

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

ISSN 0866 - 7160

tạp chí
SINH HỌC

Journal of Biology

TẬP 20 - SỐ 3

THÁNG 9-1998

HÀ NỘI

CV 27

TẠP CHÍ SINH HỌC

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

HỘI ĐỒNG BIÊN TẬP

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

Thư ký tòa soạn : Trần Ngọc Trấn

GIỐNG TÔM NƯỚC NGỌT *MACROBRACHIUM* BATE, 1868 (PALAEMONIDAE) Ở MIỀN NAM VIỆT NAM

ĐẶNG NGỌC THANH

Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật

Giống tôm nước ngọt *Macrobrachium* Bate, 1868 ở miền Nam Việt Nam còn ít được nghiên cứu. Cho tới nay, mới chỉ có một số ít công trình nghiên cứu của Nguyễn Văn Xuân (1978, 1981) được công bố, dưới dạng danh mục các loài và một số nhận xét về dụng cụ đánh bắt, phân bố và phân loại học của một số loài.

Gần đây, chúng tôi có dịp phân tích một số lượng lớn mẫu vật tôm nước ngọt thuộc giống *Macrobrachium* thu được ở các thủy vực nước ngọt, nước lợ khu vực quanh Thành phố Hồ Chí Minh, các tỉnh vùng đồng bằng sông Cửu Long, Tây Nguyên và cả Nam Lào trong các năm 1974 - 1997. Kết quả phân tích về phân loại học cho thấy một thành phần loài có sai khác với các tài liệu đã công bố của các tác giả nghiên cứu trước đây. Trong số này, đã xác định 2 loài mới cho khoa học. Tác giả xin ghi nhận và chân thành cảm ơn các đồng nghiệp Phạm Văn Miên, Thái Trần Bái và Nguyễn Xuân Quýnh đã thu mẫu vật và cung cấp tài liệu cho công trình nghiên cứu này.

A - THÀNH PHẦN LOÀI CỦA GIỐNG TÔM *MACROBRACHIUM* BATE, 1868 ĐÃ XÁC ĐỊNH ĐƯỢC Ở MIỀN NAM VIỆT NAM

Họ PALAEMONIDAE

Giống *Macrobrachium* Bate, 1868

1. *Macrobrachium rosenbergii* (De Man, 1879)
2. *M. nipponense* (De Haan, 1849)
3. *M. pilimanus* (De Man, 1879)
4. *M. lanchesteri* (De Man, 1911)
5. *M. yeti* Dang, 1975
6. *M. equidens* (Dana, 1841)
7. *M. mirabile* (Kemp, 1917)

8. *M. secamanense* Dang sp. nov.

9. *M. mekongense* Dang sp. nov.

Trong các tài liệu công bố trước đây của Nguyễn Văn Xuân (1978, 1981) về thành phần loài của giống *Macrobrachium* tìm thấy ở miền Nam Việt Nam, tác giả còn ghi nhận các loài *Macrobrachium latidactylus* Thalwitz, 1891; *M. yui* Holthuis, 1950; *M. lar* Fab., 1798; *M. hainanense* Parisi, 1919; *M. formosense* Bate, 1968. *M. sintangense* De Man, 1898.

Trong số mẫu vật chúng tôi đã phân tích, chưa thấy có các loài nói trên.

B - MÔ TẢ HAI LOÀI MỚI CHO KHOA HỌC

1. *MACROBRACHIUM SECAMANENSE*

(Dang sp. nov)

Vật mẫu: 1 ♀, 2 ♂, Gia Lai; 7 ♀, 6 ♂, Buôn Lưới (Tây Nguyên); 3 ♀, 3 ♂, Secaman (Nam Lào).

Holotyp: ♂, Buôn Lưới (Tây Nguyên).

Paratyp: 2 ♂, 3 ♀, Secaman.

Chuẩn loại: Tôm cỡ nhỏ, chủy ngắn cạnh dưới ít răng (1-2). Đốt carpus ngắn hơn bàn, các đốt ngón không có lông rậm, cạnh trong các đốt ngón có hàng mấu răng nhỏ.

Mô tả: Tôm cỡ nhỏ, chiều dài cơ thể (tl) chỉ 35-50 mm. Vò đầu ngực (Cp) ngắn, chủy (R) ngắn, chỉ dài xấp xỉ tới đốt cuối cuống râu I, không vượt quá vảy râu II, hình lưỡi dao hẹp, cạnh trên thẳng hoặc gồ cao (ở con non). Số răng ít, cạnh trên 7-9 răng (thường là 8), răng 1 cách xa răng 2, có 2-3 răng trên đầu ngực (thường là 2), cạnh dưới 1-2 răng. Càng II con đực (PrII)

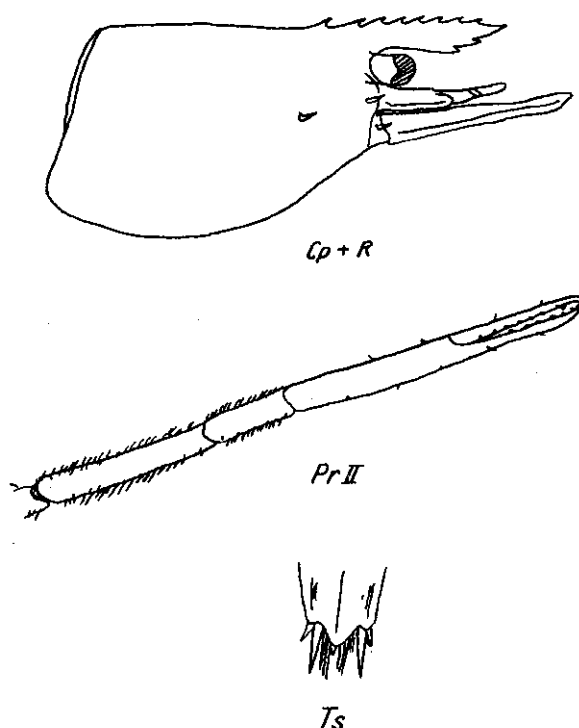
CVV 27

trái phải tương đối đều nhau. Đốt Merus (M) dài gần bằng hoặc ngắn hơn đốt bàn, đốt Carpus (C) hình côn dài, ngắn hơn đốt Merus và đốt bàn. Trên các đốt Merus và Carpus có lông rậm. Đốt ngón (D) hơi ngắn hơn đốt bàn (4/5). Phần kẹp (Chela) nhẵn, cạnh trong các đốt ngón có hàng mấu răng nhỏ chạy gần tới đầu ngón. Telson (Ts) có mũi nhọn ở đầu ngón. Trứng lớn, hình bầu dục d: $1,5 \times 1,2$ mm, trứng mang phôi có thể tới $2,0 \times 1,6 - 1,7$ mm (hình 1).

Kích thước (mm):

	Tl	Cl	M	C	P	D
Con đực	38	12	5,5	4,7	5,8	3,5
	45	15	8,0	7,0	9,0	7,0
	41	13	10,0	7,0	13,0	9,0
Con cái	34	9	9,0	4,5	5,0	3,2

Địa điểm tìm thấy: Suối Sêcaman (Nam Lào), ao Buôn Lưới, suối Gia Lai (Tây Nguyên).



Hình 1: *Macrobrachium secamanense* Dang sp. nov.

Nhận xét: Loài tôm mới này khác với tất cả cá loài tôm thuộc giống *Macrobrachium* đã biết Việt Nam và vùng Đông Nam Á, đặc trưng bởi kích thước cơ thể nhỏ, chủy có ít răng, càng nhỏ với đốt carpus ngắn có hàng mấu răng nhỏ ở cạnh trong các đốt ngón, trứng lớn, số lượng ít. Về hình dạng chủy, *M. secamanense* sp. nov. hơi giống với *Macrobrachium sabanus* Peter K. L. Ng., 1996 (Peter K. L. Ng., 1994) được mô tả ở Malaixi; song rất khác ở hình dạng PrII con đực, cũng như ở kích thước trứng. Loài mới cũng rất khác với *Macrobrachium lar* (Fab. 1798) ở kích thước cơ thể nhỏ, cấu tạo mấu răng ở cạnh trong đốt ngón và trứng lớn. Có thể coi *M. secamanense* là loài đặc trưng cho vùng Tây Nguyên - Nam Lào.

2. *MACROBRACHIUM MEKONGENSE*

Dang sp. nov.

Vật mẫu: 3 đ, Hồng Ngự (Đồng Tháp); 15 đ, 5 q, đồng bằng Nam Bộ.

Holotyp: đ, Hồng Ngự (Đồng Tháp).

Paratyp: 15 đ, 5 q, đồng bằng Nam Bộ.

Chuẩn loại: Tôm cỡ trung bình, chủy dài xấp xỉ tới ngón vây râu II, cạnh dưới 4-5 răng, cạnh trong các đốt ngón trơn không có hàng mấu răng, trứng lớn.

Mô tả: Tôm cỡ trung bình, chiều dài cơ thể (tl) khoảng 40-60 mm. Vỏ đầu ngực (Cl) nhẵn, chủy hẹp dài xấp xỉ ngón vây râu II, cạnh trên thẳng, ngón hơi cong. Cạnh trên chủy có 11-12 răng, có 2-3 răng trên vỏ đầu ngực. Răng mọc tới ngón chủy, răng hơi cách xa răng 2, các răng giữa cách đều. Cạnh dưới có 4-5 răng mọc gần tới ngón chủy. Càng II có các đốt nhẵn, hình ống, càng trái, phải đều nhau. Đốt Merus (M) ngắn hơn Carpus (C), đốt bàn (Pr) dài bằng 2/3 Carpus, đốt ngón (D) ngắn bằng 4/5 đốt bàn. Hai ngón khép kín, nhẵn, phần gốc cạnh trong có mỗi bên 2 mấu răng nhỏ dọc cạnh trong cho tới ngón của đốt ngón không có hàng mấu răng. Telson (Ts) hình mũi nhọn ngắn. Trứng lớn, d = 1,0-1,0, 0,9-1,0 mm (hình 2).

Kích thước (mm):

	TI	CI	M	C	P	D
Con đực	55	15	80	10,0	7,5	6
Con cái	46	12	55	7,7	4,5	3,5

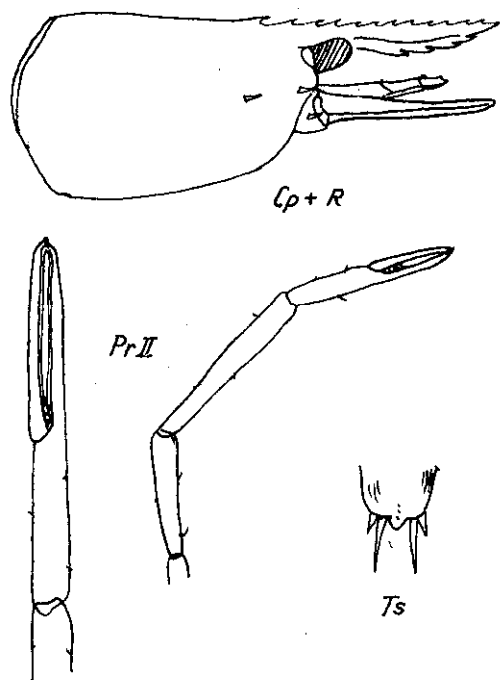
Nhận xét: Loài mới *M. mekongense* sp. nov. rất gần với loài *M. sintangense* (De Man, 1898) cũng như với *M. nipponense* (De Haan, 1849), là 2 loài đã được ghi trong danh sách thành phần loài của các tác giả công bố trước đây (Nguyễn Văn Xuân, 1981). Tuy nhiên, phân tích các mẫu vật thuộc loài này, đặc biệt là về số răng chùy và càng II, có thể thấy những sai khác cơ bản so với mô tả gốc của loài này của De Man (1892) và với mô tả của Holthuis (1950) sau này. So với *M. sintangense*, loài mới sai khác rõ rệt ở số răng

cạnh dưới chùy nhiều hơn hẳn, thường là 4-5 răng, trong khi ở mô tả gốc của De Man, luôn luôn là 3; cạnh trong các đốt ngón động và bất động ở càng II con đực ở loài mới không có hàng mấu răng chạy dọc đặc trưng ở *M. sintangense* cũng như không có lông rậm. Với *M. nipponense*, loài mới sai khác ở kích thước nhỏ hơn, số răng cạnh trên chùy ít hơn, đốt ngón dài hơn và không có lông rậm và nhất là kích thước trứng lớn hơn hẳn.

Trong tất cả số mẫu vật đã được phân tích, chúng tôi không thấy có mẫu vật nào có đủ những đặc trưng phân loại học cơ bản của *M. sintangense*, đã được xác định trong các mô tả của De Man (1892) và Holthuis (1950), đó là: số răng cạnh dưới chùy luôn là 3; cạnh trong các đốt ngón ở càng II con đực có hàng mấu răng dài tới ngọn và trứng có kích thước lớn (tới trên 1 mm). Điều này khiến chúng tôi nghi ngờ về sự hiện diện của loài *M. sintangense* trong thành phần loài tôm nước ngọt ở miền Nam Việt Nam mà các tác giả trước đây đã công bố.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. De Man J. G., 1982: Decapoden des Indischen Archipels. Zool. Ergebnisse einer Reise in Niederlandish Ost - Indien von M. Weber, Vol. 2: 265-527, Pl. XV-XXIX.
2. Holthuis L. B., 1950: The Palaemonidae collected by the Sibog and Snellius Exp. with remarks on other species. Subfamily Palaemoninae. The Decapoda of Siboga Exp. PtX. 39a: 1-268, Figs. 1-52.
3. Nguyễn Văn Xuân, 1978: Tập san KHKT Nông nghiệp - Đại học Nông nghiệp IV, 2 (3): 170-172.
4. Nguyễn Văn Xuân, 1981: Tập san KHKT Nông nghiệp - Đại học Nông nghiệp IV, 5 (3): 146-152.
5. Peter K. L. Ng., 1994: Saban Mus. Jour., I (2): 73-91, Figs 1-13.



Hình 2: *Macrobrachium mekongense* Dang sp. nov.

**FRESHWATER PRAWN GENUS MACTOBRACHIUM BATE, 1868 (PALAEMONIDAE)
FROM THE SOUTHERN PART OF VIETNAM**

DANG NGOC THANH

SUMMARY

Taxonomical study on a collection of freshwater prawn specimens of the genus *Macrobrachium* Bate, 1868 (*Palaemonidae*), collected during the period 1974-1997 from the freshwater bodies around Ho Chi Minh City, in the Mekong delta, the West plateau and the southern part of Laos, has provided new data on the species composition of *Macrobrachium* Bate of these regions. As results, 9 species belonging to this genus were mentioned and among them, 2 new species for science are described *Macrobrachium secamanense* sp. nov. and *Macrobrachium mekongense* sp. nov.

1. MACROBRACHIUM SECAMANENSE Dang, sp. nov. (Fig. 1)

Body length 35-40 mm. Carapace surface smooth, glabrous. Rostrum short, straight, not extending beyond the scaphocerite. Rostral formula 7-9 / 1-2, with 2-3 teeth placed on the carapace. Second pereopods almost equal, its segments cylindrical, smooth. Merus longer than carpus, this later cone shape, shorter than palm. Fingers only $\frac{3}{5}$ times as long as the palm. Chela smooth, with small denticles row along the cutting edges. Eggs oval, large, 1.5 by 1.2 mm in size.

2. MACROBRACHIUM MEKONGENSE Dang, sp. nov. (Fig. 2)

Body length 40-60 mm. Carapace smooth. Rostrum narrow, reaching the end of the scaphocerite with the tip turned up. Rostral formula 11-12/4-5 with 2-3 teeth placed on the carapace. Second pereopods equal, segments smooth. Merus shorter than carpus, the palm is $\frac{2}{3}$ times as long as the carpus, the fingers are $\frac{4}{5}$ time as long as the palm, no pubescence on the chela. The proximal part of the cutting edges with small denticles. Eggs large, 1.0-1.1 by 0.9-1.0 mm in size.

Ngày nhận bài: 6-4-1998

MỘT CHI VÀ MỘT SỐ LOÀI DƯƠNG XÍ MỚI ĐỐI VỚI HỆ THỰC VẬT VIỆT NAM

PHAN KẾ LỘC

Trường đại học Khoa học tự nhiên

Đại học quốc gia Hà Nội

L. AVERYANOV, A. BOBROV VÀ E. ARNAUTOVA

Viện Thực vật học Cômarốp

Viện Hàn lâm khoa học Liên bang Nga

Vào các tháng 6 - 9 năm 1997, chúng tôi đã có dịp nghiên cứu một số mẫu Dương xỉ của Việt Nam thu thập trong nhiều năm qua và được lưu trữ tại Tập mẫu thực vật khô thuộc Viện Thực vật học Cômarốp (LE), Viện Hàn lâm khoa học Liên bang Nga. Kết quả đã phát hiện được một chi và 8 loài sau đây là mới đối với hệ thực vật Việt Nam.

A - CHI MỚI

Teratophyllum Mett. ex Kuhn, 1869. Ann. Mus. Bot. Lugd. Bat. 4: 296; Copel., 1947. Gen. Fil: 117; Holttum, 1978. Fl. Males. ser. II, 1 (4): 265; Tagawa & Iwatsuki, 1988. Fl. Thail. 3 (3): 321. - Ráng lá dị dạng (họ Lomariopsidaceae - Ráng sru xỉ).

Gần nhất với chi *Lomariopsis* Fée - Dây choại giả nhưng khác ở chỗ có lá sinh dưỡng non (lá gốc) rõ rệt và khác hẳn lá sinh dưỡng trưởng thành (lá ngọn), nơi tất cả các lá chết (kể cả lá chết ngọn) gắn với trục bằng khấc. Bao gồm khoảng 12 loài, phân bố ở khắp vùng Malêzi, về đông đến Tahiti, về đông nam đến Quinzolân ở châu Úc và Pôlinêzi, về tây bắc đến Thái Lan và nam Mianma.

Những mẫu vật thu thập được ở Việt Nam gần với *Teratophyllum clemensii* Holttum hơn là *Tetratophyllum ludens* (Fée) Holttum. Cần có thêm mẫu vật để định loại đúng.

Phân bố: Mới gặp ở Quảng Bình, Minh Hóa: Thượng Hóa, khối núi đá vôi Kê Bàng, 105°57' đông và 17°40' bắc, khoảng 200 - 250 m, Averyanov,

Nguyễn Tiến Hiệp và Phan Kế Lộc VH-4605 (HN, LE); Minh Hóa: Dân Hóa, dãy núi đá phiến sét Giăng Màn, 105°46' đông và 17°40' bắc, khoảng 250 - 400 m, Phan Kế Lộc và Nguyễn Tiến Hiệp P-7756, P-7758, P-7772 (HN). Gặp nhiều.

Dạng cây và sinh thái: Có nhiều năm, có thân leo bám dài đến hơn 10 m, ưa ẩm và bóng; lúc đầu thường bám trên đá (phiến sét hay đá vôi) chưa có nhiều mụn với các lá gốc, sau leo bám cao dần theo thân cây gỗ đến hơn 10 m với các lá ngọn và cuối cùng là lá sinh sản. Rừng trên núi đá phiến sét có thành phần chủ yếu là các loài cây lá rộng như một số loại Sồi đá *Lithocarpus* spp. (họ Dẻ - Fagaceae), Lim *Erythrophloeum fordii* và Sưa *Dalbergia* spp. (họ Đậu - Leguminosae), Vạng trứng *Endospermum chinense* và Nhội *Bischofia javanica* (họ Thầu dầu - Euphorbiaceae), Giời *Michella* sp. (họ Ngọc Lan - Magnoliaceae), Ngát *Gironniera subaequalis* (họ Du - Ulmaceae) rải rác xen lẫn một số loài cây lá kim thuộc lớp Thông - Pinopsida như Thông lông gà *Dacrycarpus imbricatus* và Thông tre *Podocarpus nerifolius*. Rừng trên sườn núi đá vôi gồm toàn cây lá rộng như Lòng mang *Pterospermum* sp. (họ Trôm - Sterculiaceae), Sưa *Dalbergia* spp. (họ Đậu - Leguminosae), Sồi đá *Lithocarpus* spp. (họ Dẻ - Fagaceae), Sấu *Dracontomelum duperreanum* (họ Đào lộn hột - Anacardiaceae), Vạng trứng *Endospermum chinense*, Cơm gạo hoa bông *Cleidion spiciflorum*, Nang hai lá to *Sumbaviopsis macrophylla* (họ Thầu dầu - Euphorbiaceae),

Sung gân *Ficus nervosa*, Sung ép *Ficus depressa*, Sung nhẵn *Ficus glaberrima* (họ Dâu tằm - Moraceae), Côm *Elaeocarpus* sp. (họ Côm - Elaeocarpaceae), Máu chó pie *Knema pierrei* (họ Máu chó - Myristicaceae), một số loài Trôm *Sterculia* spp. (họ Trôm - Sterculiaceae), v.v..

B - CÁC LOÀI MỚI

1. *Acrosorus triangularis* (Scort. ex Bedd.) Copel. 1909. Philipp. Journ. Sci. 3C: 347. - *Polypodium triangulare* Scort. ex Bedd. 1887, Journ. Bot. 25: 324, t. 278, f. 1: - Ráng đờ đĩnh tam giác (họ Grammitidaceae - Ráng đờ đĩnh).

Rất gần với *Acrosorus streptophyllus* (Baker) Copel. và các tác giả, Tardieu Blot và C. Christensen (1941) chẳng hạn, coi là tên đồng nghĩa của nó, nhưng Holttum (1954), Tagawa và Iwatsuki (1989) vẫn coi là loài độc lập, phân biệt ở chỗ có lá to và dày hơn và có đờ bào tử hơi chìm vào phần thịt của phiến lá.

Phân bố: Rất hẹp, chỉ mới gặp ở Ninh Thuận, Ninh Sơn: Phước Bình, sườn đông núi Bì Đúp 108°41' đông và 12°07' bắc, khoảng 1700 - 1800 m, Averyanov et al. VH-3595 & VH-3673 (HN, LE). Còn gặp ở Thái Lan, về đông đến Philippin, về nam đến Indônêxia.

Dạng cây và sinh thái: Có nhiều năm, cao đến hơn 0,2 m, trung sinh - ưa ẩm và nơi có ít ánh sáng; mọc bám trên vỏ cây, ít khi trên đá trong rừng mây mù.

2. *Angiopteris mekongensis* Ching ex C. Chr. & Tardieu, 1936. Notul. Syst (Paris) 3: 8, pl. 2. - Móng ngựa mê kông (họ Angiopteridaceae - Móng ngựa).

Phân biệt với các loài của chi *Angiopteris* Hoffm. - Móng ngựa có lá kép lông chim hai lần với cuống lá bậc hai có cánh đã biết ở nước ta ở chỗ gốc lá chét bậc hai hình nêm cân và có gân dài xuất phát từ mép vào giữa phiến.

Phân bố: Rất hẹp, chỉ mới gặp ở Lâm Đồng, Lạc Dương: núi Gia Rích, cạnh núi Bì Đúp, 108°41' đông và 12°09' bắc, khoảng 1700 - 1800 m, Averyanov et al. VH-3764 (HN, LE). Còn gặp ở Lào.

Dạng cây và sinh thái: Có nhiều năm, cao gần 2 m, ưa ẩm và bóng, mọc chủ yếu ven khe ẩm và suối của vùng rừng mây mù.

3. *Asplenium cardiophyllum* (Hance) Baker, 1891. Ann. Bot. 5: 311. - *Micropodium cardiophyllum* Hance, 1883. Journ. Bot.: 268. - *Phyllitis cardiophylla* (Hance) Ching in Hu & Ching, 1930. Icon. Fil. Sin. 1: pl. 27. - *Boniniella cardiophylla* (Hance) Ching, 1940. Bull. Fan Mem. Inst. Biol 10: 7. - *Scolopendrium ikenoi* Makino, 1899. Bot. Mag. Tokyo, 13: 130. - *Asplenium ikeno* (Makino) H. Ohba, 1971. Sci. Rep. Tohoku Univ (B). 36: 94. - *Scolopendrium delavayi* Franch 1885. Bull. Soc. Bot. France, 32: 29. - *Phyllitis delavayi* (Franch.) C. Chr. 1906. Ind. Fil.: 492. *Schaffneria delavayi* (Franch.) Tardieu, 1957. Nat. Malgache, 9: 30. - *Asplenium delavayi* (Franch.) Copel. 1947. Gen. Fil.: 165. - Tờ điều lá tim (họ Aspleniaceae - Tờ điều).

Phân bố: Rất hẹp, chỉ mới gặp ở Quảng Bình Minh Hóa: Thượng Hóa, 105°57' đông và 17°46' bắc, khoảng 200 - 250 m, Averyanov, Nguyễn Tiến Hiệp & Phan Kế Lộc VH-4578 & VH-4824 (HN, LE). Còn gặp về bắc đến Nhật Bản và nam Trung Quốc, về tây bắc đến Ấn Độ và bắc Mianma và về tây đến Thái Lan.

Dạng cây và sinh thái: Có nhiều năm, ít khi cao quá 0,1 m, ưa ẩm và bóng; mọc thành đám trên vách đá vôi ẩm và dốc đứng, trong rừng rậm thường xanh mưa mùa nhiệt đới.

4. *Blechnum elongatum* Blume, 1828. Enum. F. Jav.: 140: Ráng lá dừa lùn (họ Blechnaceae - Ráng lá dừa).

Dễ dàng phân biệt với 2 loài khác của chi *Blechnum* L. - Ráng lá dừa đã biết ở nước ta có lá ngắn hơn và có số lượng thùy lông chim hơn rõ rệt và có môi trường sống khác hẳn.

Phân bố: Rất hẹp và rất hiếm, chỉ mới gặp Kon Tum, Đắc Glai: núi Ngọc Linh, sườn tây bắc và bắc, khoảng từ 2300 đến 2400 m, Averyanov et al. VH-102 & VH-593 (HN, LE). Chưa gặp ở vùng núi lân cận có điều kiện tự nhiên tương tự như núi Bì Đúp (Lâm Đồng) chẳng hạn. Còn g

ở Philippin, Malaixia và Niu Dilân.

Dạng cây và sinh thái: Cỏ nhiều năm, thường không cao quá 1 m, ưa ẩm và bóng; mọc thành đám nhỏ trên đất có tầng dày và khe đá granít giàu mùn, rất ẩm trong rừng mây mù ít ánh sáng.

5. *Ctenopteris subfalcata* (Blume) Kunze, 1848. Bot. Zeit. 6: 120. - *Polypodium subfalcatum* Blume, 1828, Enum. Pl. Jav.: 130. - *Polypodium subminutum* Alderw. 1909. Malay. Ferns.: 598. - *Ctenopteris subminuta* (Alderw.) Holttum, 1954. Rev. Fl. Malaya, 2: 228, f. 127. - Ráng trăm dực liềm (họ Grammitidaceae - Ráng ô đỉnh).

Rất gần *Ctenopteris repandula* (Kunze) Kunze - Ráng trăm dực lượn sóng ở chỗ thùy bậc một dài hơn rộng rõ rệt và xẻ thùy bậc hai ít nhất đến 1/5 chiều rộng nhưng khác ở chỗ đầu thùy bậc hai kéo dài thành lông cứng.

Phân bố: Rất hẹp, Lâm Đồng, Lạc Dương: núi Bì Đúp, 108°39' đông và 12°06' bắc, khoảng 1800 - 2200 m, trong rừng mây mù, Averyanov et al. VH-3033 & VH-3086 (HN, LE). Còn gặp ở nam Trung Quốc, về bắc đến Đài Loan, về tây bắc đến Himalaya, về tây đến Xri Lanca và về nam đến Indônêxia.

Dạng cây và sinh thái: Cỏ nhiều năm, ít khi cao hơn 0,1m; ưa ẩm và bóng; mọc bám trên vỏ cây hay đá ẩm trong rừng mây mù.

6. *Ophioglossum nudicaule* L. f. 1781. Suppl.: 443. - *Ophioglossum parvifolium* Grev. & Hook. 1832. Bot. Misc. 3(8): 218. - Ráng lưỡi rắn thân nhẵn (họ Ophioglossaceae - Ráng lưỡi rắn).

Gần nhất với *Ophioglossum reticulatum* L. Ráng lưỡi rắn mạng ở chỗ có lá không hình dải (chiều dài gấp chiều rộng không quá 6 lần), nhưng phân biệt ở chỗ nhỏ hơn, ít khi cao đến 0,1 m, các tế bào ở mép lá ít nhiều cùng kích thước, có chiều dài và chiều rộng bằng nhau và có vách ở ngoài cùng hoàn toàn nhẵn.

Phân bố: Mới gặp ở Lâm Đồng: núi Bì Đúp, 108°36' đông và 12°07' bắc, khoảng 1600 - 1800 m, Averyanov et al. VH-4111 & VH-4437 (HN, LE). Còn gặp ở Campuchia cũng như nhiều nước khác ở vùng nhiệt đới, cận nhiệt đới và ôn đới ẩm của

cả hai bán cầu.

Dạng cây và sinh thái: Cỏ nhiều năm, ít khi cao đến 0,1 m; ưa ẩm và sáng; mọc rải rác trong các trảng cỏ tranh - *Imperata cylindrica*, Ráng cánh to - *Pteridium aquilinum* và trảng cỏ - cây bụi thứ sinh, nhất là sau khi vừa đốt, trên sườn núi đá granít, đất có tầng dày, chua và có mùn.

7. *Scleroglossum minus* (Fée) C. Chr. 1929. Dansk Bot. Arkiv. 6(3): 29. - *Vittaria minor* Fée, 1852, 3^{me} Mem. 23., pl. 4, f. 2. - Ráng lưỡi cứng nhỏ (họ Grammitidaceae - Ráng ô đỉnh).

Đây là loài thứ 2 của chi này gặp ở Việt Nam, phân biệt với loài đầu tiên *Scleroglossum pusillum* (Blume) Alderw. - Ráng lưỡi cứng mảnh ở chỗ rãnh chứa túi bào tử gần như ở mép và cuống có lông hình sao.

Phân bố: Hẹp, Kon Tum, Đắc Gle: núi Ngọc My, cách thị trấn Đắc Gle khoảng 10 - 12 km theo đường ô tô về phía nam và làng Đắc Tung 4 - 6 km về phía đông, độ cao khoảng 1400 - 1500 m, gặp khá nhiều, sống bám trên Thông đã lạt *Pinus dalatensis* và Lồng đèn lá xoan *Lyonia ovalifolia* trong rừng trên đường đỉnh có nhiều ánh sáng. Averyanov et al. VH-2284 (HN, LE) và Lâm Đồng, Lạc Dương: núi Gia Rích, cạnh núi Bì Đúp, 108°41' đông và 12°09' bắc, khoảng 1600 - 1700 m, sống bám trên cây gỗ lá rộng trong rừng rậm ít ánh sáng và ẩm, Averyanov et al. VH-2836 (HN, LE). Còn gặp ở Thái Lan, về đông đến Philippin, về nam đến Malaixia và Indônêxia.

Dạng cây và sinh thái: Cỏ nhiều năm, ít khi cao quá 5 cm; ưa ẩm và chịu bóng hay nơi có ánh sáng; mọc bám trên vỏ cây hay đá ẩm chủ yếu trong rừng mây mù.

8. *Sphenomeris biflorum* (Kaulf.) Tagawa, 1958. Journ. Jap. Bot. 33: 203. - *Davallia biflora* Kaulf. 1824, Enum.: 221. - *Stenoloma biflorum* (Kaulf.) Ching, 1933. Sinensia, 3: 338. - *Sphenomeris chinensis* subsp. *biflora* (Kaulf.) Jotani & H. Ohba, 1969. Sci. Rep. Yokosuka City Mus. 15: 34. - *Stenoloma littorale* Tagawa, 1937. Acta Phytotax. Geobot. 6: 225. - *Stenoloma chusana* var. *littorale* (Tagawa) H. Itô ex Tuyama, 1938. Bot. Mag.

Tokyo, 52: 550. - *Sphenomeris chusana* var. *littoralis* (Tagawa) H. Itô ex Mizushima, 1955. Misc. Rep. Inst. Nat. Resources, 38: 115. - *Sphenomeris chinensis* var. *littoralis* (Tagawa) Ohwi, 1957. Fl. Jap. Pterid. 36. - Ráng ô phi kép (họ Dennstaedtiaceae - Ráng đàn tiết).

Đây là loài thứ hai của chi, phân biệt với loài thứ nhất *Sphenomeris chinensis* (L.) Maxon - Ráng ô phi tàu đã biết trước đây và phân bố rất rộng ở chỗ có kích thước nhỏ hơn và chiều ngang của thùy rộng hơn.

Phân bố: Rất hẹp, Quảng Ninh, đảo Cô Tô, 107°48' đông và 21°00' bắc, Kudriatzeva & Ogureeva 1059 (LE). Còn gặp ở Trung Quốc, về bắc đến Nhật Bản, về đông đến Philippin, về nam đến Malaixia.

Dạng cây và sinh thái: Cỏ nhiều năm, cao khoảng 0,4 m, ở độ cao khoảng 0 - 50 m; chịu hạn, gió mạnh và cường độ chiếu sáng cao; mọc ở đảo, bám trên đá ít cây chịu hạn che phủ.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Holttum R. E., 1954: A Revised Flora of Malaya. Vol. II. Ferns of Malaya: 470-476. Government Printing Office, Singapore.
2. Holttum R. E., 1978: Flora Malesiana. Ser. II, 1 (4): 265-276.
3. Tagawa M., 1968: Coloured Illustration of the Japanese Pteridophyta. Hoikusa Publ. Co. LTD. Osaka, Japan: 239.
4. Tagawa M. and K. Iwatsuki, 1979-1981: Pteridophytes. In: Flora of Thailand, 3 (1 - 4): 1-635. Bangkok.
5. Tardieu-Blot M. L. and C. Christensen, 1939-1941: Fougères. In: Fl. Gén. Indo-Chine 2: 1-544. Paris.
6. Wieffering J. H., 1964: A preliminary revision of the Indo-Pacific species of Ophioglossum (Ophioglossaceae). Blumea 12 (2): 321-337.

SOME NEW RECORDS OF FERNS FOR THE FLORA OF VIETNAM

PHAN KE LOC

SUMMARY

The study of some specimens of ferns in the Herbarium of the Komarov Botanical Institute, RAU (LE), collected in Vietnam, has revealed that one genus (*Teratophyllum* Mett. ex Kuhn) and 8 species (*Acrosorus triangularis* (Scort. ex Bedd.) Copel., *Angiopteris mekongensis* Ching ex C. Chr. & Tardieu, *Asplenium cardiophyllum* (Hance) Baker, *Blechnum elongatum* Blume, *Ctenopteris subfalcata* (Blume) Kunze, *Ophioglossum nudicaule* L. f., *Scleroglossum minus* (Fée) C. Chr. and *Sphenomeris biflorum* (Kaulf.) Tagawa) are new for the flora of Vietnam.

Ngày nhận bài: 7- 4-1998

ĐỀ XUẤT CHỈ SỐ SINH THÁI ỨNG DỤNG TRONG NGHIÊN CỨU SINH THÁI QUẦN HỢP CÂY GỖ RỪNG CỦA HỆ SINH THÁI RỪNG NHIỆT ĐỚI

NGUYỄN VĂN SINH

Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật

Quần hợp cây gỗ rừng có thể coi là bộ khung của hệ sinh thái rừng. Tùy theo sự biến động của quần hợp cây gỗ rừng dưới tác động của các điều kiện sinh thái, ngoại cảnh mà các cấu phần khác của hệ sinh thái rừng cũng bị tác động và biến đổi. Quần hợp cây gỗ rừng bị chặt phá, hủy hoại làm cho nhiều loài sinh vật khác bị mất môi trường sống, hoặc sẽ bị hủy diệt, hoặc sẽ di cư đi nơi khác. Vậy nên, việc nghiên cứu đánh giá biến động của quần hợp cây gỗ rừng là rất quan trọng, nó cho phép về mặt tổng thể, đánh giá biến động sinh thái của hệ sinh thái rừng. Để có thể đánh giá biến động của quần hợp cây gỗ rừng bằng một chỉ số, ta phải nắm bắt được các quy luật thay đổi cấu trúc của nó. Qua nghiên cứu tài liệu cũng như qua phân tích các số liệu tự thu thập được, chúng tôi thấy có một quy luật quan trọng có thể sử dụng để xây dựng nên chỉ số sinh thái: *Sự phân bố các cá thể theo quần thể trong quần hợp cây gỗ rừng rất nhạy cảm* [3, 4]. Trong các quần hợp cây gỗ rừng của hệ sinh thái rừng nguyên sinh nhiệt đới thì sự phân bố này có dạng phân bố chuẩn với cơ sở là logarit cơ số 2 [1, 2]. Mọi tác động của điều kiện sinh thái, ngoại cảnh đều làm sự phân bố đó lệch khỏi phân bố chuẩn và các tác động càng lớn thì độ lệch càng lớn. Với thời gian, cùng với việc hệ sinh thái rừng nguyên sinh bị tác động dần khôi phục lại trạng thái ban đầu (trường hợp hệ sinh thái còn có khả năng tự phục hồi), sự phân bố các cá thể trong quần hợp cây gỗ rừng cũng dần trở lại dạng như trong hệ sinh thái rừng nguyên sinh. Do vậy, nếu biểu diễn sự khác biệt giữa phân bố của quần hợp cây gỗ rừng bị tác động với phân bố chuẩn bằng một con số, thì ta sẽ có chỉ số sinh thái.

XÂY DỰNG CÔNG THỨC TÍNH CHỈ SỐ SINH THÁI DÙNG TRONG NGHIÊN CỨU SINH THÁI QUẦN HỢP CÂY GỖ RỪNG

Số cá thể của các quần thể cây gỗ rừng thường rất khác nhau. Sự phân bố các quần thể theo các nhóm 1, 2, 3, 4, 5, 6,... có số cá thể tối đa tương ứng là: 2, 4, 8, 16, 32, 64,... ($= 2^1, 2^2, 2^3, 2^4, 2^5, 2^6, \dots$) là phân bố với cơ sở là logarit cơ số 2 mà chúng tôi sử dụng để xây dựng công thức. Các quần thể được xếp vào các nhóm theo nguyên tắc sau: quần thể được xếp vào một nhóm nào đó nếu số cá thể đó nhỏ hơn hoặc bằng số cá thể tối đa của nhóm đó và nhiều hơn số cá thể tối đa của nhóm nhỏ hơn liền kề với nó.

Bảng công thức toán học của phân bố chuẩn

$$f(x) = \frac{nk}{\sigma \sqrt{2\pi}} e^{-\frac{(x-M)^2}{2\sigma^2}}$$

Trong đó: x - đặc điểm biến thiên (ở đây là các nhóm quần thể 1, 2, 3, 4, 5, 6,...)

f(x) - tần số lý thuyết (số quần thể trong từng nhóm)

n - số lượng chung của tập hợp (tổng số quần thể của quần hợp cây gỗ rừng)

k - độ lớn khoảng giữa hàng (ở đây là 1)

δ - độ lệch bình phương trung bình

e - cơ số logarit tự nhiên

M - đại lượng trung bình của đặc điểm biến thiên

Chúng ta tính được tần số lý thuyết cho từng nhóm quần thể. Qua điều tra thực địa, chúng ta xác định được tần số thực nghiệm của từng nhóm quần thể trong quần hợp cây gỗ rừng chúng ta đang nghiên cứu (y(x)). Tổng số các tỷ số tính được bằng cách chia trị tuyệt đối của hiệu số giữa

* Công trình được hỗ trợ kinh phí của Hội đồng khoa học tự nhiên.

tần số lý thuyết $f(x)$ và tần số thực nghiệm $y(x)$ cho tần số lý thuyết $f(x)$ sẽ là chỉ số sinh thái (chúng tôi đặt tên là I_{st}):

$$I_{st} = \sum_{i=1}^1 \frac{|f(x_i) - y(x_i)|}{f(x_i)}$$

Trong đó, t là số các quần thể trong quần hệ cây gỗ rừng.

Dưới đây là chương trình trên ngôn ngữ lập trình Boland Pascal for Windows dùng cho việc tính chỉ số sinh thái (I_{st}).

```
PROGRAM ECOINDEX;
USES WINTYPES,WINPROCS,STRINGS,OSTDDLGS,OWINDOWS;
{$R Sinh.Res}
CONST cm_IDST = 1991;
TYPE
  TMyApp=OBJECT (TApplication)
    PROCEDURE InitMainWindow; Virtual;
  END;
  PMy Window = ^TMy Window;
  TMy Window = OBJECT(TWindow)
    CONSTRUCTOR Init (AParent:PWindowsObject; ATitle:PChar);
    PROCEDURE Calculating; Virtual cm_First + cm_IDST;
  END;
  CONSTRUCTOR TMyWindow.Init(AParent:PWindows Object; ATitle:PChar);
BEGIN
  TWindow.Init(AParent,Atitle);
  Attr.Menu: =LoadMenu(HInstance,PChar(1962));
  Attr.X: =50; Attr.Y: =50; Attr.W: =550; Attr.H: =350;
  END;
  PROCEDURE TMyWindow.Calculating;
  VAR
    Buffer:array[0..20]of char;
    f:text;
    slindex:array[1..100]of real;
    soloai,socathe,tonggop,fsoloai:array[1..100]of integer;
    pstr1,pstr2,MyString:string;
    i,j,n>Error1>Error2,intbuff1,intbuff2,tongloai,tongn:integer;
    averagen,nvarn,varn,sn,index:real;
  BEGIN
    strcpy(Buffer,"");
    repeat If Application ^ .ExecDialog(New(PInputDialog,
    Init@Self,'DATA','Enter the name of the data file',
    Buffer,sizeof(Buffer)))) < > id_OK then exit;MyString:=strupas(Buffer)
    until length(MyString) < > 0;
    assign(f,Buffer); {$I-};reset (f); {$I+ };
    if IoResult < > 0 then begin
      Message Box(HWindow,'File not Found','Error', mb_ok or
```

```

mb_iconexclamation); exit; end;
    i:=0; error1:=0; error2:=0;
    while not eof(f) do begin i:=i+1; readln(f,pstr1);
    val(pstr1,socathe[i],error1); readln(f,pstr2,soloai[i],error2);
    if (error1 < > 0) or (Error2 < > 0) then begin
        MessageBox (HWindow,'Data are not correct','Error', mb_ok or
mb_iconexclamation); exit; end;
    end; close(f);
    if i < 2 then begin
        MessageBox(HWindow,'This is a plantation','Error', mb_ok or
mb_iconexclamation); exit; end else n:=i;
    tongn:=0; for i:=1 to n do tongn:=tongn+i; averagen:=tongn/n;
    nvarn:=0; for i:=1 to n do nvarn:=nvarn+(i-averagen)*(i-averagen);
    varn:=nvarn/(n-1); sn:=sqrt(varn);
    for i:=1 to n do for j:=i+1 to n do if socathe[i]>socathe[j] then begin
    intbuff1:=socathe[i]; socathe[i]:=socathe[j]; socathe[j]:=intbuff1;
    intbuff2:=soloai[i]; soloai[i]:=soloai[j]; soloai[j]:=intbuff2 end;
    if ((socathe[1] mod 2) < > 0) then begin.
        MessageBox(HWindow,'Data are not correct','Error', mb_ok or
mb_iconexclamation); exit; end;
    for i:=1 to n-1 do if (socathe[i] < > socathe[i+1]/2) then begin
        MessageBox(HWindow, 'Data are not correct','Error', mb_ok or
mb_iconexclamation);
    exit; end;
    tongloai:=0; for i:=1 to n do begin tongloai:=tongloai+soloai[i];
    if i=1 then tonggop[i]:=soloai[i] else tonggop[i]:=tonggop[i-1]+soloai[i] end;
    index:=0;
    for i:=1 to n do begin
    slindex[i]:=((tongloai*1)/(sn*sqrt(2*pi)))*exp(-(i-averagen)*(i-averagen)/(2*sn*sn));
    fsoloai[i]:=round(slindex[i]);
    index:=index+abs((slindex[i]-soloai[i])/slindex[i]); end;
    index:=index/n;
    str(index:4:2,mystring); MyString:=' ST =' + MyString;
    strpcopy(Buffer,mystring);
    MessageBox(HWindow,Buffer,'Ecological Index',mb_ok);
END;
PROCEDURE TMyApp.InitMainWindow;
BEGIN
    MainWindow:=New(PMyWindow,Init(NIL,'ECOINDEX'));
END;
VAR
    MyApp:TMyApp;
BEGIN
    MyApp.Init('ECOINDEX');
    MyApp.Run;

```

MyApp.Done;

END.

Để sử dụng chương trình này, chỉ cần dùng một công cụ tạo phần nguồn (Whitewater Resource Toolkit hoặc Boland Resource Workshop) tạo ra tệp nguồn mang tên SINH.RES có chứa phần nguồn MENU mang mã 1962, trong đó có một ITEM mang mã 1991 để kích hoạt thủ tục tính chỉ số. Trước khi tính chỉ số, ta phải đưa số liệu vào một tệp dạng TEXT (có thể bằng Pascal hay bằng NotePad), trong đó, trên dòng văn bản lẻ, ta ghi số cá thể của các nhóm quần thể, còn trên dòng văn bản chẵn, ta ghi số quần thể thuộc nhóm quần thể ở dòng lẻ liền ngay trước, ví dụ:

4
1
8
2
16
5
...

Khi chạy, thủ tục tính chỉ số hỏi tên của tệp số liệu, ta gõ tên tệp dữ liệu vừa tạo ra với cả đường dẫn (path) đến tệp đó.

KẾT LUẬN

Như vậy, chỉ số sinh thái (I_{st}) thực chất là sự chênh lệch giữa phân bố thực nghiệm và phân bố lý thuyết các cây gỗ theo các quần thể trong quần hợp cây gỗ rừng. Sự chênh lệch đó càng nhỏ thì chỉ số sinh thái càng nhỏ. Vì vậy, ở các quần hợp

cây gỗ rừng nguyên sinh, thì chỉ số sinh thái có giá trị nhỏ. Tuy vậy, sẽ không có quần hợp cây gỗ rừng nguyên sinh có chỉ số sinh thái bằng 0, vì ngay cả trong các khu rừng nguyên sinh, thì vẫn có những biến động về cấu trúc (ví dụ cây bị chết do già cỗi, bệnh, hay bị gió to quật gãy...). Đối với các quần hợp cây gỗ rừng được theo dõi thường xuyên, thì sự tăng lên của chỉ số I_{st} chứng tỏ cấu trúc của quần hợp cây gỗ rừng biến động theo hướng đi xuống.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bruenig E. F., 1973: Species richness and stand diversity in relation to site and succession of forests in Sarawak and Brunei. Amazonia, 4(3): 293-320.
2. Kammesheidt L., 1994: Bestandesstruktur und Artendiversitaet in selektiv genutzte Feuchtwaldern der westlichen Llanos Venezuelas unter besonderer Beruecksichtigung einiger autoekologischer Merkmale wichtiger Baumarten. Goettinger Beitrage zur Land- und Forstwirtschaft in den Tropen und Subtropen Heft 100. Goettingen (German).
3. Nguyễn Văn Sinh, 1997: Tạp chí Sinh học 19(4): 43-48.
4. Weidelt H. J., 1993: Manuskript der Vorlesungen "Waldbau der Tropen und Subtropen" Goettingen (unveroeffentlicht) (German).

PROPOSING AN ECOLOGICAL INDEX FOR USING IN ECOLOGICAL STUDIES OF FOREST TREE POPULATIONS IN THE TROPICAL FOREST ECOSYSTEMS

NGUYEN VAN SINH

SUMMARY

An ecological index (I_{st}) for using in ecological studies of forest tree populations in the tropical forest ecosystems. The calculation of the ecological index is based on the distribution of the trees among the tree populations.

Ngày nhận bài: 28-8-1997

CƠ CHẾ KHÁNG KHÁNG SINH CỦA *STREPTOMYCES FRADIAE* VÀ *STREPTOMYCES KANAMYCETICUS*

LÊ THANH BÌNH*

Viện Công nghệ sinh học

Nghiên cứu cơ chế của hiện tượng tự đề kháng (self-resistance) với các chất kháng sinh do các chủng xạ khuẩn tổng hợp ra đã được công bố trong những năm gần đây [3, 4, 6, 8, 9, 10, 17]. Tìm hiểu bản chất của hiện tượng lý thú này, không chỉ góp phần nhằm làm sáng tỏ lý luận về nguồn gốc, bản chất, quá trình lan truyền và tiến hóa của gen kháng thuốc ở vi sinh vật [7, 8, 9], mà còn có một ý nghĩa thực tiễn to lớn trong việc dự báo kháng thuốc ở các chủng vi sinh vật gây bệnh và trong việc thiết lập phương pháp tìm kiếm định hướng các chất kháng sinh cũng như tạo các chủng siêu tổng hợp [1, 2, 5, 7, 11, 13, 14, 16].

I - PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Sử dụng các chủng xạ khuẩn: *S. fradiae* LN-47-G1 và *S. kanamyceticus* KJ là những chủng sản sinh Nm, Km và bền vững với những chất kháng sinh này.

- Chủng vi khuẩn kiểm định là *Bacillus subtilis* ATCC 6633.

Những chủng vi sinh vật nêu trên trong bộ sưu tập giống của Viện Sinh học, trường Đại học Tổng hợp Y, Debrecen, Hungary.

- Hóa chất chủ yếu của các hãng Sigma, Calbiochem, Merck, Reanal, Difco, Biolab, Pharmacia, Chinoin, Biogal... sản xuất.

- Máy đếm nhấp nháy lỏng (liquid scintillation counter) Nuclear Chicago Isocap 300.

- Xạ khuẩn được nuôi cấy trong môi trường TSB, vi khuẩn kiểm định trên môi trường G-Agar [6, 7, 17].

- Phương pháp xác định và nghiên cứu kháng sinh theo Hopwood và cộng sự [6, 7, 17].

- Phương pháp xác định hoạt tính kháng sinh *in vivo* theo tác giả [16].

- Phương pháp nghiên cứu tổng hợp protein *in vitro* và tác dụng của kháng sinh lên quá trình tổng hợp protein *in vitro* đã được trình bày tại [6, 7, 16].

- Phương pháp hoạt tính enzym làm bất hoạt kháng sinh. Cơ sở của phương pháp này dựa vào tác dụng đặc hiệu của chất kháng sinh đối với vi sinh vật nhạy cảm. Tác dụng này sẽ bị mất đi nếu như có sự có mặt của enzym làm bất hoạt kháng sinh. Chất kháng sinh trở thành sản phẩm mất hoạt tính, mất đi khả năng ức chế sự phát triển của các vi sinh vật nhạy cảm:

Enzim

Kháng sinh $\longrightarrow$ Sản phẩm bất hoạt

Đề phát hiện Aminoglycosyltransferaza (APH), một enzym làm mất hoạt tính Sm và các kháng sinh thuộc nhóm Aminoglycosit thông qua quá trình phosphoryl hóa mà ATP đóng vai trò là co-factor, hỗn hợp nghiên cứu được bổ sung ATP.

Đề phát hiện Aminoglycosyltransferaza (AAC), hỗn hợp được bổ sung acetyl-CoA [16].

II- KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

1. Tính kháng chất kháng sinh *in vivo* của *S. fradiae* và *S. kanamyceticus* với một số chất kháng sinh thuộc nhóm Aminoglycosit (AG):

Kết quả ở bảng 1 cho thấy các chủng có phổ kháng chất kháng sinh khác nhau. Chủng *S. griseus*

* Công trình được hoàn thành tại Viện Sinh học, trường Đại học Tổng hợp Y Debrecen, Hungary và một phần tại Đại học British Columbia, Canada.

4V, một chủng không có khả năng tổng hợp chất kháng sinh, nhạy cảm với tất cả các chất kháng sinh thí nghiệm. Trong khi đó, *S. fradiae* LN-47-G1 và *S. kanamyceticus* KJ lại kháng lại tác dụng ức chế của những chất kháng sinh này.

Bảng 1

Tính kháng Sm, Nm, Km của *S. fradiae* LN-47-G1 và *S. kanamyceticus* KJ

CKS	Nồng độ µg/ml	Các chủng xạ khuẩn		
		<i>S. griseus</i> 4V	<i>S. fradiae</i> LN-47-G1	<i>S. kanamyceticus</i> KJ
Sm	300	–	+	+
Nm	200	–	+	+
Km	200	–	+	+

2. Cơ chế kháng chất kháng sinh:

a. Cơ chế tổng hợp enzym làm bất hoạt kháng sinh:

Bảng 2

Hoạt tính enzym làm bất hoạt Nm, Km của *S. fradiae* LN-47-G1 và *S. kanamyceticus* KJ

Mẫu, thành phần	Hoạt tính kháng sinh	Hoạt tính enzym	
		APH	AAC
1. <u>Chủng <i>S. fradiae</i> LN-47-G1:</u>			
I. Dịch chiết tế bào + ATP + Nm + dung dịch phản ứng	—	+	—
II. + Axetyl-CoA + Nm + dung dịch phản ứng	+	—	—
III. Đối chứng	+	—	—
2. <u><i>S. kanamyceticus</i>:</u>			
I. Dịch chiết tế bào + APT + Km + dung dịch phản ứng	+	—	—
II. + Axetyl-CoA + Km + dung dịch phản ứng	—	—	+
III. Đối chứng	+	—	—

Kết quả ở bảng trên chỉ ra rằng, trong trường hợp chủng *S. fradiae* LN-47-G1, chỉ có mẫu thứ nhất, tại đó hoạt tính ức chế *Bacillus subtilis* của Nm không thể hiện. Rõ ràng chất kháng sinh này đã bị mất hoạt tính. Hơn nữa, kết quả còn chứng tỏ, chính do sự hiện diện của photphotransferaza (APH), một enzym thực hiện quá trình photphorin hóa Nm với cofactor là ATP đã biến nó thành sản phẩm bất hoạt. Ở chủng *S. kanamyceticus* KJ thì mẫu II, tại đó Km đã bị làm mất hoạt tính, không tạo thành vòng ức chế sự phát triển của chủng vi

khuẩn kiểm định. Km đã bị axetyl hóa bởi axetyltransferaza, chuyển hóa thành sản phẩm không còn hoạt tính kháng sinh nữa.

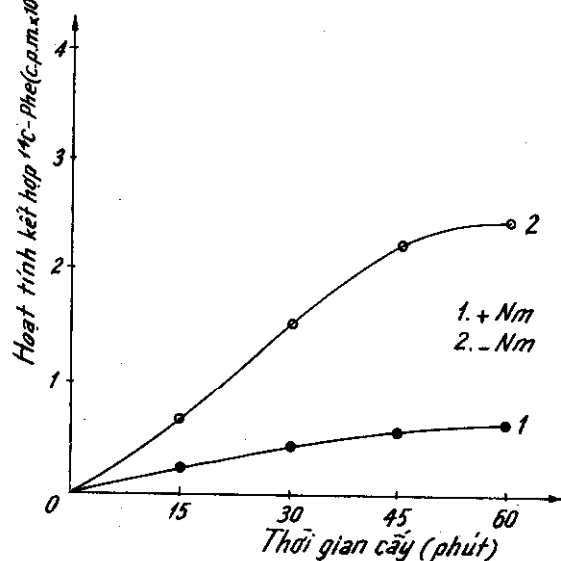
Như vậy, ở hai chủng nghiên cứu nói trên trong quá trình sinh trưởng, phát triển, đã tổng hợp ra những enzym làm bất hoạt chất kháng sinh. Những enzym này tham gia vào cơ chế bảo vệ của chủng sản sinh chất kháng sinh, giúp chúng tránh khỏi tác dụng của những chất kháng sinh này. Tuy nhiên, để làm rõ câu hỏi: liệu vi tổng hợp ra APH và AAC có phải là cơ chế d

nhất giúp cho các chủng nêu trên thoát khỏi tác dụng của Nm, Km của chúng hay con do sự cải biến (modification) của riboxom? Dưới đây là kết quả nghiên cứu về vấn đề này.

b. Cơ chế cải biến riboxom:

Để nghiên cứu vấn đề này, đòi hỏi phải có hệ thống tổng hợp protein *in vitro* [16]. Hệ thống này được thiết lập trên cơ sở riboxom và S-150 (dịch nổi của dịch chiết tế bào xạ khuẩn ly tâm ở 150.000 g) của tế bào xạ khuẩn được bổ sung thêm một số chất khác như *E. coli* Phe-specific tRNA, 19 axit amin và ^{14}C -Phenylalanin (^{14}C -Phe)... [6, 7, 16]. Quá trình sinh tổng hợp protein được quan sát thông qua việc đo hoạt độ kết hợp của ^{14}C -Phe bằng máy đếm nhấp nháy lỏng. Hoạt tính đặc hiệu là số phóng xạ đếm được trong 1 phút.

Hình 1 và 2 biểu diễn kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của Nm, Km lên quá trình tổng hợp protein của các hệ thống tổng hợp protein *in vitro*, thiết lập từ riboxom của các chủng sản của chúng và S-150 của chủng *S. griseus* 4V, một chủng nhạy cảm với tác dụng của Nm và Km. Kết quả ở hình 1 cho thấy, dưới ảnh hưởng của Nm (đường cong 1), hoạt tính kết hợp của ^{14}C -Phe rất yếu, không đáng kể so với trường hợp không có mặt của Nm

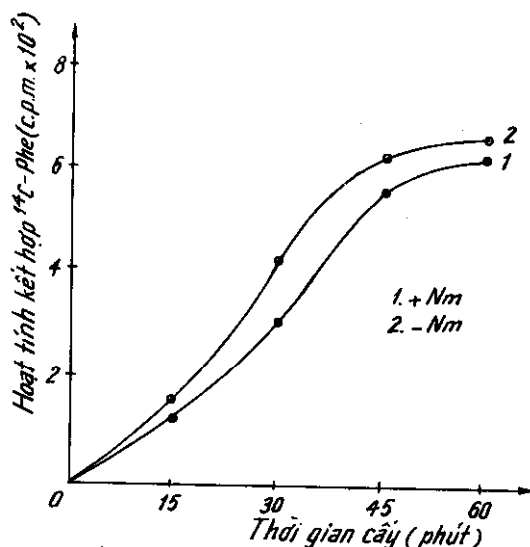


Hình 1: Ảnh hưởng của Nm lên hoạt tính tổng hợp protein của hệ thống phi bào cấu tạo từ riboxom của *S. fradiae* LN-47-G1 và S-150 của *S. griseus* 4V.

1: bổ sung kháng sinh, 2: không bổ sung kháng sinh

(đường cong 2). Rõ ràng Nm đã ức chế quá trình tổng hợp protein của hệ thống nêu trên, do nó tác động vào riboxom. Ở hình 2, kết quả lại diễn ra hoàn toàn khác hẳn. Tại đây, sự có mặt của Km trong hệ thống tổng hợp protein không gây một tác động nào, đường cong 1 và 2 gần như giống nhau. Như vậy, nếu như ở chủng *S. fradiae* LN-47-G1, vì riboxom nhạy cảm với tác dụng của Nm đã dẫn đến quá trình tổng hợp protein bị đình chỉ, thì ngược lại, ở chủng *S. kanamyceticus* KJ, do riboxom đã được cải biến bằng cách nào đó mà trở nên bền vững với tác động của Km, vì vậy quá trình tổng hợp protein diễn ra bình thường.

Ở những chủng xạ khuẩn sinh chất kháng sinh thuộc nhóm Aminoglicozit, cho đến nay, có ba cơ chế cơ bản tồn tại khá phổ biến giúp chúng thoát khỏi sự tự sát (suicide) bởi các chất kháng sinh do chúng sinh ra. Đó là việc thay đổi cấu trúc thành tế bào, cải tiến riboxom, tổng hợp enzym làm bất hoạt chất kháng sinh [6, 8, 9, 11, 17]. Kết quả nghiên cứu ở hai chủng trên, một lần nữa cho chúng ta thấy, việc enzym làm bất hoạt tính của chất kháng sinh cũng như sự cải biến riboxom là những cơ chế giúp cho chúng thoát khỏi tác dụng của Nm và Km. Điều lý thú là, nếu như ở chủng *S. fradiae* LN-47-G1 chỉ phát hiện thấy APH thực hiện quá trình photphorin



Hình 2: Ảnh hưởng của Km lên hoạt tính tổng hợp protein của hệ thống phi bào cấu tạo từ riboxom của *S. kanamyceticus* KJ và S-150 của *S. griseus* 4V.

hóa Nm thì ở *S. kanamyceticus* KJ, ngoài AAC thực hiện axetyl hóa Km, còn có sự cải biến của riboxom tham gia vào cơ chế đề kháng Km của nó.

III- KẾT LUẬN

Phototransferaza và axetyltransferaza, phát hiện được ở *S. griseus* và *S. kanamyceticus* là những enzym đóng vai trò quan trọng trong cơ chế tự bảo vệ của các chủng này, giúp chúng thoát khỏi tác dụng của Nm và Km là các chất kháng sinh do chúng tổng hợp ra.

Ở *S. kanamyceticus* KJ, ngoài việc tổng hợp enzym làm bất hoạt kháng sinh AAC, sự cải biến của riboxom cũng góp phần trong cơ chế kháng chất kháng sinh của nó.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Le Thanh Binh, 1986: Directed screening of *Streptomyces griseus* on selective media containing streptomycin. Biological, biochemical and biomedical aspects of Actinomycetes Academiai Kiado, Budapest.
2. Le Thanh binh, 1986: The increase of chlortetracycline biosynthesis of *Streptomyces aureofaciens* by developing mutants resistant to that antibiotic. Biological, biochemical and biomedical aspects of Actinomycetes. Academiai Kiado, Budapest.
3. Le Thanh Binh, S. Biro, 1991: Nghiên cứu cơ chế bền vững với kháng sinh nhóm aminoglycosit của một số biến nạp ở *Streptomyces*. Báo cáo tại Hội nghị khoa học Hóa sinh phục vụ đời sống, Hà Nội 17-18/12/1991.

4. Lê Thanh Bình, Lý Kim Bảng, 1992: Tạp chí Sinh học, chuyên đề về vi sinh vật, tập 1: 69-72.

5. Chater K. F., 1990: Bio/Technology, 1: 115-121.

6. Cundliffe E., 1984: Br. Med. Bull., 4: 61-67.

7. Davies J., 1982: Plasmid in antibiotic producing organism: Their roles in biosynthesis and resistance. In genetics of industrial microorganisms, Ed. Y. Ikeda and Beppu. Tokyo Kodansha Ltd., 103-111.

8. Davies J., 1992: J. Can. Microbiol., 13: 1553-1559.

9. Davies J., 1994: Science, 268: 375-382.

10. Demain A. L., 1974: Ann. N. Y. Acad. Sci., 235: 601-612.

11. Demain A. L., 1981: Industrial Microbiology and advances of Genetics. American Scientific Book, San Francisco.

12. Hopwood at al., 1985: Genetic manipulation of Streptomyces. A laboratory manual, the John Innes Foundation, Norwich.

13. Hopwood D. A., F. Malpartida, Omura, 1985: Nature, 314: 642-644.

14. Hutchinson R. C., 1994: Bio/Technology 12: 375-180.

15. Michiko, M. Nakano, H. Mashiko, I. Ogawara, 1984: J. Bact., 157: 79-83.

16. Silver L. L., K. A. Bostcan, 199 Antimicrob. Agents. Chemother., 37: 377-383.

17. Vining L., 1979: Adv. Appl. Microbiol., 2: 147-168.

THE ANTIBIOTIC RESISTANCE MECHANISM OF STREPTOMYCES FRADIAE AND STREPTOMYCES KANAMYCETICUS

LE THANH BINH

SUMMARY

The *Streptomyces fradiae* LN-47-G1 strains and *S. kanamyceticus* KJ strains were resistant, respectively, to their producing antibiotics Nm and Km. The results of resistance mechanism study revealed that, in these strains, the antibiotic inactivating enzymes APH and ACC played a very important role in the self-defence. In *S. kanamyceticus* KJ, the resistance was added by ribosome modification.

Ngày Nhận bài: 20-5-1997

TINH SẠCH ENZIM 5'-NUCLEOTIDAZA TỪ TINH DỊCH BÒ

ĐINH THƯƠNG VÂN, LÊ XUÂN TÚ

Viện Công nghệ sinh học

Enzim 5'-nucleotidaza của tinh dịch bò [E.C.3.1.3.5] là enzim ngoại bào (ecto enzim), có ở màng sinh chất của nhiều tế bào. Enzim này thủy phân nucleosid 5'-monophosphat thành nucleosid tương ứng và phosphot vô cơ.

Tinh dịch bò là nguồn rất giàu enzim 5'-nucleotidaza [Wan, 1964]. Tuy nhiên, nhiều tác giả như Widne [1974] cho rằng enzim 5'-NT ở dạng hòa tan và tính chất của nó chỉ được nghiên cứu từng phần ở dạng thô.

I - PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

- Tinh dịch bò được Centro Fori Perugia (Italy) cung cấp.

- DEAE-Sephadex A.50 nhận được từ hãng Pharmacia. Concanavalin A.Sepharose 4B, 5-Di-phosphate-agarose, các chất có khối lượng phân tử chuẩn dùng trong điện di trên gel SDS polyacrylamid mua của hãng Sigma. Màng siêu lọc YM30 nhận được từ Amicon.

- Bio-Gel A1,5 hóa chất điện di, các bộ (kits) để xác định protein nhận được từ phòng thí nghiệm Bio-Rad.

- Các hóa chất khác được sử dụng đều tinh khiết.

- Đo phosphat vô cơ từ sự phân giải của cơ chất dựa theo phương pháp của Chel (1956). Một đơn vị hoạt tính nucleotidaza là lượng enzim sau 1 phút ở 37°C trong điều kiện tiêu chuẩn, có khả năng phân giải cơ chất (AMP), tạo thành các sản phẩm tương đương với 1 μ mol phosphat vô cơ. Hoạt tính đặc hiệu của enzim được xác định bằng số đơn vị hoạt động trên miligam (mg) protein.

- Đo lượng inosin theo phương pháp của Ipata (1967). Thí nghiệm này được thực hiện để

kiểm tra hoạt tính enzim sau khi sắc ký.

- Protein được xác định bằng phản ứng axit bicichoninic theo Smith (1985) với ribonucleaza và BSA (albumin huyết thanh bò) chuẩn hoặc sử dụng bộ (kits) protein Bio-Rat với γ -globulin bò chuẩn.

- Sắc ký lọc gel của tinh dịch bò thô được thực hiện tại 4°C, sử dụng cột Bio-Gel A: 1,5 m (1,5 $\times$ 90 cm) cân bằng và rút với dung dịch đệm 50 mM Tris-HCl pH 7,5. Tốc độ chảy 2,5 ml/giờ. Phân đoạn 2,5 ml, protein được kiểm tra bằng đo độ hấp phụ tại bước sóng $\lambda = 280$ nm. Sắc ký lọc gel còn được thực hiện trong sự có mặt của chất khử. Trước khi sắc ký, cho dung dịch sodiumcholat đậm đặc vào dung dịch tinh dịch bò cho đến 50 mM. Sau đó, ủ 30 phút ở 37°C, khuấy nhẹ nhàng. Sau khi làm lạnh tại 4°C, dung dịch được đưa lên cột Bio-Gel A 1,5 m. Cân bằng và rút tại 4°C với dung dịch đệm Tris/HCl 50 mM pH 7,5 chứa sodiumcholat 50 mM. Điều kiện sắc ký như trên.

- Điện di trên gel poliacylamid được thực hiện theo phương pháp của Weber và cộng sự. Một cải biến khác của Ogita được sử dụng để chạy điện di trên gel poliacylamid trong điều kiện không biến tính. Điện di tiến hành trong 50 mM dung dịch đệm Tris-HCl pH 8,3 chứa 1% tritol $\times$ 100, 5 mA / mỗi ống gel, 7% gel poliacylamid (5 $\times$ 70 nm) tương ứng 5'-NT sẽ cho sự định vị của enzim trên ống gel. Nhuộm gel poliacylamid bằng phản ứng Periodic-Schiff theo Zacharius (1969).

- Xác định khối lượng phân tử: bằng hai phương pháp: điện di trên gel Disc-SDS poliacylamid và sắc ký lọc gel. Điện di trên gel tiến hành như mô tả ở trên. Khối lượng phân tử được tính bằng đường logarit của khối lượng phân tử và độ di động điện di. Lọc gel được thực

hiện trên cột Bio-Gel A 1,5 m ($1,5 \times 90$ cm), cân bằng và rút với dung dịch đệm Tris-HCl 50 mM, pH 7,5 chứa 50 mM sodium cholat và 0,1 M NaCl. Tốc độ chảy là 2,5 ml/giờ.

- **Tinh sạch enzym:** Lấy tinh dịch bò sau khi phóng tinh đem ly tâm 1500 g (xấp xỉ 5000 vòng/phút) trong 20 phút, ở $2-4^{\circ}\text{C}$. Lấy 20 ml tinh dịch bò, cho vào 2,2 ml dung dịch Tritol X-100, hỗn hợp được khuấy nhẹ ở 37°C trong 30 phút. Sau đó, ly tâm 30000 g trong 30 phút. Lấy dịch nổi ở trên đưa pH = 8 với 0,1 M NaOH và 0,2 M NaCl. Quá trình tinh sạch enzym ở nhiệt độ phòng theo 3 bước sau:

Bước 1: Sắc ký trao đổi ion DEAE-sephadex A.50, kích thước cột 2×12 cm, cân bằng và rút với 50 mM dung dịch đệm Tris-HCl, pH 8 chứa 0,2 M NaCl, 1 mM MgCl_2 và 1% tritol X-100. 20 ml dịch ban đầu được đưa lên cột, với tốc độ chảy 20 ml/giờ. Dịch thu được có hoạt tính 5'-NT vào khoảng 35 ml, được cô lại bằng màng siêu lọc YM 30 amicon.

Bước 2: Sắc ký ái lực Con A - sepharose. Sau khi nhận được dịch cô ở bước 1, đưa lên cột ConA - sepharose 4B (1×20 cm), cân bằng với dung dịch đệm 50 ml Tris-HCl pH 7,5 chứa 1 M NaCl, 1 mM MgCl_2 , MnCl_2 , CaCl_2 và 0,1% Tritol - X-100. Cột đã được rửa với 20 ml dung dịch đệm ở trên và thay Tritol - X-100 bằng sodiumcholat bằng cách rửa cột với dung dịch đệm Tris-HCl 50 mM, pH 7,5 chứa 1 M NaCl và 50 mM sodium cholat. Cột được rửa cho đến khi lấy dung dịch đo ở bước sóng 280 nm, có độ hấp thụ nhỏ nhất, thường là 0,08 = hằng số. Hoạt tính 5'NT sau đó được rút với dung dịch đệm cuối cùng chứa 0,4 M methyl α - D manosid. Tốc độ 15 ml/giờ, mỗi phân đoạn là 3 ml. Tập hợp lại các phân đoạn có hoạt tính 5'-NT, được khoảng 55 ml, sau đó cô đặc lại còn 6 ml bằng màng siêu lọc YM 30 amicon. Dung dịch được thẩm tích qua đêm.

Bước 3: Sắc ký ái lực ADP-agarose. Dung dịch sau khi thẩm tích ở bước 2, được đưa lên cột ADP = agarose ($1,1 \times 5$ cm), cân bằng với dung dịch đệm Tris-HCl 50 mM, pH 7,5 chứa 0,1 M NaCl và 50 mM sodium cholat. Cột được rửa với 20 ml dung dịch đệm trên và hoạt tính 5'-NT cũng được rút bằng dung dịch này, tốc độ chảy 5 ml/giờ. Dịch thu

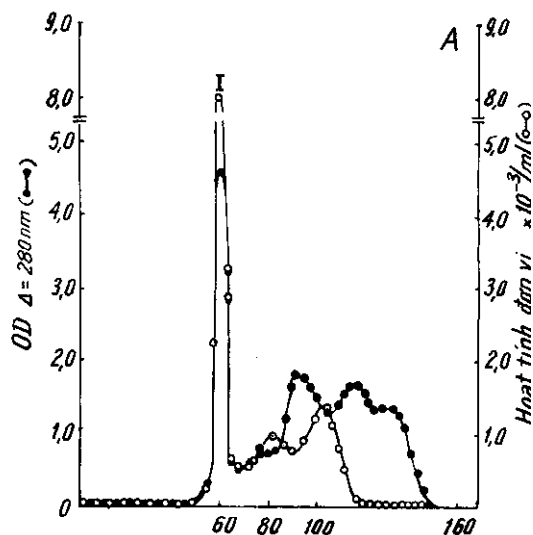
được lại đem cô còn 3 ml bằng màng siêu lọc 30 amicon.

II - KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

1. Ảnh hưởng của chất khử (detergent) đến t chất phân tử của enzym:

Sắc ký lọc gel của tinh dịch bò được thực hiện khi không có và có chất khử cho thấy:

Khi không có chất khử, enzym được tách r 3 đỉnh (hình 1). Đỉnh 1 rút ở $V = V_0$ của cột, h động của enzym tập trung ở đỉnh này, chiếm 5 hoạt động chung. Đỉnh hai được tách rút ra ở p đoạn từ 28-36, với thể tích $V = 20$ ml và có h độ khoảng 20% hoạt độ chung. Còn đỉnh thứ tách rút từ phân đoạn 36-48, được thể tích $V =$ ml và có hoạt độ chiếm 30% tổng số hoạt enzym. Điều đáng quan tâm là ở đỉnh thứ nhất thể tích tách rút và hoạt độ enzym hầu như kh thay đổi giữa nhiều lần sắc ký. Còn các đỉnh h ba, tùy điều kiện lấy mẫu và tiến hành sắc ký thay đổi nhiều cả về hàm lượng và hoạt độ enzim



Hình 1: Sắc ký lọc gel trên Bio-Gel A 1,5 m củ

ml tinh dịch bò không có sodium cholat

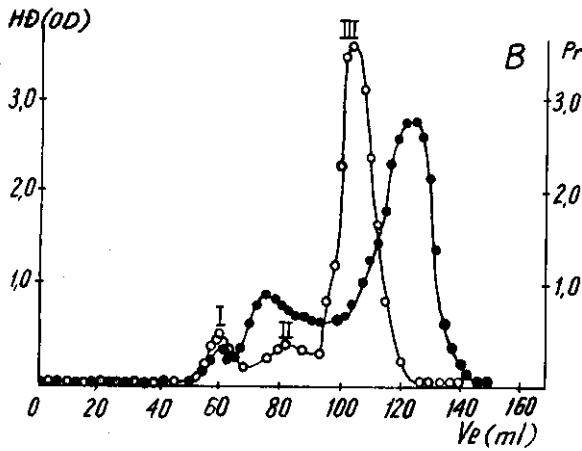
●: protein ○: hoạt độ 5'-NT

Cân bằng và rút bằng dung dịch đệm 50 ml Tris-HCl, pH = 7,5

Tốc độ chảy 2,5 ml/giờ

Thể tích mỗi phân đoạn 2,5 ml.

Nhưng, khi có mặt chất khử là cholat, thì trong quá trình phân chia sắc ký, lại có hiện tượng trái ngược. Trong trường hợp này, thấy hơn 80% hoạt độ 5'-NT được tách rút ở đỉnh thứ ba (hình 2), tương ứng với thể tích rút này, thì enzym có khối lượng phân tử $M_r = 160$ kDa. Kết quả này cũng không thay đổi, nếu thay cholat bằng 1% Triton X-100.



Hình 2: Sắc ký lọc gel trên Bio- Gel A 1,5 của 2 ml tinh dịch bỏ tiến hành với sự có mặt 50 mM sodiumcholat

●: protein ○: hoạt độ 5'-NT

Cân bằng và rút bằng dung dịch đệm 50 mM Tris-HCl, pH = 7,5

Tốc độ chảy 2,5 ml/giờ

Thể tích mỗi phân đoạn 2,5 ml.

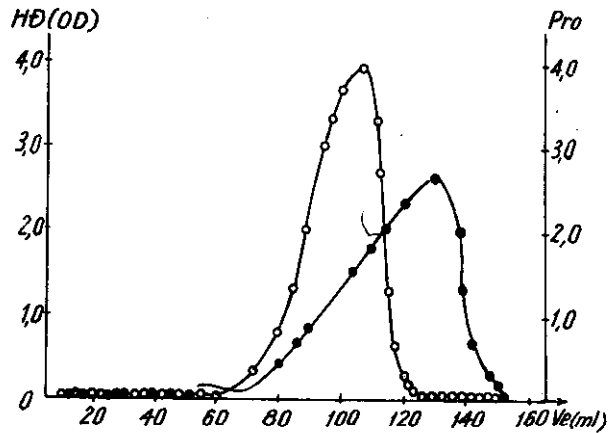
2. Tinh sạch enzym:

Qua nhiều thăm dò và thử nghiệm, chúng tôi đã hoàn thành quy trình tinh sạch enzym 5'-NT từ tinh dịch bò, qua các bước mô tả như sau:

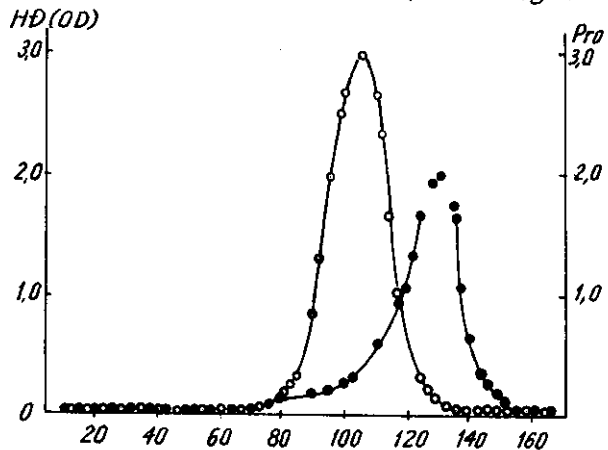
a. Sắc ký lọc gel trên DEAE-sephadex từ 2 ml tinh dịch bò, trong điều kiện có mặt của 1% Triton X-100, cho thấy: trên sắc ký đồ (hình 3), enzym chủ yếu tập trung ở một đỉnh, chiếm tới 94% tổng số hoạt độ enzym. Hoạt độ riêng tăng lên hơn hai lần (870 IU/ml: 370 mg protein) và có số lần sạch là 3 (bảng 1).

b. Sắc ký ái lực trên ConA - Sepharose 4B: phân đoạn từ sắc ký lọc gel có hoạt động enzym thu lại và cô đặc bằng màng siêu lọc YM30. Sau đó, đưa lên cột sắc ký ái lực trên cột gel ConA - Sepharose 4B, tiếp tục tách rút bằng đệm 50 mM

Tris-HCl, pH = 7,5 chứa 1 M NaCl, 1 mM $MgCl_2$, $CaCl_2$, $MnCl_2$, và Triton X-100. Kết quả cho thấy, enzym 5'-NT và protein chỉ là một đỉnh duy nhất. Hiệu suất khai thác trong bước này đạt được 70% so với hoạt độ ban đầu và có độ sạch lên đến 12 lần (hình 4 và bảng 1).



Hình 3: Tách 5'-NT qua cột DEAE - sephadex A 50; cột gel 2×12 cm. Cân bằng và rút bằng đệm Tris-HCl 50mM pH8,0 chứa 0,2 M NaCl, 1mM $MgCl_2$ và 1% Triton X-100. Tốc độ rút 20 ml/giờ.



Hình 4: Sắc ký đồ qua cột ConA-sepharose 4B

- Kích thước cột: 1 × 20 cm

- Cân bằng và rút với đệm 50 mM Tris-HCl pH7,5 chứa 1 M NaCl, 1 mM $MgCl_2$, $CaCl_2$, $MnCl_2$ và 0,1% Triton X-100

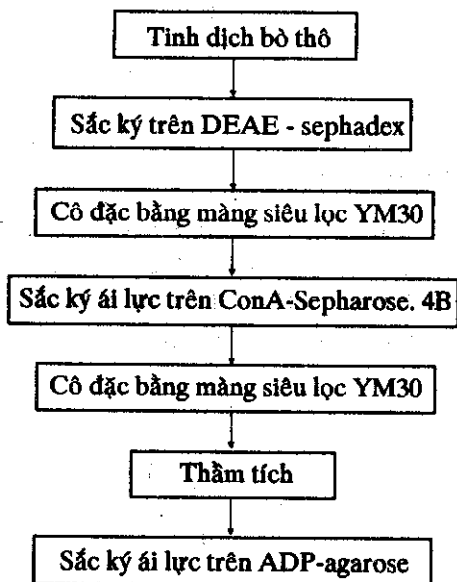
- Tốc độ rút 15 ml/giờ

- Thể tích mỗi phân đoạn 3 ml

c. Sắc ký ái lực trên ADP - agarose: phân đoạn có hoạt động enzym thu và tập trung lại, đem cô

đặc, xử lý màng siêu lọc YM30, sau đó đưa lên cột sắc ký ái lực với gel ADP - agarose. Sau khi rửa sạch gel đã gắn enzym, tiến hành tách rút bằng đệm Tris-HCl, pH = 7,5 chứa 0,1 M NaCl và 50 mM sodium cholat. Kết quả được trình bày trên hình 5. Như vậy, trong bước này, enzym và protein cũng chỉ tập trung trong một đỉnh, với hiệu suất khai thác là 50% so với hoạt độ ban đầu. Enzim có mức độ tinh sạch cao hơn 200 IU/mg protein và độ sạch trên 240 lần.

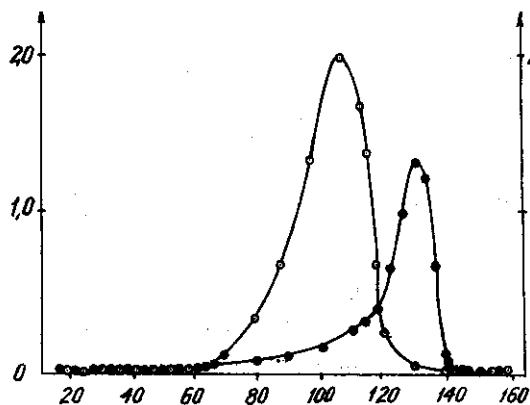
Quá trình tinh sạch 5'-NT được tóm tắt trong mô hình dưới đây và kết quả được trình bày trong bảng 1.



Enzim sau khi tinh sạch, được giữ trong glycerol 30%, ở nhiệt độ -20°C để cho các thí nghiệm tiếp sau, ở nhiệt độ 4°C có thể giữ hoạt tính được vài tuần, nếu không bị nhiễm khuẩn. Các

quá trình tinh sạch khác nhau đã được thực hiện có kết quả. Do enzym có khuynh hướng kết tủa (ngưng tụ) lại và dính vào túi thẩm tích khi không có chất khử, cho nên một số vấn đề liên quan đến kết tủa protein, như thẩm tích bằng túi celoph sulphatamon, không thể sử dụng cho quá trình tinh sạch enzym 5'NT từ tinh dịch bò.

Enzim có độ tinh sạch cao, chỉ có một band protein suy nhất, khi điện di trên SDS-poliacrylamid và điện di trên gel Triton X-poliacrylamid bằng phản ứng nhuộm glucoprote



Hình 5: Sắc ký đồ qua cột ADP agarose

- Kích thước cột 1,1 x 5 cm

- Cân bằng và rút với đệm Tris-HCl, pH 7,5 chứa 0,1 M NaCl và 50 mM sodium cholat
tốc độ rút chậm 5 ml/giờ.

Khi tiến hành sắc ký lọc gel trên cột Bio-C A1,5 cho thấy khối lượng phân tử = 158 kDa. C điện di với một loạt chuỗi polipeptid chuẩn, cho thấy khối lượng phân tử = 75 kDa. Kết quả n

Bảng

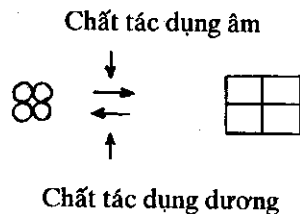
Các bước tinh sạch enzym 5-NT từ tinh dịch bò

Bước làm sạch	Protein (mg)	Hoạt độ (đơn vị/ml)	Hoạt độ đặc hiệu (đơn vị IU/mg protein)	Hoạt độ %	Độ sạch
1. Tinh dịch bỏ (20 ml)	1000	950	0,95	100	1
2. DEAE.sephadex A50	370	870	2,5	94	2,7
3. ConA sepharose 4B	60	650	11	69	12
4. ADP-agarose	1,8	410	226	45	240

gợi ý rằng có thể enzym có cấu trúc bậc bốn, do hai tiểu đơn vị đồng nhất cấu thành.

Những thí nghiệm lọc gel có và không có detergent, cho thấy 50% enzym 5'-NT của tinh dịch bò thô là enzym gắn màng, trong khi đó phần còn lại là protein hòa tan có khả năng kết tủa lại. Do đó, có thể giải thích 3 dạng enzym luôn luôn thấy có trong tinh dịch bò.

Mặt khác, điện di trên gel polyacrylamid và thí nghiệm lọc gel khi có mặt của detergent, không làm biến tính protein, chứng tỏ enzym chỉ có một dạng phân tử. Kết quả sắc ký lọc gel cho ba đỉnh protein có hoạt động 5'-NT, như vậy không phải do 3 isoenzym khác nhau mà do enzym có kiểu hình phân tử có khuynh hướng tự ngưng tụ theo mối quan hệ $E_z \rightleftharpoons E_z E_z \rightleftharpoons E_z E_z E_z$ dẫn tới làm thay đổi hoạt động của enzym, hoặc enzym có thể gắn với các nhân tố dị lập thể khác để thể hiện mối quan hệ dị lập thể do Kosland đã mô tả:



Enzym 5'-NT của tinh dịch bò thô có hoạt độ riêng hơn 0,9 đơn vị / mg protein, giá trị này cao hơn từ 10 đến 100 lần so với các nguồn khác của động vật có vú [Naito 1981]. Còn hoạt độ riêng của enzym tinh sạch là 45 đơn vị / ml và hoạt độ riêng của enzym tinh sạch là 226 đơn vị / mg protein

(1 ml tinh dịch bò thô chứa khoảng 200 μ g enzym). Trên cơ sở đó, có thể nói rằng: Tinh dịch bò là nguồn giàu enzym 5'-NT.

III - KẾT LUẬN

Tinh dịch bò là nguồn giàu enzym 5'-NT.

Khối lượng phân tử $M_r = 160$ kDa, gồm 2 tiểu đơn vị đồng nhất 75 kDa nối với nhau bằng cầu disulfid.

Enzym được tinh sạch qua ba bước sắc ký: DEAE-sephadex A50, sắc ký ái lực trên ConA-sepharose.4B, sắc ký ái lực trên ADP-agarose. hoạt độ đặc hiệu của enzym tăng lên hơn 200 lần và hệ số tinh sạch của enzym là 240 lần.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Ipata P. L., 1967: Anal. Biochem., 20: 30-36.
2. Chen P. S. Ir., Toribara T. Y., and Warner H., 1956: Anal. Chem., 28: 1756-1758.
3. Zacharius R. M. et al., 1969: Anal. Biochem., 30: 148-152.
4. Evans W. H. and Gurd J. W., 1973: Biochem. J., 133: 189-199.
5. Bailyes E. M. et al., 1982: Biochem J., 203: 245-251.
6. Naito Y. and Lowenstein J. M., 1981: Biochemistry, 20: 5188-5194.
7. Ogita Z. I. and Markert C. L., 1979: Anal. Biochem., 99: 233-241.

PURIFICATION OF 5'-NUCLEOTIDASE FROM BULL SEMINAL PLASMA

DINH THUONG VAN, LE XUAN TU

SUMMARY

The purified enzyme can be achieved after three chromatographic step: DEAE-sephadex A50, ConA - sepharose. 4B and ADP - agarose. The specific activity of the pure enzyme is 226 units per mg protein. 5'-NT from bull seminal plasma shows an M_r of 160 kDa on gel filtration chromatography. On the basis of the fact that the polypeptide chain showed an M_r equal to 78 kDa on SDS - polyacrylamid gel electrophoresis, the enzyme appears to be composed of two subunits.

Ngày nhận bài: 10-1-1998

MỘT SỐ KẾT QUẢ NUÔI CẤY *IN VITRO* BỐN GIỐNG VÀ TỜ HỢP LAI F₁ CỦA CÂY BÔNG (*GOSSYPIMUM HIRSUTUM* L.) TRỒNG Ở VIỆT NAM

PHẠM VIỆT CƯỜNG, LÊ XUÂN TÚ, LÊ TRẦN BÌNH

Viện Công nghệ sinh học

Ở Việt Nam, việc nghiên cứu tạo giống bông bằng các phương pháp cổ truyền như lai chéo, gây đột biến đã được Trung tâm nghiên cứu bông Nha Hồ và một số cơ sở khác tiến hành. Song, việc tạo giống bông bằng phương pháp *in vitro* đơn thuần và các kỹ thuật di truyền phân tử vẫn còn đang bỏ ngỏ. Vì vậy, để chuẩn bị cho nghiên cứu chuyển gen phục vụ công tác tạo giống bông, chúng tôi đã nghiên cứu tái sinh cây trong điều kiện *in vitro*.

I - PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Các giống bông: C118, VN20, VN36, VN37 và tờ hợp lai F₁ (Ấn Độ), được cung cấp từ Trung tâm nghiên cứu bông Nha Hồ, Ninh Thuận, và Trại nhân giống bông Krongpắc, Đắk Lắk. Hạt bông chưa tách hết sợi, được đốt trong dung dịch axit sunfuric đặc, rửa sạch, khử trùng 15 phút bằng chloramin B 5%, sau đó khử trùng tiếp bằng HgCl₂ 0,1% trong 10 phút, rửa sạch bằng nước cất vô trùng theo dòng chảy. Hạt bông đã được khử trùng, cho nảy mầm trong môi trường MS₀ (1962) [3], không có hóc môn thực vật, ở nhiệt độ 32°C. Sau 7 ngày nảy mầm, đỉnh rễ, lá mầm và thân mầm được cắt thành mẫu nhỏ có độ dài 0,5 cm và nuôi cấy vào môi trường xác định trong ống nghiệm hoặc bình tam giác. Để tạo dịch tế bào nuôi cấy, chúng tôi nuôi mô sẹo của đỉnh sinh trưởng có độ lớn 0,5 mm, trong môi trường lỏng, lắc liên tục với máy lắc vòng Elfan 358S, 120 vòng/phút, nhiệt độ 22°C với chu kỳ ánh sáng 8/16 h.

II - KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Đã nuôi cấy các mẫu lá mầm có độ lớn 0,5 × 0,5 cm, đỉnh rễ và thân mầm có độ dài 0,5 cm trên

môi trường nuôi MS₀ có thay đổi về hàm lượng vitamin 0,4 mg/l thiamin-HCl và thay sacchar bằng 3% glucoza, 2,4D 0,2 mg/l, G₃ 0,6 mg/l.

Kết quả nhận thấy là: sau 15 ngày tuổi, tất cả các bộ phận đều hình thành mô sẹo với tần số 10 đối với mẫu lá mầm và đỉnh rễ. Đối với thân mầm lệ trung bình cho tất cả các giống là 66,6%, tỉ nhất là C118 (60%) cao nhất là VN20 (70,5 (bảng 1).

Bảng

Khả năng hình thành mô sẹo của 4 giống bông C118, VN20, VN36, VN37 và tờ hợp lai F₁ (Môi trường muối MS, nồng độ 2,4 D, 0,2 mg/l, G₃ 0,5 mg/l)

Cơ quan Giống	Lá mầm		Thân mầm		Rễ mầm	
	n	%	n	%	n	%
C118	78	100	80	60	50	10
VN20	80	100	50	70,5	45	10
VN36	75	100	80	65,7	45	10
VN37	80	100	80	67,5	50	10
F ₁	100	100	80	69,3	50	10

Ghi chú: n - số mẫu mô (explants)

Về hình thái của mô sẹo, đối với 4 giống và tờ hợp lai, có những đặc điểm chung: mô sẹo di tạo ra từ mầm lá có 2 dạng; dạng nằm ở vùng bị thương tiếp xúc trực tiếp với môi trường thì màu hơi xanh thẫm, còn dạng không tiếp xúc thạch nằm trên bề mặt của mẫu lá có màu trắng phát triển không đồng đều (ảnh 1). Mô sẹo hình thành từ đỉnh rễ và thân rễ, lúc đầu có màu trắng

* Công trình được sự hỗ trợ kinh phí của Chương trình Khoa học cơ bản

vàng, sau 45 ngày chuyển thành màu xanh. Nếu tiếp tục nuôi cấy mà không chuyển sang môi trường tươi thì dần dần sẽ biến thành màu nâu và chết. Tất cả các dạng mô sẹo nuôi ở môi trường lỏng đều phát triển tốt nhưng chuyển sang môi trường tái sinh với các loại nồng độ hormone khác nhau có 8 g agar/l, thì chỉ phát triển về sinh khối nhưng chưa cho ra một cây tái sinh hoặc chồi tái sinh nào.



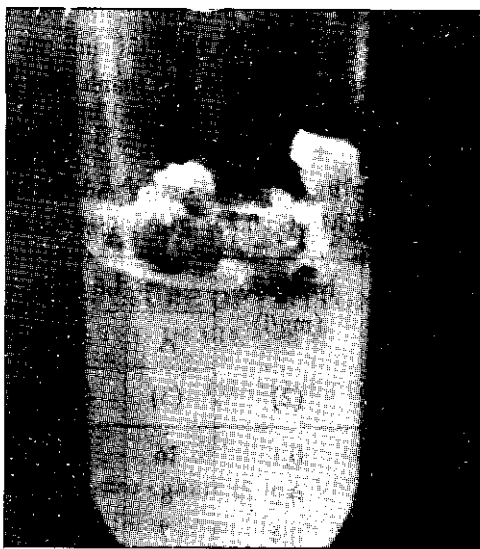
Ảnh 1: Dạng mô sẹo hình thành từ mô lá mầm

Hỗn hợp các muối của MS được sử dụng làm môi trường tái sinh cây, bổ sung thêm G_3 0,2 mg/l, kinetin 0,2 mg/l, 100 mg/l myo-inositol, 0,5% glucoza, 2,4 D 0,01 mg/l, pH 6,2 và ba loại nồng độ của α -NAA (0,1 mg/l, 0,2 mg/l, 0,4 mg/l). Số lượng các mẫu cơ quan được thử cho mỗi lô thí nghiệm về khả năng phục hồi cây xanh là 120 mẫu. Đồng thời với sự hình thành mô sẹo, một số đã xuất hiện rễ và chồi, có mẫu mô xuất hiện một lúc 4 chồi cây cùng phát triển bình thường. Chúng tôi nhận thấy rằng sự phục hồi cây nguyên vẹn chỉ có ở những mô sẹo từ mẫu lá mầm có bề mặt vết cắt tiếp xúc với môi trường (điều này phù hợp với kết quả của Ebrahim Firoozabady) [3].

Mô sẹo nằm ở mặt trên lá mầm không có khả năng hình thành cây, mặc dù quan sát thấy rất nhiều mầm phôi xuất hiện.

Bảng 2 cho thấy rằng, đối với tất cả các giống nghiên cứu, ở 3 loại nồng độ α -NAA, từ mô sẹo của lá mầm và đỉnh rễ đều có sự hình thành hệ rễ, trừ giống VN36 chỉ có ở nồng độ 0,1 mg/l, và nồng độ này cho kết quả tạo rễ cao đối với tất cả các giống bông. Việc hình thành chồi chỉ xuất hiện ở

các giống bông C118, VN20 và tổ hợp lai F_1 , tỷ lệ cao nhất là ở giống C118. Qua quá trình nuôi cấy, chúng tôi đã tái sinh được 4 cây hoàn chỉnh trong



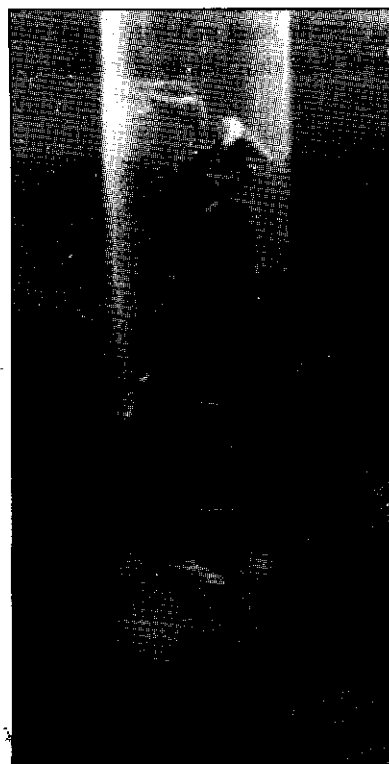
Ảnh 2: Mô sẹo hình thành trên môi trường có thạch được cấy truyền từ dung dịch lỏng



Ảnh 3: Sự hình thành từ rễ mô sẹo màu lá mầm

ống nghiệm thuộc giống C118 (hình 4). Tỷ lệ tái sinh cây chủ yếu ở mô lá mầm, điều này phù hợp với hướng biến nạp gen bằng *A. bacterium* vào cây bông của Ebrahim F., Umbeck và cộng sự [3, 4].

Ở đây chúng ta thấy rằng tỷ lệ tái sinh cây thấp, như vậy, đề xuất hiện cây tái sinh có mang gen biến nạp, cần phải có một lượng lớn mẫu mô (explants) nuôi cấy. Mặc dù tỷ lệ tái sinh cây rất thấp nhưng dù sao đây cũng là một thành công đầu



Ảnh 4: Cây bông được tái sinh

tiên trong nuôi cấy *in vitro* cây bông ở Việt Nam tạo tiền đề cho những bước tiếp theo. Cần tiếp khảo sát các tổ hợp môi trường với các nồng độ khác nhau của các hormone khác, ngoài α -NAA.

Bảng

Ảnh hưởng của nồng độ α -NAA lên sự hình thành rễ và tái sinh cây trên môi trường MS G₃ 0,2 mg/l, kinetin 0,2 mg/l, 100 mg myo-inositol, 0,5% glucoza

Giống (1)	Nồng độ (mg/l) (2)	Lá mầm			Đỉnh rễ			Mô sẹo		
		A	B	C	A	B	C	A	B	C
		(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)	(9)	(10)	(11)
C118	0,1	16	3	3	19	—	—	—	—	—
	0,2	8	4	1	21	—	—	—	—	—
	0,4	7	3	—	11	1	—	—	—	—
VN20	0,1	20	1	—	2	—	—	—	—	—
	0,2	12	2	—	1	—	—	—	—	—
	0,4	13	—	—	—	—	—	—	—	—

(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)	(9)	(10)	(11)
VN36	0,1	6	—	—	12	—	—	—	—	—
	0,2	—	—	—	11	—	—	—	—	—
	0,4	—	—	—	13	—	—	—	—	—
VN37	0,1	3	—	—	12	—	—	—	—	—
	0,2	1	—	—	12	—	—	—	—	—
	0,4	—	—	—	8	—	—	—	—	—
F ₁	0,1	20	1	—	23	—	—	—	—	—
	0,2	16	2	—	21	1	—	—	—	—
	0,4	6	—	—	22	—	—	—	—	—

Ghi chú: A- Số lượng mô hình thành rễ, B- Số lượng mô tạo chồi,
C- Số lượng cây tái sinh nguyên vẹn.

III - KẾT LUẬN

- Tất cả 4 giống bông: C118, VN20, VN36, VN37 và tổ hợp lai F₁ (Ấn Độ) đều có khả năng hình thành mô sẹo cao; 100% đối với mô lá mầm và mô đỉnh rễ, 66,9% đối với thân mầm.

- Môi trường thuận lợi hơn cả cho sự tạo rễ, nảy chồi và tái sinh cây trong các lô thí nghiệm là môi trường sử dụng các hỗn hợp muối MS có bổ sung thêm: G₃ 0,2 mg/l, kinetin 0,2 mg/l, myo-inositol 100 mg/l, glucoza 0,5% và α -NAA 0,1 mg/l.

- Khả năng tạo rễ cũng như tái sinh cây khác nhau giữa các giống, chỉ C118 có khả năng tái sinh còn VN20, VN36, VN37 chưa thấy hiện tượng tái sinh ở những điều kiện nghiên cứu này. Với những kết quả trên, có thể sử dụng giống C118 như vật

liệu tốt cho những nghiên cứu tiếp theo.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Ebrahim Frioozabady, 1997: Plant molecular. Biology, 10: 105-110.
2. Mc Bride K. E., Maliga P., 1995: Expression vector construction for plastid-specific *Bacillus thuringiensis* crystal protein gene expression in cotton transgenic plant for increased insect resistance. P - Patent 95 - 14611.
3. Murashige T., Skoog F. A., 1962: Physiol. Plant, 15: 473-497.
4. Paul Umbeck, Gail Johnson, 1987: Biotechnology, Vol. 5: 263-266.
5. Thomas J. C., Adam D. G., et al., 1995: Journal Plant-cell-Rep., 14 (12): 758-762.

SOME INVESTIGATIONS ON IN VITRO CULTURE OF COTTON (*GOSSYPIUM HIRSUTUM* L.) CULTIVATED IN VIETNAM

PHAM VIET CUONG *et al.*

SUMMARY

Five kinds of cotton breeding in Vietnam have been used *in vitro* culture (C118, VN20, VN36, VN37 and F₁ - India). The received result shows that the best medium for regeneration is MS supplemented with 0.1 mg/l α -NAA, 0.2 mg/l G₃, 0.2 mg/l kinetin and 100 mg/l myo-inositol, 0.5 glucose. Cotyledon sections are preferred for production of explants ready for regeneration of plants.

Ngày nhận bài: 16-9-1997

NGHIÊN CỨU BƯỚC ĐẦU VỀ CÔN TRÙNG BAY TRONG KHÔNG KHÍ Ở ĐỘ CAO THẤP VÀ MỐI LIÊN HỆ CỦA CHÚNG VỚI SINH HỌC CỦA CHIM YẾN HÀNG *COLLOCALIA FUCIPHAGA GERMANI OUSTALET* Ở KHÁNH HÒA

Phần I - THÀNH PHẦN KHU HỆ CÔN TRÙNG BAY TRONG KHÔNG KHÍ Ở ĐỘ CAO THẤP VÀ SỰ PHÂN BỐ CỦA CHÚNG

NGUYỄN QUANG PHÁCH, HOÀNG MINH HƯNG

Công ty Yến sào tỉnh Khánh Hòa

Nghiên cứu côn trùng bay trong không khí thu hút sự quan tâm của nhiều tác giả như McClure (1938), Freeman (1945), Johnson (1957), Hails (1982)... Đây là bọn côn trùng đáng được quan tâm về nhiều mặt, nhất là ý nghĩa thực tiễn của chúng trong nông, lâm, y dược. Trong mối quan hệ sinh thái học, côn trùng bay trong không khí là thức ăn duy nhất của 1 số nhóm chim, nhất là bọn chim yến (*Apodidae*), họ chim nhạn (*Hirundinidae*). Chúng cũng là thức ăn của bọn dơi ăn côn trùng họ *Verpertilionidae* (Chiroptera).

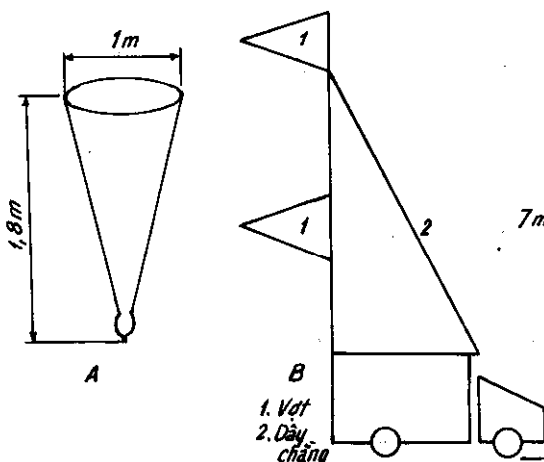
Chim Yến hàng *Collocalia fuciphaga* là bọn chim có ý nghĩa kinh tế cao của nước ta và nhiều nước vùng Đông Nam Á, đang được tập trung nghiên cứu. Chúng là bọn ăn côn trùng nhỏ bay trong không khí và đã được nghiên cứu khá chi tiết (Langham, 1980; Nguyễn Quang Phách, 1982, 1993...). Vì vậy, việc nghiên cứu mật độ côn trùng bay trong không khí và sự thay đổi của chúng có ý nghĩa làm sáng tỏ các qui luật sinh thái của bọn chim này (và nhiều nhóm có liên quan khác), đồng thời góp phần vào nghiên cứu các biện pháp sử dụng bền vững nguồn lợi.

I - PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Tỉnh Khánh Hòa có sản lượng yến cao nhất ở Việt Nam (hơn 60% tổng sản lượng của cả nước) và là nơi chim yến hàng được tập trung nghiên cứu nhiều nhất.

Thu côn trùng bằng vợt lưới plankton 56.

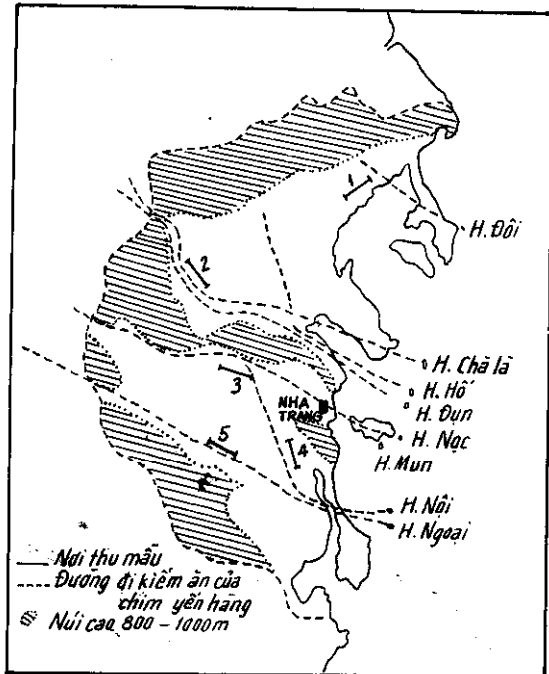
Miệng lưới rộng 1 m, vợt dài 1,8 m được may theo dạng hình nón với cấu trúc thắt đáy (hình 1) để tránh côn trùng bay ngược trở ra khi xe chạy chậm ngừng cho việc thu mẫu. Cuối vợt có 1 ống tỉ mỉ. Hai vợt gắn trên cùng 1 cây gỗ, cách nhau 3 m. Cây gỗ này được cột trên ô tô để tạo thành 2 độ cao thu mẫu khác nhau 4 m và 7 m cách mặt đất (hình 1). Ô tô chạy với tốc độ 35-40 km/h, với quãng đường dài 10 km mỗi trạm.



Hình 1: Cấu tạo vợt và cách bố trí vợt trên ô tô (A và B)

Thu mẫu ở 5 trạm từ bắc đến nam tỉnh Khánh Hòa, bao gồm các trạm Khánh Sơn, Cam H, Đồng Trăn, Dục Mỹ và Vạn Giã. Các trạm thu n đi qua các địa hình, thảm thực vật khác nhau: đ ruộng (Khánh Sơn, Cam Tân), đồi cây (Đồng Tr Dục Mỹ và Vạn Giã). Các trạm này đi qua toàn đường đi kiếm ăn (trong tỉnh) của đàn yến từ

đảo (hình 2). Thu mẫu từ các tháng 11/1994 đến 11/1995, tiến hành vào cuối tháng (22 - 27 hàng tháng). Mỗi trạm được thu 3 lần trong ngày (6 h - 7 h, 11 h - 12 h, và 17 h - 18 h). Côn trùng thu được bảo quản trong cồn 70°. Phân loại đến bộ dưới kính hiển vi soi nổi của Đức.



Hình 2: Bản đồ đường đi kiểm ăn của chim Yến hàng và nơi thu mẫu

Vị trí thu mẫu: 1. Vạn Giã, 2. Dục Mỹ, 3. Đồng Trăn, 4. Cam Tân, 5. Khánh Sơn

I - KẾT QUẢ

1. Thành phần côn trùng bay trong không khí ở độ cao thấp và đặc trưng phân bố của chúng:

a- Thành phần côn trùng bay trong không khí ở độ cao thấp và tỷ lệ của chúng:

Trong 9 tháng thu mẫu (thiếu các tháng 12/1994 và 2-3-4/1995), đã thu được tổng số mẫu là 17.835 cá thể. Các mẫu vật thu trong các tháng

11/1994, 1 và 5/1995 không được phân loại; chỉ phân loại số mẫu vật thu từ tháng 6/1995 (bảng 1).

Trong tổng số 13.532 mẫu được phân loại, cho thấy bao gồm đại diện của 2 nhóm chân khớp là côn trùng 98% và nhện 2%. Trong bọ côn trùng thì số lượng tuyệt đối thuộc về đại diện của bộ 2 cánh Diptera (73,6%), bộ cánh màng Hymenoptera chiếm khoảng 10% (9,8%). Bộ cánh cứng Coleoptera và bộ rầy Homoptera có tỷ lệ gần tương đương (6,3 và 5%). Bộ mối Isoptera chỉ gặp 1 lần trong tháng 7 và chỉ với 4 con.

Bảng 1

Tỷ lệ các bộ côn trùng và nhện bay trong không khí ở Khánh Hòa

Bộ	Số lượng mẫu	%
Hymenoptera	1326	9,8
Diptera	9956	73,6
Homoptera	680	5,0
Hemiptera	49	0,3
Coleoptera	853	6,3
Isoptera	4	0,0
Ephemeroptera	138	1,0
Thysanoptera	253	1,9
Odonata	12	0,1
Acraneae	261	2,0
Tổng cộng	13.532	100,0

Tuyệt đại bộ phận côn trùng và nhện là bọ kích thước nhỏ và là thức ăn thường xuyên của chim yến - ngoại trừ 4 mẫu chuồn chuồn lớn là không gặp trong thức ăn của chim yến.

b. Phân bố số lượng côn trùng theo tháng:

Số lượng côn trùng thu được qua các tháng không đồng nhất, có tỷ lệ thấp nhất trong các tháng 1, 5 và 7 và cao nhất trong các tháng 9-11. Xu hướng chung là tăng cao vào mùa mưa (tháng 9-12 là mùa mưa trong vùng) (bảng 2).

Bảng 2

Số lượng côn trùng ở các tháng khác nhau

Tháng	11/94	1/95	5/95	6/95	7/95	8/95	9/95	10/95	11/95
Số lượng	2635	829	839	1942	785	1768	2365	3130	3542
%	14,8	4,6	4,7	10,9	4,4	9,9	13,2	17,5	19,8

Bảng 3

Phân bố số lượng mẫu của các bộ côn trùng và nhện theo tháng trong năm 1995

Bộ \ Tháng	6	7	8	9	10	11
Hymenoptera	94	99	191	89	331	522
Diptera	1724	530	1260	2073	2183	2186
Homoptera	36	45	98	107	113	281
Hemiptera	15	2	4	6	4	18
Coleoptera	50	43	131	27	266	336
Ephemeroptera	0	19	7	9	69	34
Thysanoptera	9	4	0	4	0	0
Odonata	4	4	0	4	0	0
Isoptera	0	4	0	0	0	0
Acraneae	10	33	34	82	53	99

Bảng 3 cho thấy, trong tháng 7, số lượng côn trùng bộ 2 cánh Diptera giảm rất thấp đã ảnh hưởng đến toàn bộ số lượng của tháng. Có thể việc giảm số lượng côn trùng trong các tháng 1 và 5 / 1995 cũng là do sự giảm thấp chủ yếu của bộ 2 cánh.

c. Phân bố số lượng côn trùng trong không khí theo độ cao:

Để phân tích số lượng mẫu côn trùng phân bố theo hai độ cao khác nhau (4 m và 7 m), chúng tôi sử dụng số liệu từ tháng 6 đến tháng 11 / 1995; các số liệu trước đó được loại ra vì không phân biệt theo độ cao (bảng 4).

Ngoại trừ tháng 9 các vọt ở độ cao 7 m thu được số lượng côn trùng cao hơn vọt ở 4 m, các

tháng khác số lượng côn trùng ở 4 m luôn cao hơn ở 7 m. Nhìn chung, côn trùng bay trong không khí ở độ cao 4 m có mật độ cao gấp 1,5 lần ở độ cao m (61,3% so 38,7%).

d. Phân bố mật độ trong ngày của côn trùng bay trong không khí:

Theo thời gian thu mẫu đã trình bày ở phần phương pháp thì chỉ có 3 thời điểm trong ngày được nghiên cứu. Kết quả phân tích được trình bày trong hai bảng 5 và 6. Bảng 5 cho thấy số lượng côn trùng thu được cao nhất vào hai thời điểm 6 - 7 giờ và 17 - 18 giờ. Còn thời điểm 11 - 1 giờ, số lượng côn trùng thu được khá thấp so với 2 thời điểm trên (15,8% so với 42,8% và 41,3%).

Bảng 4

Phân bố số lượng mẫu côn trùng theo độ cao (m)

Tháng	Tổng số lượng	4 m		7 m	
		Số lượng	%	Số lượng	%
6	1942	1614	83,1	328	16,9
7	785	485	61,8	300	38,2
8	1768	1147	64,9	621	35,1
9	2365	1027	43,4	1335	56,6
10	3130	1749	55,9	1381	44,1
11	3542	2268	64,0	1274	36,0
6 tháng	13.532	8290	61,3	5239	38,7

Bảng 5

Sự phân bố trong ngày của mật độ côn trùng bay trong không khí

Thời điểm thu mẫu	n	Số lượng	%
6 - 7 giờ	28	5800	42,8
11 - 12 giờ	28	2144	15,8
17 - 18 giờ	28	5588	41,3

(n: Số vọt thu mẫu)

Bảng 6

Sự phân bố trong ngày của mật độ cá thể bay trong không khí của 1 số bộ côn trùng và nhện

Bộ côn trùng và nhện	Tổng số lượng	6 - 7 giờ		11 - 12 giờ		17 - 18 giờ	
		Số lượng	%	Số lượng	%	Số lượng	%
Hymenoptera	1326	589	44,4	324	24,4	413	31,1
Diptera	9956	4372	43,9	1299	13,0	42,85	43,0
Homoptera và Hemiptera	729	278	38,1	191	26,2	260	36,7
Coleoptera	853	281	33,0	95	11,1	477	56,3
Ephemeroptera	138	72	52,2	40	29,0	26	18,8
Thysanoptera	253	110	43,5	84	33,2	59	23,3
Acraneae	261	91	34,9	103	39,4	67	25,7

Trong 6 bộ côn trùng có số lượng đáng kể thì chỉ có bộ cánh cứng (Coleoptera) là có số lượng thu được vào buổi chiều cao hơn buổi sáng (56,3% so với 33,0%), số bộ còn lại đều có số lượng thu được vào buổi sáng cao hơn buổi chiều. Bọ nhện thu được cao nhất vào buổi trưa (39,4%) và buổi sáng (34,9%).

2. Mật độ côn trùng bay trong không khí ở phía bắc và nam Khánh Hòa:

Khánh Hòa có cấu trúc địa hình khá độc đáo: phía bắc, tây và nam tỉnh đều có núi cao bao bọc. Ở giữa tỉnh lại có dãy Hòn Bà cao khoảng 800 m chạy theo hướng đông - tây (từ sát biển đến giáp dãy Trường Sơn phía tây) chia đôi tỉnh. Các quan sát thực địa cho thấy (Nguyễn Quang Bích, 1992-1993) chim yến ở các đảo Hòn Đụn, Hố, Chà kiếm ăn ở khu vực phía bắc Hòn Bà lên Đắc Lắc - Gia Lai. Chim yến ở đây

Bảng 7

Mật độ côn trùng bay trong không khí ở phía bắc và nam Khánh Hòa

Tháng	Khu vực	Số trạm	Số lượng	Trung bình/ngày
6	Bắc	2	1487	743,5
	Nam	2	1337	668,5
7	Bắc	2	256	132,5
	Nam	3	520	173,3
8	Bắc	2	456	228,0
	Nam	3	1312	437,3
9	Bắc	2	1017	503,5
	Nam	3	1407	469,0
10	Bắc	2	1844	922,0
	Nam	3	1286	428,7
11	Bắc	2	1789	894,5
	Nam	3	1753	584,3
6 tháng	Bắc	12	6858	571,5
	Nam	17	7615	447,9

chỉ chiếm khoảng 20% số lượng toàn tỉnh. 80% số chim yến của tỉnh là ở các đảo Hòn Mun, Hòn Nội và Hòn Ngoai, chúng kiếm ăn ở khu vực phía nam Hòn Bà lên Đắc Lắc - Lâm Đồng và bắc Ninh Thuận.

Số lượng côn trùng bay trong không khí ở các trạm phía bắc Hòn Bà thu được cao hơn ở phía nam Hòn Bà (571,5 con/ngày so với 447,9 con/ngày).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Chisholm M. D., Underhill E. W., and Steck W. F., 1979: J. Chem. Ecol., 9: 113-118.
2. Freeman J. A., 1945: J. Animal Ecol., 14: 128-154.

3. Glick P. A., 1939: The distribution of insects, spider and mite in the air. Tech. Bull. US. Dep. Agric., 673: 1-150.

4. Johnson C. G., 1957: J. Anim. Ecol., 26 (2): 479-494.

5. Lewis T. and Taylor L. R., 1964: Trans. R. Ent. Soc. lond. 166(15): 393 - 476.

6. Mc Clure H. E., 1938: Annals Ento. Society of America, Vol. 31: 504-513.

7. Southwood T. R. E., 1975: Absolute population estimates by sampling a unit habitat-air, plant, plant products and vertebrate host. In: Ecological methods with particular reperece to the study of insect populations, Chap. 4: 99-132. Chapman and Hall. Lond. Press.

A FIRST STUDY ON AERIAL INSECTS AT LOW HEIGHTS AND THEIR CONNECTIONS WITH THE BIOLOGY OF EDIBLE NEST SWIFTLET (COLLOCALIA FUCIPHAGA GERMANI OUSTALET) IN KHANH HOA PROVINCE

I - COMPOSITION OF AERIAL INSECTS AND THEIR DISTRIBUTIONS

NGUYEN QUANG PHACH, HOANG MINH HUNG

SUMMARY

1. Nine orders of aerial insects from a total of 13532 individuals, based on the data collected by using two 56-plakton nets attached to automobile at 4 m and 7 m heights from ground level, were recognized.

2. The number of Diptera is heighest of total taken aerial insects (73.6%). The other orders with relative number are: Hymenoptera (9.8%), Coleoptera (6%) and Homoptera (5%).

3. The number of aerial insects taken at 4 m height from ground level is 1.5 times higher than the one of at 7 m.

4. The aerial insect density of the northern area of Khanh Hoa province is higher than the one of the southern area.

Ngày nhận bài: 26-1-1998

MỘT SỐ THÀNH PHẦN CƠ BẢN TRONG DỊCH CHIẾT CỦA TỎ CHIM YẾN HÀNG COLLOCALIA FUCIPHAGA GERMANI Ở VIỆT NAM

NGÔ THỊ KIM, NGUYỄN TÀI LƯƠNG, TRƯƠNG THỊ THU

Viện Công nghệ sinh học

Theo kinh nghiệm dân gian, việc xử lý tổ chim Yến hàng để tạo được một loại thức ăn bồi dưỡng cơ thể phải thực hiện rất công phu. Bên cạnh việc phân tích tổng thể tổ yến, chúng tôi kiểm tra một số thành phần cơ bản trong dịch chiết của tổ chim Yến hàng theo phương pháp của một số tác giả [2].

sản phẩm dịch chiết không đơn thuần chỉ có glucoprotein, mà còn có glucit không gắn với protein và những thành phần khác nữa.

Bảng 1

Thành phần dịch chiết của tổ chim Yến hàng

Thứ tự ống mẫu (1)	Cacbohydrat E590 (2)	Protein E540 (3)
1	0,005	0,021
2	0,019	0,010
3	0,010	0,020
4	0,040	0,025
5	0,155	0,030
6	0,195	0,038
7	0,170	0,029
8	0,180	0,029
9	0,250	0,050
10	0,410	0,054
11	0,480	0,054
12	0,520	0,053
13	0,470	0,051
14	0,420	0,049
15	0,350	0,040
16	0,360	0,039
17	0,205	0,040
18	0,215	0,035
19	0,150	0,031
20	0,145	0,028
21	0,205	0,030
22	0,170	0,030
23	0,110	0,028
24	0,150	0,027
25	0,105	0,025

I - PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

- Tổ yến được nghiền nhỏ (cỡ 1 - 3 mm).
- Cân 1 g bột tổ yến, cho vào dung dịch đệm phosphat 0,2 M, pH = 7,5. Ngấy đều, ủ trong tủ lạnh 24 h. Ly tâm để thu lấy phần dịch để phân tích.

II - KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

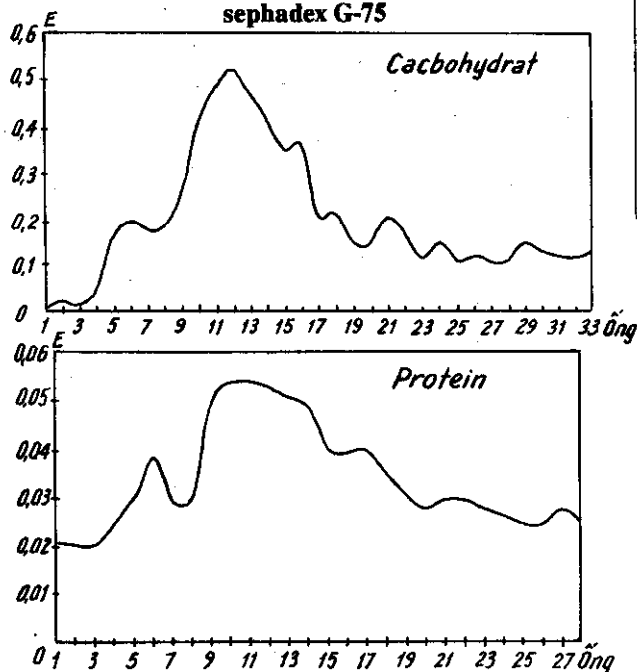
Dịch chiết thu được có hàm lượng protein chiếm 2,22 mg/g mẫu (tức 0,222%). Việc xác định protein bằng phương pháp Folin với chuẩn tyrosin cho kết quả tốt, còn bằng phương pháp Biuret không cho kết quả (phản ứng không lên màu). Điều này cho thấy, trong dịch chiết, chỉ chứa các axit amin chứ không có các mạch peptid.

Cacbohydrat trong dịch chiết đạt 44,955 mg/g mẫu (tức 4,49%). Kết quả của chúng tôi tương ứng với kết quả của F. G. Hanisch và G. Uhlenbruck [2], thu được từ tổ chim yến Hồng Công (khoảng 4%) (bảng 1).

Dịch chiết được làm sạch qua cột lọc với sephadex G-75. Kết quả trên sắc ký đồ cho thấy protein luôn đi song song với glucit. Bằng cách tính tổng hàm lượng protein và glucit thu được, qua 33 ống sắc ký cột sephadex G-75, cho thấy lượng protein còn 10,17 mg và glucit là 2,67 mg. Hiệu suất thu hồi chiếm khoảng 26% đối với glucit và 2% đối với protein. Điều đó có nghĩa là

(1)	(2)	(3)
26	0,120	0,025
27	0,105	0,028
28	0,105	0,025
29	0,150	-
30	0,130	-
31	0,120	-
32	0,115	-
33	0,125	-

Sắc ký đồ dịch chiết của tổ chim yến
sephadex G-75



Phân tích hàm lượng axit amin trong dịch chiết, cho thấy điện di - sắc ký đồ sạch, các vết axit amin gọn đẹp, chứng tỏ protein trong dịch chiết nằm ở dạng axit amin tự do. Tổng hàm lượng các axit amin thu được xấp xỉ 20 μg (bảng 2), con số này tương ứng với hàm lượng mẫu chứa 20 μg protein.

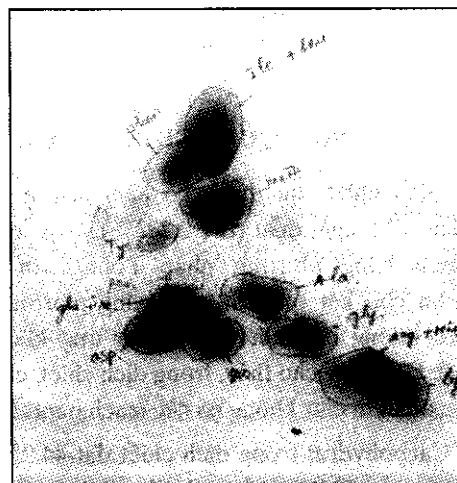
Nếu so sánh hàm lượng axit amin của dịch chiết của tổ chim yến với dịch truyền [1], trên cơ sở so sánh tỷ lệ các axit amin trong tổng 100 g protein thì thấy như sau (bảng 3).

Xét về giá trị dinh dưỡng của một protein thì, dịch chiết tổ yến so với dịch truyền [1] có chứa hàm lượng tương đương hoặc cao hơn chút đỉnh

Bảng

Hàm lượng axit amin trong dịch chiết
của tổ yến (μg)

TT	Tên axit amin	Hàm lượng
1	Asparagin	2,061
2	Serin	1,500
3	Glutamic + Treonin	3,269
4	Cystin	2,000
5	Tyrosin	2,500
6	Phenylalanin	3,140
7	Leusin + Isoleusin	3,016
8	Metionin + Valin	0,857
9	Alanin	0,648
10	Glysin	0,907
11	Arginin + Histidin	0,363
12	Lyzin	0,431



Ảnh 1: Sắc ký - điện di đồ axit amin trong dịch
chiết của tổ yến

như Ile. + Leu. (14,57 so với 11,73; 11,50; 12, Tre. + Glu. (15,80 so với 14,17; 14,40; 16,23); (7,25 so với 2,25; 2,00); Asp. (9,96 so với 5,36; 5 4,99); Phen. (15,17 so với 5,28; 3,80; 7,86). Điều biệt nữa là ở đây có tới 5 trong số 7 (tryptophan) axit amin thuộc loại axit amin kh thay thế, và hàm lượng những axit amin này đạt và vượt yêu cầu theo tiêu chuẩn FAO, 1966

Ngoài ra, Cys. và Tyr. có hàm lượng cao (9,66 và 12,08) trong dịch chiết tổ yến, còn ở 3 loại dịch truyền thì các axit amin này hoặc không có hoặc có rất ít (0,50; 0,60). Đó là những axit amin đã được nói nhiều trong phòng chống phóng xạ, ung thư. Phải chăng dịch chiết của tổ yến cũng có một giá trị nhất định nào đó trong vấn đề này.

Bảng 3

So sánh tỷ lệ các axit amin của dịch chiết tổ yến với 3 loại dịch truyền (%)

TT	Axit amin	Bestamin (Đức) Vitaplasma (Canada)	Cavaplasma (Đức)	Alversin (Hunggari)	Dịch chiết tổ yến
1	Ile. + Leu.	11,73	11,50	12,11	14,57
2	Lyz.	8,68	6,60	6,24	2,08
3	Meth. + Val.	10,05	8,60	9,99	4,14
4	Thre. + Glu.	14,17	14,40	16,23	15,80
5	Phen.	5,28	3,80	7,86	15,17
6	Arg. + His.	13,98	14,20	14,73	1,75
7	Pro.	3,91	4,90	-	-
8	Tyr.	-	0,50	-	12,08
9	Cys.	-	0,60	-	9,66
10	Ala.	10,44	14,90	9,99	3,13
11	Gly.	10,26	12,80	17,48	4,38
12	Ser.	2,25	2,00	-	7,25
13	Asp.	5,36	5,30	4,99	9,96

III - KẾT LUẬN

- Dịch chiết của tổ chim Yến hàng, qua dung dịch đệm phosphat chứa 0,222% protein, 4,49% cacbohydrat

- Protein trong dịch chiết ở dạng các axit amin tự do và hàm lượng của chúng có ý nghĩa nhất định trong dinh dưỡng, khi so sánh với 3 loại dịch truyền ngoại nhập.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nguyễn Bích Nhi và cs., 1994: Kỷ yếu Viện Công nghệ sinh học, 172-176.
2. Hanisch F. G. and Uhlenbruck G., 1984: J. Phys. Chem., 365: 119-128.
3. Lobanov P. P., 1975: Problema belka v selskom khozaystve. NXB. "Kolokh", Moskva.

SOME BASIC ELEMENTS OF THE VIETNAMESE SWALLOW'S NEST EXTRACT

NGO THI KIM *et al.*

SUMMARY

The extract of the vietnamese swallow (*Collocalia*) nest contains 0.222% protein, 4.49% cacbohydrate.

Proteins in the vietnamese swallow nest extract are under form of free amino acids and their levels have certain meaning in the nutrition.

Ngày nhận bài: 4-9-1997

MỘT SỐ ĐẶC ĐIỂM SINH HỌC VÀ KHẢ NĂNG SẢN XUẤT CỦA GIỐNG VỊT CỎ MÀU CÁNH SÉ (GREY BROW)

LÊ XUÂN ĐỒNG, NGUYỄN THỊ MINH, ĐẶNG THỊ DUN

Viện Chăn nuôi

Giống vịt Cỏ màu cánh sé đã có từ lâu đời ở nước ta, qua chọn lọc tự nhiên, đã hình thành nhiều dòng và được nuôi ở khắp mọi vùng của đất nước. Để góp phần phát triển giống vịt này, từ năm 1973 chúng tôi đã nghiên cứu những đặc điểm sinh học và khả năng sản xuất, nghiên cứu chọn lọc nhân thuần qua 3 thế hệ của chúng. Từ 1990, giống vịt Cỏ màu cánh sé đã được phát triển có hiệu quả ở nhiều tỉnh.

I - PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Từ năm 1984 đến 1987, chọn lọc nhân thuần giống vịt Cỏ qua 3 thế hệ tại Trung tâm nghiên cứu vịt Đại Xuyên và các xã Liên Hòa, Phúc Tiến, Khang Thái, huyện Phú Xuyên.

Thế hệ xuất phát: Chọn vịt màu lông cánh sé ở đàn bố mẹ có màu lông thuần nhất, tuổi đẻ 8-10 tháng, đẻ lấy trứng ấp nuôi chăn thả tại các xã Liên Hòa, Phúc Tiến Khang Thái, huyện Phú Xuyên và nuôi nhốt tại Trung tâm nghiên cứu vịt Đại Xuyên.

- Chọn qua các giai đoạn tuổi: Màu lông cánh sé, khối lượng cơ thể 70 ngày tuổi có khối lượng trung bình của đàn, các chiều đo lúc 70 ngày tuổi cùng đo với khi cân khối lượng.

- Tốc độ mọc lông: Chọn vịt 75 ngày tuổi đã mọc đủ lông.

- Chọn ghép phối vịt 120 ngày tuổi.

- Thế hệ 1, thế hệ 2 và thế hệ 3 chọn như ở thế hệ xuất phát, để ổn định màu lông cánh sé, tuổi thành thực, khối lượng cơ thể qua các giai đoạn tuổi, tỷ lệ đẻ, sản lượng trứng, tỷ lệ có phôi và tỷ lệ nở của vịt Cỏ màu lông cánh sé.

Ở các thế hệ tiếp theo, cũng áp dụng như các

thế hệ trên.

Các chỉ tiêu theo dõi:

+ Tỷ lệ phân ly màu lông qua các thế hệ (%), tỷ lệ nuôi sống (%), khối lượng sơ sinh (gr), khối lượng vịt 20, 70, và 75 ngày (gr), kích thước chiều đo ở 75 ngày tuổi (cm).

+ Khối lượng cơ thể lúc đẻ quả trứng (gr), tuổi đẻ quả trứng đầu (ngày), sản lượng trứng (quả/mái/năm), khối lượng trứng (gr), chất lượng trứng (D/R, R/D, chỉ số lòng đỏ, chỉ số lòng trắng đơn vị Haugh) tỷ lệ có phôi (%), tỷ lệ nở (%).

+ Tiêu tốn thức ăn cho 10 quả trứng, 1 kg tăng trọng.

II - KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Qua điều tra cơ bản, giống vịt Cỏ màu lông cánh sé có đầu nhỏ, mỏ dẹt, khỏe và dài, thường có màu vàng, có con màu xanh cánh lấm chấm đen, có con màu đen nhạt. Cổ thanh, mình thon nhỏ, ngực lép. Chân hơi c, chân thường màu vàng, màu nâu, một số con từ chân đến ngón chân và cả màng bơi là màu chì.

Khi đứng, cơ thể vịt có một độ chênh so mặt đất khoảng 40-45° và luôn có tư thế chạy, hiện rõ loại hình đẻ trứng. Dáng đi nhanh nhẹn, hơi lúc lắc sang hai bên nhưng không nặng nề.

1. Màu sắc lông:

Qua điều tra và chọn lọc nhân thuần ở 3 thế hệ, có sự phân ly màu lông như ở bảng 1.

Kết quả điều tra 80.870 con vịt mái đẻ 11.370 con vịt con về màu sắc lông cho thấy Giống vịt Cỏ có nhiều màu lông; màu lông cánh (tàu rằn) ở vịt mái 53,50%, ở vịt con 40,25%; n

lông cánh sẻ nhạt có pha lông trắng ở vịt mái 18,85%, ở vịt con 29,15%; màu lông trắng (tàu cò) ở vịt mái 16,50%, ở vịt con 20,30%; màu lông đen (tàu ô) ở vịt mái 1,14%, ở vịt con 1,28%; màu lông đen có khoang cổ trắng (tàu khoang) ở vịt mái 2,17% ở vịt con 2,25%; màu lông đen có lốm tằm trắng (tàu nỏ, hoa mai) ở vịt mái 1,25%, ở vịt con 1,70%; màu lông xám hồng (tàu phèn) ở vịt mái 1,78%, ở vịt con 1,90%; màu lông xám đá (tro bếp) ở vịt mái 1,36%, ở vịt con 1,50%; các màu lông khác ở vịt mái 3,45%, ở vịt con 1,37%. Qua kết quả điều tra, tỷ lệ màu lông cánh sẻ ở

vịt mái đẻ cao hơn vịt con, có sự sai khác rất rõ rệt ($P < 0,001$). Điều này do người chăn nuôi thích chọn vịt có màu sánh sẻ, vì vịt màu cánh sẻ khỏe và đẻ dai hơn.

Kết quả chọn lọc nhân thuần:

Thế hệ I: số lượng vịt theo dõi 3845 con, màu lông cánh sẻ chiếm tỷ lệ 93,57%.

Thế hệ II: số lượng vịt theo dõi 3915 con, màu lông cánh sẻ chiếm 97,23%.

Thế hệ III: số lượng vịt theo dõi 4125 con, màu lông cánh sẻ chiếm 99,45%.

Bảng 1

Tỷ lệ phân ly màu lông (%)

Màu lông	Vịt Cò		Vịt Cò màu sánh sẻ		
	Vịt mái (n = 80.870)	Vịt con (n = 11.370)	Thế hệ I (n = 3845)	Thế hệ II (n = 3915)	Thế hệ III (n = 4125)
Màu cánh sẻ	53,5	40,25	93,57	97,23	99,45
Cánh sẻ nhạt	18,85	29,15	—	—	—
Màu trắng	16,5	20,3	—	—	—
Các màu lông khác	11,15	10,3	6,43	2,77	0,55



Giống vịt Cò màu cánh sẻ

2. Tập tính theo đàn và tính chống chịu bệnh:

Giống vịt Cỏ có tập tính theo đàn cao, vịt đi từ cánh đồng này đến cánh đồng khác để tận dụng thức ăn rơi vãi như lúa rụng, tôm, cua, ốc tép, các loại thủy sinh, côn trùng, cỏ dại, rong tảo... Đặc tính này thích hợp cho việc chăn thả.

3. Tỷ lệ nuôi sống:

a. Kết quả điều tra cơ bản:

Giống vịt Cỏ màu cánh sẻ có tỷ lệ nuôi sống cao, qua kết quả điều tra ở 16 tỉnh với số lượng 111570 vịt con, có tỷ lệ nuôi sống đến 20 ngày tuổi là 96,23%, đến 75 ngày tuổi là 96,00%.

b. Kết quả chọn lọc nhân thuần qua 3 thế hệ vịt: Cỏ màu cánh sẻ:

Tỷ lệ nuôi sống từ 1 đến 20 ngày tuổi, đạt 94,16% - 93,36%. Từ 21 đến 70 ngày tuổi đạt 98% - 100%. Tỷ lệ hao hụt của vịt mái đẻ trứng hàng năm là 5% - 6%. Như vậy, vịt Cỏ màu cánh sẻ có tỷ lệ nuôi sống cao tương đương với vịt Cỏ nói chung.

4. Khối lượng cơ thể và các chiều đo qua các giai đoạn tuổi:

a. Khối lượng cơ thể:

Khối lượng cơ thể của vịt Cỏ màu cánh sẻ và vịt Cỏ được thể hiện ở bảng 2.

Bảng 2

Khối lượng cơ thể qua các giai đoạn tuổi (g)

Ngày tuổi	Vịt Cỏ				Vịt Cỏ màu cánh sẻ			
	n	P	SE	CV%	n	P	SE	CV %
Sơ sinh	425	33,51	0,15	9,4	1000	33,7	0,5	6,25
20	460	143,47	0,48	7,2	950	148,3	1,8	9,14
40	450	490,51	2,18	9,4	950	491,3	2,0	
60	3560	892,62	0,4	2,6	945	892,3	2,2	
70	4250	985,78	1,05	6,9	945	1000	2,1	3,42
75	4171	1064,2	1,51	9,1	945	1089	2,2	2,31

Kết quả nghiên cứu chọn lọc nhân thuần qua 3 thế hệ:

Vịt Cỏ màu cánh sẻ có khối lượng cơ thể lúc 1 ngày tuổi vịt đực $33,7 \pm 0,5$ g, Cv 6,25%; lúc 20 ngày tuổi $148,3 \pm 1,8$ g, CV 9,14%; lúc 70 ngày tuổi $1000 \pm 2,1$ g, CV 3,24%; lúc 75 ngày tuổi, 1089 ± 22 g, CV 2,31%. Vịt cỏ có khối lượng lúc 1 ngày tuổi $33,51 \pm 0,15$ g, CV 9,4%; lúc 20 ngày tuổi, $143,47 \pm 0,48$ g, CV 7,2%; lúc 75 ngày tuổi $1.064,26 \pm 1,5$ g; CV 9,1%.

b. Độ sinh trưởng tuyệt đối của vịt Cỏ màu cánh sẻ:

Độ sinh trưởng tuyệt đối được thể hiện ở bảng 3. Ở đây cho thấy vịt Cỏ màu cánh sẻ có khối lượng tăng dần từ sơ sinh đến 60 ngày tuổi và sau

đó giảm xuống.

c. Độ sinh trưởng tương đối của vịt Cỏ màu cánh sẻ (%):

Bảng 4 cho thấy ở giai đoạn từ sơ sinh đến 2 ngày tuổi, độ sinh trưởng tương đối tăng lên cao nhất và sau đó giảm dần. Ở giai đoạn 70-75 ngày tuổi độ sinh trưởng tương đối giảm đến mức thấp nhất.

d. Kích thước các chiều đo của giống vịt Cỏ màu cánh sẻ và vịt Cỏ:

Kết quả điều tra ở vịt 75 ngày tuổi có chiều dài thân $20,75 \pm 0,11$ cm, CV 8,8%; vòng ngực $23,20 \pm 0,01$ cm, CV 9,2%; chiều dài lườn $9,25 \pm 0,06$ cm, CV 10,2%; chiều cao chân $5,9 \pm 0,04$ cm, CV 1,5%.

Bảng 3

Độ sinh trưởng tuyệt đối của vịt Cỏ màu cánh sè (g)

Thế hệ	Thế hệ I			Thế hệ II			Thế hệ III		
Địa điểm nuôi	TTCN vịt n = 50	Khang Thái n = 50	Liên Hòa n = 50	TTNC vịt n = 50	Khang Thái n = 50	Liên Hòa n = 49	TTNC vịt n = 50	Khang Thái n = 50	Liên Hòa n = 51
Tuổi (ngày)									
SS-20	5,61	5,67	5,72	5,80	5,79	5,73	5,80	5,68	5,73
21-40	17,13	17,37	17,28	17,12	17,13	17,12	17,09	17,16	17,15
41-60	20,42	19,01	19,07	10,02	10,31	20,19	20,11	10,24	10,09
61-70	9,50	10,08	11,90	10,21	10,21	10,65	11,23	10,64	10,68
71-75	20,32	23,42	13,56	13,91	13,21	12,30	12,32	15,26	17,76

Bảng 4

Độ sinh trưởng tương đối của vịt Cỏ màu cánh sè (%)

Thế hệ	Thế hệ I			Thế hệ II			Thế hệ III		
Địa điểm nuôi	TTCN vịt n = 50	Khang Thái n = 50	Liên Hòa n = 49	TTNC vịt n = 50	Khang Thái n = 50	Liên Hòa n = 49	TTNC vịt n = 50	Khang Thái n = 50	Liên Hòa n = 51
Tuổi (ngày)									
SS-20	125,34	125,07	125,62	125,89	128,52	126,82	127,61	125,57	125,95
21-40	108,19	108,21	110,41	106,82	107,01	107,39	106,87	107,60	107,23
41-60	59,00	55,50	55,70	57,87	58,48	58,36	58,14	58,41	58,04
61-75	10,03	10,89	12,69	10,82	10,76	11,24	11,83	11,21	11,28
71-75	9,75	11,32	6,59	6,75	6,39	5,96	5,94	7,33	8,50

5. Khả năng sinh sản và sản xuất trứng:

- a. Tuổi đẻ và khối lượng bắt đầu đẻ của vịt mái; tuổi giao phối và khối lượng bắt đầu giao phối của vịt đực. Tuổi kết thúc sử dụng vịt đực và vịt mái:

Tuổi đẻ và sản lượng trứng của vịt Cỏ và vịt Cỏ màu cánh sè được thể hiện ở bảng 5.

Tuổi đẻ của vịt mái từ 130 đến 140 ngày, khối lượng vịt mái bắt đầu đẻ từ 1,2 kg đến 1,4 kg. Tuổi bắt đầu giao phối của vịt đực từ 125 đến 140 ngày, khối lượng từ 1,2 kg đến 1,5 kg. Tuổi sử dụng của vịt mái thường là 3 năm. Như vậy, vịt Cỏ có tuổi đẻ rất sớm.

Bảng 5

Tuổi đẻ và sản lượng trứng của vịt Cỏ màu cánh sè và vịt Cỏ

Giống vịt	Tuổi đẻ (ngày)	Khối lượng bắt đầu đẻ (g)	Sản lượng trứng (quả/mái/năm)
Vịt Cỏ	30 - 140	1200 - 1400	187,89 - 246,36
Vịt Cỏ màu cánh sè	130 - 140	1200 - 1400	223,00 - 248,60

Khối lượng cơ thể và tuổi đẻ quả trứng đầu là 2 tính trạng có liên quan chặt chẽ đến sản lượng trứng. Khối lượng cơ thể càng chuẩn so với giống thì sản lượng trứng càng cao. Tuy vậy, tuổi đẻ quả trứng đầu còn phụ thuộc rất lớn vào điều kiện nuôi dưỡng và mùa vụ.

b. Sản lượng trứng:

Qua kết quả điều tra ở 16 tỉnh thì sản lượng trứng của vịt Cỏ mái đạt từ 187,89 quả/năm đến

246,36 quả/năm.

Kết quả nghiên cứu chọn lọc nhân thuần vịt Cỏ màu cánh sẻ cho sản lượng trứng mỗi mái đạt từ 223 quả/năm đến 248,6 quả/năm.

c. Khối lượng trứng và các chỉ tiêu chất lượng trứng:

Khối lượng trứng thể hiện ở bảng 6. Qua điều tra, cho thấy khối lượng trứng của vịt Cỏ là $69,59 \pm 0,146$ g, CV 10,8%, và của vịt Cỏ màu cánh sẻ là $69,8 \pm 0,20$ g, CV 6,7%.

Bảng 6

Khối lượng trứng

Giống vịt	n = quả	Tham số thống kê		
		X (g)	SE	CV (%)
Vịt Cỏ	4950	69,59	0,146	10,8
Vịt Cỏ màu cánh sẻ	2250	69,8	0,209	6,7

d. Thành phần và chất lượng:

Khối lượng vỏ $9,23 \pm 0,08$ g, CV 5%; tỷ lệ vỏ 13,5%. Khối lượng lòng trắng (P₁) $35,6 \pm 0,16$ g, CV 2,5%; tỷ lệ 52,09%. Khối lượng lòng đỏ (P₂): $23,52 \pm 0,4$ g, CV 3,3%; P₁/P₂ = 1,51; chỉ lòng đỏ $0,41 \pm 0,003$, CV 4,6%; chỉ số lòng trắng $0,10 \pm 0,001$, CV 5,5%; đơn vị Haugh 88.

Chỉ số hình thái của trứng vịt Cỏ cánh sẻ: Chiều dài: $62,6 \pm 0,15$ mm, CV 5,4%; chiều rộng $44,6 \pm 0,13$ mm, CV 6,5%; D/R 1,4 và R/D $\times 100 = 71,2\%$.

e. Tỷ lệ có phôi và tỷ lệ nở:

Tỷ lệ có phôi và tỷ lệ nở thể hiện ở bảng 7.

Bảng 7

Tỷ lệ có phôi và tỷ lệ nở

Giống vịt	Số trứng ấp (quả)	Tỷ lệ có phôi (%)	Tỷ lệ nở/có phôi (%)	Tỷ lệ vịt con khỏe (%)
Vịt Cỏ	437.370	94,93	82,25	95,37
Vịt Cỏ màu cánh sẻ	18.200	95,36	95,12	95,82

Tỷ lệ nở của vịt Cỏ màu cánh sẻ qua 3 thế hệ, với tổng số trứng vào ấp là 18.200 quả, tỷ lệ trứng có phôi 95,36%; nở/CP 95,12%; tỷ lệ vịt con khỏe 95,82%.

Kết quả điều tra tổng số trứng vào ấp 437.370 quả, đạt tỷ lệ có phôi là 94,93%; nở/CP 82,25%; tỷ lệ vịt con khỏe: 95,37%.

6. Tiêu tốn thức ăn:

Ở giống vịt Cỏ màu cánh sẻ, chi phí thức ăn cho 10 quả trứng trong điều kiện nuôi chăn thả là 1,09 - 2,24 kg thóc, chi phí thức ăn cho 1 kg tăng trọng là 1,2-1,25kg thức ăn.

Trong điều kiện nuôi nhốt tại Trung tâm nghiên cứu vịt Đại Xuyên, chi phí thức ăn cho 10

quả trứng là 3,76 - 3,86 kg, cho 1 kg tăng trọng là 4,56 - 4,77 kg. Như vậy, vịt Cỏ màu cánh sè nuôi theo phương thức chăn thả có chi phí thức ăn thấp hơn nuôi nhốt.

V. KẾT LUẬN

1. Vịt Cỏ màu cánh sè chiếm tỷ lệ 40,25% trong đàn vịt Cỏ. Bằng phương pháp chọn lọc thông thường, nông dân nâng tỷ lệ lên 53,5%. Bằng biện pháp chọn lọc nhân thuần ở Trung tâm nghiên cứu vịt có thể ổn định tỷ lệ 97,23% - 99,45%.

2. Sản lượng trứng của vịt Cỏ màu cánh sè là 223 - 248,6 quả/mái/năm, cao hơn sản lượng trung bình của đàn vịt Cỏ khoảng 7,2%.

Tỷ lệ có phôi của trứng vịt Cỏ màu cánh sè là 95,36% (vịt Cỏ nói chung: 94,93%). Khối lượng của trứng là 69,8 g (vịt Cỏ nói chung 69,6 g). Tiêu tốn thức ăn kết hợp với chăn thả 1,09 - 2,24 kg thóc / 10 quả trứng. Tuổi đẻ quả trứng đầu của vịt và vịt Cỏ màu cánh sè như nhau: 130 - 140 ngày tuổi.

3. Khối lượng cơ thể của vịt Cỏ màu cánh sè lúc sơ sinh là 33,7 g, của vịt Cỏ nói chung là 33,6 g; lúc 75 ngày tuổi (giết thịt), ở vịt màu cánh sè là 1089 g, ở vịt Cỏ nói chung là 1064 g/con. Tỷ lệ nuôi sống của vịt Cỏ màu cánh sè đến 70 ngày tuổi là 98% - 100% (vịt Cỏ nói chung là 96%).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Trịnh Xuân Cư, Chu Thị Thắng, Nguyễn Văn Thiện, 1992: Tạp chí Khoa học và kỹ thuật

nông nghiệp, 366: 463-465.

2. Hoàng Hà, Vũ Kính Trực, 1992: Tạp chí Khoa học và kỹ thuật nông nghiệp, 121: 545-550.

3. F. S. Lee, 1898: Chọn giống và gia súc, (Trần Đình Miên dịch). NXB Nông nghiệp, Hà Nội, 1992.

4. Đức Phạm Lộ, Lê Khắc Trán, Nguyễn Ân, 1987: Tạp chí Khoa học và kỹ thuật nông nghiệp, số tháng 3: 123-125.

5. Phạm Văn Trọng, Đinh Xuân Tùng, 1988: Tạp chí Khoa học và kỹ thuật nông nghiệp, số tháng 6: 269-271.

6. Ahmet Testik, 1992: A research on some performances of Pekin ducks and the quality of their eggs. Proc. of 9th International Symposium on Water Fowl. Pisa, Italy, pp. 136-138.

7. Albada M. Van, 1955-1956: Netherlands J. Agri., Seri. 3: 135-154.

8. El. Asayiad G. A., 1989: Indian Journal of Animal Sciences, 59 (3): 369-375.

9. Hetzel D. J. S., 1986: Domestic ducks, an historical perspective. In duck production science and word partice, Farrel D. J. and Stapleton P. (ed.). University of new England, pp. 1-5.

10. Powell J. C., 1989: The domestic duck - improving efficiency. Proc. 8th International Symposium of Water Fowl., pp. 22-39. Budapest, Hungary.

SOME BIOLOGICAL CHARACTERISTICS AND PRODUCTION ABILITY OF LOCAL GREY BROW FEATHER CO DUCK BREED

LE XUAN DONG *et al.*

SUMMARY

"Local Co Duck" have long been existed in Vietnam. They are a very precious source of gene which is suitable for traditional method of breeding in our country. Based on the characters of their outer figure, colour of feather, productivity and egg-production ability, we bred a pure group of "Vietnam Co Duck" with grey-brown feather in order to get a better breed which contribute to the production of Co Ducks in Vietnam.

Ngày nhận bài: 6-12-1997

ĐẶC ĐIỂM DINH DƯỠNG VÀ TĂNG TRƯỞNG CỦA ẾCH ĐỒNG (*RANA RUGULOSA* WIEGMANN, 1835) TRONG ĐIỀU KIỆN NUÔI Ở ĐÔNG ANH, HÀ NỘI

TRẦN KIÊN, NGUYỄN KIM TIẾN *

Trường đại học Sư phạm - DHQG Hà Nội

Hiện nay phong trào nuôi ếch đồng *Rana rugulosa* Wiegmann, 1835 đang phát triển. Xác định đặc điểm dinh dưỡng và sự tăng trưởng ở các thời kỳ: nòng nọc, ếch non, hậu bị và trưởng thành là những vấn đề có ý nghĩa lý thuyết và thực tiễn.

I - PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Nghiên cứu được tiến hành từ tháng 3/1996 đến tháng 8/1997, tại cơ sở nuôi ếch đồng ở xã Vân Nội - Đông Anh, Hà Nội.

Mẫu vật nghiên cứu gồm 3 lứa trứng ếch đẻ tại cơ sở nuôi trong các đêm: 19/4 (lứa 1), 17/5 (lứa 2) và 18/6 (lứa 3). Đối với mỗi lứa, thoát đầu khi mới nở, chọn ngẫu nhiên 80 nòng nọc; sau khi đã hoàn thành biến thái thì chọn 60 ếch non, nuôi cho đến khi trưởng thành sinh dục thì chỉ chọn 30 ếch trưởng thành để tiếp tục nghiên cứu.

Trứng ếch đồng mới đẻ ra, được ương trong chậu có đường kính 35 cm. Khi nòng nọc nở thì vớt bỏ vỏ trứng, nòng nọc được nuôi tiếp cho đến 5 - 6 ngày tuổi thì chuyển ra bể nuôi nòng nọc. Bể nuôi được xếp gạch và lót nilông (200 cm × 80 cm × 35 cm). Nòng nọc được nuôi cho đến 15 - 16 ngày tuổi thì chuyển ra rãnh nuôi nòng nọc và nuôi ở đó cho đến khi hoàn thành biến thái.

Nước nuôi nòng nọc được thay định kỳ 3 ngày 1 lần. Ếch non nuôi trong 3 khu nuôi, mỗi khu rộng 35 m² (5 m × 7 m), chung quanh có tường gạch cao 1,5 m.

Thức ăn ở thời kỳ nòng nọc bao gồm trứng vịt lộn, cá mè nấu chín. Cho ăn ngày 2 lần: 6 giờ và 16 giờ. Khi chi trước của nòng nọc xuất hiện được

2 - 3 ngày, thì bắt đầu tập cho chúng ăn mỗi tính bằng cách: Dùng miếng gạo (dài 1 - 1,5 cm) nấu với cá mè băm nhỏ theo tỷ lệ 40% cá mè và 60% miếng gạo. Hỗn hợp thức ăn được đặt trên các tấm ván thả nổi trên mặt nước trong rãnh nuôi, ếch non sẽ nhảy lên ăn mỗi tính. Từ tháng tuổi thứ hai, hàng ngày cho ếch ăn cơm trộn với cá mè xay nhỏ, cũng theo tỷ lệ trên.

Xác định sự tăng trưởng của nòng nọc bằng cách cân và đo chiều dài cơ thể vào đầu và cuối mỗi giai đoạn: mang ngoài, mang trong, chi sau và chi trước [4]. Ếch sau biến thái, được xác định bằng cách cân và đo cơ thể mỗi tháng 1 lần vào ngày xác định.

Xác định khối lượng thức ăn tiêu thụ bằng cách cân thức ăn trước khi cho ăn và thức ăn còn lại sau khi ăn.

II- KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

1. Đặc điểm dinh dưỡng và tăng trưởng của nòng nọc:

Thời gian trung bình hoàn thành biến thái ở cả ba lứa là 38 - 43,5 ngày. Chiều dài cơ thể ếch non là 19-21mm. Khối lượng từ 1483-2420mg.

Nhận thấy ở thời kỳ nòng nọc, khối lượng thức ăn cho mỗi nòng nọc và sự gia tăng khối lượng cơ thể tăng dần từ giai đoạn mang ngoài đến giai đoạn chi sau và giảm ở giai đoạn chi trước (bảng 1).

Trong cả giai đoạn mang ngoài, mỗi nòng nọc tiêu thụ trung bình 3,15 mg/cá thể/ngày.

* Công trình hoàn thành với sự giúp đỡ của Chương trình khoa học cơ bản.

Nhu cầu thức ăn và sự tăng trưởng của nòng nọc (trung bình)

Giai đoạn	Chiều dài cơ thể (mm)			Khối lượng cơ thể (mg)			Lượng thức ăn cho cá thể / ngày (mg)	Thời gian ở mỗi giai đoạn (ngày)
	$\bar{X}$	Max	Min	$\bar{X}$	Max	Min		
Sau khi nở	3,0	3,5	2,8	13,3	14,0	13,0		
Mang ngoài	8,0	13,0	8,6	35,5	38,5	34,0	3,15	4
Mang trong	37,0	41,0	34,5	564,5	615,0	518,3	27,0	9,3
Chi sau	47,0	51,0	38,6	2325,8	2658,0	1965,0	370,0	23,1
Chi trước	21,0	23,5	17,0	1760,0	2420,0	1483,0	278,8	5,2

Trong cả giai đoạn mang trong mỗi nòng nọc tiêu thụ 27,0 mg / cá thể / ngày.

Trong cả giai đoạn chi sau, khối lượng thức ăn trung bình là 370 mg / cá thể / ngày. Như vậy, khối lượng thức ăn tiêu thụ và sự gia tăng khối lượng cơ thể ở giai đoạn chi sau cao hơn hai giai đoạn trước.

Ở giai đoạn chi trước, do biến đổi của miệng nên nòng nọc ăn ít. Trong cả giai đoạn, lượng thức ăn tiêu thụ trung bình 278,8 mg / cá thể / ngày.

2. Đặc điểm dinh dưỡng và tăng trưởng của ếch đồng sau biến thái:

Đặc điểm dinh dưỡng và tăng trưởng của ếch đồng sau biến thái được chia làm ba thời kỳ: Thời kỳ trước trú đông (từ tháng 6-11/1996), thời kỳ trú đông (từ 11/1996-2/1997) và thời kỳ sau trú đông (từ tháng 3/1997).

a. Thời kỳ ếch non: Bắt đầu từ khi hoàn thành biến thái cho đến khi xuất hiện đặc điểm sinh dục thứ cấp (màng túi kêu ở ếch đực). Sự tăng trưởng ở thời kỳ này tăng dần từ lúc bắt đầu thời kỳ cho đến tháng 11, 12/1996 và giảm ở tháng 1, 2/1997 (thời gian trú đông). Trong khi đó, khối lượng thức ăn chỉ tăng dần cho đến tháng 9, giảm ở tháng 10, 11 và không ăn trong mùa trú đông (12, 1, 2).

Thời kỳ này ở lứa 1 kéo dài 7 tháng (từ tháng 6 đến tháng 12). Ở đầu thời kỳ, ếch non có khối lượng trung bình $1,86 \pm 0,41$ g, chiều dài cơ thể $22,01 \pm 2,0$ mm. Khối lượng thức ăn tăng dần từ 68 g ở tháng 7 lên 118 g ở tháng 9 và giảm từ tháng 10 đến tháng 11, chúng chỉ ăn 14 g / tháng. Cuối thời kỳ, ếch non có khối lượng cơ thể trung bình $24,92 \pm 2,10$ g, chiều dài $61,96 \pm 1,88$ mm.

Ở lứa 2, thời kỳ này cũng kéo dài 7 tháng (từ 7/1996 đến 1/1997). Khối lượng cơ thể đầu thời kỳ này ở lứa 2 trung bình là $2,01 \pm 0,42$ g, chiều dài $22,6 \pm 1,84$ mm. Khối lượng thức ăn tiêu thụ cao nhất ở tháng 9: 81 g / cá thể và thấp nhất ở tháng 11: 30,05 g / cá thể. Trong mùa trú đông, ếch không ăn mồi. Khối lượng cơ thể tăng dần từ tháng 8 đến tháng 12 đạt $15,48 \pm 0,71$ g và giảm ở tháng 1: $15,09 \pm 0,71$ g, chiều dài cơ thể $41,52 \pm 2,66$ mm.

Ở lứa 3, thời kỳ ếch non dài 8 tháng (từ 8/1996 đến 3/1997). Khối lượng cơ thể ở đầu thời kỳ là $1,65 \pm 0,35$ g, chiều dài $20,09 \pm 1,42$ mm. Khối lượng thức ăn tiêu thụ cao nhất ở tháng 9: 51,5 g / cá thể / tháng, giảm ở tháng 10. Từ tháng 11 đến tháng 2 (trú đông), ếch lứa 3 không ăn. Khối lượng thức ăn lại tiếp tục tăng dần từ tháng 3. Khối lượng cơ thể tăng dần từ tháng 8 đến tháng 11, đạt $5,15 \pm 0,61$ g và giảm ở tháng 12, 1 và tháng 2 chỉ còn trung bình $4,77 \pm 0,69$ g. Sau mùa trú đông, khối lượng cơ thể tăng dần từ tháng 3.

Nhìn chung, cuối thời kỳ ếch non và đầu thời kỳ hậu bị là thời gian trú đông đầu tiên trong đời của chúng.

b. Thời kỳ hậu bị: Bắt đầu từ khi đặc điểm sinh dục thứ cấp mới xuất hiện cho đến khi hoàn chỉnh các đặc điểm sinh dục thứ cấp và có khoảng 5% ếch cái đẻ lứa trứng đầu tiên.

Ở thời kỳ này, lứa 1 dài 7 - 8 tháng (từ tháng 1 đến tháng 7 năm 1997), ứng với tháng tuổi thứ 14, còn lứa 2 và 3 thì dài hơn. Ếch ở những lứa này có thể đẻ vào sau thời gian trú đông, khi chúng bước vào mùa hoạt động năm sau.

Ở lứa 1, cả ếch đực và ếch cái có khối lượng cơ thể tăng dần từ tháng 3 đến tháng 7, 8: vào tháng 3 ở ếch đực $25,73 \pm 0,63$ g và ếch cái $30,20 \pm 0,83$ g, đến tháng 7 ếch đực $48,35 \pm 0,90$ g, ếch cái $58,35 \pm 1,06$ g. Còn khối lượng thức ăn tăng dần cho đến tháng 5 và giảm dần đến tháng 6, 7 khi đó buồng trứng phát triển. Ở tháng 5, khối lượng thức ăn ở ếch đực 196 g, ếch cái 223 g. Ở tháng 6, khối lượng thức ăn giảm còn 190 g / ếch đực, 192 g / ếch cái.

c. Thời kỳ ếch trưởng thành: Tiếp theo thời kỳ hậu bị (sau khi 5% ếch cái đẻ lứa trứng đầu tiên).

Ở thời kỳ này, lứa 1 bắt đầu từ tháng tuổi thứ 15 (từ tháng 8/1997). Đây cũng là thời gian ếch đồng bắt đầu giai đoạn tích lũy sau sinh sản và chuẩn bị cho trú đông. Sau thời gian trú đông, ếch đồng sẽ đẻ trứng đại trà từ tháng 3 tới tháng 7 / 1998. Đây chính là mùa sinh sản của chúng [1, 4] và khi đó ếch khoảng 24 tháng tuổi.

III - KẾT LUẬN

Với chế độ nuôi dưỡng như trên, ếch đồng nuôi ở Đông Anh - Hà Nội có đặc điểm dinh

dưỡng và tăng trưởng ở các thời kỳ như sau:

1. Thời gian biến thái từ 35 đến 45,5 ngày, trung bình 41,5 ngày. Ếch non có chiều dài cơ thể 21 mm, khối lượng 1,76 g. Khối lượng thức ăn cho cả thời kỳ là 13,70 g / cá thể.

2. Thời kỳ ếch non dài từ 7 - 8 tháng. Ở cuối thời kỳ này, khối lượng cơ thể trung bình $15,51 \pm 1,10$ g, chiều dài $47,19 \pm 2,22$ mm. Khối lượng thức ăn trung bình 76,4 g / cá thể / tháng.

3. Thời kỳ hậu bị ngắn nhất 7 tháng. Ở cuối thời kỳ này, ếch đực có khối lượng 35,91 g - 44,84 g, trung bình $39,48 \pm 0,75$ g, chiều dài 52,25 mm - 66,19 mm, trung bình $61,12 \pm 2,15$ mm và ếch cái 41,24 g - 64,15 g, trung bình $55,65 \pm 1,14$ g, chiều dài 56,25 mm - 69,41 mm, trung bình $65,23 \pm 2,22$ mm. Khối lượng thức ăn tiêu thụ trung bình 170 g / cá thể đực / tháng và 184,2 g / cá thể cái / tháng.

4. Thời kỳ trưởng thành bắt đầu sớm nhất từ tháng tuổi thứ 15 ở ếch cái, có khối lượng 49,6 g - 52,3 g, chiều dài 58,5 mm - 62,6 mm và ở ếch đực khối lượng 36,5 - 42,8 g, chiều dài 56,3 - 61,3 mm.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Trần Kiên, Nguyễn Văn Sáng, 1977: Đời sống ếch nhái. NXB KHKT, Hà Nội.

2. Nguyễn Kim Tiến, 1995: Nghiên cứu một số đặc điểm sinh thái học ếch đồng (*Rana rugulosa* Wiegmann, 1835) trong điều kiện nuôi ở Thanh Hóa. Luận án thạc sĩ. ĐHSP - ĐHQG Hà Nội.

3. Trần Kiên, 1996:: Ếch đồng (*Rana rugulosa* Wiegmann, 1835) và kỹ thuật nuôi. XNB KHKT, Hà Nội.

4. Trần Kiên, Nguyễn Kim Tiến, 1997: Tạp chí Sinh học, 19 (3): 57-63.

SOME NUTRITION CHARACTERS AND THE DEVELOPMENT OF FROG (*RANA RUGULOSA* WIEGMANN, 1835) BRED IN DONG ANH DISTRICT (HANOI)

TRAN KIEN, NGUYEN KIM TIEN

SUMMARY

Some nutrition and development characters may be interpreted as: The metamorphosis was completed in 35 - 45 days (mean 41.5 days) after egg laying. The body length of the juvenile was from 17 to 23 mm

(Xem tiếp trang 47)

NGHIÊN CỨU SỬ DỤNG CÂY KIẾN CÒ (*RHINACANTHUS NASUTUS* (L.) KURZ) LÀM THUỐC TRỪ SÂU MT1

NGUYỄN HOÀNG TỈNH, LÊ LAN OANH
NGUYỄN MAI PHƯƠNG, NGUYỄN XUÂN THU

Viện Công nghệ sinh học

Chúng tôi đã nghiên cứu và phát hiện thấy cây Kiến cò có chứa những hoạt chất có thể sử dụng làm thuốc trừ sâu. Cây Kiến cò (*Rhinacanthus nasutus* (L.) Kurz, *Acanthaceae*) mọc hoang dại ở nhiều vùng phía Bắc nước ta, là loại cây nhỏ, cao độ 1,5 m, thân mọc đứng, có nhiều cành, cho năng suất thân lá cao, lại rất dễ trồng, có thể trồng bằng cành rất dễ dàng. Từ trước đến nay, nhân dân ta mới chỉ sử dụng rễ của chúng để làm thuốc chữa bệnh [2].

Trong bài này, chúng tôi trình bày một số thành phần sinh hóa, khả năng sử dụng dịch chiết của cây Kiến cò làm thuốc trừ sâu.

I - PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Sử dụng lá và thân cây Kiến cò. Mẫu được thu hoạch hàng tháng, vào buổi sáng trong ngày nhất định và ở vị trí cố định ở Hà Nội trong suốt thời gian thu mẫu. Mẫu được sấy khô ở 70°C và nghiền thật nhỏ để phân tích.

- Xác định trọng lượng khô bằng cách sấy khô mẫu ở nhiệt độ 105°C và cân đến khi trọng lượng không đổi trên cân phân tích.

- Xác định hàm lượng protein bằng cách xác

định hàm lượng ni tơ tổng số bằng phương pháp Kenden rồi nhân với hệ số 6,25 [10].

- Xác định hàm lượng diệp lục bằng cách dùng dung môi ethanol 96% để chiết và đo trên máy quang phổ ở bước sóng 665 và 649.

- Hàm lượng glucozit được tách chiết và xác định bằng phương pháp cân lượng hoạt chất thu được sau khi tách chiết và loại bỏ các tạp chất khác.

- Thử nghiệm độ độc của dịch chiết đối với sâu hại theo phương pháp thử nghiệm thuốc của Viện Bảo vệ thực vật theo hai cơ chế: vị độc và tiếp xúc. Xác định tỷ lệ sâu chết theo thời gian nhất định.

II - KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

1. Một số chỉ tiêu sinh hóa của cây Kiến cò:

Kết quả trình bày trên bảng 1 cho thấy, ở cây Kiến cò, lá có trọng lượng khô thấp hơn thân. Trọng lượng khô của lá là 20,03% và của thân là 24,07%. Nhưng ngược lại, hàm lượng ni tơ tổng số và protein ở lá cao gần gấp đôi ở thân. Trong lá cây Kiến cò có tới 28,14% chất khô là protein, đây là cây mà có lá chứa một hàm lượng protein khá cao. Điều này gợi ý rằng, ngoài việc dùng lá của nó sản xuất thuốc trừ sâu, còn có thể dùng để sản xuất

Bảng 1

Một số chỉ tiêu sinh hóa của thân lá Kiến cò

STT	Các chỉ tiêu	Thân	Lá
1	Chất khô (%)	24,00 ± 0,67	20,03 ± 0,62
2	N tổng số (% chất khô)	2,52 ± 0,02	4,53 ± 0,02
3	Protein thô (% chất khô)	15,81 ± 0,12	28,24 ± 0,12
4	Hàm lượng diệp lục (mg/g tươi)	—	2,79 ± 0,05

protein lá. Lá cây Kiến cò còn có hàm lượng diệp lục khá cao (2,79 mg/g lá tươi). Chính vì thế mà nó có khả năng quang hợp lớn, cho nhiều sinh khối, là nguồn nguyên liệu phong phú để sản xuất thuốc trừ sâu thảo mộc và protein lá.

2. Động thái tích lũy hoạt chất glucozit trong cây Kiến cò:

Chúng tôi đã khảo sát động thái tích lũy hoạt chất glucozit trong cây Kiến cò, ở tất cả 12 tháng trong năm, để biết được sự biến đổi của hoạt chất này, để có cơ sở thu mẫu và sử dụng chúng có hiệu quả nhất. Kết quả được trình bày trên bảng 2, cho thấy hàm lượng glucozit trong cây ở thời điểm tháng 7 là cao nhất (2,37%), gấp 2 lần ở nhiều tháng khác. Kết quả này gợi ý là, nếu sử dụng cây Kiến Cò làm thuốc trừ sâu, thì nên thu mẫu vào các tháng 6, 7, 8, 9. Hơn nữa, vào các tháng này, cây phát triển mạnh, cho sinh khối lớn.

3. Ảnh hưởng của thời gian bảo quản mẫu đến hàm lượng glucozit trong mẫu:

Để đưa cây Kiến cò vào sử dụng có hiệu quả, khi dùng làm thuốc trừ sâu, thì không thể không nghiên cứu ảnh hưởng của thời gian bảo quản mẫu đến hàm lượng glucozit của chúng. Vì khi thu nhiều mẫu, không thể sử dụng hết ngay được, nhất là vào các tháng cây phát triển tốt, lại chứa lượng glucozit cao, phải tranh thủ thu hái.

Mẫu thu hoạch vào tháng 6, được xử lý và sấy khô. Lấy một phần đem phân tích ngay để xác định hàm lượng glucozit, còn lại đem đóng vào bao ni lông, bảo quản ở nhiệt độ trong phòng bình thường. Cứ sau 2 tháng, lại lấy mẫu ra để xác định hàm lượng glucozit. Kết quả được trình bày trên bảng 3, cho thấy: Sau 6 tháng bảo quản trong phòng, hàm lượng glucozit trong mẫu hầu như không giảm, như vậy chúng ta có thể bảo quản mẫu trong nửa năm để dự trữ cho sản xuất.

Bảng 2

Hàm lượng glucozit trong cây theo từng tháng trong năm

Tháng	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Hàm lượng glucozit (% chất thô)	1,15	1,07	0,98	1,01	1,12	1,79	2,37	1,73	1,36	1,21	1,25	1,27

Bảng 3

Ảnh hưởng của thời gian bảo quản mẫu đến hàm lượng glucozit trong mẫu khô

STT	Thời gian bảo quản (tháng)	Hàm lượng glucozit (% chất khô)
1	0	1,82
2	2	1,75
3	4	1,80
4	6	1,72

4. Ảnh hưởng của dịch chiết cây Kiến Cò lên khả năng nảy mầm của hạt cải xanh:

Để thăm dò khả năng ứng dụng cây Kiến cò một cách rộng rãi trong nông nghiệp, chúng tôi tiến hành nghiên cứu ảnh hưởng của dịch chiết cây Kiến cò lên quá trình nảy mầm của hạt cải xanh với nồng độ dịch chiết khác nhau, xử lý ở những thời gian khác nhau. Dịch chiết của cây Kiến cò (bằng dung môi ethanol) đem pha loãng và xử lý với hạt cải trước khi cho nảy mầm như sau: Hạt cải xanh được chọn đồng đều và lấy ngẫu nhiên mỗi thí nghiệm là 100 hạt, rồi ngâm vào dịch chiết cây Kiến cò ở nồng độ pha loãng khác nhau, trong thời gian khác nhau. Sau khi xử lý, hạt được rửa qua bằng nước rồi đưa vào các đĩa petri có

giấy lọc đã được làm ẩm bằng nước và đặt vào trong tối (đảm bảo độ ẩm cần thiết và ổn định). Sau 2 ngày và 4 ngày, lấy mẫu ra để tính tỷ lệ nảy mầm của các công thức.

Bảng 4

Ảnh hưởng của dịch chiết cây Kiến cò lên khả năng nảy mầm của hạt cải xanh

Thời gian tính tỷ lệ nảy mầm (ngày)	Thời gian xử lý hạt (phút)	Tỷ lệ nảy mầm (%)				
		ĐC (nước)	ĐC (dung môi chiết)	Dịch chiết đặc	ĐC dung môi loãng	Dịch chiết loãng 2 lần
Sau 2 ngày	30	42	38	40	50	87
	60	44	30	32	51	92
	120	46	26	29	53	88
	180	48	22	25	54	86
	1440	46	0	0	10	15
Sau 4 ngày	30	78	72	75	77	89
	60	77	52	62	75	92
	120	78	48	54	73	89
	180	76	43	49	70	88
	1440	79	0	0	20	25

Mẫu đối chứng là nước và dung môi để chiết rút và pha loãng 2 lần như pha loãng ở dịch chiết. Kết quả được trình bày trên bảng 4 cho thấy xử lý với dịch chiết đặc không có tác dụng kích thích nảy mầm mà còn kìm hãm khả năng nảy mầm. Sự kìm hãm này do ảnh hưởng của dung môi (vì ở công thức đối chứng là dung môi thì tỷ lệ nảy mầm cũng bị giảm theo thời gian xử lý hạt) và do dịch chiết đặc cũng kìm hãm sự nảy mầm của hạt cải. Nhưng, khi pha loãng 2 lần, thì dịch chiết pha loãng đã kích thích khả năng nảy mầm và tỷ lệ nảy mầm cao trong thời gian xử lý là 120 phút. Nếu xử lý hạt với dịch chiết trong thời gian lâu (24 giờ), dù loãng đi 2 lần, thì hạt hầu như mất hết khả năng nảy mầm.

Xử lý hạt cải ở nồng độ dịch chiết pha loãng 2 lần trong vòng 3 giờ, đã kích thích khả năng nảy mầm và làm tăng tỷ lệ nảy mầm của hạt, điều này có thể giải thích là trong dịch chiết có

cả chất kích thích sinh trưởng và chất glucosit, đã diệt một số vi khuẩn phá hoại quá trình phát triển của mầm.

5. Ảnh hưởng của dịch chiết cây Kiến cò lên sâu tơ và sâu xanh:

Từ dịch chiết thu được, chúng tôi đem pha loãng 10, 20, 50, 100, 200 lần rồi phun lên sâu tơ và sâu xanh hại lá rau bắp cải. Sâu được bắt từ ruộng bắp cải về, mỗi thí nghiệm mỗi loại được tiến hành với 20 con sâu, rồi đặt trong xô có đường kính 20 cm, cao 10 cm và bịt vải màn lên trên; đối chứng để nguyên không phun gì. Tỷ lệ sâu chết được tính sau 4, 20 và 30 giờ. Kết quả được trình bày trên bảng 5. Kết quả này cho thấy, ở nồng độ pha loãng 20 lần, thì sau 4 giờ, cả sâu tơ và sâu xanh đều chết 100%, càng pha loãng thì hiệu lực diệt sâu càng giảm. Pha loãng đến 200 lần thì hiệu lực diệt sâu rất thấp.

Bảng 5

Ảnh hưởng của dịch chiết cây Kiến cò lên sâu tơ và sâu xanh

STT	Độ pha pha loãng (lần)	Tỷ lệ sâu chết (%)					
		Sau 4 h		Sau 20 h		Sau 30 h	
		Sâu tơ	Sâu xanh	Sâu tơ	Sâu xanh	Sâu tơ	Sâu xanh
1	10	100	100	100	100	100	100
2	20	55	50	75	69	82	80
3	50	24	20	43	41	52	49
4	100	11	9	25	20	38	32
5	200	5	4	19	14	25	22

6. Thử khả năng sử dụng cây Kiến cò làm thuốc trừ sâu MT1 đối với sâu hại rau:

Đề pha chế thuốc trừ sâu MT1, chúng tôi sử dụng dịch chiết của cây Kiến cò là chính, ngoài ra đã cho thêm dịch chiết của 4 loại thực vật khác cùng với chất phụ gia không gây độc cho người và động vật máu nóng, để tăng thêm độ bám dính cũng như để nâng cao hiệu lực của thuốc. Chúng tôi đã thử thuốc MT1 với sâu hại rau. Cách thử như đối với dịch chiết của cây Kiến cò. Kết quả

được trình bày trên bảng 6.

Kết quả trên bảng 6 cho thấy, ở nồng độ pha loãng 10 lần, thuốc đã giết chết cả sâu tơ và sâu xanh trong vòng 4 giờ sau khi phun. Còn pha loãng 20 lần thì sau 30 giờ, đã làm cho 95% sâu tơ và 100% sâu xanh chết. Nếu pha loãng 50 hay 100 lần, hiệu lực diệt sâu bị giảm theo độ pha loãng. Từ kết quả nhận được, chúng tôi thấy sử dụng thuốc MT1 với độ pha loãng 10 lần là thích hợp nhất, vì hiệu lực diệt sâu cao, lượng thuốc pha vừa phải.

Bảng 6

Tác dụng của thuốc trừ sâu MT1 lên sâu tơ và sâu xanh

STT	Độ pha pha loãng (lần)	Tỷ lệ sâu chết (%)					
		Sau 4 h		Sau 20 h		Sau 30 h	
		Sâu tơ	Sâu xanh	Sâu tơ	Sâu xanh	Sâu tơ	Sâu xanh
1	10	100	100	100	100	100	100
2	20	65	75	80	85	95	100
3	50	30	34	50	52	63	68
4	100	15	20	35	36	42	48

III - KẾT LUẬN

Cây Kiến cò có hàm lượng glucosit biến động trong năm từ 0,98% đến 2,3%, có thể sử dụng dịch chiết làm thuốc trừ sâu. Dịch chiết này, với độ pha loãng thích hợp, có khả năng diệt được một số loại sâu hại rau như sâu tơ và sâu xanh. Nếu sử dụng cây Kiến cò làm thuốc trừ sâu thì

nên thu nguyên liệu vào các tháng 6 - 9 là có hiệu quả và kinh tế nhất.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nguyễn Thị Kỳ và cs., 1993: Kết quả bước đầu dùng chế phẩm có nguồn gốc thảo mộc để phòng chống sâu hại hoa màu. Tuyển tập các công

trình nghiên cứu Sinh thái và Tài nguyên sinh vật (1990-1992). NXB Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội.

2. **Đỗ Tất Lợi**, 1991: Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam. NXB Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội.

3. **Nguyễn Hoàng Tinh và cs.**, 1994: Nghiên cứu sử dụng cây Kiến cỏ (*Rhinacanthus nasutus* Kurz) trong nông nghiệp. Hội nghị KH toàn quốc về Công nghệ sinh học và Hóa sinh phục vụ sản xuất và đời sống, 12-13 / 12 / 1994, Hà Nội.

4. **Ahmel A., Koppel B.**, 1986: Proc. 3rd Int. Neem Conf. Nairobi (1986): 623-626.

5. **Chiu Shin-poon**, 1993: Proc. 2nd Conf.,

Rauischholzhausen (1993): 255-262.

6. **M. Jacobson**, 1980: Proc. 1 st. Int. Neem Conf., Rottach-Egern, (1980): 33-42.

7. **M. G. Jotwani and K. P. Srivastava**, 1983: Proc. 2nd. Int. Neem Conf., Raunischholzhausen (1983): 43-56.

8. **H. Schmutter**, 1980: Proc. 1 st. Int. Neem Conf., Rottach-Egern (1980): 21-32.

9. **K. Sobtsiri and S. Tigvattanont**, 1983: Proc. 2nd Int. Neem Conf., Rauischholzhausen (1983): 95-100.

10. **B. P. Pleskov**, 1968; Thực hành sinh hóa thực vật. M. "Kolos" (Tiếng Nga).

STUDY ON USING *RHINACANTHUS NASUTUS* (L.) KURZ TO PRODUCE THE MT1 NATURAL PESTICIDE

NGUYEN HOANG TINH *et al.*

SUMMARY

In *Rhinacanthus nasutus* (L.) Kurg, the protein content is about 28% and glycoside content 0.98% to 2.37%. The dilute extract of this plant has expressed an insecticide activity to some pests and we have studied to use this extract to produce the MT1 natural pesticide.

Ngày nhận bài: 10-5-1996

ĐẶC ĐIỂM DINH DƯỠNG VÀ TĂNG TRƯỞNG CỦA ÉCH ĐỒNG ...

(Tiếp theo trang 42)

(mean 21 mm), the body weight was 1.48 - 2.42 g (mean 1.76 g), the food weight of all metamorphosis about 13.70 g/spec.

The juvenile period measured about 7 - 8 months old. At the end of this period, the body weight was about 15.01 ± 1.10 g, the body length about 47.19 ± 2.22 mm and the food weight was about 76.4 g / spec / month.

The antenatal period measured least 7 months. At the end of this period, the body mean weight was about 39.48 ± 0.75 g, the body length was about 61.22 ± 2.15 mm for the male and about 55.66 ± 1.14 g, 65.23 ± 2.22 mm for the female. The food weight was about 170 g/spec/month for the male, 184.2 g / spec / month for the female.

The adult period began from 15 months old. The body weight was about 49.6 - 52.3 g, the body length 58.5 - 62.6 mm for the female and about 36.5 - 42.8 g, 56.3 - 61.3 mm for the male.

Ngày nhận bài: 20-12-1997

XÁC ĐỊNH TRỌNG LƯỢNG PHÂN TỬ CỦA ENZIM GLUTAMINSYNTETAZA CỦA VI KHUẦN LAM *SPIRULINA PLATENSIS*

ĐẶNG HOÀNG PHƯỚC HIỀN

Viện Công nghệ sinh học

Glutaminsynthetaza là enzym xúc tác phản ứng chia khóa trong quá trình trao đổi nitơ ở thực vật và thuộc trong số các enzym có cấu trúc oligo và có trọng lượng phân tử cao. Các nghiên cứu của nhiều tác giả bằng các phương pháp khác nhau cho thấy glutaminsynthetaza (GS) của vi khuẩn lam (VKL) có cấu trúc đặc trưng cho kiểu cấu trúc GS của các tế bào vi khuẩn: có trọng lượng phân tử vào khoảng 600.000 Da, gần 12 tiểu đơn vị giống hệt nhau, xếp thành 2 vòng, mỗi vòng 6 tiểu đơn vị xếp chồng lên nhau, mỗi tiểu đơn vị có trọng lượng phân tử khoảng 50.000 Da [1, 2, 3, 4].

Dưới đây là các kết quả thu được trong việc xác định trọng lượng phân tử của GS của VKL *Spirulina platensis* còn chưa được biết đến.

1 - PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Vi khuẩn lam đa bào *Spirulina platensis* (Gom) Geitl. được nuôi cấy trên môi trường Zarrouk pH 8,5-9,5, trong các bình Semenenko có thể tích 600 ml, có sục không khí chứa 1-1,5% CO₂, với tốc độ 1,2 lít/phút, đặt dưới đèn đèn chiếu sáng liên tục 30 nghìn lux và ở nhiệt độ 30-32°C.

Spirulina platensis được tách khỏi dịch nuôi cấy bằng phương pháp lọc hút qua giấy lọc, sau đó được rửa bằng dung dịch đệm Tris-HCl 0,005 M có thêm 2 mM EDTA, 2 mM MgSO₄ và 5 mM β-mecrptoetanol pH 7,2, để ổn định hoạt tính của enzym và được phá hủy 2 lần trong máy nghiền với cát thủy tinh, mỗi lần 15 phút trong dung dịch đệm trên. Tỷ lệ tế bào : cát thủy tinh : dung dịch đệm = 1 : 1,25 : 1 (trọng lượng : thể tích : thể tích). Dịch đồng nhất nhận được ly tâm ở 144.000 g trong 45 phút ở 0°C. Dịch nổi thu được đã bị loại

chlorophyl, dùng làm dịch enzym ban đầu để làm sạch theo quá trình đã trình bày trước đây [5].

Để xác định trọng lượng phân tử của GS của *Spirulina platensis*, chúng tôi sử dụng phương pháp sắc ký trên gel AcA-22. Cột gel (1,5 cm × 65 cm) được cân bằng bằng 50 mM dung dịch đệm Tris-HCl có chứa 2 mM MgSO₄, 2 mM EDTA và 2 mM β-mercaptoetanol pH 7,2. 1 ml dung dịch enzym đã làm sạch được đưa lên cột. Dung dịch thôi là dung dịch dùng để cân bằng cột. Tốc độ thôi là 18 ml/giờ. Dung dịch thôi được thu lại với thể tích từng 3 ml một và được phân tích bằng quang phổ ở 280 nm.

Hoạt tính GS xác định theo phương pháp photphat [6].

Trọng lượng phân tử của enzym được xác định theo thể tích enzym thôi ra, dựa trên đường chuẩn làm với các protein có phân tử lượng cho sẵn.

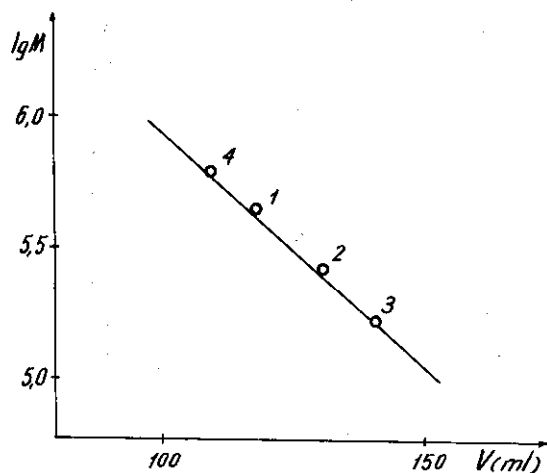
Trọng lượng phân tử của các tiểu đơn vị được xác định bằng phương pháp điện di trên gel polyacrylamid có DS-Na, theo Weber & Osborn [7], theo đường chuẩn xây dựng từ các protein có phân tử lượng cho sẵn.

Thành phần axit amin của GS của *Spirulina plantensis* được xác định bằng phương pháp Moor và Stein [8]. Dịch enzym cho vào ống hút, thêm 5 ml 6 N HCl và tiến hành thủy phân ở 110°C trong 24 giờ, sau khi đã sục khí trơ (N₂). Sau đó dịch thủy phân cho bay hơi trong thiết bị quay chân không trên bình cách thủy, rửa lại 2 lần bằng nước cất 2 lần rồi hòa tan trong đệm citrat pH 2,2 sao cho trong 1 ml dung dịch đệm chứa khoảng 1 mg protein. Để oxy hóa cystein thành axit cysteic, đã sử dụng axit perfoemic được chuẩn bị bằng cách cho 9 ml 88% axit formic vào 1 ml 30% H₂O₂ lắc đều, để

1 giờ ở nhiệt độ phòng, sau đó làm lạnh đến 4°C trong 4 giờ cho protein tan hết. Loại dung dịch bằng cách cho bay hơi trên nồi cách thủy. Sau khi cho bay hơi dịch thủy phân, các axit amin hòa tan trong đệm citrat pH 2,2. Các axit amin được xác định trên máy phân tích axit amin tự động một cột 4101 của hãng "LKV" (Thụy Điển). Cột dài 54 cm, chứa nhựa trao đổi ion Ostion LGKS 0803. Phân tách axit amin tiến hành bằng 3 dung dịch đệm Citrat Na. Dung dịch đệm thứ nhất: 0,2 N pH 3,25, dung dịch đệm thứ hai: 0,25 N pH 4,25 và dung dịch đệm thứ 3: 0,35 N pH 6,45. Nhiệt độ cột là 52°C trong 80 phút đầu sau đó là 68°C cho đến hết thí nghiệm. Tốc độ chảy của dung dịch đệm là 50 ml/giờ, của dung dịch ninhydrin là 25 ml/giờ.

II - KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Các kết quả nghiên cứu xác định trọng lượng phân tử của GS - oligomer được trình bày trên hình 1.



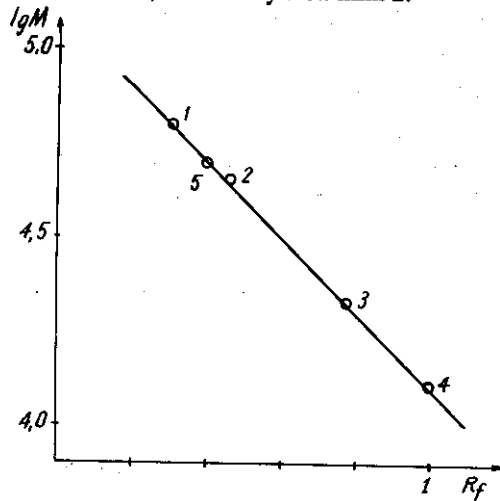
Hình 1: Xác định trọng lượng phân tử của GS của *Spirulina platensis* bằng phương pháp lọc gel trên cột ultrogel AcA-22.

1. Pheritin (450.000), 2. Phycocerythrin (290.000), 3. Phycocyanin (180.000), 4. Glutaminsynthetaza.

Các protein chuẩn có trọng lượng biết sẵn là pheritin (450.000), phycocerythrin (290.000) và phycocyanin (180.000). Trọng lượng phân tử của GS của *Spirulina platensis* định theo đường

chuẩn trên là 630.000 Da.

Kết quả xác định trọng lượng phân tử của các tiểu đơn vị GS của *Spirulina platensis* bằng phương pháp điện di trên gel polyacrylamid 10% có DS-Na được trình bày trên hình 2.



Hình 2: Xác định trọng lượng phân tử monomer GS của *Spirulina platensis* bằng phương pháp điện di trên gel polyacrylamid có DS - Na.

1. Albumin huyết thanh bò (67.000), 2. Albumin trứng (43.000), 3. Trypsin (24.000), 4. Cytochrom c (12.000), 5. Glutaminsynthetaza.

Theo đường chuẩn xây dựng từ các protein có trọng lượng biết sẵn sử dụng trong thí nghiệm này là albumin huyết thanh bò (67.000), albumin trứng (45.000), trypsin (24.000), cytochrom c (12.500); trọng lượng phân tử của monomer GS của *Spirulina platensis* là 50.200 Da.

Bảng 1 trình bày thành phần axit amin của GS của *Spirulina platensis* và một số VKL khác. Như ta thấy, cũng giống như GS các VKL khác GS của *Spirulina platensis* chứa nhiều axit amin dicarbonic. Ngoài ra GS của *Spirulina platensis* còn chứa một lượng đáng kể ala, gly, pro và leu. Trọng lượng phân tử tối thiểu tính trên cơ sở thành phần axit amin bằng 53.000 Da.

Như vậy các kết quả xác định trọng lượng phân tử của GS của *Spirulina platensis* cho thấy GS của loài VKL này cũng giống như GS của nhiều loài

VKL khác mà các tác giả khác đã công bố. Chẳng hạn, theo Stacey và cộng sự, trọng lượng phân tử của GS của VKL *Anabaena* CA là 590.000, còn trọng lượng phân tử của mỗi tiểu phần là 50.000 [1]. Sampaio và cộng sự cho thấy trọng lượng phân tử GS của *A. cylindrica* là 565.000 đến 660.000, của *Nostoc* sp. là 575.000 đến 630.000, còn trọng lượng phân tử của các monomer là khoảng 49.000 - 50.000 Da, tùy theo phương pháp xác định [2]. Orr và cộng sự thông báo, từ những tế bào *Anabaena* 7120, đã tách được enzym GS sạch có trọng lượng phân tử

mỗi monomer bằng 50.000. Nghiên cứu dưới kính hiển vi điện tử cho thấy enzym này cấu tạo gồm 2 vòng hexonal nằm chồng lên nhau, mỗi vòng gồm 6 tiểu đơn vị [9]. Florencio và cộng sự đã nhận được GS của VKL đơn bào *Anacystis nidulans* có trọng lượng phân tử oligomer là 570.000 - 580.000 và trọng lượng phân tử monomer 46.000 - 47.000 Da, phụ thuộc vào phương pháp xác định [10]. Mc Master và cộng sự, bằng phương pháp sắc ký trên gel, cho thấy GS của *Anabaena flos - aquae* có trọng lượng phân tử oligomer là 430.000 Da [3].

Bảng 1

Thành phần axit amin của GS ở một số vi khuẩn lam

Axitamin	Số gốc axit amin trên trọng lượng phân tử tối thiểu				
	1	2	3	4	5
	<i>Anabaena cylindrica</i>	<i>Anabaena 7210</i>	<i>Anacystis nidulans</i>	<i>Nostoc muscorum</i>	<i>Spirulina platensis</i>
	50.000	50.000	46.500	52.000	50.200
Asp	51	45,2	53	50	35
Tre	26	23,4	25	27	18
Ser	25	33,4	31	29	26
Gly	46	46,8	42	48	43
Pro	27	28,3	30	26	52
Glu	39	41,2	44	40	52
Ala	28	33,9	24	31	69
Cys	10	6,8	5	6,8	18
Val	15	18,6	18	20	18
Met	14	9,8	8	13	9
Ile	28	26,6	27	25	9
Leu	30	34,7	33	32	43
Tyr	18	20,6	9	23	26
Phe	27	22,0	13	27	35
His	8	11,9	18	10	9
Lys	24	26,4	18	22	26
Arg	17	13,5	24	18	18
Try	2	9,8	—	6	

1 - Sampaio et al. (1979), 2 - Orr et al. (1981), 3 - Florencio et al. (1985),

4 - Turakhanova et al. (1986), 5. Phước Hiền.

Turakhanova đã xác định trọng lượng phân tử GS của *Nostoc muscorum* là 634.000 Da đối với oligomer và 52000 Da đối với mỗi monomer [4].

Các thí nghiệm đo hoạt tính của monomer đều cho kết quả không đáng kể. Điều đó chứng tỏ GS chỉ có hoạt tính đầy đủ ở trạng thái nguyên vẹn. Sampaio và cộng sự, khi nghiên cứu GS của *A. cylindrica*, đã nhận thấy: để giữ được cấu trúc bậc 4 của GS trong quá trình làm sạch enzym, cần phải có các chất ổn định hoạt tính GS như Mg^{2+} , glutamat, β -mercaptoetanol, EDTA. Khi không có các chất ổn định hoạt tính GS này, trong quá trình điện di trên gel polyacrilamid, các tác giả này nhận thấy 3 dải protein có hoạt tính GS rất thấp có trọng lượng phân tử là 510.000, 310.000 và 130.000 Da. Theo những tác giả này, dải protein đầu tiên có thể là một conformer của GS nguyên vẹn, chứ không phải là phân tử GS đã bị mất 1 hoặc 2 tiểu đơn vị, 2 dải protein sau đó có thể là các trimer và dimer tương ứng [2]. Như vậy, rõ ràng chỉ có GS nguyên vẹn là có hoạt tính đầy đủ.

III - KẾT LUẬN

Các kết quả thu được khi xác định trọng lượng phân tử của GS của *Spirulina platensis* cho thấy: trọng lượng phân tử của oligomer xác định bằng phương pháp sắc ký trên gel là 630.000 Da.

Trọng lượng phân tử tối thiểu của các monomer, xác định bằng điện di trên gel polycarylamid có dodecylsulphat Na và theo thành phần axit amin, là 50.200 và 53.000 Da,

tương ứng.

Các monomer cho hoạt tính không đáng kể, chứng tỏ GS chỉ có hoạt tính đầy đủ ở trạng thái nguyên vẹn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Stacey G., Tabita F. R., Baalen C. V., 1977: Bacteriol., 132 (2): 596-603.
2. Sampaio M. J. A. M., Rowell P. S., Stewart W. D. P., 1979: Gen. Microbiol., 3: 181-191.
3. McMaster B. J. et al., 1980: Biochem. Biophys. Res Comm. (2): 975-983.
4. Turakhanova M. S. et al., 1986: Biochem. 51 (10): 1635-1640 (tiếng Nga).
5. Đặng Hoàng Phước Hiền, 1994: Tạp chí Sinh học, 16 (3): 18-24.
6. Pushkin A. V., Evstigneeva Z. G., Kretovich V. L., 1973: Báo cáo khoa học Viện HLKHLX, 212 (2): 502-505 (tiếng Nga).
7. Weber K., Osborn M., 1969: Biol. Chem. 244 (16): 4406-4412.
8. Moor S., Stein W. H., 1963: Chromatographic determination of aminoacids by the use of automatic recording equipment. Methods in Enzymology Acad. Press. NY. L. V. 6, p. 819-831.
9. Orr J. et al., 1981: J. Biol. Chem. 256 (24): 13091-13098.
10. Florencio F. J., Ramos J. L., 1985: Biochem. Biophys. Acta. 838 (1): 39-47.

MOLECULAR WEIGHT DETERMINATION OF THE ENZYME GLUTAMINE SYNTHETASE FROM CYANOBACTERIA SPIRULINA PLATENSIS

DANG HOANG PHUOC HIEN

SUMMARY

The MW of the enzyme glutamine synthetase of *Spirulina platensis* had been determined. The molecular mass of the oligomer, determined by gel filtration, is about 630 kD. The minimum molecular weights of the monomers, determined by SDS PAAG electrophoresis and calculated from the amino acid composition, are 50 kD and 53 kD, respectively. The activity of the monomers had been shown to be negligible that means only the native enzyme has the full activity.

Ngày nhận bài: 18-2-1997

VI KHUẨN PHÂN HỦY THUỐC TRỪ SÂU PHÂN LẬP TỪ ĐẤT TRỒNG Ở VIỆT NAM

NGUYỄN THỊ KIM CÚC

Viện Công nghệ sinh học

Hiện nay, vấn đề ô nhiễm môi trường bởi thuốc trừ sâu diệt cỏ dùng trong nông nghiệp là một trong những vấn đề cấp bách mang tính thời sự. Ở Việt Nam, các loại thuốc bảo vệ thực vật đang bị lạm dụng và sử dụng bừa bãi mà hậu quả lâu dài là sự ô nhiễm đất, nguồn nước ngầm, hiện tượng giảm tính đa dạng sinh học của quần thể, sự xuất hiện các loại dịch hại mới và sự diệt vong của các ký sinh thiên địch.

Trong thiên nhiên, một số hóa chất trừ dịch hại ứng dụng trong công nghiệp được vi sinh vật đất sử dụng như nguồn các bon và năng lượng để tái sinh và phát triển. Rất nhiều phòng thí nghiệm trên thế giới đã và đang đi sâu nghiên cứu ứng dụng vi sinh vật để điều chỉnh lượng hóa chất nông nghiệp dư thừa trong môi trường [1, 2, 3, 4, 5]. Vài trò to lớn của vi sinh vật trong việc loại bỏ thuốc trừ sâu trong đất, nước là không thể chối cãi được, nhưng điều đó cũng dẫn đến hiệu quả của một vài loại thuốc trừ sâu bị giảm đáng kể. Vì vậy một vấn đề quan trọng khác được các nhà khoa học quan tâm là điều khiển vận tốc phân hủy hóa chất sao cho nồng độ hữu hiệu của chúng được giữ lại trong thời gian vừa đủ để phòng trừ dịch hại.

Bằng phương pháp làm giàu, chúng tôi đã phân lập được vi khuẩn có khả năng sử dụng loại thuốc trừ sâu Methyl Parathion (MP) như nguồn cacbon duy nhất và nghiên cứu một số tính chất của các chủng phân lập được.

I - PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

- Methyl Parathion 95% từ Cục bảo vệ thực vật, Bộ Nông nghiệp và phát triển nông thôn.

- Môi trường và điều kiện nuôi cấy: Môi trường tối thiểu theo Schlegel và cộng sự (1961) đã được

sử dụng, pH môi trường được chỉnh đến 7,0 - 7,3 và khử trùng, MP được thêm vào môi trường trước khi nuôi cấy đến nồng độ cuối cùng là 1 µg/ml.

- Các chủng vi khuẩn được phân lập từ đất trồng lúa, rau (Từ Liêm, Hà Nội), trồng ngô (Đan Phượng, Hà Tây) và từ vườn trồng cây lâu năm (Nghĩa Đô, Hà Nội) theo phương pháp của Chaudry và cộng sự (1988). Sau một thời gian nuôi lắc trong môi trường lỏng, từ những bình có sự phát triển của vi khuẩn và sự biến mất của các tinh thể thuốc ở đáy bình, dịch nuôi cấy được trải trên đĩa có môi trường đặc với MP để nhận được các khuẩn lạc riêng rẽ.

- Các phương pháp nghiên cứu vi sinh vật học cơ bản đã được sử dụng.

II - KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

1. Phân lập vi khuẩn có khả năng phân hủy MP:

Bằng phương pháp làm giàu và dựa trên vòng phân giải trên môi trường đặc có MP, chúng tôi đã phân lập và làm sạch từ mẫu đất trồng lúa được 3 chủng vi khuẩn, từ đất trồng ngô 5 chủng, đất trồng rau màu 4 chủng và từ đất vườn 2 chủng có khả năng phân hủy MP. Đất chuyên canh lúa, mỗi năm hai vụ, được phun Bazan, Monotor mỗi vụ 2 - 3 lần. Đất chuyên canh ngô, hai vụ mỗi năm, được phun Wolfatox, Bi 58 nhiều lần trong năm và Basudin mỗi năm hai lần. Trên đất trồng rau màu, nông dân sử dụng Monitor, Wolfatox, mỗi lứa rau một lần. Riêng đất trồng cây lâu năm, ít nhất mười năm trở lại đây, không sử dụng thuốc trừ sâu.

Chúng tôi cũng đã xác định lượng vi khuẩn có khả năng phân hủy MP trong các mẫu đất trên, bằng phương pháp pha loãng giới hạn. Kết quả cho thấy ở những đất có sử dụng thuốc trừ sâu,

lượng vi khuẩn phân hủy MP là khoảng 10^2 tế bào / g đất, trong khi đó, ở đất không sử dụng thuốc, lượng vi khuẩn có khả năng phân hủy MP rất ít, khoảng 10 tế bào / g đất.

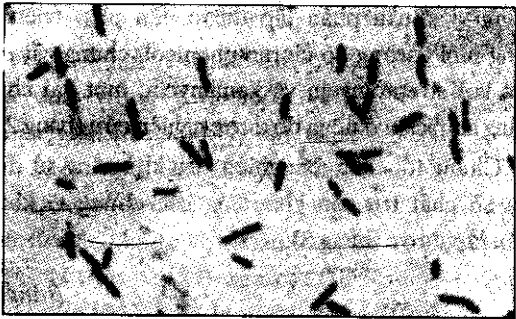
Các chủng vi khuẩn phân lập được phát triển yếu trên môi trường tối thiểu có MP như nguồn cacbon duy nhất. Để tăng sinh khối của các chủng vi khuẩn, chúng tôi đã thêm vào môi trường một số cơ chất như gluco, vitamin hoặc sử dụng môi trường đầy đủ. Kết quả cho thấy vi khuẩn phát triển rất tốt trên các môi trường này, nhưng khả năng phân hủy MP dần dần bị mất đi sau một số

lần cấy chuyển trên môi trường đầy đủ. Điều này chứng tỏ rằng cơ chất thúc đẩy sự phát triển của vi khuẩn thì ức chế sự tiết men hydrolaza, trong khi đó, cơ chất cho phép vi khuẩn phát triển yếu thì ảnh hưởng rất ít đến sự tổng hợp men này. Những kết quả tương tự cũng được thông báo [1, 4].

Chúng tôi đã thử nghiệm môi trường MPA/10 có bổ sung MP đến nồng độ yêu cầu để nuôi cấy và giữ giống các chủng phân lập được. Môi trường này có ưu điểm là tăng sinh khối của vi khuẩn mà hoạt tính của chúng vẫn không thay đổi, sau một thời gian giữ trong tủ lạnh.

2. Một số tính chất của các chủng vi khuẩn phân lập được:

Tất cả các chủng phân lập được đều thuộc loại Gram (-), tế bào có hình que ngắn, chuyển động được và sinh sắc tố huỳnh quang (ảnh bên). Các chủng vi khuẩn này có catala dương, không có khả năng cố định nitơ không khí và không tạo pyocyanin. Chúng không có khả năng lên men đường gluco, lacto và sacharo, một vài chủng có khả năng phân hủy gelatin nhưng tất cả các chủng đều không có khả năng phân hủy polyme sinh học (PHB). Khả năng thủy phân tinh bột của các chủng phân lập được là âm tính, trừ chủng 512 (bảng 1).



Ảnh nhuộm gam của chủng vi khuẩn 721 (phóng đại 1000 lần)

Bảng 1

Một số tính chất của các chủng vi khuẩn phân lập được

Chủng \ Tính chất	512	521	711	7111	712	7122	713	721	723	731	7311	732	7322	741
Hình dáng tế bào	Que ngắn, thẳng													
Nhuộm Gram	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sắc tố huỳnh quang	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Chuyển động	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
Catala	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
Cố định N ₂	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
Tạo pyocyanin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
Lên men gluco	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	

Chủng Tính chất	512	521	711	7111	712	7122	713	721	723	731	7311	732	7322	741
Lên men lacto	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Lên men sacharo	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Thủy phân tinh bột	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Thủy phân gelatin	-	-	+	+	-	-	+	-	+	+	-	-	-	-
Thủy phân PBH	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Chúng tôi cũng đã nghiên cứu khả năng kháng chất kháng sinh của các chủng phân lập được. Như chúng ta đã biết các gien mã hóa cho quá trình phân hủy một cơ chất đặc biệt nào đó và khả năng kháng chất kháng sinh thường nằm trên plasmid [2, 13]. Rất nhiều gien mã hóa cho sự phân hủy thuốc trừ sâu cũng nằm trên plasmid. Việc xác định mối quan hệ giữa hoạt tính phân hủy một cơ chất đặc biệt nào đó và khả năng kháng chất kháng sinh của chúng là rất

quan trọng cho quá trình tuyển chọn và giữ giống.

Các loại kháng sinh được sử dụng ở nồng độ 100 µg/ml. Kết quả nhận được cho thấy tất cả các chủng vi khuẩn phân lập được đều phát triển tốt trong môi trường có cloramphenicol, chúng rất mẫn cảm với streptomycin và kanamycin, một vài chủng kháng ampicilin ở nồng độ được nghiên cứu (bảng 2).

Chúng tôi cũng đã nghiên cứu khả năng sử dụng một số chất trừ sâu khác của các chủng vi khuẩn phân lập được (bảng 3).

Bảng 2

Khả năng kháng chất kháng sinh của các chủng vi khuẩn

Chủng Kháng sinh	512	521	711	7111	712	7122	713	721	723	731	7311	732	7322	741
Ampicilin	-	-	-	-	+	+	+	+	-	+	+	-	-	+
Kanamycin	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+
Streptomycin	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Chloramphenicol	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Chú thích: Nồng độ của chất kháng sinh được sử dụng là 100 µg/ml.

Bảng 3

Khả năng sử dụng các loại thuốc sâu khác như nguồn C

Chủng Thuốc sâu	512	521	711	7111	712	7122	713	721	723	731	7311	732	7322	741
Kitazin	-	+	+	+	±	±	+	+	-	±	±	-	-	+
Lindan	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+

Chú thích: Nồng độ của Kitazin và Lindan được sử dụng là 1 µg/ml.

Từ bảng 3, ta thấy một số chủng có khả năng sử dụng kitazin (photpho hữu cơ) và lindan (clo hữu cơ) như nguồn cacbon duy nhất cho sự phát triển. Điều này dẫn đến suy nghĩ: phải chăng phosphotriesteraza có phổ tác dụng rộng hay một số chủng vi khuẩn đồng thời mang cả gien mã hóa cho sự phân hủy các hợp chất có nguồn gốc photpho hữu cơ và clo hữu cơ? Cần có những nghiên cứu tiếp theo để làm sáng tỏ vấn đề này.

3. Tách chiết ADN từ các chủng vi khuẩn phân hủy MP:

Các chủng vi khuẩn được nuôi qua đêm trong 2 ml môi trường Nutrien Broth, sau đó ly tâm và rửa sinh khối bằng nước muối sinh lý. Quá trình tách chiết plasmid lượng nhỏ từ các chủng vi khuẩn và điện di ADN trên bản gel agarose 0,8% được tiến hành theo Maniatis và cs. (1989).

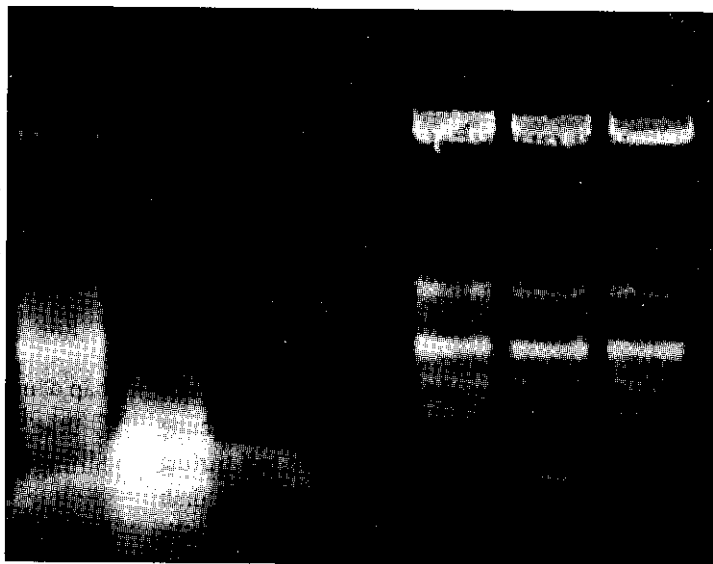
Kết quả trên điện di đồ cho thấy thường có hai băng chính phía dưới, điều đó chứng tỏ các chủng vi khuẩn này đều có mang plasmid. Băng thấp có thể là các plasmid nguyên vẹn dạng supercoil và băng trên là các plasmid bị giờ ra dạng nick hay dạng số 8 (ảnh).

III - KẾT LUẬN

- Vi khuẩn có khả năng phân hủy Methyl Parathion tồn tại cả trong các đất trước đó có sử dụng MP và đất không sử dụng MP. Trong đất có sử dụng thuốc trừ sâu, lượng vi khuẩn có khả năng phân hủy thuốc lớn hơn.

- Một số chủng vi khuẩn phân lập được có khả năng phân hủy đồng thời cả các hợp chất photpho và clo hữu cơ.

- Đã tách chiết được plasmid của một số chủng vi khuẩn và kiểm tra bằng điện di đồ.



Điện di đồ ADN của một số chủng vi khuẩn trên gel agarose 0,8%

Từ phải sang trái: cột thứ 2 - chủng 7311

cột thứ 3 - chủng 512

cột thứ 4 - chủng 7322

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Alvery S., Crowley D. C., 1996: Environ. Sci. Technol., 30: 1596-1603.
2. Chaudhry G. R., Ali A. N., and Wheeler W. B., 1988: App. and Environ. Microb., 5 (2): 288-193.
3. Francis A. J., Spanggord R. J., Bramhall G. I., Bohonos N., 1976: Applied and Environmental Microbiology, 32 (2): 213-216.
4. Ka J. O., Holben W. E., Tiedje J. M., 1994: Applied and Environmental Microbiology, 60 (4): 1106-115
5. Matus V. et al., 1996: Environ. Sci. Technol., 30: 1472-1476.
6. Miyagawa E. et al., 1985: Agric. Biol. Chem., 49 (10): 2881-2886.
7. Munnecke D. M., Hsieh D. P. H., 1976: Applied and Environmental Microbiology, 31 (1): 63-69.
8. Radosevich M. et al., 1995: Applied and Environmental Microbiology, 61 (1): 297-302.

(Xem tiếp trang 59)

HOẠT TÍNH CỐ ĐỊNH NITƠ CỦA VI KHUẦN AZOTOBACTER KHI CHUYỂN CHÚNG TỪ MÔI TRƯỜNG TỔNG HỢP NHÂN TẠO TRỞ LẠI MÔI TRƯỜNG ĐẤT TRỒNG TỰ NHIÊN

LÊ THỊ CHÂU, CAO NGỌC MINH TRANG,
TRƯƠNG BÌNH NGUYỄN

Phân Viện Sinh học tại Đà Lạt

Để có thể sử dụng chế phẩm *Azotobacter* một cách hữu hiệu nhất, cần thăm dò xem những chủng *Azotobacter* sau một thời gian sống trên môi trường tổng hợp nhân tạo có thành phần và tỉ lệ chất dinh dưỡng thích hợp, có thể sinh trưởng và phát triển tốt khi trở lại môi trường đất trồng tự nhiên hay không? Nhằm mục đích đó, chúng tôi đã tiến hành theo dõi hoạt tính cố định nitơ của vi khuẩn *Azotobacter*, khi chuyển chúng từ môi trường tổng hợp nhân tạo trở lại môi trường đất trồng tự nhiên.

I - PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Đối tượng khảo sát là 3 chủng vi khuẩn *Azotobacter* có ký hiệu AZ-A, AZ-B và AZ-C phân lập được từ đất trồng rau vùng Đà Lạt [1].

Vi khuẩn *Azotobacter* được nuôi cấy ở nhiệt độ 26-30°C.

Môi trường sử dụng là môi trường Ashby.

Xác định số lượng tế bào vi khuẩn bằng phương

pháp đếm số lượng khuẩn lạc trên thạch đĩa.

Xác định hàm lượng nitơ toàn phần bằng phương pháp MicroKiejdahl.

II - KẾT QUẢ THỰC NGHIỆM

1. Khảo sát sự biến thiên hàm lượng nitơ trong đất, khi trộn với dịch sinh khối vi khuẩn *Azotobacter*:

Bố trí 5 lô đất thí nghiệm đã được trồng cà rốt như sau:

Lô 1: Bón dịch sinh khối chủng AZ-A.

Lô 2: Bón dịch sinh khối chủng AZ-B.

Lô 3: Bón dịch sinh khối chủng AZ-C.

Lô 4: Bón dịch pha loãng 5 g urê (đối chứng 1).

Lô 5: Bón nước lã (đối chứng 2).

Hàm lượng nitơ toàn phần được xác định ở các thời điểm 0 giờ, 2 ngày, 4 ngày và 6 ngày.

Kết quả được trình bày ở bảng 1.

Bảng 1

Sự biến thiên hàm lượng nitơ toàn phần trong đất khi trộn với dịch sinh khối vi khuẩn *Azotobacter*

Thời gian	Hàm lượng nitơ toàn phần ở các lô thí nghiệm (mg N / 1 g đất khô)				
	AZ-A	AZ-B	AZ-C	Đối chứng 1	Đối chứng 2
0 giờ	4,2	8,3	8,6	6,4	3,3
2 ngày	3,8	7,3	7,7	4,1	0,0
4 ngày	2,3	3,1	2,8	2,1	0,0
6 ngày	1,3	0,0	1,4	1,8	0,0
Mức chênh lệch	3 lần	8 lần	6 lần	3 lần	

Công trình được hoàn thành với sự hỗ trợ kinh phí của Hội đồng khoa học tự nhiên.

Vào lúc 0 giờ (tức là khi mới vừa trộn dịch sinh khối vi khuẩn *Azotobacter* vào đất), lượng nitơ toàn phần cao nhất ở lô AZ-C, sau đó đến lô AZ-B, cả 2 lô này đều cao hơn lô đối chứng 1 và lô đối chứng 2. Còn ở lô AZ-A thì hàm lượng nitơ toàn phần thấp hơn. Cụ thể là:

- Lô AZ-C : 8,6 mg N / 1 g đất khô.
- Lô AZ-B : 8,3 mg N / 1 đất khô.
- Lô đối chứng 1 : 6,4 mg N / 1 đất khô.
- Lô AZ-A : 4,2 mg N / 1 đất khô.
- Lô đối chứng 2 : 3,3 mg N / 1 đất khô.

Hàm lượng nitơ toàn phần ở các lô khi mới bón dịch nuôi cấy thì cao, sau đó giảm dần và dường như hết hẳn ở ngày thứ 6. Chúng tôi nghĩ rằng, khi chuyển từ môi trường tổng hợp nhân tạo trở lại môi trường đất trồng tự nhiên, do thiếu những điều kiện cần thiết nên hoạt tính cố định nitơ của vi khuẩn *Azotobacter* giảm.

Một nguyên nhân thứ 2 dẫn đến sự giảm nhanh hàm lượng nitơ toàn phần là do nhu cầu nitơ của cây khá lớn, chúng hấp thu nhanh lượng NH_3 bón cho đất. Để giải quyết nguyên nhân này, cần tiến hành bón dịch sinh khối vi khuẩn

Azotobacter nhiều lần trong suốt thời gian sinh trưởng và phát triển của cây trồng.

Vào ngày thứ 6, lượng nitơ toàn phần ở 2 lô AZ-B và AZ-C giảm khoảng 6 đến 8 lần so với ngày đầu, trong khi đó, ở lô AZ-A, tuy lượng nitơ toàn phần ban đầu thấp hơn 2 lô kia nhưng ở ngày thứ 6, lượng nitơ toàn phần chỉ giảm khoảng 3 lần so với ngày đầu. Phải chăng vì chủng AZ-A tuy có hoạt tính kém khi sống trên môi trường tổng hợp nhân tạo, nhưng khi trở lại môi trường tự nhiên thì chúng lại có sức mạnh hơn. Để có thể kết luận chính xác hơn, chúng tôi tiến hành theo dõi tốc độ sinh trưởng và phát triển của vi khuẩn *Azotobacter*, khi chuyển chúng từ môi trường tổng hợp nhân tạo trở lại môi trường đất trồng tự nhiên.

2. Sự sinh trưởng và phát triển của vi khuẩn *Azotobacter* khi đưa chúng trở lại môi trường đất trồng tự nhiên:

Theo dõi sự sinh trưởng và phát triển của vi khuẩn *Azotobacter* ở các thời điểm 0 giờ, 2 ngày, 4 ngày, 6 ngày và 8 ngày. Kết quả được trình bày ở bảng 2.

Bảng 2

Sự sinh trưởng và phát triển của vi khuẩn *Azotobacter* khi đưa chúng trở lại môi trường đất trồng tự nhiên

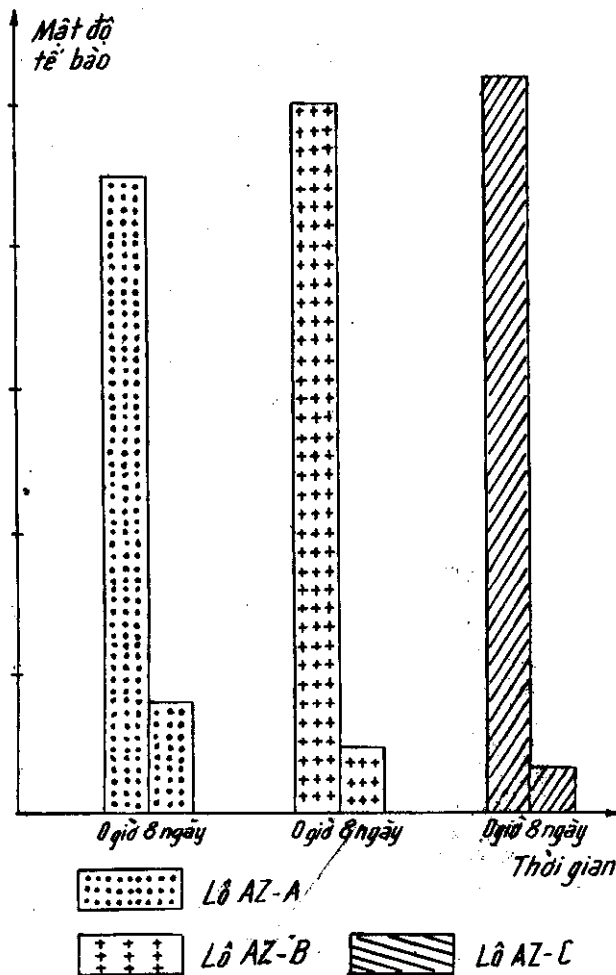
Thời gian	Mật độ tế bào tại các lô thí nghiệm		
	AZ-A	AZ-B	AZ-C
0 giờ	$46,21.10^4$	$50,18.10^4$	$54,32.10^4$
2 ngày	$40,18.10^4$	$34,61.10^4$	$30,16.10^4$
4 ngày	$19,14.10^4$	$13,12.10^4$	$20,25.10^4$
6 ngày	$102,14.10^3$	$63,37.10^3$	$37,49.10^3$
8 ngày	$77,01.10^3$	$31,21.10^3$	$24,32.10^3$
Mức chênh lệch	6 lần	16 lần	22 lần

Để tiện cho việc đánh giá, chúng tôi biểu diễn bảng 2 qua đồ thị 1.

Từ kết quả trên, chúng tôi nhận thấy: Khi đưa các chủng vi khuẩn *Azotobacter* từ môi trường

tổng hợp nhân tạo trở lại môi trường đất trồng tự nhiên, sự sinh trưởng và phát triển của chúng giảm đi rõ rệt. Ở lô AZ-A, từ $46,21.10^4$ lúc 0 giờ giảm xuống còn $77,01.10^3$ lúc 8 ngày. Ở lô AZ-B, từ

Đồ thị 1: So sánh độ sống sót của 3 chủng vi khuẩn *Azotobacter*



54,32.10⁴). Nhưng sau 8 ngày, số lượng vi khuẩn *Azotobacter* còn lại trong đất ở lô AZ-A lại nhiều hơn 2 lô AZ-B và AZ-C (lô AZ-A: 77,01.10³, lô AZ-B: 31,21.10³, AZ-C: 24,32.10³).

Sau 8 ngày, số lượng vi khuẩn *Azotobacter* so với lúc 0 giờ ở lô AZ-A giảm 6 lần, ở lô AZ-B giảm 16 lần, ở lô AZ-C giảm 22 lần. Điều này chứng tỏ chủng AZ-A tỏ ra có sức sống mạnh hơn 2 chủng AZ-B và AZ-C khi đưa chúng từ môi trường tổng hợp nhân tạo trở lại môi trường đất trồng tự nhiên. Kết quả này đã làm sáng tỏ thêm kết quả phân tích hàm lượng nitơ toàn phần thu được ở trên.

III - KẾT LUẬN

Hầu hết các chủng vi khuẩn *Azotobacter* phân lập được từ đất trồng rau vùng Đà Lạt đều có nhược điểm chung là: khi chuyển chúng từ môi trường tổng hợp nhân tạo trở lại môi trường đất trồng tự nhiên, thì tốc độ sinh trưởng và phát triển của chúng cũng như hoạt tính cố định nitơ giảm đi rõ rệt, do không thích nghi kịp với sự thay đổi điều kiện dinh dưỡng. Vì thế, nên bón bổ sung vào trong đất những nguyên tố khoáng cần thiết cho sự sinh trưởng và phát triển của chúng. Ngoài ra, cũng nên bón dịch sinh khối vi khuẩn *Azotobacter* nhiều lần theo

định kỳ cho cây trồng, để có thể cung cấp đủ nguồn dinh dưỡng đạm cho cây trồng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bạch Phương Lan, Lê Thị Châu, 1995: Tạp chí Sinh học, 17 (2): 27-29.
2. Nguyễn Lan Dũng, 1980: Nghiên cứu đất phân, tập 1. NXB Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội.
3. Đường Hồng Dật, 1979: Vi sinh vật trồng trọt. NXB Nông nghiệp, Hà Nội.
4. Lao Thị Nga, 1990: Đạm sinh học và một số sản phẩm của vi sinh vật. NXB thành phố Hồ Chí Minh.

50,18.10⁴ lúc 0 giờ giảm xuống còn 31,21.10³ lúc 8 ngày. Ở lô AZ-C, từ 54,32.10⁴ lúc 0 giờ giảm xuống còn 24,32.10³ lúc 8 ngày. Chúng tôi nghĩ rằng, khi chuyển từ môi trường tổng hợp nhân tạo trở lại môi trường đất trồng tự nhiên, do không thích nghi kịp với sự thay đổi điều kiện dinh dưỡng, nên số lượng của vi khuẩn *Azotobacter* giảm đi. Để khắc phục hạn chế này, cần bổ sung thêm một số yếu tố khoáng cho đất đồng thời với việc bón dịch sinh khối vi khuẩn *Azotobacter*, để tạo điều kiện cho chúng sinh trưởng và phát triển.

Vào lúc 0 giờ, số lượng vi khuẩn *Azotobacter* ở lô AZ-A thấp hơn 2 lô AZ-B và AZ-C (lô AZ-A: 46,21.10⁴, lô AZ-B: 50,18.10⁴, lô AZ-C:

5. Misustin B. N. và cs., 1983: Sự cố định đạm sinh học trong khí quyển. NXB Moskva.
6. Nhiều tác giả, 1970: Đạm sinh học trong trồng trọt (Nguyễn Xuân Hiền dịch). NXB Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội.
7. A. Quispel, 1974: The Biology of nitrogen fixation. NXB New-York.
8. Peter H. Graham and Susan C. Haris, 1981: Biological nitrogen fixation technology for tropical agriculture.
9. F. J. Bergersen, 1980: Methods for evaluating biological nitrogen fixation.
10. M. Alexander, 1984: Advances in microbial ecology.
11. Y. A. Hamdi, 1982: Application of nitrogen fixing system in soil improvement and management.

THE NITROGEN FIXATION OF SOME AZOTOBACTER STRAINS WHEN MOVED THEM FROM ARTIFICIAL MEDIUM TO NATURAL SOIL

LE THI CHAU *et al.*

SUMMARY

The growth and the nitrogen fixation of some *Azotobacter* strains reduced very much when moved them from artificial medium to natural soil. So, we should complete some mineral elements in soil in order that these *Azotobacter* strains can grow and act better.

Besides, the biomass fluid of *Azotobacter* should be fertilized many times during the growth and development of the plant.

Ngày nhận bài: 5-1-1998

VI KHUẦN PHÂN HỦY THUỐC TRỪ SÂU ...

(Tiếp theo trang 55)

9. Roongnapa K., Vichai Korpadtitskul, Kuwatsuka S., 1992: J. Pesticide Sci., 17: 287-289.
10. Roongnapa K., Katayama A., Kuwatsuka S., 1993: J. Pesticide Sci., 18: 77-83.
11. Roongnapa K., Katayama A., Kuwatsuka S., 1993: J. Pesticide Sci., 18: 293-298.
12. Sangodkar U. M. X. et al., 1989: Acta Biotechnol., 4: 301-316.
13. Sudin G. W., Demezas D. H., Bender C. L., 1994: App. Environ. Microb., 60 (12): 4421-4431.

METHYL PARATHION DEGRADING BACTERIA ISOLATED FROM SOILS OF VIETNAM

NGUYEN THI KIM CUC

SUMMARY

14 methyl parathion degrading bacteria strains were isolated from different soils of Vietnam. Some biophysical and biochemical characteristics of these strains were studied. It was obviously that methyl parathion - degrading bacteria have been disseminated in soils previously exposed or not exposed to methyl parathion. Some of these isolated strains can use also other pesticides, as kitazin or lindane.

Ngày nhận bài: 18-2-1998

THỬ NGHIỆM ĐỘC TÍNH CỦA HỖN HỢP TERPENOID CHIẾT RÚT TỪ LOÀI HẢI MIỀN CYNACHYRA AUSTRALIENSIS CARTER

CAO PHƯƠNG DUNG

Viện Hải dương học Nha Trang

Việt Nam có khoảng 160 loài hải miên, phân bố chủ yếu ở vùng biển miền Nam Việt Nam, trong đó *Cynachyra australiensis* Carter là 1 trong những loài có độc tính, thể hiện rõ ở phản ứng tác dụng lên bạch cầu trong máu của chuột nhắt *Alba swiss*.

I - PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Mẫu nghiên cứu là loài hải miên *Cynachyra australiensis* Carter, thu ở vùng nước ven bờ thuộc vùng biển Nha Trang, Khánh Hòa. Mẫu tươi được rửa sạch cát bùn bằng nước cất, thấm khô và xay nhỏ.

Ngâm mẫu trong ê te petrol, theo tỷ lệ 1 : 1,5 (ngập mẫu).

Các hóa chất sử dụng dưới dạng tinh khiết phân tích (PA).

Chiết terpenoid bằng CHCl_3 , theo phương pháp của Nguyễn Văn Đàn và Nguyễn Viết Tự (1985) [7], thu được cặn dầu terpenoid.

Tách tinh các hợp phần terpenoid riêng lẻ bằng sắc ký điều chế và kiểm tra bằng sắc ký phân tích trên bản mỏng Silicagel Kieselgel 60 G - Meck. Triển khai bằng hệ dung môi CHCl_3 - MeOH (99 : 1) và CHCl_3 - acetone (4 : 1). Giải hấp bằng CHCl_3 MeOH (80 : 20) đối với sắc ký điều chế.

Kiểm định định tính terpenoid chiết rút được bằng phản ứng Baljet [7]: 1 mg chất thử + 3 đến 4 giọt thuốc thử (hỗn hợp cùng thể tích tương đương của dung dịch 1% acid picric / cồn và dung dịch 10% NaOH/nước). Nếu có màu vàng cam là phản ứng dương tính.

Thử nghiệm độc tính của hỗn hợp terpenoid và các đơn chất terpenoid riêng lẻ (vết chính, đậm) bằng phương pháp so sánh số lượng bạch cầu

trong máu chuột nhắt trắng *Alba swiss* trước, sau 3 ngày và sau 7 ngày tiêm theo thường quy y tế (Viện Vacxin Nha Trang):

Test PM: chuột nhắt trắng có trọng lượng cơ thể 18 - 20 g/con.

Tiêm phúc mạc:

- Đối chứng: Tiêm dung dịch sinh lý 0,85%.

- Thử nghiệm: Tiêm dung dịch terpenoid cho 3 lô chuột với các nồng độ 1 mg/ml, 0,5 mg/ml và 0,25 mg/ml.

Kiểm tra số lượng bạch cầu trong máu chuột trước, sau 3 ngày và sau 7 ngày tiêm: lấy máu ở tĩnh mạch đuôi pha loãng trong dung dịch Turk (reactif N° 5). Đếm trong buồng đếm Neubauer (hay Burkner): 25 ô 0,1 ml. Ống hút 1/50.

Số bạch cầu trong 1 ml máu tính theo công thức:

$$X = \frac{\text{Số bạch cầu (đếm được)} \times 20 \times 100}{25 \times 0,004}$$

II - KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

1. Chiết rút terpenoid từ loài hải miên *C. australiensis*:

Kết quả chiết rút terpenoid từ *C. australiensis* đã thu được 160,9 mg hỗn hợp terpenoid [1]. Từ lượng mẫu này, tiến hành chiết tách các phân đoạn terpenoid bằng sắc ký bản mỏng điều chế và đã thu được các đơn chất có R_f như sau (bảng 1, ảnh 1 và 2).

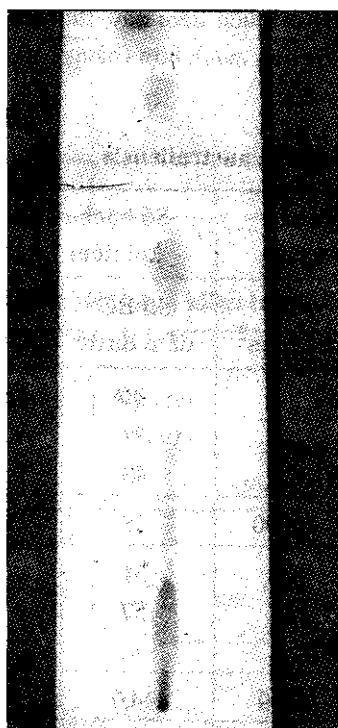
Từ kết quả ở bảng 1 và các ảnh 1, 2 cho thấy, hiệu suất chiết tách các đơn chất terpenoid từ hỗn hợp terpenoid của *C. australiensis* là 37%, trong đó các vết đơn chất số 1 và số 3 (tính từ trên xuống trên sắc ký đồ) có hàm lượng đáng kể (10%).

Giá trị $R_f \times 100$ của các đơn chất terpenoid của loài hải miên *C. australiensis* (*)
(dung môi CHCl_3 - MeOH 99 : 1)

Đơn chất	$R_f \times 100$	Trọng lượng vết mẫu (mg)	%
1	95	5,2	10
2	85	1,5	2,9
3	59	5,4	10,4
4(**)	14	7,5	14,4
5(**)	5		
Tổng cộng		19,6	37,7

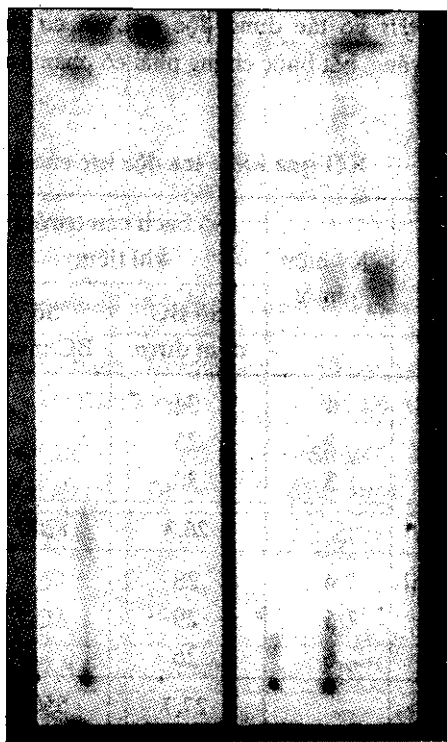
(*) Trọng lượng hỗn hợp chiết tách = 52 mg; bỏ qua các đơn chất quá ít.

(**) Các đơn chất 4 và 5 dính chùm. Kéo đuôi nên gộp chung.



Ảnh 1: Sắc ký đồ hỗn hợp terpenoid của *C. australiensis*

(Dung môi CHCl_3 - MeOH 99 : 1)



Ảnh 2: Sắc ký đồ tách các đơn chất terpenoid của *C. australiensis* (số 1 và số 3)

2. Kiểm tra độc lực của hỗn hợp terpenoid và các đơn chất terpenoid của loài hải miên *C. australiensis*:

Kết quả kiểm tra độc lực và so sánh số lượng bạch cầu trong máu chuột nhắt trắng *Alba swiss* trước khi tiêm dung dịch thử và sau khi tiêm 3 ngày, 7 ngày, được trình bày trong các bảng 2, 3, và 4. Ở người và các động vật có vú nói chung, ở chuột nhắt trắng *Alba swiss* nói riêng, số lượng bạch cầu giao

động từ 4000 đến 9000 / mm³ máu [5, 8], thông thường là 6000 - 7000 bạch cầu / mm³ máu ở người Việt Nam khỏe mạnh [6]. Ở các lô chuột nhất thí nghiệm, khi ở trạng thái bình thường, chúng tôi cũng thu được số liệu tương tự: 6000 - 7000 bạch cầu / mm³ máu. Khi số lượng bạch cầu vượt quá ngưỡng (trên hoặc dưới) này, là cơ thể có vấn đề. Như vậy, từ kết quả của các bảng 2, 3, và 4, cho thấy:

Với liều tiêm 1 mg/ml hỗn hợp terpenoid của *C. australiensis*, sau khi tiêm 3 ngày và 7 ngày, thì số lượng bạch cầu tương ứng trong 1 ml máu chuột nhất trắng là 10600 và 11600, vượt ngưỡng khá cao. Ở các nồng độ nhỏ hơn (0,5 và 0,25 mg/ml), cũng làm cho số lượng bạch cầu trong máu tăng lên. Điều đó chứng tỏ hỗn hợp terpenoid của *C. australiensis* có tác dụng độc đối với cơ thể chuột nhất trắng, bắt buộc chúng phải có phản ứng

tự vệ: tăng số lượng bạch cầu đề kháng với tác nhân ngoại lai xâm nhập vào cơ thể. Hơn nữa, liều độc này được tích lũy với thời gian (xem bảng) mà không phải là giảm đi như với những trường hợp khác, khi độc lực của chất thử là không đáng kể, cơ thể có thể tự giải độc được (bảng 2).

Kết quả kiểm tra độc lực của đơn chất terpenoid số 3 cũng tương tự (bảng 3). Ở liều tiêm 0,5 mg/ml, số lượng bạch cầu trong máu chuột đã tăng từ 6100/mm³ lên 9700/mm³ và 11100/mm³ máu sau 3 và 7 ngày tiêm. Ở liều tiêm 0,25 mg/ml cũng cho thấy rõ độc tính của mẫu thử: số lượng bạch cầu tăng từ 5700/mm³ lên 7200/mm³ và 9500/mm³ máu sau 3 và 7 ngày tiêm.

So sánh độ độc của 2 mẫu thử (hỗn hợp và đơn chất số 3) ở 2 liều tiêm này, thì rõ ràng đơn chất số 3 có độc tính mạnh hơn (bảng 2 và 3).

Bảng 2

Kết quả kiểm tra độc lực của hỗn hợp terpenoid của *C. australiensis*

Liều tiêm	Ký hiệu chuột	Số bạch cầu trước khi tiêm		Số bạch cầu sau khi tiêm 3 ngày		Số bạch cầu sau khi tiêm 7 ngày	
		Số BC đếm được	Số BC/mm ³	Số BC đếm được	Số BC/mm ³	Số BC đếm được	Số BC/mm ³
1 mg/ml	1	24		59		49	
	2	25		38		77	
	3	30		63		48	
TB		26,3	5200	53,3	10600	58	11600
0,5 mg/ml	4	28		29		31	
	5	29		59		57	
	6	26		39		46	
TB		27,7	5500	42,3	8400	44,7	8900
0,25 mg/ml	7	30		36		48	
	8	28		32		42	
	9	28		38		26	
TB		28,7	5700	35,3	7000	38,7	7700
Đối chứng	10	30		32		40	
	11	30		30		30	
	12	27		25		32	
TB		29	5800	29	5800	34	6800

Bảng 3

Kết quả kiểm tra độc lực của đơn chất terpenoid số 3 của *C. australiensis*

Liều tiêm	Ký hiệu chuột	Số bạch cầu trước khi tiêm		Số bạch cầu sau khi tiêm 3 ngày		Số bạch cầu sau khi tiêm 7 ngày	
		Số BC đếm được	Số BC/mm ³	Số BC đếm được	Số BC/mm ³	Số BC đếm được	Số BC/mm ³
0,5 mg/ml	1	21		53		63	
	2	25		40		54	
	3	46		52		50	
TB		30,7	6100	48,3	9700	55,7	11100
0,25 mg/ml	4	30		34		40	
	5	33		38		56	
	6	23		36		46	
TB		28,7	5700	36	7200	47,3	9500
Đối chứng	7	27		30		32	
	8	46		34		33	
	9	38		35		23	
TB		37	7400	33	6600	29,3	5800

Bảng 4

Kết quả kiểm tra độc lực của đơn chất terpenoid số 1 của *C. australiensis*

Liều tiêm	Ký hiệu chuột	Số bạch cầu trước khi tiêm		Số bạch cầu sau khi tiêm 3 ngày		Số bạch cầu sau khi tiêm 7 ngày	
		Số BC đếm được	Số BC/mm ³	Số BC đếm được	Số BC/mm ³	Số BC đếm được	Số BC/mm ³
0,5 mg/ml	1	32		35		30	
	2	30		57		52	
	3	34		32		35	
TB		32	6400	41,3	8300	39	7800
0,25 mg/ml	4	32		39		33	
	5	22		33		30	
	6	45		50		42	
TB		33	6600	40,7	8100	35	7000
Đối chứng	7	27		30		32	
	8	46		34		33	
	9	38		35		23	
TB		37	7400	33	6600	29,3	5800

Như vậy, nếu với nồng độ 1 mg/ml thì độc lực của nó chắc chắn còn cao hơn. Rất tiếc là chúng tôi

không có đủ mẫu để thử ở nồng độ này. Đơn chất số 3 chính là 1 trong những đơn chất terpenoid chính, góp phần vào độc lực của hỗn hợp terpenoid của *C. australiensis*.

Với đơn chất terpenoid số 1, phản ứng của cơ thể chuột nhất là âm tính, tuy số lượng bạch cầu trong máu có tăng nhưng không đáng kể và chưa vượt ngưỡng. Như vậy, đơn chất terpenoid số 1 là sản phẩm không độc đối với cơ thể chuột nhất trắng. Sau 7 ngày tiêm, cơ thể đã phục hồi và trở về trạng thái bình thường thể hiện ở số lượng bạch cầu trong máu là 7000 - 7800 / mm³ (bảng 4).

III- NHẬN XÉT

Qua các kết quả đã trình bày ở trên, cho phép rút ra những nhận xét sau:

1. Hỗn hợp terpenoid chiết rút từ loài hải miên *Cynachyra australiensis* Carter và đặc biệt là đơn chất terpenoid số 3 của nó, có tác dụng độc đối với cơ thể chuột nhất trắng *Alba swiss*, làm tăng số lượng bạch cầu trong máu từ 5000 - 6000 lên lần lượt là 10600 - 11600 / mm³ máu (liều tiêm 1 mg/ml hỗn hợp terpenoid) và 9700 - 11100 / mm³ máu (liều tiêm 0,5 mg/ml đơn chất số 3) sau 3 ngày và 7 ngày thử nghiệm độc tính.

2. Đơn chất terpenoid số 1 của hỗn hợp terpenoid của loài hải miên *C. australiensis* Carter không có tác dụng độc đối với cơ thể chuột nhất trắng.

Tác giả cảm ơn các cộng sự đã tham gia đề tài: CN Lưu Thị Hà, Đỗ Tuyết Nga, DS. Trịnh Đức Hạnh, PTS. Lâm Ngọc Trâm.

CYTOTOXIN ACTIVITY OF TERPENOIDS EXTRACTED FROM CYNACHYRA AUSTRALIENSIS CARTER

CAO PHUONG DUNG

SUMMARY

A terpenoid complex, extracted from the sponge *Cynachyra australiensis* Carter, has strong cytotoxin activity on white mouse body *Alba swiss*, due to increase of the leucocyte number in the blood of the mouse from 5000 - 6000 leu/mm³ of blood (witness) up to 10600 - 11600 leu/mm³ of blood, after the extract was injected into (injected doses are 1 mg/ml, 0,5 mg/ml and 0,25 mg/ml). The toxin activity of the fraction 3 of this terpenoid complex is stronger than the complex one, after injecting 1 dose of 0.5 mg/ml, the leucocyte number in the mouse blood has increased to 9700 - 11100 leu/mm³ of blood, in comparing with 8400 - 8900 leu/mm³ (after 3 days and 7 days injecting).

Ngày nhận bài: 12-2-1998

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Cao Phương Dung, 1966: Tạp chí Sinh học, 18 (4): 20-25.
2. Florante L. et al., 1994: "Biologically active metabolites from Philippine sponges and tunicates". Second Marine Natural Products Workshop, Philippine.
3. Fujita T. et al., 1988: *Planta medica*; ISSN 0032-0943, 5 (5): 414- 417.
4. Khanit S. et al., 1994: Bioactive constituents from some Thai marine sponges. Second Marine Natural Products Worrkshop, Philippine.
5. Khoa huyết học và truyền máu Bệnh viện Bạch Mai, 1978: "Huyết học", I:1-167. NXB Y học, Hà Nội.
6. Nguyễn Thế Khánh và cộng sự., 1990: Hóa nghiệm sử dụng trong lâm sàng, 97-111, NXB Y học, Hà Nội.
7. Nguyễn Văn Dân, Nguyễn Viết Tự, 1985: Phương pháp nghiên cứu hóa học cây thuốc, 292-375. NXB Y học, Hà Nội.
8. Organisation Mondiale de la Santé, Genève, 1982: Manuel des Techniques de base pour le Laboratoire Médical. ISBN 924 254, 451: 351-428.
9. De Pasquale R. et al., 1958: Pharmacological Research Communications, 20 (Suppl. V): 23-26.
10. Scheuer P. J., 1978: Chemical and Biological Perspectives. I: 175-239.
11. Yougli Zhong et al., 1994: Some new bioactive metabolites from algae and sponges of South China Sea. Second Marine Natural Products Workshop, Philippine.

CONTENTS

		Page
1	DANG NGOC THANH : Freshwater prawn genus <i>Macrobrachium</i> Bate, 1868 (Palaemonidae) from the southern part of Vietnam.	1 - 4
2	PHAN KE LOC : Some new records of ferns for the flora of Vietnam.	5 - 8
3	NGUYEN VAN SINH : Proposing an ecological index for using in ecological studies of forest tree populations in the tropical forest ecosystems.	9 -12
4	LE THANH BINH : The antibiotic resistance mechanism of <i>Streptomyces fradiae</i> and <i>Streptomyces kanamyceticus</i> .	13-16
5	DINH THUONG VAN, LE XUAN TU : Purification of 5'-nucleotidase from bull seminal plasma	17-21
6	PHAM VIET CUONG <i>et al.</i> : Some investigations on in vitro culture of cotton (<i>Gossypium hirsutum</i> L.) cultivated in Vietnam.	22-25
7	NGUYEN QUANG PHACH, HOANG MINH HUNG : A first study on aerial insects at low heights and their connections with the biology of edible nest swiftlet (<i>Collocalia fuciphaga</i> Germani Oustalet) in Khanh Hoa province. I - Composition of aerial insects and their distributions.	26-30
8	NGO THI KIM <i>et al.</i> : Some basic elements of the Vietnamese swallow's nest extract.	31-33
9	LE XUAN DONG <i>et al.</i> : Some biological characteristics and production ability of local grey brow feather co duck breed.	34-39
10	TRAN KIEN, NGUYEN KIM TIEN : Some nutrition characters and the development of frog (<i>Rana rugulosa</i> Wiegmann, 1835) bred in Dong Anh district (Hanoi).	40-42
11	NGUYEN HOANG TINH <i>et al.</i> : Study on using <i>Rhinacanthus nasutus</i> (L.) Kurz to produce the MT1 natural pesticide.	43-47
12	DANG HOANG PHUOC HIEN : Molecular weight determination of the enzyme glutamine synthetase from cyanobacteria <i>Spirulina platensis</i> .	48-51
13	NGUYEN THI KIM CUC : Methyl parathion degrading bacteria isolated from soils of Vietnam.	52-55
14	LE THI CHAU <i>et al.</i> : The nitrogen fixation of some azotobacter strains when moved them from artificial medium to natural soil.	56-59
15	CAO PHUONG DUNG : Cytotoxin activity of terpenoids extracted from <i>Cynachyra australiensis</i> Carter.	60-64

MỤC LỤC

		Trang
1	ĐẶNG NGỌC THANH : Giống tôm nước ngọt <i>Macrobrachium</i> Bate, 1868 (Palaemonidae) ở miền Nam Việt Nam .	1 - 4
2	PHAN KẾ LỘC : Một chi và một số loài dương xỉ mới đối với hệ thực vật Việt Nam.	5 - 8
3	NGUYỄN VĂN SINH : Đề xuất chỉ số sinh thái ứng dụng trong nghiên cứu sinh thái quần hợp cây gỗ rừng của hệ sinh thái rừng nhiệt đới.	9 - 12
4	LÊ THANH BÌNH : Cơ chế kháng kháng sinh của <i>Streptomyces fradiae</i> và <i>Streptomyces kanamyceticus</i> .	13-16
5	ĐINH THƯƠNG VÂN, LÊ XUÂN TÚ : Tinh sạch enzym 5'-nucleotidaza từ tinh dịch bò.	17-21
6	PHẠM VIỆT CƯỜNG : Một số kết quả nuôi cấy <i>in vitro</i> bốn giống và tổ hợp lai F ₁ của cây bông (<i>Gossypium hirsutum</i> L.) trồng ở Việt Nam.	22-25
7	NGUYỄN QUANG PHÁCH, HOÀNG MINH HƯNG : Nghiên cứu bước đầu về côn trùng bay trong không khí ở độ cao thấp và mối liên hệ của chúng với sinh học của chim Yến hàng <i>Collocalia fuciphaga</i> Germani ở Khánh Hòa. Phần I. Thành phần khu hệ côn trùng bay trong không khí ở độ cao thấp và sự phân bố của chúng.	26-30
8	NGÔ THỊ KIM và cộng sự : Một số thành phần cơ bản trong dịch chiết của tổ chim Yến hàng <i>Collocalia fuciphaga</i> Germani ở Việt Nam.	31-33
9	LÊ XUÂN ĐỒNG : Một số đặc điểm sinh học và khả năng sản xuất của giống vịt cỏ màu cánh sê.	34-39
10	TRẦN KIÊN, NGUYỄN KIM TIẾN : Đặc điểm dinh dưỡng và tăng trưởng của ếch đồng (<i>Rana rugulosa</i> Viegmann, 1835) trong điều kiện nuôi ở Đông Anh, Hà Nội.	40-42
11	NGUYỄN HOÀNG TỈNH và cộng sự : Nghiên cứu sử dụng cây Kiến cỏ (<i>Rhinacanthus nasutus</i> (L.) Kurz) làm thuốc trừ sâu MT1.	43-47
12	ĐẶNG HOÀNG PHƯỚC HIỀN : Xác định trọng lượng phân tử của enzym glutaminsyntetaza của vi khuẩn lam <i>Spirulina platensis</i>	48-51
13	NGUYỄN THỊ KIM CÚC : Vi khuẩn phân hủy thuốc trừ sâu phân lập từ đất trồng ở Việt Nam.	52-55
14	LÊ THỊ CHÂU và cộng sự : Hoạt tính cố định nitơ của vi khuẩn <i>Azotobacter</i> khi chuyển chúng từ môi trường tổng hợp nhân tạo trở lại môi trường đất trồng tự nhiên.	56-59
15	CAO PHƯƠNG DUNG : Thử nghiệm độc tính của hỗn hợp terpenoid chiết rút từ loài hải miên <i>Cynachyra australiensis</i> Carter.	60-64