (Cofactor) của nhiều enzym như Ribonucleaza, Reductaza. Sự cân bằng Fe trong não còn liên quan đến quá trình học và nhớ [3].

Hiện tượng Fe có hàm lượng cao nhất trong não các loài bò sát có lẽ liên quan đến tập tính sinh lý, sinh thái của loài này. Chúng thường ngủ đông khi trời lạnh hoặc do thức ăn khan hiếm. Theo Trần Kiên [10] ở những nước hàn đới loài bò sát ngủ đông kéo dài 8-9 tháng. Trong thời gian ngủ đông, chúng ngừng mọi hoạt động, hầu như ngừng thở, trong trường hợp này nguồn HbO_2 và tế bào giảm thiểu O_2 để duy

trì quá trình trao đổi chất ở mức thấp nhất trong suốt thời gian ngủ đông.

- Sự tích lũy Zn trong não các loài động vật cũng xảy ra quy luật tương tự như tích lũy Fe và Mg. Từ cá đến lưỡng cư, hàm lượng Zn trong não tăng 3,84 lần (ở cá là $7,653 \pm 4,539$, ở lưỡng cư là $29,414 \pm 24,19$) và đạt đỉnh cao ở bò sát ($36,836 \pm 24,51$), nhiều gấp 4,8 lần so với cá ($P < 0,001$). Đến chim và động vật có vú, hàm lượng Zn trong não giảm xuống 3-4 lần và dao động từ $9,622 \pm 2,22$ ở chim và $15,605 \pm 8,692$ ở động vật có vú.

Zn là nguyên tố giữ vai trò điều hòa và ảnh hưởng đến quá trình phiên mã, sao chép, tổng hợp protein trong não [1]. Kẽm còn có vai trò quan trọng trong sự dẫn truyền tín hiệu thần kinh trong các sợi trục và tại các khớp thần kinh, trong sự phát triển của các ống thần kinh và trong quá trình phosphoryl hóa [2, 7].

Thiếu kẽm thì quá trình tổng hợp ADN, ARN cũng như của protein của não bị suy yếu, não có trọng lượng thấp, sự phát triển và các chức năng của não bị ảnh hưởng, khả năng học tập giảm sút, chậm phát triển trí tuệ [7]. Kẽm cần cho quá trình thị giác, vùng đáy màng mạch mắt của động vật có rất nhiều kẽm. Thiếu kẽm con vật sẽ bị mù [4]. Ở cá kẽm tham gia vào quá trình trao đổi chất của vitamin B6 và sự tạo thành của coenzym pyridoxalphosphat.

Theo kết quả của chúng tôi thì hàm lượng Zn trong não rắn, trần cao hơn rùa, ba ba (bảng 1). Có lẽ rắn được coi là động vật tinh khôn, nhanh nhẹn, do đó trong não của chúng có hàm lượng Zn cao hơn, để đảm bảo tối ưu cho các quá trình dẫn truyền các tín hiệu thần kinh phản xạ nhanh nhạy, cần cho trí khôn và các hoạt động thị giác.

- Hàm lượng Cu ở não cá và lưỡng cư gần tương đương nhau (dao động từ $2,775 \pm 1,205$ ở lưỡng cư đến $3,071 \pm 2,84$ ở cá). Hàm lượng Cu trong não loài bò sát cao hơn cá ($P < 0,05$) và bằng $5,419 \pm 1,874$. Ở chim hàm lượng Cu trong não thấp ($2,064 \pm 0,819$) và tăng lên ở loài có vú ($3,033 \pm 1,293$).

Chúng ta đều biết rằng Cu có trong hàng loạt các enzym oxy hóa (Superoxide dismutase, Dopamine β -monooxygenase, Cytochrome C oxydase...) và là nguyên tố cần thiết cho sự phát

triển của não bộ. Rối loạn trao đổi Cu có thể gặp trong bệnh thần kinh phân liệt. Cu và Zn còn liên quan tới trí nhớ và trí thông minh. Ở sinh viên giỏi toán, trong tóc có hàm lượng Cu và Zn cao hơn các sinh viên kém.

Theo kết quả của chúng tôi, hàm lượng Cu trong não trần, rắn cao hơn hầu như gấp 2 so với hàm lượng Cu trong não loài rùa. Có lẽ vì vậy mà loài rùa thì chậm chạp, còn rắn, thì tinh khôn, nhanh nhẹn.

- Như vậy từ những kết quả bước đầu, chúng tôi thấy một quy luật chung là:

Trong não của tất cả các loài động vật nghiên cứu: cá, lưỡng cư, bò sát, chim, động vật có vú đều có hàm lượng Mg, Fe, Zn cao hơn nhiều lần so với các NTVL khác.

Biến động hàm lượng các NTVL kể trên tăng dần từ cá, lưỡng cư, và đạt đỉnh cao ở loài bò sát. Đến loài chim và động vật có vú, hàm lượng các nguyên tố trên lại giảm xuống (Zn giảm 60%, Fe giảm 50%, Mg giảm 30%) so với não bò sát.

Có lẽ theo bậc thang tiến hóa, khi động vật chuyển từ nước lên cạn, do môi trường thay đổi đã tạo ra những biến đổi quang trọng về trao đổi chất, trong đó có trao đổi các nguyên tố khoáng trong quá trình thích nghi và tiến hóa của động vật. Quá trình phát triển từ sinh vật đơn giản nhất đến sinh vật phức tạp nhất hiện có, đã được CR. Darwin chứng minh khá thành công và được bổ sung và phát triển bởi thuyết tiến hóa hiện đại. Đó là quá trình chọn lọc các đột biến ngẫu nhiên đã hướng sự tiến hóa hữu cơ tới sự thích nghi hợp lý tương đối. Tất cả có lẽ phụ thuộc vào bản đồ gen của từng động vật. Chúng ta đều biết rằng các quá trình sinh lý hóa sinh xảy ra trong cơ thể đều thông qua các phản ứng enzym trực tiếp dưới sự kiểm soát của các gen di truyền. Các metalloenzym đều có các NTVL (Mg, Fe, Zn v.v.) trong cấu trúc của chúng. Riêng nguyên tố Zn đã có mặt trong 300 enzym khác nhau. Loại bỏ các NTVL thì enzym mất hoạt tính xúc tác. Vậy các metalloenzym giữ vai trò gì ở động vật máu lạnh và ở động vật máu nóng? Vai trò sinh hóa gì của metalloenzym trong quá trình phát triển của các vùng não theo hướng chuyên trách hóa từng vùng não, từng nhóm nơ ron, sự phát triển của các xi náp và sự phức tạp hóa mối liên hệ giữa các nơ ron để điều

khả năng của toàn bộ cơ thể trong quá trình thích nghi và tiến hóa. Các vấn đề này chờ đợi những nghiên cứu nghiêm túc và có hệ thống về sinh lý sinh hóa tiến hóa.

III. KẾT LUẬN

- Trong não một số loài động vật: cá, lưỡng cư, bò sát, chim, động vật có vú Fe, Zn, Mg được tích lũy nhiều nhất.

- Trong não loài bò sát, các nguyên tố Zn, Cu, Mn, Fe, Mg được tích lũy nhiều hơn trong não các loài động vật khác.

- Trong não các loài cá, sự tích lũy Mg ít hơn so với ở các loài động vật khác.

- Trong não các loài cá và lưỡng cư, sự tích lũy Se nhiều hơn ở não các loài động vật khác.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Aschner M., 1996: The functional significance of brain metallothioneins. FASEB J., Aug., 10(10): 1129-1136.

2. Emily P. Huang, 1997: Metal ions and synaptic transmission: Think zinc. Proc. Natl. Acad. Sci. USA Vol.94: 13386-13387.

3. Gerlach M. et al., 1994: Altered brain metabolism of iron as a cause of neurodegenerative diseases ?. J. Neurochem.

63(3): 793-807.

4. Henning A., 1984: Chất khoáng trong nuôi dưỡng động vật nông nghiệp: 82-207.

5. Kalisinska E. et al., 1996: Heavy metals in the brain of long-tailed duck (*Clangula hyemalis*) wintering in the Pomeranian Bay, Poland. Biological trace element Research, 55: 191-197.

6. Morris M. E., 1992: Brain and CSF magnesium concentrations during magnesium deficit in animals and humans: neurological symptoms. Magnesium Research Dec. 5(4): 303-313.

7. Pfeiffer C. C. et al., 1982: Zinc, the brain and behavior. Biological Psychiatry Apr., 17(4): 513-532.

8. Sing R. A. et al., 1992: In vitro effects of divalent metal ions and metabolic modulators on purified glutamine synthetase from brain of teleostean fish. Archive International physiological Biochemi Biophysiology May-Jun; 100(3): 203-205.

9. Tholey G. et al., 1987: Chic glutamine synthetase and Mn^{2+} , Mg^{2+} interactions. Neurochemical Research Nov; 12(11): 1041-1047.

10. Trần Kiên, 1983: Đời sống các loài bò sát. NXB Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội.

THE ACCUMULATION OF TRACE ELEMENTS IN THE BRAIN OF SOME ANIMALS ACCORDING TO THE EVOLUTIONARY GRADE

DOAN VIET BINH, NGUYEN TAI LUONG

SUMMARY

The contents of Cu, Mn, Zn, Fe, Mg, Pb, Se in the brain of *Decapterus lajang*, *Ophiocephalus macuratus* L., *Anabas testudineus* B., *Cyprinus carpio* Lin., *Rana rugulosa* W., *Paramesotriton deloustali* B., *Bufo melanostictus* Sch., *Rana guentheri* B., *Bungarus fasciatus*, *Ptyas Kyrros*, *Naja naja* Lineus, *Cuora amboinensis* D., *Tronyx sinensis* W., *Python molurus*, *Passer montanus*, *Cairina moschata* dom., *Centropus sinensis intermedius*, *Gallus gallus* dom., *Macaca fascicularis*, *Mus musculus*, *Canis familiaris* were determined. It is concluded:

- In the brain of fishes, amphibian, reptile, bird and mamalian, the accumulation of Zn, Fe, Mg is the most numerous.

- The contents of Zn, Cu, Mn, Fe, Mg in the brain of reptile are much higher than in the brain of other animals.

- The brain of fishes accumulated less Mg than other animals.

- In the brain of fishes and amphibian, Se accumulated more than in the brain of other animals.

Ngày nhận bài: 5-12-1999

VI SINH VẬT GÂY BỆNH TUA MỤC (WITCHES BROOM) TRÊN CÂY QUẾ Ở VÙNG TRÀ MY, QUẢNG NAM

LÝ KIM BẢNG, TỐNG KIM THUẦN, HOÀNG TIẾN NAM

Viện Công nghệ sinh học

PHẠM VĂN LỤC

Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật

Tua mục là một trong những bệnh nguy hiểm đối với cây quế vùng Trà My, Quảng Nam, bệnh thuộc nhóm hại thân cành. Tua mục xuất hiện từ tháng 8, 9 đến tháng 2,3 năm sau. Lúc đầu, biểu hiện của bệnh là những u sần sùi, từ đó sẽ mọc ra những chồi dài giống như cái tua mục. Bệnh lây lan rất nhanh, nên tỷ lệ quế mắc bệnh này rất cao. Rừng quế ở Trà Giác, thuộc huyện Trà My có tới 100% cây bị mắc bệnh [1]. Khi bị bệnh tua mục, cây chậm phát triển, hàm lượng tinh dầu của cây quế bị giảm sút, gây tổn thất lớn cho ngành xuất khẩu quế [2].

Theo một số tác giả [3, 4], cây quế có thể bị mắc rất nhiều bệnh trên lá và cành. Nguyên nhân gây nên các bệnh này đều do vi sinh vật, còn tác nhân gây thương tích và truyền bệnh là do côn trùng. Tuy nhiên, chúng tôi chưa thấy một công trình nào đề cập tới căn bệnh tua mục trên cây quế. Ở Việt Nam có duy nhất một công trình điều tra hiện trạng bệnh tua mục trên cây quế vùng Trà My và mối liên quan với một số điều kiện ngoại cảnh (nhiệt độ, độ ẩm cao so với mặt biển, giống cây...) [1].

Trong bài báo trước [5], chúng tôi đã trình bày các kết quả phân lập vi sinh vật từ đất, từ các bệnh phẩm cũng như từ các côn trùng (bọ trĩ, rệp...) có mật độ cao trong rừng quế bị bệnh. Trong số các vi sinh vật đã phân lập, làm sạch được từ các mẫu vật trên, tần suất gặp 2 chủng nấm sợi *Mammaria cesatii* M₂₉, *Laccellinopsis subramanian* M₂₈ và 1 chủng vi khuẩn *Pseudomonas* sp. TM₁ là rất cao (60 - 100%). Điều đó cho phép đưa ra giả định rằng, các chủng vi sinh vật này có nhiều khả năng là nguyên nhân gây bệnh tua mục ở cây quế Trà My.

I. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

- 2 chủng nấm sợi *Mammaria cesatii* M₂₉, *Laccellinopsis subramanian* M₂₈ và một chủng vi khuẩn *Pseudomonas* sp. TM₁ được phân lập từ bệnh phẩm cây quế.

- 200 cây quế khỏe, 2 năm tuổi do vườn ươm Lâm trường Trà My, Quảng Nam cung cấp. Số cây quế này đã được chọn lựa từ khâu thu hạt. Đó là giống quế của địa phương không bị bệnh, có sức đề kháng cao và có đặc điểm hình thái như nhau.

Nhà thí nghiệm được xây dựng trên diện tích 200 m² ở khu vườn ươm quế tại đội 6 Trà Giác, huyện Trà My, cách Đà Nẵng 150 km. Nhà được dựng bằng khung thép chịu lực, xung quanh có bố trí hệ thống rãnh thoát nước. Nhà thí nghiệm được xây tường bao bằng gạch cao 80 cm. Mái lợp bằng lưới thép, mặt trên cùng phủ polyetylen có khoảng trống để chống nóng. Dưới lớp mái được thiết kế dẫn ống nước tạo thành hệ thống tưới phun cho vườn quế thí nghiệm và dẫn lá cây tạo bóng mát. Tường bao xung quanh và ô thí nghiệm được ngăn bằng lưới thép và lưới nylon 2 lớp để khống chế sự xâm nhập của côn trùng.

200 cây quế được đánh số từ 1 đến 200 và trồng trong 5 lô, 1 lô đối chứng (ĐC) và 4 lô thí nghiệm (TN) theo 4 công thức (CT) như sau:

Lô 1-ĐC: 50 cây, không bị nhiễm dịch nuôi cấy vi sinh vật.

Lô 2-CT1: 25 cây, nhiễm vi khuẩn *Pseudomonas* sp. TM₁.

Lô 3-CT2: 50 cây, nhiễm 2 loài vi nấm *M. cesatii* M₂₉ và *L. subramanian* M₂₈

Lô-CT3: 50 cây, nhiễm 1 loài vi nấm *M. cesatii* M₂₉

Lô 5-CT4: 25 cây, nhiễm hỗn hợp dịch vi khuẩn và 2 loài vi nấm nói trên.

- Phương pháp lây nhiễm: Dùng kim hoặc lưỡi dao gây vết thương lên phần thân cây thành đường vạch chéo nhau. Sau đó, dùng tăm bông nhiễm dịch vi sinh vật cần xác định lên vết thương của cây. Đối với lô ĐC, được làm tương tự như trên, nhưng thay dịch nhiễm bằng nước cất vô trùng. Dùng tưới nước trong 3 ngày để các bào tử nấm và vi khuẩn có thể bám và xuyên sâu vào thân quế.

- Phương pháp chăm sóc (được thống nhất ở

cả lô ĐC và TN): cây quế được chăm sóc theo đúng kỹ thuật: trời nắng nóng, 3-4 ngày tưới 1 lần vào buổi sáng. Mùa mưa, 10-15 ngày tưới một lần. Thường xuyên làm cỏ, xới đất, không phun thuốc BVTV và bón phân cho cây trong thời gian thí nghiệm.

Theo dõi, quan sát và ghi chép tỷ mỉ sự hình thành u, gai và các bệnh khác của từng cây theo định kỳ 10 ngày một lần.

II. KẾT QUẢ

1. Một số đặc điểm sinh học của các chủng vi sinh vật được sử dụng trong thí nghiệm:

Bảng 1

Đặc điểm sinh học của các chủng vi sinh vật được sử dụng trong thí nghiệm

Tên chủng	Hình thái khuẩn lạc	Bào tử	Các đặc điểm sinh học khác
<i>M. cesatii</i> M ₂₉	Sau 7 ngày nuôi cấy, khuẩn lạc có màu xám đen đến đen khối, sợi bông, lan rộng. Tiết sắc tố màu đen ra môi trường.	Bào tử trần sinh trực tiếp trên sợi nấm hoặc trên giá sinh bào tử. Bào tử có màu đen, dạng trứng đến nhọn đầu. Có 2 loại bào tử nhỏ hình cầu.	Giá bào tử trần thẳng hay uốn lượn. Sợi đơn giản hoặc mang nhánh rất ngắn, màu nâu nhạt.
<i>L. subramanian</i> M ₂₈	Sau 7 ngày nuôi cấy, khuẩn lạc có màu trắng, xốp bông, lan rộng. Sau 5-7 ngày ngả sang màu xám. Sợi cứng, đơn giản, thẳng, màu nâu. Không tiết sắc tố ra môi trường.	Bào tử hình cầu, màu nâu sinh thành chuỗi hướng ngọn.	Giá sinh bào tử trần xen lẫn với sợi cứng. Đỉnh sinh bào tử hình cầu, sau khi bào tử tách ra thành hình chén.
<i>Pseudomonas</i> sp. TM ₁	Sau 48 giờ nuôi cấy, khuẩn lạc tròn, nhỏ, màu trắng đục, đường kính 4 mm, tế bào có hình que ngắn.	Không tạo bào tử	Gram âm, phản ứng oxydaza dương tính, không lên men glucoza, có khả năng di động.

2. Kết quả thí nghiệm lây nhiễm vi sinh vật vào cây quế khỏe 2 tuổi:

Theo kết quả điều tra của Lê Bá Hùng và chúng tôi (1996) triệu chứng bệnh tua mực ở những cây non trong vườn ươm biểu hiện không đặc trưng. Đó là những khối u nhỏ, đường kính từ 10-20 mm. Hình dạng của chúng gần như nửa hình cầu, có màu xanh như thân cây. Bên cạnh những khối u có thể có những tua nhỏ như gai đâm ra. Khối u không có mùi thơm đặc trưng của quế. Còn ở những cây quế 5 tuổi trở lên thì bệnh biểu hiện rất rõ rệt. Ban đầu ở thân cây hoặc cành cây có những chỗ phình to ra, giống như khối u. Sau một thời gian khối u lớn dần lên và từ đó đâm ra những tua dài giống như tua mực. Tua có thể dài tới 40 cm, đường kính từ 1,2 cm đến 1,5 cm.

Nghiên cứu tua mực không có mùi thơm đặc trưng của quế. Đối với cây ca cao, bệnh tua mực ở những cây non cũng biểu hiện ở dạng khối u nhỏ. Bệnh tua mực chỉ xuất hiện và làm hại cây vào mùa mưa, từ tháng 9 hàng năm đến tháng 1, 2 năm sau. Đến mùa khô, tua mực khô đi. Ở vùng sinh tua mực, thân cây càng phình to ra như một khối u lớn, sần sùi và trở thành tổ của một số côn trùng như kiến, mối.... Rồi đến mùa mưa, từ những khối u sần đó lại đâm ra những tua mực mới.

Kết quả lây nhiễm vi sinh vật vào các cây quế khỏe được trình bày ở bảng 2.

Bảng 2

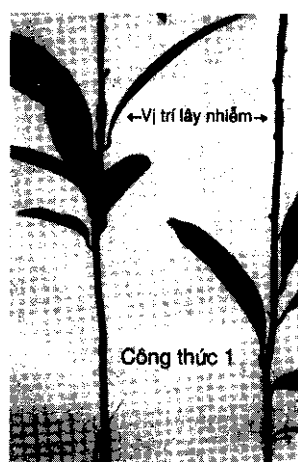
Kết quả lây nhiễm vi sinh vật vào cây quế khỏe 2 tuổi

Công thức thí nghiệm	Số cây	Chủng vi sinh vật	Trạng thái cây sau 8 tháng					
			Cây bình thường	Cây chết	Cây bị xoắn lá	Cây hình thành u, gai	Tỷ lệ % cây xoắn lá	Tỷ lệ % cây hình thành u, gai
ĐC	50	0	27	2	31	0	60,2	0
CT ₁	25	<i>Pseudomonas</i> sp. TM ₁	4	0	17	2	68	8
CT ₂	50	<i>M. cesatii</i> M ₂₉ + <i>L. subramanican</i> M ₂₈	19	1	29	1	58	2
CT ₃	50	<i>M. cesatii</i> M ₂₉	14	7	27	2	54	4
CT ₄	25	Hỗn hợp dịch nấm và vi khuẩn	6	0	1	18	4	72

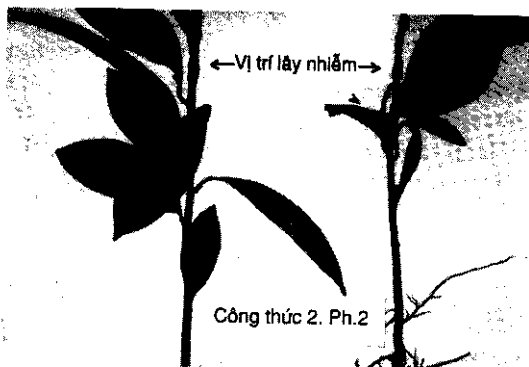
Từ bảng 2 ta thấy, ở lô ĐC không thấy xuất hiện khối u, gai (ảnh 1). Còn trong tất cả các công thức TN, đều quan sát thấy hiện tượng phát sinh u ở chỗ gây thương tích (ảnh 2, 3, 4, 5). Những kết quả trên cho phép kết luận rằng sự hình thành khối u tại các điểm lây nhiễm là kết quả của sự nhiễm vi sinh vật vào và nó cũng khẳng định giả thiết của chúng tôi về nguyên nhân gây bệnh tua mực trên cây quế Trà My do vi sinh vật gây nên là đúng.



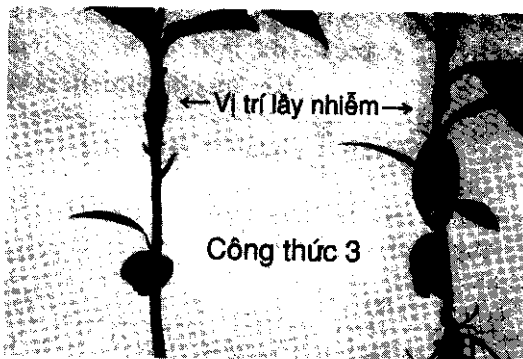
Ảnh 1. Cây đối chứng



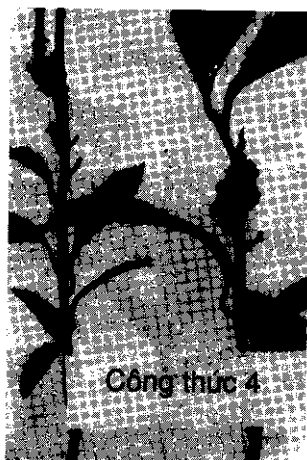
Ảnh 2. Cây nhiễm vi khuẩn *Pseudomonas* sp. TM₁



Ảnh 3. Cây nhiễm 2 loại nấm sợi *M. cesatii* M₂₉ và *L. subramarian* M₂₈



Ảnh 4. Cây nhiễm loại nấm sợi *M. cesatii* M₂₉



Ảnh 5. Cây nhiễm hỗn hợp dịch 2 loại nấm sợi và 1 loài vi khuẩn

Khi lấy nhiễm riêng lẻ từng loài vi sinh vật (CT₁, CT₂, CT₃) tỷ lệ cây quế hình thành khối u thấp nhất, chỉ đạt từ 2-8%. Đường kính của các u này cũng nhỏ. Nhưng khi lấy nhiễm hỗn hợp dịch nuôi cấy 2 loại nấm và một loại vi khuẩn (CT₄), tỷ lệ cây hình thành khối u rất cao, đạt tới 72%, đường kính tới 2 cm (ảnh 5). Điều này cho phép khẳng định sự hình thành khối u không phải là do một loại vi sinh vật mà là một hỗn hợp vi sinh vật, cụ thể là gồm 2 loài nấm sợi và 1 loài vi khuẩn.

Về hình thái bên ngoài cũng như về kích thước, màu sắc, các khối u trên cây quế thí nghiệm cũng giống như các khối u trên cây quế mắc bệnh tua mực ở trong vườn ươm và trong rừng quế ở trong giai đoạn đầu của bệnh tua mực.

Số liệu ở bảng 2 cũng cho thấy, ở lô TN nhiễm cả nấm mốc và vi khuẩn, cây bị xoắn lá non rất ít (4%). Còn

trong các lô khác tỷ lệ cây bị xoắn lá rất cao, từ 54 đến 68%. Một hiện tượng rất lý thú mà chúng tôi quan sát thấy là các cây bị xoắn lá non đều có tốc độ sinh trưởng nhanh. Chúng đều cao hơn so với cây bình thường từ 5-7 cm.

Thí nghiệm lây nhiễm được tiến hành lần đầu vào 4/1998. Hai đợt lây nhiễm sau vào đầu tháng 6 và đầu tháng 8 năm 1998. Sự xuất hiện u, gai được quan sát thấy vào khoảng tháng 9/1998. Sau đó số cây hình thành khối u tăng dần theo các tháng 10, 11, 12 năm 1998. Đó là vào mùa mưa, độ ẩm trong không khí cao. Sự xuất hiện các u trên cây quế thí nghiệm vào thí nghiệm vào thời gian như trên hợp với các dẫn liệu của Lê Bá Hùng, 1996, bệnh tua mực chỉ xuất hiện, phát triển và gây hại vào mùa mưa, từ tháng 8, 9 năm này đến tháng 2, 3 năm sau, khi có nhiệt độ và độ ẩm thích hợp. Kết quả quan sát sự hình thành khối u theo thời gian lây nhiễm được trình bày ở bảng 3.

Bảng 3

Tỷ lệ cây hình thành khối u theo thời gian

Công thức thí nghiệm	Số cây	Tỷ lệ hình thành khối u (%) theo thời gian lây nhiễm				
		tháng 4/1998	tháng 6/1998	tháng 8/1998	tháng 10/1998	tháng 12/1998
ĐC	50	0	0	0	0	0
CT ₁	25	0	0	8	8	8
CT ₂	50	0	0	0	2	2
CT ₃	50	0	0	0	4	4
CT ₄	25	0	0	0	48	72

III. KẾT LUẬN

1. Đã lây nhiễm thành công các vi sinh vật gây bệnh tua mực để hình thành nên khối u ở cây quế.

2. Việc lây nhiễm nhân tạo đã chứng minh tác nhân gây nên khối u (giai đoạn đầu của bệnh tua mực) không phải do một loại vi sinh vật riêng biệt, mà là do một hỗn hợp các vi sinh vật, ít ra là gồm 2 loài nấm sợi *M. cesatii* M₂₉, *L.subramanian* M₂₈ và một loại vi khuẩn *Pseudomonas* sp. TM₁.

3. Hiện tượng sinh khối u ở cây quế bị nhiễm vi sinh vật giống như triệu chứng bệnh tua mực ở giai đoạn đầu của những cây quế 5 năm tuổi trở lên.

4. Khối u trên cây quế lây nhiễm nhân tạo xuất hiện vào tháng 9 và tiếp tục phát triển vào tháng 10, 11, 12 phù hợp với thời gian bệnh tua mực phát triển ngoài môi trường tự nhiên.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Lê Bá Hùng, 1996: Bước đầu tìm hiểu một số bệnh chủ yếu gây hại ở quế huyện Trà My, tỉnh Quảng Nam, Đà Nẵng. Luận văn cử

nhân sinh học Huế.

2. Phạm Văn Lực, 1997: Tìm hiểu nguyên nhân gây bệnh tua mực cho cây quế Trà My, Quảng Nam và biện pháp phòng chống. Báo cáo sơ kết đề tài 2 năm 1996-1997. Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật. Hà Nội.

3. Lý Thanh Thiên, 1994: Điều tra bệnh nấm trên cây dược liệu. Luận án thạc sĩ bệnh lý thực vật. Đại học Nông nghiệp Hoa Nam, Quảng Châu, Trung Quốc (tiếng Trung Quốc).

4. Văn Tân, Tống Lục Thuận, 1995: Nghiên cứu những mầm bệnh vi sinh vật gây bệnh thối cành ở cây quế Trung Quốc. Tạp chí Vi sinh vật học, số 35: 181-185 (tiếng Trung Quốc).

5. Tống Kim Thuận, Lý Kim Bằng, Phạm Văn Lực, 1998: Phân lập và nghiên cứu các vi sinh vật có khả năng gây bệnh tua mực cho cây quế ở Trà My, Quảng Nam. Tạp chí Sinh học, T.20(4): 20-24.

6. Nguyễn Văn Uyển, Nguyễn Tài Sum, 1996: Cây cao trên thế giới và triển vọng ở Việt Nam. NXB Nông nghiệp Tp. Hồ Chí Minh: 103-104.

THE PATHOGENICITY OF MICROORGANISMS ISOLATED FROM THE TUMORS OF CINNAMON TREES IN QUANGNAM PROVINCE

LY KIM BANG, et al.

SUMMARY

Two fungus strains *M. cesati* M₂₉, *L. subramanian* M₂₈ and one bacteria strain *Pseudomonas* sp., TM₁, were isolated from the tumors of the cinnamon trees in Quangnam province. These microorganisms were artificially inoculated into 200 of 2 years old trees.

The results of our examination showed that:

1. The tumors forming on the test cinnamon trees are result of the artificial inoculation of microorganisms just shown above.
2. The pathogenicity of the fungus and bacteria mix-culture is higher (72%) than the one of the single culture.
3. The tumors forming on the test cinnamon trees occur in September, October, November and December of the year.
4. The tumors on the test cinnamon trees look like the tumors of the witches broom disease on the cinnamon trees in the breeding nursery and in the forest.

Ngày nhận bài: 5-12-1999

NGHIÊN CỨU TÁC ĐỘNG CỦA KHÔ HẠN LÊN CÂY NHẪN BẰNG XÁC ĐỊNH HUỖNH QUANG DIỆP LỤC

NGUYỄN QUỐC THÔNG, LÊ THỊ LAN OANH,
NGUYỄN VĂN THIẾT

Viện Công nghệ sinh học, Trung tâm KHTN và CNQG

VŨ VĂN VỤ, TRẦN DUY CHI

Khoa Sinh vật, Đại học Khoa học Tự nhiên, ĐHQG HN

Xác định huỳnh quang diệp lục là phương pháp nghiên cứu không cần phá vỡ tế bào để khảo sát nhanh trạng thái sinh lý của cây và xác định mức độ cảm ứng của thực vật đối với tác động bất lợi từ môi trường nhằm chống lại sự phá hủy bộ máy quang hợp ở thực vật. Các yếu tố môi trường cũng như các điều kiện bất lợi có thể tác động trực tiếp hay gián tiếp lên tốc độ quang hợp ở thực vật, nghĩa là lên tốc độ chuyển hóa năng lượng ánh sáng, cường độ quang hợp và trạng thái của bộ máy quang hợp. Những biến đổi tức thời này có thể xác định và được thể hiện bằng hình ảnh qua phương pháp đo huỳnh quang diệp lục *in vivo* (Krause và Weis, 1984, Lichtenthaler, 1984, 1986). Phương pháp này không chỉ cho phép xác định dễ dàng sự giảm tốc độ quang hợp và còn được ứng dụng để xác định mức độ suy thoái rừng, giảm diệp lục ở lá của cây trồng do tác động bất lợi từ môi trường (Lichtenthaler và cộng sự, 1986, Lichtenthaler và Rinderler, 1988a, 1988b, Bolhar-Nordenkamp và Oquist, 1993).

Áp dụng phương pháp này chúng tôi nghiên cứu tác động bất lợi của khô hạn bằng cách ngừng cấp nước qua rễ và sự suy giảm huỳnh quang diệp lục để đánh giá ảnh hưởng của khô hạn lên trạng thái sinh lý của cây nhãn, loại cây ăn quả rất có giá trị ở nước ta để mở hướng nghiên cứu ứng dụng phương pháp đo huỳnh quang diệp lục xác định nhanh phản ứng của cây trồng lên các điều kiện bất lợi của môi trường, chọn các cá thể có khả năng chống chịu tốt và tìm các biện pháp khắc phục tác động bất

lợi.

I. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Cây nhãn (*Dimocarpus longan* L.) được chọn từ tập đoàn nhãn dùng để nghiên cứu đa dạng sinh học cây ăn quả ở phòng thí nghiệm Sinh hóa thực vật, Viện Công nghệ sinh học, Trung tâm Khoa học tự nhiên và Công nghệ quốc gia và Bộ môn Sinh lý thực vật, Khoa Sinh học, Đại học Khoa học tự nhiên, ĐHQG Hà Nội.

Huỳnh quang diệp lục đo trên Plant Efficiency Analyser của hãng Hansatech Instruments cùng bộ xử lý và màn hình thể hiện các chỉ số: huỳnh quang cực đại-maximum fluorescence F_m , huỳnh quang dao động-variable fluorescence F_v , tỷ số giữa huỳnh quang dao động và huỳnh quang cực đại-ratio F_v/F_m , v.v..

Nhãn được trồng trong các bồn đất và chăm sóc 4 tháng trước khi tiến hành thí nghiệm.

Tác động khô hạn lên cây được thể hiện trong thí nghiệm ngừng cấp nước qua rễ cây được tiến hành như sau: cây nhãn được đưa ra khỏi bồn, rũ hết đất bám xung quanh rễ và rửa sạch, thấm khô. Thời gian thí nghiệm khô hạn bắt đầu được tính sau khi rễ được thấm khô nước.

Buồng lá thiết kế đồng bộ kèm theo máy đo, được gắn trên bề mặt lá 30 phút trước khi đo huỳnh quang diệp lục. Thí nghiệm

* Công trình được sự hỗ trợ kinh phí của Chương trình nghiên cứu khoa học cơ bản.

được đo sau khi xử lý ngừng cấp nước cho cây 30 phút, 1 giờ, 1 giờ 30 phút, 2 giờ, 2 giờ 30 phút, 3 giờ, 3 giờ 30 phút,... lần lượt đến 24 giờ. Thời gian giữa các lần đo huỳnh quang là 30 phút. 50 buồng đo đã được sử dụng và được lặp lại nhiều lần.

Hai loại lá nhãn được dùng để đo huỳnh quang diệp lục, đó là:

- Lá nhãn bánh tẻ ở phần ngang thân cây.

- Lá nhãn non ở phần ngọn cây.

Thời gian đo huỳnh quang là 1 s (giây), cường độ ánh sáng bão hòa 100% và nhiệt độ $28^{\circ}\text{C} \pm 2$.

II. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

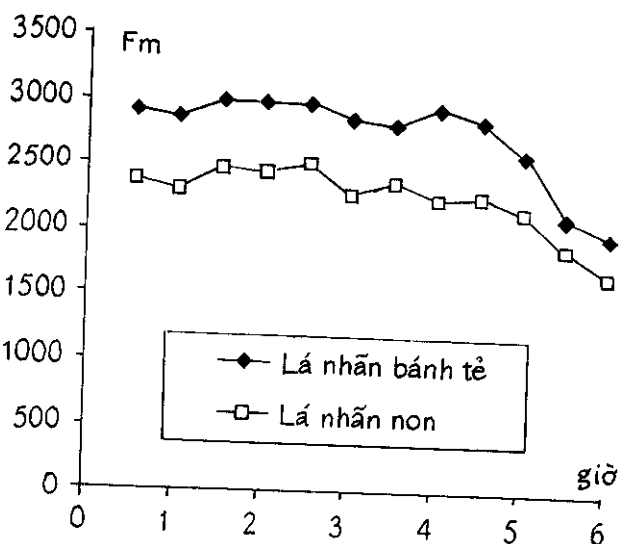
Trong thời gian 4 giờ đầu tiên (từ giờ thứ nhất đến giờ thứ tư) trong thí nghiệm ngừng cấp nước qua rễ, các giá trị của huỳnh quang cực đại F_m ở lá nhãn bánh tẻ nhìn chung ít thay đổi mà dao động trong khoảng từ 2900 đến 3000 như được thể hiện trong hình 1.

Giá trị F_m của lá nhãn bánh tẻ bắt đầu giảm từ giờ thứ 5 ngừng cấp nước qua rễ trở đi. Các giá trị F_m giảm dần và giảm mạnh ở giờ thứ 6 như đã thấy trong hình 1 từ 2900 xuống còn 2000. Giá trị F_m sẽ giảm mạnh gần đến 0 khi tiếp tục kéo dài thời gian ngừng cấp nước cho cây trong những giờ thí nghiệm tiếp theo.

Giá trị F_m của lá nhãn non - là những lá nằm ở phần ngọn của cây - khá ổn định trong khoảng từ 2300 đến 2500 trong vòng 3 giờ đầu sau khi ngừng cấp nước cho cây qua rễ. Thời gian ngừng cấp nước từ giờ thứ 4 đến giờ thứ 6 đã ảnh hưởng mạnh đến bộ máy quang hợp của lá nhãn non mà thể hiện gián tiếp qua giá trị đo được của huỳnh quang diệp lục, đã giảm từ 2300 đến 2000, như đã đưa ra trong hình 1. Giá trị F_m của lá nhãn non đã thay đổi tương tự như ở lá nhãn bánh tẻ, nhưng trong thời gian ngừng cấp nước ngắn hơn.

Kết quả đo huỳnh quang cực đại F_m ở lá nhãn bánh tẻ và lá nhãn non cho thấy việc ngừng cấp nước qua bộ rễ đã ảnh hưởng đến huỳnh quang diệp lục thể hiện bằng sự giảm các số đo huỳnh quang cực đại.

Các kết quả thu được còn cho thấy chỉ số F_m ở lá nhãn bánh tẻ và lá nhãn non đều thay



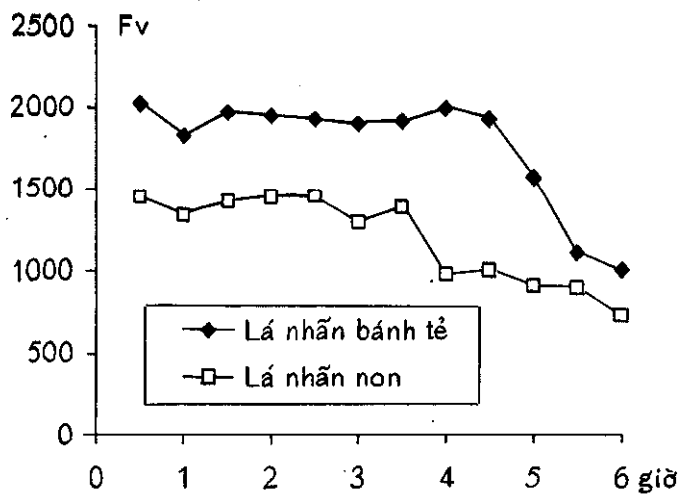
Hình 1: Huỳnh quang diệp lục cực đại F_m của lá nhãn bánh tẻ và lá nhãn non

đổi phụ thuộc vào thời gian ngừng cấp nước. Các kết quả thí nghiệm này cũng phù hợp với các kết quả thí nghiệm trên lá cây Thích (*Maple-Acer platanoides*) và lá cây Vân sam (*Spruce-Picea omorka*) của Lichtenthaller, 1988.

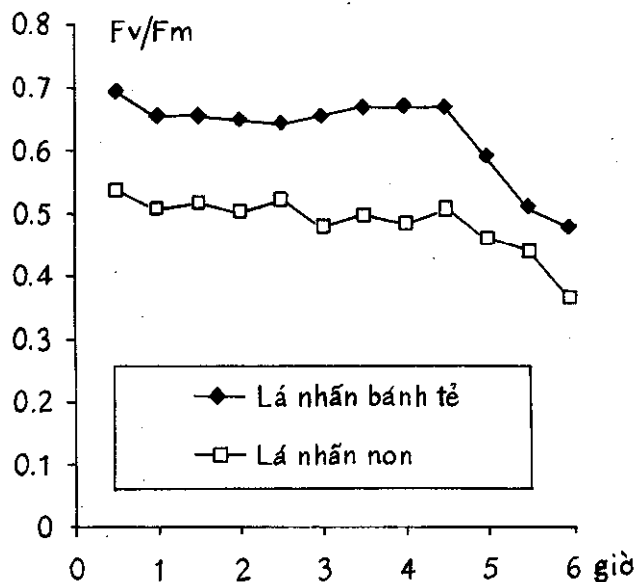
Một chỉ số khác được dùng đồng thời với huỳnh quang cực đại khi xác định huỳnh quang diệp lục là huỳnh quang dao động F_v . Kết quả đo huỳnh quang dao động F_v ở lá nhãn bánh tẻ và lá nhãn non được trình bày trong hình 2.

Trong 4 giờ đầu tiên (từ giờ thứ nhất đến giờ thứ tư) của thí nghiệm ngừng cấp nước cho cây qua rễ, các giá trị F_v ở lá nhãn bánh tẻ ít thay đổi và có giá trị gần như nhau trong khoảng từ 1900 đến 2000 như đã thể hiện trong hình 2. Nhưng trong giờ thí nghiệm ngừng cấp nước tiếp theo thứ 5 và thứ 6, giá trị F_v đo được của lá nhãn bánh tẻ đã giảm mạnh từ 1900 xuống đến 1000.

Giá trị F_v ở lá nhãn non cũng ít thay đổi trong 3 giờ đầu thí nghiệm ngừng cấp nước qua rễ cho cây, có số đo từ 1400 đến 1450 và giá trị F_v này ở lá nhãn non đã giảm từ 1300 xuống đến 700 sau giờ thí nghiệm thứ 3, như đã thể hiện trong hình 2. Huỳnh quang F_v của lá nhãn



Hình 2: Huỳnh quang dao động Fv của lá nhãn bánh tẻ và lá nhãn non



Hình 3: Tỷ số Fv/Fm của lá nhãn bánh tẻ và lá nhãn non

số huỳnh quang nhấp lức đều đã giảm dần ở lá nhãn bánh tẻ và lá nhãn non trong các giờ thí nghiệm thứ 4, thứ 5 và thứ 6. Kết quả thí nghiệm cho thấy việc ngừng cấp nước qua rễ cho cây đã tác động rõ rệt đến hoạt động sinh lý bình thường của cây dẫn đến việc suy giảm các chỉ số huỳnh quang nhấp lức.

non cũng giảm tương tự như ở lá nhãn bánh tẻ do tác động ngừng cấp nước cho cây, nhưng giá trị Fv giảm nhanh hơn, chỉ sau 3 giờ thí nghiệm.

Trong nghiên cứu huỳnh quang nhấp lức, các nhà nghiên cứu còn sử dụng tỷ số giữa huỳnh quang dao động Fv và huỳnh quang cực đại Fm, còn được gọi là chỉ số Fv/Fm huỳnh quang hữu hiệu.

Các giá trị thu nhận được của chỉ số Fv/Fm được trình bày trong hình 3. Các giá trị Fv/Fm ở lá nhãn bánh tẻ tương đối ổn định từ 0,67 đến 0,69 trong 4 giờ đầu (khoảng thời gian từ giờ thứ nhất đến giờ thứ tư) của thí nghiệm ngừng cấp nước cho cây và giá trị Fv/Fm đã giảm từ 0,67 đến 0,50 trong các giờ thí nghiệm thứ 5 và thứ 6.

Tương tự như với lá nhãn bánh tẻ, các giá trị của chỉ số Fv/Fm của lá nhãn non cũng tương đối ổn định trong 3 giờ thí nghiệm và bắt đầu giảm xuống dần trong giờ thí nghiệm thứ 4, 5 và 6. Chỉ số Fv/Fm này giảm mạnh khi tiếp tục kéo dài thời gian ngừng cấp nước cho cây. Như vậy chỉ số Fv/Fm ở lá nhãn non trong thí nghiệm ngừng cấp nước qua rễ cho cây cũng có thời gian ổn định và giảm xuống dần tương tự như ở lá nhãn bánh tẻ do tác động khô hạn nhưng với thời gian sớm hơn khoảng 1 giờ.

Các giá trị huỳnh quang cực đại Fm, huỳnh quang dao động Fv và chỉ số Fv/Fm ở lá nhãn trong thời gian từ 3 đến 4 giờ đầu thí nghiệm ngừng cấp nước qua rễ cho cây đều tương đối ổn định. Vì trong thời gian đầu ngừng cấp nước, các hoạt động trong cơ thể như quang hợp, thoát hơi nước qua khí khổng để điều hòa nhiệt độ thân cây và các hoạt động khác còn có thể sử dụng các nguồn nước dự trữ trong cơ thể, nhưng nguồn nước dự trữ này không thể đủ cung cấp trong thời gian khô hạn kéo dài, do đó các chỉ

Thí nghiệm ngừng cấp nước kéo dài đến 24 giờ đã làm lá nhãn bị khô dần, quần lại, mất màu, huỳnh quang diệp lục giảm mạnh, huỳnh quang cực đại, huỳnh quang dao động đều giảm dần đến 0 và không thể tiếp tục đo được nữa, bộ máy quang hợp có thể đã bị hủy hoại nghiêm trọng.

Khả năng phục hồi trở lại bình thường bằng cách cấp lại nước qua bộ rễ của cây tùy thuộc vào thời gian bị khô hạn. Thời gian ngừng cấp nước dưới 12 giờ, cây có khả năng phục hồi nhanh chóng và ngược lại thời gian ngừng cấp nước dài hơn, các rễ nhỏ, lông mao của cây bị rụng dần, chỉ còn lại phần rễ chính cũng đang bị khô dần, cho nên việc phục hồi trở lại trạng thái ban đầu cho cây khó khăn hơn. Trạng thái sinh lý bình thường của cây đã bị thay đổi do tác động khô hạn mất nước gây nên. Thời gian khô hạn kéo dài thì trạng thái sinh lý bị thay đổi mạnh hơn dẫn đến nguy cơ khó có thể phục hồi lại trạng thái sinh lý ban đầu (Lichtenthaler 1988).

Các kết quả đo huỳnh quang diệp lục của lá nhãn bánh tẻ và lá nhãn non đã xác định nhanh tác động khô hạn bất lợi của việc ngừng cấp nước qua bộ rễ đã ảnh hưởng lên hoạt động quang hợp của cây mà thể hiện gián tiếp qua các chỉ số huỳnh quang diệp lục. Thời gian ngừng cấp nước càng dài thì các chỉ số đo huỳnh quang diệp lục càng giảm và dẫn đến nguy cơ khó phục hồi trở lại trạng thái sinh lý bình thường ban đầu của cây. Nghĩa là những tác động bất lợi đột xuất (stress) đã làm thay đổi trạng thái sinh lý của cây; thời gian của những tác động bất lợi càng dài sẽ gây những hậu quả xấu khó phục hồi lại cho cơ thể thực vật thể hiện qua sự suy giảm mạnh giá trị của các chỉ số huỳnh quang diệp lục.

Qua 3 chỉ số F_m , F_v và F_v/F_m như đã phân tích trong quá trình suy giảm các giá trị huỳnh quang đều cho thấy có sự khác biệt rõ rệt về huỳnh quang diệp lục giữa lá nhãn bánh tẻ và lá nhãn non. Nếu các giá trị F_m , F_v ở lá nhãn bánh tẻ bắt đầu giảm sau khoảng 4 giờ ngừng cấp nước qua rễ cho cây, thì các giá trị F_m , F_v ở lá nhãn non bắt đầu giảm sau khoảng 3 giờ. Như vậy các chỉ số đó ở lá nhãn non giảm trong thời gian xử lý ngắn hơn thường khoảng 1 giờ.

Tập hợp các kết quả đo huỳnh quang cực đại F_m và huỳnh quang dao động F_v của lá nhãn

bánh tẻ và lá nhãn non tại các thời điểm khác nhau trong suốt quá trình thí nghiệm cho thấy có sự khác biệt nhau rất rõ về huỳnh quang diệp lục giữa hai loại lá này và lá nhãn non luôn mẫn cảm hơn và thường bị tác động sớm hơn bởi các điều kiện bất lợi của môi trường xung quanh.

Những kết quả thu được trong giờ thí nghiệm đầu tiên gợi ra rằng việc ngừng cấp nước đã gây tác động lên cây thông qua các chỉ số huỳnh quang diệp lục. Trong thí nghiệm này cây nhãn bắt buộc phải có những phản ứng thích nghi trong thời gian ngừng cấp nước đầu tiên chuyển sang chế độ sử dụng các nguồn nước dự trữ trong cơ thể nhằm duy trì các hoạt động sống của mình thay thế cho nguồn nước từ rễ đột ngột bị mất.

Như đã được đưa ra trong tiêu đề của bài này, đây mới chỉ là nghiên cứu áp dụng phương pháp huỳnh quang trong hướng nghiên cứu xác định nhanh phản ứng của cây trồng với các điều kiện bất lợi, tìm các giải pháp khắc phục và các kết quả nghiên cứu thu được đã gợi ra những vấn đề nghiên cứu tiếp theo. Với các ưu điểm của một phương pháp nhanh, nhạy và không phá hủy tế bào của đối tượng nghiên cứu. Đây là một phương tiện nghiên cứu sinh lý cây trồng rất hiệu quả, đặc biệt phù hợp trong chương trình nghiên cứu của chúng tôi. Trong các nghiên cứu tiếp theo, chúng tôi sẽ quan tâm vào thời gian thích nghi tối thiểu để có thể có được những số liệu huỳnh quang chi tiết hơn trong thời gian đầu của thí nghiệm. Ngoài việc nghiên cứu đồng bộ các thay đổi trong cấu trúc bộ máy quang hợp với việc xác định huỳnh quang diệp lục cũng rất cần thiết để tìm hiểu bản chất và cơ chế của phản ứng của cây lên các điều kiện bất lợi của môi trường khô hạn.

III. KẾT LUẬN

Tác động bất lợi của việc ngừng cấp nước qua rễ đã ảnh hưởng xấu đến trạng thái sinh lý và các hoạt động quang hợp của cây nhãn thể hiện gián tiếp qua sự suy giảm giá trị huỳnh quang diệp lục (F_m , F_v và F_v/F_m).

Mức độ thay đổi huỳnh quang diệp lục ở nhãn còn phụ thuộc vào thời gian ngừng cấp nước. Thời gian tác động khô hạn càng dài gây những hậu quả xấu, cây khó phục hồi trạng thái sinh lý ban đầu.

Lá nhãn non luôn mất cảm hơn và thường bị ảnh hưởng sớm hơn do tác động bất lợi của khô hạn từ môi trường.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Krause G. H. and Weis E., 1984: Chlorophyll fluorescence as tool in plant physiology. II. Interpretation of Fluorescence signals. Photosynthesis Research, 5: 138-157.
2. Lichtenthaler H. K., 1984: Influence of environmental factors on composition and function of the photosynthetic apparatus. In: Advances in Photosynthesis Research, Syberma C. ed. Vol. IV, pp. 241-244, Martinus Nijhoff/Dr. W. Junk Publisher, The Hague.
3. Lichtenthaler H. K., 1986: Laser-induced chlorophyll fluorescence of living plants. In: Proceed. Remote Sensing Symp. IGARSS Zurich Vol. II, pp. 1587-1590, ESA Publication Division, Noordwijk.
4. Lichtenthaler H. K., Buschmann C., Rinderle U. and Schmuck G., 1986: Application of chlorophyll fluorescence in ecophysiology. Radiation Environmental Biophysics 25: 297-308.
5. Lichtenthaler H. K., 1988: In vitro chlorophyll fluorescence as a tool for stress detection in plants. In: Application of Chlorophyll Fluorescence in Photosynthesis Research, Stress Physiology, Hydrobiology and Remote Sensing. Lichtenthaler H. K. ed.: 176-183.
6. Lichtenthaler H. K., Rinderle U., 1988a: The chlorophyll fluorescence ratio F_{690}/F_{735} as a possible stress indicator. In: Application of Chlorophyll Fluorescence. Light Emission by Plants and Bacteria. Lichtenthaler H. K. ed.
7. Lichtenthaler H. K., Rinderle U., 1988b: The chlorophyll fluorescence in detection of stress condition in plant. CRC Critical Reviews in Analytical Chemistry 19, Suppl. In: 29-85, Light Emission.
8. Borhar-Nordenkamp H. R. and Oquist G., 1993: Chlorophyll Fluorescence as a tool in photosynthesis research. In Photosynthesis and Production in a Changing Environment. Edited by D. O. Hall, J. M. O. Scurlock, H. R. Borhar-Nordenkamp, R. C. Leegood and S. P. Long.

RESEARCH ON THE WATER STRESS ON LONGAN TREES (*DIMOCARPUS LONGAN* L.) DEFINING THE BY CHLOROPHYLL FLUORESCENCE

NGUYEN QUOC THONG, et al.

SUMMARY

The periodic measurement of chlorophyll fluorescence was made by Plant Efficiency Analyser on the leaves and young leaves of the Longan (*Dimocarpus longan* L.) tree to observe the changes of chlorophyll fluorescence under the water stress.

The values of chlorophyll fluorescence, such as maximal fluorescence (F_m), variable fluorescence (F_v) and ratio of variable fluorescence and maximal fluorescence (F_v/F_m), were decreased during the treatment time of water stress.

The results indicated that water stress was harmful infected on the photosynthetic activity and the health situation of the Longan tree and young leaves were more sensitive to water stress than normal ones.

Ngày nhận bài: 26-10-1999

HỘI THẢO TOÀN QUỐC "VIỆT NAM VỚI CHƯƠNG TRÌNH PROSEA"

Ngày 30 tháng 8 năm 2000, Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật đã tổ chức Hội thảo toàn quốc "Việt Nam với chương trình PROSEA" tại Hà Nội.

Tham dự Hội thảo có các đại biểu của 3 miền Bắc Trung Nam đại diện cho các cơ quan nghiên cứu khoa học và quản lý tài nguyên thực vật, các Trường đại học Quốc gia, đại học Lâm nghiệp, N lâm, Dược, các Cơ quan khoa học, công nghệ và môi trường.

Như chúng ta đã biết, mục tiêu của chương trình PROSEA là xây dựng được một ngân hàng liệu về tài nguyên thực vật khu vực Đông Nam Á, đồng thời biên soạn một bộ cẩm nang gồm 20 tập có liên quan tới 7500 loài cây có giá trị kinh tế từ những thông tin mới nhất và đầy đủ nhất về tài nguyên thực vật trong khu vực.

Hội thảo đánh giá lại những việc đã hoàn thành của giai đoạn 1996 - 2000, những ứng dụng các kết quả đã đạt được vào thực tiễn nghiên cứu, sản xuất, quản lý và sử dụng hợp lý nguồn tài nguyên thực vật cũng như bảo vệ môi trường Việt Nam và Khu vực. Hội thảo cũng thảo luận các biện pháp h động để thực hiện các mục tiêu đề ra của chương trình PROSEA giai đoạn 2001-2005.

Hoạt động của Chương trình PROSEA từ năm 1996 đến 2000 đã thu được những kết quả tốt và được đánh giá cao tại Hội nghị quốc tế Tài nguyên thực vật Đông Nam Á (tháng 11-1999) Indonêxia. Cho đến nay, 15 tập sách (gồm 17 cuốn) trong tổng số 20 tập của Bộ cẩm nang đã được in ấn. Cuốn sách cuối cùng của 5 tập còn lại sẽ được xuất bản chậm nhất là vào năm 2001.

Ngân hàng tư liệu các thông tin liên quan đến tài nguyên thực vật trong khu vực Đông Nam Á đã được song song ấn hành dưới dạng các tập sách (Bibliography) và đĩa CD tra cứu.

Trong giai đoạn 1996 - 2000, Văn phòng PROSEA Việt Nam với sự giúp đỡ tích cực của cộng tác viên đã thu thập và xử lý được 9500 biểu thông tin trong đó khoảng 6000 records đã được nhập vào Ngân hàng tư liệu khu vực.

Hai tập sách của Bộ cẩm nang đã được dịch ra tiếng Việt.

PROSEA Vol.1: Các cây đậu ăn hạt

PROSEA Vol.6: Các cây song mây

Một số tập sách khác của Bộ cẩm nang đang được gấp rút hiệu đính để xuất bản trong năm 2001 đó là:

PROSEA Vol.2: Các cây ăn quả (đang hiệu đính).

PROSEA Vol.3: Các cây cho tanin và thuốc nhuộm (đang hiệu đính).

PROSEA Vol.5(1): Các cây lấy gỗ; Những loại gỗ thương phẩm chủ yếu (đang hiệu đính).

PROSEA Vol.7: Các cây tre nứa (chờ xuất bản).

3. Đã biên soạn và phân phát miễn phí các tập sách mỏng phổ biến kiến thức Tài nguyên thực vật bằng tiếng Việt.

- Năm 1996: Tập 1 (1-5)

- Năm 1997: Tập 2 (1-6)

- Năm 1998: Tập 3 (1-6)

- Năm 1999: Tập 4 (1-6)

- Năm 2000: Tập 5 (1-3).

4. Đã tập hợp được một lực lượng đông đảo các nhà khoa học Việt Nam tham gia biên soạn tập sách của Bộ cẩm nang:

- Năm 1998: 9 tác giả Việt Nam đã có bài viết và được đăng trong tập sách xuất bản năm 1998

- Năm 1999: 18 tác giả Việt Nam đã có bài viết và được đăng trong tập sách xuất bản năm 1999

- Năm 2000: 16 tác giả Việt Nam đã có bài viết cho sách xuất bản năm 2000.

Nhiệm vụ của Văn phòng PROSEA Việt Nam giai đoạn 2000-2005

- Thông qua những phương tiện thông tin đại chúng như Đài phát thanh, Truyền hình Trung ương và bằng các ấn phẩm như áp phích quảng cáo, tờ bướm tuyên truyền cho hoạt động của PROSEA.

- Mở rộng việc hợp tác với các tổ chức, các cơ quan hoạt động khoa học, nghiên cứu, quản lý khai thác tài nguyên thực vật trong cả nước tham gia vào các hoạt động cụ thể của PROSEA.

- Tiếp tục bổ sung các phiếu đăng ký ORGANYM, PERSONYM để giới thiệu các cán bộ, cơ quan tại Việt Nam với các nhà khoa học nước ngoài nhằm nâng cao hiệu quả hoạt động của PROSEA cũng như các hoạt động khoa học khác.

- Tiếp tục bổ sung các thông tin khoa học về tài nguyên thực vật thông qua mạng lưới cộng tác viên để bổ sung cho ngân hàng tư liệu của PROSEA.

- Quản lý toàn bộ các thông tin liên quan đến tài nguyên thực vật trong Khu vực dưới dạng thông tin lưu trữ trong máy vi tính (600.000 biểu ghi thông tin và tài liệu tham khảo các cuốn Cẩm nang đã được lưu giữ trong máy tính) và cung cấp miễn phí cho mọi người có nhu cầu.

- Tiếp tục giới thiệu và mời các nhà khoa học tham gia viết bài cho các tập còn lại của Bộ cẩm nang và chuẩn bị cho tái bản bổ sung các tập đầu tiên. Trước mắt là nhiệm vụ biên tập và xuất bản các tập về Cây thuốc và Cây làm cảnh.

- Giới thiệu và bán các sản phẩm của PROSEA: Ấn phẩm giá rẻ LPE (Low Price Editions), đĩa CD về các tập của Bộ cẩm nang, đĩa CD các tài liệu đã tham khảo để biên soạn cẩm nang, cung cấp miễn phí các tài liệu phổ biến kiến thức.

- Triển khai các công cụ tra cứu điện tử, nối mạng internet, mở Website của PROSEA để mở rộng khả năng phổ biến và sử dụng các thông tin, tài liệu của chương trình PROSEA.

- Xuất bản các ấn phẩm của PROSEA bằng tiếng Việt (biên soạn các tài liệu phổ biến kiến thức và lần lượt dịch các tập của Bộ cẩm nang) để phổ cập được các thông tin sâu rộng hơn trong cả nước.

Hoạt động hợp tác với các cơ quan, cá nhân có liên quan đến tài nguyên thực vật ở Việt Nam

Ở Việt Nam có rất nhiều cơ quan có các cán bộ tham gia vào công tác nghiên cứu, giảng dạy, quản lý, phát triển, khai thác, sử dụng nguồn tài nguyên thực vật. Việc đầu tiên chúng ta có thể làm là cung cấp các thông tin liên quan đến mẫu biểu ghi ORGANYM, PERSONYM liên quan đến thân thể, tổ chức, hoạt động, các công bố, đóng góp khoa học của tất cả các cơ quan và các nhân hoạt động trong lĩnh vực tài nguyên thực vật. Thứ nữa cũng có thể tham gia dưới hình thức cung cấp các báo cáo khoa học, các công trình nghiên cứu đã công bố trong các sách và các tạp chí chuyên ngành, các Báo cáo khoa học của các trường, cơ quan nghiệm thu đề tài, các kiến nghị khoa học về quản lý khai thác sử dụng nguồn tài nguyên thực vật của nước ta. Các thông tin này được Văn phòng PROSEA hoan nghênh và thu nhận. Các cơ quan giáo dục cũng có thể thông qua những ấn phẩm của PROSEA để tuyên truyền phổ biến các kiến thức cho học sinh, sinh viên, các nhà khoa học tương lai của đất nước. Các cơ quan kinh doanh quản lý cũng sử dụng các thông tin PROSEA để có các chính sách phương hướng thích hợp đáp ứng được các yêu cầu trong lĩnh vực chuyên môn của mình. Các nhà khoa học, nghiên cứu có thể cung cấp các kiến thức tích lũy được trong việc tham gia viết bài cho Bộ cẩm nang PROSEA.

Chúng tôi hy vọng nhận được sự đóng góp tích cực của các nhà khoa học, quản lý, khai thác và bảo vệ nguồn tài nguyên thực vật Việt Nam cho hoạt động của Văn phòng PROSEA trong thời gian tới để chúng ta có sự hiểu biết nhau tốt hơn, cộng tác giúp đỡ nhau hoàn thành các nhiệm vụ nghiên cứu khoa học cũng như đóng góp cho sự phát triển kinh tế nước nhà.

DƯƠNG ĐỨC HUYỀN

Thư ký Điều hành Văn phòng PROSEA

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 Vietn

Trung tam Thong tin Tu lieu - Trung tam Khoa hoc tu nhien va Cong nghe Quoc gia

Hoang Quoc Viet, Cau Glay, Hanoi, Vietnam

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

CONTENTS

		Pages
1 NGUYEN VU THANH	: Nine predatory nematodes (Mononchidae: Nematoda) recorded the first time from Vietnam.	1-11
2 VU VAN HOP, VU XUAN PHUONG	: New genus <i>Gardneria</i> Wall. (Loganiaceae) for the Flora of Vietnam.	12-14
3 NGUYEN THI LE, et al.	: Trematode larvae in the snail- <i>Parafossarulus striatulus</i> (Bithyniidae) collected from Bavi and Ngoc Tao areas of Hanoi Province.	15-21
4 DANG TAT THE, LE XUAN CANH	: Genetical relationship among Vietnamese Douc Langurs based on mitochondrial DNA sequences.	22-28
5 PHAN THI HA, PHAM THI TRAN CHAU	: Effect of Momosertatin on the extracellular proteinases of <i>Pseudomonas</i> isolated from burn wound pus.	29-35
6 DO THI TO UYEN, TRAN VAN NHI	: Biological characteristics of photosynthetic bacteria isolated from several polluted water-bodies in Vietnam.	36-40
7 VU KIM CAU, et al.	: Effects of the liquid nitrogen fertilizer on the reproduction of birds.	41-47
8 DOAN VIET BINH, NGUYEN TAI LUONG	: The accumulation of trace elements in the brain of some animals according to the evolutionary grade.	48-52
9 LY KIM BANG, et al.	: The pathogenicity of microorganisms isolated from the tumors of cinnamon trees in Quangnam Province.	53-58
10 NGUYEN QUOC THONG, et al.	: Research on the water stress on Longan trees (<i>Dimocarpus longan</i> L.) by defining the chlorophyll fluorescence.	59-63

TRUNG TÂM KHOA HỌC TỰ NHIÊN VÀ CÔNG NGHỆ QUỐC GIA
TẠP CHÍ SINH HỌC
TẬP 22 - SỐ 3
9 - 2000

MỤC LỤC

		Trang
1 NGUYỄN VŨ THANH	: Về 9 loài tuyến trùng ăn thịt lần đầu tiên được phát hiện ở Việt Nam (Nematoda: Mononchida).	1-11
2 VŨ VĂN HỢP, VŨ XUÂN PHƯƠNG	: Bổ sung một chi mới <i>Gardneria</i> Wall. (Họ Mã Tiên-Loganiaceae) cho hệ thực vật Việt Nam.	12-14
3 NGUYỄN THỊ LÊ và cộng sự	: Ấu trùng sán lá ở ốc <i>Parafossarulus striatulus</i> (Họ Bithyniidae) vùng Ngọc Tảo và Ba Vì, tỉnh Hà Tây.	15-21
4 ĐẶNG TẤT THỂ, LÊ XUÂN CẢNH	: Quan hệ di truyền của Voọc Vá Việt Nam qua trình tự ADN của ty thể.	22-28
5 PHAN THỊ HÀ, PHẠM THỊ TRÂN CHÂU	: Tác dụng của Momosertatin đến proteinaz ngoại bào của vi khuẩn mủ xanh <i>Pseudomonas</i> phân lập từ mủ bông.	29-35
6 ĐỖ THỊ TỐ UYÊN, TRẦN VĂN NHỊ	: Đặc điểm sinh học của vi khuẩn quang hợp phân lập từ một số thủy vực bị ô nhiễm hữu cơ ở Việt Nam.	36-40
7 VŨ KIM CẦU và cộng sự	: Ảnh hưởng của phân hóa học lỏng chứa nitơ đến mật độ sinh sản của những loài chim làm tổ trên đất.	41-47
8 ĐOÀN VIỆT BÌNH, NGUYỄN TÀI LƯƠNG	: Sự tích lũy các nguyên tố vi lượng trong não của một số loài động vật theo bậc thang tiến hóa.	48-52
9 LÝ KIM BẢNG, và cộng sự	: Vi sinh vật gây bệnh tua mướp (Witches Broom) trên cây quế ở vùng Trà My, Quảng Nam.	53-58
10 NGUYỄN QUỐC THÔNG, và cộng sự	: Nghiên cứu tác động của khô hạn lên cây nhãn bằng xác định huỳnh quang diệp lục.	59-63
11 DƯƠNG ĐỨC HUYẾN	: Tin hội nghị: Hội thảo toàn quốc "Việt Nam với Chương trình PROSEA".	64-65