

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 21 - SỐ 1

THÁNG 3-1999

HÀ NỘI

CVV 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 UYÊN

Thư ký tòa soạn : Trần Ngọc Trấn

TÊN KHOA HỌC CỦA CÂY CHÈ ĐẮNG Ở VIỆT NAM

NGUYỄN TIẾN BÀN, NGUYỄN KHẮC KHÔI

Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật

Cây Chè đắng (tiếng Tày - Nùng gọi là "Ché khôm"), một loài thực vật có giá trị kinh tế được phát hiện có ở Cao Bằng và một số địa phương khác, lúc đầu được chúng tôi tạm xác định tên khoa học là *Ilex kudingcha* C. J. Tseng (Khô đình trà), thuộc họ Trâm bụi (Aquifoliaceas). Gần đây, trong một chuyến đi công tác tại Côn Minh (Vân Nam, Trung Quốc), chúng tôi có dịp xem nhiều vật mẫu thuộc chi *Ilex* và tra cứu các tài liệu mới xuất bản của Trung Quốc, thì thấy việc định loại loài cây này quả có vấn đề cần phải xem xét một cách nghiêm túc.

Sự phức tạp là ở chỗ khi công bố tên loài *Ilex kudingcha*, C. J. Tseng (1981) đã nhắc đến 10 vật mẫu (Huang 42, Liang 60355, Kao 54124 & 54196; Li 312, 332 & 4950; Wang 43336 và Yeshengsuo 1902 & 1903) được thu từ các vùng khác nhau ở Trung Quốc. Trong đó 2 mẫu đầu (Huang 42 và Liang 60355) được coi là "types", 8 mẫu còn lại là những "paratypes".

Năm 1998, khi nghiên cứu những vật mẫu này, các tác giả Y. X. Feng, S. K. Chen, R. F. Zhao & C. F. Liang Feng & al. nhận thấy chúng không đồng nhất và thuộc những loài khác nhau. Các tác giả này đã phân chia chúng thành 4 nhóm như sau:

1) Liang 60355 (thu ở Quảng Đông), Huang 42 và Li 312 & 332 (đều thu ở Quảng Tây).

2) Kao 54124 (thu ở Quảng Đông), Li 4950 (thu ở Hồ Bắc).

3) Kao 54169 (thu ở Quảng Đông).

4) Wang 43336 (thu ở Quảng Tây), Yeshengsuo 1902 & 1903 (thu ở Hồ Nam).

Theo sự phân tích của Feng et al. thì những mẫu thuộc nhóm thứ nhất rất giống với mẫu type của loài *Ilex kaushue* S. Y. Hu (1949). Theo luật Danh pháp hiện hành, các tác giả này đề nghị xếp *I. kudingcha* C. J. Tseng, p.p. là synonym của *Ilex*

kaushue S. Y. Hu. Những mẫu thuộc các nhóm 2 và 3 được chuyển tương ứng sang các loài *Ilex latifolia* Thunb. (1784) và *I. dunniana* Levl. (1911). Riêng các mẫu thuộc nhóm thứ tư (Wang 43336 và Yeshengsuo 1902 & 1903) được chuyển sang một loài mới - *Ilex pentagona* S. K. Chen, Y. X. Feng & C. F. Liang (1998).

Feng & al. có nêu bảng khóa định loại phân biệt 4 loài vừa nhắc như sau:

- 1A. Cành non (cành 1-3 năm) có 5 cạnh; gân giữa ở mặt lưng lồi lên dạng sóng nhọn; gân bên 12-18 đôi. Quả chín khi khô có nếp dạng mạng lưới, khó vỡ. Đầu nhụy dạng đĩa đầy ..
..... 1. *I. pentagona*
- 1B. Cành non (cành 1-3 năm) hình trụ tròn có nhiều gờ nhỏ; gân giữa ở mặt lưng lồi dạng tròn tù; gân bên 6-10 đôi. Quả chín khi khô rất dễ vỡ. Đầu nhụy dạng đĩa mỏng.
- 2A. Lá dai mỏng; hạt hình thuôn, dài 7 mm, rộng 4 mm, mặt lưng và mặt bên có vân và rãnh dạng mạng lưới. 2. *I. kaushue*
- 2B. Lá dai dày; hạt dài không quá 4 mm.
- 3A. Gân bên tạo với gân giữa một góc 45°. Hạt hình thuôn, dài 4mm, rộng 3 mm, có các vân và hốc dạng khe rãnh không đều nhau, mặt lưng có 3 gờ dọc. 3. *I. latifolia*
- 3B. Gân bên tạo với gân giữa một góc không tới 30°. Hạt gần tròn, dài khoảng 3 mm, rộng 2,5 mm, mặt lưng có các rãnh gờ dạng bàn tay, 2 bên có vân. 4. *I. dunniana*

Trong thực vật chí Vân Nam (Flora Yunnanica), để phân biệt 2 loài *Ilex kaushue* và *I. latifolia*, Y. R. Li (1996: 233) đã nêu ra những đặc điểm định loại như sau:

- Ở *Ilex kaushue*: Cành và cuống hoa có lông tơ thưa; phiến lá dài 13-16 cm, rộng 5-6 cm, gân

bên rõ ở cả 2 mặt. Cụm hoa mọc tùm là dạng chùm giả với trục cụm hoa dài gần 1 cm; đài của hoa đực hình đĩa, nhị ngắn hơn cánh hoa.

- Ở *Ilex latifolia*: Cành và cuống hoa hoàn toàn không có lông; phiến lá dài 8-17 cm, rộng 4,5 - 7,5 cm, gân bên chỉ rõ ở mặt dưới, không rõ ở mặt trên. Cụm hoa dạng tán giả, gần như không có cuống; đài của hoa đực hình đĩa; nhị dài bằng cánh hoa.

Dựa vào các khóa định loại nêu trên, chúng tôi thấy cây Chè đắng mọc ở vùng núi đá vôi thuộc tỉnh Cao Bằng và một số địa phương khác, cần mang tên khoa học đúng đắn (chính thức) là *Ilex kaushue* S. Y. Hu.

Dưới đây, chúng tôi giới thiệu chi tiết về loài này ở Việt Nam.

Tên khoa học: *Ilex kaushue* S. Y. Hu, 1949. Journ. Arnold. Arbor. 30: 372; Y. R. Li, 1996. Fl. Yunnan, 4: 271. - *Ilex kudingcha* C. J. Tseng, 1981. Bull. Bot. Res. North-East. Forest. Inst. 1(1-2): 21, p.p. (excl. specim. Kao 54124 & 54196; Li 4950; Wang 43336, Yesheingsuo 1902 & 1903); H. S. Lo 1993. Colour. Icon. Chin. Med. 2: 362. - *Ilex latifolia* auct. non Thund. [ex Murr.] (1784): L. D. Kha. 1998. Tạp chí Lâm nghiệp, 10/1998: 26.

Tên Việt Nam: Chè đắng, Ché khôm, Khô, dinh trà.

Đặc điểm hình thái: Cây gỗ cao 6-20(35) m, đường kính 20-60(120) cm; cành thô, màu nâu xám, không có lông, cành non hình trụ tròn có nhiều gờ nhỏ. Lá đơn, mọc cách, dai như da; phiến lá hình bầu dục đến thuôn hoặc hình mác ngược, kích thước rất thay đổi: ở cây trưởng thành lá thường dài (11)12-17 cm, rộng (4)5-6 cm; ở cây non lá lớn hơn; ở những cành chồi (do cây đã bị chặt đốn) có lá rất lớn, cỡ 19-25 × 6-8 cm, cá biệt có những lá đạt tới 27-31 × 9-13 cm; chóp lá có mũi nhọn ngắn hoặc tù; gốc hẹp dần; mép lá xẻ răng cưa nhỏ, răng tù và có đầu màu đen; mặt trên của lá màu lục sẫm và láng bóng, mặt dưới lục nhạt, cả 2 mặt đều

không có lông; gân bên 10-14 đôi, tạo với gân giữa một góc lớn hơn 45°; cuống lá dài 1,5-2 cm, Hoa màu trắng ngà, đơn tính khác gốc. Cụm hoa ở nách lá; cụm hoa đực có trục dài cỡ 1 cm, dạng ngù, thường gồm 20-30 hoa có cuống mảnh dài 4-5 mm; đài hoa có đường kính cỡ 3 mm; lá dài 4, hình trứng hoặc tròn dạng tam giác, khi khô mỏng; cánh hoa 4, hình trứng ngược, dài 3,5-4 mm; nhị 4, ngắn hơn hay gần dài bằng cánh hoa. Cụm hoa cái dạng chùm giả, gồm 3-9 hoa, có cuống thô dài 4-6 mm. Quả hạch gần hình cầu, đường kính cỡ 1 cm, ở trên cuống ngắn 2-3 mm, khi chín màu đỏ, chứa 3-4 hạt. Hạt hình thuôn, dài 7 mm, rộng 4 mm, mặt lưng và mặt bên có vân và rãnh dạng mạng lưới (xem ảnh).

Sinh học và sinh thái: Ra hoa tháng 2-4, quả chín tháng 6-8. Mọc rải rác trong rừng thường xanh cây lá rộng vùng núi đá vôi, ở ven suối hoặc trong



Cành Chè đắng mang hoa đực

rừng thưa bên sườn núi, ở độ cao 600-900 m.

Phân bố: Lào Cai (Sa Pa), Cao Bằng (Hạ Lang; An Lạc, Đồng Loan, Đức Quang, Thái Đức; Quảng Hòa; Mỹ Hưng, Tiên Thành; Thạch An: Đức Xuân, Nà Tục, Pác Lùng), Hòa Bình (Lạc Thủy, Phố Sấu), Ninh Bình (Cúc Phương). Còn có ở Trung Quốc (Hồ Bắc, Hồ Nam, Vân Nam, Quảng Tây, Quảng Đông).

Mẫu nghiên cứu: - LÀO CAI, Sa Pa, Đoàn khảo sát thực vật Việt-Trung 2905 fr. (HN). - CAO BẰNG, Hạ Lang, Thái Đức, Bản-Khôi-Tám (12-1996, flower buds), sine num. (HN); An Lạc, Bản-Khôi-Tám (12-1996, large leaves), sine num. (HN); Thạch An, Thái Đức, Bản-Khôi-Tám (4-1997, male flowers), sine num. (HN). - HÒA BÌNH, Lạc Thủy, Phố Sấu, Đoàn Điều tra thực vật (12-4-1970), sine num. (HN). - NINH BÌNH, Cúc Phương, Đoàn khảo sát thực vật Việt-Trung 4879 fr. (HN) [= 2379 (PE)]; N. H. Hiến (11-6-1971, fr.), sine num. (HN).

Giá trị sử dụng: Gỗ mềm, nhưng nếu được ngâm sẽ trở nên dẻo, không bị mối mọt, có thể dùng trong xây dựng nhà cửa, đóng đồ mộc thông thường. Lá dùng uống thay chè, có tác dụng thanh nhiệt, giải độc, điều hòa huyết áp. Dùng cho bệnh sốt nóng khát, đau đầu, đau răng, đau mắt, ăn không ngon miệng và chữa lỵ. Theo tài liệu của Trung Quốc, đây là loại chè thuốc nổi tiếng ở Quảng Tây, được dùng để biểu các quan chức cao cấp thời phong kiến. Uống chè thường xuyên có tác dụng làm trí óc minh

mẫn, lợi tiểu, giúp tiêu hóa, giải khát, giải độc, giữ trọng lượng cơ thể và kéo dài tuổi thọ.

Chè đắng, một loài cây gỗ bản địa của vùng núi đá vôi, là một cây kinh tế có triển vọng cho các vùng cao núi đá, có đồng bào dân tộc ít người sinh sống. Nó rất cần được nhân giống và đưa trồng ở các tỉnh miền núi, phục vụ *Chương trình trồng 5 triệu hecta rừng của Nhà nước*. Tuy mới trồng thử ở một vùng vài điểm tại Cao Bằng, nhưng đồng bào địa phương đã nhận xét "*Chè đắng là loại cây trồng rừng hái lá bán lấy tiền*".

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Auct., 1972: *Ilex*. In: *Iconographia Cormo-phytorum Sinicorum*, 2: 641-656, Pekin.
2. Feng Y. X., S. K. Chen, R. F. Zhao & C. F. Liang, 1998: On the identity of *Kudingcha* in Chinese holly (*Ilex* L.). *Acta Phytotax. Sin.* 36 (4): 353-358.
3. Lê Đình Khả, 1998: Chè đắng, một loài cây có nhiều tác dụng và có thể nhân giống bằng hom. *Tạp chí Lâm nghiệp*, 10: 26-27.
4. Li Y. R., 1996: *Aquifoliaceae*, In: *Flora Yunnanica*, 4: 206-277, Kunming.
5. Lo H. S., 1993: *Ilex kudingcha* C. J. Tseng. In: *Coloured Icones of Chinese Medicine*, 2: 362. Pekin.
6. Tardieu-Blot M. L., 1948: *Aquifoliaceae*. In: *Supplément à la Flore Générale de l'Indo-Chine*, 1: 759-781. Paris.

THE SCIENTIFIC NAME OF BITTER TEA GROWING IN VIETNAM

NGUYEN TIEN BAN, NGUYEN KHAC KHOI

SUMMARY

Bitter tea - a timber tree growing on limestone mountain regions of Cao Bang province and some other areas was firstly identified rudimentally by us as *Ilex kudingcha* C. J. Tseng (*Aquifoliaceae*). After studying many specimens of *Ilex* genus preserved in the Herbarium of the Kunming Institute of Botany (KUN) and consulting new Chinese publications, we confirm that its correct scientific name is *Ilex kaushue* S. Y. Hu.

Bitter tea is a native precious tree of the limestone mountain regions with high economic values (use as substitute of tea and as medicinal plant). It is necessary to propagate and plant this tree in the mountainous regions of Vietnam, in the government program for the cultivation of 5 millions hectares of forests.

Ngày nhận bài: 20-10-1998

GANODERMA TRENGGANUENSE CORNER MỘT LOÀI NẤM LINH CHI MỚI PHÁT HIỆN CÓ Ở VIỆT NAM

LÊ XUÂN THẨM

Viện Nghiên cứu hạt nhân Đà Lạt

Năm 1995, chúng tôi sưu tầm được 2 loài nấm Linh chi, đã đề nghị một loài là *Humphreya* sp. nov. [3, 4], và nay giám định loài thứ hai là *G. trengganuense* Corner, lần đầu tiên được phát hiện có ở Đà Lạt (Lâm Đồng), bổ sung cho khu hệ họ Linh chi Ganodermataceae ở Việt Nam.

I. MÔ TẢ MẪU VẬT

Nấm được thu hái ngẫu nhiên vào tháng 6-8 năm 1995 (mùa mưa), trên gốc cây gỗ lớn thuộc họ Đậu (Fabaceae), đang mục chết dần do bị 4 loài Linh chi ký sinh đồng thời (*Ganoderma trengganuense*, *G. amboinense*, *Amauroderma rugosum* và *A. rude*) và có thêm một loài mộc nhĩ (*Auricularia delicata*) mọc chen vào. Các tán nấm phân bố khá dày đặc, từ khoảng cách 11 cm trên gốc cây đến 2,5 m cách mặt đất, ngoài ra chúng còn mọc trên các rễ cây ngầm dưới đất (Ảnh 1).

Các tán nấm hình quạt, không cuống, tương đối phẳng, phần gốc dính bám vào thân cây thường nổi u cục. Đường kính tán biến động lớn: (5-7) 11-13 cm (15-18), màu đỏ nâu - da cam sáng bóng khi tươi, sau mờ đục do bụi bào tử màu nâu đất bao phủ lên. Nhìn chung, các đặc điểm hình thái rất phù hợp với mô tả gốc của Corner (1983).

Mép tán dày đều đặn, hơi cong xuống, màu kem hơi hung vàng. Tán nấm dày 2,5 - 4,5 cm ở phần gốc, mỏng dần khi ra phía mép. Bề mặt bào tầng khá phẳng, màu kem hơi vàng. Lớp ống nấm thẳng, dày cỡ 1,5-2,2 cm, ở gần mép tán chỉ dày cỡ 1,5-2,5 mm, màu kem nhạt, trở nên vàng hung khi khô. Miệng lỗ đều đặn, hình đa giác, đường

kính biến động: 220-440 μ m (780 μ m), vách ống mỏng cỡ 75-120 μ m, màu kem nhạt. Thịt nấm dày ở phần gốc, tới 1,5-2,2 cm, màu kem hơi vàng, khi khô sẫm nâu. Lớp vỏ trên tán giòn, dày cỡ 180-250 μ m.

Bào tử đâm phóng ra tạo thành những đám bụi màu nâu đỏ. Bào tử có dạng ganodermoid rì nét, hình trứng - trứng cụt, tùy thuộc ở chụp bào tử phẳng căng (umbonate) hay lõm thụt mà thành (truncate) (ảnh 1). Trên kính hiển vi điện tử quét hầu như chỉ thấy dạng trứng cụt, bởi chụp bào tử lõm thụt vào, thể hiện rõ miệng bào tử rộng (ảnh 2), đường kính chiếm tới 30% bề rộng bào tử. Mẫu lõi đáy bào tử thể hiện rất rõ (các dấu mí tên), đây chính là nơi đính của đáy bào tử trên tiêu bính (sterigmata). Những đặc điểm này hoàn toàn tương đồng với bào tử nấm của các loài *Ganoderma*. Kiểu bào tử có lỗ nảy mầm (miệng bào tử - germ pore, aperture) tách biệt ở vị trí đối diện với nơi đính trên đám (basidium) là đặc trưng cơ bản của kiểu ganodermoid, được Corner (1983) phân tích rõ ở loài *G. weberianum*. Điểm khác biệt là ở kiến tạo bề mặt bào tử có dạng lưới đa tạp. Trên kính hiển vi quang học cũng thấy rất rõ các ô lưới với bờ dày, lỗ lưới biến động nhiều (ảnh 1). Kiến tạo lưới của kiểu bào tử humphreyoid là đặc trưng cơ bản để xác lập chi *Humphreya* Stey. [5].

Do vậy, Corner (1983) đã đề xuất ý kiến chuyển *G. trengganuense* vào chi *Humphreya*, nay sau này Moncalvo và Ryvarden cũng tán đồng (1997), theo đó, họ đề nghị chuyển thêm cả loài *G. asperulatum* vì cũng có bào tử dạng lưới [2].

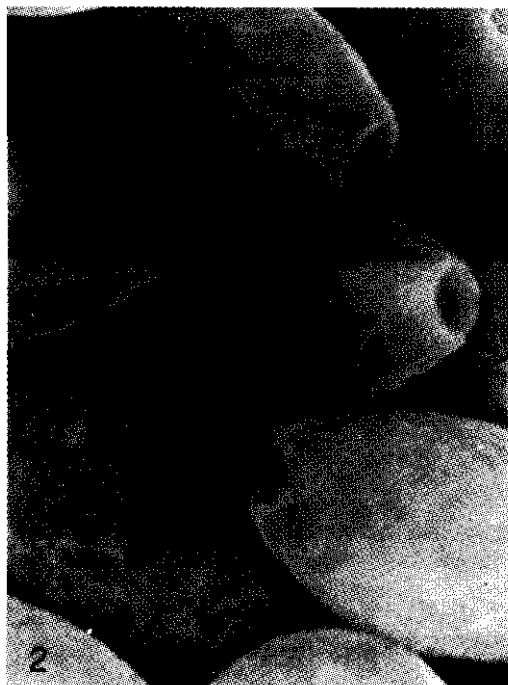
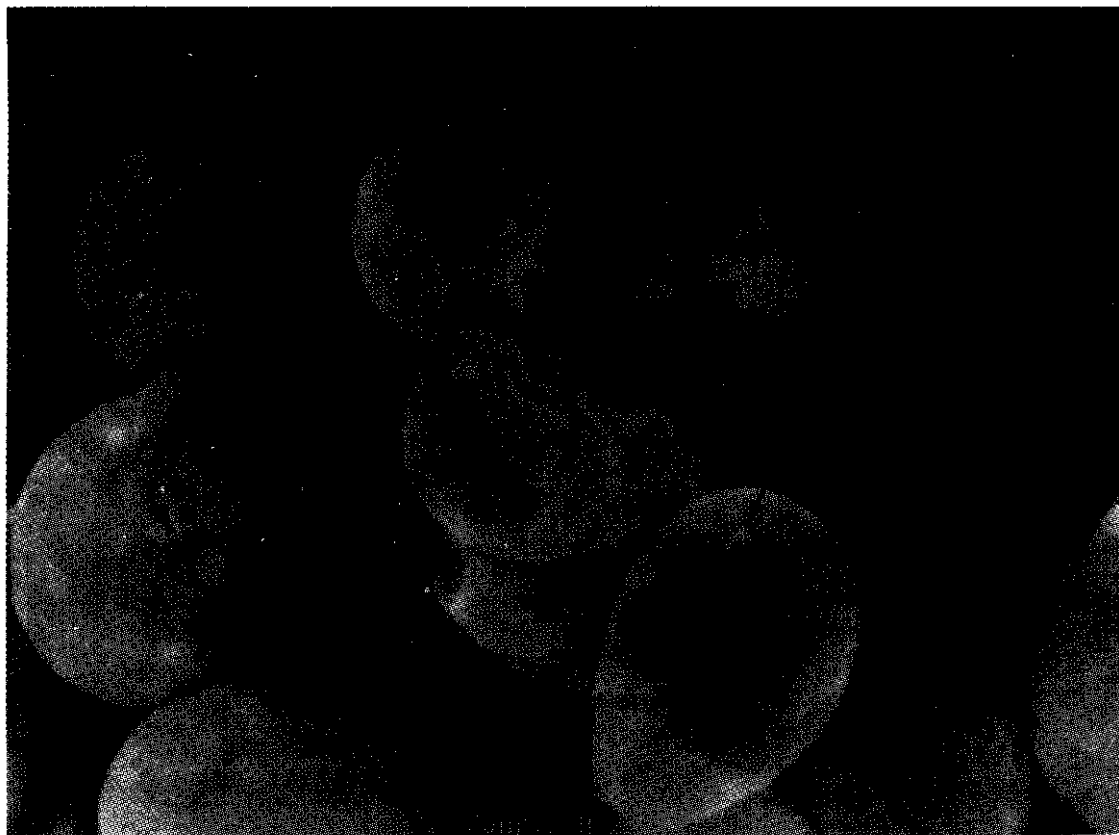
Công trình được sự hỗ trợ kinh phí từ Dự án IFS, Thụy Điển (International Foundation for Science, Sweden)



Ảnh 1. Nấm Linh chi *Ganoderma trengganuense* Corner mới tìm thấy ở Việt Nam

1, 2: thể quả mọc trên cây gỗ lớn tới độ cao 2,5 m tính từ mặt đất

3: bào tử đằm chụp trên kính hiển vi quang học với vật kính dầu ($\times 100$) thấy rõ ô lưới



**Ảnh 2. Bào tử nấm Linh chi
Ganoderma trengganuense Corner
tìm thấy ở Việt Nam**

**1: Chụp trên SEM tại Đại học
Wollongong Ostrâyliã, cho thấy ô lưới
da tạp ở bề mặt và mẫu lõi đáy bào tử
(dấu mũi tên) $\times 5000$**

**2: Chụp trên SEM tại Đại học
Bách khoa Hà Nội, cho thấy
mẫu lõi đáy (dấu mũi tên) và
miệng bào tử rộng $\times 5000$**

Có lẽ không loại trừ rằng còn nhiều loài *Ganoderma* khác cũng có kiểu bào tử dạng lưới, bởi vì cho đến nay các phân tích cấu trúc bào tử các loài *Ganoderma* của nhiều tác giả còn chưa được đầy đủ và chính xác, và như thế thì ranh giới hệ thống của chúng còn phải xem xét lại, nhất là mối quan hệ của hai chi *Ganoderma* Karst. và *Humphreya* Stey.

Kết quả phân tích cấu trúc ADN của gien ribosom (các vùng ITS1,2 và LSU D2) cho thấy *G. trengganuense* rất gần gũi với *Humphreya* sp. nov.. Điều lý thú là chúng có cấu trúc bào tử đảm cũng rất giống nhau (Lê Xuân Thám, 1998 [5]. Sự phù hợp giữa các dẫn liệu phân tử và hình thái, đặc biệt là cấu trúc bào tử với các loài *Humphreya* là cơ sở cho Moncalvo và Ryvarden (1997) [2] đề nghị hoặc nên chuyển *G. trengganuense* Corner và *G. asperulatum* (Murr.) Bres. vào chi *Humphreya* Stey., hoặc có lẽ chỉ nên coi *Humphreya* là một phân chi trong chi *Ganoderma* Karst. mà thôi (phân chi này khi ấy đương nhiên sẽ bao gồm toàn bộ các loài *Humphreya* hiện biết và *G. trengganuense*, *G. asperulatum*,...). Phân tích so sánh các dẫn liệu phân tử và hình thái trong nghiên cứu hệ thống tiến hóa và quan hệ chủng loại phát sinh của họ nấm Linh chi Ganodermataceae là những bước tiếp theo, giúp cho phân loại chính xác các loài, đặc biệt có tầm quan trọng thực tiễn là các chủng loài đang được nuôi trồng công nghiệp.

Phân bố: Mới tìm thấy ở hai địa điểm là Kemaman (Malaixia) và Đà Lạt (Lâm Đồng), Việt Nam. Có thể suy đoán rằng sẽ tìm thấy ở các vùng khác thuộc Đông Nam Á.

II. GIÁ TRỊ CỦA LOÀI

Theo phân loại hình thái cổ điển, *G. trengganuense* Corner có thể xếp vào nhóm Hồng chi (Xích chi, Đơn chi,...), tức là nhóm Linh chi đỏ, có giá trị cao trong y-dược học. Phân tích sơ bộ cho thấy hàm lượng triterpenoid tổng số khá cao ($\approx 1\%$). Đây là nhóm hoạt chất cơ bản của nấm Linh chi, quyết định hoạt tính hạ huyết áp, ức chế sinh tổng hợp cholesterol, giải độc gan và chống ung thư [6]. Nhóm polysaccharit gồm

nhiều phân đoạn có hoạt tính chống khối u là đặc trưng cơ bản của các nấm Linh chi, được nêu rõ là phổ biến ở các loài. Do vậy, việc phát hiện *G. trengganuense* Corner góp phần làm cho phong phú thêm tính đa dạng sinh học và tài nguyên nấm dược liệu của nước ta.

III. NGHIÊN CỨU NUÔI TRỒNG

Chưa có tài liệu nghiên cứu nuôi trồng bảo tồn *G. trengganuense*, có lẽ vì đây là loài rất hiếm gặp. Trong điều kiện phòng thí nghiệm, chúng tôi đã tiến hành tách giống nguyên chủng từ thể quả tươi, nuôi cấy hệ sợi trên môi trường PGA với dịch chiết khoai tây. Hệ sợi mọc khá chậm, tốc độ đạt khoảng 65-68 $\mu\text{m/h}$. Nuôi trồng trên cơ chất tổng hợp theo qui trình của chúng tôi, cấy giống 9-12 ngày tuổi [7]. Sau 26-33 ngày ủ trong tối, nấm bắt đầu hình thành mầm thể quả, chuyển qua buồng tưới ẩm, có ánh sáng khuếch tán nhẹ, cỡ 300-400 lux, nhiệt độ $22^{\circ} \pm 3^{\circ}\text{C}$. Kết quả cho thấy *G. trengganuense* có nhiều đặc điểm và chu trình sinh trưởng, phát triển khá tương đồng với loài Hồng chi mới *Humphreya* sp. nov. đã được công bố, cho thu hoạch thể quả hoàn chỉnh sau 65-80 ngày [8].

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Corner E. J. H., 1983: Ad Polyporaceas I - Amauroderma and Ganoderma. Beiheft zur Nova Hedwigia 75, J. Cramer, Vaduz, 182 pp.
2. Moncalvo J. M. and Ryvarden L., 1997: A nomenclatural study of the Ganodermataceae Donk. Synopsis Fungorum 11. Fungiflora-Oslo-Norway, 114 pp.
3. Lê Xuân Thám et al., 1995a: Góp phần nghiên cứu họ Linh chi Ganodermataceae Donk: Tìm thấy chi mới ở Việt Nam: *Humphreya* Steyaert. Tạp chí Sinh học, Số 4, Hà Nội.
4. Lê Xuân Thám et al: 1995b: Découverte des taxa ayant une signification phylogénétique dans la famille de Ganodermataceae Donk. Revue Pharmaceutique, No. 1, Hanoi.

(Xem tiếp trang 33)

BỔ SUNG MỘT LOÀI MỚI THUỘC CHI HẤP LINH - HAPALINE SCHOTT (HỌ RÁY - ARACEAE) CHO HỆ THỰC VẬT VIỆT NAM

NGUYỄN VĂN DƯ

Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật

Trong hệ thực vật Việt Nam, Hấp linh Hapaline là một chi nhỏ của Ráy Araceae, trước đây chỉ mới biết được có 2 loài là Hấp linh côlani *H. colaniae* Gapnep [1, 5, 6] và Hấp linh bentam *H. benthamiana* Schott [7]. Tháng 11-1996, trong chuyến khảo sát tại khu bảo tồn thiên nhiên Na Hang, tỉnh Tuyên Quang, các cán bộ nghiên cứu họ Ráy thuộc phòng Thực vật, Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật và Vườn Thực vật Missouri (Hoa Kỳ), đã thu thập được mẫu vật của một loài thuộc chi này và đưa về trồng tại Hà Nội. Khi cây ra hoa, qua phân tích các đặc điểm hình thái chúng tôi khẳng định đó là loài Hấp linh lá elip *H. ellipticifolia* C.Y. Wu et H. Li, lần đầu tiên được ghi nhận có ở Việt Nam. Loài này rất gần gũi với loài *H. benthamiana* Schott nhưng phân biệt bởi là hình elip, 2 thùy sau của lá gần như song song với nhau và bầu dạng chai. Cũng qua việc phân tích mẫu sống, chúng tôi thấy các hoa sắp xếp thành hai hàng dọc, hay như trong mô tả gốc [2], là về một phía chứ không phải xếp một hàng dọc như mô tả của Boyce [7].

Hapaline ellipticifolia C.Y. Wu et H. Li, 1977, *Acta Phytotax. Sin.* 15 (2): 104 fig. 7 (1) ("*ellipticifolium*"); C.Y. & H. Li, 1979, *Fl. Yunan.* 2: 775 ("*ellipticifolium*"); H. Li, 1979; *Flora Reipublicae Popularis Sinicae* 13 (2): 65, fig. 12 (1-5) ("*ellipticifolium*"); P. C. Boyce, 1996, *Kew Bull.* 51 (1): 78, fig. 6. Hấp linh lá elip.

Typus: China, Yunan, hekou, Manlai, *Cai Khe-hua* 198, (holotype KUN (photo!); isotypes K (photo!), KUN, YUNU n.v.).

Cây thảo; thân rễ màu nâu đen, dài 2-3 cm, đường kính 4-5 cm; rễ dài 5-7 cm, đường kính 0,5 mm, phân nhánh thứ cấp. Lá 2-3(4) cùng với

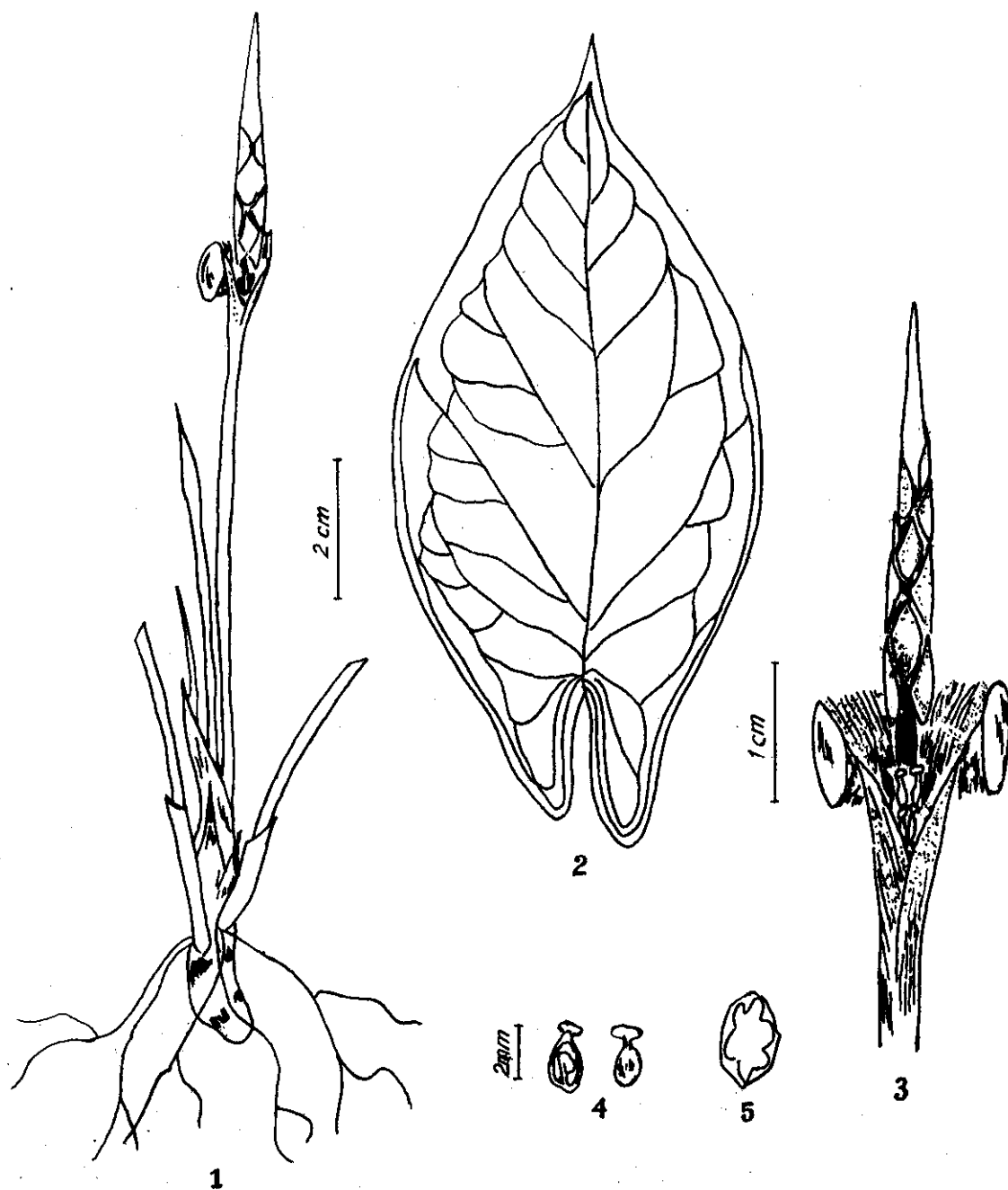
hoa, cuống lá xanh lục, dài 9-7 cm, đường kính 4-6 mm; phiến lá lục thẫm ở mặt trên, nhạt hơn ở mặt dưới, hình elip rộng, dài 8-15 cm, rộng 3-5 cm, đỉnh có mũi nhọn dài 1-2 cm, gốc có 2 thùy nhọn, gần như song song với nhau; 7-9 cặp gân bên cách nhau không đều, từ 1 - 2 cm, tập trung tại một gân chung cách mép 1,5-5(-7) mm. Cụm hoa xuất hiện khi lá năm cũ vẫn tồn tại hoặc trước khi lá năm mới xuất hiện; 1-4 cụm hoa, mỗi cụm có 3 lá dạng vảy (cataphyll), hoa có mùi thơm mát khi nở. Cuống cụm hoa hình trụ, độ dài khoảng 9 cm, màu hồng nhạt, có nhiều vân nâu đen xin vòng quanh. Mo mặt trong cũng như mặt ngoài hồng nhạt, còn khoảng giữa dọc theo màu lục đen, hơi có ánh vàng, đen thẫm ở phần gốc. Mo chia hai phần, phần gốc cuộn lại thành ống dạng phễu, dài 1-5 cm, phần phiến hình elip tới hình mác rộng, đỉnh nhọn, dài 3,5 cm rộng 1,5 cm, cuộn tròn ra ngoài khi hoa nở để lộ gần như toàn bộ bông mo. Trục mang hoa dài gần bằng mo, phần mang hoa cái dài khoảng 1,5 cm, liền dính liền với phần gốc của mo, mặt kia mang 7-10 hoa xếp thành hai hàng dọc; phần mang hoa đực màu ngà, gần hình trụ, dài khoảng 2,5 cm, mang các hoa xếp tách biệt nhau. Bầu hình chai, dài 10 mm, đường kính 1 mm, núm nhụy màu hồng, hình elip có một cạnh lõm vào chia núm nhụy thành 2 thùy, kích thước khoảng 0,3 x 1 mm, vòi nhụy rất ngắn. Hoa đực hình 4-6 cạnh dài khoảng 5 mm rộng 2-3 mm, gồm nhiều ô phần dính lại với nhau mép mang tới 6 nhị bất thụ, khoảng 0,5 mm.

Mẫu vật nghiên cứu: Tuyên Quang, Na Hang 22°10' N, 105°24' E, độ cao khoảng 650 m so với mặt biển, N. V. Dzu 192 (HN).

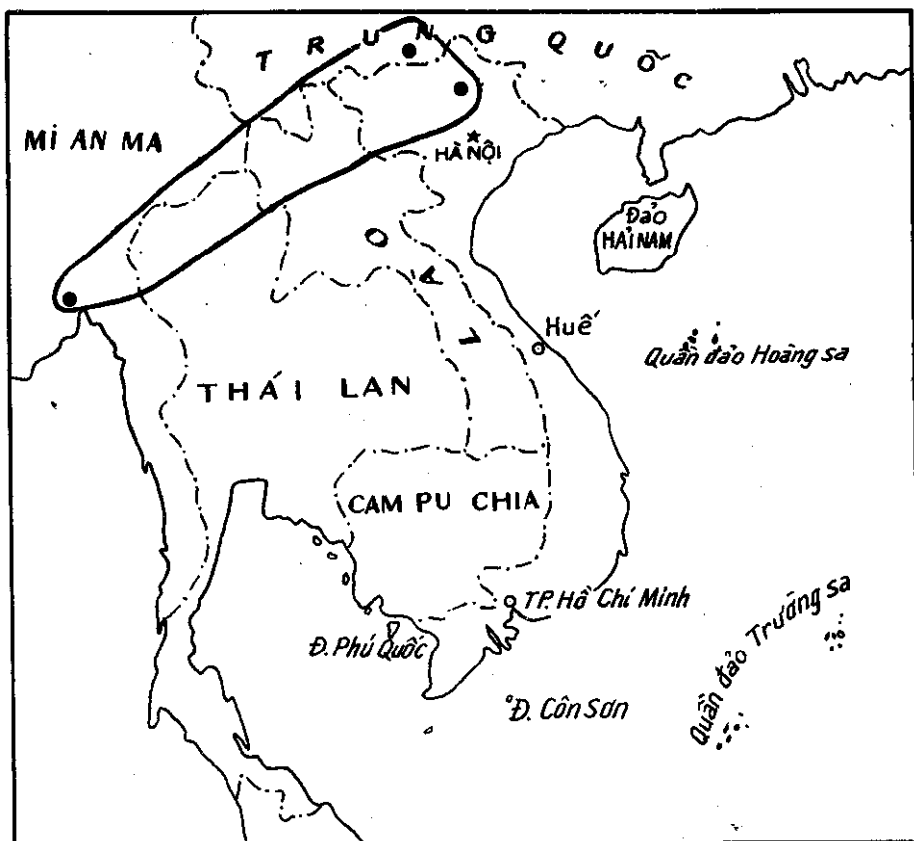
Phân bố: Trung Quốc (Hà Khẩu), Mianm

(Pegu), Việt Nam (Tuyên Quang). Qua đây, có thể
khoanh vùng phân bố của loài này nhưng không loại
trừ nó còn có thể gặp ở bắc Thái Lan và bắc Lào.

Nơi sống: Trên đất dưới tán rừng núi đá vôi, ở
độ cao 250 - 650 m so với mực nước biển. Ra hoa
tháng 2-3 (ở Trung Quốc, tháng 4).



Hình 1. *Hapaline ellipticifolia* C.Y. Wu et H. Li: 1. Sự phát hoa của cây, 2. Phiến lá, 3. Bông mo, 4. Hoa cái, 5. Hoa đực.



Hình 2. Phân bố của *Hapaline ellipticifolia* C.Y. Wu et H. Li

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Gagnepain F., 1942: Flore générale de l'Indo-Chine Lecomte 6 (9): 1174-1181. Paris.
2. Wu. C. Y. et H. Li, 1977: Acta Phytotax. Sin. 15 (2): 104.
3. Wu C. Y. et H. Li, 1979: Flora Reipublicae Popularis Sinicae, 13 (2): 65. China.

4. Wu C. Y. et H. Li, 1979: Fl. Yunan, 2: 775 China.
5. Phạm Hoàng Hộ, 1993: Cây cỏ Việt Nam, 391): 416-453. Montréal.
6. Nguyễn Văn Dư, 1994: Tạp chí Sinh học, 16 (4), số chuyên đề: 108-115.
7. Boyce P. C., 1996: Kew Bull. 51 (1): 63-82.

NEW RECORD OF GENUS HAPALINE (ARACEAE) FOR THE FLORA OF VIETNAM

NGUYEN VAN DU

SUMMARY

Hapaline ellipticifolia C.Y. Wu et H. Li has been discovered in Tuyen Quang province and described for the first time from living specimen. It grows on land under shade of the limestone mountain forest. It is close to *H. benthamiana* Schott but distinguished from which by elliptic leaves, parallel posterior lobes and bottle-shaped ovaries. It is distributed in Southwest China, North Vietnam and Burma.

Ngày nhận bài: 28-1-1998

KẾT QUẢ KHẢO SÁT BƯỚC ĐẦU HỆ ÉCH NHÁI-BÒ SÁT Ở VÙNG RỪNG TÂY QUẢNG NAM

LÊ NGUYỄN NGẬT

Trường đại học Sư phạm - ĐHQG Hà Nội

NGUYỄN VĂN SÁNG

Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật

Vùng rừng Tây Quảng Nam là một vùng rừng rộng lớn của nước ta chưa được điều tra, hiện còn thiếu các dẫn liệu về thực vật, động vật nói chung và ếch nhái - bò sát nói riêng. Chúng tôi tiến hành khảo sát với mục tiêu đánh giá tính đa dạng sinh học và khả năng thiết lập khu bảo tồn thiên nhiên ở đây.

I. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Cuối tháng 11, đầu tháng 12 năm 1993 đã tiến hành khảo sát 8 ngày ở huyện Phước Sơn và từ 2 đến 28 tháng 4 năm 1997, tiếp tục khảo sát trên 7 tuyến chính ở huyện Giàng, huyện Hiên.

Chúng tôi sử dụng các phương pháp điều tra truyền thống, tiến hành thu mẫu cả sáng, chiều, tối. Mẫu được định hình trong cồn 70°, lập phiếu cho từng cá thể; những mẫu hiếm được chụp ảnh để lưu giữ. Hơn 230 mẫu thu được hiện để ở Bảo tàng động vật của Trường ĐHSP, Đại học Quốc gia và của Viện sinh thái và tài nguyên sinh vật. Quan sát trên hiện trường và trong dân, cả mẫu sống, lẫn mẫu khô (phơi hoặc sấy trên bếp) và các di vật như da trần, mai-yếm rùa. Phân biệt tiếng kêu (với tắc kè, ếch suối, cóc nước...) hoặc vết bò trên cát của kỳ đà. Điều tra qua các điểm thu mua động vật, các chợ sắn, và già bán, kết hợp thăm tra qua tranh, ảnh cùng với kinh nghiệm của bản thân.

Để nghiên cứu sự phân bố, dựa vào hiện trạng rừng, chúng tôi chia thành 9 loại sinh cảnh:

1. Rừng nguyên sinh (ít hoặc chưa bị tác động)
2. Rừng thứ sinh (bị tác động đáng kể)

3. Rừng tre nứa
4. Rừng phục hồi sau nương rẫy
5. Nương rẫy
6. Trảng cỏ cây bụi
7. Sông suối, ven sông suối
8. Khu dân cư
9. Ruộng canh tác có nước.

Để định loại, chúng tôi sử dụng các tài liệu của Bourret (1943), Tay-lor (1962), Đào Văn Tiến (1978-1982), Er-MiZhao và Kraig Adler (1993).

II. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

1. Về thành phần loài:

Từ kết quả nghiên cứu và kế thừa những công trình có liên quan đến vùng Tây Quảng Nam của các tác giả khác đã công bố, chúng tôi thống kê được 66 loài (chiếm 19,41% số loài ếch nhái, bò sát đã biết ở Việt Nam), gồm 44 loài bò sát thuộc 13 họ, 2 bộ (phân bộ thằn lằn 17 loài, phân bộ rắn 17 loài, bộ rùa 10 loài - chiếm 1/3 số loài rùa đã biết ở Việt Nam và 22 loài ếch nhái thuộc 6 họ, 1 bộ (bảng 1).

Những họ có nhiều loài là: Scincidae 5 loài, Emydidae 6 loài, Colubridae 10 loài, Ranidae 10 loài. Tuy nhiên, so với những khu vực khác, thì bộ Testudinata, phân bộ Lacertilia và giống Rhacophorus có số loài tương ứng phong phú hơn. Thành phần loài ở đây cũng nhiều hơn so với Vườn Quốc gia Bạch Mã (Thừa Thiên - Huế) và khu rừng đặc dụng Ngọc Linh (bảng 2).

Bảng 1

Thành phần loài bò sát, ếch nhái ở Tây Quảng Nam

Số TT	Tên Việt Nam	Tên khoa học	Mức độ đe dọa	Nguồn tư liệu				Sinh cảnh								
				E	F	G	H	1	2	3	4	5	6	7	8	9
	I. LỚP BÒ SÁT	I. REPTILIA														
	Bộ có vảy	Squamata														
	Họ tắc kè	Gekkonidae														
1	Tắc kè	<i>Gekko gecko</i>	T	+	+			+	+							
2	Thạch sùng đuôi sần	<i>Hemidactylus frenatus</i>				+										+
3	Thạch sùng	<i>Hemidactylus</i> sp.				+										+
	Họ Nhông	Agamidae														
4	Ô rô cáp ra	<i>Acanthosaura capra</i>				+		+	+							
5	Nhông em ma	<i>Calotes emma</i>				+		+	+	+	+	+	+			
6	Nhông xám	<i>Calotes mystaceus</i>				+		+	+	+	+	+	+			
7	Thằn lằn bay dốm	<i>Draco maculatus</i>				+		+	+							
8	Rồng đất (tò te)	<i>Physignathus cocincinus</i>	V	+	+				+					+		
	Họ Thằn lằn bóng	Scincidae														
9	Thằn lằn eme chỉ	<i>Eumeces quadrilineatus</i>					+									
10	Thằn lằn bóng hoa	<i>Mabuya multifasciata</i>				+			+	+	+	+	+			+
11	Thằn lằn bóng	<i>Mabuya</i> sp.				+			+							
12	Thằn lằn đuôi đỏ	<i>Scincella rufocaudata</i>			+	+			+		+	+	+			+
13	Thằn lằn vạch	<i>Scincella vittigerum</i>					+									
14	Thằn lằn phê nô sao	<i>Sphenomorphus stellatus</i>					+									
	Họ Thằn lằn chính thức	Lacertidae														
15	Liu diu chỉ	<i>Takydromus sexlineatus</i>				+	+				+	+	+	+		+
	Họ kì đà	Varanidae														
16	Kì đà vân	<i>Varanus nebulosus</i>	V	+	+					+					+	

A	B	C	D	E	F	G	H	1	2	3	4	5	6	7	8	9
17	Kì đà hoa	<i>Varanus salvator</i>	V	+	+				+					+		
	Họ trăn	Boidae														
18	Trăn đất	<i>Python molurus</i>	V	+					+							
19	Trăn gấm	<i>Python reticulatus</i>	V	+					+							
	Họ rắn nước	Colubridae														
20	Rắn roi thường	<i>Ahetulla prasina</i>		+	+				+	+	+		+			
21	Rắn sãi thường	<i>Amphiesma stolata</i>			+				+	+	+		+			
22	Rắn cườm	<i>Chrysopelea ornata</i>				+			+							
23	Rắn nhiều đai	<i>Cylophiops multicinctus</i>				+			+							
24	Rắn leo cây	<i>Dendrelaphis pictus</i>		+	+				+	+	+		+			
25	Rắn sọc dưa	<i>Elaphe radiata</i>		+	+					+	+		+		+	
26	Rắn bông chì	<i>Enhydryis plumbea</i>		+	+										+	+
27	Rắn ráo thường	<i>Ptyas korros</i>	T	+						+	+		+		+	
28	Rắn hoa cỏ nhỏ	<i>Rhabdophis subminiatus</i>				+				+	+		+		+	
29	Rắn nước	<i>Xenochrophis piscator</i>		+	+								+	+	+	+
	Họ rắn hổ	Elapidae														
30	Rắn cạp nia nam	<i>Bungarus candidus</i>		+		+			+						+	
31	Rắn cạp nong	<i>Bungarus fasciatus</i>	T	+	+				+		+				+	
32	Rắn hổ mang	<i>Naja naja</i>	T	+	+				+						+	
33	Rắn hổ chúa	<i>Ophiophagus hannah</i>	E	+	+				+							
	Họ rắn lục	Viperidae														
34	Rắn lục	<i>Trimeresurus sp.</i>		+					+	+		+				
	Bộ rùa	Testudinata														
	Họ rùa đầu to	Platysternidae														
35	Rùa đầu to	<i>Platysternum megacephalum</i>	R	+	+	+									+	
	Họ rùa đầm	Emydidae														
36	Rùa Trung bộ	<i>Annamemys anamensis</i>					+									
37	Rùa hộp trán vàng	<i>Cistoclemmys galbinifrons</i>	V		+	+			+	+						
38	Rùa hộp ba vạch	<i>Cuora trifasciata</i>	V	+	+				+	+						

A	B	C	D	E	F	G	H	1	2	3	4	5	6	7	8	9
39	Rùa đất spengle	<i>Geoemyda spengleri</i>		+					+							
40	Rùa sa nhân	<i>Pyxidea mouhoti</i>				+		+	+							
41	Rùa bốn mắt	<i>Sacalia quadriocellata</i>				+										
	Họ rùa núi	Testudinidae														
42	Rùa núi vàng	<i>Indotestudo elongata</i>	V	+					+							
43	Rùa núi viễn	<i>Manouria impressa</i>	V	+	+	+		+	+							
	Họ ba ba	Trionychidae														
44	Ba ba gai	<i>Palea steindachneri</i>			+	+	+								+	
	II. LỚP ẾCH NHÁI	II. AMPHIBIA														
	Bộ không đuôi	Anuara														
	Họ cóc bùn	Pelobatidae														
1	Cóc mây lớn	<i>Megophrys major</i>				+			+							
	Họ cóc	Bufonidae														
2	Cóc rừng	<i>Bufo galeatus</i>	R			+		+	+							
3	Cóc nhà	<i>Bufo melanostictus</i>				+						+			+	
	Họ nhái bén	Hylidae														
4	Nhái bén nhỏ	<i>Hyla simplex</i>					+									
	Họ ếch nhái	Ranidae														
5	Cóc nước sần	<i>Ooeidozyga lima</i>								+	+					
6	Cóc nước nhẵn	<i>Phrynoglossus levis</i>														
7	Chàng an đéc sơn	<i>Rana andersoni</i>	T			+									+	
8	Chấu chuộc	<i>Rana guentheri</i>				+									+	
9	Ếch nhèo (ếch trơn)	<i>Rana kuhlii</i>				+									+	
10	Chàng lưỡi	<i>Rana leptoglossa</i>					+	+							+	
11	Ngóe (nhái)	<i>Rana limnocharis</i>				+	+		+	+	+	+	+	+	+	+
12	Ếch suối	<i>Rana nigrovittata</i>				+	+								+	
13	Ếch bám đá	<i>Rana ricketti</i>				+	+								+	
14	Ếch đồng	<i>Rana rugulosa</i>			+	+										+
15	Ếch gai sần	<i>Rana verrucospinosa</i>			+		+								+	

A	B	C	D	E	F	G	H	1	2	3	4	5	6	7	8	9
	Họ ếch cây	Rhacophoridae														
16	Ếch cây mép trắng	<i>Rhacophorus leucomystax</i>		+	+	+			+	+	+	+	+	+	+	+
17	Ếch cây chân đen	<i>Rhacophorus nigropalmatus</i>	T			+								+		
18	Ếch cây đốm	<i>Rhacophorus notater</i>				+								+		
19	Ếch cây báo	<i>Rhacophorus pardalis</i>				+								+		
	Họ nhái bầu	Microhylidae														
20	Nhái bầu béc mơn	<i>Microhyla berdmorei</i>				+							+		+	
21	Nhái bầu hoa	<i>Microhyla ornata</i>				+					+		+		+	
22	Nhái bầu vẽ	<i>Microhyla picta</i>					+									

Chú thích:

E: điều tra

F: quan sát

G: sưu tầm

H: tài liệu

T: bị đe dọa - Threatened

V: dễ nguy cấp - Vulnerable

E: đang nguy cấp - Endangered

R: hiếm - Rare

Bảng 2

Số loài ếch nhái, bò sát ở Tây Quảng Nam so với Vườn Quốc gia Bạch mã và Rừng đặc dụng Ngọc Linh

Khu rừng	Số loài	Số họ	Số bộ
Tây Quảng Nam	66	19	3
Bạch Mã	49	15	3
Ngọc Linh	53	19	3

2 Về mức quý hiếm:

Có 18 loài (27,27% số loài trong vùng) được ghi trong sách Đỏ Việt Nam (15 loài bò sát và 3 loài ếch nhái). Trong đó, có 1 loài cấp E: *Ophiophagus hannah*; 9 loài cấp V: *Physignathus cocincinus*, *Varanus nebulosus*, *Varanus salvator*, *Python molurus*, *Python reticulatus*, *Cistoclemmys galbinifrons*, *Cuora trifasciata*, *Indotestudo elongata*, *Manouria impressa*; 2 loài cấp R: *Platysernum megacephalum*, *Bufo galeatus*; 6 loài cấp T: *Gekko gecko*, *Ptyas korros*, *Bungarus fasciatus*,

Naja naja, *Rana andersoni*, *Rhacophorus nigropalmatus*.

3. Về phân bố:

Bổ sung và mở rộng vùng phân bố của 58 loài (87,88%) đến Tây Quảng Nam. Bốn loài: rùa hộp ba vạch, ếch bám đá, ếch gai sần và ếch cây chân đen được nối liền tục từ phía Bắc tới Tây Nguyên. Loài thằn lằn đuôi đỏ được mở rộng từ Kon Hà Nừng (Gia Lai) đến Hiên (Quảng Nam). Ở sinh cảnh rừng thứ sinh, do có diện tích lớn, điều kiện sống đa dạng nên tập trung nhiều loài nhất: 34 loài (51,52%); tiếp đến sinh cảnh khu dân cư (gồm các

bán làng, vườn cây, ao, rãnh nước) có 20 loài. Các sinh cảnh rừng nguyên sinh (thường ở độ cao trên 600 m), rừng tre nứa, rừng phục hồi sau nương rẫy, trảng cỏ - cây bụi (thường chiếm những khu vực nhỏ hoặc thiếu nước) và sinh cảnh sông suối có số loài ít hơn, từ 12 đến 17 loài. Những sinh

cảnh có số loài ít nhất là: nương rẫy và ruộng canh tác có nước, từ 7 đến 8 loài; có lẽ do ở đây thành phần thực vật, động vật nghèo và con người tác động thường xuyên qua cuộc xới, gieo trồng, đôi vụ... Riêng lớp ếch nhái thì ở sinh cảnh sông suối có tới 11 loài (50%) (bảng 3).

Bảng 3

Số loài ếch nhái - bò sát phân bố theo sinh cảnh

Sinh cảnh	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Bò sát	10	29	10	13	5	12	6	13	2
Ếch nhái	2	5	3	3	3	5	11	7	5
Tổng (%)	12 18,18	34 51,52	13 19,70	16 24,24	8 12,12	17 25,76	17 25,76	20 30,30	7 10,61

Trong hệ sinh thái rừng, ếch nhái - bò sát có quan hệ dinh dưỡng với nhiều sinh vật khác. Nhóm ăn côn trùng có: tắc kè, ô rô, nhông cánh, liu diu chỉ, thần lằn vạch, cóc mây lớn, cóc rừng, ếch nhèo, ếch suối... Nhóm ăn cá có: kỳ đà, rắn nước, rắn bông chì, rắn cạp nia, rắn cạp nong, rùa đầu to. Nhóm ăn ếch nhái có: rắn sãi thường, rắn leo cây, rắn roi, rắn hoa cỏ, liu diu... Nhóm ăn bò sát có: rắn cườm, rắn khiếm, rắn hổ đất, rắn răng sói, rắn ráo răng nhỏ, rắn hổ chúa, rắn cạp nong... Nhóm ăn chim có rắn sọc dưa (Elaphe). Nhóm ăn thú có: rắn sọc dưa, rắn hổ mang, trăn. Nhóm ăn thực vật có nhiều loài rùa cạn, rùa nước ngọt. Một số loài thuộc nhóm rộng thực: ngóe ăn 18 loại thức ăn, ếch đồng 22 loại. Trong dạ dày cóc nhà thấy có giun đất, ốc, nhện, cuốn chiếu, sâu-bướm, bọ rùa, ruồi, châu chấu, kiến, lá cỏ... Mặt khác, ếch nhái - bò sát lại là con mồi của nhiều loài động vật như diều hâu, diều mướp, gà, vịt, bìm bịp... Thậm chí ở một số loài, có hiện tượng con lớn ăn thịt con nhỏ cùng loài.

Do trong rừng vẫn có người định cư và người từ nơi khác đến với nhiều mục đích, nên một số loài bò sát bị khai thác làm thương phẩm như: rùa hộp ba vạch, trăn, kỳ đà, rắn hổ mang, hổ chúa, rùa hộp (trong vùng có 11 điểm thu mua động vật). Nhiều loài ếch nhái - bò sát khác bị săn bắt ngẫu nhiên để làm thức ăn, ngâm rượu như:

tắc kè, rồng đất, rắn ráo, rắn sọc dưa, ba ba, ếch đồng, ngóe, ếch cây, châu chuộc... Vì vậy, sẽ lượng cá thể của những loài trên bị giảm một phần.

Nhìn chung, thành phần các loài ếch nhái - bò sát ở rừng Tây Quảng Nam phong phú, đa dạng. Nhiều loài có giá trị trong khoa học và đời sống. Chúng phân bố rộng với trữ lượng khá. Để bảo vệ các loài quý hiếm và hệ ếch nhái - bò sát ở đây nói chung, cần có sự quản lý chặt chẽ hơn nữa về tài nguyên rừng và về lâu dài, cần giữ nguyên hiện trạng hệ sinh thái rừng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bộ Khoa học Công nghệ và Môi trường 1992: Sách Đỏ Việt Nam (phần Động vật), NXB Khoa học và Kỹ thuật (tr. 180 - 234).
2. Bộ Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn 1997: Báo cáo đánh giá đa dạng sinh học và khả năng thiết lập khu bảo tồn thiên nhiên tại vùng rừng phía Tây tỉnh Quảng Nam.
3. Ngô Đắc Chứng, Lê Nguyên Ngật, 1996: Cá loài ếch nhái, bò sát quý hiếm ở Nam Bình Thuận. Thông báo khoa học ĐHSP - ĐHQG HN, 5: 7-13.

(Xem tiếp trang 28,

TUYẾN TRÙNG KÝ SINH TRÊN CÂY QUẾ (CYNNAMOMUM CASIA Ở TỈNH QUẢNG NAM

NGUYỄN VŨ THANH, PHẠM VĂN LỰC

Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật

Tại các vùng trồng quế chính của tỉnh Quảng Nam, bệnh tua mực đã trở thành mối đe dọa đối với sự tồn tại và phát triển của ngành trồng và chế biến quế. Trước nhu cầu bức xúc của thực tế, bước đầu đề tài đã tập trung nghiên cứu hình thành và phát triển của bệnh tua mực qua các nghiên cứu tổng hợp về tuyến trùng thực vật, côn trùng hại cây, virus, vi khuẩn và nấm, đồng thời tiến hành điều tra đánh giá mức độ thiệt hại do bệnh tua mực gây ra đối với quế cũng như khả năng ngăn chặn bệnh tua mực. Bài báo này công bố những kết quả nghiên cứu trong các năm 1996-1997 về tuyến trùng ký sinh trên cây quế ở hai huyện Trà My và Tiên Phước, tỉnh Quảng Nam.

I. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Phạm vi nghiên cứu bao gồm hai huyện Trà My và Tiên Phước - trung tâm quế của tỉnh Quảng Nam. Đối tượng nghiên cứu là cây quế tại các vườn ươm và cây quế kinh doanh. Trong quá trình thu mẫu đã thu cả mẫu tươi và mẫu quế khô bị bệnh tua mực. Tách tuyến trùng ký sinh từ đất và mô thực vật bằng phương pháp Cobb, 1918, có sử dụng phần lọc tinh của Nguyễn Ngọc Châu, Nguyễn Vũ Thanh, 1993. Tiêu bản tuyến trùng được làm dưới dạng cố định và được lưu giữ tại Phòng Giun tròn thực vật thuộc Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật.

1. Thành phần loài tuyến trùng ký sinh được phát hiện trên cây quế ở tỉnh Quảng Nam

Bộ Aphelenchida

Họ Aphelenchidae

1. *Aphelenchus bastian*
2. *Aphelenchus* sp.

Họ Aphelenchoididae

3. *Aphelenchoides fragariae*

4. *Aphelenchoides indicus*

5. *Aphelenchoides* sp.

Bộ Tylenchida

Họ Tylenchidae

6. *Tylenchus avenae*
7. *Aglenchus* sp.
8. *Sakia* sp.
9. *Cephalenchus hexalineatus*

Họ Belonolaimidae

10. *Tylenchorhynchus leviterminalis*
11. *Tylenchorhynchus triglyphus*
12. *Tylenchorhynchus* sp.

Họ Hoplolaimidae

13. *Hoplolaimus sheri*
14. *Helicotylenchus cavenessi*
15. *Helicotylenchus dihystra*
16. *Helicotylenchus laevicaudatus*
17. *Helicotylenchus limarius*
18. *Helicotylenchus* sp.
19. *Rotylenchulus reniformis*

Họ Pratylenchidae

20. *Pratylenchus* sp.

Họ Criconematidae

21. *Criconemella curvata*
22. *Criconemella helica*
23. *Criconemella magnifica*
24. *Discocriconemella baforti*
25. *Discocriconemella limitanea*

Bộ Dorylaimida

Họ Longidoridae

26. *Xiphinema brasiliense*
27. *Xiphinema* sp.

Bộ Triplonchida

Họ Diphtherophoridae

28. *Longibulbophora ammophilae*

Họ Trichodoridae

29. *Trichodorus borneoensis*

Khu hệ tuyến trùng ký sinh trên cây quế gồm

29 loài thuộc 16 giống, 10 họ, 4 bộ. Các loài có số lượng cá thể đông đảo là *Helicotylenchus* sp. *Rotylenchidus reniformis*, *Trichodorus borneoensis*. Các loài *Longibulbophora ammophilae*, *Xiphinema brasiliense* và *Tylenchorhynchus triglyphus* được phát hiện lần đầu tiên ở Việt Nam.

2. Biến động số lượng cá thể của các tuyến trùng *R. reniformis*, *T. borneoensis* và *X. brasiliense* (trên 250 cm³ đất) trên cây quế ở tỉnh Quảng Nam

Điểm điều tra Loài tuyến trùng	Trại cây đặc sản Tiên Phước	Thị trấn Tiên Phước	Đội IV lâm trường Trà My	Thị trấn Trà My	Trà Giác
<i>T. borneoensis</i>	50 - 130	50 - 150	60 - 165	100 - 170	170 - 260
<i>R. reniformis</i>	40 - 50	15 - 25	46 - 70	26 - 50	68 - 100
<i>X. brasiliense</i>	3-5	5-10	1 - 5	10 - 20	20 - 30

Nhận xét:

Tại 5 điểm điều tra, loài tuyến trùng *T. borneoensis* mang truyền virus có số lượng cá thể tương đối lớn trong các mẫu đã thu 50 - 260 cá thể / 250 cm³ nó có mặt trong 100% mẫu đã được nghiên cứu. Trong khi đó, chỉ phát hiện được 3 - 130 cá thể *X. brasiliense* và 15 - 100 cá thể *R. reniformis*. Loài tuyến trùng *T. borneoensis* có diện phân bố rất rộng, có mặt ở hầu hết các nơi như vườn quế thơm, vườn quế kinh doanh, trong rừng nhiệt đới, trong các vườn cây ăn quả, các trảng cỏ tự nhiên và ngay cả trong khu vực đất canh tác. Loài tuyến trùng *R. reniformis* có diện phân bố tương đối hẹp, chỉ được phát hiện trong vườn ươm quế và trong các vườn cây ăn quả, với số lượng không lớn lắm.

III. KẾT LUẬN

Khu hệ các loài tuyến trùng ký sinh trên cây quế ở tỉnh Quảng Nam bao gồm 29 loài thuộc 16 giống của 10 họ, 4 bộ. Các loài tuyến trùng mang truyền virus *Longibulbophora ammophilae*, *Xiphinema brasiliense*, *Trichodorus borneoensis* và loài tuyến trùng ngoại ký sinh hại rễ *Tylenchorhynchus triglyphus* là những loài tuyến trùng ký sinh được coi là nguy hiểm đối với nhiều loại cây trồng khác nhau trên thế giới, đã được phát hiện lần đầu tiên

trên cây quế ở tỉnh Quảng Nam và là những loài mới đối với khu hệ tuyến trùng Việt Nam.

Loài tuyến trùng mang virus *Trichodorus borneoensis* có diện phân bố rộng ở các vùng trồn quế của tỉnh Quảng Nam, nó còn được phát hiện với số lượng cá thể tương đối lớn: 50 - 260 cá thể / 250 cm³ đất. Loài tuyến trùng *Rotylenchulus reniformis* có diện phân bố tương đối hẹp, số lượng cá thể không cao: 15 - 100 cá thể / 250 cm³.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Brige J., 1988: J. Nematol., 20: 173-183.
2. Sharma S. B., Siddiqi M. R., Van N. V., and Hong N. X., 1994: Afro-Asian Journal of Nematology, 4: 185-189.
3. Siddiqi M. R., 1982: Systematic parasitology, 4: 257-262.
4. Siddiqi M. R. and Sharma S. B., 199: Afro-Asian J. Nematol., 5: 48-52.
5. Sosamma V. K., Koshy P. K., and Sudararaju P., 1980: Nematodes associated with cacao - A review. Plant Protection Committee for the South East and Pacific region. Technical Document, N 123, 14 p.

(Xem tiếp trang 24,

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 II: CÁC NHÂN TỐ ẢNH HƯỞNG ĐẾN SỰ PHÂN BỐ CỦA CÔN TRÙNG BAY TRONG KHÔNG KHÍ VÀ MỐI LIÊN QUAN CỦA CÔN TRÙNG BAY TRONG KHÔNG KHÍ VỚI SINH HỌC CỦA CHIM YẾN HÀNG

NGUYỄN QUANG PHÁCH, HOÀNG MINH HƯNG

Công ty Yến Sào tỉnh Khánh Hòa

Ở phần này, chúng tôi nêu 1 số kết quả nghiên cứu về các nhân tố ảnh hưởng đến sự phân bố của côn trùng bay trong không khí trong vùng và trên cơ sở đó, phân tích các mối liên quan sinh học của chim yến hàng *Collocalia fuciphaga germani oustalet* và các hoạt động của côn trùng bay trong khí trong vùng.

I - PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

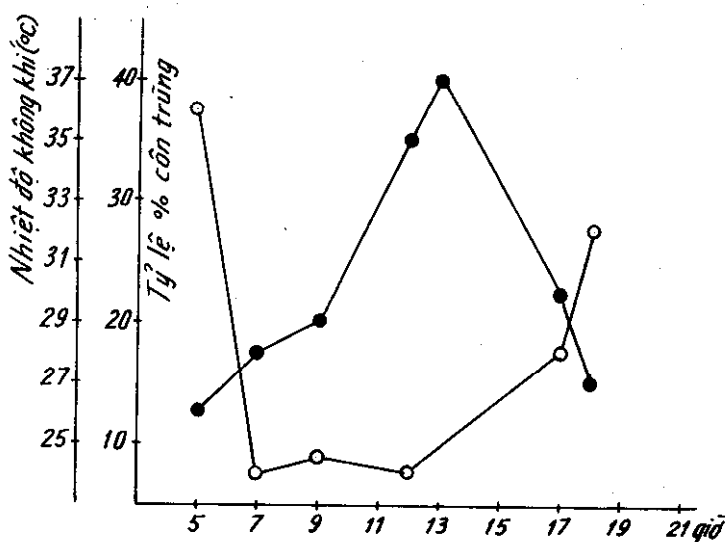
Phương pháp thu mẫu côn trùng bay trong không khí như đã trình bày ở Phần I. Ở đây lưu ý đến việc quan sát các yếu tố thời tiết khi thu mẫu: đo gió bằng máy đo gió cầm tay, ghi quan sát thời tiết trong ngày: nắng, mây, mưa to, nhỏ... đồng thời sử dụng tài liệu về lượng mưa thu được trong vùng Khánh Hòa của Đài khí tượng Nam Trung bộ. Nhiệt độ và lượng côn trùng thu được theo giờ: 5, 7, 9, 12, 17 và 18 h ở trạm Dốc Đá Trắng (Vạn Gia).

II - KẾT QUẢ

1. Ảnh hưởng của nhiệt độ không khí:

Để làm rõ hơn sự phân bố mật độ theo ngày của côn trùng bay trong không khí, chúng tôi đã thí nghiệm ở trạm Vạn Gia.

Hình 1 cho thấy rõ lượng côn trùng thu được cao nhất vào lúc 5h và 18h. Điều này làm rõ hơn về thời gian côn trùng hoạt động mạnh nhất trong ngày, so với số liệu ở Phần I về sự phân bố mật độ côn trùng bay trong không khí (bảng 5) do khác biệt về thu mẫu. Ở đây, thấy rõ sự tương quan ngược giữa mật độ côn trùng bay trong không khí với nhiệt độ trong ngày: buổi sáng (5 - 7 h) nhiệt độ không khí ngoài trời là 28 - 29°C, còn buổi trưa, nhiệt độ không khí lên tới 36 -



Hình 1. Tương quan giữa mật độ côn trùng bay trong không khí và nhiệt độ không khí

- nhiệt độ không khí
- số lượng côn trùng

37°C. Trong điều kiện nhiệt độ cao, nhiều bọ côn trùng giảm hoạt động bay.

2. Ảnh hưởng của gió và mưa đến hoạt động bay của côn trùng:

Ảnh hưởng của tốc độ gió đến hoạt động bay của côn trùng trong không khí khá rõ (bảng 1).

Số lượng mẫu thu được cao nhất khi gió đạt tốc độ 0 - 1 m/s và thấp nhất khi tốc độ gió đạt > 4 m/s (143,3 và 43,0 con / ngày).

Bảng 1

Ảnh hưởng của tốc độ gió đến mật độ côn trùng bay trong không khí

Tốc độ gió (m/s)	n	Số lượng mẫu	Trung bình
0 - 1	12	1720	143,3
2 - 3	20	2621	90,4
> 4	4	172	43,0

Số lượng mẫu thu được còn phụ thuộc vào một số yếu tố thời tiết khác trong ngày: mưa, trời râm hoặc thu sau cơn mưa, nắng to... (bảng 2). Kết quả cho thấy, sau cơn mưa và khi trời râm mát, số lượng mẫu thu được cao hơn cả (253,4 con/ngày). Trời mưa vừa cũng thu được số lượng mẫu đáng kể (182 con/ngày).

Ảnh hưởng chung của lượng mưa đến mật độ côn trùng bay trong không khí được thể hiện trong hình 2. Ngoại trừ số liệu của các tháng 5, 6 và 7 có sự trái ngược trong quan hệ giữa mật độ côn trùng bay trong không khí và lượng mưa trong vùng, còn nhìn chung mật độ côn trùng côn trùng bay trong không khí có sự liên quan đến 2 mùa mưa và khô: Số lượng côn trùng thu được thấp vào các tháng mùa khô (tháng 1 - 5) và cao vào các tháng mùa mưa (tháng 9 - 12). Cần lưu ý là ở Khánh Hòa, có 1 đỉnh mưa nhỏ vào các tháng 5 - 8, tức là lúc này lượng mưa trong vùng đã tăng lên khá rõ nhưng chưa vào mùa mưa chính trong năm. Số ngày mưa và nắng trong thời gian này đan xen nhau khá rõ. Nhiệt độ không khí là cao nhất trong năm (xem phần thảo luận).

Bảng 2

Mật độ côn trùng bay trong không khí liên quan đến một số yếu tố thời tiết (số liệu tháng 8 và tháng 11 năm 1995)

Yếu tố thời tiết	n	Số lượng mẫu	Trung bình / ngày
Trời râm sau khi mưa	12	3041	253,4
Nắng to	73	6261	85,7
Đang mưa vừa	12	2183	182,0

III - THẢO LUẬN

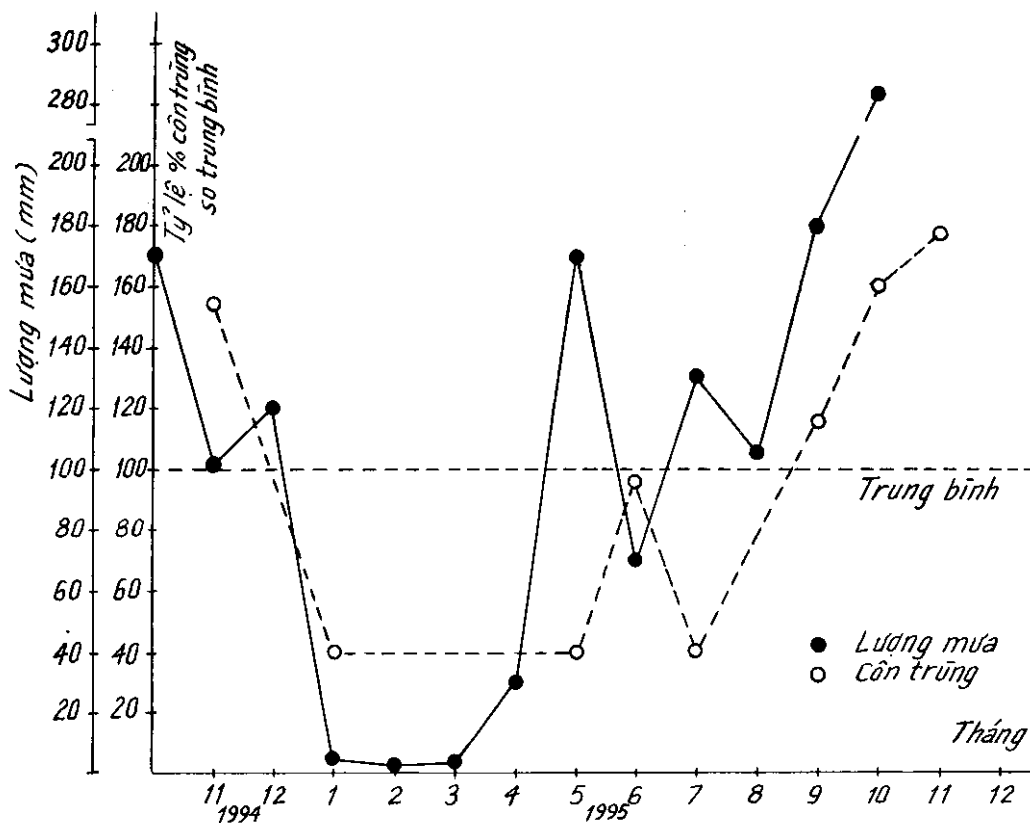
1. Về mật độ côn trùng bay trong không khí:

Côn trùng bay trong không khí bao gồm đại diện của 9 bộ côn trùng khác nhau. Nhện xuất hiện trong bộ mẫu cho thấy có thể là có vai trò của gió giúp chúng phát tán. Kết quả này phù hợp với các tài liệu của Mc. Clure, 1938 và Freeman, 1945. Khi xác định tỷ lệ của các bộ phận côn trùng ở độ cao thấp, các tác giả này cho biết tỷ lệ cao nhất luôn thuộc bộ Diptera, 44,4% (Freeman, 1945) hay 78% (Mc Clure, 1938); Hymenoptera 11 - 17%; Coleoptera 4,7 - 11% (các tác giả đã dẫn). Các nghiên cứu cũng đã cho thấy bọ côn trùng bay trong không khí phân bố trong không trung như động vật phù du trong nước biển: Động vật phù du trong biển có mật độ giảm dần theo độ sâu, thì côn trùng bay trong không khí giảm dần mật độ theo độ cao. Nghiên cứu của chúng tôi cho thấy tỷ lệ côn trùng ở 2 độ cao 4 m và 7 m là 1,5/1. Freeman (1945), Johnson (1957), Southwood (1975)... cho thấy sự phân bố này được thể hiện theo 1 hàm mũ của Taylor (1958)

$$f(z) = C(Z + Ze)^{-\lambda}$$

Ở đây $f(z)$ là mật độ ở độ cao Z , C là một yếu tố tỷ lệ dựa trên độ lớn chung của quần thể trong không khí, λ là hệ số mật cắt và quá trình phát tán không khí, Ze là hằng số bổ sung cho độ cao chính xác và liên quan tới côn trùng phát tán nhờ gió.

Mật độ côn trùng giảm nhanh ở độ cao từ 0 m đến 30 m. Sau đó, mật độ côn trùng giảm rất chậm. Chẳng hạn Freeman (1945) cho thấy ở độ cao 3 m



Hình 2. Phân bố mật độ côn trùng bay trong không khí theo mùa ở Khánh Hòa

(10 ft) thu được 240 con, ở độ cao 39 m là 45 con, còn độ cao 92 m là 26 con. Kết quả của Hardy và Molne (1938) cũng tương tự. Có điều lưu ý là, ở độ cao thấp, bọ Diptera chiếm tỷ lệ rất cao, trong khi đó, ở độ cao 30 m trở lên, bọ bọ rầy, bọ xít (Homoptera và Hemiptera) lại chiếm số đông (Freeman, 1945).

Nghiên cứu của Lewis và Taylor (1964) cho thấy côn trùng ở miền Nam nước Anh hoạt động mạnh ở thời gian từ 10 giờ đến 14 giờ vì đây là thời gian ấm nhất trong ngày. Tài liệu của chúng tôi cho thấy hoạt động của côn trùng bay trong không khí ở vùng nhiệt đới có 2 đỉnh hoạt động là vào buổi sáng và buổi chiều (5 - 6 giờ và 17 - 18 giờ), là thời gian có nhiệt độ thấp trong ngày. Freeman (1945) cho thấy mật độ côn trùng giảm thấp khi tốc độ gió đạt 35 dặm/h (15,5 m/s). Uranov (1931) cho thấy muỗi bị ức chế bay khi gió đạt tốc độ 3,5 m/s. Gliich (1939) cho thấy mật độ của côn trùng ở độ cao 66 m sẽ cao khi gió

mặt đất đạt tốc độ 1,4 m/s. Tài liệu của chúng tôi cho thấy côn trùng thu được nhiều khi gió đạt tốc độ 0 - 1 m/s. Gió nhẹ làm cho côn trùng bay dễ dàng. Gió mạnh (≥ 4 m/s) ức chế hoạt động của một số lớn côn trùng bay trong không khí (Freeman, 1945). Hoạt động của côn trùng bay trong không khí còn bị ảnh hưởng bởi một số yếu tố thời tiết khác, chẳng hạn như mưa lớn có thể rửa trôi côn trùng bay trong không khí, dẫn đến làm giảm mật độ trong không khí của chúng. Nhưng mưa vừa cũng làm giảm gần 1/2 mật độ côn trùng bay trong không khí (bảng 2).

Một điều rất đáng quan tâm là sự thay đổi trong năm của mật độ của côn trùng bay trong không khí. Hails (1982) dùng bẫy hút 9 inch nghiên cứu ở độ cao 12,2 m tại Kualalumpur (3° 07' N) và so sánh với các tài liệu của Wauryh (1978) và Bryan (thông tin cá nhân) ở Scotland (56° 09' N). Kết quả cho thấy bọ côn trùng bay trong không khí ở phương Bắc có sự phân mùa

khá rõ về mật độ: mùa hè và mùa thu (tháng 5 đến tháng 10) có mật độ vượt khỏi trung bình 170 - 250% trong khi mùa đông và đầu xuân - hè có tỷ lệ chỉ bằng 1 - 30% số trung bình. Một kết quả tương tự cũng thu được bởi Mc Clure (1938) ở Illinois (Mỹ): tỷ lệ côn trùng bay trong không khí vào tháng 5 - 10 là 168 - 297% so với trung bình, các tháng mùa đông tỷ lệ này là 0 - 35,5%. Bọ côn trùng bay trong không khí ở Malaysia được Hails (1982) nghiên cứu cho thấy có mật độ dao động quanh mức trung bình ở tỷ lệ 30% (thấp nhất vào tháng 5 là 70% so với trung bình, cao nhất ở tháng 11 là 130%), nghĩa là sự dao động mùa không rõ ràng. Tuy nhiên, có thể thấy 2 đỉnh tương đối khác biệt vào thời gian mưa tháng 4 và tháng 10 - 11. Tài liệu của chúng tôi cho thấy, ở Khánh Hòa (12°N), sự dao động mùa của côn trùng cũng không rõ ràng, nhưng độ chênh lệch mùa mưa - khô trong mật độ đã thấy khá rõ: mùa khô (tháng 1 - 4) số lượng côn trùng thu được thấp (khoảng 40% so trung bình), còn mùa mưa (tháng 9 - 12) lượng côn trùng thu được khá cao (120 - 179% so trung bình). Vào tháng 5 - 8, xuất hiện sự dao động mật độ quần thể khá rõ (các đỉnh đồ thị) của côn trùng bay trong không khí trong khu vực: các đỉnh cao và thấp của mật độ côn trùng thường đi theo sau đỉnh lượng mưa, sau đó vào mùa mưa chúng tăng theo lượng mưa trong vùng (hình 2). Điều này có liên quan đến đặc trưng mưa - nắng xen kẽ rất đột ngột trong các tháng này ở Khánh Hòa. Hoạt động của côn trùng liên quan đến mùa phát triển của thực vật trong vùng. Wolda (1984), Pollard (1981) đã chỉ ra mối quan hệ này là khá chặt chẽ. Mật độ côn trùng ăn thực vật tăng cao khi thực vật trong vùng phát triển mạnh. Sự tăng cao số lượng côn trùng bay trong không khí trong tài liệu của chúng tôi vào các tháng mùa mưa cũng thể hiện rõ quy luật này; rõ nhất là ở bộ rầy (Homoptera): số lượng mẫu thu được tăng liên tục từ tháng 6 đến 11 năm 1995. Riêng bọ cánh cứng có sự giảm đột ngột về số lượng trong tháng 9 (2,4%) có thể liên quan đến chu trình hoạt động sinh sản của bọ này như Freeman (1945) đã nêu: "Vào giai đoạn có chửa, bọ này không phát tán".

2. Mối liên quan của mật độ côn trùng bay trong không khí với sinh học của chim yến hàng

Chim yến hàng là bọ ăn côn trùng bay trong không khí mà thành phần gồm các côn trùng và nhện như nghiên cứu này đã nêu [7, 8, 9]. Tuy nhiên, tỷ lệ các loại thức ăn của chim yến hàng có khác với tỷ lệ mẫu chúng tôi thu được: Chim yến hàng non được mớm chủ yếu là bọ rầy (50%) và 2 cánh (20%). Trong thức ăn của chim bố mẹ, bọ cánh màng (Hymenoptera) chiếm tỷ lệ cao hơn cả. Tuy nhiên, có thể là do thu mẫu trong dạ dày chim nên bọ côn trùng có vỏ kitin mềm (bọ rầy, 2 cánh...) đã bị tiêu biến, rất khó phân tích. Waugh và Hails (1983) cho thấy chim yến hàng kiếm ăn ở độ cao gần mặt đất đến độ cao 30 m. Các quan sát của chúng tôi cũng cho nhận xét tương tự có nghĩa là chim yến hàng kiếm ăn ở các độ cao thấp có nhiều côn trùng làm thức ăn. Tỷ lệ thấp của bọ rầy trong bộ mẫu của chúng tôi lại không tương ứng với tỷ lệ cao trong thức ăn của chim yến non. Sự khác biệt này chỉ có thể được giải thích bởi sự lựa chọn thức ăn ưa thích của chim hoặc có một tỷ lệ lớn của bọ rầy ở độ cao 30 m hơn là bọ 2 cánh như Freeman (1945) đã nêu.

Nguyễn Quang Phách (1984, 1993) đã quan sát nhịp điệu mớm mồi của chim yến hàng và cho thấy có 2 đỉnh mớm mồi trong ngày: 5 - 6 giờ và 17 - 18 giờ (tuy trước đỉnh này có 1 đỉnh nhỏ vào lúc 15 - 16 giờ). Trong khi buổi trưa có tỷ lệ mớm mồi thấp. Tài liệu ở bảng 5 cho thấy côn trùng bay trong không khí có số lượng thu được cao vào lúc 5 - 6 giờ và 17 - 18 giờ, buổi trưa có tỷ lệ thấp, và khi nghiên cứu theo giờ (hình 2), cho thấy số lượng côn trùng bay trong không khí cao vào 5 - 6 giờ và 18 - 19 giờ, nếu tính thời gian chim yến hàng rời hang 4 giờ 30 vào đất liền kiếm ăn và thời gian hoạt động bắt mồi rồi quay lại hang thì đỉnh mớm mồi hoàn toàn phù hợp với kết quả nghiên cứu.

Khi nghiên cứu mùa sinh sản của chim yến hàng Lack (1966), Cody (1966) và Perrins (1970) cho rằng chim bắt đầu mùa sinh sản sao cho khi con non nở ra trùng vào lúc thức ăn phong phú nhất. Kết quả nghiên cứu mùa sinh sản của chim yến hàng của chúng tôi cho thấy [9, 10] chim yến

hàng ở Khánh Hòa bắt đầu đẻ trứng tập trung vào khoảng giữa tháng 4, con non nở tập trung vào khoảng giữa tháng 5, và chim non rời tổ vào khoảng cuối tháng 6, đầu tháng 7. Ở đây, có thể thấy là thời gian nuôi con của chim yến hàng trùng vào lúc mật độ côn trùng dưới mức trung bình, và chim non rời tổ trùng vào lúc mật độ côn trùng tăng cao hơn nhưng vẫn dưới mức trung bình (hình 2). Như vậy, chim yến hàng sinh sản vào trước mùa có thức ăn phong phú nhất, lúc chim non nở và chim non rời tổ thì mật độ côn trùng bay trong không khí tăng lên gần mức trung bình. Có thể là mùa sinh sản của chim còn bị chi phối bởi yếu tố thời tiết trong vùng: Ở Khánh Hòa, từ tháng 9 đến tháng 12 là mùa mưa bão, không có lợi cho hoạt động của chim yến non rời tổ. Do vậy, chim yến đã sinh sản vào thời gian có lợi cho hoạt động của chim non sau khi rời tổ. Việc khai thác tổ yến kỳ I làm cho chim kéo dài mùa sinh sản thêm 1 tháng (chim non rời tổ vào cuối tháng 7), ngoài việc giảm chất lượng trứng còn làm tăng tỷ lệ tử vong của con non ở tổ. Các quan sát thực địa cho thấy ở tuổi sắp rời tổ vào cuối tháng 7, hàng loạt con non của lứa đẻ lại bị rơi khỏi tổ, có thể là điều này có liên quan tới sự giảm thấp mật độ của côn trùng vào tháng 7 (hình 2), làm thiếu thức ăn cho con non.

Chim yến hàng ở các đảo Hòn Dụn, Hòn Hổ và Hòn Chà đã được xác định là kiếm thức ăn từ khu vực bắc Hòn Bà lên Đắc Lắc - Lâm Đồng, còn bọn chim yến hàng ở các đảo Hòn Mun, Hòn Nội, Hòn Ngoại, chiếm 80% số lượng quần thể chim yến hàng ở Khánh Hòa (theo số tổ thu được), lại kiếm ăn từ vùng nam Hòn Bà lên Đắc Lắc - Lâm Đồng - Ninh Thuận [9]. Kết quả nghiên cứu mật độ côn trùng ở bảng 7 trong Phần I cho thấy mật độ côn trùng bay trong không khí ở phía bắc Hòn Bà cao hơn phía nam (571,5 so với 447,9). Không rõ là mật độ côn trùng bay trong không khí ở phía nam Hòn Bà thấp là do chim ở đây có mật độ quá cao nên ăn mất nhiều hơn ở phía bắc Hòn Bà hay không, nhưng các nghiên cứu cho thấy chim ở các đảo Hòn Hổ, Hòn Dụn, Hòn Chà thường kiếm ăn ở gần khu vực nghiên cứu hơn là chim ở khu vực khác. Điều

này có ý nghĩa lớn trong việc giảm năng lượng bay. Có thể là mật độ côn trùng cao ở phía bắc Hòn Bà đã có đóng góp nào đó cho việc làm cho chim yến khu vực này thường làm tổ sớm hơn bọn kiếm ăn ở nam Hòn Bà. Tuy nhiên, mùa sinh sản còn bị chi phối bởi hàng loạt yếu tố thời tiết khác.

Khi nghiên cứu về tốc độ làm tổ của chim yến hàng chúng tôi có nhận xét là: khi gió đạt tốc độ 5 m/s, chim yến hàng ngừng làm tổ; tốc độ làm tổ sẽ tăng nhanh khi gió nhẹ [9]. Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của gió đến hoạt động của côn trùng bay trong không khí ở đây cho thấy, khi trời lặng gió và gió nhẹ (0 - 1 m/s) thì lượng mẫu thu được cao hơn cả. Khi gió đạt tốc độ 4 m/s, lượng mẫu thu được khá thấp. Kết quả này đã xác nhận kết luận của chúng tôi về đặc trưng xây tổ của chim yến hàng ở trên.

Những nghiên cứu trên cho thấy có mối quan hệ chặt chẽ giữa sinh học của chim yến hàng và mật độ của côn trùng bay trong không khí trong vùng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Cody M. L., 1966: Evolution, 20: 174-184.
2. Dempster J. P. and Pollarde E., 1981: Aecologia, 45: 412-416.
3. Hails C. J., 1982: Biotropia, 14 (4): 310-313.
4. Hails C. J. and Turnur A. K., 1985: Zool. Lond., 206: 469-484.
5. Juillet J. A., 1962: Cana J. Zool., 41: 219-223.
6. Lack D., 1966: Population studies of birds. Oxford Univ. press.
7. Langham N., 1980: Ibis, 122: 447-461.
8. Nguyễn Quang Phách, 1992: L'oiseau et Ve. F. O, 62 (2): 149-161.
9. Nguyễn Quang Phách, 1993: Cơ sở sinh học của việc khai thác hợp lý, bảo vệ và phát triển nguồn lợi chim yến hàng *Collocalia fuciphaga* Germani ở Việt Nam. Luận án Phó tiến sĩ sinh học - Đại học Tổng hợp Hà Nội.
10. Nguyễn Quang Phách, 1994: Alauda, 62 (2): 107-115..

11. Nguyễn Xuân Hiền, Trần Hùng, Bùi Văn Ngạc, Lê Anh Tuấn, 1979: Nghiên cứu lúa ở nước ngoài. Tập 4: Rầy nâu hại lúa. NXB KHKT Hà Nội.

12. Perrins C. M., 1970: Ibis, 112: 242-255.

13. Phạm Ngọc Toàn và Phan Tất Đắc, 1975: Khí hậu Việt Nam. NXB KHKT Hà Nội.

14. Trung tâm khí tượng thủy văn Phía Nam, 1995: Đặc điểm khí hậu và thủy văn Khánh Hòa. Sở Khoa học Công nghệ Khánh Hòa.

15. Wauch D. R. and Hails C. J., 1983: Ibis, 125: 200-217.

16. Wolda H., 1978: J. Anim. ecolo, 47: 369-381.

**A FIRST STUDY ON AERIAL INSECT STAT LOW HEIGHTS AND THEIR CONNECTIONS WITH THE BIOLOGY OF EDIBLE NEST SWIFTLET (COLLOCALIA FUCIPHAGA GERMANI OUSTALET) IN KHANH HOA PROVINCE
II. THE FACTORS AFFECTING TO THE DISTRIBUTION OF AERIAL INSECTS AND THE CONNECTION OF AERIAL INSECTS WITH THE BIOLOGY OF EDIBLE NEST SWIFTLET**

NGUYEN QUANG PHACH, HOANG MINH HUNG

SUMMARY

The results showed that:

1. The collected number of aerial insects is high in morning (5 - 6 am) and afternoon (5 - 6 pm), during the low air temperature of every day.

2. The collected number of aerial insects is high when the wind velocity is about 0 - 3 m/s, it is cloudy, after rains or in light rains.

3. The collected number of aerial insects in rainy season higher than in dry one. The results of the article were discussed. This article has also raised some close relations between the biology of Edible-nest swiftlet and the action of aerial insects in the region.

Ngày nhận bài: 26-1-1998

TUYỂN TRÙNG KÝ SINH TRÊN CÂY QUẾ Ở TỈNH QUẢNG NAM

(Tiếp theo trang 18)

PARASITIC NEMATODES ASSOCIATED WITH CINNAMON TREES IN QUANG NAM PROVINCE OF VIETNAM

NGUYEN VU THANH, PHAM VAN LUC

SUMMARY

During the last years 1996-1997, nematode diseases were observed on cinnamon trees in Quang Nam province. 29 plant parasitic nematodes species belonging to 16 genera, 10 families, 4 orders were found from rhizosphere of the cinnamon trees. *Trichodorus borneoensis*, *Helocotylenchus* spp. and *Rotylenchulus reniformis* were the most dominant species identified from soil samples. The three species: *Longibulbophora ammophidae*, *Xiphinema brasiliense* and *Tylenchorhynchus triglyphus* were recorded new ones for the nematode fauna of Vietnam.

Ngày nhận bài: 5-8-1998

BIẾN NẠP GIEN HORMON SINH TRƯỞNG DƯỚI DẠNG LIPOSOM VÀO PHÔI CÁ VÀNG BẰNG PHƯƠNG PHÁP VI TIÊM

NGUYỄN THỊ ĐỆ, NGUYỄN VĂN CƯỜNG,
VŨ VĂN DIỄN

Viện Công nghệ sinh học

Ngày nay, người ta đã có thể tạo ra các động vật mang đặc tính mới có lợi, bằng cách đưa tổ hợp gen vào tế bào trứng đã thụ tinh ở giai đoạn trứng tiền nhân (đối với động vật có vú) hoặc phôi ở giai đoạn 1 - 4 tế bào (đối với cá). Trong vòng 10 năm qua, bằng kỹ thuật vi tiêm để đưa gen lạ vào tế bào trứng, hàng loạt cá chuyển gen đã được tạo ra: cá hồi cầu vồng [1], cá hồi [2], cá chép [3], cá trạch [4], cá trê [5], cá rô [6], cá vàng [7]... Cá chuyển gen hormon sinh trưởng (GH - Growth Hormon) có kích thước và tốc độ lớn hơn nhiều so với đối chứng. Cá hồi chuyển gen GH sau 1 năm lớn hơn đối chứng từ 2 đến 6 lần [2]. Những thành tựu mới trong lĩnh vực này, một mặt khác còn phụ thuộc vào việc tạo được hệ thống chuyển gen thích hợp, hiệu quả đến tế bào. Vì liposom đã được chứng minh là có khả năng lưu giữ, bảo vệ các polynucleotit khỏi tác dụng của các nucleaza ngoại sinh và đã được sử dụng như là các vật mang vật chất di truyền có hiệu quả trong việc chuyển gen [8], nên trong nghiên cứu này, chúng tôi đã nghiên cứu chuyển gen GH dưới dạng liposom vào cá vàng bằng phương pháp vi tiêm.

I - PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Gen GH dùng để biến nạp vào phôi cá ở dạng tổ hợp có ký hiệu MThGH (Metallothionein Human Growth Hormon). Tổ hợp được tạo dòng trong *E. coli*. Phương pháp tách chiết, làm sạch tổ hợp từ *E. coli* lấy từ Ấn Độ, được tiến hành theo N. V. Cường và cộng sự [9].

Liposom đóng gói MThGH được tiến hành

theo J. Delattre et al. (1993) [10], chế tạo từ DoPc (di-oleyl phosphatidylcholine) và CHOL (cholesterol) (từ sigma) và gen MThGH theo tỷ lệ:

$$\text{DoPc} : \text{CHOL} : \text{MThGH} = 5 : 3 : 2$$

Dung dịch gồm các lipid trên trong chloroform và gen MThGH được làm khô bằng luồng khí nitơ, sau đó rửa hai lần với ête và lại làm khô bằng nitơ trong 2 giờ. Lượng MThGH không đóng gói trong liposom được rửa bỏ bằng ly tâm với PBS 3 lần, 14.000 g trong 1 giờ.

Thí nghiệm được tiến hành trên cá vàng *Carassius auratus* lấy từ chủ nuôi ở làng Yên Phú. Trứng và tinh dịch chủ động thu nhận bằng cách tiêm nã thụ cá chép trước chu kỳ sáng 6 - 7 giờ, với liều 2 mg/kg đối với cá cái, 1 mg/kg đối với cá đực. Vào đầu chu kỳ sáng, trứng và tinh dịch được thu nhận riêng biệt và được bảo quản ở 0°C. Phôi giai đoạn 1 tế bào được tạo ra bằng phương pháp thụ tinh nhân tạo (trộn 100 trứng với 200 ml tinh dịch). Sau 5 phút, rửa tinh trùng bằng nước sạch vài lần và ủ tiếp theo 15 phút ở nhiệt độ phòng. Trứng thụ tinh được loại màng chorion theo N. V. Cường và cộng sự [11].

Vi tiêm được tiến hành trên máy vi thao tác Olympus-Narishige (Nhật)

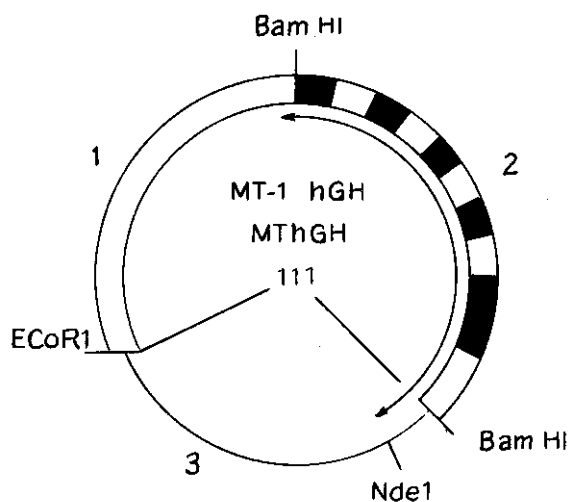
Phôi vi tiêm được ấp trong dung dịch Holfreter ở nhiệt độ phòng.

II - KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

1. Tách chiết, đánh giá tổ hợp gen GH:

Tổ hợp gen GH bao gồm: gen cấu trúc GH

người, gen điều khiển metallothionein chuột và plasmit (hình 1). Toàn bộ tổ hợp có kích thước 6,15 kb và được tạo dựng trong chủng *E. coli*. Chủng vi sinh chứa tổ hợp gen trên được trung tâm Quốc tế về Kỹ thuật gen và Công nghệ sinh học New Dehli cung cấp. Để tạo ra vật liệu gen biến nạp vào cá, chúng tôi nhân chủng vi sinh trong 500 ml môi trường Luria Bertani để lấy sinh khối, tách các plasmit bằng phân hủy kiềm và lysozym, đánh giá tổ hợp gen bằng điện di agarose nhuộm với ethidium bromit.



Hình 1. Cấu trúc vòng của tổ hợp gen GH

1. Gen điều khiển (promotor) Methallothionein (MT)
2. Gen cấu trúc của gen GH người (hGH)
3. Đoạn ADN của plasmit pR 322 (vector)

Từ 500 ml môi trường nuôi cấy LB, thu nhận được 1 mg tổ hợp gen. Kết quả đánh giá bằng điện di agarose cho thấy, chế phẩm sau khi chiết với phenol-chloroform còn tập lẫn nhiều ARN nhỏ (dưới 1 kb). Sau khi xử lý với AR-aza, tổ hợp sạch không tập với ARN và ADN khác.

2. Hiệu suất đóng gói gen MThGH trong liposom:

Để đánh giá hiệu suất đóng gói gen MThGH trong liposom, chúng tôi sử dụng phương pháp đánh dấu đồng vị hoặc huỳnh quang bằng cách rửa bỏ qua li tâm. Hiệu suất đóng gói gen MThGH

được tính bằng tỉ số hoạt độ phóng xạ (hoặc cường độ huỳnh quang) của cặn lắng trên toàn bộ hoạt độ phóng xạ (hay cường độ huỳnh quang) của toàn bộ mẫu thí nghiệm. Trong các thí nghiệm, hiệu suất đóng gói nằm trong khoảng 80 - 90%. Mặt khác, đường kính của liposom (theo số liệu của hiển vi điện tử là vào khoảng 100 - 130 nm) là kích thước thích hợp cho việc vận chuyển vào tế bào.

3. Tạo phôi một tế bào:

Một gen lạ được đưa vào cơ thể động vật, muốn tồn tại và truyền tiếp cho thế hệ sau, bắt buộc phải gắn vào genom của tế bào sinh sản. Muốn vậy, người ta phải biến nạp gen vào trứng chưa phân chia ở giai đoạn 1 tế bào. Ở cá, giai đoạn 1 tế bào chỉ tồn tại trong khoảng từ 30 - 40 phút, trong khi đó kỹ thuật vi tiêm đòi hỏi nhiều thao tác tỉ mỉ, chính xác. Việc đóng gói gen trong liposome cũng nhằm tăng thời gian lưu giữ, bảo quản gen và tăng xác suất liên kết của gen GH vào genom tế bào.

Để thu nhận nhiều phôi ở giai đoạn 1 tế bào, chúng tôi đã tiến hành thụ tinh nhân tạo cá theo phương pháp đã trình bày ở trên. Dưới kính hiển vi, trứng chưa thụ tinh có nguyên sinh chất phân bố đồng đều, hình tròn, không có sự phân biệt giữa cực phôi và cực sinh dưỡng.

Trong điều kiện thí nghiệm của chúng tôi, tỉ lệ thụ tinh đạt 60%. Trứng thụ tinh có màng chorion trở nên dày và dai, trở ngại cho việc định vị chính mũi tiêm vào tế bào phôi. Vì vậy, chúng tôi sử dụng enzym trypsin để loại màng chorion.

4. Biến nạp gen MThGH và theo dõi tổ hợp gen GH được đưa vào phôi cá:

Liposom mang tổ hợp gen GH được đưa vào phôi cá bằng kỹ thuật vi tiêm trên máy vi thao tác. Máy vi thao tác được tạo ra từ một kính hiển vi soi ngược Olympus, hệ vi thao tác, hệ vi tiêm (Narishige). Kim vi tiêm và kim giữ được tạo ra từ máy pipette puller, microforge và máy mài. Kim vi tiêm phải có đầu khoảng 2 μ m để có thể dễ dàng chọc thủng màng của trứng cá nhưng không bị tắc khi tiêm ADN vào phôi. Dung dịch Liposome mang gen MThGH có nồng độ gen 40 ng/ μ l trong

đệm Tris-EDTA, được sử dụng để tiêm vào trứng, mỗi trứng khoảng 2 - 4 μ l, tương đương 2×10^3 bản gien. Sau khi tiêm, trứng được ủ trong dung dịch Holtfreter, ở nhiệt độ phòng (22°C - 30°C). Sự phát triển của phôi được theo dõi và đánh giá liên tục cho đến khi nở. Sau 1 giờ 20 phút, trứng phân chia thành 2 tế bào, 30 phút sau phân chia thành 4 tế bào.

Tất cả những trứng hình thành đĩa phôi được sử dụng cho vi tiêm. Sau 2 giờ 30 phút hình thành phôi nang, sau 18 - 20 giờ hình thành cá con, xuất hiện mắt và hình thành tim cá. Sau khoảng 2 ngày, cá nở. Trong thí nghiệm của chúng tôi, tỉ lệ trứng vi tiêm nở thành cá đạt tối thiểu 19% (bảng 1). Tuy nhiên, tỉ lệ nở của trứng phụ thuộc vào nhiều yếu tố, khó có thể dùng để so sánh.

Bảng 1

Tỉ lệ nở của trứng vi tiêm

Đợt thí nghiệm		Số trứng đã tiêm	Số trứng nở	Tỉ lệ nở
1	19-6-1997	60	12	20%
2	24-6-1997	47	9	19%
3	22-7-1997	62	29	48%

Cá con mới nở, được nuôi trong điều kiện sục khí, cho ăn bằng ấu trùng tôm và *Artemia*; sau 3-4 tuần, cho thêm giun đỏ. Tỉ lệ sống sau 3 ngày là 35%, sau 40 ngày là 20%.

Trọng lượng cá vi tiêm MThGH so với đối chứng, sau 40 ngày tuổi, được thể hiện ở bảng 2.

Bảng 2

Trọng lượng cá vi tiêm MThGH sau 40 ngày tuổi

Số TT	Trọng lượng cá (mg)	
	Đối chứng	Thí nghiệm
1	321	360
2	176	288
3	165	276
4	210	172
5	142	127
6	232	454
7	167	295
8	145	279
9	120	144
TB	186	266

Trọng lượng trung bình của cá vi tiêm lớn hơn

của cá đối chứng 143%. Việc theo dõi sự phát triển của cá và đánh giá sự có mặt của gien GH ở các vi tiêm đang được tiếp tục tiến hành.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Chourrout R., Guynomard R., and Housebine L. M., 1986: Aquaculture, 51: 143-150.
2. Mc Evoy T., Stach M., et al., 1988: Aquaculture. 68: 27-37.
3. Zhang P., Hayar M., et al., 1988: Gene transfer, expression and inheritance of RS-trout GH-cDNA in fish. Fish Int. Sym. Matine Molec. Biotechnol., 9-11 October, Baltimore (Abstract).
4. Zhu Z., Xu K., et al., 1986: Biological effect of Human Growth Hormone gene microinjected into the fertilized eggs of loach *Misfurus auguillicaudatus* (Cartor).
5. Dunham R. A. et al., 1987: Trans. Am. Fish. Soc., 116: 87-91.
6. Brem G. et al., 1988: Aquaculture, 68: 209-219.
7. Zhu Z. et al., 1995: J. Agrew. Ichthyol., 1: 31-34.
8. Straubinger R. M. et al., 1983: Methods Enzymol., 101: 512-527.

9. Nguyễn Văn Cường, Nguyễn Kim Độ, và cộng sự, 1995: Tạp chí Sinh học, 17 (2) [CD]: 30-32.

10. J. Delattre et al., 1993: Les liposomes, aspects, technologiques, biologiques et pharmacologiques. Les Editions INSERM.

11. Nguyễn Văn Cường, Nguyễn Kim Độ, và cộng sự, 1995: Kỹ thuật tạo cá chuyển gen bằng hormon sinh trưởng. Hội thảo khu vực nhân năm L. Pasteur "Vi Sinh vật học và Công nghệ sinh học", Hà Nội, 6 - 7/10.

STUSY ON THE TRANSFER OF ENCAPSULATED MTHGH LIPOSOMES INTO THE FERTILIZED OF GOLDFISH BY MICRONJECTION

NGUYEN THI DE *et al.*

SUMMARY

The MThGH construct was isolated, purified and encapsulated into phospholipid liposomes. The encapsulated MThGH liposomes was microinjected into the fertilized eggs of goldfish. The hatching ratio of microinjected eggs was about 20 - 50% and, after 40 days, the body weight of microinjected fish is higher than that of non-microinjected about 143%.

Ngày nhận bài: 6-9-1998

KẾT QUẢ KHẢO SÁT BƯỚC ĐẦU HỆ ÉCH NHÁI-BÒ SÁT

(Tiếp theo trang 16)

4. Er-MiZhao and Kraig Adler, 1993: danh lục thực vật rừng, động vật rừng quý hiếm và Herpetology of China Society for the study of chế độ bảo vệ.
Amphibians and Reptiles.

5. Nghị định 18/HDBT, 1992: Qui định bò sát và ếch nhái Việt nam. NXB Khoa học và Kỹ thuật.

6. Nguyễn Văn Sáng, Hồ Thu Cúc, 1996: Danh lục

FIRST SURVEY ON AMPHIBIANS AND REPTILES IN THE WEST FOREST PART OF QUANG NAM PROVINCE

LE NGUYEN NGAT, NGUYEN VAN SANG

SUMMARY

April 1997, we have collected 215 specimens of amphibians and reptiles in the west forest part of the Quang Nam province. On basic of the former results as well as of the results of this survey, we have determined 66 species (19.41% of total finding species in Vietnam), including 22 amphibian species (belonging to 6 families, 1 order) and 44 reptile species (belonging to 13 families, 2 orders). This species composition is richer than the ones of the Bach Ma national park and the Ngoc Linh reserve forest. Among them, 38 species are first found in this area and 18 species are written down in the Red Book of Vietnam.

Ngày nhận bài: 26-6-1998

SỰ LÂY TRUYỀN CHẤT BỘT MÀU TRONG QUẦN THỂ MỐI COPTOTERMES FORMOSANIS SHIRAKI (ISOPTERA: RHINO TERMITIDAE)

TRINH VĂN HẠNH

*Trung tâm Nghiên cứu phòng trừ mối,
Viện Khoa học thủy lợi*

NGUYỄN VĂN QUẢNG, NGUYỄN THỊ THANH HƯƠNG

Trường Đại học Khoa học tự nhiên, ĐHQG Hà Nội

Mối là côn trùng xã hội, có sự phân hóa cao về mặt hình thái và chức năng. Với đặc tính làm tổ và hoạt động tinh vi cùng khả năng phân giải nhanh chóng các sản phẩm có nguồn gốc xenluloza, mối đang được xem là một trong những côn trùng có ý nghĩa kinh tế quan trọng đối với con người. Việc phòng chống mối từ lâu đã được quan tâm nghiên cứu, nhiều phương pháp phòng chống hữu hiệu tùy theo đối tượng bảo vệ và từng loài mối đã được áp dụng để hạn chế thiệt hại do mối gây ra (Lý Thủy Mỹ, 1961; Nguyễn Đức Khảm, 1976; Nguyễn Chí Thanh, 1995). Phương pháp lây nhiễm là một trong những phương pháp được nhiều cơ sở phòng chống mối quần thể của chúng làm mất hay suy giảm khả năng điều tiết vi khí hậu trong tổ dẫn đến tiêu diệt cả đàn mối là nội dung cơ bản của phương pháp lây nhiễm. Xét về cơ chế của sự lây truyền thì đã có nhiều ý kiến của các tác giả khác nhau được đưa ra dựa trên các quan sát thực tiễn sản xuất và những lý giải mang tính logic (Nguyễn Ngọc Kiên, 1987; Nguyễn Chí Thanh, 1995; Nguyễn Đức Khảm, 1976). Theo những tài liệu hiện có thì những số liệu thực nghiệm để chứng minh cho giả thuyết nêu ra còn tản mạn và chưa đầy đủ. Hơn nữa, thực tế sản xuất hiện nay đòi hỏi phải sử dụng các tác nhân xử lý không độc hoặc ít độc cho môi trường và con người, những tác nhân này có thể lây truyền được trong quần thể mối hay không hiện nay còn đang là vấn đề cần được giải quyết. Kết quả nêu lên trong bài

báo này góp phần làm sáng tỏ thêm các con đường lây truyền chất diệt mối trong phương pháp lây nhiễm cũng như những tập tính xã hội của loài mối nghiên cứu.

I - PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Chất bột màu được dùng trong thí nghiệm là bột mực photocopy màu đen không tan trong nước và đã được thí nghiệm xác định là không ảnh hưởng tới tỷ lệ sống sót của mối *C. formosanus* (Nguyễn Văn Quảng, 1997, tư liệu chưa công bố).

1. Nghiên cứu sự lây truyền chất bột màu bằng con đường tiếp xúc:

Sự lây truyền bột màu bằng con đường tiếp xúc dựa theo phương pháp phổ biến thử nghiệm về thuốc của Nguyễn Đức Khảm (1976) và Nguyễn Chí Thanh (1995) có cải tiến để phù hợp với mục đích thí nghiệm. Mỗi thí nghiệm *Coptotermes formosanus* được lấy từ tổ mối nuôi tại Trung tâm Nghiên cứu và phòng trừ mối, Viện Nghiên cứu Khoa học và kinh tế thủy lợi, đưa vào trong các đĩa petri (kích thước 9 cm × 1,5 cm) đáy có lót giấy lọc để đảm bảo cho sự vận động bình thường của mối. Mỗi đĩa petri có chứa 50 cá thể, trong đó 15 - 20% là mối lính còn lại là mối thợ. Một ống thủy tinh nhỏ chứa nước có gắn nút bông để duy trì độ ẩm và cung cấp nước cho mối thí nghiệm. Ba mức thí nghiệm khác nhau bởi tỷ lệ các cá thể phun chất bột màu ban đầu là 4%, 8%, và 12% (gọi tắt là tỷ lệ nhiễm ban đầu) được bố trí trong thí nghiệm. Mỗi

mức thí nghiệm được thí tiến hành trên 4 đĩa petri trong đó có một đĩa làm mỗi chứng (không có các thể nào được phun chất bột màu). Sau mỗi khoảng thời gian 1 giờ kể từ khi đưa cá thể được phun chất bột màu vào quần thể mỗi thí nghiệm, số cá thể bị dính chất bột màu trong mỗi đĩa petri được đếm và ghi lại. Thí nghiệm được kéo dài trong 6 giờ trong điều kiện nhiệt độ phòng 25-27°C và ẩm độ là 70-75%. Mỗi thí nghiệm được lặp lại 5 lần để tính giá trị trung bình.

2. Nghiên cứu sự lây truyền chất bột màu qua con đường vị độc:

Thí nghiệm về sự lây truyền chất bột màu qua con đường vị độc (qua miệng) được bố trí tương tự như mục a. Bảy đĩa petri mỗi đĩa chứa 50 cá thể

(với tỷ lệ mỗi lính là 15-20%) trong đó 1 đĩa đối chứng, sáu đĩa còn lại có tỷ lệ cá thể được phun chất bột màu ban đầu là 4%. Cứ sau mỗi khoảng thời gian 1 giờ, số cá thể trong 1 đĩa petri được mổ để quan sát thức ăn trong ruột. Số cá thể có thức ăn lẫn chất bột màu và vị trí của bột màu trong ruột (ruột trước, ruột giữa, ruột sau) được đếm và ghi lại. Thí nghiệm được lặp lại 5 lần để tính giá trị trung bình.

II - KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

1. Lây truyền chất bột màu qua con đường tiếp xúc:

Kết quả thí nghiệm về sự lây truyền chất bột màu trong quần thể mỗi thí nghiệm *C. formosanus* được trình bày trong bảng 1 và hình 1.

Bảng 1

Tỷ lệ cá thể bị dính chất bột màu trong các thí nghiệm khác nhau

Tỷ lệ nhiễm ban đầu (%)	Cá thể bị dính chất bột màu sau những khoảng thời gian khác nhau (%)					
	1 giờ	2 giờ	3 giờ	4 giờ	5 giờ	6 giờ
4	76,5 ± 3,5	65,7 ± 2,3	53,3 ± 4,1	44,3 ± 7,2	32,6 ± 3,0	31,3 ± 4,7
8	95,4 ± 5,1	90,5 ± 3,8	86,0 ± 3,7	74,5 ± 2,8	64,3 ± 6,5	65,5 ± 5,5
12	96,2 ± 2,6	96,0 ± 6,2	96,6 ± 5,3	90,2 ± 6,4	87,6 ± 2,4	85,6 ± 3,6
Đối chứng	Mối sống bình thường, không phát hiện thấy chất bột màu dính trên cơ thể					

Ở cả 3 mức thí nghiệm đều có số cá thể dính chất bột màu tăng lên cao sau 1 giờ thí nghiệm, tương ứng là 76,5%, 95,4% và 96,2%. Tuy nhiên từ giờ thí nghiệm thứ 2 trở đi số cá thể dính chất bột màu lại giảm đi, đến giờ thí nghiệm thứ 6 số cá thể dính chất bột màu tương ứng là 31,3%, 65,6% và 85,6%. Như vậy, ở các mức thí nghiệm với tỷ lệ nhiễm ban đầu càng cao thì số cá thể dính chất bột màu sau 1 giờ thí nghiệm nhìn chung càng lớn và mức độ giảm đi của các tỷ lệ này càng chậm khi thời gian thí nghiệm tăng lên. Mức thí nghiệm có tỷ lệ nhiễm ban đầu là 4% có tốc độ giảm mạnh nhất. Vì vậy, để tìm nguyên nhân biến đổi của tỷ lệ nhiễm, tỷ lệ cá thể dính thuốc ban đầu là 4% được dùng cho thí nghiệm tiếp theo.

2. Lây truyền chất bột màu qua con đường miệng (con đường vị độc):

Với 1500 cá thể mỗi được mổ để quan sát chất bột màu trong ruột, kết quả được trình bày bảng 2.

Từ 4% cá thể mỗi thí được phun bột màu lên trên cơ thể, sau 1 giờ thí nghiệm đã phát hiện thấy có tới 46,28% cá thể ex chất bột màu trong ruột. Tỷ lệ này tiếp tục tăng lên cùng với việc tăng thời gian thí nghiệm, ở giờ thí nghiệm thứ 6 đã đạt tới 82,3%. Như vậy có thể thấy, chất bột màu từ chỗ chỉ bám bên ngoài cơ thể đã được mỗi đưa vào ruột qua miệng. Đây là con đường thứ hai lây truyền chất màu trong quần thể mỗi *C. formosanus*. Ở giờ đầu thí nghiệm, chất bột màu chỉ phát hiện thấy ở ruột

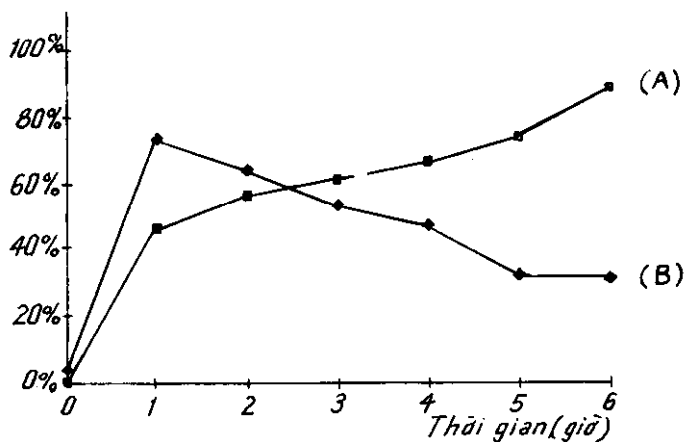
trước, từ giờ thứ 2 trở đi mới thấy ở ruột giữa và đầu ruột sau, đến giờ thí nghiệm thứ 6 chất bột màu có trong cả ruột trước, ruột giữa và ruột sau. So sánh với kết quả mục 1 cho thấy xu hướng biến đổi

của tỷ lệ cá thể mỗi được lấy truyền chất bột màu qua con đường miệng ngược với xu hướng biến đổi của tỷ lệ cá thể lấy truyền qua con đường tiếp xúc (hình 1).

Bảng 2

Tỷ lệ mỗi thí nghiệm có chất bột màu trong ruột sau những khoảng thời gian khác nhau

Thí nghiệm	Cá thể có chất màu trong ruột (%)					
	1 giờ	2 giờ	3 giờ	4 giờ	5 giờ	6 giờ
1	52,2	60,0	34,0	52,0	42,0	60,0
2	38,0	48,0	71,2	55,8	65,6	94,2
3	60,0	58,0	62,0	68,0	77,0	74,0
4	45,1	69,1	66,7	72,6	87,3	96,0
5	46,0	63,3	68,0	74,0	82,0	87,5
TB	48,2 ± 7,3	59,6 ± 6,9	60,3 ± 13,5	64,4 ± 8,9	70,7 ± 16,0	82,3 ± 13,5
Đối chứng	Mối sống bình thường, không phát hiện thấy chất bột màu trong ruột					



Hình 1. Sự biến đổi của tỷ lệ cá thể lấy truyền chất bột màu qua con đường miệng (A) và con đường tiếp xúc (B)

III - THẢO LUẬN

Lý Thủy Mỹ (1961) xử lý mối *Coptotermes* bằng cách tìm tổ và phun trực tiếp thuốc lây nhiễm lên nóc tổ để diệt mối. Theo ông sự lây truyền được diễn ra do mối ở trên nóc tổ bị trúng thuốc đi xuống đáy tổ chết, môi trường ở đáy tổ bị ô

nhiễm, các cá thể còn sống lại phải leo lên nóc tổ và tiếp tục bị nhiễm thuốc. Mặt khác ông còn cho rằng, khi mối bị nhiễm thuốc độc chúng cọ sát vào nhau và lây nhiễm thuốc cho nhau. Như vậy, theo ông thuốc lây nhiễm trong quần thể mối bằng con đường tiếp xúc thụ động. Nguyễn Đức Khảm (1976) lại cho rằng, con đường lây nhiễm là do mối

đánh đuổi và giết chết các cá thể bị dính thuốc độc từ ngoài tổ trở về và cá thể làm nhiệm vụ tự vệ đó lại nhiễm thuốc lây truyền tiếp tục trong đàn mối. Theo Nguyễn Ngọc Kiềng (1987) thì sự lây nhiễm diễn ra chính bằng con đường miệng do các cá thể liếm lẫn nhau khi chúng bị dính chất độc trên cơ thể, tác giả đã không đề cập đến sự lây truyền bằng con đường tiếp xúc. Nguyễn Chí Thanh (1995) cho rằng, quá trình lây nhiễm thuốc trong quần thể loài mối *Coptotermes* là do khi mối ở bên ngoài tổ bị trúng thuốc độc chúng ò ạt chạy về tổ và chết ở trong tổ. Các cá thể còn sống đã khiêng vút xác các cá thể chết ra khỏi tổ và chính chúng cũng lại bị lây nhiễm bằng con đường miệng. Như vậy, mặc dù cách giải thích của các tác giả trên có những khía cạnh khác nhau, nhưng nhìn chung cho thấy, sự lây truyền thuốc trong quần thể mối xử lý theo phương pháp lây nhiễm được diễn ra theo hai con đường tiếp xúc và con đường miệng do phản ứng của mối với chất độc được dùng trong quá trình xử lý. Số liệu thu được trong các thí nghiệm của chúng tôi về sự lây truyền chất bột màu theo con đường tiếp xúc và con đường miệng trong quần thể mối *C. formosanus* đã góp phần làm sáng tỏ các nhận xét của các tác giả trước đây về cơ chế diệt mối theo phương pháp lây nhiễm. Tuy nhiên, việc sử dụng chất bột màu photocopy không độc đối với mối trong thí nghiệm còn cho thấy, không phải chỉ có chất độc dưới dạng bột mới được lây truyền trong quần thể mối theo các con đường nói trên và việc lây nhiễm bằng con đường miệng cũng không phải chỉ do phản ứng tự vệ đánh đuổi các cá thể nhiễm thuốc độc từ bên ngoài chạy về tổ (Nguyễn Đức Khảm, 1976) hay do khuẩn xác các cá thể bị chết do nhiễm thuốc vút ra khỏi tổ (Nguyễn Chí Thanh, 1995) mà còn do tập tính xã hội loại trừ hay làm sạch cơ thể của mối cá thể và giữa các cá thể đồng loại với nhau khi trên cơ thể chúng bị dính vật lạ. Có lẽ chính vì vậy khi thời gian thí nghiệm tăng lên từ 1 đến 6 giờ tỷ lệ cá thể dính chất bột màu bên ngoài cơ thể lại giảm đi và tỷ lệ các cá thể có chất bột màu trong ruột lại tăng lên (hình 1). Kết quả này cũng trùng với các quan sát trước đây ở loài mối *Macrotermes bellicosus* của Nguyễn Văn Quảng (1990). Cũng từ kết quả

thí nghiệm trên còn gợi cho các nhà nghiên cứu phòng trừ mối điều đáng lưu ý là: Nếu sử dụng một chất lạ nào đó dưới dạng bột để phun vào quần thể *C. formosanus* thì do tập tính xã hội của mối, chất lạ đối với chúng có thể được lây truyền giữa các cá thể trong quần thể. Điều này có ý nghĩa quan trọng trong việc sử dụng các tác nhân lạ đối với mối nhưng ít độc hay không độc cho môi trường để phòng chống mối. Tuy nhiên, từ ruột cá thể này chất lạ có thể lan truyền sang cá thể khác được không, điều này đòi hỏi còn phải có những nghiên cứu tiếp trong tương lai.

IV - KẾT LUẬN

1. Sự lây truyền chất bột màu trong quần thể mối *C. formosanus* diễn ra theo hai con đường tiếp xúc và qua miệng.
2. Khi thời gian thí nghiệm tăng, tỷ lệ cá thể bị dính chất bột màu (theo con đường tiếp xúc) và cá thể có chất bột màu trong ruột (theo con đường miệng) đều tăng ở giờ thí nghiệm đầu tiên. Từ giờ thí nghiệm thứ 2 trở đi tỷ lệ cá thể nhiễm chất bột màu theo hai con đường trên biến đổi có xu hướng ngược nhau.
3. Lợi dụng tập tính xã hội loại trừ hay làm sạch cơ thể của mối cá thể và giữa các cá thể với nhau, có thể đưa được chất lạ (không chỉ là chất độc mà cả chất ít độc hay không độc) dưới dạng bột lây truyền trong quần thể mối *C. formosanus*, đây là điều đáng lưu ý trong quá trình phòng chống mối nhằm hạn chế việc ô nhiễm môi trường.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nguyễn Đức Khảm, 1976: Mối miền Bắc Việt Nam. Nhà xuất bản KHKT Hà Nội.
2. Nguyễn Ngọc Kiềng, 1987: Phòng chống mối. Nhà xuất bản Thành phố Hồ Chí Minh.
3. Lý Thủy Mỹ, 1961: Phương pháp phòng trị mối (tài liệu dịch từ tiếng Trung Quốc). Nhà xuất bản Khoa học, 1961.
4. Nguyễn Chí Thanh, 1995: Nghiên cứu phương pháp diệt và phòng mối không phải tìm tổ cho công trình đã xây dựng. Luận án Phó tiến sĩ..

THE INFECTION OF THE EXPERIMENTAL COLOUR POWDER IN THE POPULATION OF *COPTOTERMES FORMOSANIS* SHIRAKI

TRINH VAN HANH *et al.*

SUMMARY

The photocopy ink powder were used to spray on the body of the individuals of the termites *Coptotermes formosanus* Shiraki which were confined in the petri plates in order to investigate the ways by which the experimental powder were infected from one to the another. The result shows that the used powder could be transmitted through 2 ways - the contacted way and the oral way. At the first experimental hour, the percentage of termites adhered the ink powder on body increased from 4%, 8% and 12% to 76.5%, 95.4% and 96.2%, respectively. From the 2nd hour to the end of experiment these percentages decreased, at the 6th hour these numbers were only 31.3%, 65.6% and 85.6%, respectively. Whereas the percentage of termites having the ink powder in intestine gradually increased during the experimental time, from 48.2% at the first hour up to 82.3% at the 6th hour. Besides, the result shows indirectly that not only the poison subtract to termite could be infected but also the trange one to the termite could be spread in the population of *C. form-osan* because of their social behaviour.

Ngày nhận bài: 26-5-1998

GANODERMA TRENGGANUENSE CORNER MỘT LOÀI NẤM LINH CHI MỚI PHÁT HIỆN CÓ Ở VIỆT NAM

(Tiếp theo trang 7)

5. Le Xuan Tham, 1998: A hypothesis in phylogeny of the Ganodermataceae Donk, based on the evolution of basidiopores. Mycotaxon 69: 1-12

6. Jong S. C. and Birmingham J. H., 1992: Medicinal benefits of the mushroom Ganoderma. Advances in Applied Microbiology, 37: 10-34.

7. Lê Xuân Thám, 1998: Nấm Linh chi Reishi - Mannentake - Ganoderma - Những vấn đề sinh lý dinh dưỡng trong nuôi trồng chất lượng cao. 242 tr. NXB Khoa học và Kỹ thuật.

8. Lê Xuân Thám, 1997: Khả năng sinh trưởng đặc biệt của nấm Hồng chi mới *Humphreya* sp. Dược học, Số 8, Hà Nội.

GANODERMA TRENGGANUENSE CORNER - A LINGZHI SPECIES NEWLY FOUND IN VIETNAM

LE XUAN THAM

SUMMARY

A precious Lingzhi species newly found in Da Lat (Lam Dong) Vietnam was identified to be *Ganoderma trengganuense* Corner with specific reticulate basidiospores, similar to that of *Humphreya* species. Comparative analysis with ribosomal DNA and basidiospore from *Humphreya* sp. nov. also recently found in Da Lat, was thoroughly discussed to show their close relationships in phylogeny. Pure isolation and fruitful cultivation of *G. trengganuense* were promising for preservation of gene resources and supply of materia medica.

Ngày nhận bài: 6-2-1998

XÁC ĐỊNH GIỚI TÍNH CỦA PHÔI VÀ TẾ BÀO PHÔI BÒ BẰNG KỸ THUẬT PCR

NGUYỄN THỊ ƯỚC, LÊ VĂN TY,
NGUYỄN HỮU ĐỨC, NGUYỄN HUY HOÀNG,
NÔNG VĂN HẢI, BUI XUÂN NGUYỄN

Viện Công nghệ sinh học

Điều khiển và chọn giới tính là vấn đề được quan tâm từ nhiều góc độ khác nhau: tạo con giống theo nhu cầu sản xuất (bò cái đối với các đàn bò vắt sữa, bò đực đối với đàn khai thác tinh).

Cùng với sự phát triển công nghệ phôi ở quy mô công nghiệp, phương pháp xác định giới tính của phôi ở giai đoạn trước khi làm tổ đã được nhiều tác giả quan tâm nghiên cứu [4, 7, 15]. Nguyên tắc chung của các phương pháp này là khai thác các đặc điểm liên quan tới sự khác biệt về trình tự nucleotit trong nhiễm sắc thể của phôi đực (XY) và phôi cái (XX).

Kỹ thuật nhuộm nhiễm sắc thể các mảnh cắt (biopsy) của phôi được xây dựng vào những năm 1980 [5, 6], đã cho phép xác định giới tính của phôi với độ chính xác dao động từ 95 tới 98%. Tuy nhiên, do độ nhạy của phương pháp thấp nên việc đưa vào thực tế ứng dụng còn bị hạn chế.

Từ các năm 1990, việc sử dụng các kỹ thuật PCR để xác định giới tính của phôi đã được nhiều tác giả thử nghiệm thành công [10, 13]. Với ưu điểm có độ nhạy và độ đặc hiệu cao, chính xác 100%, kỹ thuật xác định giới tính của phôi bằng PCR đang được sử dụng rộng rãi trong việc sản xuất phôi, đặc biệt là công nghệ nhân vô tính phôi [1].

Công trình này, được thực hiện với mục đích xây dựng một phương pháp xác định giới tính của phôi trâu bò nhanh nhạy chính xác, áp dụng vào thực tế chăn nuôi ở Việt Nam, theo hai hướng: chọn giới tính của phôi được sản xuất

bằng gây rụng nhiều trứng và thụ tinh trong ống nghiệm và xác định giới tính của các tế bào phôi để sử dụng trong nhân dòng phôi bằng cấy nhân.

1 - PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Gây rụng nhiều trứng:

Bò cái trưởng thành có chu kỳ sinh sản bình thường được xử lý gây rụng nhiều trứng bằng FSH (40 mg, tiêm cơ với liều gián dần, ngày 2 lần, liên tục trong 4 ngày) kết hợp với Synchronat B và PGF_{2α}. Bò được phối tinh bằng tinh đông lạnh 10 giờ và 22 giờ sau khi xuất hiện động dục [8]. Thu phôi được thực hiện ở giai đoạn 7-8 ngày tuổi (tính từ ngày động dục), các phôi phát triển bình thường được tuyển chọn để xử lý vi thao tác và xác định giới tính PCR.

2. Thụ tinh trong ống nghiệm:

Buồng trứng bò được thu từ các lò mổ, bảo quản ở 30°C. Trứng được hút ra từ các nang bào có đường kính từ 0,3 cm trở lên và được xử lý theo phương pháp của Sirard M. A. và cs (1988), Leibried và Baviester (1989). Trứng được nuôi trong môi trường TC199, trong thời gian 24 giờ, sau đó được phân loại để đưa vào môi trường thụ tinh. Sau 18 - 24 giờ, trứng gặp tinh trùng đã hoạt hóa, trứng thụ tinh được chuyển vào môi trường nuôi B2, 20% SVF. Các phôi phát triển tới giai đoạn 4, 8, 16, 32 tế bào, phôi dâu, phôi nang được chọn để sinh thiết và tách tế bào dùng trong PCR, và nuôi tiếp đến các giai đoạn sau.

Công trình được sự hỗ trợ kinh phí của Chương trình nghiên cứu khoa học cơ bản và đề tài Đa dạng sinh học - Viện Công nghệ sinh học.

3. Sinh thiết phôi và tách tế bào phôi bằng vi thao tác enzyme:

Sinh thiết phôi đầu hoặc phôi nang được tiến hành trên máy vi thao tác, dưới kính hiển vi Olympus IMT-2 theo 2 cách: Cắt một mảnh phôi bằng vi phẫu thuật, hoặc hút 2-8 tế vào phôi bằng micropipet. Trong cả hai trường hợp, phôi được đặt riêng trong 50 μ l dung dịch TC199 có phủ parafin, được cố định bằng một pipet giữ có đường kính 120 μ m, lưới dao đặt phía đối diện với núm phôi và cắt một cung 60 độ (J. P. Ozil, 1986). Trong trường hợp vi hút: các tế bào phôi được hút ra nhờ một micropipet có đường kính 10 -20 μ m (hình 1). Phần sinh thiết được chuyển vào ống nghiệm để xử lý PCR. Tiếp tục nuôi phôi để quan sát sự phát triển. Phôi 4-32 tế bào được xử lý bằng pronase 2,5% trong môi trường không có Ca^{2+} và Mg^{2+} . Các tế bào phôi được tách rời và phân lập bằng micropipet. Dùng 2-8 tế bào cho chạy PCR, các tế bào còn lại được nuôi in vitro trong môi trường nuôi.

4. Nuôi in vitro phôi và các tế bào phôi:

Phôi và các tế bào phôi, sau khi được xử lý vi thao tác hoặc enzym, được nuôi tiếp trong môi trường đặt trong tủ nuôi với điều kiện nhiệt độ 37°C, 5% CO₂ trong không khí và độ ẩm 80 - 100% trong hai ngày, để theo dõi các bước phát triển tiếp theo.

5. PRC:

Các mảnh cắt của phôi và tế bào phôi chứa tối thiểu 25-30 ng ADN, được đưa vào ống nghiệm ependoff 0,5 ml để làm phản ứng PCR. Phản ứng được tiến hành, với đôi primer ZFX và ZFY (do INRA - Pháp thiết kế, 1996), 50 pg mỗi loại, 3 đv TAQ, 2 mM NTPs và 5 ml đệm PCR (100 mM Tris-HCl, pH 8,8, 500 mM KCl, 15 mM MgCl₂, 0,1% Triton X-100), thêm nước cất milliQ cho đủ 50 μ l, có phủ 100 μ l parafin.

Phản ứng được thực hiện trên máy PCR, tiến hành với 30 chu kỳ, kéo dài trong 75 phút (90°C trong 20 giây, 60°C trong 20 giây, 73°C trong 10 giây), làm nguội khi kết thúc phản ứng ở nhiệt độ 25°C.

Sau khi chạy phản ứng PCR, các mẫu được đưa lên điện di agarose 3% trong dung môi TAE. Chạy điện di trong 30 phút. Điện thế 10 phút đầu là 40 V, 30 phút sau là 130 V. Kết thúc điện di, bản gel agarose được nhuộm ethidium bromide, lắc nhẹ trong 30 phút, sau đó quan sát và chụp ảnh trên ánh sáng cực tím (245 - 300 nm). Đọc giới tính từng mẫu dựa trên cơ sở so sánh với các mẫu chuẩn.

II - KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Thí nghiệm được tiến hành trên 28 mẫu phôi bò và 2 mẫu phôi trâu. Trong đó, 14 phôi bò và phôi trâu được sinh thiết bằng vi thao tác hút tế bào, 10 phôi bò được sinh thiết bằng vi phẫu thuật cắt một mảnh, 4 phôi bò (giai đoạn 4 tế bào đến 32 tế bào) được xử lý bằng pronase (bảng 1).

Sức sống của phôi sau khi xử lý, được đánh giá bằng khả năng phát triển của phôi đến các giai đoạn tiếp sau, cho thấy: trong trường hợp sinh thiết bằng vi thao tác hút tế bào phôi: 100% số phôi sống (14/14 bò; 2/2 trâu). Trong trường hợp cắt một mảnh, chỉ có một phôi (10%) có dấu hiệu bị phân hủy, do bị cắt mảnh quá lớn hoặc bị nhiễm trùng, hoặc do cả hai nguyên nhân. Các phôi còn lại (9/10) đều tiếp tục quá trình phát triển, đạt đến giai đoạn phôi chui ra khỏi vỏ ỉellucide.

Các tế bào phôi, sau khi được tách bằng pronase, được nuôi in-vitro. Sức sống được đánh giá bằng khả năng phân bào, và khả năng tự ghép vào nhau để tạo phôi. Cả hai khả năng này đều quan sát thấy ở 100% trường hợp (7/7), tuy nhiên số tế bào phôi tự phát triển đến giai đoạn tạo xoang chiếm ưu thế ở các tế bào từ giai đoạn thấp hơn 16 tế bào. Cụm 5 tế bào phôi (giai đoạn 32 tế bào) phát triển đến giai đoạn có xoang.

Mẫu tế bào từ 10 phôi bò, 2 phôi trâu được tiến hành phân tích (bảng 1). Kết quả PCR cho thấy tất cả các mẫu phôi chỉ có 2 dạng điện di đồ: một dạng thể hiện rõ 2 băng 443 bp và 148 bp đặc trưng cho phôi có giới tính đực và một dạng thể hiện rõ 1 băng 443 bp của phôi cái. Không có dạng trung gian, điều này cho phép kết luận về độ chính xác

100% của phương pháp (hình 1).

Độ nhạy của phương pháp rất cao, các băng giới tính có thể quan sát thấy bằng mắt thường, ở lượng mẫu 2, 3 tế bào phôi. Độ đậm nhạt của băng giới tính không phụ thuộc vào khối lượng phôi đưa vào mà phụ thuộc rất rõ vào số lượng tế bào phôi tham gia vào phản ứng.

Độ ổn định của phương pháp được kiểm tra bằng các mẫu tách ra cùng một phôi với số lượng tế bào khác nhau, cho thấy hai vạch đặc trưng cho phôi đực là 443 bp ($n = 6$) và phôi cái là 443 bp ($n = 3$) luôn luôn xuất hiện (bảng 1).

Bảng 1

Kết quả xác định giới tính của phôi và tế bào bào bằng PCR

Số TT	Giai đoạn phát triển của phôi	Tính chất mẫu chạy PCR	Số mẫu PCR	Kết quả		
				Mẫu 1	Mẫu 2	Mẫu 3
1	Phôi dâu	Mảnh cắt (20 tế bào)	2	Đực	Đực	
2	Phôi dâu	Mảnh cắt ($\approx 10-12$ tế bào)	1	Đực		
3	Phôi nang	Mảnh cắt ($\approx 10-15$ tế bào)	2	Cái	Cái	
4	Phôi dâu	Mẫu hút (3-5 tế bào)	3	Cái	Cái	Cái
5	Phôi dâu	Mẫu hút (3-5 tế bào)	1	Đực		
6	Phôi dâu	Mảnh cắt nửa phôi	2	Đực	Đực	
7	Phôi 4 tế bào	Tách pronase (2 tế bào)	2	Cái	Cái	
8	Phôi 8 tế bào	Tách pronase				
		- 2 tế bào	2	Cái	Cái	
		- 4 tế bào	1	Cái	Cái	
		- 1 tế bào	1	không rõ	không rõ	
9	Phôi 32 tế bào	Tách pronase				
		- 4 tế bào	3	Đực	Đực	Đực
		- 8 tế bào	1	Đực		
		- 2 tế bào	2	Đực	Đực	
10	Phôi dâu (sau đông lạnh)	Mẫu hút tế bào (5 tế bào)	2	Cái	Cái	
11	Phôi dâu (trâu)	Mẫu hút tế bào (5-7 tế bào)	2	Cái	Cái	
12	Phôi dâu (trâu)	Mẫu hút tế bào (5-7 tế bào)	2	Cái	Cái	

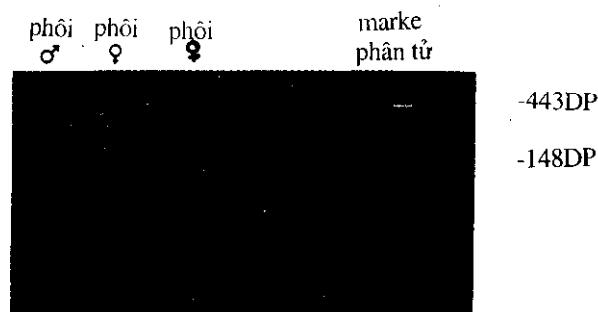
Để tối ưu hóa qui trình, trong trường hợp cắt phôi, lượng phôi hợp lý để chạy PCR cần thiết 2 - 5% phôi tương ứng với lượng tối thiểu 3 - 5 tế bào phôi sẽ cho băng phân biệt dễ dàng bằng mắt thường.



Hình 1a



Hình 1b



Hình 1c

- Hình 1:** a) Hút tế bào phôi bằng vi thao tác.
b) Tách tế bào phôi bằng Pronase.
c) Điện di đồ trên agarose sau khi chạy PCR: phân biệt rõ vạch 443 bp và 148 bp đặc trưng cho phôi đực, vạch 443 đặc trưng cho phôi cái

Cả hai mẫu sinh thiết được tách ra từ hai phôi trâu đều cho ra 1 băng 443 bp tương ứng với tính cái ở bò. Tuy nhiên, liệu có thể sử dụng primers thiết kế cho xác định giới của bò để áp dụng cho trâu được không [2], còn phải tiếp tục kiểm tra với số lượng mẫu lớn hơn, so sánh với phương pháp nhuộm nhiễm sắc thể, cũng như các kết quả trâu con được sinh ra.

Thực tế cấy phôi bò hiện nay ở Việt Nam cho thấy nên áp dụng quy trình xác định giới tính vào việc cấy phôi tươi. Thời gian từ lúc có phôi đến lúc phôi được xác định xong giới tính trong khoảng

2 - 2,5 giờ (0,5 - 1 giờ cho vi thao tác, 1,5 đến 2,0 giờ cho PCR).

Như vậy, xác định giới tính bằng PCR trước khi cấy phôi tươi là hoàn toàn có thể thực hiện được, như các công trình trước đây của chúng tôi [3] cho thấy độ lệch pha giữa con cho và con nhận phôi là +1 ngày vẫn cho phép tỉ lệ có thai là 70%.

Xác định giới tính của phôi bò với độ chính xác 100%, là công trình đầu tiên tiến hành tại Việt Nam, có độ nhạy cao và tính lặp lại ổn định, tạo tiền đề cho các định hướng:

- Tổ chức Ngân hàng phôi bò có giới tính xác định.

- Xác định giới tính của tế bào phôi dùng cho việc nhân dòng phôi bằng cấy nhân.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Adenot P. G. et al., 1997: Mol. Reprod. Dev., 46 (3): 325-336.
2. Appa Rao K. B. C. et al., 1993: Mol. Reprod. and Development, 36: 191-196..
3. Bùi Xuân Nguyên và cs., 1996: Embryo technology in Vietnam: Contemporary results obtained in a National project. 2nd Asian Symp. on Anim. Biotech. (Nanjing, China): 21-28.
4. Curran S., 1992: Theriogenology, 37: 17-21.
5. Evans H. J., Bucklan R. A., Sumner, 1973: Chromosoma, 42: 383-402.
6. Handyside A. H., 1989: Biopsy of human preimplantation embryos and sexing by DNA amplification. Lancet, 1: 347-349.
7. Miller J. P., 1991: Reprod. Dom. Anim., 16: 54-57.
8. Nguyễn Thị Ước, 1996: Luận án Phó tiến sĩ Khoa học nông nghiệp, Hà Nội.
9. Ozil J. P., 1986: Micromanipulation of cattle embryos and production of identical twins. Rec. Prog. in Human in-vitro fertilization: 329-340.
10. Peura T. et al., 1991: Theriogenology, 35: 547-555.
11. Saiki R. K., 1988: Science, 239: 487-494.
12. Sirard M. A. et al., 1988: Biology of Reproduction, 39: 546-552.
13. Sutou S., 1996: Sexing bovine embryos by PCR using primers from SRY, Y-chromosome specific repetitive DNA and MEA-1. 2nd Asian Symp. on Anim. Biotech. (Nanjing China): 104-114.
14. Van Vliet R. A. et al. 1989: Theriogenology, 32: 421-438.
15. Wachtel S. S., 1984: Theriogenology, 21: 18-27.

SEXDETERMINATION OF EMBRYOS AND BLASTOMERES OF CATTE BY PCR TECHNIQUE

NGUYEN THI UOC *et al.*

SUMMARY

First attempt in Vietnam to use PCR technique to determine the sex of embryos in early stage of development of cattle has been described.

Biopsies were carried out in 14 blastocytes and morula of cattle by micropipet, 10 embryos were cut by microsurgery and 4 empyros (at stage 4 - 32 cells) by enzyme digestion. 100% of embryo (14/14) of cattle biopsied by microsuction and 9/10 embryos by microsurgery, normally developed in-vitro.

Amount of 2-5 cells from each embryo was satisfied for PCR analysis. The response of sex determination with precision 100% of embryos can be received after an analysing interval analizing of 2.5 - 3 hrs.

The new rapid method for sex determination can be applied for direct transplantation of fresh embryos in the field condition and otherwise in useful tool for creation of embryo freezing bank and cloning embryos with prediction of sex.

Ngày nhận bài: 16-11-1998

THÀNH PHẦN PROTEIN VÀ AXIT AMIN TRONG HẠT CỦA MỘT SỐ GIỐNG LÚA THƠM THUỘC TẬP ĐOÀN TÁM THƠM, DỰ HƯƠNG, DI HƯƠNG CỦA VIỆT NAM

NGUYỄN BÍCH NHÌ, NGUYỄN THỊ TỶ,
TỔNG QUỲNH MAI, PHAN VĂN CHI

Viện Công nghệ sinh học

Việc chọn lọc, lưu giữ các giống lúa ngon, có chất lượng cao của các địa phương có nghề trồng lúa lâu đời rất quan trọng trong việc bảo tồn các nguồn gen quý về tính đa dạng sinh học của lúa thơm.

Để đánh giá giá trị dinh dưỡng của một số giống lúa thơm này, chúng tôi đã tiến hành khảo sát thành phần protein và axit amin trong hạt của chúng.

I - PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Các giống lúa thơm Tám xoan Vĩnh Phúc, Tám tròn Hải Dương, Dự lùn Hải Dương, Dự hương Nam Định, Di trắng Hải Dương, Di đông Nam Định và các giống lúa thường NR-11, IR-64 (đối chứng) do Trung tâm Di truyền Tài nguyên Thực vật - Viện Khoa học kỹ thuật Nông nghiệp cung cấp.

Hàm lượng protein tổng số được xác định theo phương pháp Kjeldahl (với hệ số 5,95).

Điện di biến tính protein trên gel polyacrylamid SDS-PAGE [13].

Hàm lượng các axit amin được xác định trên máy HP-Amino Quant [12].

II - KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

1. Hàm lượng protein tổng số trong hạt của các giống lúa nghiên cứu:

Đã tiến hành xác định hàm lượng protein tổng số trong hạt của các giống lúa này.

Bảng 1 cho thấy hàm lượng protein tổng số trong hạt của các giống lúa thơm (8,33 - 9,58%) là

khá cao so với các giống lúa thường (7-7,5%). Các giống lúa trong cùng một tập đoàn ở các địa phương khác nhau thì có hàm lượng protein khác nhau như Tám xoan Vĩnh Phúc có hàm lượng protein 9,58%, cao hơn Tám tròn Hải Dương 8,33%... cũng tương tự như vậy đối với các tập đoàn Dự hương và Di hương. Các giống lúa thường có hàm lượng protein nhỏ hơn các giống lúa thơm, tuy nhiên giống NR-11 là giống lai từ giống nhập nội từ Philippin, tuy không phải lúa thơm, nhưng hàm có hàm lượng protein cao (9,5 %) và là giống lúa có chất lượng cao.

Bảng 1

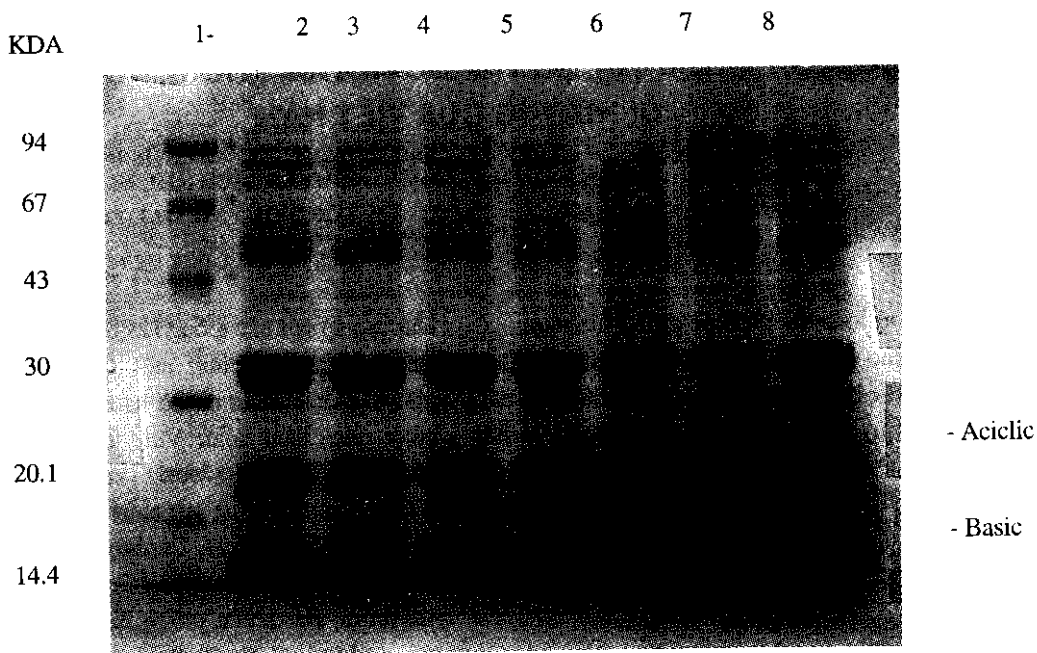
Hàm lượng protein tổng số trong hạt của số giống lúa thơm

STT	Giống lúa	Protein (%)
1	Tám xoan Vĩnh Phúc	9,58
2	Tám tròn Hải Dương	8,33
3	Dự lùn Hải Dương	9,58
4	Dự hương Nam Định	8,75
5	Di trắng Hải Dương	8,75
6	Di đông Nam Định	8,33
7	IR-64	7,00
8	NR-11	9,50

2. Thành phần protein hòa tan trong hạt của các giống lúa nghiên cứu:

Mẫu protein hòa tan trong hạt của các giống lúa được chiết như sau: hạt lúa sau khi đã bóc vỏ trấu, được nghiền mịn bằng cối chày sứ thành bột gạo. Protein trong bột gạo được chiết bằng dung

dịch đệm Tris-HCl 62,5 mM, pH 6,8 chứa 2% SDS và 5% - mercaptoethanol trong 1 giờ ở 37°C. Li tâm lấy dịch trong làm mẫu để chạy điện di SDS-PAGE trên gel 12,5%. Điện di đồ nhận được trên hình 1.



Hình 1. Điện di đồ protein hòa tan trong hạt của một số giống lúa thơm.

1. Marker; 2. NR-11; 3. Tám xoan Vinh Phúc; 4. Tám tròn Hải Dương; 5. Dự lùn Hải Dương; 6. Dự hương Nam Định; 7. Di trắng Hải Dương; 8. Di đông Nam Định.

Kết quả điện di protein trong hạt của các giống lúa thơm cho thấy thành phần protein hòa tan trong hạt của các giống lúa có sự giống nhau về các băng protein ở tất cả các giống lúa thơm và lúa thường, đặc biệt các băng protein có tính axit và các băng protein có tính kiềm có hàm lượng cao do bắt màu thuốc nhuộm Coomassi Brilliant Blue rất mạnh.

3. Thành phần axit amin trong hạt của các giống lúa nghiên cứu:

Đã tiến hành xác định thành phần axit thủy phân trong hạt của các giống lúa nghiên cứu trên máy HP-Amino Quant Series II. Trên các sắc ký đồ nhận được, ở tất cả các giống lúa đều có đủ 18 axit amin thông thường. Về hàm lượng từng loại axit amin được trình bày trong bảng 2.

Về thành phần axit amin trong hạt của các giống

lúa thơm, chúng tôi có một số nhận xét như sau:

Các axit amin như axit glutamic, axit aspartic có hàm lượng cao nhất khoảng 1 - 1,7% ở tất cả các giống lúa. Tiếp đến là arginin và isoleucin. Các axit amin có hàm lượng thấp methionin, histidin và leucin.

Hàm lượng từng axit amin trong trung tập đoàn lúa có sự giống nhau. Ví dụ ở tập đoàn Dự hương, thành phần axit amin ở 2 giống lúa Dự lùn Hải Dương và Dự hương Nam Định có sự giống nhau về hàm lượng axit aspartic, axit glutamic, threomin, alanin, arginin, tyrosin, cystein, leucin.... hay ở tập đoàn Di hương cũng có sự giống nhau về hàm lượng các axit amin: axit aspartic, axit glutamic, serin, histidin, glycin, threonin, alanin, cystein, valin, phenylalanin, isoleucin, leucin... Còn đối với tập đoàn Tám thơm, so sánh với kết quả của công trình đã đăng

trước [8], chúng tôi thấy thành phần axit amin giữa các giống tám khác nhau (Tám thơm Hải Hậu, Tám xoan Vinh Phúc, Tám tròn Hải Dương) cũng có sự giống khác nhau ở các axit amin glycin, threonin, alanin, arginin leucin... nhưng sự giống nhau không nhiều bằng các giống của tập đoàn Dự hương và Di hương.

Nhìn chung, thành phần axit amin trong hạt của các giống lúa thơm thuộc các tập đoàn khác nhau tương đối giống nhau.

So sánh với thành phần axit amin trong hạt của 3 giống lúa thường là IR-64, NR-11, DT-33 [8], chúng tôi thấy hàm lượng axit aspartic và axit glutamic trong hạt lúa thường tuy có thấp hơn so với lúa thơm nhưng vẫn chiếm tỉ lệ cao nhất. Hàm lượng phenylalanin (là axit amin có cấu tạo vòng thơm) và prolin (là axit amin có cấu tạo vòng imidazol) ở các giống lúa thơm có phần cao hơn lúa thường (đồ thị 1).

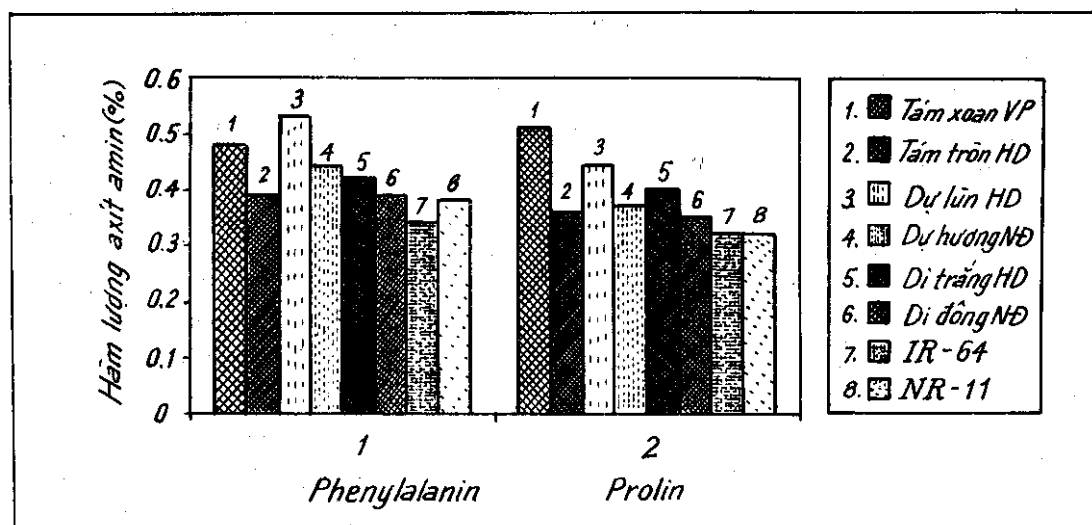
Chất lượng của protein trong hạt lúa được đánh giá theo tỉ lệ các axit amin không thay thế trong phân tử protein lúa. Tỉ lệ các axit amin trong protein lúa được tính bằng gam axit amin / 100 gam protein được trình bày trong bảng 3.

Bảng 3, cho thấy thành phần axit amin của protein trong hạt của các giống lúa thơm thuộc các tập đoàn khác nhau (Tám thơm, Dự hương, Di hương) và ở các giống lúa thường (IR-64, NR-11) tương đối giống nhau. Kết quả này phù hợp với các nhận xét trước đây [8] của chúng tôi. Về giá trị dinh dưỡng của protein hạt lúa, đặc biệt về tỉ lệ các axit amin không thay thế, đối chiếu với tiêu chuẩn của FAO/WHO [15] thì đủ, thừa đối với axit amin valin, isoleucin, cystein + methionin, tyrosin + phenylalanin ở tất cả các giống lúa nghiên cứu. Tuy nhiên, tỉ lệ threonin lysin ở một số giống hơi thiếu, còn leucin tương đối thấp. Đó cũng là đặc trưng về thành phần protein của hạt lúa.

Bảng 2

Hàm lượng các axit amin trong hạt của các giống lúa nghiên cứu (%)

Số TT	Axit amin	Tám xoan VP	Tám tròn HD	Dự lùn HD	Dự hương ND	Di trắng ND	Di đông ND	IR-64	NR-11
1	Axit aspartic	1,11	0,86	1,00	0,99	0,96	0,90	0,74	0,93
2	Axit glutamic	1,53	1,43	1,69	1,67	1,54	1,55	1,24	1,48
3	Serin	0,54	0,41	0,56	0,46	0,42	0,43	0,34	0,48
4	Histidin	0,29	0,25	0,32	0,29	0,24	0,25	0,23	0,31
5	Glycin	0,35	0,33	0,35	0,37	0,33	0,33	0,28	0,31
6	Threonin	0,30	0,29	0,32	0,33	0,27	0,32	0,25	0,32
7	Alanin	0,50	0,47	0,55	0,52	0,45	0,49	0,39	0,50
8	Arginin	0,70	0,69	0,73	0,75	0,61	0,72	0,56	0,72
9	Tyrosin	0,35	0,43	0,40	0,43	0,33	0,41	0,33	0,34
10	Cystein + Cystin	0,34	0,28	0,37	0,34	0,30	0,34	0,27	0,31
11	Valin	0,56	0,45	0,60	0,49	0,49	0,45	0,38	0,39
12	Methionin	0,18	0,10	0,21	0,08	0,19	0,07	0,06	0,19
13	Phenylalanin	0,48	0,39	0,53	0,44	0,42	0,39	0,34	0,38
14	Isoleuc	0,74	0,65	0,82	0,71	0,67	0,64	0,52	0,56
15	Leucin	0,18	0,18	0,18	0,20	0,20	0,18	0,16	0,18
16	Lysin	0,30	0,43	0,32	0,47	0,31	0,46	0,39	0,33
17	Prolin	0,51	0,36	0,44	0,37	0,40	0,35	0,32	0,32
Tổng số		8,96	8,00	9,39	8,91	8,13	8,28	6,80	8,05



Đồ thị 1. Hàm lượng phenylalamin và prolin trong hạt của các giống lúa nghiên cứu

Bảng 3

Thành phần các axit amin trong protein hạt của các giống lúa nghiên cứu
(g axit amin / 100 protein)

Số TT	Axit amin	Tăm xoan VP	Tăm tròn HD	Dự lùn HD	Dự hương ND	Di trắng ND	Di đông ND	IR-64	NR-11	FAO/WHO [15]
1	Axit aspartic	11,59	10,32	10,44	11,31	10,97	10,80	10,57	9,79	
2	Axit glutamic	15,97	17,17	17,64	19,08	17,60	18,61	17,17	15,58	
3	Serin	5,64	4,92	5,84	5,26	4,80	5,16	4,86	5,05	
4	Histidin	3,03	3,00	3,34	3,31	2,72	3,00	3,28	3,26	
5	Glycin	3,65	3,96	3,65	4,23	3,77	3,96	4,00	3,26	
6	Threonin	3,13	3,48	3,34	3,77	3,08	3,84	3,57	3,37	4,0
7	Alanin	5,22	5,64	5,74	5,94	5,14	5,88	5,57	5,26	
8	Arginin	7,31	8,28	7,62	8,57	6,97	8,64	8,00	7,58	
9	Valin	5,84	5,40	6,26	5,60	5,60	5,40	5,40	4,10	5,0
10	Cystein + Cystin	3,55	3,36	3,86	3,88	3,43	4,08	3,86	3,26	3,5
11	Methionin	1,88	1,20	2,19	0,91	2,17	0,84	0,86	2,00	3,5
12	Tyrosin	3,65	5,16	4,17	4,91	3,77	4,92	4,71	3,58	6,0
13	Phenylalanin	5,01	4,68	5,53	5,03	4,80	4,68	4,86	4,00	6,0
14	Isoleucin	7,72	7,80	8,56	8,11	7,66	7,68	7,43	5,89	4,0
15	Leusin	1,88	2,16	1,88	2,28	2,28	2,16	2,28	1,89	7,0
16	Lysin	3,13	5,16	3,34	5,37	3,54	5,52	5,57	3,47	5,5
17	Prolin	5,32	4,32	4,59	4,23	4,57	4,20	4,57	3,37	

III - KẾT LUẬN

Hàm lượng protein tổng số trong hạt của các giống lúa nghiên cứu thuộc tập đoàn Tám thơm, Dự hương đều khá cao từ 8,33% đến 9,58%. Trong đó, các giống Dự hương có hàm lượng protein cao hơn, tiếp đó đến các giống thuộc tập đoàn Tám thơm, còn các giống thuộc tập đoàn Di hương có hàm lượng protein thấp hơn.

Thành phần protein hòa tan trong hạt của các giống lúa nghiên cứu đều tương tự nhau về mặt định tính.

Thành phần axit amin trong hạt của các giống lúa nghiên cứu đều có hàm lượng axit glutamic, axit aspartic cao và các axit amin như methionin, histidin leucin có hàm lượng thấp. Hàm lượng các axit amin phenylalanin và prolin ở các giống lúa thơm các hơn các giống lúa thường.

Thành phần axit amin không thay thế của protein lúa đối chiếu theo tiêu chuẩn của protein có giá trị dinh dưỡng chuẩn theo FAO/WHO [15] thì tỉ lệ của valin, isoleucin, cystein + methionin, tyrosin + phenylalanin đủ, tỉ lệ threonin, lysin hơi thiếu ở một số giống, còn tỉ lệ của leucin hơi thấp.

Lời cảm ơn:

Các tác giả xin chân thành cảm ơn KS. Trần Danh Sửu, Trung tâm Di truyền tài nguyên thực vật và KS. Phạm Thị Minh Nguyệt, Bộ môn Lúa thuần, Viện Khoa học kỹ thuật nông nghiệp đã cung cấp các giống lúa - nguyên liệu đầu cho các nghiên cứu.

Công trình được sự hỗ trợ kinh phí của đề tài Suru tập, đánh giá và định lượng khai thác tính đa dạng sinh học trên cơ sở sử dụng các chỉ thị phân tử do PTS. Nông Văn Hải làm chủ nhiệm.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Berner D. K., Hoff B. J., 1986: J. Crop Sci., 26: 876-878.
2. Brooks D., 1989: In: Rice Situation and Outlook Report (USDA-ERS RS-56. US GPO), Washington, DC, USA, pp. 11-17.
3. Butterley R. G., Ling L. C., 1982: Chem. Ind (London): 958-959.
4. Butterley R. G., Juliano B. O., Long L. C., 1983: Chem. Ind (London): 478-479.
5. Butterley R. G. et al., 1983: J. Agric. Food Chem., 31: 823-826..
6. Butterley R. G., Ling L. C., Mon T. R., 1986: J. Agric. Chem., 34: 112-114.
7. Butterley R. G., Turnbaugh J. G., Ling L. C., 1988: J. Agric. Chem., 36 (5): 1006-1009.
8. Nguyễn Bích Nhi và cs., 1996: Kỷ yếu Viện Công nghệ sinh học, Nhà xuất bản KHKT, Hà Nội, Tr. 225-331.
9. Phan Văn Chi và cs., 1977: Di truyền học và ứng dụng, 4: 15-18.
10. Nguyễn Bích Nhi, Nguyễn Thị Ty, Phan Văn Chi, 1998: Di truyền học và ứng dụng, số 3, 15-20.
11. Phan Văn Chi, Nguyễn Bích Nhi, Nguyễn Thị Ty, 1998: Kỷ yếu viện Công nghệ sinh học 1977, Tr. 454-461. Nhà xuất bản KHKT, Hà Nội.
12. Laemmli U. K., 1970: Nature, 227: 680-688.
13. Lowry O. H., 1951: J. Biol. Chem., 193: 265.
14. FAO/WHO, 1973: Energy and protein Requirements (FEO Food and Nutrition Series No. 7). Food and Arficulture organization of the United Nations Rome, Italy.

PROTEIN AND AMINO ACID COMPOSITIONS IN THE SEEDS OF AROMATIC RICE SPECIES TAM THOM, DU HUONG AND DI HUONG

NGUYEN BICH NHI *et al.*

SUMMARY

In this paper, not only protein but also the total amino acid composition in the seeds of some aromatic rice species Tam thom, Du huong, Di huong were compared with normal ones.

It was shown that though the amino acid, the above mentioned species have the same protein pattern as revealed by SDS-PAGE, they are different in protein content. The most interesting is that the studied species can be distinguished by two amino acids: phenylalanine and proline.

Ngày nhận bài: 14-6-1998

ĐẶC ĐIỂM PHÂN LOẠI CỦA MỘT SỐ CHỦNG XẠ KHUẨN CÓ KHẢ NĂNG PHÂN GIẢI XENLULO CAO PHÂN LẬP TỪ BÈ Ủ RÁC THẢI

LÊ GIA HY, TĂNG THỊ CHÍNH, PHẠM KIM DUNG
LÝ KIM BẢNG, NGUYỄN TIẾN LONG

Viện Công nghệ sinh học

Một trong những biện pháp nhằm nâng cao hiệu suất xử lý rác thải là đi sâu tìm hiểu các loại vi sinh vật đã thích nghi điều kiện sống và có hoạt tính phân giải các chất có trong rác thải nhanh. Từ đó sẽ tuyển chọn được các chủng có khả năng phân giải nhanh và rút ngắn được thời gian xử lý rác.

Trong bài báo trước [1] chúng tôi đã trình bày sự biến động của một số nhóm vi sinh vật trong bể ủ thải và tuyển chọn các chủng vi sinh vật có hoạt tính phân giải xenlulo cao. Trong số đó có 3 chủng xạ khuẩn (CD6-9, CD-9-9 và CD5-12) vừa có hoạt tính phân giải xenlulo cao, vừa có khả năng chịu được nhiệt độ cao.

Trong bài báo này chúng tôi trình bày kết quả nghiên cứu các đặc điểm nuôi cấy, khả năng sinh tổng hợp xenluloaza và các đặc điểm phân loại của 3 chủng này nhằm lựa chọn điều kiện lên men tối ưu để tạo chế phẩm sinh học sử dụng trong xử lý rác thải, phế thải.

I - PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

- 3 chủng xạ khuẩn CD- 6-9, CD 9-9 và CD 5-12 là những chủng được tuyển chọn từ các chủng xạ khuẩn phân lập từ các mẫu rác thải có hoạt tính xenluloaza (cả enzym C1 và Cx) mạnh nhất và có các đặc điểm nuôi cấy khác nhau [1].

- Các môi trường phân loại được chuẩn bị theo ISP (Shirling và Gottlieb, 1966) và Gauze et al., 1983.

- Các loại đường do hãng Merck sản xuất.

- Xác định khả năng sinh trưởng phát triển của các chủng xạ khuẩn ở các nhiệt độ nuôi cấy khác nhau: Các chủng vi sinh vật được nuôi cấy ở nhiệt

độ: 28, 37, 45, 55, 65 và 75°C. Xác định khả năng phát triển sau 24, 48, 72, 96, và 120 giờ nuôi.

- Xác định hoạt tính xenluloaza ở các nhiệt độ khác nhau: Các chủng xạ khuẩn được nuôi cấy trong bình Erlenmeyer 500 ml có 100 ml môi trường Gauze . dịch thể trên máy lắc tròn 220 v/p ở 45°C kéo dài 72 giờ. Dịch nuôi cấy sau khi ly tâm loại bỏ sinh khối, được nhỏ 0,1 ml vào các lỗ thạch trong môi trường có 1% bột giấy hoặc 1% CMC-Na và ủ trong tủ ấm 45°C kéo dài 24 giờ. Hoạt tính xenluloaza được xác định bằng đường kính vòng vô màu (hiện màu bằng dung dịch Lugol).

- Mô tả các đặc điểm phân loại của các chủng xạ khuẩn theo Shinling và Gottlieb, 1975 [4].

- Hình thái cuống sinh bào tử được quan sát trên kính hiển vi quang học Olympus (Nhật) và bề mặt bào tử được quan sát và chụp ảnh bằng kính hiển vi điện tử EM-125 K (Nga).

- Định tên loài theo Khóa định tên loài của Nonomura H., 1975 [3].

- So sánh các đặc điểm của các chủng nghiên cứu với các chủng chuẩn theo Shirling và Gottlieb, 1966 [5, 6], Gauze, 1983 [7] và Bergey, 1989 [8].

II - KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

1. Đặc điểm hình thái:

Kết quả nghiên cứu đặc điểm hình thái của các chủng xạ khuẩn CD 6-9, CD 9-9 và CD 5-12 được trình bày ở bảng 1. Như vậy, cấu trúc của cuống sinh bào tử của các chủng CD 6-9 và CD 5-12 có cấu trúc xoắn thuộc nhóm S (hình 1 và 2), còn chủng CD 9-9 có cấu trúc dạng xoắn chùm thuộc

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

nhóm S, V (hình 3). Bề mặt bào tử của các chủng CD 6-9 nhẵn, còn bề mặt bào tử của chủng CD 9-9 và CD 5-12 xù xì.

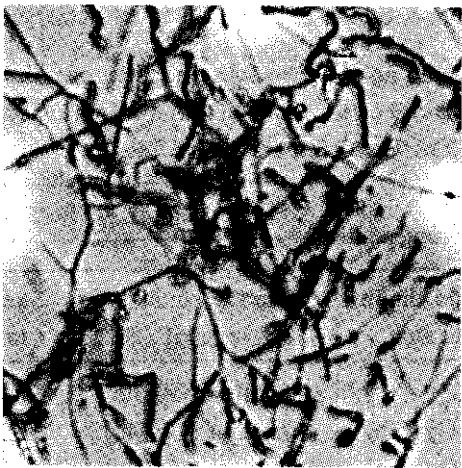
Bảng 1

Đặc điểm hình thái của các chủng xạ khuẩn

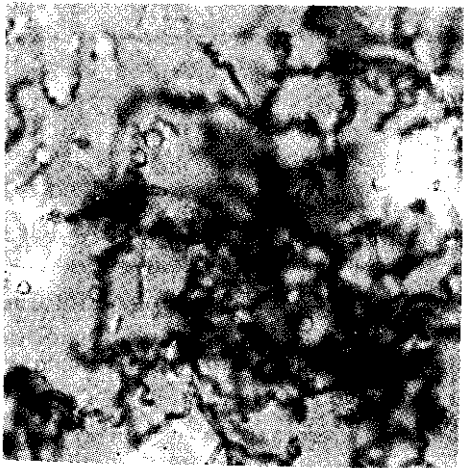
Chủng	Đặc điểm của bề mặt bào tử	Cấu trúc của cuống sinh bào tử
CD 6-9	Nhẵn (Sm)	Xoắn (S)
CD 9-9	Xù xì (Wa)	Xoắn chùm (S, V)
CD 5-12	Nhẵn (Sm)	Xoắn (Sm)



Hình 3. Cuống sinh bào tử chủng CD 5-12 ($\times 700$ lần)



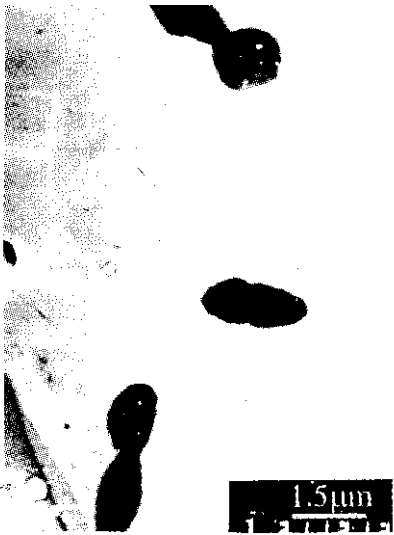
Hình 1. Cuống sinh bào tử chủng CD 6-9 ($\times 700$ lần)



Hình 2. Cuống sinh bào tử chủng CD 9-9 ($\times 700$ lần)

2. Đặc điểm nuôi cấy:

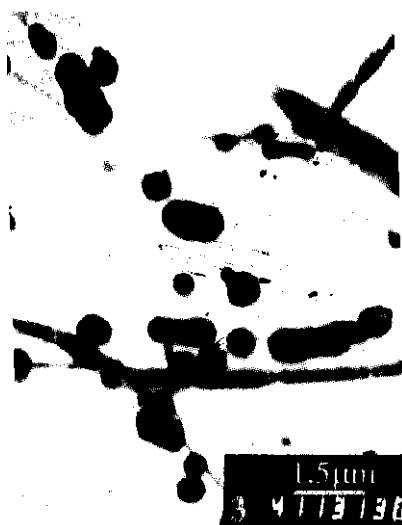
Sau 3 ngày nuôi cấy ở nhiệt độ 45°C , màu sắc khuẩn ty khí sinh của các chủng CD 6-9 và CD 9-9 thay đổi từ màu trắng sang màu xám. Khả năng sinh trưởng của các chủng này mạnh hơn các chủng ưa ấm (thường sau 7 ngày nuôi). Khuẩn ty khí sinh thay đổi từ màu nâu thẫm đến màu nâu nhạt. Còn chủng CD 5-12, khuẩn ty khí sinh có màu trắng và khuẩn ty cơ chất không màu. Cả 3 chủng nghiên cứu không có sắc tố tan.



Hình 4. Bào tử chủng CD 6-9 ($\times 10.000$ lần)



Hình 5. Bào tử chủng CD 9-9 ($\times 10.000$ lần)



Hình 6. Bào tử chủng CD 5-12 ($\times 10.000$ lần)

Kết quả nghiên cứu trên cho thấy các chủng CD 6-9 và CD 9-9 có thể xếp vào nhóm Xám (Cinereus) và chủng CD 5-12 và nhóm Trắng (Albus).

Bảng 2

Đặc điểm nuôi cấy các chủng xạ khuẩn

Chủng	Môi trường	Sinh trưởng	Màu sắc khuẩn ty khí sinh	Màu sắc khuẩn ty cơ chất	Sắc tố tan
CD 6-9	Gauze 1	++	Xám (Gy -3ih)	Nâu nhạt (Gy-3ie)	Không
	SP-2	++	Xám (Gy -3ih)	Nâu nhạt (Gy-3ie)	Không
	SP-4	++	Xám (Gy -3ih)	Nâu nhạt (Gy-3ie)	Không
	Khoai tây	++++	Xám (Gy -3ih)	Nâu nhạt (Gy-3ie)	Không
CD 9-9	Gauze 1	++++	Xám (Gy -4ih)	Nâu (Gy-3ie)	Không
	SP-2	++++	Xám (Gy -4ih)	Nâu (Gy-3ie)	Không
	SP-4	++++	Xám (Gy -4ih)	Nâu (Gy-3ie)	Không
	Khoai tây	++++	Xám (Gy -4ih)	Nâu (Gy-3ie)	Không
CD 5-12	Gauze 1	+	Trắng (Wb)	Không màu	Không
	ISP-2	++	Trắng (Wb)	Không màu	Không
	ISP 4	+	Trắng (Wb)	Không màu	Không
	Khoai tây	++++	Trắng (Wb)	Không màu	Không

Ghi chú: + sinh trưởng yếu, ++ sinh trưởng trung bình, ++++ sinh trưởng rất tốt

3. Đặc điểm sinh lý - sinh hóa:

Nhiệt độ sinh trưởng tối ưu của các chủng CD 6-9, CD 9-9 và CD 5-12 cao, và nhiệt độ có thể sinh trưởng ở nhiệt độ tối đa ($t^{\circ}\text{max}$) là 65°C . Các chủng xạ khuẩn này đều thuộc nhóm vi sinh vật ưa nhiệt.

Kết quả xác định các axit đặc trưng của thành tế

bào cho thấy thành tế bào của cả 3 chủng xạ khuẩn đều thuộc Typ I có chứa LL-DAP. Các chủng đều có hoạt tính amylaza (phân giải tinh bột) và proteaza (dịch hóa gelatin, đông kết và pepton hóa sữa) mạnh, tuy vậy khả năng pepton hóa sữa của 2 chủng CD 9-9 và CD 5-12 yếu hơn. Tất cả các chủng

nghiên cứu đều có khả năng phân giải xenlulo mạnh và không có chủng nào sinh sắc tố melanin (hình 3).

Khả năng đồng hóa các nguồn cacbon khác nhau của các chủng xạ khuẩn được trình bày ở bảng 4.

Bảng 3

Đặc điểm sinh lý sinh hóa của các chủng xạ khuẩn

STT	Các chỉ tiêu	CD 6-9	CD 9-9	CD 5-12
1	Typ thành tế bào	LL - DAP	LL-DAP	LL-DAP
2	Nhiệt độ sinh trưởng tối ưu (°C)	45 - 50	45 - 50	45 - 50
3	Thủy phân tinh bột	++	++	++
4	Dịch hóa gelatin	++++	+	++++
5	Đông kết sữa	+++	+++	++++
6	Pepton hóa sữa	++	+	+
7	Hình thành melanin	-	-	-
8	Khả năng chịu muối (NaCl, %)	5	5	5

Bảng 4

Khả năng đồng hóa các nguồn cacbon của các chủng xạ khuẩn

STT	Nguồn cacbon	CD 6-9	CD 9-9	CD 5-12
1	Đối chứng (-)	-	-	-
2	D-glucó	++	+++	++
3	Arabino	±	+++	++
4	Saccaro	++	+++	++
5	D-xylo	±	+++	++
6	I-Inositol	++	+++	++
7	D-mannitol	+++	+++	++
8	D-fructo	++	+++	++
9	Rhamno	±	+++	±
10	Raffino	±	++	++

Ghi chú: +++ phát triển tốt, ++ phát triển trung bình, + phát triển yếu
± phát triển không rõ ràng, - không phát triển.

4. Kết quả phân loại:

Đối chiếu các đặc điểm phân loại của các chủng nghiên cứu theo các khóa phân loại của Nonomura, 1976 và Gauze, 1983 và Bergey, 1989, chúng tôi cho rằng:

- Chủng CD 6-9 thuộc loài *Streptomyces argentiolus* Fries, Perlman, Langlykke và Titus, có các đặc điểm tương tự các chủng chuẩn ISP 5226 = ATCC 11009.

- Chủng CD 5-12 9 thuộc loài *Streptomyces sclerotiolus* Pridham (còn có tên khác *Chania*

antibiotica Thirumalchar), các đặc điểm tương tự các chủng chuẩn ISP 5269 = ATCC 15721.

Chủng CD 9-9 thuộc loài chi *Streptovercillium*, song có cuống sinh bào tử dạng chùm và không giống loài nào đã mô tả, vì hầu hết các loài thuộc chi này nếu cuống sinh bào tử xoắn chùm thì bào tử của chúng có cấu trúc nhẵn. Do vậy tạm đề tên chủng này là *Streptovercillium* sp. CD 9-9.

Kết quả so sánh các đặc điểm phân loại của các chủng CD 6-9 và CD 5-12 với các chủng chuẩn được trình bày ở bảng 5.

So sánh các đặc điểm phân loại của các chủng nghiên cứu với các chủng chuẩn

Các đặc điểm phân loại	<i>Streptomyces argentiolus</i>		<i>Streptomyces sclerotiolus</i>	
	CD 6-9	ISP 5226	CD 5-12	ISP 5269
Màu KTKS	Xám	Xám	Trắng	Trắng
Màu KTCC	Có	Có	Không	Không
Sắc tố hòa tan	Có	Có	Không	Không
Hình thái chuỗi bào tử	Xoắn	Xoắn	Xoắn	Xoắn
Hình thái bào tử	Nhẵn	Nhẵn	Nhẵn	Nhẵn
Hình thành melanin	Không	Không	Không	Không
Khả năng đồng hóa gluco	+	+	+	+
xylo	±	+	+	+
inositol	+	-	+	+
arabino	±	+	+	+
mannitol	+	+	+	+
fructo	+	+	+	+
rhamno	±	+	±	+
saccaro	+	-	+	+
raffino	±	-	+	+

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Tăng Thị Chính, Lý Kim Bảng, Lê Gia Hy, Trần Quang Huy, Đào Ngọc Quang, 1998: Kỹ yếu 1997 Viện Công nghệ sinh học, NXB Khoa học và Kỹ thuật, 377-386.

2. Loginova M. G., Golovacheva R. S., and Shecherbakov M. A., 1996: Thermophilic bacteria forming active cellulolytic enzymes. *Mikrobiologia*, 35: 796-804.

3. Nonomura H., 1974: *Ferment. Technol.*,

Vol. 52, No. 2: 78-92.

4. Shirling E. B. and Gottlieb D., 1966: *Intern. J. Syst. Bacteriol.*, Vol. 16, 3: 313-340.

5. Shirling E. B. and Gottlieb D., 1966: *Intern. J. Syst. Bacteriol.*, Vol. 18, No. 2: 62-198.

6. Shirling E. B. and Gottlieb D., 1966: *Intern. J. Syst. Bacteriol.*, Vol. 19, 3: 391-512.

7. Gause G. et al., 1983: *Opredelitel Actinomixetov*. Nauka, Moskva.

8. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, Vol. 4, Williams Wikins, 1989.

TAXONOMIC CHARACTERIZATION OF SOME CELLULOSE DEGRADING STREPTOMYCES STRAINS ISOLATED FROM WASTE COMPOSTING PONDS IN VIETNAM

LE GIA HY *et al.*

SUMMARY

The cultural, morphological and biochemical properties of three cellulose degrading *Streptomyces* strains isolated from waste composting ponds in Vietnam were studied. They are thermophilic organisms. The taxonomic characterization of strain CD 6-9 is similar to species *Streptomyces argentiolus* Fried, Ferlman, Langlykke and Titus and strain CD 5-12 *Streptomyces sclerotiolus* Pridham (synonym *Chania antibiotica* Thirumalachar). Strain CD 9-9 is belong to genus *Streptoverticillium*, but not similar to any species described before. It may be a new taxon.

Ngày nhận bài: 6-9-1998

ỨNG DỤNG KỸ THUẬT SINH HỌC PHÂN TỬ VÀO VIỆC ĐÁNH GIÁ BỘ GIEN CỦA MỘT SỐ GIỐNG CỎ NGỌT (*STEVIA REBAUDIANA BERTONI*)

NGUYỄN LAM ĐIỀN

Trường Đại học Sư phạm, Đại học Thái Nguyên

NGUYỄN HOÀNG TÍNH, LÊ TRẦN BÌNH

Viện Công nghệ sinh học

Trong việc tạo giống cây trồng, các nhà khoa học vẫn dựa vào các đặc điểm hình thái và phẩm chất, những tính trạng có thể đo đếm được để thể hiện công việc chọn lọc. Trong khi đó nguồn gốc tính đa dạng của thực vật lại nằm ở thứ tự mã trong phân tử ADN làm nên bộ máy di truyền của chúng. Trong vài năm gần đây, phương pháp sinh học phân tử như RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism), AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism) và RAPD (Random Amplified Polymorphic ADN) được ứng dụng nghiên cứu tính đa dạng sinh học trên đối tượng thực vật như lúa, cà phê, khoai tây, chuối... với mục đích nghiên cứu bộ gen của các loài cây này [1, 3, 6, 7, 8, 9].

Tuy vậy đối với cây cỏ ngọt hầu như chưa thấy có công trình công bố về phân tích đa dạng di truyền bằng kỹ thuật phân tử, cụ thể là phương pháp RAPD và STS (Sequence Tagged Sites).

Vì vậy mục tiêu của nghiên cứu này là sử dụng kỹ thuật RAPD và STS để sơ bộ đánh giá sự đa dạng di truyền ở cấp độ phân tử của một số giống cỏ ngọt được chọn tạo, thuần hóa ở Viện Khoa học kỹ thuật nông nghiệp Việt Nam.

I - PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Các giống cỏ ngọt: Canada, C95, D3, ST88, 12 do Viện Khoa học kỹ thuật nông nghiệp Việt Nam cung cấp làm nguyên liệu tách chiết ADN.

ADN tổng số được tách chiết từ nụ cỏ ngọt theo phương pháp của Foolad và cộng sự (1995)

[9] có cải tiến [4].

Phương pháp RAPD và STS được thực hiện theo phương pháp của Foolad và cộng sự (1995) [9]. Thông thường đối với một đối tượng thực vật, phải tiến hành sàng lọc để chọn được một số loại mồi thích hợp [1]. Ở cỏ ngọt chúng tôi tiến hành thí nghiệm sàng lọc với 12 mồi ngẫu nhiên có độ dài 10 nucleotide có ký hiệu như sau: 142, 143, 159, RA31, RA32, RA36, RA40, RA45, RA46, RA50, 219, 185, và 4 mồi đơn của 2 cặp mồi Chaparonin và Dehydrin: Cha-C, Cha-N, ZM1, ZM2. Các mồi ngẫu nhiên được tổng hợp nhờ máy Pharmacia tại Viện Công nghệ sinh học. Trình tự các mồi được thiết kế dựa trên tài liệu của Monna và CS (1994) [10]. Chu trình nhiệt của phản ứng RAPD: 1 chu kỳ 94°C 30 giây; 45 chu kỳ với: 92°C 1 phút, 35°C 1 phút, 72°C 1 phút; 1 chu kỳ 72°C 10 phút và kết thúc ở 4°C.

- 4 cặp mồi đặc hiệu để phân tích STS là các mồi Chaparonin, Dehydrin, pBC 442, pBC 591. Các mồi đặc hiệu này có độ dài từ 18 đến 38 nucleotide (Cha-C 38b). Chu trình nhiệt của phản ứng STS được sử dụng như sau: 1 chu kỳ 94°C, 3 phút, 35 chu kỳ với 94°C 1 phút, 52°C 1 phút, 72°C 1 phút, 1 chu kỳ 72°C 30 phút, kết thúc ở 4°C.

- Phân tích sản phẩm PCR bằng điện di trên gel agarose (STS = 0,8% agarose, RAPD = 1,5% agarose) trong đệm TBE 0,5X, nhuộm gel trong dung dịch Ethidium bromide, soi trên đèn UV, chụp ảnh. Sản phẩm PCR được so sánh với ADN

chuẩn (1 ADN được cắt bằng EcoRI và HinIII).

Việc phân tích kết quả RAPD và STS được tiến hành bằng cách lập bảng từ điện di đồ theo quy ước sau:

- Phân loại các băng xuất hiện trên điện di đồ theo kích thước phân tử.

- Đối với một giống thì dùng số: số 1 xuất hiện phân đoạn ADN, số 0 không xuất hiện phân đoạn ADN cùng kích thước.

Các số liệu này được xử lý trên máy theo chương trình NTSYSpc 2.0 (1998) để lập ra biểu đồ so sánh sự khác nhau giữa các giống cỏ ngọt ở mức độ phân tử.

II - KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

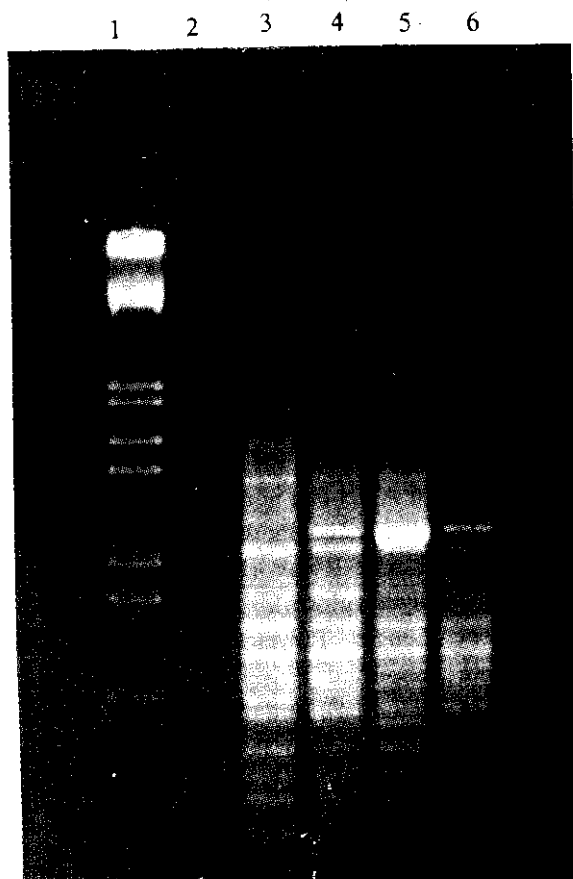
ADN sau khi tách đã được kiểm tra, kết quả các mẫu ADN đều có chất lượng tốt, độ sạch cao, không đứt vụn, trọng lượng phân tử cao [4]. Các mẫu ADN này được dùng trong các phân tích sau đây:

1. Phân tích sự đa hình DNA bằng kỹ thuật RAPD:

- Trong tổng số 12 đoạn mỗi ngẫu nhiên sử dụng trong nghiên cứu chỉ có mỗi 219 là nhân bản thành công ADN genom của 2 giống cỏ ngọt C95 và ST88. Các giống Canada, D3, 12 không có phân đoạn ADN nào được nhân. Kích thước các phân đoạn được nhân có chiều dài ước tính 0,8 - 2,3 kb. Kết quả phân tích RAPD này chứng tỏ rằng mỗi 219 có biểu hiện đa hình ADN đối với các giống cỏ ngọt.

- Kết quả điện di sản phẩm RAPD với 4 mẫu đơn Cha-C, Cha-N, ZM1, ZM2 (hình 1). Mỗi Cha-C với 2 giống Canada và 12, mỗi Cha-N với giống 12 và 2 mẫu ZM1, ZM2 với giống Canada không có phân đoạn ADN nào được nhân bản. Tổng số phân loại ADN được nhân bản bởi 4 mẫu đơn này là 59 phân đoạn, có chiều dài ước tính từ 0,1 đến 3,5 kb). Trong đó số phân đoạn được nhân của giống C95 là lớn nhất (48 phân đoạn). Giống ST88 là 33 phân đoạn, giống D3 là 32 phân đoạn, giống 12 là 15 phân đoạn, ít nhất là Canada chỉ có 2 phân đoạn ADN được nhân

bản. Kết quả phân tích RAPD cho thấy 4 mẫu đơn này đều biểu hiện trên đa hình ADN với 5 giống cỏ ngọt nghiên cứu, điều đó chứng tỏ các giống trên có nguồn gốc khác nhau về mặt di truyền.



Hình 1. Kết quả điện di sản phẩm RAPD của các giống cỏ ngọt với mỗi MZ2

1. Thang ADN chuẩn (λ ADN chuẩn cắt bằng RcoRI và HinIII); 2. Canada; 3. C95; 4. D3; 5. ST88; 6. 12.

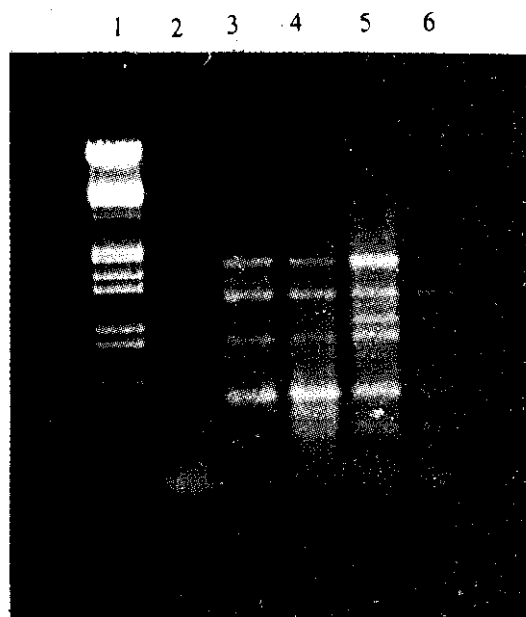
2. Phân tích sự đa hình ADN bằng kỹ thuật STS:

- Kết quả điện di sản phẩm PCR của 4 cặp đặc hiệu Chaperonin, Dehydrin, pBC 591 với ADN của các giống cỏ ngọt có 3 cặp mỗi là Chaperonin, pBC 442, pBC 591 nhân bản thành công ADN genom của các giống cỏ ngọt được trình bày trên hình 2. Với mỗi cặp mỗi Chaperonin và cặp mỗi pBC 442 cả 5 giống cỏ ngọt đều có các phân đoạn ADN được nhân bản, riêng cặp mỗi pBC 591 không có phân đoạn ADN

nào được nhân bản, ở 2 giống Canada và 12. Tổng số phân đoạn ADN được nhân bản bởi 3 cặp mỗi đặc hiệu là 18 phân đoạn, có chiều dài ước tính từ 0,3 đến 2,5 kb. Trong đó số phân đoạn ADN được nhân bản của giống ST88 là cao nhất 14 phân đoạn, giống C95 là 12 phân đoạn, giống D3 là 13 phân đoạn, giống 12 là 6 phân đoạn và giống Canada là 3 phân đoạn.

Từ kết quả trên một lần nữa khẳng định các giống cỏ ngọt nghiên cứu có nguồn gốc khác nhau về mặt di truyền.

Sở dĩ chúng tôi dùng các môi đặc hiệu trong nghiên cứu này là vì các môi đặc hiệu liên quan tới tính chống chịu của thực vật mà chúng tôi cần quan tâm (Chaperonin: chống chịu ngoại cảnh bất lợi ở đậu tương; Dehydrin: chịu hạn của ngô; pBC 442, pBC 591: chịu lạnh của lúa) [2]. Các môi đặc hiệu này khi nghiên cứu trên các đối tượng đặc trưng nó chỉ cho 1 phân đoạn ADN được nhân trong phản ứng PCR. Kết quả điện di sản phẩm PCR của cặp mỗi Chaperonin trên đậu tương [5] rất đặc hiệu, chỉ xuất hiện một phân đoạn ADN kích thước $\approx 1,6$ kb. Khi nghiên cứu trên cỏ ngọt mỗi Chaperonin cho 10 phân đoạn ADN nhân bản trong đó phân đoạn 1,6 kb chỉ xuất hiện ở các giống C95 và D3. Kết hợp với những nghiên cứu về sinh lý trên cỏ ngọt trồng ở Thái Nguyên chúng tôi thấy giống D3 có khả năng chịu hạn tốt hơn giống ST88, bộ rễ của D3 phát triển khỏe và nhiều hơn. Vấn đề cần nghiên cứu tiếp là tìm ra mối tương quan giữa sự có mặt của Chaperonin và tính chịu hạn tốt của giống D3.



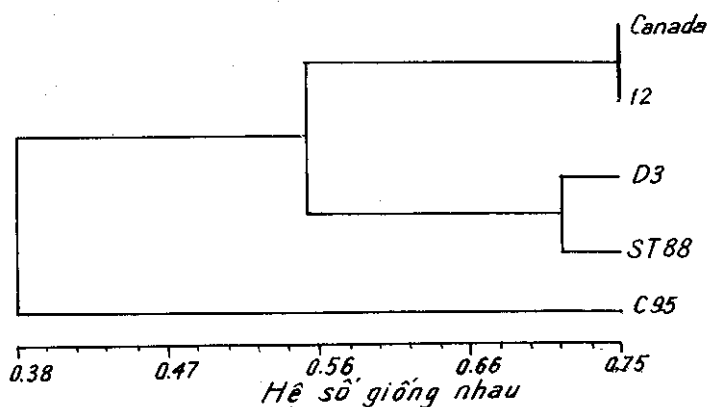
Hình 2. Kết quả điện di sản phẩm PCR mỗi Chaperonin

1. Thang ADN chuẩn (λ ADN chuẩn cắt bằng RcoRI và HinIII); 2. Canada; 3. C95; 4. D3; 5-ST88; 6-12.

3. So sánh sự khác nhau trong bộ genom của các giống cỏ ngọt:

Các phân đoạn ADN của cỏ ngọt được nhân bản nhờ kỹ thuật PCR được trình bày ở bảng 1.

Dựa trên số liệu bảng 1 để xử lý trên máy vi tính theo chương trình NTSYS 2.0, chúng tôi nhận được hệ số giống nhau và biểu đồ so sánh giữa các giống cỏ ngọt nghiên cứu (Hình 3 và bảng 2).



Hình 3. Biểu đồ so sánh theo hệ số giống nhau của các giống cỏ ngọt

Bảng tổng kết kết quả PCR

Bảng 1

Chỉ thị RAPD và STS		Giống cỏ ngọt					Chỉ thị RAPD và STS		Giống cỏ ngọt				
Mỗi	(kb)	2	3	4	5	6	Mỗi	(kb)	2	3	4	5	6
Chp	2,5	0	0	1	1	0	MZ2	2,3	0	1	0	0	0
	2	0	1	1	1	1		2,0	0	1	0	0	0
	1,9	0	1	0	0	0		1,8	0	1	0	0	0
	1,6	0	1	1	1	1		1,6	0	1	0	0	0
	1,4	0	0	1	1	0		1,35	0	1	0	1	0
	1,2	0	1	0	0	0		1,3	0	1	0	1	0
	0,9	1	1	1	1	1		1,2	0	1	0	0	0
	0,5	1	1	1	1	1		1,1	0	0	1	1	1
	0,4	0	0	1	0	0		1,0	0	1	1	1	1
	0,3	0	1	1	1	1		0,85	0	1	1	0	0
pBC 442	0,8	0	0	1	1	0		0,8	0	1	1	1	0
	0,5	1	1	1	1	1		0,75	0	1	1	1	1
219	2,3	0	1	0	0	0		0,7	0	1	1	1	1
	1,9	0	1	0	1	0		0,65	0	0	0	1	1
	1,3	0	1	0	1	0		0,6	0	1	1	1	1
	1,25	0	1	0	1	0		0,55	0	1	1	0	0
	1,1	0	1	0	1	0		0,5	0	1	1	1	1
	1,0	0	1	0	0	0		0,4	0	0	0	1	0
	0,8	0	1	0	0	0		0,3	0	1	1	1	1
Cha-N	2,3	0	1	0	0	0		0,2	0	1	1	1	1
	1,8	0	1	0	0	0		0,1	0	1	1	1	1
	1,6	1	1	0	1	0	ZM1	2,0	0	0	0	1	0
	1,35	0	1	0	0	0		1,8	0	1	0	1	0
	1,3	1	1	1	1	0		1,7	0	1	1	1	0
	1,1	0	1	0	0	0		1,6	0	0	1	1	0
	1,0	0	1	1	1	0		1,2	0	1	0	0	0
								1,1	0	1	0	0	0
Cha-C	3,5	0	1	0	0	0		0,8	0	1	0	0	0
	2,3	0	1	1	1	0		0,7	0	1	1	1	0
	2,0	0	1	1	0	0		0,6	0	1	1	1	1
	1,9	0	1	0	0	0		0,5	0	1	0	0	0
	1,7	0	0	1	0	0		0,45	0	0	1	1	1
	1,6	0	1	0	0	0		0,4	0	1	0	0	0
	1,5	0	0	1	1	0		0,3	0	0	1	1	0
	1,4	0	1	0	0	0		0,2	0	1	1	0	1
	1,3	0	0	1	1	0		0,1	0	0	0	1	1
	1,2	0	1	0	1	0	pBC 591	2,1	0	0	0	1	0
	1,1	0	1	1	1	0		1,9	0	1	0	0	0
	1,0	0	1	1	0	0		1,6	0	1	0	1	0
	0,8	0	1	1	1	0		1,3	0	0	1	0	0
	0,7	0	1	1	1	0		1,1	0	1	1	1	0
	0,6	0	1	1	0	0		0,8	0	1	1	1	0
	0,5	0	1	0	0	0							

Số 1 xuất hiện phân đoạn ADN. Số 0 không xuất hiện phân đoạn ADN. Chp: Chaperonin

Hệ số giống nhau giữa các giống cỏ ngọt

	Canada	C95	D3	ST88	12
Canada	1,000				
C95	0,261	1,000			
D3	0,511	0,440	1,000		
ST88	0,440	0,488	0,714	1,000	
12	0,750	0,321	0,642	0,619	1,000

Hệ số giống nhau phản ánh mối quan hệ di truyền giữa các giống cỏ ngọt với nhau. Sự giống nhau của cỏ ngọt được so sánh theo từng cặp. Trong phạm vi các mẫu nghiên cứu trong bảng 2 cho thấy giữa giống Canada và 12 có hệ số giống nhau là cao nhất (0,75), trong hình 3 chúng được xếp vào cùng 1 nhóm. D3 và ST88 được xếp vào một nhóm có hệ số giống nhau là 0,714 (khác nhau 0,286). Riêng C95 đứng một mình vì nó có hệ giống nhau thấp nhất giữa các giống, đặc biệt nó sai khác với Canada là $1 - 0,261 = 0,739$. Điều đó khẳng định các giống cỏ ngọt có sự khác nhau về mặt di truyền.

4. Các chỉ thị đặc trưng của các giống cỏ ngọt

Các phân đoạn ADN đặc trưng là các phân

Bảng 3

Các chỉ thị đặc trưng của các giống cỏ ngọt

Giống	Mồi	Chỉ thị đặc trưng (kb)
C95	Chaperonin	1,9
	pBC 591	1,9
	219	2,3; 1,0; 0,8
	Cha-C	3,5; 1,9; 1,6; 1,4; 0,5
	Cha-N	2,3; 1,8; 1,1
	ZM1	1,2; 1,1; 0,8; 0,5; 0,4
	ZM2	2,3; 2,0; 1,8; 1,6; 1,2
D3	Chaperonin	0,4
	pBC 591	1,3
	Cha-C	1,7
ST88	pBC 591	2,1
	ZM1	2,0

đoạn ADN chỉ xuất hiện duy nhất ở 1 giống với 1 mồi nhất định, khi đó nó được coi là chỉ thị của giống đó với mỗi nghiên cứu. Từ kết quả phân tích RAPD và STS đã xác định được 29 phân đoạn ADN là chỉ thị đặc trưng của 3 giống C95, D3, ST88 (bảng 3), giống Canada và 12 không có chỉ thị đặc trưng.

Từ các kết quả trên cho thấy có thể sử dụng kỹ thuật RAPD và STS để nhận dạng giống cây trồng bằng các chỉ thị đặc trưng. Kỹ thuật RAPD và STS cho phép xác định rất nhanh mối quan hệ di truyền giữa các giống. Điều này rất có ý nghĩa kinh tế trong tạo giống cây trồng. Thí nghiệm này sử dụng kỹ thuật RAPD và STS để nghiên cứu tính đa dạng sinh học của cỏ ngọt. Đây là một trong những nghiên cứu đầu tiên ở Việt Nam dùng chỉ thị RAPD và STS để nghiên cứu quan hệ di truyền các giống cỏ ngọt.

III - KẾT LUẬN

- Bằng kỹ thuật phản ứng dây truyền polymerase (PCR) với 12 mồi ngẫu nhiên, 4 mồi đơn và 4 cặp mồi kép đã nghiên cứu tính đa dạng di truyền ở cấp độ phân tử của các giống cỏ ngọt Canada, C95, D3, ST88, 12. Kết quả nhận được trong nghiên cứu này cho thấy các giống cỏ ngọt có sự khác nhau đáng kể ở cấp độ phân tử trong bộ gen, chứng tỏ chúng xa nhau về mặt nguồn gốc.

- Có thể dùng kỹ thuật RAPD và STS để nhận dạng các giống cỏ ngọt bằng chỉ thị đặc trưng. Trong thí nghiệm này đã xác định được 29 chỉ thị đặc trưng của 3 giống cỏ ngọt C95, D3, ST88.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Lê Trần Bình, Hồ Hữu Nhị, Lê Thị Muội, 1997: Công nghệ Sinh học thực vật trong cải tiến giống cây trồng (giáo trình cao học nông nghiệp), NXB Nông nghiệp Hà Nội.

2. Lê Trần Bình, K. Oho, 1992: Molecular cloning and characterization of gene related to chilling tolerance in rice. *Plant Physiol.*, 99, 1146-1150.

3. Phan Văn Chi, 1997: Sử dụng một số đoạn mồi ngẫu nhiên để xác định RAPDs ở lúa DT-33 và tám thơm. *Tạp chí Di truyền và ứng dụng*, số 4, tr.15-18.

4. Nguyễn Lam Điền, Đinh Thị Phòng, Lê Văn Sơn, Nguyễn Hoàng Tĩnh, Lê Trần Bình, 1999: Phương pháp tách chiết và tinh chế ADN từ cỏ ngọt (gửi đăng *Tạp chí Khoa học và Công nghệ*).

5. Trần Thị Phương Liên, Nguyễn Huy Hoàng, Chu Hoàng Hà, Đinh Duy Kháng, Nông Văn Hải, Lê Thị Muội, 1998: Phân lập gen Chaperonin ở đậu tương chịu nóng M103. *Tạp chí Khoa học và*

Công nghệ XXXVI (5), tr.8-14.

6. Nguyễn Xuân Thụ, Lê Lan Oanh, Nguyễn Thị Dung, 1998: Sử dụng dấu chuẩn RAPD để nhận dạng một số giống chuối trồng ở Việt Nam. *Tạp chí Di truyền và ứng dụng*, số 3, tr. 20-25.

7. Nguyễn Văn Uyên, 1995: Những phương pháp công nghệ sinh học thực vật. NXB Nông nghiệp, tập 1, tr. 45-60.

8. Nguyễn Văn Uyên, 1995: Những phương pháp công nghệ sinh học thực vật. NXB Nông nghiệp, tập 2, tr. 56-63.

9. Foolad M. R., Siva A., Raymond L. R., 1995: Applications of polymerase chain reaction (PCR) to plant genome analysis in tissue and organ culture. *Fundamental methods*. Springer Verlag Berlin, Heidegerg, p. 281-289.

10. Monna L., Miyao A., Takakaza I., Fukuora S., 1994: Determination of RAPD markers in rice and their conversion into sequence tagged sites (STSs) and STS-specific primer. *DNA research* 1, 139-148.

APPLICATION OF MOLECULAR BIOLOGY IN GENETIC POLYMORPHISM ASSESSMENT OF SOME STEVIA REBAUDIANA VARIETIES

NGUYEN LAM DIEN *et al.*

SUMMARY

The significant differences among *Stevia rebaudiana* variety such as Canada, C95, D3, ST88 were shown by the of DNA polymorphism at molecular level using RAPD and STS.

It is possible to recognize different *stevia rebaudiana* varieties by using RAPD with specific RAPD markers. 29 specific markers of 3 cultivars V95, D3 and ST88 have been identified.

Ngày nhận bài: 16-8-1998

ẢNH HƯỞNG CỦA CÁC NGUỒN DINH DƯỠNG VÀ PHYTOHORMON KHÁC NHAU LÊN SỰ SINH TRƯỞNG CỦA HỆ SỢI NẤM *PLEUROTUS PULMONARIUS*

LÊ BÁ DŨNG

Trường đại học Đà Lạt

Nấm *Pleurotus pulmonarius* một loài sống hoại sinh trên gỗ, có khả năng sinh trưởng rất tốt trong môi trường nhân tạo và là nguồn thực phẩm rất có giá trị, song việc nuôi trồng để thu nhận quả thể gặp rất nhiều khó khăn và chưa có công trình nào nghiên cứu đầy đủ. Vì vậy, chúng tôi tiến hành nghiên cứu khả năng sinh trưởng của nó trên môi trường lỏng để thu sinh khối, phục vụ cho ngành công nghiệp thực phẩm [2, 4, 6, 7, 8].

I - PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Giống nấm được giữ trong ống thạch nghiêng, trên môi trường Mal-Aga (mal - 20 g, aga - 15 g và nước cất 1 lít). Hệ sợi 7 ngày tuổi được cấy lên môi trường thực nghiệm [5, 9].

Trong thực nghiệm, chúng tôi sử dụng môi trường nền với các thành phần không đổi như sau: agar - 15 g, khoai tây - 50 g, nước 1 lít.

Thí nghiệm thăm dò ảnh hưởng của các nguồn hydratecarbon, hỗn hợp hydratecarbon; nitơ, hỗn hợp các nitơ; phytohormon và hỗn hợp các phytohormon được tiến hành như sau [1, 3, 4]:

Các hydratecarbon (saccharo, galacto, malto, gluco và lacto) được bổ sung vào môi trường dinh dưỡng với nồng độ 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, và 40 g/lít.

Hỗn hợp các hydratecarbon (sacharo/ galacto, saccharo/gluco và galacto/gluco) với tỷ lệ 1/1 được bổ sung vào môi trường dinh dưỡng với nồng độ 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, và 40 g/lít.

Các nguồn nitơ (pepton, NH_4NO_3 , $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ và urê) được bổ sung vào môi trường dinh dưỡng với nồng độ: 0,2, 0,5, 1,5, 3,5, 4,5, 5,5, 6,5, 7,5 và

8,5 g/lít.

Các phytohormon (BA, axit succinic và IBA) được bổ sung vào môi trường dinh dưỡng với nồng độ: 0,05, 0,1, 0,5, 1,0, 1,5, 2,0, 2,5, 3,0, 3,5 và 4,0 ppm/l.

Hỗn hợp phytohormon (Ba / axit succinic, BA / IAB và axit succinic / IBA) với tỷ lệ 1/1 được bổ sung vào môi trường dinh dưỡng với nồng độ: 0,05, 0,1, 0,5, 1,0, 1,5, 2,0, 2,5, 3,0, 3,5 và 4,0 ppm/l.

Tốc độ sinh trưởng của hệ sợi trong môi trường dinh dưỡng được xác định theo phương pháp của Bilai V. I. (1973), Torep A. (1973) và Trịnh Tam Kiệt (1981).

Nuôi trồng hệ sợi nấm trong môi trường lỏng ở trạng thái khác nhau: lỏng tĩnh, lỏng động và môi trường đặc để thu sinh khối.

Sinh khối khô được đem phân tích thành phần và hàm lượng vi lượng bằng phương pháp phân tích kích hoạt neuron (Neuron Activation Analyses NAA) gồm các phương pháp sau: phương pháp phân tích dụng cụ (Instrumental NAA), phương pháp phân tích hóa phóng xạ (Radio chemical NAA). Môi trường dinh dưỡng được khử trùng ở nhiệt độ 121°C , áp suất 1,2 at và $\text{pH} = 7$.

Các thực nghiệm được duy trì ở nhiệt độ $25 \pm 1^\circ\text{C}$.

II - KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Các dẫn liệu từ bảng 1 và bảng 2 chỉ ra rằng, trong môi trường dinh dưỡng có chứa saccharo, hệ sợi nấm *Pl. pulmonarius* sinh trưởng tốt hơn trong môi trường dinh dưỡng có chứa galacto, malto, gluco, lacto và các hỗn hợp của chúng. Hơn thế nữa, khi nồng độ sacharo trong môi trường dinh dưỡng

khác nhau thì tốc độ sinh trưởng của hệ sợi nấm cũng khác nhau và độ dày colonhi cũng khác nhau. Khi nồng độ saccharo tăng dần từ 5 tới 20 g trong 1 lít môi trường thì tốc độ sinh trưởng của hệ sợi tăng

từ 210 đến 328 micromet/giờ. Ngược lại, khi nồng độ của saccharo tiếp tục tăng lên tới 40 g/l, thì tốc độ sinh trưởng của hệ sợi nấm giảm dần từ 238 xuống còn 277 micromet/giờ.

Bảng 1

Ảnh hưởng của các nguồn hydratecarbon khác nhau lên sự sinh trưởng của hệ sợi nấm *Pl. pulmonarius*

Nguồn dinh dưỡng Nồng độ (g/l)	Tốc độ sinh trưởng (micromet/giờ)									
	Saccharo		Galacto		Malto		Gluko		Lacto	
	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s
5	210	7	161	6	229	9	104	7	10	1
10	307	6	234	6	250	7	156	6	15	1
15	322	8	260	7	270	7	182	7	20	2
20	328	9	275	9	285	9	208	8	26	2
25	317	7	302	8	281	6	177	9	31	2
30	296	6	291	8	270	10	145	7	15	2
35	291	7	265	5	245	7	135	6	10	1
40	277	5	255	7	240	5	119	6	5	1

Bảng 2

Ảnh hưởng của các hỗn hợp hydratecarbon khác nhau với tỷ lệ 1/1 lên sự sinh trưởng của hệ sợi nấm *Pl. pulmonarius*

Nguồn dinh dưỡng Nồng độ (g/l)	Tốc độ sinh trưởng (micromet/giờ)					
	Saccharo-Galacto		Saccharo-Gluko		Galacto-Gluko	
	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s
5	234	6	229	6	245	7
10	250	5	234	8	255	6
15	260	5	244	6	264	7
20	276	7	245	7	253	7
25	285	8	255	8	244	8
30	300	9	234	5	229	7
35	313	8	229	9	218	6
40	276	7	218	7	203	6

Kết quả từ bảng 3 cho thấy môi trường dinh dưỡng có chứa các nguồn nitơ và hỗn hợp của chúng khác nhau thì ảnh hưởng khác nhau lên sự sinh trưởng của hệ sợi nấm *Pl. pulmonarius*. Trong môi trường dinh dưỡng có chứa hỗn hợp pepton- NH_4NO_3 thì hệ sợi nấm sinh trưởng tốt hơn (cả về tốc độ lẫn độ dày colonhi) so với hệ sợi nấm sinh trưởng trong môi trường có chứa pepton, NH_4NO_3 , $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, urê và các hỗn hợp của

chúng. Ngoài ra, khi nồng độ của hỗn hợp pepton-NH₄NO₃ trong môi trường dinh dưỡng khác nhau thì tốc độ sinh trưởng của hệ sợi nấm cũng khác nhau và độ dày colonhi cũng khác nhau. Khi nồng độ của hỗn hợp pepton-NH₄NO₃ tăng dần từ 0,5 tới 4,5 g trong 1 lít môi trường thì tốc độ sinh trưởng của hệ sợi tăng từ 260 lên 396 micromet/giờ và độ dày của colonhi cũng tăng lên khoảng 15%. Ngược lại, khi

nồng độ của hỗn hợp pepton-NH₄NO₃ tiếp tục tăng lên từ 4,5 tới 8,5 g/l thì tốc độ sinh trưởng của hệ sợi nấm lại giảm dần từ 396 xuống còn 295 micromet/giờ và độ dày của colonhi cũng giảm dần. Như vậy, hỗn hợp pepton-NH₄NO₃ với nồng độ 4,5 g/l trong môi trường dinh dưỡng không chỉ làm tăng khả năng sinh trưởng của hệ sợi nấm *Pl. pulmonarius* mà còn làm tăng khả năng phân nhánh của nó.

Bảng 3

Ảnh hưởng của các nguồn nitơ khác nhau lên sự sinh trưởng của hệ sợi nấm *Pl. pulmonarius*

Nguồn dinh dưỡng Nồng độ (g/l)	Tốc độ sinh trưởng (micromet/giờ)							
	Pepton		NH ₄ NO ₃		(NH ₄) ₂ SO ₄		Urê	
	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s
0,2					104	9	299	6
0,5	266	8	245	5	125	8	199	5
1,5	292	7	255	7	109	7	78	4
2,5	297	9	292	9	98	6	-	-
3,5	333	10	234	8	83	8	-	-
4,5	312	7	224	6	72	7	-	-
5,5	286	8	193	7	63	6	-	-
6,5	276	6	182	5	57	6	-	-
7,5	265	7	173	8	52	5	-	-
8,5	258	5	161	6	46	5	-	-

Bảng 4

Ảnh hưởng của các hỗn hợp nitơ lên sự sinh trưởng của hệ sợi nấm *Pl. pulmonarius*

Nguồn dinh dưỡng Nồng độ (g/l)	Tốc độ sinh trưởng (micromet/giờ)					
	Pepton-NH ₄ NO ₃		Pepton-(NH ₄) ₂ SO ₄		(NH ₄) ₂ SO ₄ -NH ₄ NO ₃	
	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s
0,5	260	7	260	8	286	6
1,5	271	6	270	6	296	8
2,5	292	8	276	9	324	9
3,5	343	10	287	7	302	7
4,5	396	9	302	8	255	8
5,5	328	8	338	9	237	7
6,5	317	6	286	6	229	5
7,5	307	5	270	7	218	6
8,5	295	7	259	6	202	7

Các dẫn liệu từ bảng 5 và bảng 6 cho thấy, khi bổ sung các phytohormon (BA, axit succinic, IBA và các hỗn hợp của chúng) vào môi trường dinh dưỡng để nuôi trồng hệ sợi nấm *Pl. pulmonarius*, thì chúng không kích thích sự sinh trưởng theo chiều dài của hệ sợi nấm, mà chủ yếu kích thích sự

phân nhánh của sợi. Trong môi trường dinh dưỡng có chứa hỗn hợp BA-IBA với tỷ lệ 1/1 và với nồng độ 0,1 ppm thì tốc độ sinh trưởng của hệ sợi nấm vẫn đạt được 395 micromet/giờ như trong môi trường chứa hỗn hợp pepton-NH₄NO₃ với nồng độ 4,5 g/l, nhưng độ dày colonhi tăng khoảng 150%.

Bảng 5

Ảnh hưởng của các nguồn phytohormon khác nhau lên sự sinh trưởng của hệ sợi nấm *Pl. pulmonarius*

Phytohormon Nồng độ (ppm)	Tốc độ sinh trưởng (micromet/giờ)					
	BA		Axit succinic		IBA	
	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s
0,05	269	8	256	10	235	9
0,1	279	10	269	8	253	10
0,5	323	9	304	9	264	11
1,0	352	7	337	11	303	11
1,5	336	12	319	13	334	9
2,0	324	9	305	12	281	7
2,5	324	9	305	12	281	7
3,0	302	8	294	7	266	11
3,5	295	7	273	8	259	11
4,0	286	9	264	10	238	11

Bảng 6

Ảnh hưởng của các hỗn hợp phytohormon khác nhau với tỷ lệ 1/1 lên sự sinh trưởng của hệ sợi nấm *Pl. pulmonarius*

Phytohormon Nồng độ (ppm)	Tốc độ sinh trưởng (micromet/giờ)					
	BA-Axit succinic		BA-IBA		Axit succinic-IBA	
	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s
0,05	271	8	331	9	301	6
0,1	298	6	395	9	336	8
0,5	322	9	319	10	345	7
1,0	332	7	310	12	332	8
1,5	339	8	291	11	328	9
2,0	330	9	280	10	317	9
2,5	312	10	265	9	302	8
3,0	310	12	242	9	288	9
3,5	301	11	223	7	274	7
4,0	280	9	202	9	261	8

Kết quả từ bảng 7 cho thấy, ở trạng thái môi trường dinh dưỡng khác nhau thì khả năng tích lũy sinh khối cũng khác nhau. Trạng thái môi trường đặc và môi trường lỏng tĩnh có độ thông thoáng gần như nhau, so đó khả năng tích lũy sinh khối cũng gần như nhau (17,68 và 17,90 g/l). Trong khi đó, trong môi trường lỏng động (80 lắc/phút, biên độ 2 cm), khả năng tích lũy sinh khối cao hơn nhiều (19,83 g/l). Điều này chỉ rõ rằng nhu cầu về oxy của loài *Pl. pulmonarius* tương đối cao.

Dẫn liệu từ bảng 8 cho thấy hệ sợi nấm *Pl. pulmonarius* nuôi cấy trong môi trường lỏng-động tích lũy thành phần khoáng vi lượng như Co, Fe, Mg, Mn, Cu ... và số lượng của chúng hoàn toàn phù hợp cho cơ thể người và động vật, còn các nguyên tố có hại như Hg thì thấp và nằm trong giới hạn cho phép. Điều này, một lần nữa, chứng minh rằng trạng thái môi trường lỏng - động

là tối ưu đối với sự tích lũy sinh khối. Sinh khối thu được từ sự nuôi cấy trong môi trường ở trên có ý nghĩa về mặt số lượng và chất lượng và có thể sử dụng chúng làm thức ăn bổ sung khoáng vi lượng cho người và động vật nuôi.

Bảng 7

Sinh khối của hệ sợi nấm khả năng tích lũy *Pl. pulmonarius* ở các trạng thái khác nhau của môi trường dinh dưỡng

Trạng thái môi trường	Sinh khối khô tuyệt đối (g/l)	
	$\bar{x}$	m
Đặc	17,68	0,42
Lỏng - tĩnh	17,90	0,45
Lỏng - động	19,83	0,41

Bảng 8

Hàm lượng một số nguyên tố vi lượng trong hệ sợi nấm ở các trạng thái môi trường khác nhau (hàm lượng ppm, trọng lượng khô)

Số TT	Nguyên tố lỏng-động	Môi trường đặc	Môi trường lỏng tĩnh	Môi trường (%)	Sai số phân tích	Phương pháp
1	Co	0,096	0,07	0,071	10	INAA
2	Cs	0,068	-	0,034	10	INAA
3	Fe	230	238	110	15	INAA
4	Hg	0,23	0,11	0,45	12	INAA
5	K	2715	7220	5340	10	INAA
6	K	2715	7220	5340	10	INAA
7	Mn	13,5	106,7	10,5	10	INAA
8	Na	620	470	1190	10	INAA
9	Rb	3,85	4,47	4,65	11	INAA
10	V	0,51	0,06	0,6	12	INAA
11	Se	8,2	14,2	14,2	12	INAA
12	Zn	78	437	98	15	INAA
13	Cu	12,9	12,9	10,7	9	RNAA

KẾT LUẬN

1. Môi trường dinh dưỡng thích hợp cho nhân giống cấp I *Pl. pulmonarius* có thành phần sau: saccharo: 20 g, pepton-(NH₄)₂SO₄ với tỷ lệ

1/1: 4/5 g, BA-IBA với tỷ lệ 1/1: 0,1 ppm, aga: 15 g, nước: 1 lít. Trong môi trường dinh dưỡng này, tốc độ sinh trưởng của hệ sợi nấm đạt 395 micromet/giờ.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

2. Các phytohormon: BA, IBA, axit succinic và các hỗn hợp của chúng BA - IBA, BA - axit succinic, IBA - axit succinic theo tỷ lệ 1/1, với nồng độ thay đổi từ 0,05 tới 0,4 ppm, ảnh hưởng khác nhau lên tốc độ sinh trưởng của hệ sợi nấm *Pl. pulmonarius* (kích thích hoặc ức chế). Nhìn chung nồng độ của chúng trong môi trường dinh dưỡng thay đổi từ 0,05 tới 1,0 hoặc 1,5 ppm, đã kích thích đáng kể sự sinh trưởng của hệ sợi nấm. Hỗn hợp BA - IBA, tỷ lệ 1/1, với nồng độ 0,1 ppm trong môi trường dinh dưỡng, kích thích sự sinh trưởng của hệ sợi nấm mạnh nhất (395 micromet/giờ).
- Nồng độ của các phytohormon (từ 1,0 hoặc 1,5 tới 4,0 ppm trong môi trường dinh dưỡng) đã ức chế đáng kể sự sinh trưởng của hệ sợi nấm *Pl. pulmonarius*.
3. Khả năng tích lũy sinh khối của hệ sợi nấm *Pl. pulmonarius* trong môi trường dinh dưỡng ở trạng thái lỏng động rất cao, đạt 19,83 g/l sau 168 giờ nuôi cấy. Thành phần khoáng vi lượng trong hệ sợi nấm đa dạng về thành phần và số lượng của chúng nằm trong ngưỡng giới hạn cho phép làm thức ăn cho người và động vật.
1. Biali V. I., 1973: Metodur eksperimentanoi mikologii. Kiev.
2. Lê Bá Dũng, 1981: Góp phần nghiên cứu một số đặc điểm sinh học của nấm thuộc họ Polyporaceae. Hội nghị khoa học chuyên đề Sinh lý phát triển và kỹ thuật trồng nấm ăn. Đại học Tổng hợp Hà Nội.
3. Lê Bá Dũng, 1996: Tạp chí Sinh học, 18 (3): 36-40.
4. Phạm Thành Hồ, 1987: Giáo trình kỹ thuật trồng nấm ăn. Trường Đại học Tổng hợp thành phố Hồ Chí Minh.
5. Trịnh Tam Kiệt, 1981: Nấm lớn ở Việt nam. NXB Khoa học và kỹ thuật, Hà Nội.
6. Trịnh Tam Kiệt, 1986: Sinh học kỹ thuật nuôi trồng nấm ăn. NXB Nông nghiệp, Hà Nội.
7. Petersent R. H. and Hughes K. W., 1993: Intercontinental interbreeding collections of *Pleurotus pulmonarius*, with notes on *P. ostreatus* and other species. Sydowia, in press.
8. R. Singer, 1961: Mushrooms and truffles. New York.
9. Torev A., 1973: Promislena tekhnologija za proizvodstvo na mixela ot vissi gurbi. Sofia.

INFLUENCES OF SOME NUTRIENT SOURCES (CARBON AND NITROGEN) AND PHYTOHORMONES ON MYCELIAL GROWTH OF *Pl. PULMONARIUS*

LE BA DUNG

SUMMARY

Some growing stimulators: BA, IBA, acid succinic and their compounds: BA - IBA, Ba - acid succinic, IBA - acid succinic with ratio 1/1 in the concentrations from 0,05 to 4,0 ppm, influenced on the rate of mycelial growth of *Pl. pulmonarius* (increase or decrease). Their concentrations in nutritional medium, from 0.05 to 1.0 or 1.5 ppm, enhanced strongly the mycelial growth while their higher concentrations from 1.0 or 1.5 to 4.0 ppm, decreased it strongly.

The obtained results showed that the medium: saccharoza 20 g, pepton/(NH₄)₂SO₄ (1/1) 4,5 g, supplemented with 0,1 ppm BA-IBA (1/1) compound, 50 g/l potatoes extract, aga 15 g, water 1 l, was effective for the growing of, *Pl. pulmonarius micelium*.

Capability of accumulating biomass of *Pl. pulmonarius* myselium in the shaking broth medium is high (19.83 g/l after 168 h growing the medium). The microelement composition in micelium is adequate.

Ngày nhận bài: 28-7-1998

THỬ NGHIỆM TÁC DỤNG DIỆT CỎ CỦA MỘT SỐ MUỐI CỦA N-(PHOTPHONOMETYL)GLIXIN

PHẠM ĐÌNH CHÂU

Trường đại học Dược Hà Nội

Thuốc diệt cỏ N-(photphonometyl)glixin có thể dùng diệt cỏ cho các đồn điền, các nông trường trồng cây công nghiệp (cao su, cà phê, chè, mía) và cây ăn quả lâu năm (nho, cam, chanh, táo, lê, dứa, chuối v.v.), làm quang cây cỏ hai bên đường giao thông (đường sắt, đường bộ) và làm sạch cỏ ở các nhà ga, bến tàu, sân bãi phi cách tác.

N-(photphonometyl) glixin không độc đối với các động vật nuôi, không tồn lưu trong đất, vì khi tiếp xúc với đất, N-(photphonometyl)glixin bị vi khuẩn đất chuyển hóa thành photphat, amoniac và khí cacbonic [7, 9].

Tác dụng ức chế tăng trưởng của N-(photphonometyl)glixin còn được sử dụng vào việc kích thích cho quá trình làm chín, làm tăng hàm lượng đường trong mía và trong củ cải đường [2, 5, 12].

Ở Việt Nam, chưa ai đi sâu nghiên cứu đề sử dụng hợp chất này. Trong bài này, chúng tôi thông báo kết quả bước đầu thử tác dụng diệt cỏ của một số chế phẩm của nó.

I. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Các hoạt chất:

- Muối natri của N-(photphonometyl)glixin (Na-PMG) được điều chế bằng cách hòa tan một đương lượng mol N-(photphonometyl)glixin (PMG) trong một đương lượng mol natri hydroxit dung dịch 25%.

- Muối amoni của N-(photphonometyl)glixin (NH₃-PMG) được điều chế bằng cách hòa tan một đương lượng mol N-(photphonometyl) glixin (PMG) trong một đương lượng mol amoni

hydroxit dung dịch 25%.

Hoạt chất PMG được dùng trong các công thức với tỷ lệ 1, 2, 3, 4, 5 kg cho 1 ha diện tích cỏ.

Các chất phụ gia, chất độn:

- Axit dodecylbenzensunfonic (ADDBS) kỹ thuật.

- Trietanolamin (TEA) kỹ thuật.

- Urê của Nhà máy phân đạm Hà Bắc.

- Axit benzoic kỹ thuật.

Diện tích cỏ thử nghiệm là 550 m², chia thành 11 thửa nhỏ, có thửa đối chứng.

Ruộng cỏ thí nghiệm nằm trong khu vực ga Hà Nội, có 24 loại cỏ chính có tên và ký hiệu bằng các chữ số sau đây: cỏ tranh (1), cỏ gấu (2), cỏ gừng (3), cỏ chỉ (4), cỏ chân nhện (5), cỏ màn trâu (6), cỏ gà (7), cỏ lồng vực (8), cỏ bông (9), cỏ xanh (10), bìm vàng (11), màn màn trắng (12), nhọ nôi (13), đèn gai (14), đơn buốt (15), giần sàng (16), chó đẻ (17), an điền (18), tường anh (19), nam sâm (20), cỏ sữa lá lớn (21), cỏ sữa lá nhỏ (22), hoàng manh (23), lô địa cúc (24). Diện tích cỏ thử nghiệm trước đó đã được nhổ bằng tay nhiều lần và lần gần nhất cách đây 2 tháng, lúc phun, cỏ đã lên 20-40 cm, có một số loại cỏ như cỏ gừng đã cao 50-60 cm, cây màn màn trắng cao 70-110 cm, với lượng cỏ trung bình 0,5-1,5 kg cỏ / 1 m², thậm chí ở những chỗ cây màn màn trắng mọc rậm thì lượng cỏ lên tới 2-3 kg / 1 m².

Thời gian phun vào cuối tháng 7, là thời kỳ nắng ẩm, mưa nhiều nên cỏ phát triển mạnh.

Các dung dịch thuốc phun được chuẩn bị

Công trình được sự hỗ trợ kinh phí của Chương trình khoa học cơ bản và của Ga Hà Nội. Việc nhận dạng và gọi tên các loại cỏ được sự giúp đỡ của PTS Nguyễn Khắc Khởi.

theo 3 công thức và cách pha chế như sau:

1. Muối natri của PMG: 100 g PMG được hòa tan trong 90 g dung dịch NaOH 25%, 3,5 g ADDBS, 1,5 g TEA, 2 g urê, 1 g axit benzoic.

2. Muối amoni của PMG: 100 g PMG hòa tan trong 80 ml NH₄OH 25%, 3,5 g ADDBS, 1,5 g TEA, 2 g urê, 1 g axit benzoic.

3. Dung dịch đối chứng - không chứa hoạt chất PMG: 3,5 g ADDBS, 1,5 g TEA, 2 g urê, 1 g axit benzoic.

Tất cả các hóa chất trong mỗi công thức trên đều được hòa tan hoàn toàn vào 500 ml hỗn hợp nước - axêton có tỷ lệ: 5 : 1, sau đó cho thêm nước vào để đủ thể tích 1000 ml. Đây là dung dịch cái và từ dung dịch cái của các công thức này, đóng lấy 50, 100, 150, 200, 250 ml (chứa tương ứng 5, 10, 15, 20, 25 g hoạt chất PMG hoặc tương đương 1, 2, 3, 4, 5 kg PMG / 1 ha), pha loãng với nước thành 2 l dung dịch phun (tương đương 400 l cho 1 ha. Các dung dịch pha loãng này được phun đều lên lá cỏ ở các thửa ruộng thí nghiệm có diện tích 50 m². Riêng công thức 3 (đối chứng), thì lấy 250 ml pha thành 2 l để phun cho một thửa đối chứng.

Các dung dịch thuốc được phun đều lên lá cỏ bằng bình bơm thuốc trừ sâu loại cá nhân, có đầu phun được điều chỉnh để có tia phun hạt nhỏ, phun vào những ngày không bị mưa.

Hiệu lực của thuốc được theo dõi qua sự thay đổi bên ngoài lẫn bên trong của cây cỏ trong vòng 2 tháng, kể từ khi phun và lấy mẫu để đánh giá ở thời điểm 10, 20 ngày sau lúc phun thuốc. Cách lấy mẫu và xử lý như sau: mỗi thửa thí nghiệm, đào lấy mỗi loại cỏ 3 bụi (lấy toàn bộ) và quan sát toàn bộ cây từ lá đến thân, gốc, rễ. Đánh giá khả năng có thể mọc lại từ gốc cũ. Sự đánh giá mức độ cỏ bị diệt được liệt kê vào 5 nhóm có ký hiệu A, B, C, D, E, trong đó quy định như sau:

- Nhóm A: cho những cây cỏ hoàn toàn không bị ảnh hưởng gì do phun thuốc (không có hiện tượng lá bị úa vàng).

- Nhóm B: cho những cây cỏ có lá bị úa vàng, sự sống bị hủy diệt không quá 30%.

- Nhóm C: cho những cây cỏ có lá bị úa vàng, ngọn cây có hiện tượng bị héo, sự sống bị hủy diệt trong khoảng 31-60%.

- Nhóm D: cho những cây cỏ có lá bị cháy, thân úa nhưng củ ngầm và rễ vẫn còn khả năng mọc lại chồi từ các đốt bên cạnh, sự sống bị hủy diệt trong khoảng 61-90%.

- Nhóm E: cho những cây cỏ chết hẳn, không còn khả năng mọc lại dưới bất kỳ hình thức nào.

Các kết quả thu được này được ghi lại trong bảng 1.

II. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Qua quan sát quá trình biến đổi của cây cỏ, suốt từ sau lúc phun thuốc đến các thời điểm lấy mẫu để đánh giá (ngày thứ 10, 20), cũng như theo dõi sự sinh trưởng của các cây cỏ thời gian 2 tháng sau lúc phun, chúng tôi rút ra mấy nhận xét sau:

- Hiệu lực diệt cỏ của muối natri và muối amoni của PMG đều gần giống nhau. Điều đó có thể giả thiết rằng nhóm mang hoạt tính sinh học ức chế sinh trưởng của N-(phosphonometyl) glixin đối với cây cỏ là dạng ionic, chứ không phải dạng axit.

- Ở những nồng độ hoạt chất sử dụng thấp 5; 10 g cho 50 m² (tương ứng với 1, 2 kg / 1 ha), chỉ diệt được các loại cỏ 1 năm có rễ cọc hoặc rễ chùm (cỏ mặt, cỏ cói xanh, đèn gai, màn màn trắng v.v.), cao không quá 20 cm, còn đối với các loại cỏ quá cao hoặc có thân ngầm sống lâu năm (cỏ tranh, cỏ gấu, cỏ gừng v.v.) thì phần thân ngầm hoặc phần củ ngầm chưa diệt được triệt để và từ đó, lại mọc trở lại sau 3, 4 tuần kể từ lúc phun.

- Ở những thí nghiệm với nồng độ hoạt chất sử dụng 15, 20, 25 g / 50 m² (tương đương với 3, 4, 5 kg / ha) thì sau 10 ngày, diệt được các loại cỏ 1 năm, còn sau 20 ngày thì diệt được toàn bộ các loại cỏ và từ các gốc, cỏ không thể phát triển trở lại. Điều này cho thấy nên để thời gian cho thuốc tác dụng ít nhất là 20-25 ngày. Nhưng cũng thấy rằng, sau khoảng 25-30 ngày, thì từ đất lại mọc lên một số loại cỏ khác, mà đa số là cỏ mọc từ hạt thuộc loại cỏ sống 1 năm (như cỏ chân nhện, cỏ chỉ, mầm trấu, cỏ bông, đèn gai, màn màn trắng, chó đẻ, cỏ sữa lá lớn; cỏ

Kết quả đánh giá ảnh hưởng của các nồng độ thuốc tới các loại cỏ trên các đám cỏ thử nghiệm

Số TT	Hoạt chất	PMG DT g/50 cm ²	Mức độ tác dụng của thuốc tới các loại cỏ																	Thời gian (ngày)							
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17		18	19	20	21	22	23	24
1		5		B	B		C																				
2		5		C	C		D																				
3		10		C	C		C																				
4	Na	10		D	D		E																				
5	P	15			D		E																				
6	M	15			D		E																				
7	G	20		D	D		E																				
8		20		E	E		E																				
9		25		D	D		E																				
10		25		E	E		E																				
11		5		B	B		C																				
12		5		C	C		D																				
13		10		C	C		E																				
14	NH ₃	10		D	D		E																				
15	P	15			D		E																				
16	M	15		D	D		E																				
17	G	20		D	D		E																				
18		20		E	E		E																				
19		25		D	D		E																				
20		25		E	E		E																				
21	D	25																									
22	C	25																									

sữa lá nhỏ v.v.) nhưng các loại cỏ này rất dễ diệt, chỉ cần phun thuốc với nồng độ 1,5-2 kg hoạt chất / 1 ha, là có thể diệt được một cách triệt để.

- Các chất phụ gia, chất độn với nồng độ có trong các công thức, không có tác dụng diệt cỏ, mà chỉ có tác dụng làm tăng độ bám dính, hấp thụ của lá, nhờ vậy làm tăng hiệu lực của hoạt động chất.

III. KẾT LUẬN

Các muối natri, amoni của PMG là những hoạt chất có tác dụng diệt cỏ tốt, với nồng độ sử dụng 3-5 kg hoạt chất cho 1 ha cỏ, thì thuốc diệt được hầu hết các loại cỏ. Vậy, để diệt được cỏ trên sân bãi bỏ hoang, có nhiều loại cỏ khác nhau, thì đợt đầu nên dùng nồng độ 3-4 kg hoạt chất PMG / 1 ha cỏ là vừa, các đợt tiếp theo chỉ nên dùng 2-2,5 kg / 1 ha và cứ 2 tháng, phun 1 lần vào mùa xuân, hè, thu và 3 tháng vào mùa đông.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Amrhein N. et al., 1982: Bulletin de Liaison II: 21-31.

2. Archer M., 1997: Proc. Sugarcane seminar sponsored by Monsanto Agricultural Production Co., 206-211.

3. Baird D. D. et al. 1971: Proceeding of N Central Weed Control Conference, 26: 64-68.

4. Jaworsky G. E., 1972: Journal of Agriculture and Food chemistry, 20: 1195-1198.

5. Maretzki A., Thom M., and Moore P. 1976: Haw. Pl. Res, 59 (3): 21-23.

6. Roisch U. and Lingens F., 1974: Angewandte Chemie International, 13: 400-406 (Edition in English).

7. Rueppel M. et al. 1977: Journal of agriculture and Food chemistry, 25: 517-528.

8. Schwarzenbach G., Ackermann H., and Ruchstühl P., 1949: Helv. Chim. Acta, 32: 1175.

9. Sprankle P., Meggitt W., and Penner D. 1975: Weed Science, 23: 229-234.

10. Tuấn D. S., Hùng H.Đ., Châu P. Đ., 1996: Tạp chí Hóa học, 34 (ĐB): 26-29.

11. Wise P. C., 1982: Proc. of the South African Sugar Technologists Association: 127-129.

STUDY ON THE HERBICIDE EFFECT OF SOME SALTS OF N-(PHOSPHONOMETHYL) GLYCINE

PHAM DINH CHAU

SUMMARY

Sodium and ammonium salts of N-(phosphonomethyl)glycine were prepared and their compositions were formulated which corresponded to rates of 1, 2, 3, 4, 5 kg ingredient / 1 ha. The effective grass controls of these compositions were tested and compared.

The herbicide solutions were sprayed with hand-knapsack on the tested grass fields of Hanoi railway Station which included 24 weed species in summer.

Results have shown that both sodium and ammonium salts of N-(phosphonomethyl)glycine had good effects on grass control and, at rates of 1-3 kg ingredient / 1 ha, the spray solution killed only annual weeds and at rates 3-5 kg / 1 ha, it killed both all annual and perennial weeds.

Ngày nhận bài: 26-10-1996

VIETNAM NATIONAL CENTRE FOR NATURAL SCIENCE AND TECHNOLOGY
JOURNAL OF BIOLOGY
VOLUME 21 - NUMBER 1
3 - 1999

CONTENTS

		<i>Page</i>
1	NGUYEN TIEN BAN, : The scientific name of bitter tea growing in Vietnam. NGUYEN KHAC KHOI	1 - 3
2	LE XUAN THAM : <i>Ganoderma trengganuense</i> Corner - a Lingzhi species newly found in Vietnam.	4 - 7
3	NGUYEN VAN DU : New record of genus hapaline (Araceae) for the flora of Vietnam.	8 - 10
4	LE NGUYEN NGAT, : First survey on amphibians and reptiles in the west forest NGUYEN VAN SANG part of Quang Nam province.	11-16
5	NGUYEN VU THANH, : Parasitic nematodes associated with cinnamon trees in PHAM VAN LUC Quang Nam province of Vietnam.	17-18
6	NGUYEN QUANG PHACH, : A first study on arearial insect at low heights and their con- HOANG MINH HUNG nections with the biology of edible nest swiftlet (<i>Collocalia fuciphaga</i> Germani oustalet) in Khanh Hoa province. II. The factors affecting to the distribution of aerial insects and the connection of aerial insects with the biology of edible nest swiftlet.	19-24
7	NGUYEN THI DE : Study on the transfer of encapsulated methyl liposomes into <i>et al.</i> the fertilized of goldfish by microinjection.	25-28
8	TRINH VAN HANH : The infection of the experimental colour powder in the popu- <i>et al.</i> lation of <i>Coptotermes formosanis</i> Shiraki.	29-33
9	NGUYEN THI UOC : Sex determination of embryos and blastomeres of cattle by <i>et al.</i> PCR technique.	34-38
10	NGUYEN BICH NHI : Protein and amino acid compositions in the seeds of aromatic <i>et al.</i> rice species Tam thom, Du huong and Di huong.	39-43
11	LE GIA HY : Taxonomic characterization of some cellulose degrading <i>et al.</i> Streptomyces strains isolated from waste composting ponds in Vietnam.	44-48
12	NGUYEN LAM DIEN : Application of molecular biology in genetic polymorphism <i>et al.</i> assessment of some <i>Stevia rebaudiana</i> varieties.	49-54
13	LE BA DUNG : Influences of some nutrient sources (carbon and nitrogen) and phytohormones on mycelial growth of <i>Pl. pulmonarius</i> .	55-60
14	PHAM DINH CHAU : Study on the herbicide effect of some salts of N-(phospho- nomethyl) glycine.	61-64

MỤC LỤC

		Trang
1	NGUYỄN TIẾN BÂN, NGUYỄN KHẮC KHÔI : Tên khoa học của cây Chè đắng ở Việt Nam.	1 - 3
2	LÊ XUÂN THÁM : <i>Ganoderma trengganuense</i> Corner một loài nấm Linh chi mới phát hiện có ở Việt Nam.	4 - 7
3	NGUYỄN VĂN DƯ : Bồi sung một loài mới thuộc chi Hấp linh - Hapaline Schott (họ Ráy - Araceae) cho hệ thực vật Việt Nam.	8 -10
4	LÊ NGUYỄN NGẬT, NGUYỄN VĂN SÁNG : Kết quả khảo sát bước đầu hệ ếch nhái - bò sát ở vùng rừng Tây Quảng Nam.	11-16
5	NGUYỄN VŨ THANH, PHẠM VĂN LỰC : Tuyển trùng ký sinh trên cây quế (<i>Cynnamomum casia</i>) ở tỉnh Quảng Nam.	17-18
6	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 oustalet ở Khánh Hòa. Phần II: Các nhân tố ảnh hưởng đến sự phân bố của côn trùng bay trong không khí và mối liên quan của côn trùng bay trong không khí với sinh học của chim Yến hàng.	19-24
7	NGUYỄN THỊ ĐỆ, và cộng sự : Biến nạp gen hormon sinh trưởng dưới dạng liposom vào phôi cá vàng bằng phương pháp vi tiêm.	25-28
8	TRỊNH VĂN HẠNH và cộng sự : Sự lây truyền chất bột màu trong quần thể mối <i>Coptotermes formosanis</i> Shiraki (Isoptera: Rhino termitidae).	29-33
9	NGUYỄN THỊ ƯỚC và cộng sự : Xác định giới tính của phôi và tế bào phôi bò bằng kỹ thuật PCR.	34-38
10	NGUYỄN BÍCH NHI và cộng sự : Thành phần protein và axit amin trong hạt của một số giống lúa thơm thuộc tập đoàn Tám thơm, Dự hương, Di hương của Việt Nam.	39-43
11	LÊ GIA HY và cộng sự : Đặc điểm phân loại của một số chủng xạ khuẩn có khả năng phân giải xenlulo cao phân lập từ bề ú rác thải.	44-48
12	NGUYỄN LAM ĐIỀN và cộng sự : Ứng dụng kỹ thuật sinh học phân tử vào việc đánh giá bộ gen của một số giống Cỏ ngọt (<i>Stevia rebaui</i> Diana Bertoni).	49-54
13	LÊ BÁ DŨNG : Ảnh hưởng của các nguồn dinh dưỡng và phytohormon khác nhau lên sự sinh trưởng của hệ sợi nấm <i>Pleurotus pulmonarius</i> .	55-60
14	PHẠM ĐÌNH CHÂU : Thử nghiệm tác dụng diệt cỏ của một số muối của N-(phot-phonometyl)glixin.	61-64