

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

ISSN 0866 - 7160

77

tạp chí
SINH HỌC

Journal of Biology

TẬP 21 - SỐ 3

THÁNG 9-1999

HÀ NỘI



TẠP CHÍ SINH HỌC

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

HỘI ĐỒNG BIÊN TẬP

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

Thư ký tòa soạn : Trần Ngọc Trấn

DANH LỤC VÀ KHÓA ĐỊNH LOẠI CÁC LOÀI THUỘC HỌ RUỒI NHÀ (DIPTERA: MUSCIDAE) Ở VIỆT NAM

PHẦN 2. CÁC PHÂN HỌ STOMOXYINAE, PHAONINAE, COENOSIINAE VÀ MYDAEINAE

TẠ HUY THỊNH

Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật

Ở Việt Nam, so với phân họ Muscinae thì các phân họ khác thuộc họ Ruồi nhà Muscidae được nghiên cứu sơ sài hơn. Trước đây, chúng tôi đã xác định được 24 loài thuộc các phân họ này [8-11]. Bài báo này hệ thống lại 4 phân họ Stomoxyinae, Phaoninae, Coenosiniinae và Mydaeinae ở Việt Nam có 37 loài. Trong số này, 11 loài được ghi nhận lần đầu tiên có ở Việt Nam là: *Stomoxys stiers*

Rondani, 1873; *Stomoxys pulla* Austen, 1909; *Haematostoma austeni* Malloch, 1932; *Brontaea distincta* (Stein, 1909); *Brontaea nigrogrisea* (Karl, 1939); *Pectinisetia pectinata* (Stein, 1900); *Graphomyia vittata* Stein, 1909; *Limnophora exigua* (Wiedemann, 1830); *Myospila argentata* (Walker, 1856); *Myospila lenticeps* (Thomson, 1869) và *Myospila bina* (Wiedemann, 1830).

I. PHÂN HỌ STOMOXYINAE KHÓA ĐỊNH LOẠI TỐI GIỐNG

- 2) Lông ở Sternopleura là 0:1. Arista chỉ có lông ở phía trên. Xúc biện ngắn hơn 1/2 vôi. Mép sau của vôi kép rất lớn. *Stomoxys*
- 1) Lông ở Sternopleura là 1:1. Arista hoặc có lông ở cả hai phía hoặc chỉ có lông ở phía trên.
- 4) Xúc biện ngắn hơn 1/2 vôi. Arista có lông ở cả hai phía. *Haematostoma*
- 3) Xúc biện dài bằng vôi và nhọn xòe rộng. *Haematobosca*
- 5) Arista có lông ở cả hai phía. Vôi thô mập. Notopleura có lông. Ruồi có kích thước trung bình. *Haematobia*
- 5) Arista chỉ có lông ở phía trên. Vôi thon mảnh. Notopleura không có lông. Ruồi có kích thước nhỏ. *Haematobia*

1. GIỐNG STOMOXYS GEOFFROY, 1762

- 1) Hình vệt trên bụng có dạng đốm, sọc dọc chính giữa luôn tồn tại.
- 2) Tergite thứ 3 và thứ 4 có các cặp đốm xẫm hình tròn, 5-8 mm. 33. *S. calcitrans*
- Stomoxys calcitrans* (Linnaeus, 1758); Syst. Nat. Ed. 10, 1:604 (*Conops*).

Phân bố: Toàn quốc (Mesnard et Toumanoff, 1942; Trịnh Văn Thịnh, 1964, 1966; Kano R., 1964; Phạm Sĩ Lăng và các tác giả, 1976; Hồ Thị Thuận và các tác giả, 1983; Tạ Huy Thịnh, 1983a, 1983b, 1988, 1999).

- 3) Tergite thứ 3 và thứ 4 có các cặp đốm xẫm hình trứng.
- 4) Phần nửa gốc của đốt đuôi chân sau có một số lông v dài, chiều dài của chúng bằng đường kính đốt. Vây cánh màu nâu. 6-7 mm. 34. *S. bengalensis*

Ngành trình được sự hỗ trợ kinh phí của Chương trình nghiên cứu cơ bản trong khoa học tự nhiên.

Stomoxys bengalensis Picard, 1908; Bull. Soc. Ent. Fr. : 21.

Phân bố: Việt Nam (không rõ địa điểm) (Zumpt, 1973).

5(4) Phần nửa gốc của đốt đùi chân sau có một số lông ngắn, chiều dài của chúng chỉ bằng 1/2 đường kính đốt đùi. Vây cánh màu trắng ngà. 4,5-6 mm. 35. *S. siliens*

Stomoxys siliens Rondani, 1873; Ann. Mus. Civ. Nat., 4: 288.

Phân bố: Hòa Bình, Gia Lai, Kon Tum (ghi nhận mới).

6(1) Hình vết trên bụng có dạng dải băng ngang, sọc dọc chính giữa tồn tại hoặc không tồn tại.

7(8) Xúc biện đạt tới mép miệng. Anten màu nâu đen toàn bộ. Các tergite có dải băng hẹp màu đen ở mép sau và không có sọc dọc chính giữa. 3,5-4 mm. 36. *S. pulla*

Stomoxys pulla Austen, 1909; Ann. Mag. Nat. Hist., 8(3): 294.

Phân bố: Lâm Đồng (ghi nhận mới).

8(7) Xúc biện không đạt tới mép miệng. Phần gốc của đốt anten thứ 3 màu vàng. Tergite thứ 3 và thứ 4 có dải băng rộng màu xám ở mép sau và có sọc dọc chính giữa.

9(10) Trán con đực hẹp, bằng khoảng 1/10 chiều rộng của đầu. Xúc biện màu vàng da cam. Vòi nâu xám bóng. 4-6 mm.

Stomoxys indica Picard, 1908; Bull. Soc. Ent. Fr. : 20.

Phân bố: Gia Lai, Kon Tum, Đắc Lắc, Lâm Đồng (T. H. Thịnh, 1983, 1988, 1989) Đồng Nai, Bình Phước (bổ sung).

10(9) Trán con đực rộng hơn, bằng khoảng 1/8 chiều rộng của đầu. Xúc biện màu nâu nhạt. Vòi đen nhánh. 4-5 mm. 38. *S. uruma*

Stomoxys uruma Shinonaga et Kano, 1966; Jap. Sanit. Zool., 17: 161.

Phân bố: Việt Nam (không rõ địa điểm) (Zumpt, 1973), Vĩnh Phúc (bổ sung).

2. GIỐNG HAEMATOSTOMA MALLOCH, 1932

1(1) Vòi màu đen, dài mập. Xúc biện ngắn, màu vàng. Lưng ngực màu đen phủ phần màu nâu xám, trước rãnh lưng có sọc rộng. Các tergite thứ 3 - thứ 5 có dải băng hẹp màu nâu đen bóng ở mép trước. 3,5-4,5 mm 39. *H. Austeni*

Haematostoma austeni Malloch, 1932; Ann. Mag. Nat. Hist., 9(10): 427.

Phân bố: Ninh Bình (ghi nhận mới).

3. GIỐNG HAEMATOBOSCA BEZZI, 1907

1(1) Lưng ngực màu nâu xám phủ phần vàng xám với 4 sọc dọc. Các tergite thứ 3 - thứ 5 có dải băng hẹp đen nhánh ở mép trước, các tergite thứ 3 và thứ 4 có các cặp đốm bán nguyệt màu nâu. 5-6 mm.

. 40. *H. sanguinolenta*

Haematobosca sanguinolenta (Austen, 1909); Ann. Mag. nat. Hist., 3(8): 290 (*Bdellolarynx*).

Bdellolarynx sanguinolentus (T. H. Thịnh, 1983, 1988, 1989).

Phân bố: Toàn quốc (Trịnh Văn Thịnh, 1964, 1966; Phạm Sĩ Lăng và các tác giả, 1976; T. H. Thịnh, 1983, 1988, 1989).

4. GIỐNG HAEMATOBIA LE PELETIER et SERVILE, 1828

1(2) Lông ac là 5-6. Đốt bàn thứ 2 chân sau con đực chỉ có 1 lông cứng dài nhọn cong ở ngọn đốt. Đốt

đôi chân sau có 1 lông v nhỏ ở gần gốc. Xúc biện ở con cái màu nâu. Vây cánh dưới màu nâu nhạt với diềm màu nâu xám. 2,5-4,5 mm. 41. *H. irritans*

Hematobia irritans (Linnaeus, 1758): Syst. nat., 10: 604 (*Conops*)

Lyperosia irritans (Linnaeus, 1758) (Trịnh Văn Thịnh, 1964, 1966).

Phân bố: Miền Bắc Việt Nam (T. V. Thịnh, 1964, 1966).

2(1) Lông ac là 4. Đốt bàn thứ 2 chân sau con đực có 4-6 lông cứng dài ngọn cong. Đốt đôi chân sau có 1 lông v lớn ở gần gốc. Xúc biện ở con cái màu vàng. Vây cánh dưới màu trắng ngà với diềm màu nâu nhạt. 2,5-4,5 mm. 42. *H. exigua*

Haematobia exigua de Meijere, 1093: Med. Proef. Ost. Jaca, 3: 44.

Lyperosia exigua (de Meijere, 1903) (T. H. Thịnh, 1983, 1988, 1989).

Phân bố: Toàn quốc (T. V. Thịnh, 1964, 1966; P. S. Lăng và các tác giả, 1976; T. H. Thịnh, 1983, 1988, 1989).

II. PHÂN HỌ PHAONIINAE KHÓA ĐỊNH LOẠI TỚI TỘC

1(2) Mép lỗ thở sau có lông cứng màu đen *Dichaetomyiini*

2(1) Mép dưới lỗ thở không có các lông cứng như thế.

3(4) Đốt ống chân sau có 1 lông pd ở vị trí 2/3 *Atherigonini*

4(3) Đốt ống chân sau không có lông pd, nếu có thì ở vị trí 1/3 *Phaoniini*

TỘC DICHAETOMYIINI

1. GIỐNG *DICHAETOMYIA* MALLICH, 1921

1(2) Lông dc sau rãnh lưng là 3. Scutellum có lông ở mặt sườn và mặt bụng. Lưng ngực màu vàng nâu, vai màu nâu, sườn màu nâu xám. Xúc biện màu nâu xám. 6-8 mm. 43. *D. bibax*

Dichaetomyia bibax (Wiedemann, 1830): Auss. Zwei. Ins.m 2: 431 (*Anthomyia*)

Phân bố: Gia Lai (T. H. Thịnh, 1983, 1988, 1989).

2(1) Lông dc sau rãnh lưng là 4. Mặt sườn của Scutellum có lông cứng ngắn giống như lông ở mặt trên, mặt bụng Scutellum không có lông. Lưng ngực màu nâu, vai màu vàng, sườn màu nâu xám. Xúc biện màu nâu đen. 6-8,5 mm. 44. *D. quadrata*

Dichaetomyia quadrata (Wiedemann, 1824): Analecta Ent.m 52 (*Anthomyia*)

Phân bố: Gia Lai (T. H. Thịnh, 1983, 1988, 1989), Ninh Bình (bổ sung).

TỘC ATHERIGONINI

2. GIỐNG *ATHERIGONA* RONDANI, 1856

1(2) Lông ac trước rãnh lưng là 4-5. Xúc biện dài. Đốt đôi chân trước có 1 vệt lõm ở mặt lưng gần ngọn đốt, ở con đực vết lõm này có lông cứng ngắn mọc dày (Phân giống *Acritochaeta*). Trán màu nâu. Xúc biện màu nâu. Lưng ngực màu tro, không có các sọc dọc, ngọn Scutellum màu vàng. Tergite thứ 3 có 1 cặp đốm đen hình tam giác và 1 sọc dọc chính giữa, tergite thứ 4 và thứ 5 có cặp đốm đen hình tròn. 3,5-5 mm. 45. *A. orientalis*

Atherigona orientalis Schiner, 1868; Zool. Theil., 1(6): 295.

Atherigona excisa (Thomson, 1869) (T. H. Thịnh, 1983, 1988, 1989).

Phân bố: Gia Lai, Đắc Lắc, Lâm Đồng (T. H. Thịnh, 1983, 1988, 1989), Hà Tây, Hà Nội, Thái Bình, Ninh Bình (bổ sung).

2(1) Lông ac trước rãnh lưng là 2-3. Xúc biện ngắn. Đốt đùi chân trước không có vết lõm (Phân giống *Atherigona*).

3(8) Xúc biện màu vàng.

4(7) Trán giữa toàn bộ màu nâu đen.

5(6) Đốt ống chân trước có màu vàng ở 1/3 gốc, còn lại màu xám. Đốt đùi chân trước có màu xám ở 1/4 ngọn, còn lại màu vàng. Tergite thứ 3 có 1 cặp đốm đen lớn, tergite thứ 4 có 1 cặp đốm tròn nhỏ màu đen, tergite thứ 5 thường có 1 cặp đốm mặc dù mờ nhạt. 3-3,5 mm. 46. *A. oryzae*

Atherigona oryzae Malloch, 1925: Mem. Dept. Agric. Ind., 8: 117.

Phân bố: Đắc Lắc (T. H. Thịnh, 1988, 1989).

6(5) Đốt ống chân trước có màu vàng ở 1/4 - 1/5 gốc, còn lại màu xám. Đốt đùi chân trước có màu xám ở 1/2 ngọn, nửa còn lại màu vàng. Tergite thứ 3 có 1 cặp đốm hình chữ nhật hoặc tam giác, tergite thứ 5 luôn không có đốm. 3-4 mm. 47. *A. simplex*

Atherigona simplex (Thomson, 1869): Eugen. Resa, 2(1): 560 (*Coenosia*)

Atherigona bituberculata Malloch, 1925 (T. H. Thịnh, 1988, 1989).

Phân bố: Gia Lai, Đắc Lắc, Lâm Đồng (T. H. Thịnh).

7(4) Trán giữa nửa trước màu vàng, nửa sau màu nâu đen. Đốt ống chân trước phần lớn màu đen ở con đực và toàn bộ màu đen ở con cái. Tergite thứ 3 có 1 cặp đốm nâu xám và 1 sọc dọc chính giữa, tergite thứ 4 có 1 cặp đốm tròn nhỏ, tergite thứ 5 ở con cái có thêm 1 cặp đốm nhỏ. 3-4 mm. 48. *A. reversura*

Atherigona reversura Villeneuve, 1925: Ark. Zool., 27(34): 11.

Atherigona bella sinobella Fan, 1965 (T. H. Thịnh, 1983, 1988, 1989).

Phân bố: Gia lai, Kon Tum, Đắc Lắc, Lâm Đồng (T. H. Thịnh, 1983, 1988, 1989). Hòa Bình, Thái Nguyên, Vĩnh Phúc, Hà Tây, Bắc Ninh, Hà Nội, Ninh Bình, Thái Bình (bổ sung).

8(3) Xúc biện màu nâu.

9(10) Trán giữa màu vàng. Chân trước ở con đực màu vàng. Chân trước ở con cái: 1/2 ngọn đốt đùi và toàn bộ đốt ống màu đen. 4-4,5 mm. 49. *A. falcata*

Atherigona falcata (Thomson, 1869): Eugen. Resa, 2(1): 560 (*Coenosia*).

Atherigona nudiseti Malloch, 1923 (Viện BVTV, 1969), (T. H. Thịnh 1988, 1989).

Phân bố: Thái Bình, Hà Nam, Ninh Bình (Viện BVTV, 1969), Gia Lai, Đắc Lắc, Lâm Đồng (T. H. Thịnh, 1988, 1989), Sơn La, Thái Nguyên, Vĩnh Phúc, Bắc Ninh, Hòa Bình, Hà Tây, Hà Nội, Thanh Hóa (bổ sung).

10(9) Trán giữa màu nâu đen tới đen. Vai màu vàng.

11(12) Đốt đùi chân trước con đực có màu vàng ở 1/2 gốc. 3 mm. 50. *A. atripalpis*

Atherigona atripalpis Malloch, 1925: Mem. Dept. Agric. Ind., 8: 116.

Phân bố: Gia lai, Kon Tum, Đắc Lắc, Lâm Đồng (T. H. Thịnh, 1983, 1988, 1989), Lào Cai, Thái Nguyên, Sơn La, Bắc Ninh, Hòa Bình, Hà Tây, Hà Nội, Ninh Bình, Thái Bình, Thanh Hóa, Nghệ An (bổ sung).

12(11) Đốt đùi chân trước con đực có màu vàng ở 1/4 gốc. 3,5-4,5 mm. 51. *A. biseta*

Atherigona biseta Karl, 1939: Arb. Morph. Tax. Ent. Berl., 6(3): 279.

Phân bố: Gia Lai (T. H. Thịnh, 1983).

TỘC PHAONIINI

3. GIỐNG *BRONTAEA* KOWARZ, 1873

- 1(2) Lưng ngực có dải băng rộng màu xám ngay sau rãnh lưng. Tergite thứ 4 có 1 cặp đốm ở mép sau và 1 đốm ở chính giữa mép trước, tergite thứ 5 có 1 cặp đốm tròn. 4-5 mm. 52. *B. tonitru*

Brontaea tonitru (Wiedemann, 1824); *Analecta* Ent.: 52 (*Anthomyia*).

Gymnodia tonitru (Wiedemann, 1824) (T. H. Thịnh, 1983, 1988, 1989).

Phân bố: Gia Lai, Kon Tum, Đắc Lắc, Lâm Đồng (T. H. Thịnh, 1983, 1988, 1989), Hòa Bình, Vĩnh Phúc, Hà Tây, Hà Nội, Hà Nam, Ninh Bình, Thái Bình, Thanh Hóa (bổ sung).

- 2(1) Lưng ngực không có dải băng sau rãnh lưng.

- 3(4) Lưng ngực màu nâu đen trừ lại 1 dải băng màu sáng trước rãnh lưng. Syntergite 1 + 2 màu xám, tergite thứ 3 có 1 cặp vết lớn hình chữ L, tergite thứ 4 có 1 cặp sọc dọc ở giữa và 1 cặp đốm hai bên. 3,5-4 mm. 53. *B. distincta*

Brontaea distincta (Stein, 1909); *Tijdschr. Ent.*, 52: 251 (*Limnophora*).

Phân bố: Hòa Bình (ghi nhận mới).

- 4(3) Lưng ngực màu đen hoặc nâu đen không có dải băng sáng trước rãnh lưng. Tergite thứ 4 không có cặp sọc dọc chính giữa.

- 5(6) Tergite thứ 5 có 1 cặp vết dọc, tergite thứ 3 và thứ 4 có cặp vết lớn hình tam giác. 3,5 - 4 mm

. 54. *B. ascendens*

Brontaea ascendens (Stein, 1951); *Suppl. Ent.*, 4: 32 (*Limnophora*)

Gymnodia spilogaster Séguy, 1932 (T. H. Thịnh, 1988, 1989).

Phân bố: Gia Lai, Lâm Đồng (T. H. Thịnh, 1988, 1989).

- 6(5) Tergite thứ 5 không có đốm vết, các tergite còn lại các đốm vết giống như *B. distincta* trừ cặp sọc dọc chính giữa tergite thứ 4. 3,5 - 4,5 mm 55. *B. nigrogrisea*

Brontaea nigrogrisea (Karl, 1939); *Arb. Morph. Tax. Ent. Berl.*, 6: 279 (*Limnophora*).

Phân bố: Hòa Bình (ghi nhận mới)

III. PHÂN HỌ COENOSIINAE

KHÓA ĐỊNH LOẠI TỚI TỘC

- 1(2) Xúc biện hình cái thìa.

- 2(1) Xúc biện không có hình như vậy.

- 4(3) Vị trí của 3 cái lông ở Sternopleura tạo thành tam giác đều Coenosini

- 4(3) Sternopleura thường chỉ có 2 cái lông phía sau, nếu có 3 cái lông thì không tạo thành hình tam giác đều Limnophorini

TỘC LISPINI

1. GIỐNG *LISPE* LATREILLE, 1796

- 1(2) Cơ thể màu đen bóng. Xúc biện màu nâu đen. Đốt anten thứ 3 dài gấp 2,5 lần đốt thứ 2. Lông ở Sternopleura là 0:2. Các tergite có các cặp vết màu trắng ở sườn bụng. 3,5-4 mm. 56. *L. kowarzi*

Lispe kowarzi Becket, 1093, *Mitt. Zool. Mus. Berl.*, 2(3): 116.

Phân bố: Gia Lai, Kon Tum, Đắc Lắc, Lâm Đồng (T. H. Thịnh, 1988, 1989), Hòa Bình, Vĩnh Phúc, Hà Tây, Hà Nội, Thái Bình, Ninh Bình (bổ sung).

2(1) Cơ thể màu xám, phủ phấn, không ánh kim. Xúc biện màu vàng ít nhất có ngọn màu vàng.

3(4) Ngọn gân M_1+2 hơi uốn cong về phía gân R_4+5 , ô $2R_5$ mở hẹp. Lưng ngực màu nâu xám với 5 sọc dọc màu xám không rõ lắm. Bụng màu nâu đen, các tergite thứ 3 - thứ 5 có các cặp vết hình tam giác màu trắng kéo tới mặt bụng. 6-9 mm. 57. *L. longicollis*

Lispe longicollis Meigen, 1826: Syst. Besch., 5:225.

Phân bố: Gia lai, Lâm Đồng (T. H. Thịnh, 1988, 1989), Hòa Bình, Hà Tây, Thái Nguyên, Bắc Ninh, Vĩnh Phúc, Hà Nội, Thái Bình, Thanh Hóa, Nghệ An, Bình Phước (bổ sung).

4(3) Gân M_1+2 thẳng, hầu như song song với gân R_4+5 , ô $2R_5$ mở rộng.

5(6) Chân màu đen trừ mặt bụng đốt ống có thể nhạt hơn. Lưng ngực màu xám với 5 sọc dọc màu nâu không rõ lắm, sọc chính giữa không kéo tới Scutellum. Bụng phủ phấn xám trắng, các tergite thứ 3 - thứ 5 có các cặp vết nâu xám hình chữ bát. 6-8 mm. 58. *L. orientalis*

Lispe orientalis Wiedemann, 1824: Analecta Ent.: 51.

Phân bố: Gia lai, Kon Tum, Đắc Lắc, Lâm Đồng (T. H. Thịnh, 1983, 1988, 1989), Sơn La, Yên Bái, Vĩnh Phúc, Hòa Bình, Bắc Ninh, Quảng Ninh, Hà Tây, Hà Nội, Ninh Bình, Thái Bình, Thanh Hóa (bổ sung).

6(5) Chân chủ yếu màu vàng.

7(8) Có 1 lông dc trước rãnh lưng. Các sọc dọc màu nâu xám trên lưng ngực thấy rõ ràng, sọc chính giữa kéo tới ngọn Scutellum. Bụng màu nâu đen, các tergite thứ 3 - thứ 5 có các cặp vết màu xám trắng hình tam giác, hình trứng hoặc hình bán nguyệt. 5-6 mm. 59. *L. leucospila*

Lispe leucospila (Wiedemann, 1830): Auss. Zwei. Ins., 2:441 (*Coenosia*).

Phân bố: Gia Lai, Kon Tum, Đắc Lắc, Lâm Đồng (T. H. Thịnh, 1983, 1988, 1989), Sơn La, Hòa Bình, Thái Nguyên, Hải Phòng, Hà Nội, Hà Tây, Hà Nam, Thái Bình, Ninh Bình, Nghệ An, Bình Phước (bổ sung).

8(7) Có 2 lông dc trước rãnh lưng. Các sọc dọc trên lưng thấy không rõ, sọc chính giữa không đạt tới Scutellum. Bụng phủ phấn màu xám, các tergite thứ 3 - thứ 5 có các cặp vết màu nâu xám gần như tam giác và không rõ lắm. 5-6 mm. 60. *L. pygmaea*

Lispe pygmaea Fallen, 1825: Muscid.: 94.

Phân bố: Gia Lai (T. H. Thịnh, 1988, 1989).

TỘC COENISIINI

2. GIỐNG PECTINISETA STEIN, 1919

1(1) Xúc biện không có hình cái thìa. Vị trí của 3 lông ở Sternopleura không tạo thành hình tam giác đều. Anten nhỏ, ngắn màu vàng. Arista có lông ngắn. Đốt đùi chân trước có 1 hàng lông v.

Pectiniseta pectinata (Stein, 1900): Termesztet. Fiiz., 23: 147 (*Coenosia*).

Pectiniseta sp. (T. H. Thịnh, 1988, 1989).

Phân bố: Gia Lai, Đắc Lắc, Lâm Đồng T. H. Thịnh, 1988, 1989).

TỘC LIMNOPHORINI

KHÓA ĐỊNH LOẠI TỚI GIỐNG

1(2) Sternopleura chỉ có 2 lông cứng phía sau. Hypopleura có lông. Đốt ống chân sau có lông ad ở ngọn đốt. Ngọn gân M_1+2 cong. Vây cánh dạng tròn. Cơ thể màu nâu xám, phủ phấn xám vàng. Lưng ngực có sọc dọc. *Graphomyia*

2(1) Sternopleura có đủ 3 lông cứng. Hypopleura không có lông. Nút R_5 có lông. Gân R_1 không có lông. Đốt ống chân sau không có lông ad ở ngọn hoặc có nhưng rất nhỏ. Gân M_1+2 thẳng. Vây cánh hình lưỡi. Cơ thể màu nâu đen phủ phần xám trắng, lưng ngực không có sọc dọc. *Limnophora*

3. GIỐNG *GRAPHOMYIA* ROBINEAU - DESVOIDY, 1830

1(2) Trán bên phủ phần xám và dày đặc lông. Chân toàn bộ màu nâu đen. 8-10 mm. . . . 62. *G. maculata*
Graphomyia maculata (Scopoli, 1763): Ent. Carn.: 326 (*Musca*).

Phân bố: Gia Lai, Kon Tum, Đắc Lắc, Lâm Đồng (T. H. Thịnh, 1983, 1988, 1989), Sơn La, Hòa Bình, Vĩnh Phúc, Quảng Ninh, Hà Nội, Hà Tây, Hà Nam, Thái Bình, Ninh Bình, Hải Dương, Nghệ An, Đồng Nai (bổ sung).

2(1) Trán bên phủ phần nhạt và không có lông như trên. Chân màu vàng trừ bàn chân màu nâu. 8-10 mm. 63. *G. vittata*

Graphomyia vittata Stein, 1909: Tijdschr. Ent., 52: 206.

Graphomyia sp. (T. H. Thịnh, 1988, 1989).

Phân bố: Gia Lai, Đắc Lắc (T. H. Thịnh, 1988, 1989).

4. GIỐNG *LIMNOPHORA* ROBINEAU-DESVOIDY, 1830

1(4) Lưng ngực có dải băng phần trắng ở vùng trước rãnh lưng và trước Scutellum.

2(3) Trán con đực rộng, rộng gấp 3,5 lần chiều rộng đốt anten thứ 3. Dải băng màu trắng trước Scutellum hẹp, chỉ đạt tới cặp lông dc sau cùng. 3-4 mm. 64. *L. exigua*

Limnophora exigua (Wiedemann, 1830): Auss. Zwei. Ins., 2: 658 (*Anthomyia*).

Phân bố: Gia Lai, Lâm Đồng, Hòa Bình, Hà Tây, Hà Nội (ghi nhận mới).

3(2) Trán con đực hẹp, mắt kép sát nhau. 4-6 mm. 65. *L. conica*

Limnophora conica Stein, 1915: Suppl. Ent., 4: 30.

Phân bố: Gia Lai, Đắc Lắc, Lâm Đồng (T. H. Thịnh, 1988, 1989).

4(1) Lưng ngực có vết phần trắng hẹp trước rãnh lưng và vết phần trắng ở vai. Trán con đực rộng bằng 1/3 đầu. 3-4 mm. 66. *L. nigripes*

Limnophora nigripes (Robineau - Desvoidy, 1830); Essai. Myod.: 541 (*Limosia*).

Phân bố: Gia Lai, Đắc Lắc, Lâm Đồng (T. H. Thịnh, 1988, 1989), Hòa Bình, Thái Nguyên, Vĩnh Phúc, Bắc Ninh, Hà Nội, Hà Tây, Thái Bình, Thanh Hóa, Nghệ An, Bình Phước (bổ sung).

IV. PHÂN HỌ MYDAEINAE

1. GIỐNG *MYOSPILA* RONDANI, 1856

1(4) Prosternum không có lông. Gân R_4+5 không có lông cả mặt trên và mặt dưới, tuy nhiên nút R_5 có lông ở cả hai mặt.

2(3) Có 4 lông dc sau rãnh lưng. Chân toàn bộ màu nâu. 5-8 mm. 67. *M. argentata*

Myospila argentata (Walker, 1856): J. Proc. Linn. Soc. Lond., 1: 27 (*Aricla*).

Phân bố: Gia Lai (ghi nhận mới).

3(2) Có 3 lông dc sau rãnh lưng. Đốt đùi màu xám, đốt ống và bàn chân màu nâu. 5-7 mm.

. 68. *M. lenticeps*

Myospila lenticeps (Thomson, 1869): Eugen. Resa.: 553 (*Anthomyia*).

Phân bố: Gia Lai (ghi nhận mới).

- 4(1) Prosternum có lông. Gân R_4+5 ít nhiều có lông ở cả hai mặt. Xúc biện màu vàng. 6-8 mm . . . 69. *M. bina* *Myospila bina* (Wiedemann, 1830): Auss. Zwei. Ins., 2: 426 (*Anthomyia*).

Phân bố: Gia Lai (ghi nhận mới).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Emden F., 1965: Fauna of India - Diptera, Muscidae, 7 (1): 647 tr.
2. Fan Z., 1965: Key to the common flies of China. Sci. Press., Beijing, 53-149.
3. Fan Z., 1992: Key to the common flies of China. Second edit., Sci. Press. Beijing, 210-690.
4. Henning W., 1959-1964: Die Fliegen der palacartischen region, 63b: Muscidae. Stuttgart, 103-1063.
5. Kano R., 1964: Nature and life in Southeast Asia, 3: 435-437.
6. Kurahashi H., 1989: New Entomol., 38 (1+2): 2-13.
7. Shinonaga S., M. Singh, 1994: Jap. J. Sanit. Zool., 45: 99-177.
8. Tạ Huy Thịnh, 1983: Tạp chí Sinh học, 5 (3): 31-32.
9. Tạ Huy Thịnh, 1983: Thông báo khoa học, Viện KHVN: 60-63, Hà Nội.
10. Tạ Huy Thịnh, 1988: Tạp chí Sinh học, 10 (3+4): 10-16.
11. Tạ Huy Thịnh, 1989: Ruồi gần người ở Tây Nguyên. Luận án PTS Sinh học, Sôphía, 273 tr.
12. Tsurasvin W., S. Shinogaga, 1978: Bull. Tokyo, Med. Dent. Univ., 25 (4): 201-227.
13. Tsurasvin W., S. Shinonaga, 1982: Jap. J. Sanit. Zool., 33 (3): 181-199.
14. Trịnh Văn Thịnh, Nguyễn Văn Quang, 1964: Tạp chí Khoa học và Kỹ thuật Nông nghiệp, 3: 143-151, và 5: 266-270.
15. Trịnh Văn Thịnh, 1966: Một số ký sinh trùng của gia súc ở Việt Nam: 116-125, NXB Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội.
16. Viện Bảo vệ thực vật, 1969: Kết quả điều tra côn trùng 1967-1968, NXB Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội, 329 tr.
17. Zumpt P., 1973: The Stomoxyline biting flies of the World-Dipteral Muscidae, Stuttgart, 175 tr.

LIST AND TAXONOMIC KEYS OF THE MUSCID FLY SPECIES (DIPTERA: MUSCIDAE) IN VIETNAM

Part 2: SUBFAMILIES STOMOXYINAE, PHAONINAE, COENOSIINAE AND MYDAEINAE

TA HUY THINH

SUMMARY

The list and taxonomic keys to 37 fly species belonging to four subfamilies of Muscidae are given, of which 11 species are newly recorded in Vietnam: *Stomoxys siliens* Rondani, 1873; *Stomoxys pulla* Austen, 1909; *Haematostoma austeni* Malloch, 1932; *Brontaea distincta* (Stein, 1900); *Brontaea nigrogrisea* (Karl, 1939); *Pectiniseta pectinata* (Stein, 1900); *Graphomyia vittata* Stein, 1909; *Limnophora exigua* (Wiedemann, 1830); *Myospila argentata* (Walker, 1856); *Myospila lenticeps* (Thomson, 1869) and *Myospila bina* (Wiedemann, 1830).

Ngày nhận bài: 6-8-1998

PHÁT HIỆN CHI ABELIA R. BR. (CAPRIFOLIACEAE) CÓ Ở VIỆT NAM

VŨ XUÂN PHƯƠNG, NGUYỄN HỮU HIẾN, NGUYỄN THỊ ĐO

Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật

Gần đây, nhờ có những tài liệu mới, chúng tôi đã phát hiện chi *Abelia* R. Br. (họ *Caprifoliaceae*) có ở Việt Nam với 1 loài là: *Abelia chinensis* R. Br. Mẫu vật của loài này được thu thập ở vùng núi đá vôi huyện Đồng Văn, Tỉnh Hà Giang vào tháng 8 năm 1997. Sau này, còn thu thập được mẫu vật của loài này ở tỉnh Cao Bằng. Dưới đây là các đặc điểm nhận biết của chi *Abelia* và của loài *A. chinensis* R. Br.

ABELIA R. BR. - LỤC ĐẠO MỘC

R. Br. in Abel. 1818. Narr. Journ. China App. B. 376.

Cây bụi thường xanh hay rụng lá, có chồi đông nhỏ hình tròn - trứng, có nhiều vảy. Lá mọc đối đôi khi mọc thành vòng 3, không có lá kèm. Hoa đơn độc ở nách lá hay tập hợp thành cụm hoa chùm, tán hay ngù ở đỉnh cành; có 2-4 lá bắc. Hoa đực hay có cấu tạo 2 môi; dài có 2, 4 hay 5 thùy phẳng, thuôn hay hình thìa, có 1, 3 hay 5 gân trên mỗi thùy, tồn tại cùng quả; tràng hợp, ống tràng hình phễu hay hình chuông, thẳng hay hơi cong, gốc tràng đôi khi phình to thành dạng túi nông, có 4-5 thùy; nhị 4 dài bằng nhau hay 2 dài 2 ngắn, nhị thật hay thò khỏi tràng; bao phấn 2 ô, đỉnh lưng nội hướng; bầu hạ, 3 ô nhưng chỉ 1 ô với 1 noãn phát triển, vòi nhụy mảnh, đầu nhụy hình đĩa hay hình tròn. Quả thuôn hay hình trụ, mang dài tồn tại. Hạt gần hình trụ; vỏ mỏng; nội nhũ nạc; phôi hình trụ ngắn.

Typus: *A. chinensis* R. Br.

Chi này có khoảng 30 loài, phân bố chủ yếu từ Himalaya đến miền Trung và Đông châu Á như: Ấn Độ, Trung Quốc, Triều Tiên, Nhật Bản và một số nước vùng Trung Á; ở Trung Mỹ (Mé hi cô) có 3-4 loài. Mới gặp một số loài ở Việt Nam.

Abelia chinensis R. Br. in Abel. 1818. Narr. Journ. China App. B. 376; Turrit, 1951. Bot. Mag. t. 168; Auct. 1975. Icon. Corm. Sin. 4: 303; J. Q. Hu, 1988,

Fl. Reip. Pop. Sin. 72: 117; X. W. Li, 1991. Fl. Yunn. 5: 443.

- *A. hanceana* Mart. ex Hance, 1866. Ann. Sci. Nat. Bot. 5(5): 216.

- *A. ionandra* Hayata, 1918, Icon. Pl. Formos. 7: 31.

- *Linnaea chinensis* (R. Br.) A. Braun et Vatke, 1872. Bot. Zeitschr. 22: 219.

Lục đạo mộc Trung Quốc

Cây bụi rụng lá, cao 1 - 2 m, phân cành nhiều; cành non mảnh, màu nâu đỏ, có lông tơ ngắn; cành già thường nứt dọc. Lá mọc đối, đôi khi mọc thành vòng 3, hình trứng rộng hay trứng thuôn, kích thước 2 - 5 cm × 1 - 3,5 cm; chóp lá nhọn ngắn hay thuôn dần; gốc tròn hay hình tim; mặt trên thường nhẵn; mặt dưới có tuyến và có lông rải rác màu trắng trên gân; gân bên 3 - 4 đôi; cuống lá dài 4 - 10 mm. Cụm hoa dạng ngù hay tán ở đỉnh cành nhỏ; lá bắc nhỏ hình ngọn giáo hay thuôn có lông ở mép. Hoa thơm. Đài có 5 thùy thuôn hay trứng ngược, dài 5 - 6 mm, thời kỳ quả màu đỏ. Tràng màu trắng hay đỏ, có ống hình phễu dài 10 - 12 mm, có lông tơ ở phía ngoài, 5 thùy tràng hình trứng rộng. Nhị 4, thò khỏi ống tràng, chỉ nhị dính ở ống tràng; bao phấn 2 ô, đỉnh lưng. Bầu hạ, hình trụ, có lông tơ ngắn, 3 ô nhưng chỉ 1 ô với 1 noãn phát triển, vòi nhụy ngắn hơn nhị, đầu nhụy dạng đĩa tròn. Quả hình trụ hơi phình ở giữa, dài 7 - 10 mm, có 6 gờ dọc, mang dài đồng trường ở đỉnh (xem hình vẽ).

Loc. class.: "China".

Sinh học và sinh thái: Ra hoa tháng 7 - 9, có quả tháng 10-12. Cây gặp ở vùng núi đá vôi ở độ cao 200 - 1500 m.

Phân bố: Hà Giang (Đồng Văn, Phó Bảng), Cao Bằng. Còn có ở Trung Quốc.



Abelia chinensis R. Br.

1. cành mang hoa; 2. hoa; 3. quả. (Theo mẫu V. X. Phương 283)

Mẫu nghiên cứu: Hà Giang, Vũ Xuân Phương 283 (HN); Cao Bằng CLB 374 (HN).

Công dụng: Có hoa đẹp, thời gian ra hoa kéo dài, chịu hạn tốt, nên ở Trung Quốc, được trồng làm cảnh ở các công viên, đình chùa, vườn thực vật.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Auct., 1975: Iconographia Cormophytorum Sinicorum, 4: 303. Pekin.

2. Brandis D., 1972: Forest Flora of

North-West and Central India: 257. Kew.

3. Collett H., 1971: Flora Simlensis, 222-223, London.

4. Hooker J. D., 1880: Flora British India, 3: 9. London.

5. Hu J. Q., 1988: Flora Reipublicae Popularis Sinicae, 72: 116-128. Pekin.

6. Lo H. L., 1963: Woody Flora of Tawan, 883-885. Pennsylvania.

7. Li X. W., 1991: Flora Yunnanica, 5: 443-445.

PRESENCE OF GENUS *ABELIA* R. Br. (CAPRIFOLIACEAE) IN VIETNAM

VU XUAN PHUONG *et al.*

SUMMARY

The genus *Abelia* R. Br. (Caprifoliaceae) is present in Vietnam with one species: *A. chinensis* R. Br. which was collected in Ha Giang and Cao Bang provinces).

Ngày nhận bài: 28-10-1998

SỰ PHÁT TRIỂN BUỒNG TRỨNG CỦA LOÀI BÀO NGƯ VÀNH TAI (*HALIOTIS ASININA* L. 1758) Ở VỊNH NHA TRANG, TỈNH KHÁNH HÒA

LÊ ĐỨC MINH

Viện Hải dương học Nha Trang

Ở vịnh Nha Trang thuộc tỉnh Khánh Hòa, Bào ngư vành tai *Haliotis asinina* L. phân bố tại vùng biển của các đảo Hòn Tre, Hòn Mun, Hòn Ngoại, Hòn Nội, v.v. [2]. Hiện nay, việc xuất khẩu tăng cao, vì vậy nguồn lợi Bào ngư vành tai giảm sút đáng kể và có nguy cơ bị kiệt chủng.

Để có cơ sở khoa học cho việc bảo vệ duy trì và phát triển nguồn lợi tự nhiên, cũng như tiến hành sinh sản nhân tạo loài Bào ngư vành tai ở vịnh Nha Trang, chúng tôi bước đầu tìm hiểu quá trình thành thực sinh dục của buồng trứng và chu kỳ sinh sản của loài này.

I. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Mẫu Bào ngư vành tai tươi được thu thập hàng tháng tại một số đảo thuộc vịnh Nha Trang. Thời gian thu mẫu từ tháng 4/1997 đến tháng 10/1998. Tổng số mẫu nghiên cứu là 357 cá thể.

Dựa theo Capinpin J., 1998 [1], Tomita 1967-1968 [3, 4], Lee, 1983 [5], Bussarawit, 1990 [6] và Singhagraiwan, 1998 [7], có 4 giai đoạn phát triển buồng trứng của Bào ngư vành tai.

Để làm tiêu bản tổ chức học, mẫu buồng trứng sau khi thu được cố định tại chỗ bằng formol 10%. Sau đó, buồng trứng được khử nước, đúc parafin và cắt lát bằng máy cắt vi phẫu (độ dày lát cắt 4 - 6 mm). Lát cắt được nhuộm màu bằng hematoxylin - fucsin và được chụp ảnh qua kính hiển vi có độ phóng đại từ 100 đến 400 lần.

Thống kê các giai đoạn phát triển của buồng trứng từ tháng 4/1997 đến

tháng 10/1998.

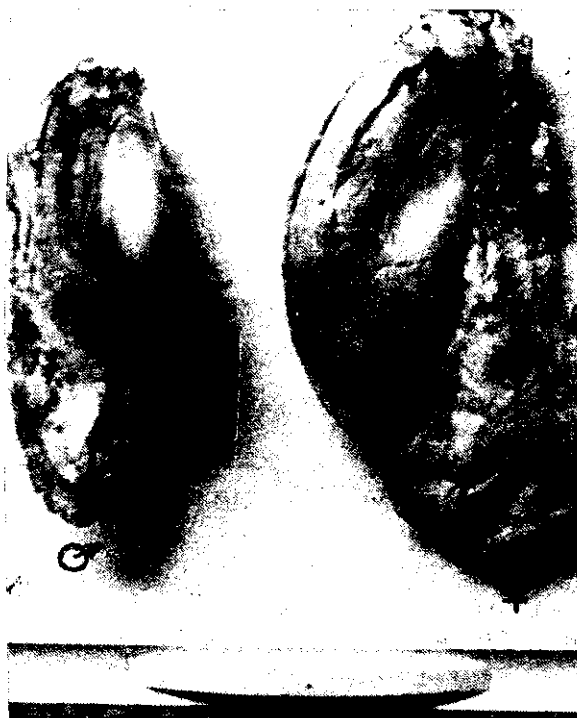
II. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

1. Sự phát triển của buồng trứng:

Buồng trứng của Bào ngư vành tai khác với buồng trứng của các loài Bào ngư khác là, khi chín, có hình dạng như chiếc "sừng trâu" cong, ôm lấy 2/3 cơ khếp vỏ và có màu xanh đậm của lá cây (ảnh 1).

Các giai đoạn phát triển của buồng trứng Bào ngư vành tai:

- Giai đoạn 1: buồng trứng chưa phát triển. Noãn bào còn nhỏ, có dạng tròn, nhân lớn, rõ và

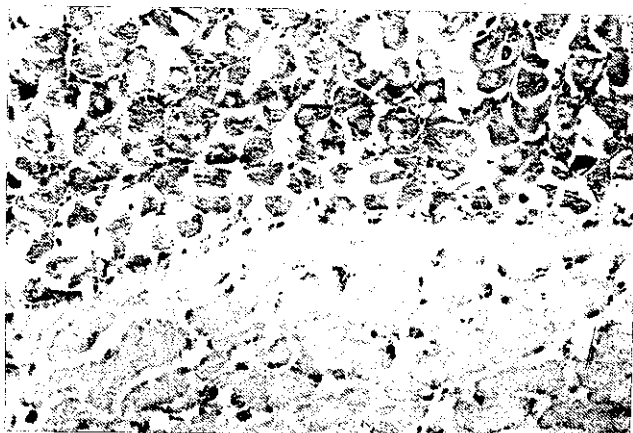


Ảnh 1. Buồng trứng của loài Bào ngư vành tai

có phản ứng với thuốc nhuộm kiềm. Kích thước đo được dao động từ 3 - 4 μm đến dưới 100 μm . Hình dạng bên ngoài của buồng trứng nhỏ, lép và có màu xanh lá cây nhạt (ảnh 2).

- Giai đoạn 2: Buồng trứng đang phát triển. Noãn bào bắt đầu có cuống nhân lớn, rõ và bắt màu đậm hơn so với tế bào chất. Kích thước noãn bào dao động 100 - 140 μm . Hình dạng bên ngoài lớn, có màu xanh đậm hơn và có thể phân biệt được đực, cái (ảnh 3).

- Giai đoạn 3: Buồng trứng chín và thành thực. Hình dạng bên ngoài lớn mập, sê, ôm lấy 2/3 cơ khép vỏ và có màu xanh đậm. Trứng tròn, có màng keo bao quanh, nhân lệch về một phía và không nhìn thấy trước khi đẻ. Noãn hoàng chứa đầy trong noãn bào. Kích thước noãn bào trên 200 μm (ảnh 4).



Ảnh 3. Buồng trứng của Bào ngư vành tai ở giai đoạn 2



Ảnh 4. Buồng trứng của Bào ngư vành tai ở giai đoạn 3



Ảnh 2. Buồng trứng của Bào ngư vành tai ở giai đoạn 1

- Giai đoạn 4: Giai đoạn đẻ xong. Bằng mắt thường, có thể quan sát được buồng trứng mềm, xẹp và nhão. Qua lát cắt, có thể thấy các noãn bào rỗng, một số noãn bào non ở thành ngoài của buồng trứng, một số trứng gần chín còn sót lại. Các hiện tượng này chứng tỏ Bào ngư vành tai đẻ phân đợt.

Trong quá trình phân tích mẫu, chúng tôi gặp ít giai đoạn này. Theo Capinpin J., 1998, quá trình phục hồi noãn bào xảy ra rất nhanh trong quá trình phát triển buồng trứng của Bào ngư vành tai.

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi phản ánh tính quy luật về sự phát triển buồng trứng của bào ngư nói chung và Bào ngư vành tai nói riêng, ở vịnh Nha Trang [8, 9].

2. Chu kỳ sinh sản:

Kết quả thống kê tỉ lệ phần trăm các giai đoạn phát triển của buồng trứng, theo các tháng trong năm, của 347 mẫu vật Bào ngư vành tai ở vịnh Nha Trang cho thấy, từ tháng 4/1997 đến tháng 10/1998, đều bắt gặp cá thể có buồng trứng chính (giai đoạn 3

thành thực sinh dục). Điều này nói lên Bào ngư vành tai ở vịnh Nha Trang có chu kỳ sinh sản kéo dài quanh năm. Tuy nhiên, tỉ lệ phần trăm bào ngư cái có buồng trứng giai đoạn 3 cao ở các tháng 1 (42,11%), tháng 2 (25%), tháng 4 (28,57%) và tháng 9 (50%), tháng 10 (24,14%) (bảng 1).

Bảng 1

Tỉ lệ phần trăm các giai đoạn phát triển của buồng trứng theo tháng của loài Bào ngư vành tai *Haliotis asinina* ở vịnh Nha Trang

Tháng	Giai đoạn phát triển buồng trứng (%)		
	1	2	3
4/97	4,35(1) 4,35(1)	17,39(4)	26,09(6) 47,82(11)
6/97	5,00(1) 15,00	10,00(2) 35,00(7)	20,00(4) 15,00(3)
7/97	5,26(1) 26,32(5)	5,26(1) 15,79(3)	31,58(6) 15,79(3)
9/97	10,53(2) 5,26(1)	15,79(3) 10,53(2)	36,84(7) 21,05(4)
12/97	58,82(10)	5,88(1) 5,88(1)	23,53(4) 5,88(1)
1/98	21,05(4)	5,26(1)	31,58(6) 42,11(8)
2/98	5,00(1)	10,00(2)	60,00(12) 25,00(5)
3/98	9,68(3) 12,90(4)	6,45(2) 19,35(6)	25,81(8) 25,81(8)
4/98	7,14(1)	21,43(3)	42,86(6) 28,57(4)
5/98	16,13 (5) 3,22(1)	19,35(6) 32,26(10)	9,68 (3) 19,35(6)
7/98	6,25(1)	12,50(2) 12,50(2)	50,00(8) 18,75(3)
8/98	2,78(1) 2,78(1)	47,22(17) 36,11(13)	11,11(4)
9/98	3,57(1)	17,86(5)	28,57(8) 50,00(14)
10/98	6,89(2) 3,45(1)	17,24(5) 24,14(7)	24,14(7) 24,14(7)

Chú thích: số trong ngoặc là số mẫu nghiên cứu.

Như vậy, sơ bộ có thể nhận xét rằng Bào ngư vành tai sinh sản quanh năm, nhưng đề rõ vào 2 thời kỳ: các tháng 1, 2, 4 và các tháng 9, 10. Nhận xét của chúng tôi về chu kỳ sinh sản Bào ngư vành tai ở vịnh Nha Trang cũng tương tự với kết quả nghiên cứu ở Thái Lan và Philippin.

Theo các tác giả trên, Bào ngư vành tai phân bố tương đối rộng, từ vùng cận nhiệt đới cho đến vùng nhiệt đới và có buồng trứng chín quanh năm, trừ một số tháng mùa hè, khi nhiệt độ nước biển tương đối cao.

Nói chung nhiệt độ nước là yếu tố quan trọng nhất ảnh hưởng tới chu kỳ sinh sản của các loài thân mềm [10]. Sự thay đổi nhiệt độ nước trong năm góp phần vào quá trình thành thực buồng trứng của các loài Bào ngư [11]. Tuy nhiên, chu kỳ sinh sản các loài Bào ngư ở các vùng biển trên thế giới thay đổi tùy theo loài, theo năm và theo vùng phân bố [12].

III. KẾT LUẬN

1. Quá trình phát triển buồng trứng của Bào ngư vành tai ở vịnh Nha Trang trải qua 4 giai đoạn:

- Giai đoạn 1: buồng trứng chưa phát triển.
- Giai đoạn 2: buồng trứng phát triển.
- Giai đoạn 3: buồng trứng chín và thành thực.
- Giai đoạn 4: giai đoạn đẻ xong.

2. Chu kỳ sinh sản của Bào ngư vành tai ở vịnh Nha Trang kéo dài quanh năm, nhưng chỉ đề rõ vào các tháng 1, 2, 4 và 9, 10.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Capinpon J. E. C., 1998: Aquaculture, 166: 141-150.
2. Sách đỏ Việt Nam, Phần động vật, 1992: NXB Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội.
3. Tomika K., 1967: The maturation of ovaries of the abalone *Haliotis discus hannai* Ino, in Rebur island, Hokkaido Japan, Hokkaido Fish. Exp. Stn. No. 7: 1-7.
4. Tomita K., 1968: The testis inaturation of ovaries of the abalone *Haliotis discus hannai* Ino, in Rebur insland, Hokkaido Japan, Hokkaido Fish. Exp. Stn. No. 8: 56-59.
5. Byung Don Lee, 1983: Publ. Mar. Lab. Busan Fish. Colt., 6: 39-52.
6. Burassawit S., 1990: Kasetsart J. Coll., 6: 39-52.
7. Singhagraiwan T., 1993: Seed production and culture of a tropical abalone, *Haliotis asinina* Linné. The Research Project of Fishery Resource Development in the Kingdom of Thailand.
8. Nguyễn Văn Chung và cs., 1996: Nghiên cứu sinh học sinh sản loài Bào ngư *Haliotis ovina* Gmelin. Báo cáo tổng kết đề tài Viện Hải dương học.
9. Nguyễn Văn Chung và cs., 1996: Nghiên cứu sinh học sinh sản và nuôi Bào ngư *Haliotis* spp. Báo cáo tổng kết đề tài. Viện Hải dương học.
10. Newman G. G., 1967: *Haliotis midae*. Invest. Rep. Div. Sea Fish. S. Aft., 64: 1-24.
11. Hahn K. O., 1994: Aquaculture, 122: 227-236.
12. Shepherd S. A., 1974: Aust. J. Mar. Freshw. Res., 25 (1): 49-62.
13. Tùng Lý Châu và cs., 1995: Nuôi trồng động vật nhuyễn thể biển. NXB Nông nghiệp Trung Quốc.

THE DEVELOPMENT OF EAR ABALONES OVARIES (*HALIOTIS ASININA*) IN NHA TRANG BAY (KHANH HOA PROVINCE)

LE DUC MINH

SUMMARY

By the histological method, based on the analysis of the morphological-structural characteristics of sexued cells in ovaries, the author proposed to divide the ovaries of the ear abalones (*Haliotis asinina* L.) into 4 stages. He also determined that the reproduction cycle is generally occurred throughout the year but mostly in january, february, april and september, october.

Ngày nhận bài: 24-4-1999

ỨNG DỤNG KỸ THUẬT PHÂN TÍCH HIỆN TƯỢNG ĐA HÌNH CÁC PHÂN ĐOẠN ADN ĐƯỢC NHÂN BẢN NGẪU NHIÊN (RAPD) VÀO VIỆC ĐÁNH GIÁ BỘ GIEN CỦA CÁC DÒNG ĐẬU XANH ĐỘT BIẾN

CHU HOÀNG MẬU, NÔNG THỊ MAN

Trường đại học Sư phạm - Đại học Thái Nguyên

LÊ XUÂN ĐẮC, ĐINH THỊ PHÒNG, LÊ TRẦN BÌNH

Viện Công nghệ sinh học

Hiện nay, các kỹ thuật sinh học phân tử như RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism), AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism) và RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA)... đang được ứng dụng vào việc nghiên cứu tính đa dạng sinh học trên nhiều đối tượng cây trồng khác nhau, với mục đích đánh giá bộ gen của chúng [1, 2, 4, 5, 7, 11, 12, 13, 14]. Công bố này đề cập đến kết quả tách chiết ADN ở cây đậu xanh *Vigna radiata* (L.) Wilczek (Fabaceae) và ứng dụng kỹ thuật RAPD vào việc đánh giá sự thay đổi ở mức phân tử của các dòng đột biến chọn tạo từ các giống đậu xanh địa phương.

I. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Các dòng đột biến MU21, M1103 tạo ra từ giống đậu xanh mỡ chó Đồn (Bắc Cạn) và các dòng đột biến TU21, T16012 từ giống đậu xanh mốc tiêu Bảo Lạc (Cao Bằng) được sử dụng làm nguyên liệu nghiên cứu.

Mỗi dòng đột biến và đối chứng đều chọn 500 hạt chắc mẩy và có khả năng nảy mầm. Cho hạt nảy mầm, thu lấy mầm để sử dụng tách ADN.

Tách chiết ADN tổng số dựa theo phương pháp của Foolad và cộng sự [3] có cải tiến.

Hóa chất sử dụng tách ADN bao gồm: Tris-base 1 M, pH 8,0; BME 14 M; NaCl 5 M; SDS 5%; EDTA 0,5 M, pH 8,0; Chloroform : Isoamyl alcohol (24 : 1); STAB; Isopropanol; Ethanol; TE (10 mM Tris base + 1 mM EDTA).

Xác định hàm lượng ADN trên máy quang phổ

model 825-2A của hãng Hewlett Packard. Kiểm tra chất lượng ADN thu được thông qua điện di trên gel agarose 0,8%.

Theo phương pháp phân tích tính đa dạng ADN được nhân bản ngẫu nhiên (RAPD) [3] đã sử dụng 10 đoạn mồi ngẫu nhiên được tổng hợp tại Viện Công nghệ sinh học có ký hiệu là: Ra 31, RA32, RA 36, RA40, RA45 RA46, RA50, 142, 143, 159. Các mồi ngẫu nhiên trên được tổng hợp nhờ máy Gene Assembler (Pharmacia) tại Viện Công nghệ Sinh học. Trình tự các mồi được thiết kế dựa trên tài liệu của Monna và cộng sự [9].

Phản ứng RAPD được thực hiện trong 25 μ l dung dịch chứa 1 bxbuffer PCR: 1,9 mM $MgCl_2$, 100 μ M 4 dNTP, 200 nM primer, 0,625 đơn vị Taq polymerase, 200n g ADN mẫu. Sau đó phản ứng nhân bản được tiến hành bằng máy PCR-Thermal Cycler PTC-100TM (MJ Research, Inc.).

Chu trình nhiệt của phản ứng RAPD là: 1 chu kỳ 94°C 1 phút; 45 chu kỳ với 92°C 1 phút, 35°C 1 phút, 72°C 2 phút; 1 chu kỳ 72°C 10 phút và lưu giữ ở 4°C.

Sản phẩm RAPD được kiểm tra bằng điện di trên gel agarose, 5% trong đệm TBE. Nhuộm gel bằng ethidium bromide 0,5 ng/ml trong 15 phút, rửa sạch, soi và chụp ảnh dưới ánh sáng đèn cực tím (Boi-Rad). Sự xuất hiện hay không xuất hiện của các phân đoạn ADN khi điện di sản phẩm RAPD của các dòng đột biến và đối chứng với các đoạn mồi ngẫu nhiên được tập hợp thành bảng để phân tích số liệu theo nguyên tắc: số 1 xuất hiện phân đoạn ADN, số 0: không xuất hiện

phân đoạn ADN. Các số liệu này được xử lý trên máy vi tính theo phương trình NTSYS pc version 2.0 (Applied Biostatistics Inc., USA, 1998), để lập ra biểu đồ so sánh sự khác nhau giữa các dòng đột biến với nhau và so với đối chứng ở mức phân tử.

II. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

1. Tách chiết ADN từ mầm hạt đậu xanh:

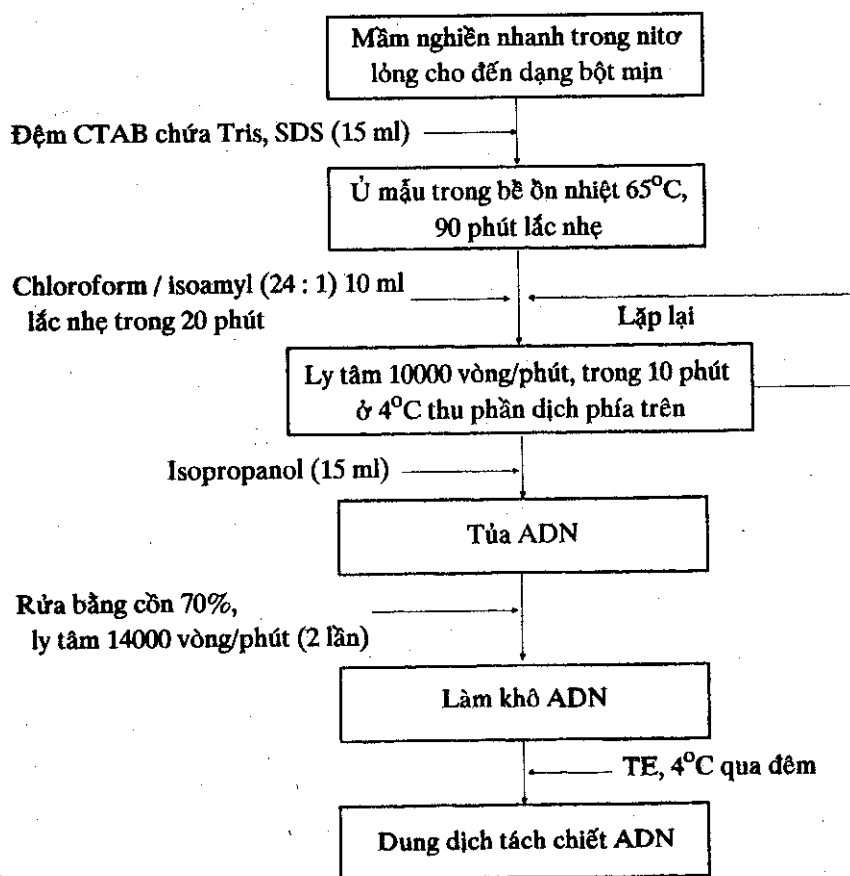
a. Tạo nguyên liệu để tách chiết ADN từ hạt đậu xanh:

Hạt đậu xanh được rửa sạch, khử trùng bằng cồn rồi cho nảy mầm trên đĩa petri, giữ ẩm bằng hai

lớp giấy lọc. Khi được 3 ngày tuổi, mầm dài 1 - 2 cm, thu lấy mầm để sử dụng tách chiết ADN [6]. Mầm được lưu giữ, bảo quản ở tủ lạnh sâu -80°C.

Các phương pháp tách chiết ADN đều tuân theo một quy trình công nghệ bao gồm các bước: (1) phá vỡ tế bào → (2) chiết rút ADN bằng các chất có hoạt tính bề mặt → (3) loại protein và các chất khác → (4) tủa ADN → (5) rửa cặn ADN → (6) hòa tan ADN.

Dựa theo phương pháp tách ADN tổng số của Foolad và cộng sự, quy trình tách chiết ADN từ mầm hạt đậu xanh được thực hiện theo sơ đồ hình 1.



Hình 1. Sơ đồ tóm tắt quy trình tách chiết ADN từ mầm hạt đậu xanh

Dung dịch chế phẩm ADN được bảo quản ở tủ lạnh sâu -20°C hoặc -80°C

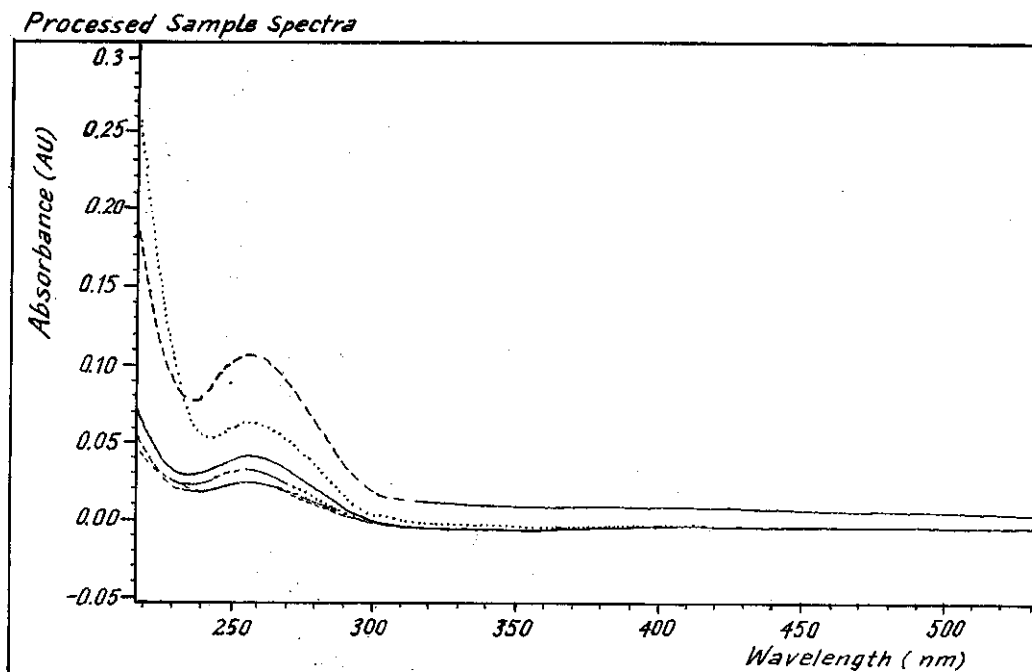
b. Xác định hàm lượng và độ sạch của ADN

Hàm lượng và độ sạch của ADN được tính theo các công thức:

Hàm lượng ADN = $50 \times \text{hệ số pha loãng} \times \text{OD}_{260}$ (ng/μl).

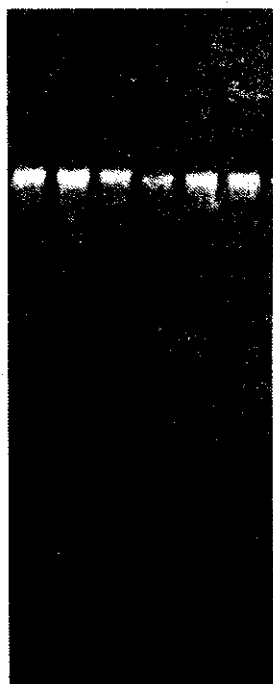
Độ sạch ADN = $\text{OD}_{260} / \text{OD}_{280}$ (Nếu tỉ số này đạt 1,8 - 2,0 thì mẫu ADN được coi là sạch).

Bảng quy trình tách chiết ADN đã trình bày ở trên (hình 1) đã xác định hàm lượng và kiểm tra chất lượng của ADN (hình 2 và hình 3).



Hình 2. Phổ hấp thụ ADN tách chiết từ mầm hạt đậu xanh

1 2 3 4 5 6



Thứ tự các mẫu
thí nghiệm:

1. Mỡ đối chứng;
2. MU2.1
3. M1103
4. Mốc tiêu đối
chứng
5. TU21

Hình 3. Hình ảnh điện di ADN tách chiết
từ mầm hạt đậu xanh

Các mẫu ADN được kiểm tra ở bước sóng 260/280 nm, có đỉnh cực đại ở bước sóng 260 nm (hình 2). Kết quả từ 2-3 mầm, chúng tôi thu được hàm lượng ADN từ 183-1186 (ng/ml). Dung dịch ADN còn được kiểm tra bằng điện di trên gel agarose (hình 3), kết quả cho thấy các phân tử ADN có phân tử lượng lớn, tập trung thành một băng chính gần giếng truyền mẫu. Qua kết quả này, chúng tôi thấy các mẫu ADN đều có chất lượng tốt đảm bảo cho những nghiên cứu tiếp theo.

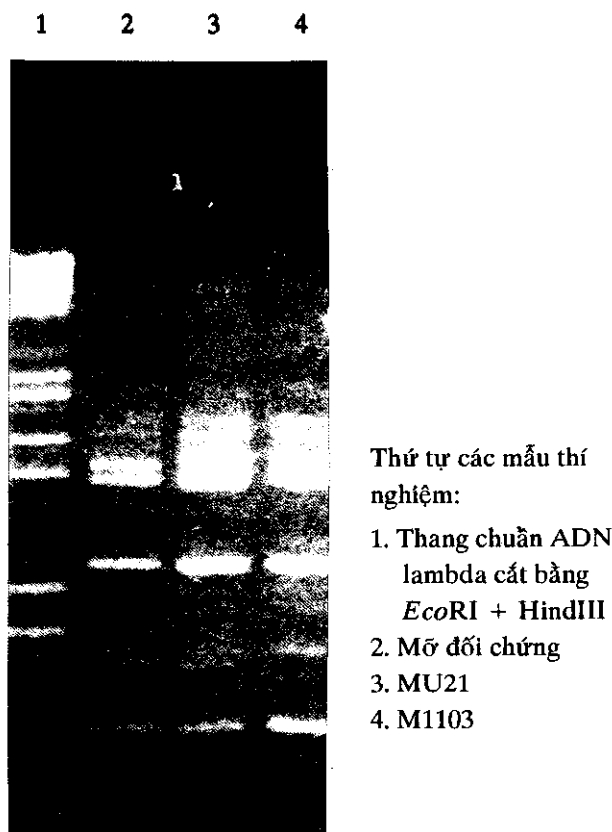
2. Đánh giá bộ gien (genom) của các dòng đột biến và đối chứng bằng kỹ thuật RAPD

10 đoạn mồi ngẫu nhiên có độ dài 10 nucleotit đã được sử dụng để phân tích mức độ thay đổi di truyền của các dòng đột biến. Kết quả nhận được cho thấy 3 trong số 10 đoạn mồi có biểu hiện tính đa hình, đó là các mồi RA36, RA45, và 142. Kết quả phân tích sản phẩm điện di phản ứng RAPD với 3 mồi trên được trình bày ở bảng 1 và bảng 2.

Bảng 1 thống kê các băng điện di sản phẩm phản ứng RAPD với 3 đoạn mồi RA36, RA45, 142 ở các dòng đột biến và đối chứng của giống

đậu xanh mỡ. Đối với mỗi RA36, có ít nhất 13 phân đoạn ADN được nhận bản với độ dài ước tính 0,6 - 7 kb (hình 4). Số phân đoạn ADN được nhận ở đối chứng và hai dòng đột biến MU21 M1103 dao động trong khoảng 8 - 12. Với mỗi RA45, có ít nhất 21 phân đoạn ADN được nhận bản trong khoảng độ dài ước tính từ 0,3 - 7 (hình 5). Đoạn mỗi 142 có số phân đoạn được nhận là ít nhất, dao động từ 2 đến 4 phân đoạn ở độ dài ước tính 2 - 3,5 kb. Cả ba mỗi có số phân đoạn ADN được nhận bản là 25 - 34. Điều này không những cho thấy tính đa dạng trong phân tử ADN mà còn cho thấy sự khác nhau của các dòng đột biến và giữa các dòng đột biến và đối chứng ở mức phân tử.

Phân tích sản phẩm RAPD của các dòng đột biến từ giống mốc tiêu và đối chứng với đoạn mỗi RA45 (hình 5), cho thấy giống đối chứng có các phân đoạn ADN được nhận bản ít hơn so với hai dòng đột biến TU21 và T16012, cho nên các băng điện di hiển thị mờ hơn. Hiện tượng này cho thấy sự khác nhau trong bộ gen của các dòng đột biến và giống đối chứng.



Hình 4. Hình ảnh điện di sản phẩm RAPD của các dòng đậu xanh mỡ đột biến và đối chứng với đoạn mỗi RA 36

Bảng 1

Thống kê các băng điện di sản phẩm phân tích tính đa dạng ADN được nhận bản ngẫu nhiên (RAPD) ở dòng đậu xanh mỡ đột biến và đối chứng

Mỗi	Ước lượng kích thước (kb)	Đoạn được nhận	Đối chứng	MU21	M1103
RA36	7,000	1	0	1	1
	3,000	2	1	1	1
	2,027	3	1	1	1
	1,904	4	0	1	1
	1,800	5	1	1	1
	1,500	6	1	1	1
	1,450	7	0	1	0
	1,400	8	1	1	1
	1,200	9	0	0	1
	1,100	10	0	1	1
	0,831	11	1	1	1
	0,700	12	1	1	0
	0,600	13	1	1	1

Mỗi	Ước lượng kích thước (kb)	Đoạn được nhân	Đối chứng	MU21	M1103
RA45	7,000	1	1	1	0
	4,360	2	1	1	0
	3,000	3	1	1	1
	2,800	4	1	1	0
	2,300	5	0	1	0
	2,027	6	1	1	1
	1,900	7	1	1	1
	1,800	8	1	0	1
	1,700	9	0	1	0
	1,600	10	1	1	0
	1,500	11	0	1	1
	1,400	12	1	1	1
	1,300	13	1	1	1
	1,200	14	1	1	1
	1,100	15	1	1	1
	1,000	16	1	0	1
	0,900	17	1	1	1
	0,800	18	0	1	0
	0,700	19	1	1	1
	0,600	20	1	1	1
	0,300	21	0	1	0
142	3,500	1	1	0	0
	3,000	2	1	1	1
	2,700	3	1	1	0
	2,700	3	1	1	0
	2,100	4	0	0	1
	2,020	5	1	1	0
Tổng số băng		39	28	34	25

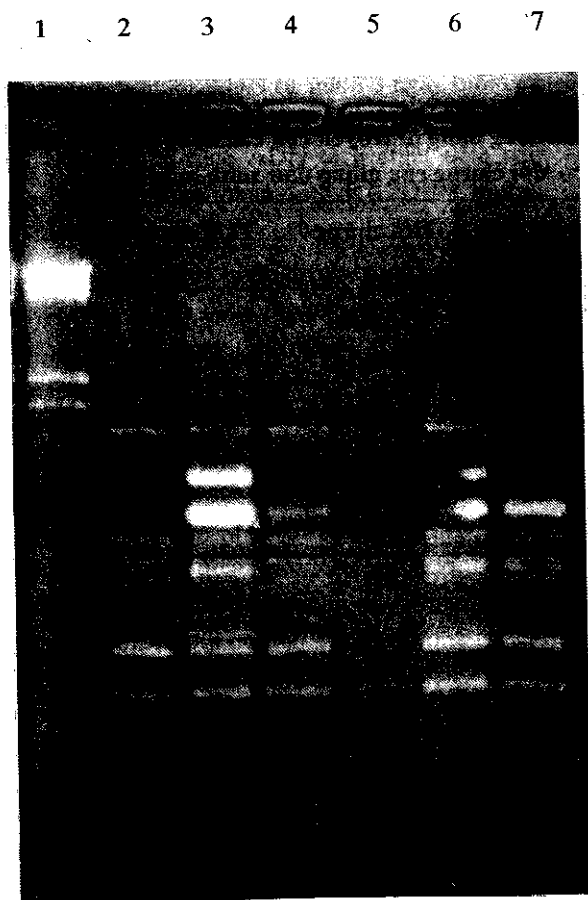
Bảng 2 thống kê các băng điện di sản phẩm RAPD với 3 đoạn mỗi RA45, RA36, 142 của đối chứng và 2 dòng đột biến TU21, T16012. Với đoạn mỗi RA45 (hình 5), các dòng đột biến và đối chứng có ít nhất 14 phân đoạn ADN được nhân bản ước tính kích thước từ 0,6 - 2,3 kb. Với đoạn mỗi RA36, bảng 2 cho thấy đối chứng và các dòng đột biến có ít nhất 13 phân đoạn ADN được nhân bản, ở độ dài ước tính từ 0,6 - 7 kb (hình 6). Dòng T16012 có các phân đoạn ADN

được nhân ở kích thước 7,0 kb; 3,0 kb, 2,02 kb, 1,4 kb, 1,1 kb, 0,98 kb, 0,7 kb, 0,6 kb mà đối chứng và dòng TU21 không có. Với đoạn mỗi 142, đối chứng không thấy xuất hiện phân đoạn ADN được nhân bản. Dòng đột biến TU21 có 6 phân đoạn ADN được nhân, còn dòng T16012 có 2 phân đoạn ADN được nhân bản. Tổng số phân đoạn ADN được nhân bản từ bộ gen của đối chứng và các dòng đột biến TU21, T16012 với 3 đoạn mỗi trên, dao động từ 11 - 23.

Bảng 2

Thống kê các băng điện di sản phẩm phân tích tính đa dạng ADN được nhân bản ngẫu nhiên (RAPD) ở dòng đậu xanh mốc tiêu diệt biến và đối chứng

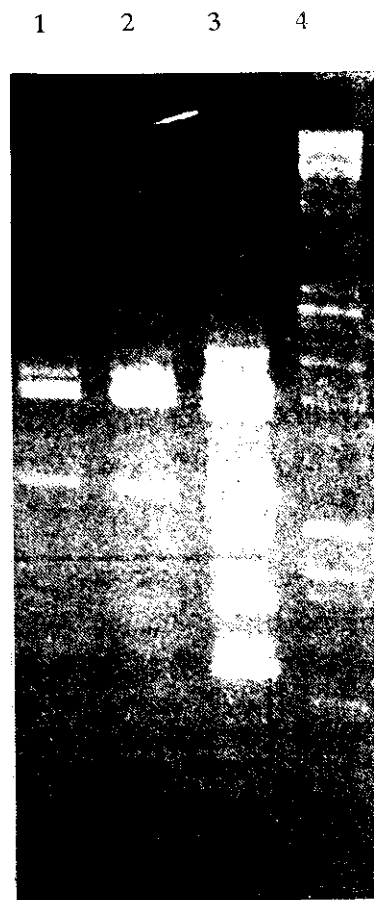
Mỗi	Ước lượng kích thước (kb)	Đoạn được nhân	Đối chứng	MU21	M1103
RA45	2,300	1	0	1	
	2,027	2	0	1	1
	1,900	3	1	1	1
	1,600	4	0	1	1
	1,500	5	1	1	1
	1,400	6	1	1	1
	1,300	7	0	1	1
	1,200	8	0	1	1
	1,100	9	1	1	1
	1,000	10	1	1	1
	0,900	11	0	1	0
	0,800	12	0	1	
	0,700	13	1	1	1
	0,600	14	1	1	1
RA 36	7,000	1	0	0	1
	3,000	2	0	0	1
	2,027	3	0	0	1
	1,800	4	1	1	1
	1,500	5	1	1	0
	1,450	6	1	1	0
	1,400	7	0	0	1
	1,200	8	1	1	1
	1,100	9	0	0	1
	0,983	10	0	0	1
	0,700	11	0	0	1
	0,600	12	0	0	1
142	3,500	1	0	1	0
	3,000	2	0	1	1
	2,100	3	0	1	0
	2,027	4	0	1	0
	1,400	5	0	1	1
	0,983	6	0	1	0
	Tổng số băng	32	11	24	23



Hình 5. Hình ảnh điện di sản phẩm RAPD của các dòng đậu xanh mỡ và mốc tiêu đột biến và đối chứng với đoạn mồi RA 45.

Thứ tự các mẫu thí nghiệm:

1. Thang chuẩn ADN lambda cắt bằng HindIII
2. Mỡ đối chứng, 3. MU21, 4. M1103
5. Tiêu đối chứng, 6. TU21, 7. T16012



Hình 6. Hình ảnh điện di sản phẩm RAPD của các dòng đậu xanh mốc tiêu đột biến và đối chứng với đoạn mồi RA 36

Thứ tự các mẫu thí nghiệm:

1. Tiêu đối chứng, 2. TU21, 3. T16021
4. Thang chuẩn ADN lambda cắt bằng EcoRI + HindIII

3. So sánh sự khác nhau giữa các dòng đột biến từ hai giống đậu xanh mỡ và mốc tiêu ở mức phân tử

Từ kết quả điện di sản phẩm RAPD và bảng thống kê sự xuất hiện các phân đoạn ADN ở bảng 1 và bảng 2, bằng chương trình phân tích NTSYS pc verison 2.0 trên máy vi tính chúng tôi đã nhận được kết quả về hệ số đồng dạng giữa các dòng đột biến và đối chứng của hai giống đậu xanh (bảng 3 và bảng 4).

Bảng 3

Hệ số đồng dạng di truyền của các dòng đột biến và đối chứng của giống đậu xanh mỡ

Dòng đột biến và đối chứng	Đối chứng	MU21	M1103
Đối chứng	1,000000		
MU21	0,7209302	1,0000000	
M1103	0,6511628	0,6046512	1,0000000

Bảng 3 trình bày hệ số giống nhau của từng cặp mẫu so sánh. Đối chứng và dòng MU21 khác nhau với hệ số là

0,28 (1,0-0,72); còn dòng M1103 khác với đối chứng là 0,35 (1-0,65) và khác với dòng MU21 là 0,40 (1-0,60) và chính vì vậy đối chứng và hai dòng đột biến được xếp thành 2 nhóm cây (hình 7).

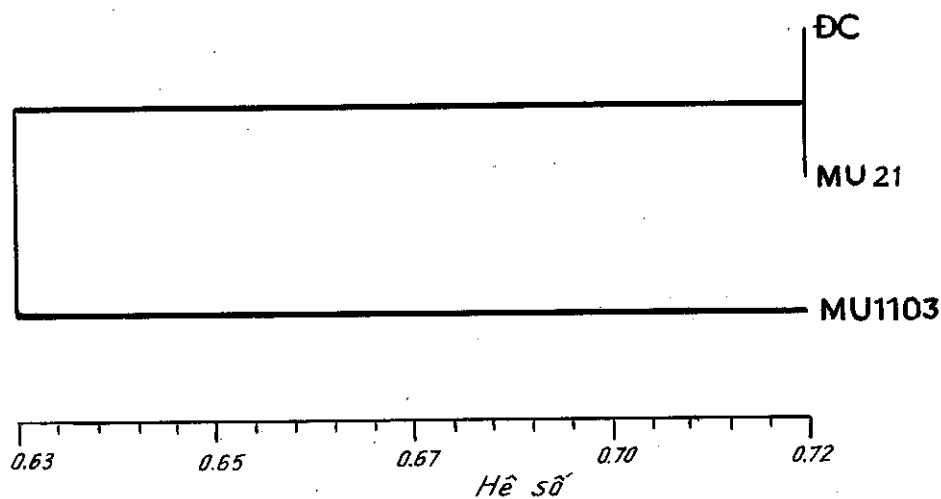
Bảng 4 cho thấy so với dòng T16012 thì dòng TU21 gần với đối chứng hơn, vì thế, ở biểu đồ hình 8, đối chứng và dòng TU21 được xếp vào cùng một nhóm. Tuy nhiên, dòng TU21 vẫn khác đối chứng với hệ số là 0,30 (1-0,7); còn dòng

T16012 khác đối chứng với hệ số là 0,38 (1-0,62) và khác dòng TU21 là 0,40 (1-0,6).

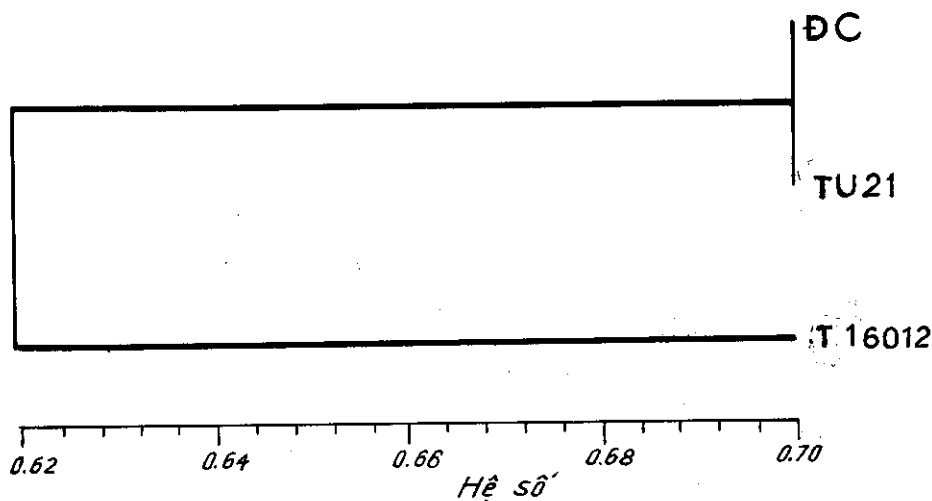
Bảng 4

Hệ số đồng dạng di truyền của các dòng đột biến và đối chứng của giống đậu xanh mốc tiêu

Dòng đột biến và đối chứng	Đối chứng	TU21	T16012
Đối chứng	1,000000		
TU21	0,6976744	1,0000000	
T16012	0,6279070	0,6046512	1,0000000



Hình 7. Biểu đồ so sánh các dòng đột biến và đối chứng của giống đậu xanh mốc ở mức phân tử khi sử dụng 3 đoạn mồi RA36, RA45, 142.



Hình 8. Biểu đồ so sánh các dòng đột biến và đối chứng của giống đậu xanh mốc tiêu ở mức phân tử khi sử dụng 3 đoạn mồi RA45, RA36, 142.

III. KẾT LUẬN

- Đã tách chiết ADN từ mầm 3 ngày tuổi của những dòng đậu xanh nghiên cứu. Hàm lượng và chất lượng dung dịch ADN tách chiết đảm bảo cho việc tiến hành phản ứng RAPD và những nghiên cứu khác.

- Những kết quả nhận được trong nghiên cứu tính đa hình ADN được nhân bản ngẫu nhiên đã chứng tỏ những dòng đột biến tạo ra từ hai giống giống đậu xanh mỡ và mốc tiêu có những thay đổi đáng kể ở mức phân tử trong bộ gen. Sự thay đổi này là cơ sở để chọn tạo những vật liệu khởi đầu cho công tác cải tạo các giống đậu xanh.

- Phân tích các phân đoạn ADN được nhân bản khi sử dụng 3 đoạn mồi RA45, RA36, 142, đã xác định được hệ số đồng dạng di truyền của các dòng đột biến và đối chứng. Từ sơ đồ phả hệ cho thấy, ở mỗi giống đậu xanh, đều xuất hiện 2 nhóm cây có hệ số sai khác từ 28% - 37% (giống mỡ) và từ 30% - 38% (giống mốc tiêu).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Lê Trần Bình, 1997: Công nghệ sinh học thực vật trong cải tiến giống cây trồng, 38-61. NXB Nông nghiệp.

2. Phan Văn Chi, 1997: Tạp chí Di truyền và ứng dụng, 4: 15-18.

3. Foolad M. R., Siva A., and Rodriguer L. R., 1995: Applications of polymerase chain reaction

(PCR) to plant genome analysis, in: Tissue and organe culture. Fundamental methods. Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, p. 281-298.

4. Fatokun A, 1992: Genetic, 132 (3): 841-846.

5. Kaga A, 1998: Mol. Gen. genet., 258 (4): 378-384.

6. Viện Khoa học kỹ thuật nông nghiệp Việt Nam: Kết quả nghiên cứu khoa học đậu đỗ 1991-1995, 4-188.

7. Trần Thị Phương Liên và cộng sự, 1998: Tạp chí Khoa học và Công nghệ, XXXVI (5): 8-14.

8. Trần Đình Long, 1991: Tiến bộ về trồng Lạc-Đậu-Đỗ ở Việt Nam, 199-223. NXB Nông nghiệp.

9. Monna L., 1994: DNA Research 1: 139-148.

10. Trần Duy Quý, 1997: Các phương pháp mới trong chọn tạo giống cây trồng, 65-295. NXB Nông nghiệp.

11. Weslh J., McClelland M., 1991: Nucleic acids Res., 18: 7213-7218.

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

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

14. Yu J., Nguyen H. T., 1994: Theor Appl. Genet, 87: 668-672.

APPLICATION OF RANDOM AMPLIFIED POLYMORPHIC DNA (RAPD) TECHNOLOGY IN GENOMIC ASSESSMENT OF SOME MUNG BEAN MUTANT LINES

CHU HOANG MAU *et al.*

SUMMARY

The total genomic DNAs of seedlings of Mo and Mochtieu mung bean *Vigna radiata* (L.) Wilczek mutant lines have been isolated. The purpose of this study was to improve the DNA isolation procedure for mung bean plants.

The significant differences among mung bean mutant lines, such as MU21, M1103, TU21, T16012 and original seed were shown by the study of DNA polymorphism at molecular level using RAPD.

The appearance of 2 plant groups with difference from 28% to 37% (Mo) and from 30% to 38% (Mochtieu) have been compared with similar coefficient of mung bean mutant lines.

Ngày nhận bài: 6-12-1998

TẠO CÁ CHẠCH MANG GIEN HOÁC MÔN SINH TRƯỞNG CỦA NGƯỜI

TRẦN QUỐC DUNG

Trường đại học Sư phạm Huế

VŨ VĂN DIỄN, NGUYỄN KIM ĐỘ, QUYỀN ĐÌNH THI,
NGUYỄN THỊ ĐIỀU THÚY, NGUYỄN VĂN CƯỜNG

Viện Công nghệ sinh học

ĐẶNG HỮU LANH

Trường đại học Sư phạm - Đại học Quốc gia Hà Nội

Bằng kỹ thuật vi tiêm (microinjection), người ta đã chuyển gien lạ vào phôi ở giai đoạn một tế bào của cá và đã tạo ra hàng loạt cá được chuyển gien như cá Chép [1], cá Hồi [8, 10], cá Trê [7], cá rô phi [9], cá Vàng [5, 13], cá Mú vàng [11], cá Sọc [10], cá Hồi rắng [2]. Cá chuyển gien bằng hoác môn sinh trưởng của người có kích thước và tốc độ sinh trưởng gấp ba lần so với cá đối chứng [14]. Cá Chạch (*Misgurnus anguillicaudatus*) không những là nguồn thực phẩm ngon, được liệu quí, dễ nuôi mà còn là mô hình cá chuyển gien lý tưởng [6]. Để có giống cá Chạch nuôi lớn nhanh, cho năng suất cao và làm mô hình cá chuyển gien cho các giống cá kinh tế khác, chúng tôi đã tiến hành chuyển gien hoác môn sinh trưởng của người (hGH) vào.

I. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Các cá thể cá Chạch (*Misgurnus anguillicaudatus*) khỏe mạnh đang ở độ tuổi thuần thực, cá cái cần có trọng lượng trên 20 g chiều dài trên 12 cm, cá đực chỉ cần trên 10 cm, được thu thập ở chợ Nghĩa Đô, Cầu Giấy, Hà Nội theo N. K. Độ và cs [6]. Để phân biệt cá đực và cá cái, chúng tôi dựa vào sự khác biệt của vây ngực. Vây ngực cá cái tương đối nhỏ, đoạn mút tròn, gốc của tia vây thứ hai không có phiến mỏng chất xương. Vây ngực cá đực tương đối lớn, đoạn mút nhọn, gốc của tia vây thứ hai có phiến mỏng chất xương.

Phương pháp lấy trứng, tinh dịch và thụ tinh nhân tạo được tiến hành theo N. K. Độ và cs [6].

Tế bào trứng đã thụ tinh được khử màng dai chorion, tạo phôi trần một tế bào để chuẩn bị cho vi tiêm. Trứng cá, sau khi thụ tinh được cho vào dung dịch trypsin (hãng Fritz Leidehdt Biochemie, CHLB Đức), với các nồng độ khác nhau, từ 0,025% đến 0,1% và ủ một phút. Sau đó, rửa dung dịch vài lần bằng nước sạch. Trứng đã loại màng chorion, được ấp trong dung dịch Holtfrefer (3,5% NaCl, 0,05% KCl, 0,1% CaCl₂, 0,2% NaHCO₃) ở nhiệt độ 20-30°C, có sục khí. Vì phôi trần rất dễ bị tấn công bởi các tác nhân gây bệnh nên môi trường cần được vô trùng. Theo dõi sự phát triển của phôi, tỉ lệ nở của trứng và tỉ lệ cá con sống sau 3 ngày tuổi so với cá con mới nở.

Biến nạp gien vào phôi trần một tế bào bằng kỹ thuật vi tiêm, được tiến hành theo phương pháp đã được mô tả trong tài liệu của N. V. Cường và cs [4]. Để biến nạp gien vào phôi một tế bào bằng kỹ thuật vi tiêm, trước hết phải chế tạo kim tiêm và kim giữ. Kim được tạo từ những ống capillar bằng thủy tinh dẻo có đường kính 0,1 - 1,5 mm, có sợi wolfram mảnh ở trong, bằng máy kéo kim tự động (pipette puller), máy mài và máy gia cố Microforge (hãng Narishige, Nhật Bản). Đường kính mũi kim vi tiêm khoảng 2 µm là đạt tiêu chuẩn. Đầu kim giữ nhọn và có đường kính bên trong khoảng 80 - 100 µm.

Vi tiêm được tiến hành trên máy vi thao tác Olympus (hãng Narishige, Nhật Bản), gồm các bước: Chuyển phôi 1 - 4 tế bào vào buồng tiêm, nạp gien vào kim tiêm bằng cách bơm trực tiếp dung dịch ADN vào, lắp kim tiêm và kim giữ vào máy vi

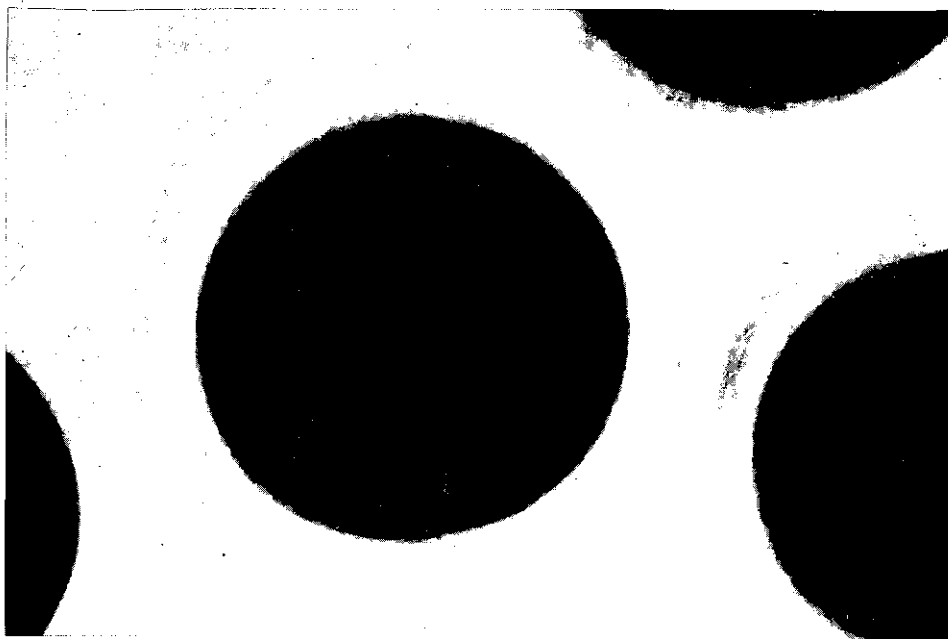
thao tác, giữ phôi vào đầu kim giữ bằng lực hút của ống tiêm, điều chỉnh kính hiển vi để xác định đĩa phôi và điều chỉnh máy vi điều chỉnh để đưa kim tiêm vào vị trí phôi, đẩy ADN vào phôi bằng cách vận nhẹ ống tiêm, khi thấy phôi hơi phồng to và phôi sáng hơn thì dừng lại và kéo nhanh kim tiêm ra khỏi phôi. Dung dịch ADN có nồng độ 40 ng/ml trong đệm TE (Tris Ethylenediamine tetraacetic acid) được sử dụng để biến nạp vào phôi. Lượng dung dịch ADN đưa vào mỗi trứng khoảng 2 - 4 nl, tương đương 2×10^3 bản gen. Gen dùng để biến nạp vào phôi là gen hoóc môn sinh trưởng của người (hGH) nằm trong plasmid MThGH 111, đã được tinh sạch và đánh giá, đảm bảo yêu cầu cho việc biến nạp [3, 5].

Phôi đã vi tiêm được ấp trong dung dịch Holtfreter ở nhiệt độ 20 - 30°C, có sục khí. Đối với trứng không bóc màng và làm đối chứng, ta ấp như trong điều kiện tự nhiên không cần thay nước. Đối với trứng vi tiêm, sau khi cá nở, ta giảm dần nồng độ muối để đưa cá trở lại môi trường nước ngọt.

II. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

1. Tạo phôi trần ở giai đoạn một tế bào:

Trứng sau khi thụ tinh nhân tạo có màng chorion (ảnh 1) dày lên, rất dai và dính, gây trở ngại cho việc định vị chính xác mũi kim tiêm vào vị trí mong muốn. Mặt khác, để gen lạ có thể tồn tại trong phôi trần, nhân lên và truyền lại cho thế hệ sau, thì nó phải được gắn vào bộ gen của phôi ở giai đoạn một tế bào. Nhưng giai đoạn này ở cá Chạch rất ngắn, khoảng 15 - 20 phút, trong khi đó việc vi tiêm đòi hỏi nhiều thao tác tỉ mỉ và chính xác. Để khắc phục nhược điểm này, chúng tôi dùng trypsin với nồng độ trong khoảng 0,025% - 0,1%, ủ một phút, để loại màng chorion, tạo ra hàng loạt phôi trần một tế bào (ảnh 2), tạo điều kiện thuận lợi cho việc vi tiêm, nhằm nâng cao được số lượng trứng vi tiêm. Số phôi trần một tế bào được khử màng chorion và ảnh hưởng của việc khử màng chorion của phôi cá bằng trypsin lên tỉ lệ nở và sống sót được thể hiện ở bảng 1.



*Ảnh 1. Trứng cá Chạch chưa khử màng
Mũi tên chỉ màng chorion vẫn bao quanh tế bào trứng.*

Bảng 1 cho thấy nồng độ trypsin 0,075%, với thời gian ủ 1 phút, là tối ưu nhất cho số lượng trứng nở (80%) và mức sống sót sau 3 ngày nở (94%) cao nhất. Tỉ lệ trứng khử màng chorion và trứng đối chứng không khử màng nở thành cá con lần lượt là 80% và 86%, chứng tỏ việc bóc màng không ảnh hưởng nhiều

đến sự phát triển của phôi. Tỷ lệ cá sống sau 3 ngày tuổi so với cá con mới nở của trứng khử màng chorion với nồng độ trypsin 0,075% và trứng đối chứng không khử màng tương ứng là 94% và 100%. Điều này chứng tỏ việc bóc màng không ảnh hưởng nhiều đến tỷ lệ sống của cá.

Bảng 1

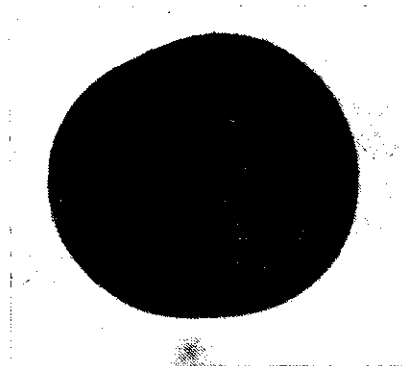
Ảnh hưởng của việc loại màng chorion của phôi cá bằng trypsin lên tỷ lệ nở và sống sót

Nồng độ trypsin (%)	Số trứng thí nghiệm (cái)	Số trứng nở (cái)		Số cá con sống sau 3 ngày tuổi (con)	
		Số lượng	Tỷ lệ (%)	Số lượng	Tỷ lệ (%)
0,000	100	86	86,0	86	100,0
0,025	215	40	18,6	36	90,0
0,050	104	51	47,1	45	88,2
0,075	80	64	80,0	60	93,8
0,100	160	13	8,10	12	92,3

2. Biến nạp gen và theo dõi sự phát triển của phôi cá Chạch:

Sau khi tiêm, trứng được ủ trong dung dịch Holtfreter tạo điều kiện cho phôi phát triển thuận lợi, vì phôi trần rất dễ bị vỡ khi áp ở môi trường nước, do tác dụng nhược trương. Sự phát triển của phôi được theo dõi và đánh giá liên tục cho đến khi nở. Sau 30 phút, trứng phân chia thành 2 tế bào, 50 phút thành 4 tế bào... Sau 24 giờ, trứng nở hoàn toàn. Số trứng và tỷ lệ nở của trứng vi tiêm và đối chứng được trình bày ở bảng 2.

Bảng 2 cho thấy tỷ lệ nở của trứng cá vi tiêm trong đợt thí nghiệm 1 và 2 lần lượt là 16,3% và 12,0%. So sánh tỷ lệ nở giữa hai lô đối chứng bóc màng (56% và 45%) và không bóc màng (60% và 67%) ở hai đợt ta thấy sự chênh lệch không nhiều, kết quả này một lần nữa chứng tỏ việc bóc màng chorion ảnh hưởng không nhiều đến sự phát triển của phôi. Song việc vi tiêm gen hGH đã ảnh hưởng nhiều tới tỷ lệ nở của trứng cá vi tiêm. Tỷ lệ nở của trứng cá vi tiêm chỉ đạt khoảng 18 - 29% so với tỷ lệ nở của trứng cá đối chứng không vi tiêm (bảng 2).



Ảnh 2. Phôi cá Chạch đã khử màng bằng trypsin ở giai đoạn một tế bào

Bảng 2

Tỷ lệ nở của trứng vi tiêm

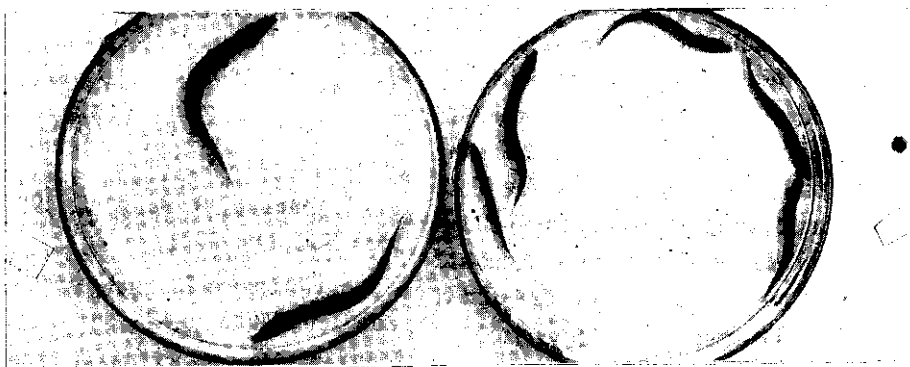
Trứng cá		Đợt thí nghiệm	Số trứng (cái)	Số trứng nở (cái)	Tỉ lệ nở (%)
Đối chứng	bóc	1	100	56	56,0
	màng	2	100	45	45,0
	không	1	100	60	60,0
	bóc màng	2	100	67	67,0
Tiêm gen hGH		1	79	23	16,3
		2	142	17	12,0

3. Nuôi và đánh giá sơ bộ cá vi tiêm gen hGH:

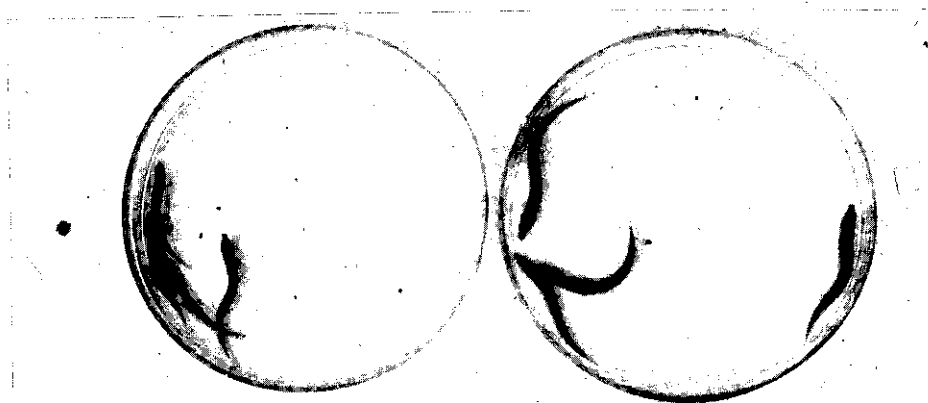
Cá bột nở sau 3 ngày thì cho ăn lòng đỏ trứng gà luộc chín và bột đậu. Sau khi ương nuôi 10 ngày thì chuyển sang môi trường có nhiều động vật phù du cỡ nhỏ và thức ăn hữu cơ. Cá được nuôi trong chậu nhựa đường kính 40 cm có sục khí. Sau 45 ngày tuổi, cá Chạch con được cân

trọng lượng để đánh giá sơ bộ mức độ biểu hiện của cá sau khi đã vi tiêm gen hGH (bảng 3). Sau đó, cá được chuyển sang bể kính 30 cm × 40 cm × 100 cm có sục khí.

Qua quan sát, cũng có thể thấy cá vi tiêm gen hGH lớn nhanh hơn cá đối chứng sau 6 tháng tuổi (ảnh 3 và ảnh 4).



Ảnh 3. Cá Chạch vi tiêm gen hGH sau 6 tháng tuổi (đợt 1). Cá bên đĩa petri a là cá đối chứng, cá bên đĩa petri b là cá vi tiêm gen hGH.



Ảnh 4. Cá Chạch vi tiêm gen hGH sau 6 tháng tuổi (đợt 2). Cá bên đĩa petri a là cá đối chứng, cá bên đĩa petri b là cá vi tiêm gen hGH.

Bảng 3

Trọng lượng trung bình của cá thí nghiệm và cá đối chứng sau 45 ngày tuổi

Đợt thí nghiệm	Trọng lượng trung bình của cá Chạch 45 ngày tuổi (g)		
	Cá đối chứng bóc màng	Cá đối chứng không bóc màng	Cá vi tiêm gen hGH
1	0,414 (4)*	0,482 (5)	0,987 (2)
2	0,402 (7)	0,383 (5)	0,674 (4)

* Số con cá được cân trọng lượng đồng thời là số cá sống sót sau 45 ngày tuổi.

Bảng 3 cho thấy trọng lượng trung bình của cá đối chứng bóc màng và cá đối chứng không bóc màng chênh lệch nhau không nhiều, nhưng trọng lượng trung bình của cá đã tiêm gen hGH thì gấp đôi trọng lượng trung bình của cá đối chứng bóc màng cũng như không bóc màng.

III. KẾT LUẬN

1. Đã tạo được phôi trần cá Chạch ở giai đoạn một tế bào qua các bước: lấy trứng và tinh dịch, thụ tinh nhân tạo, khử màng chorion bằng trypsin với nồng độ tối ưu 0,075%. Tỷ lệ cá nở và tỷ lệ cá sống sót sau ba ngày tuổi giữa trứng cá bóc màng (86% và 100%) và không bóc màng (80% và 94%) chênh lệch nhau không nhiều. Việc tạo phôi trần một tế bào bảo đảm tỷ lệ nở và sống sót cao cho việc vi tiêm gen vào phôi cá Chạch.

2. Làm chủ được kỹ thuật biến nạp gen hoặc môn sinh trưởng của người (hGH) vào phôi trần cá Chạch một tế bào, đã ấp nở và nuôi được hai mẹ cá vi tiêm gen hGH. Tỷ lệ nở của trứng cá Chạch, qua hai lần vi tiêm và ấp nở, đạt lần lượt là 16,3% và 12,0%. So với trứng cá đối chứng bóc màng và không bóc màng, tỷ lệ nở này chỉ bằng 1/4 hay 1/5.

3. Đánh giá bước đầu, cá vi tiêm gen hGH sau 45 ngày tuổi lớn gấp hai lần cá đối chứng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Chen T. T. et al., 1998: UCLA Symposium transgenic Models in Medicine and Agriculture.
2. Chourrout D. et al., 1985: Aquaculture, 51: 143-150.
3. N. V. Cường và cs., 1995: Hội thảo quốc tế và khu vực nhân năm Louis Pasteur. Vi sinh vật học và công nghệ sinh học. Hà Nội
4. N. V. Cường, L. T. A. Tuyết, 1997: Di truyền học và ứng dụng, tập 2.
5. N. K. Do et al., 1997: Proceedings. Third Asian Symposium on Animal Biotechnology (Seoul, Korea), Dec. 11-14: 108-114.
6. N. K. Do và cs., 1997: Kỷ yếu Viện Công nghệ sinh học, 267-272.
7. Dunham R. A. et al., 1987: Trans. Am. Fish. Soc., 116: 87-91.
8. Guyomard R., et al., 1989: Gene Transfer and Gene Therapy: 9-18.
9. Hernandez O., et al., 1997: Mol. Mar. Biol. Biotechnol., 6 (4): 364-375.
10. McEvoy T., et al., 1988: Aquaculture, 68: 27-37.
11. Stuart G. W., et al., 1988: Development, 103: 403-412
12. Vương Điện Khôn, 1997: Nuôi trồng thủy đặc sản, 194-196. Nhà xuất bản Giáo dục. (Bản Trung văn. Người dịch: Nguyễn Kim Độ).
13. Wang R. and P. Zhang, 1995: Mol. Mar. Biol. Biotechnol., 4 (1): 20-26.
14. Zhu Z. et al., 1996: Kexue Tongbao Academia Sinica., 31: 988-990.

GENERATION OF LOACH (MISGURNUS ANGUILLICAUDATUS) HABOURING HUMAN GROWTH HORMONE GENE

TRAN QUOC DUNG *et al.*

SUMMARY

The loachs weighted in average about 20 gram were health, not wound and sexually matured. Gonadal maturation of the loachs was induced in females as in males by injection of a homogenate of the carp (*Cyprinus carpio*) pituitary gland. The eggs were squeezed out and inseminated artificially. The embryos at one cell stage were obtained by in vitro fertilization and were dechorionated by trypsin of concentration from 0.025% to 0.1% at room temperature for 1 minute. The optimal concentration of trypsin for dechorionation was 0.075%. The dechorionation at this concentration of trypsin showed no effect on hatching as well as survival rate after 3 days of age.

(X em tiếp trang 36)

KẾT QUẢ CẤY TRUYỀN PHÔI BÒ ĐÔNG LẠNH Ở HÀ NỘI VÀ HÀ TÂY

HOÀNG KIM GIAO, NGUYỄN THANH DƯƠNG,
LƯU CÔNG KHÁNH, NGUYỄN VĂN LÝ,
NGUYỄN THỊ THOA, NGUYỄN THỊ KIM ANH

Viện Chăn nuôi

Những nghiên cứu về đông lạnh phôi gia súc đã có từ nửa sau của thập niên 40 của thế kỷ 20 nhưng mãi đến thập niên 70 và 80, việc nghiên cứu đông lạnh phôi mới phát triển và thu được kết quả rõ rệt. Năm 1972, lần đầu tiên cấy phôi đông lạnh thành công trên bò bởi Bilton và More, tiếp sau đó là Wilmut và Rowson (1973); Willadsen và ctv (1977-1978); Trounson và ctv (1978); Schneider và ctv (1980); Leibo và ctv (1982); Renard và ctv (1982)... [1]. Ngày nay, đông lạnh phôi và sử dụng phôi đông lạnh đã được ứng dụng nhiều ở tất cả các nước có công nghệ cấy truyền phôi phát triển. Ở nước ta Bùi Xuân Nguyên và ctv. đã nghiên cứu đông lạnh phôi và cấy phôi đông lạnh thành công [3].

Viện Chăn nuôi nghiên cứu áp dụng công nghệ cấy truyền phôi bò từ cuối năm 1989. Trong hai năm 1996-1997, với sự hợp tác song phương, Viện đã được nước Niu Dâylan tặng 150 phôi bò sữa đông lạnh có nguồn gốc từ những bò mẹ có sản lượng sữa 7.000 - 10.000 lít / chu kỳ. Từ số phôi này, chúng tôi đã tổ chức nghiên cứu ứng dụng cấy truyền cho những bò nhận có chu kỳ động dục đồng pha, có sức khỏe tốt, bộ máy sinh dục bình thường và đã thu được một số kết quả tốt.

I. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

- Phôi bò sữa đông lạnh được nhập từ nước Niu Dâylan trong hai năm 1996-1997.

- Bò nhận phôi là bò lai hướng sữa khỏe mạnh, được nuôi tại Trung tâm nghiên cứu bò và đồng cỏ Ba Vì (Hà Tây). Trại bò bò sữa Cầu Diễn và Trung tâm sữa và giống bò Phù Đổng (Hà Nội).

- Giải đông phôi theo quy trình 3 bước, với các môi trường tương ứng: giải đông 1, giải đông

2, giải đông 3 và cuối cùng là môi trường nuôi cấy. Phôi được lưu trong mỗi môi trường 5 phút. Phôi đạt tiêu chuẩn sẽ được cấy cho bò nhận phôi động dục đồng pha.

- Đánh giá phân loại phôi theo giai đoạn phát triển, theo mức độ tốt xấu qua kính hiển vi soi nổi Wild-M3B.

- Gây động dục đồng pha cho bò nhận phôi bằng vòng xoắn Prid (Progesterone releasing intravaginal device).

- Phân loại thể vàng bằng phương pháp khám buồng trứng qua trực tràng trước khi cấy phôi (ngày thứ 7 sau khi bò động dục).

- Cấy phôi bằng phương pháp không phẫu thuật.

- Khám thai sai khi bò được cấy phôi 3 tháng.

II. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

1. Chất lượng phôi đông lạnh:

a. Chất lượng phôi trước giải đông:

Chất lượng phôi trước giải đông được ghi trên cộng rạ bởi nhà sản xuất - Công ty Advanced genetics, Niu Dâylan. 107 phôi được sản xuất trong 2 năm 1996-1997, có chất lượng như sau:

Bảng 1

Chất lượng phôi trước giải đông

Chi tiêu	Phôi đầu		Phôi nang		Tổng số	
	n	%	n	%	n	%
Loại A	62	57,94	37	34,58	99	92,52
Loại B	6	5,61	2	1,87	8	7,48
Tổng số	68	63,55	39	36,45	107	100

Bảng 1 cho thấy: phôi đưa vào đông lạnh có 68 phôi dâu (63,55%) và 39 phôi nang (36,45%), phôi loại A là 99 (92,52%); phôi loại B là 8 (7,48%).

Như vậy, phôi đưa vào đông lạnh có chất lượng tốt và các giai đoạn phát triển của phôi phù hợp với quá trình đông lạnh.

b. Chất lượng phôi sau giải đông:

Sau giải đông, chất lượng phôi được trình bày ở bảng 2a, 2b, và 2c.

Bảng 2a

Chất lượng phôi sau giải đông theo giai đoạn phát triển

Chỉ tiêu	Phôi dâu		Phôi nang		Tổng số	
	n	%	n	%	n	%
Tổng số phôi giải đông	68	63,55	39	36,45	107	100
Số phôi còn lại	67	63,2	39	36,79	106*	100
Số phôi chết, thoái hóa	8	11,94	4	10,26	12	11,32
Số phôi có khả năng cấy (Số phôi sống so với số phôi giải đông)	59	88,06	35	89,74	94	88,68

* Một phôi bị mất trong quá trình giải đông

Bảng 2b

Chất lượng phôi sau giải đông

Loại phôi	Số phôi trước giải đông	Số phôi sau giải đông	Tỉ lệ phôi sống (%)
A	98	91	92,80
B	8	3	37,50
Tổng số	106	94	88,68

Bảng 2c

Chất lượng phôi sau giải đông theo mức độ tốt xấu

Chỉ tiêu	Phôi trước giải đông			Phôi chết, thoái hóa			Phôi sau giải đông			
	Tổng	A	B	Tổng	A	B	Tổng	A	B	C
Phôi dâu	67	61	6	8	4	4	59	44	9	6
Phôi nang sớm	16	16	—	2	2	—	14	8	5	1
Phôi nang	23	21	2	2	1	1	21	1	5	2
Tổng số	106	98	8	12	7	5	94	66	19	9

Bảng 2a cho thấy, trong 106 phôi còn lại, có 94 phôi sống có khả năng cấy, chiếm 88,68%. Số phôi chết và thoái hóa là 12, chiếm 11,32%. Trong số 94 phôi sống, số phôi dâu là 59, chiếm 62,77% và tỉ lệ sống của chúng là 88,06%, số phôi nang là 35, chiếm 37,23% và tỉ lệ sống của chúng là 87,74%.

Kết quả trên đây không sai khác nhiều so với các nghiên cứu khác trên thế giới như: Leibo et al. (1982), Renard et al. (1982), Chitrtic et al. (1982). Sang Runzi et al. (1996), v.v.. Các nghiên cứu này cho biết tỉ lệ phôi sống sau giải đông đạt 70-85% [1, 3, 4, 5, 7].

Bảng 2b cho thấy: số phôi sống sau giải đông tỉ lệ trung bình đạt 88,68%, trong đó phôi loại A đạt 92,8%, phôi loại B đạt 37,5%. Tỉ lệ sống của phôi loại A tương đương với kết quả của Sang Runzi et al. (1996), nhưng tỉ lệ sống của phôi loại B lại thấp hơn. Sang Runzi công bố tỉ lệ sống của phôi loại A và phôi loại B tương ứng là 91,0% và 63,3%.

Bảng 2c cho thấy, trong số 106 phôi trước giải đông, có 98 phôi loại A, 8 phôi loại B. Sau giải đông, số phôi chết thoái hóa là 12, số phôi sống có thể cấy là 94, trong đó phôi loại A là 66, phôi loại B là 19 và phôi loại C là 9. Như vậy, có thể có một số phôi loại A trong quá trình đông lạnh, bảo quản giải đông đã chuyển thành phôi loại B, loại C hoặc chết, thoái hóa; một số phôi loại B chuyển thành phôi loại C, phôi thoái hóa và chết.

2. Kết quả cấy truyền phôi đông lạnh:

Phôi sau khi giải đông, được đánh giá phân loại. Những phôi đạt chỉ tiêu chuẩn sẽ được cấy cho bò nhận có chu kỳ động dục đồng pha, có sức khỏe tốt và bộ máy sinh dục bình thường. Sau 3 tháng, tất cả các bò nhận phôi được khám qua trực tràng để xác

định có chửa hay không. Bảng 3 là tỉ lệ có chửa sau khi cấy, theo giai đoạn phát triển của phôi.

Bảng 3 cho thấy, tỉ lệ đậu thai sau khi cấy phôi đông lạnh đạt 40,43%, trong đó phôi nang sớm cho kết quả cao nhất 50,00% còn phôi dâu là 38,98%, phôi nang là 38,09%. Kết quả này tương đương với các nước trong khu vực đã đạt được (25-45%), nhưng thấp hơn so với một số nước có ngành chăn nuôi tiến tiến (50-60%) [1, 2, 4, 6]. Ngoài kết quả có chửa theo giai đoạn phát triển của phôi, chúng tôi còn đánh giá kết quả có chửa theo chất lượng phôi sau giải đông (bảng 4).

Bảng 3

Tỉ lệ có chửa sau khi cấy theo giai đoạn phát triển của phôi

Giai đoạn phát triển của phôi	Số bò đã cấy	Số bò có chửa	
		n	%
Phôi dâu	59	23	38,98
Phôi nang sớm	14	7	50,00
Phôi nang	21	8	38,09
Tổng số	94	38	40,43

Bảng 4

Tỉ lệ có chửa theo chất lượng phôi sau giải đông

Chất lượng phôi sau giải đông	Số bò đã cấy		Số bò có chửa	
	n	%	n	%
Loại A	66	70,21	30	45,45
Loại B	19	20,21	7	36,84
Loại C	9	9,58	1	11,11
Tổng số	94	100	38	40,43

Bảng 4 cho thấy, tỉ lệ có chửa khi cấy phôi loại A đạt cao nhất: (45,45%), rồi đến phôi loại B (36,84%), còn phôi loại C có tỉ lệ chửa thấp nhất (11,11%). Kết quả này tương đương với kết quả của Frank Kuzan (1984), theo đó thì tỉ lệ có chửa và đẻ của phôi loại A là 40%, phôi loại B là 33% và loại C là 22%, nhưng thấp hơn kết quả của Sang Runzi và cs. (1996) có tỉ lệ chửa và đẻ khi cấy phôi loại A, B, C tương ứng là 77,8%, 50,0% và 19,3%.

Theo Sanderson (1997), khi cấy phôi đông lạnh loại A và B tỉ lệ có chửa ít khác nhau, thường đạt 55-65%, nhưng phôi loại C có tỉ lệ không vượt quá 30%.

Đề nghiên cứu ảnh hưởng của chất lượng thể vàng đến tỉ lệ có chửa khi cấy phôi đông lạnh, chúng tôi đã cấy 66 phôi loại A cho 66 bò nhận có các trạng thái thể vàng khác nhau. Kết quả được trình bày ở bảng 5.

Bảng 5

Tỉ lệ chữa theo chất lượng thể vàng

Chất lượng thể vàng	Số bò cấy phôi		Số bò chữa	
	n	%	n	%
Rất tốt	20	30,30	12	60,00
Tốt	31	46,97	14	45,16
Trung bình	15	22,73	4	26,67
Tổng số	66	100	30	45,45

Bảng 5 cho thấy, tỉ lệ có chữa khi cấy phôi loại A đạt trung bình 45,45%. Trong đó tỉ lệ có chữa ở con nhận có thể vàng rất tốt, tốt, trung bình đạt tương ứng là 60%, 45,16%, 26,57%. Kết quả này có thấp hơn chút ít so với kết quả của Sang Runzi và cs. (1996) theo đó tỉ lệ có chữa ở bò nhận có thể vàng tốt đạt 50,5%, ở thể vàng trung bình đạt 32%. Tỉ lệ có chữa cao ở bò có thể vàng tốt có thể liên quan đến hàm lượng progesteron trong máu cao hơn những bò khác. Progesteron đã tạo điều kiện tốt cho phôi làm tổ và thai phát triển.

III. KẾT LUẬN

- Tỉ lệ sống của phôi bò đông lạnh sau giải đông là 88,68%, dao động từ 88,06% ở phôi đầu đến 88,74% ở phôi nang.
- Tỉ lệ có chữa khi cấy phôi đông lạnh đạt 40,43 % (38,09 - 50%).
- Tỉ lệ có chữa khi cấy phôi nang sớm đạt kết quả cao nhất 50,00%.
- Tỉ lệ có chữa khi cấy phôi đông lạnh loại A

đạt cao nhất và bằng 45,45%.

Công nghệ cấy truyền phôi bò đông lạnh có thể áp dụng vào điều kiện chăn nuôi ở nước ta, vì thế có thể thay việc nhập trực tiếp con giống bằng nhập phôi đông lạnh.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Kanagawa H., I. Shimohira, N. Saitoh, 1995: Manual of bovine embryo transfer Japan livestock technology association.
2. Mukherjee T. K., 1988: Biotechnology applicable to animal production and health in Asia: 53-68, Bangkok, Thailand,
3. Bùi Xuân Nguyên và cs., 1996: Hội thảo quốc gia về khoa học và phát triển chăn nuôi đến năm 2000, Hội Chăn nuôi Việt Nam: 110-116, Hà Nội.
4. Sang Runzi et al., 1996: Embryo transfer and genetic micromanipulation; 2nd symposium on animal biotechnology: 73-80, China.
5. Seidel G. E., S. M. Seidel., 1991: Training manual for embryo transfer in cattle. FAO. Rome.

RESULTS OF FROZEN BOVINE EMBRYO TRANSFER IN HANOI AND HA TAY PROVINCES

HOANG KIM GIAO *et al.*

SUMMARY

107 embryos were thawed, 1 embryo was missed and 106 embryos were recovered, of which 98 embryos were grade A and 8 embryos were grade B. Pre-thawing embryos quality were written on the straws.

Embryo survival rate at thawing was 88.68% (94/106). Those embryos were transferred to 94 recipients and the pregnancy rate were 40.43% (38/94). The pregnancy rate of embryos grade A and early blastocyst were the highest and were 45.45%, 50.00% respectively. Results above showed that embryo transfer technology can be applied in Vietnam.

Ngày nhận bài: 16-10-1998

SỬ DỤNG TẾ BÀO CÔN TRÙNG Sf9 ĐỂ NGHIÊN CỨU VÀ CHẨN ĐOÁN NHANH CÁC BACULOVIRUS GÂY BỆNH CHO TÔM

VĂN THỊ HẠNH, NGUYỄN VĂN UYÊN

Viện Sinh học nhiệt đới

TRẦN THỊ MINH TÂM

Viện Nuôi trồng Thủy sản

NGUYỄN TRỌNG BÌNH

Viện Hóa sinh hữu cơ Palo Alto, USA

Có nhiều tác nhân gây bệnh cho tôm, trong đó nguy hại nhất là bệnh do virus gây ra, nhưng chưa có thuốc chữa trị. Từ năm 1993, các baculovirus giống nhau gây chết rất mạnh cho tôm penaeid được thông báo từ Trung Quốc, Nhật Bản, Triều Tiên, Thái Lan, Đài Loan. Tất cả các bệnh gây nên bởi các virus này được đặc trưng bởi sự có mặt của các đốm trắng ở vỏ kitin [2]. Virus gây bệnh cho tôm là các baculovirus, có các đặc điểm khi ký sinh tạo ra các thể vùi (Polyhedra Inclusion Body - PIB) lớn. Các thể này có thể tồn tại độc lập và bền vững ngoài môi trường tự nhiên và gây nhiễm lại cho các cá thể khác với tốc độ rất nhanh. Vì vậy, một trong các giải pháp cấp bách về lĩnh vực bệnh do Bộ Thủy sản đề ra là phải "xây dựng một hệ thống kiểm dịch, chẩn đoán nhanh, chính xác và ít tốn kém".

Thông thường, các quy trình chẩn đoán bệnh baculovirus của tôm chủ yếu dựa vào các dấu hiệu và sự kiểm tra mô học con vật chết (Lightner 1992, 1993, 1996) [3]. Ứng dụng thực tế của các quy trình này đôi khi rất khó khăn và độ nhạy thường rất hạn chế. Ngày nay, sự chẩn đoán các probe gene có độ nhạy và đặc hiệu cao có thể được dùng làm công cụ chẩn đoán sớm sự nhiễm bệnh đốm trắng. Tuy vậy, đây cũng là một phương pháp khá phức tạp trong điều kiện hiện nay ở Việt Nam.

Vừa qua, chúng tôi đã tiến hành gây nhiễm một số virus thu được từ các mẫu tôm bị bệnh trên tế bào của dòng côn trùng Sf9 và thu được kết quả hết sức khả quan. Điều này mở ra khả năng sử dụng tế bào côn trùng để chẩn đoán

nhận bệnh virus của tôm và tiến hành các nghiên cứu ứng dụng khác trên đối tượng này, đặc biệt là hướng tạo vắc xin phòng trị bệnh cho tôm.

I. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Tế bào của dòng côn trùng Sf9 (*Spodoptera frugiperda*) (Vaughn et al., 1977) từ ATCC (CRI 1711) được nuôi cấy bằng môi trường Sf 900 - II SFM (BRL) theo phương pháp Max D. Summers and Gale E. Smith [4].

Mẫu tôm bị bệnh thu nhận tại một số vùng nuôi tôm nước mặn: Cần Đước, Long An (Pm - CDLA), Trà Vinh 1 (Pm - TRV1), Trà Vinh 2 (Pm - TRV2), Trà Vinh 3 (Pm - TRV3). Thu dịch virus theo phương pháp Max D. Summers [4].

Chuẩn độ ECV (Extracellular Virus) theo phương pháp Reed and Muench [4]. Đơn vị chuẩn độ ECV: pfu/ml (Plaque Formation Unit/ml).

Thu nhận thể vùi theo phương pháp Evelyne Kretzschmar [5].

Gây nhiễm virus vào tế bào theo David R. O'Reilly [6].

Xác định hàm lượng protein của dịch tế bào nuôi cấy theo phương pháp Bradford.

II. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Baculovirus khi gây nhiễm tạo ra hai dạng: - ECV, là dạng gây nhiễm tế bào nuôi cấy và tế bào bên trong một cơ thể vật chủ, hình thành ở giai đoạn sớm của quá trình gây nhiễm. - Thể vùi (PIB)

là dạng thể khối đa diện, có vỏ bọc lớn, được hình thành trong nhân tế bào ở giai đoạn muộn của quá trình gây nhiễm. Dạng này tồn tại trong môi trường, gây nhiễm các cá thể trong quần thể.

1. Biểu hiện của tế bào dòng côn trùng Sf9 nhiễm virut tằm:

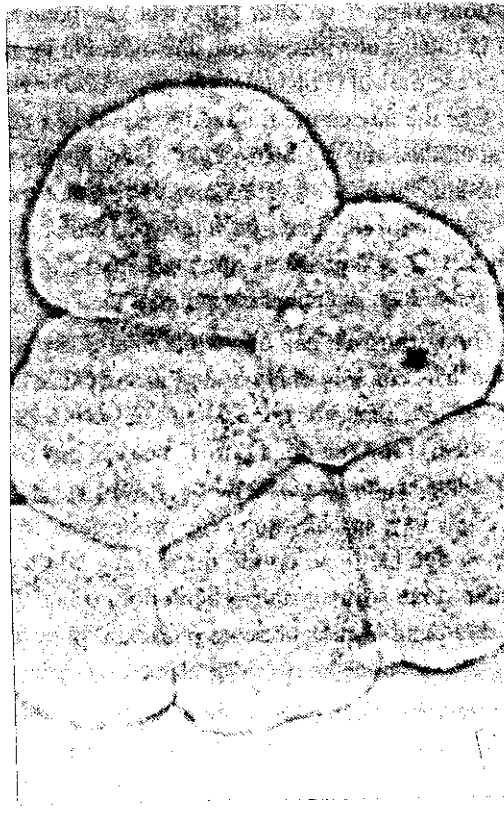
Bảng 1 cho thấy các baculovirus hại tằm có hiệu ứng gây nhiễm rất cao đối với tế bào của

dòng côn trùng Sf9. Trạng thái của tế bào thay đổi rõ rệt và rất nhanh. Một ngày sau khi gây nhiễm, đã quan sát thấy rõ thể vùi trong tế bào. (So với baculovirus côn trùng, hiện tượng này chỉ quan sát rõ sau 3 ngày gây nhiễm). 11 giờ sau khi gây nhiễm, thể vùi đã bắt đầu ra khỏi tế bào. Điều này chứng tỏ, khi một quần thể tằm bị bệnh baculovirus, thì tốc độ tiến triển của bệnh sẽ xảy ra rất nhanh.

Bảng 1

Trạng thái của tế bào sau khi gây nhiễm

Thời gian	Trạng thái của tế bào sau khi gây nhiễm
5 - 8 giờ	Màng tế bào phồng nhiều chỗ. Nhìn rõ thể hạt trong nhân và trong tế bào chất.
11 giờ - 1 ngày	Phần lớn tế bào đã bị nhiễm, hình dạng thay đổi rõ rệt, tế bào từ dạng tròn trở thành dạng amíp, không phân chia. Đa số tế bào rụng khỏi bề mặt. Thể vùi lớn tràn ra khỏi nhân và bắt đầu ra ngoài tế bào.
2 - 3 ngày	Toàn bộ tế bào đã bị nhiễm, phồng rất to, thể vùi dày đặc trong tế bào chất và trong dịch nuôi cấy.



Ảnh: Tế bào của dòng côn trùng Sf9 nhiễm virut Pm-TRV3 (ba ngày sau khi gây nhiễm) và tế bào đối chứng (độ phóng đại kính 800 lần)

2. Kết quả chuẩn độ mẫu:

Bảng 2 cho thấy tất cả các mẫu thu được ở các địa điểm có dịch bệnh, đều được xác định có mặt baculovirus với mật độ rất cao. Kết quả này

cũng cho thấy tôm đang ở trong thời kỳ ủ bệnh (còn khỏe) có mật độ ECV cao hơn tôm đã bị bệnh nặng. Thề vùi hình thành trong tế bào với tốc độ rất nhanh và số lượng lớn.

Bảng 2

Mật độ ECV và (PIB) sau 3 ngày gây nhiễm

Mẫu	Tình trạng tôm bệnh	Mật độ ECV (pfu/ml)	Mật độ PIB / ml		PIB / Tế bào
			1 ngày	3 ngày	
Pm-CDLA	Tôm bị bệnh, yếu	$1,6 \times 10^8$	$1,5 \times 10^8$	$1,8 \times 10^8$	150
Pm-TRV1	Tôm ở ao khỏe cạnh ao bị bệnh	$1,8 \times 10^8$	$1,8 \times 10^8$	$2,0 \times 10^8$	166
Pm-TRV2	Tôm còi cọc còn sót lại trong ao bị bệnh	$1,2 \times 10^8$	$1,2 \times 10^8$	$1,5 \times 10^8$	125
Pm-TRV3	Tôm biểu hiện rõ bệnh đốm trắng	$1,6 \times 10^8$	$1,6 \times 10^8$	$1,7 \times 10^8$	142

3. Kết quả cấy chuyển ECV trên tế bào của dòng côn trùng Sf9:

Việc cấy chuyển nhiều lần được tiến hành nhằm khẳng định sự có mặt và khả năng nhân lên của các baculovirus tôm trong tế bào nuôi cấy. Thu dịch tế bào sau khi gây nhiễm 2 ngày, ly tâm 1000 v/phút trong 3 phút. Dịch này được dùng cho các lần gây nhiễm tiếp theo sau (P1, P2).

Bảng 3 cho thấy, sau 2 lần cấy chuyển, baculovirus tôm nhân lên ổn định trong tế bào nuôi cấy. Theo dõi quá trình gây nhiễm lại tế bào với các dịch virus P1, P2, chúng tôi nhận thấy diễn biến của các quá trình này cũng giống như đã được trình bày ở bảng 1.

KẾT LUẬN

Qua các kết quả nghiên cứu ở trên, có thể khẳng định rằng các baculovirus tôm gây nhiễm rất mạnh trong tế bào của dòng côn trùng Sf9. Điều này mở ra khả năng sử dụng hệ tế bào này để tiến hành các nghiên cứu bệnh virus ở tôm và các hướng phòng trừ bệnh này.

Mật độ ECV sau khi cấy chuyển

Tên mẫu	Mật độ ECV (pfu/ml)		
	P ₀	P ₁	P ₂
Pm-CDLA	$1,6 \times 10^8$	$1,0-1,5 \times 10^9$	$1,0-1,2 \times 10^9$

4. Xác định hàm lượng protein của virus của dịch tế bào nuôi:

Bảng 4

Hàm lượng protein của dịch tế bào nhiễm virus

Mẫu đo	Hàm lượng protein của mẫu đo (μg/ml)	Hàm lượng protein của virus (μg/ml)
Dịch tế bào đối chứng	2022	
Pm-CDLA (P ₁)	3042	1020
Pm-TV1 (P ₁)	2067	45
Pm-TV1 (P ₂)	2663	641
Pm-TV2 (P ₂)	2124	102

Tốc độ gây nhiễm và nhân lên rất nhanh của các virus trong tế bào có thể là một chỉ tiêu đánh giá và chẩn đoán nhanh bệnh baculovirus tôm.

Trong các bài báo đã được công bố về bệnh đốm trắng ở tôm, người ta đã xác định các baculovirus này thuộc họ phụ Nudibaculovirinae - là các baculovirus không tạo thể vùi, nhưng các kết quả mà chúng tôi thu được cho thấy rất rõ thể vùi trong tế bào. Vì vậy, cần phải tiến hành nghiên cứu phân lập, điện di ADN và phân tích PCR để định danh chính xác các baculovirus gây bệnh cho tôm ở Việt Nam.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Viện Nghiên cứu Nuôi trồng thủy sản II, 1996: Báo cáo tổng kết tình hình nghiên cứu dịch bệnh tôm.

2. Spann K. M., R. J. G. Lester, 1996:

Baculovirus of *Metapenaeus Bennettiae* from the Moreton Bay Region of Australia Disease of Aquatic Organisms, **27**: 5-58.

3. Lightner D. V., R. M. Redman, 1981: A baculovirus cause disease of penaeid shrimp, *Penaeus monodon*. J. Invertebr Pathol, **38**, 299-302.

4. Max D. Summers, Gale E. Smith, 1978: A manual of methods for baculovirus vectors and insect cell culture procedures, Buletin, **1555**: 10-13.

5. Christopher D. Rhichardson, 1995: Baculovirus expression protocols, p. 322. Humana press Totowa, New Jersey.

6. David R. O'Leilly, Lois K. Miller, 1993: Baculovirus expressions, 132-134. W. H. Freeman and Company, N. Y.

USE THE SF9 INSECT CELL LINE TO STUDY AND DIAGNOSE THE BACULOVIRUSES OF SHRIMP

VAN THI HANH *et al.*

SUMMARY

In Vietnam, virus diseases of shrimp have been spreaded rapidly in shrimp farms, especially in the Mekong river delta and have caused severe damages. The Sf9 insect cell line is used as a rapid diagnostic tool for the detection of baculoviral diseases in shrimp and spread the study on the cure of viral diseases of shrimp.

Ngày nhận bài: 5-1-1999

TẠO CÁ CHẠCH MANG GIEN HOÁC MÔN SINH TRƯỞNG CỦA NGƯỜI

(Tiếp theo trang 28)

The hatching as well as survival rate after 3 days of age of the dechorionated and not dechorionated eggs were 80% (86) and 94% (100), respectively. The dechorionated eggs were transferred into Holtfreter's solution for receiving microinjection of foreign gene introduction. The foreign gene used herein was human Growth Hormone gene in the recombinant plasmid MThGH 111 (which was a gift from the National Institute of Immunology, New Dehli, India). An amount of 2 - 4 nl of MThGH DNA at a concentration of 40 ng/ml, was microinjected into the central part of germinal disc of fertilized egg before the occurrence of its first cleavage. The hatching rate of the foreign gene injected group was 16.3% and 12% for the first and second microinjection, respectively. Whereas, the hatching rate of the not dechorionated and dechorionated group was 60% (67) and 56% (45) for the first and second experiment, respectively. That means the microinjection decreased the hatching rate by 4 - 5 fold. Microinjected fishes were continuously raised, observed and valued. Growth rate analysis after 45 days of age indicated that the microinjected fishes weighted two times more than the not microinjected control groups. Futher analysis of genomic DNA of microinjected fishes is in progress.

Ngày nhận bài: 6-11-1998

MỘT SỐ CHỦNG VI NẤM DIỆT CÔN TRÙNG PHÂN LẬP TỪ CÁC MẪU ĐẤT VÀ CÔN TRÙNG Ở MỘT SỐ ĐỊA PHƯƠNG CỦA NƯỚC TA

HÀ THỊ QUYẾN, TẠ KIM CHÍNH,
NGUYỄN THỊ HỒNG HÀ, HOA THỊ MINH TÚ
Viện Công nghệ sinh học

Ở Việt Nam, từ những năm 70-80, đã có một số công trình nghiên cứu ứng dụng các chủng, các chế phẩm vi nấm để phòng trừ sâu hại [2, 3]. Tuy nhiên việc điều tra, nghiên cứu khu hệ vi nấm diệt côn trùng còn hết sức tản mạn và các công trình công bố còn quá ít.

I. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

- Đất trồng cây thuốc (Tam thất, Sơn thực)

nhận từ Phòng Di truyền vi sinh vật, Viện Công nghệ sinh học, Trung tâm Khoa học tự nhiên và Công nghệ quốc gia.

- Đất trồng mía, đậu, lạc lấy ở xã Tân Dân (Châu Giang, Hưng Yên).

- Đất tổ mối hại cây cảnh ở vườn hoa Lăng Chủ tịch Hồ Chí Minh (Ba Đình, Hà Nội), nhận từ Phòng Các chất có hoạt tính sinh học từ vi sinh vật, Viện Công nghệ sinh học.

Bảng 1

Các mẫu đất và côn trùng bị bệnh

Số TT	Ký hiệu	Loại mẫu	Độ sâu (cm) hoặc vị trí mẫu	Địa điểm lấy mẫu
1	1DL	Đất rỗng đậu lạc	Tầng mặt	Châu Giang Hưng Yên
2	2DL	nt	10	
3	3DL	nt	15	
4	1M	Đất trồng mía	Tầng mặt	
5	2M	nt	10	
6	3M	nt	15	
7	1M4	Đất trồng rau màu	Tầng mặt	
8	Ter1	Đất tổ mối hại cây cảnh	Gốc cây	Vườn cây cảnh Lăng Chủ tịch Hồ Chí Minh Hà Nội
9	Ter2	nt	nt	
10	Ter3	nt	nt	
11	Ter4	nt	nt	
12	Ter5	nt	nt	
13	Ter6	Đất tổ mối hại nhà cửa	Đất tổ mối	
14	S2c	Đất trồng cây sơn thực	Gốc cây	Đại Từ Thái Nguyên
15	S1	nt	nt	
16	TT3	Đất trồng cây tam thất	nt	
17	TT4	nt	nt	
18	Bx	Bọ xít hại cây vải thiều	Bọ xít	Đông Triều Quảng Ninh
19	Qx	Sâu róm hại cây vải thiều	Sâu róm	

- Các mẫu côn trùng bao gồm (sâu róm, bọ xít hại cây vải) ở Đồng Triều (Quảng Ninh).

- Môi trường phân lập và thuần khiết vi nấm: Zapek-Dox, Sabouraud (có bổ sung 5% kháng sinh để ức chế vi khuẩn).

- Dung dịch làm tiêu bản vi học: Lactofenol Amann.

- Kính hiển vi quang học: Olympus-CH2 (CHLB Đức).

- Phân lập và thuần khiết vi nấm theo phương pháp Koch [5, 8].

- Phát hiện và kiểm tra số lượng vi nấm trong 1 g mẫu vật [5].

- Xác định tên các chủng vi nấm theo hình thái bào tử trần (BTT) và cơ quan sinh bào tử trần (Saccardo, 1880, 1886). Khóa phân loại nhóm Blastohyphomycetidae và phân nhóm Euhyphomycetidae, theo Barnett và Hunter, 1971 có sửa đổi của Bùi Xuân Đồng, 1972 [6].

- Để có các đặc điểm hình thái của bào tử trần và cơ quan sinh bào tử trần, các chủng vi nấm đã thuần khiết được nuôi cấy trên môi trường thạch đĩa và lam kính, giữ ở nhiệt độ 26-28°C trong thời gian từ 15 đến 20 ngày.

- Theo dõi tốc độ phát triển của nấm bằng cách đo đường kính của khuẩn lạc trên môi trường thạch đĩa sau khi cấy được 3 ngày, 5 ngày, 7 ngày... và 21 ngày.

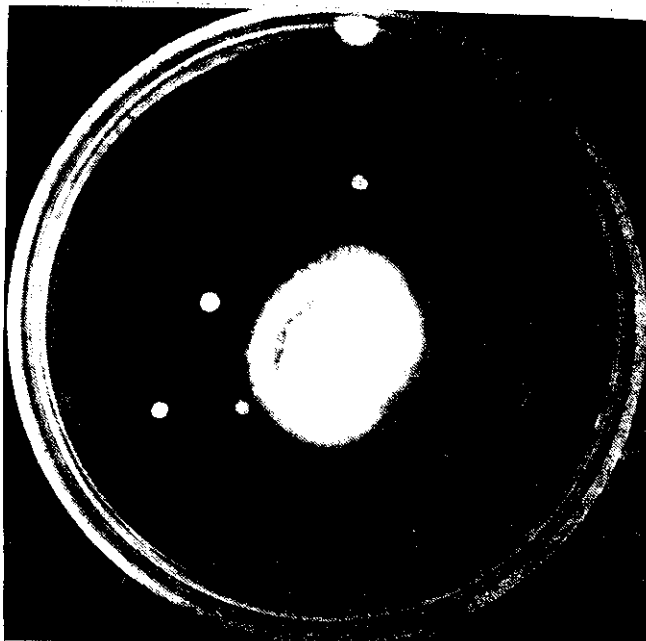
- Dựa vào thang màu (Munsell Hue) để mô tả màu sắc bề mặt khuẩn lạc (ảnh 1).

- Quan sát màu sắc và các nếp nhăn ở mặt trái khuẩn lạc.

- Quan sát màu sắc của sắc tố tiết vào môi trường [4].

- Dạng mặt của khuẩn lạc.

- Chuẩn bị môi trường thạch đĩa Zapek-Dox có bề mặt dày 2 mm, khi thạch đông dùng dao vô trùng cắt thạch thành những mẫu vuông khoảng 2 mm³ rồi đưa lên phiến kính (lam), đặt trên khung hình chữ u trong đĩa petri đã vô trùng. Sau đó, cấy nấm lên 4 cạnh của mẫu thạch rồi đặt lá kính (lamen) lên mẫu thạch (tất cả vô trùng qua ngọn



Ảnh 1. Khuẩn lạc của chủng vi nấm Bx2 (M80)
Beauveria sp.

lửa đèn cồn), giữ ở tủ ẩm 28°C trong 15 ngày.

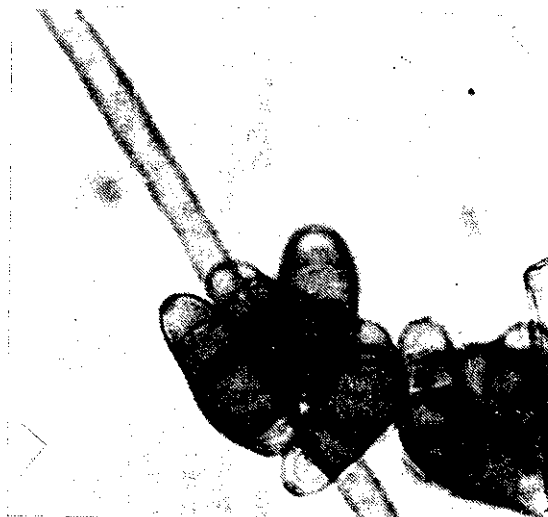
- Sau 3, 5 và 15 ngày, soi tiêu bản đã cấy trên mẫu thạch dưới kính hiển vi quang học. Có thể soi trực tiếp tiêu bản vi nấm hoặc gỡ nhẹ nhàng lá kính rồi đặt lên phiến kính đã có 1 giọt dung dịch lactofenol Amann.

- Quan sát để mô tả hoặc chụp ảnh các đặc điểm vi thể: màu sắc sợi nấm, các vách ngăn ngang trong sợi nấm (nếu có), đo đường kính sợi nấm (bằng máy trắc vi thị kính qua kính hiển vi quang học). Giai đoạn cấu tạo bào tử trần: hình dạng số vách ngăn (ảnh 2), màu sắc, tip bào tử trần, giá bào tử trần và các đặc điểm khác của bộ máy sinh bào tử trần.

- Thử hiệu lực diệt côn trùng [1, 5].

+ Cho 30 - 50 con mỗi vào hộp petri đã lót giấy lọc ẩm (15%). Dùng rây cỡ nhỏ nhất (1 mm × 1 mm) rắc đều bào tử vi nấm lên các đĩa thí nghiệm đã có mỗi với nồng độ bào tử trần là 10⁵ BTT/g chế phẩm. Mỗi chủng vi nấm lặp lại thí nghiệm 3 lần (3 đĩa). Đĩa đối chứng không rắc bào tử. Tất cả đĩa thí nghiệm và đối chứng đều để ở nơi tối, có nhiệt độ 26-28°C và cách xa nhau (ở 2 phòng thí nghiệm khác nhau).

+ Hàng ngày theo dõi sự di chuyển và số lượng cá thể chết ở các đĩa thí nghiệm và đối chứng. Điều chỉnh độ ẩm trong đĩa bằng nước vô trùng.



Ảnh 2. Bào tử trần của chủng vi nấm M4 (*Curvularia* sp.) có từ 3 vách ngăn ngang

II. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

1. Phân tích sự phân bố của vi nấm ở các độ sâu khác nhau của đất trồng trọt (bảng 2), chúng tôi thấy hầu hết vi nấm phân bố ở tầng đất bề mặt (mẫu 1 ĐL và 1M có từ $1,4 \times 10^6$ đến $3,22 \times 10^6$ BTT/g đất). Trong khi đó, ở độ sâu 15 cm (mẫu 3ĐL và 3M) chỉ có từ $0,42 \times 10^6$ đến $0,08 \times 10^6$ BTT/g đất. Số liệu này rất phù hợp với đặc điểm sinh lý của vi nấm nói chung [4].

2. Quá trình điều tra lấy mẫu đất tởm mỗi hại cây cảnh ở Lăng Chủ tịch Hồ Chí Minh (bảng 2) và phân tích mật độ vi nấm, chúng tôi nhận thấy ở những gốc cây bị mối hại nhiều (như Ngâu, Nguyệt quế, Tre, Đào...) có số lượng bào tử vi nấm từ $0,10 \times 10^6$ đến $0,16 \times 10^6$ BTT/g đất. Ở những cây ít bị mối hại (Mai tứ quý, Liễu...) thì số lượng vi nấm lên tới $0,63 \times 10^6$ đến $0,7 \times 10^6$ BTT/g đất. Hiện tượng này có thể là do bị ức chế hoặc xua đuổi mà mối *Coptotermes formosanus* không thể sống được ở những nơi có nhiều vi nấm (*Metarhizium*, *Beauveria*...). Kết quả này phù hợp với một số kết quả nghiên cứu của các tác giả khác [1, 8, 10].

Bảng 2

Phân bố của vi nấm trong đất trồng trọt (Châu Giang, Hưng Yên) và đất tởm mỗi hại cây cảnh (Lăng Chủ tịch Hồ Chí Minh)

Số TT	Kí hiệu mẫu đất	Độ sâu (cm)	Số lượng BTT trong 1 g mẫu	
			Số lượng BTT có màu	Số lượng BTT không màu
1	1ĐL	Tầng mặt	$3,2 \times 10^6$	$0,28 \times 10^6$
2	2ĐL	10	$1,12 \times 10^6$	$0,58 \times 10^6$
3	3ĐL	15	$0,42 \times 10^6$	$0,14 \times 10^6$
4	1M	Tầng mặt	$1,40 \times 10^6$	$0,12 \times 10^6$
5	2M	10	$0,15 \times 10^6$	$0,10 \times 10^6$
6	3M	15	$0,08 \times 10^6$	$0,05 \times 10^6$
7	Ter1	Gốc cây Mai tứ quý	$0,63 \times 10^6$	$0,09 \times 10^6$
8	Ter2	Gốc cây Đào	$0,15 \times 10^6$	$0,10 \times 10^6$
9	Ter3	Gốc cây Liễu	$0,70 \times 10^6$	$0,005 \times 10^6$
10	Ter4	Gốc cây Ngâu	$0,12 \times 10^6$	$0,008 \times 10^6$
11	Ter5	Gốc cây Nguyệt quế	$0,15 \times 10^6$	$0,03 \times 10^6$
12	Ter6	Gốc cây Tre	$0,16 \times 10^6$	$0,14 \times 10^6$

3. Trên cơ sở các đặc điểm hình thái của các chủng vi nấm, nhất là đặc điểm vi thể (bảng 3), chúng tôi nhận thấy ở tất cả các nguồn mẫu phân tích đều có các chi vi nấm *Aspergillus*, *Penicillium* và *Peacilomyces*.

Đặc điểm phân loại của một số chủng vi nấm đại diện phân lập từ các mẫu có nguồn gốc khác nhau

Nguồn gốc mẫu phân tích	Số TT	Ký hiệu chủng vi nấm	Các đặc điểm							Tên khoa học
			Cấu tạo sợi nấm	Bào tử trần			Giá	Khả năng		
				Típ	Hình dạng	Màu sắc				
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
S1 Đất trồng cây sơn thực (Đại Từ, Thái Nguyên)	1	M76	Sợi to, có vách ngang thẳng, phân nhánh thưa mịn	Phialoconidi	Gắn trụ hoặc elip, không ngăn vách	Không màu hoặc vàng nhạt	Nhấn, không ngăn cách	Nhấn hoặc hơi xù xì, đơn độc hoặc bó, thề bình	Mặt trái vàng, mặt phải vàng nâu, dạng bột mịn, không giọt tiết hoặc giọt tiết không màu, mọc vừa phải)	<i>Paecilomyces variotii</i> Bainier
	2	M75	Vách ngang, sợi nhỏ nhánh thưa, từ cong tới thẳng, xấp bông	Phialoconidi	Cầu, gần cầu, trứng, elip	Khi riêng rẽ không màu hoặc màu nhạt, khi tụ lại có màu lục, lục vàng lục, lục xám	Không ngăn vách, nhấn hoặc ráp	Bó giá	Dạng len hoặc xấp bông, có hoặc không có giọt tiết	<i>Penicillium</i> sp.
S2c	3	M79	Sợi to, thẳng, bông xấp	Phialocinidi	Trứng, elip	Vàng, vàng nhạt	Thành cụm rõ rệt, không ngăn vách	Phân nhánh	Vàng, vàng nâu, có giọt tiết vàng trong suốt, bông xấp	<i>Aspergillus flavus</i>
	4	M6		Poroconidi	Trứng tới elip, 1-4 tế bào	Đen	Nhấn	Đơn độc, thẳng, nâu		<i>Spadicoides</i> sp.

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
S2c Đất trồng cây sơn thực (Đại Từ, Thái Nguyên)	5	M26	Không phân nhánh hoặc phân nhánh ít, thưa, sợi to	Phialocinidi	Elip tới thoi	Trắng tới vàng nhạt	Nhấn hoặc hơi xù xì, không ngấn vách, thể bình	Thẻ hình hình chai tạo vòng xoắn, không phân nhánh	Mọc nhanh vừa phải, mịn, dạng bụi, giữa trắng xung quanh vàng sáng, giọt tiết vàng trong	<i>Paecilomyces farinosus</i>
	6	M58	Bất thụ	Arthconidi	Hình trứng dẹt ở 2 đỉnh, chia dốt, dạng chuối	Vàng da cam tới xanh	Nhấn, không ngấn vách, thẳng đứng	Thẳng đứng, phân nhánh ở đỉnh, ngấn vách nhiều lần	Nâu, vàng, da cam, phần vùng rõ rệt	<i>Amblyosporium</i> sp.
TT3 Đất trồng cây tam thất (Đại Từ, Thái Nguyên)	7	M4	Nâu, không phân nhánh hoặc ít	Poroconidi	Ngấn vách ngang, thoi, elip, trứng, cầu	Nâu sẫm	Thẳng hoặc cong, không sẹo ở gốc, có từ 3 đến 4 vách ngang	Đơn hoặc cụm, ngấn vách, nâu	Nâu, nâu đen	<i>Curvularia</i> sp.
	8	M86	Nhỏ, ít phân nhánh, từ trắng tới vàng	Phialoconidi	Elip tới hình thoi	Từ trắng tới vàng	Nhấn, thẳng	Thẻ bình đơn độc	Mọc nhanh vừa phải, dạng bụi mịn, giữa trắng, xung quanh vàng sáng	<i>Paecilomyces fumosoroseus</i>
Ter Đất tỏ mối hại cây trồng (Lăng Chủ tịch Hồ Chí Minh)	9	M69	Có vách ngang, sợi to, thẳng, phân nhánh thưa	Phialoconidi	Cầu, trứng, elip, không vách, nhấn	Vàng chanh, vàng nhạt	Thành cụm rõ rệt, không phân nhánh	Thẳng, không phân nhánh, đơn độc	Mọc nhanh, có giọt tiết vàng trong, mặt khuẩn lạc vàng, vàng tươi	<i>Apergillus oryzae</i>

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Bx Bộ xít hại cây vải thiều (Đông Triều Quảng Ninh)	10	Bx1	Sợi to, thẳng ngang, phân nhánh thưa, có vách ngang	Phialoconidi	Cầu, gần trùng, clip không vách, nhẵn	Vàng chanh, vàng nhạt	Thành cụm rõ, không phân nhánh	Thẳng, không phân nhánh, đơn độc	Mọc nhanh, có giọt tiết vàng trong, mặt khuôn lạc vàng, vàng tươi	<i>Aspergillus oryzae</i>
	11	Bx2 (M80)	Tập hợp thành bó sợi	Sympodulo- conidi	Không vách, không màu, cầu hoặc clip	Nhẵn, mỏng	Đơn độc hoặc cụm dày thành vòng, không màu, không vách, ngoăn ngoèo, răng ngắn	Là tế bào lớn, không ngắn vách, phình to, không màu	Dạng bột mịn, trắng, phát triển chậm	<i>Beauveria</i> sp.
Ox Sâu róm hại cây vải thiều (Đông Triều Quảng Ninh)	12	M23 O1	Rộng, bông tơi trong môi trường, phớt hồng, đỏ tía hoặc vàng	Loài nhỏ Phialoconidi	Loài lớn hình lưới liềm, một hoặc nhiều vách ngắn	Không màu hoặc màu sáng, hơi hồng, tím tía, vàng	Thẻ bình, nhẵn không màu	Biến thiên phân hóa hình thái, phân nhánh không đều hoặc vòng	Trắng tới phớt hồng, tím, vàng nhạt...	<i>Fusarium</i> sp.
Ter6 Đất tồ mối hại nhà cửa Khu tập thờ Dải PT Tiếng nói VN (Đài La, Hà Nội)	13	M13	Nâu nhạt nâu nhẵn mịn, không phân nhánh	Porocomidi	Thoi, thẳng hoặc cong, 4 vách ngang rộng nhất ngắn giữa, đơn độc	Nâu, nâu đen	Thẳng, không màu, không phân nhánh	Đơn độc hoặc cụm, hơi cong, không phân nhánh, ngắn vách	Nâu, nâu đen	<i>Curulania affinis</i>
	14	M15	Nhỏ, ít phân nhánh, trắng	Phialoconidi	Elip tới thoi	Từ trắng tới vàng	Nhẵn, thẳng	Thẻ bình đơn độc	Mọc nhanh vừa phải, dạng bột mịn, giữa trắng, xung quanh vàng sáng	<i>Paecilomyces fumosoroseus</i>
1M4 Đất trồng rau (Châu Giang, Hưng Yên)	15	M50	Không phân nhánh hoặc ít thưa, sợi to	Phialoconidi	Elip tới thoi	Trắng tới vàng nhạt	Nhẵn hoặc xù xì, không ngắn vách	Thẻ bình hình chai, tạo vòng xoắn, không phân nhánh	Mọc nhanh vừa phải, mịn dạng bụi, giữa trắng xung quanh vàng sáng, có giọt tiết vàng trong	<i>Paecilomyces farinosus</i>

Ngoài ra, còn thấy các chi *Spadicoides*, *Curvularia*, *Fusarium* và *Molilla* xuất hiện ở các mẫu S2c (kí hiệu là M6), TT3 (M4), Ter6 (M13) và Qx (M23/Q1 và M73/Q2).

Đặc biệt, ở mẫu Bx (Bx1), chúng tôi đã xác định được một chủng *Beauveria* sp., đây là chủng vi nấm đã được nhiều tác giả nghiên cứu, ứng dụng để phòng trừ nhiều loài côn trùng (bảng 4).

Bảng 4

Khả năng diệt côn trùng của các chủng vi nấm phân lập từ một số loại đất và côn trùng bị bệnh ở Việt Nam

Nguồn gốc mẫu phân tích	Số TT	Ký hiệu chủng vi nấm	Tên khoa học	Hiệu lực diệt mối <i>Coptotermes formosanus</i>
(1)	(2)	(3)	(4)	(5)
S2C	1	M6	<i>Spadicoides</i> sp.	(±)
Đất trồng cây	2	M26	<i>Paecilomyces farinosus</i>	+++
thuốc sơn thực	3	M27	<i>P. sp</i>	+
(Đại Từ,	4	M29	<i>P. sp.</i>	+
Thái Nguyên)	5	M28	<i>Penicillium</i> sp.	
	6	M58	<i>Amblyosporium</i> sp.	
S1	7	M76	<i>Paecilomyces variotii</i> Bainier	+++
Đất trồng cây	8	M77	<i>P. sp.</i>	+
thuốc sơn thực	9	M75	<i>Penicillium</i> sp.	+
(Đại Từ,	10	M79	<i>Aspergillus flavus</i>	++
Thái Nguyên)				
TT3				
Đất trồng cây	11	M4	<i>Curvularia</i> sp. (±)	
thuốc tam thất				
(Đại Từ,				
Thái Nguyên)				
TT4				
Đất trồng cây	12	M86	<i>Paecilomyces fumosoroseus</i>	+++
thuốc tam thất	13	M88	<i>P. sp.</i>	+
(Đại Từ,	14	M96	<i>Penicillium</i> sp.	+
Thái Nguyên)				
Ter (1, 2, 3, 4, 5)				
Đất tổ mối hại	15	M68	<i>Aspergillus</i> sp.	++++
cây trồng	16	M69	<i>Aspergillus oryzae</i>	+
(Lăng Chủ tịch Hồ Chí Minh)				

(1)	(2)	(3)	(4)	(5)
Bx	17	Mx6	<i>Penicillium</i> sp.	+
Bọ xít hại	18	Bx3	<i>P. sp.</i>	+
cây vải thiều	19	Bx1	<i>Aspergillus oryzae</i>	++
(Đông Triều	20	Bx2 (M80)	<i>Beauveria</i> sp.**	++++
Quảng Ninh)				
Qx				
Sâu róm hại	21	M23/Q1	<i>Fusarium</i> sp.	++
cây vải thiều	22	M54/Q1	<i>Penicillium</i> sp.	+
(Đông Triều,	23	M73/Q2	<i>Monilia</i> sp.	(±)
Quảng Ninh)				
Ter6	24	M13	<i>Curvularia</i> sp.	(±)
Đất tổ mối hại	25	M14	<i>C. sp.</i>	(±)
nhà cửa	26	M46	<i>C. sp.</i>	(±)
(Khu tập thể Đài	27	M15	<i>Paecilomyces fumosoroseus</i>	++++
PT Tiếng nói VN,				
Đại La, Hà Nội)				
1M4	28	M50	<i>Paecilomyces farinosus</i>	++++
Đất trồng rau	29	M48	<i>P. sp.</i>	+
(Châu Giang,	30	M1	<i>Aspergillus</i> sp.	+
Hưng Yên)				

** Có hiệu lực diệt côn trùng mạnh nhất

++++ Hiệu lực diệt rất mạnh

+++ Hiệu lực diệt mạnh

++ Hiệu lực diệt trung bình

+ Có hiệu lực

(±) Hiệu lực không rõ

4. Cũng từ bảng 4, chúng tôi thấy, trong số 30 chủng vi nấm thì có đến 24 chủng có khả năng diệt côn trùng. Các chủng còn lại là *Spadicoides*, *Monilia* sp. hầu như không có khả năng diệt côn trùng. Kết quả này rất phù hợp với những nghiên cứu của một số tác giả (Ahmad Saijad, 1990 [1]; Fernandes, John và cộng sự, 1997 [9]).

IV. KẾT LUẬN

1. Từ 19 nguồn mẫu khác nhau, đã tách và thuần khiết được 30 chủng vi nấm.

2. Từ 30 chủng vi nấm, đã phân loại được 8 chi và 7 loài.

3. Trong số 30 chủng vi nấm, đã xác định được 24 chủng có khả năng diệt côn trùng, trong

đó 4 chủng thuộc chi *Paecilomyces* và 1 chủng thuộc chi *Beauveria* có khả năng diệt côn trùng mạnh nhất (bảng 4).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Ahmad Said Sajap and Tez Jan, 1990: Pathogenicity of two entomogenous fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* on termite, *Coptotermes curvinathus*. Forest pest control. Workshop in Thailan, 1-10.

2. Tạ Kim Chính, Nguyễn Đức Khảm, 1995: Tạp chí Sinh học, 17 (4): 17-22

3. Tạ Kim Chính, Lý Kim Bảng, 1995: Tạp chí Sinh học, 32 (4): 10-15.

4. Tạ Kim Chính, 1996: Nghiên cứu tuyển chọn

một số chủng vi nấm diệt côn trùng gây hại ở Việt Nam và khả năng ứng dụng. Luận án PTS, 11-13.

5. Nguyễn Lân Dũng (sách dịch), 1983: Thực tập vi sinh vật học, 145-188, NXB Mir.

6. Bùi Xuân Đồng, 1984: Nhóm nấm Hyphomycetes ở Việt Nam, 5-155. NXB Khoa học và Kỹ thuật.

7. Frank W. A., Slosser J. E., 1990: South

Western Entomologist, 15 (1): 17-78.

8. Fernandes P. M., Alves S. B., 1992: Anis, da sociedade entomological do Brrail, 21 (30): 319-328.

9. Jones W. F., Grace J. K., Tamashiro M., 1996: Enviromental Entomology, 25 (20): 484-487.

10. Pereira R. M., Stimac J. L., Wood L. A., 1994: Journ. of Economic Entomology, 87 (3): 623-630.

ENTOMOPATHOGENIC MICROFUNGI STRAINS, ISOLATED FROM SOIL AND INSECT SAMPLES OF SOME LOCALITIES IN VIETNAM

HA THI QUYEN *et al.*

SUMMARY

From 19 soil and insect samples, we have isolated and purified 30 microfungi strains of 8 genera: *Paecilomyces*, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Spadicoides*, *Amblyosporium*, *Curvularia*, *Fusarium* and *Beauveria*.

Among 30 isolated strains, we have determined:

- Strain M76 is belong to *Paecilomyces variotii* Bainier.
- Strains M26 and M50 are belong to *Paecilomyces farinosus*.
- Strains M86 and M15 are belong to *Paecilomyces fumosoroseus*.
- Strain M79 is belong to *Aspergillus flavus*.
- Strain Bx1 is belong to *Aspergillus oryzae*.

We have also determined that 24 of 30 strains have pathogenous actively for *Coptotermes formosanus* crop-harmful termite species. There are 5 strains which have highest pathogenous activity: 4 strains are belong to *Paecilomyces* and 1 strain is belong to *Beauveria*.

The above results are first step of selection new microfungi strains that have insect pathogenous activity in Vietnam.

Ngày nhận bài: 16-2-1999

ĐẶC TRƯNG SINH TRƯỞNG VÀ NĂNG SUẤT CỦA TẢO LAM SPIRULINA PLATENSIS TRONG NUÔI TRỒNG TĂNG TỐC

TRẦN VĂN TỰA

Viện Công nghệ sinh học

V. E. SEMENENCO

Viện Sinh lý thực vật, Viện Hàn lâm khoa học LB Nga

Sự sinh trưởng và năng suất của vi tảo phụ thuộc vào các yếu tố của môi trường, như ánh sáng, nhiệt độ, pH, các chất dinh dưỡng, cung cấp nguồn cacbon... Trong điều kiện nuôi trồng bình thường, các yếu tố này thường không được phối hợp một cách tối ưu nên năng suất của vi tảo thấp. Nuôi trồng tăng tốc là phương pháp cho phép phối hợp tối ưu và đồng bộ các yếu tố trên nên sinh trưởng và năng suất của vi tảo đạt đến mức tối đa. Ngoài yếu tố môi trường còn cần có chủng tảo thuần, có cường độ quang hợp và khả năng sinh trưởng mạnh khi chiếu sáng cao. Phương pháp nuôi trồng tăng tốc đã được dùng để nuôi tảo *Chlorella*, *Scenedesmus*, *Dunaliella* cho kết quả tốt [2, 5]. Sinh trưởng và năng suất của các loại tảo này đều cao hơn nhiều so với nuôi trồng bình thường. Những dẫn liệu về nuôi trồng tăng tốc tảo lam *Spirulina platensis* còn rất ít, trong khi nó lại là loài được nuôi trồng phổ biến nhất hiện nay.

I. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Thí nghiệm được tiến hành tại Phòng thí nghiệm cơ sở phân tử của sự điều khiển nội bào, Viện Sinh lý thực vật, Viện Hàn lâm khoa học LB Nga.

Đối tượng là tảo lam *Spirulina platensis* (Gom.) Geitler. Tảo được nuôi trong môi trường Zarrouk [7], và lấy ở pha sinh trưởng logarit.

Tốc độ sinh trưởng và năng suất của tảo xác định bằng đo mật độ quang học (Optical Density) của dịch tảo trên máy so màu quang điện, ở bước sóng 560 nm hoặc bằng cân trọng lượng tảo khô, sau khi lọc và sấy ở 105°C trong 16 giờ liên tục.

Nuôi tăng tốc tảo theo phương pháp của Vladimirova và Semenenco [5]. Tảo được nuôi trong bình dẹt hai mặt song song. Dịch tảo được thông khí liên tục bằng không khí có 2% CO₂, chiếu sáng liên tục từ 2 phía bằng đèn huỳnh quang, với tổng cường độ là 40 Klux. Bình nuôi tảo được đặt trong bể nước có nhiệt độ ổn định là 33 ± 1°C, được điều chỉnh bằng role nhiệt.

Nuôi trồng có thu hoạch liên tục: Tảo được thu hoạch liên tục mỗi ngày 1 lần và để lại chừng 1,5 g tảo khô / lít.

II. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

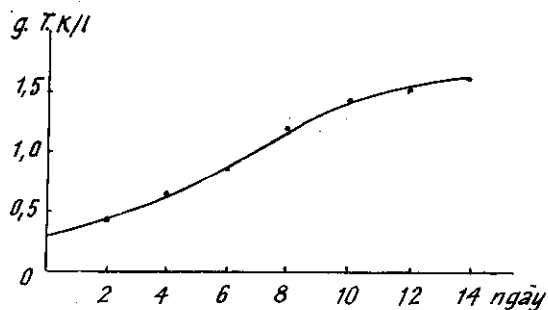
1. Động học sự sinh trưởng của tảo lam *S. platensis*:

Trong điều kiện bình thường, sự sinh trưởng của vi tảo nói chung trải qua các pha như sau:

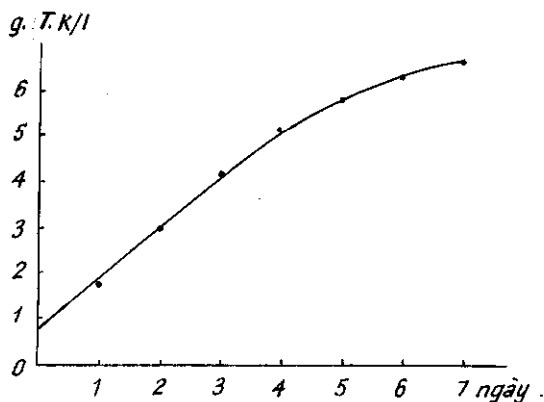
- Pha tích nghi.
- Pha sinh trưởng logarit.
- Pha sinh trưởng thẳng.
- Pha dừng.
- Pha ổn định.
- Pha chết.

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi (đồ thị 1 và 2) cho thấy: trong điều kiện nuôi trồng không tăng tốc, quá trình sinh trưởng của tảo lam có đường cong sinh trưởng điển hình với đặc điểm là thời gian đạt đến pha dừng khá dài (12 ngày) và tích lũy được 1,6 g TK/l. Trong điều kiện nuôi trồng tăng tốc, tảo lam sinh trưởng nhanh ngay từ đầu, nên không thấy pha thích nghi, thời gian đạt tới pha dừng chỉ sau 5 ngày và tích lũy được gần 6 g TK/l.

Để thấy rõ hơn, chúng tôi tính toán thời gian thế hệ (lấy mốc là pha dừng) thì các số liệu này là 8,15 và 1,51 ngày tương ứng. Sự sai khác nhau 5,4 lần.



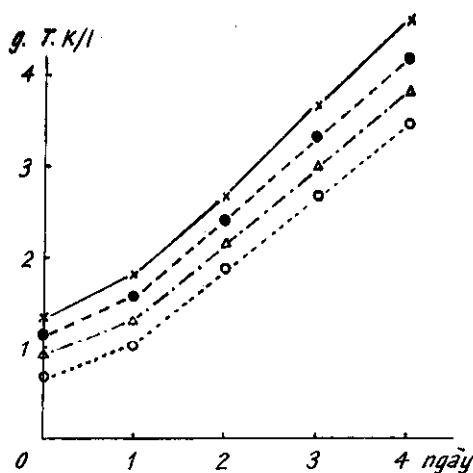
Đồ thị 1. Động thái sự tích lũy chất khô của *Spirulina platensis* trong nuôi trồng không tăng tốc



Đồ thị 2. Động thái sự tích lũy chất khô của *Spirulina platensis* trong nuôi trồng tăng tốc

2. Ảnh hưởng của mật độ gieo cấy ban đầu lên sinh trưởng của tảo lam:

Trong nuôi trồng không tăng tốc, mật độ gieo cấy ban đầu ảnh hưởng rõ rệt lên sinh trưởng của tảo. Tăng mật độ ban đầu không chỉ làm tăng sinh trưởng mà còn làm giảm thời gian của pha thích nghi để chuyển sang các pha sau. Tuy nhiên, khi mật độ quá cao, sẽ làm chậm thậm chí giảm sinh trưởng [1]. Khi nuôi trồng tăng tốc (đồ thị 3), mật độ từ 0,6 g TK/l đến 1,4 g TK/l không ảnh hưởng rõ lên sinh trưởng. Đồ thị biểu diễn sự sinh trưởng của tảo lam theo thời gian, khá song song với nhau. Mật độ cao hoặc thấp hơn ở thí nghiệm này có thể ảnh hưởng nhưng đã không được đặt ra, vì trong nuôi trồng tăng tốc, mật độ ban đầu cần cao hợp lý.

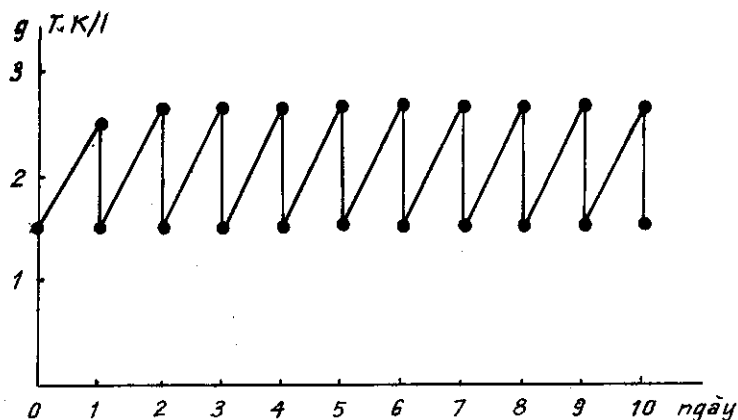


Đồ thị 3. Ảnh hưởng của mật độ gieo cấy ban đầu lên sinh trưởng của *Spirulina platensis* trong nuôi trồng tăng tốc

3. Năng suất của tảo lam trong nuôi trồng có thu hoạch liên tục:

Trong điều kiện nuôi trồng ngoài trời có thu hoạch liên tục, năng suất trung bình của tảo lam *S. platensis* ở trên thế giới khoảng 10 g TK / m² / ngày [6]. Nếu lấy độ sâu trung bình của dịch tảo trong bể nuôi trồng là 10 cm, ta có năng suất 0,1 g TK / l / ngày. Ở Việt Nam, qua theo dõi nhiều đợt sản xuất năng suất cũng không vượt quá 0,08 g TK / l / ngày. Trong nuôi trồng tăng tốc có thu hoạch liên tục (đồ thị 4), chúng tôi thu được 1g TK / l / ngày. Như vậy, so với nuôi trồng không tăng tốc, nuôi trồng tăng tốc làm tăng năng suất từ 8 đến 12 lần. Năng suất này cao hơn dẫn liệu của Pinhevich [3] khoảng 1,5 lần. Sự khác nhau là do nuôi tích lũy và nuôi liên tục. Trong thí nghiệm của chúng tôi, do thu hoạch liên tục, nên mật độ tảo luôn ở mức không quá cao, các tế bào tảo ít bị che khuất ánh sáng lẫn nhau nên tạo điều kiện tốt cho quang hợp và sinh trưởng. Tuy nhiên, năng suất này còn thấp hơn năng suất của *Spirulina maxima* 91,17 g TK / l / ngày) trong nghiên cứu của Samson [4].

Như vậy, trong nuôi trồng tăng tốc, tảo lam *S. platensis* có tốc độ sinh trưởng nhanh, thời gian thế hệ ngắn và cho năng suất thu hoạch cao. Điều rõ ràng là tiềm năng năng suất của tảo lam *S. platensis* còn rất lớn nhưng trong sản xuất, ta mới khai thác được một phần. Trong sản xuất đại trà, điều này khó thực hiện được vì đòi hỏi phải có



Đồ thị 4. Động thái sự sinh trưởng của *Spirulina platensis* trong nuôi trồng tăng tốc có thu hoạch liên tục

thiết bị và chi phí cao nhưng phương pháp này sẽ rất hữu ích cho việc nhân nhanh giống ban đầu với chất lượng tốt để cung cấp cho sản xuất lớn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nguyễn Hữu Thước và cs., 1978: Tảo *Spirulina*, sử dụng và phương pháp nuôi cấy. Báo cáo nghiên cứu khoa học. Sinh vật học, 244-254, Hà Nội.
2. Avdulaevich A. A., 1980: Nghiên cứu sinh lý sinh hóa tảo *Dunaliella salina* nuôi tăng tốc làm chất sản sinh β -caroten. Tóm tắt luận án tiến sỹ sinh học. (tiếng Nga).
3. Pinhevich V. V. et al., 1970: Tạp chí Sinh lý học thực vật, 17 (5): 1037-1046 (tiếng Nga).
4. Samon R. et al., 1985: The Can. J. Chem. engin. 63: 105-112.
5. Vladimirova N. G. và nnk, 1962: Nuôi tăng tốc tảo đơn bào. Matscova (tiếng Nga).
6. Vonshak A. et al., 1988: Biomass, 15: 233-247.
7. Zarrouk C., 1966: Contribution à l' étude d' une Cyanophycée: Influence de divers facteurs physiques et chimiques sur la croissance et la photosynthèse de *Spirulina maxima*. Thèse de doctorat ès sciences appliqués. Paris.

GROWTH CHARACTERS AND PRODUCTIVITY OF *SPIRULINA PLATENSIS* IN INTENSIVE CULTIVATION

TRAN VAN TUA, V. E. SEMENENCO

SUMMARY

In intensive cultivation, the blue green alga *Spirulina platensis* has a rapid growth rate, a short time of generation and a high productivity. That's why, the intensive cultivation is an useful method in order to proporate rapidly the primary culture for mass cultivation.

Ngày nhận bài: 6-12-1998

DIỄN BIẾN CỦA CƯỜNG ĐỘ QUANG HỢP TRONG NGÀY VÀ THEO MÙA CỦA LÁ CÀ PHÊ VỚI TẠI BUÔN MÊ THUẬT (ĐẮC LẮC)

PHAN VĂN TÂN

Trường đại học Tây Nguyên

NGUYỄN VĂN THƯỜNG

Viện Khoa học kỹ thuật Nông Lâm nghiệp Tây Nguyên

Cà phê được coi là cây trồng chủ lực của các tỉnh Tây Nguyên, trong đó cà phê vối (*Coffea canephora* Pierre var. *robusta*) chiếm chủ yếu về diện tích và sản lượng. Những nghiên cứu trước đây đều cho rằng cà phê là cây ưa bóng [1, 3, 4, 6] và việc trồng cây che bóng là bắt buộc. Phạm Quang Anh và cộng sự, 1985 [1] khi nghiên cứu hệ sinh thái của cây cà phê ở Đắc Lắc đã xác định cường độ quang hợp của cây cà phê và ghi nhận: cường độ quang hợp của cây cà phê thuộc loại thấp và có hạt quang hợp rõ rệt vào giữa trưa. Tuy vậy, phương pháp xác định hàm lượng CO₂ lúc đó cho độ chính xác không cao và tác giả chỉ tiến hành trên cây cà phê 2 - 3 năm tuổi, chưa đặc trưng cho thời kỳ cho năng suất cao của cây cà phê. Những điều tra gần đây [2] cho thấy những vườn cây cà phê cho năng suất cao (> 4,5 tấn nhân / ha) đều không có hoặc rất ít cây che bóng. Để đánh giá tiềm năng cho năng suất của cây cà phê, việc xác định cường độ quang hợp trong mối quan hệ với các điều kiện sinh thái của chúng là hết sức cần thiết. Thí nghiệm của chúng tôi chỉ giới hạn ở các nhiệt độ, cường độ ánh sáng, mức độ che bóng (không che hoặc che 100%) ở hai thời điểm đặc trưng cho hai mùa khô và mưa đối với cường độ quang hợp của lá cà phê vối tại Buôn Ma Thuật - Đắc Lắc, hy vọng góp một phần nhỏ giải quyết vấn đề trên.

I. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Đối tượng được chọn là vườn cà phê vối 9 - 10 năm tuổi, tức vào thời kỳ cây cho năng suất ổn định. Vườn có đai chắn gió, không có cây che

bóng, mùa khô được tưới nước đầy đủ và được bón phân ở mức cao (350 kg N, 150 kg P₂O₅, 300 kg K₂O).

Cành không bị che bóng là cành hoàn toàn được ánh sáng trực xạ trực tiếp từ mặt trời. Cành bị che bóng 100% là cành nằm hoàn toàn trong tán cây, hầu như chỉ nhận được ánh sáng tán xạ. Nhiệt độ không khí được xác định bằng nhiệt kế ở độ cao 1,2 m. Cường độ ánh sáng được đo bằng máy đo độ rọi (*luxmeter*). Cường độ quang hợp biểu kiến, cường độ hô hấp được xác định theo lượng CO₂ mất đi hoặc thải ra trong cùng một thời gian, bằng máy phân tích khí hồng ngoại xách tay (Portable CO₂ indicator-RA 411). Máy được nối với một hộp kín bằng thủy tinh có dung tích 2 dm³ chứa lá. Luồng khí đi ra từ hộp được nối vào máy, luồng khí đi ra từ máy được nối vào hộp. Đo ở chế độ trung bình trong 1 phút [5].

Đề đo quang hợp biểu kiến, đưa hộp chứa lá ngoài ánh sáng (theo điều kiện che bóng hay không che bóng).

Đo cường độ hô hấp tiến hành tương tự nhưng hộp được che tối hoàn toàn.

Cường độ quang hợp thực = cường độ quang hợp biểu kiến + cường độ hô hấp (trong cùng thời gian).

Thí nghiệm được tiến hành ở 3 nơi: Trường đại học Tây Nguyên, Viện Khoa học kỹ thuật Nông Lâm nghiệp Tây Nguyên và Công ty cà phê Đoàn Kết. Ở mỗi thời điểm xác định, thí nghiệm được lặp lại 10 lần. Số liệu được xử lý trung bình, độ lệch chuẩn và vẽ đồ thị trên phần mềm EXEL 5.0.

II. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

1. Diễn biến của nhiệt độ và cường độ ánh sáng trong ngày:

Diễn biến của nhiệt độ và cường độ ánh sáng (las) trong ngày 1 - 3 tháng 3 và các ngày 16 - 18 tháng 7 năm 1998 trình bày ở bảng 1.

Bảng 1

Nhiệt độ và cường độ ánh sáng ở vườn cà phê vối tại Buôn Ma Thuật - Đắk Lắk

Thời gian trong ngày (giờ:phút)	1-3/III/1998 (mùa khô)				16-18/III/1998 (mùa mưa)			
	t°C		Ias (× 100 lux)		t°C		Ias (× 100 lux)	
	Trên tán	Trong tán	Trên tán	Trong tán	Trên tán	Trong tán	Trên tán	Trong tán
6 : 00	21,5	21,5	10	kxd	20,2	20,2	4	kxd
6 : 30	21,6	21,6	105	35	20,4	20,4	8,5	2,8
7 : 00	22,0	22,0	210	42	21,6	21,5	35	10
7 : 30	22,2	22,0	235	65	22,8	22,6	98	36
8 : 00	24,5	22,4	300	68	23,2	22,7	160	52
8 : 30	27,0	24,7	600	80	25	23,5	380	66
9 : 00	27,5	25,2	760	97	26,1	24,7	520	85
10 : 00	26,9	25,2	1040	105	26,8	25,4	870	88
10 : 30	27,6	25,2	1580	110	27	26	920	90
12 : 00	33,3	28,6	1550	115	29,2	26,4	1080	97
12 : 30	33,3	28,8	1620	115	28,2	26,3	1260	98
13 : 00	33,5	28,8	1625	120	28	26,2	1250	100
13 : 30	31,6	28,0	1590	85	26,2	25,8	980	87
14 : 00	30,0	27,2	1100	65	25,7	24,9	950	76
14 : 30	27,6	25,6	780	72	23,3	23	830	65
15 : 00	26,2	24,8	690	55	22,4	22	215	19
15 : 30	24,8	24,6	280	35	22,4	22	215	19
16 : 00	24,3	24,6	250	27	21,6	21,2	167	10,5
16 : 30	23,8	23,9	210	15	21,2	21	95	4,2
17 : 00	23,2	23,4	95	8	21	21	6,5	kxd
17 : 30	23,2	23,2	35	6	21	20,8	4,3	kxd

Chú thích: kxd: không xác định được

Bảng 1 cho thấy phần lớn thời gian trong ngày có nhiệt độ trong tán lá luôn thấp hơn nhiệt độ ngoài tán, đặc biệt là thời điểm từ 11 giờ 30 phút đến 14 giờ, nhiệt độ trong tán có lúc thấp hơn nhiệt độ ngoài tán tới 5°C. Trong mùa mưa sự chênh lệch này ít hơn, chỉ từ 2 - 3°C. Nếu coi nhiệt độ thuận lợi nhất cho sự quang hợp của cây cà phê

là 27°C [4] thì từ 11 giờ đến 14 giờ trong mùa khô và từ 11 giờ đến 13 giờ trong mùa mưa, nhiệt độ không khí đã bất lợi cho quá trình quang hợp của cây cà phê, thậm chí nhiệt độ gần đạt tới trạng thái thương tổn đối với lục lạp (> 35°C). Cường độ ánh sáng trong tán luôn thấp hơn và có lúc chỉ bằng 1/16 lần so với cường độ ánh sáng ngoài tán.

Theo Phạm Quang Anh [1], cường độ ánh sáng cực thuận đối sự quang hợp của cây cà phê là 27.000 lux, như vậy phần lớn thời gian trong ngày cường độ ánh sáng mặt trời Buôn Ma Thuột quá dư thừa cho quang hợp của cây cà phê. Tuy nhiên, cường độ ánh sáng trong tán lại chưa đạt tới mức tối thích, nếu không nói là thiếu. Điều đó cũng cho thấy cây cà phê, với tán lá phát triển đầy đủ, đã ngăn cản phần lớn bức xạ ánh sáng của mặt trời.

Tuy nhiên, do sự sắp xếp của tán cây và sự tia cành thường xuyên, gần như không có lá cà phê

nào được nhận toàn phần ánh sáng mặt trời cũng như bị che bóng hoàn toàn trong suốt cả ngày.

2. Diễn biến của cường độ quang hợp trong ngày:

Trong cả hai mùa, cường độ quang hợp biểu kiến và kéo theo là cường độ quang hợp thực ở lá không bị che bóng có độ hụt quang hợp rõ rệt sau giữa trưa (từ 13 giờ đến 14 giờ), đặc biệt vào mùa khô, diễn biến này còn sâu sắc hơn. Ngay cả những lá bị che bóng trong mùa khô diễn biến trên vẫn xảy ra.

Bảng 2a

Diễn biến của cường độ quang hợp trong ngày, trong mùa khô (tháng 2/1998)
($\mu\text{mol CO}_2/\text{m}^2/\text{s}$)

Thời gian trong ngày (giờ : phút)	Không che bóng			Che bóng 100%		
	Quang hợp biểu kiến	Hô hấp	Quang hợp thực	Quang hợp biểu kiến	Hô hấp	Quang hợp thực
6 : 00	-2,0 $\pm$ 20,12	5,58 $\pm$ 0,18	3,83	kxd	3,48 $\pm$ 0,14	kxd
6 : 30	-4,31 $\pm$ 0,28	8,26 $\pm$ 0,22	3,95	-3,75 $\pm$ 0,15	5,62 $\pm$ 0,21	1,87
7 : 00	0	2,57 $\pm$ 0,31	2,57	0	2,40 $\pm$ 0,12	2,40
7 : 30	2,84 $\pm$ 0,40	2,84 $\pm$ 0,22	5,68	0	2,46 $\pm$ 0,14	2,46
8 : 00	5,72 $\pm$ 0,34	2,86 $\pm$ 0,24	8,58	3,72 $\pm$ 0,16	2,78 $\pm$ 0,16	6,50
8 : 30	5,98 $\pm$ 0,40	2,71 $\pm$ 0,16	8,69	5,36 $\pm$ 0,10	3,02 $\pm$ 0,10	8,28
9 : 30	7,63 $\pm$ 0,18	3,60 $\pm$ 0,15	11,32	4,12 $\pm$ 0,10	3,45 $\pm$ 0,15	7,57
10 : 00	6,64 $\pm$ 0,30	3,71 $\pm$ 0,21	10,35	3,95 $\pm$ 0,08	3,66 $\pm$ 0,22	7,61
10 : 30	6,45 $\pm$ 0,28	4,70 $\pm$ 0,18	11,15	3,74 $\pm$ 0,12	4,26 $\pm$ 0,16	8,00
11 : 00	4,87 $\pm$ 0,25	4,82 $\pm$ 0,01	9,69	2,91 $\pm$ 0,11	4,26 $\pm$ 0,12	7,17
11 : 30	3,71 $\pm$ 0,21	4,80 $\pm$ 0,11	8,51	2,68 $\pm$ 0,18	4,30 $\pm$ 0,16	6,98
12 : 00	2,91 $\pm$ 0,19	4,82 $\pm$ 0,12	7,73	2,73 $\pm$ 0,18	4,28 $\pm$ 0,18	7,00
12 : 30	0	4,08 $\pm$ 0,17	4,08	2,24 $\pm$ 0,18	4,02 $\pm$ 0,30	6,26
13 : 00	kxd	kxd	kxd	0	4,52 $\pm$ 0,10	4,52
13 : 30	kxd	kxd	kxd	0	4,48 $\pm$ 0,12	4,62
14 : 00	kxd	kxd	kxd	0	4,62 $\pm$ 0,12	4,62
14 : 30	2,34 $\pm$ 0,10	3,92 $\pm$ 0,26	6,26	2,6 $\pm$ 0,14	3,22 $\pm$ 0,20	5,82
15 : 00	4,14 $\pm$ 0,14	3,68 $\pm$ 0,18	7,82	3,36 $\pm$ 0,10	3,20 $\pm$ 0,15	6,56
15 : 30	4,69 $\pm$ 0,14	3,62 $\pm$ 0,08	8,31	0	2,63 $\pm$ 0,08	2,63
16 : 00	3,32 $\pm$ 0,18	2,45 $\pm$ 0,10	6,77	0	2,60 $\pm$ 0,08	2,60
16 : 30	2,24 $\pm$ 0,20	3,12 $\pm$ 0,14	5,36	0	2,46 $\pm$ 0,08	2,46
17 : 00	0	3,04 $\pm$ 0,10	3,04	0	2,46 $\pm$ 0,06	2,46
17 : 30	0	3,04 $\pm$ 0,10	3,04	0	2,30 $\pm$ 0,06	2,30

Bảng 2b

Diễn biến của cường độ quang hợp trong ngày, trong mùa mưa (tháng 7/1998)
(mmol CO₂/m²/s)

Thời gian trong ngày (giờ: phút)	Không che bóng			Che bóng 100%		
	Quang hợp biểu kiến	Hô hấp	Quang hợp thực	Quang hợp biểu kiến	Hô hấp	Quang hợp thực
6 : 00	kxd	kxd	kxd	kxd	kxd	kxd
6 : 30	-4,02 ± 0,28	7,84 ± 0,10	3,82	-2,07 ± 0,16	5,61 ± 0,04	3,54
7 : 00	-2,90 ± 0,19	3,90	0	2,24 ± 0,08	2,24	
7 : 30	0	2,90 ± 0,19	2,90	0	2,24 ± 0,10	2,24
8 : 00	3,02 ± 0,16	2,86 ± 0,14	5,88	2,90 ± 0,12	2,40 ± 0,08	5,30
8 : 30	6,03 ± 0,10	2,90 ± 0,12	8,93	5,88 ± 0,20	2,96 ± 0,12	8,84
9 : 00	7,56 ± 0,16	2,92 ± 0,04	10,48	6,12 ± 0,22	3,06 ± 0,08	9,18
9 : 30	9,65 ± 0,08	3,32 ± 0,12	12,97	6,15 ± 0,20	3,06 ± 0,08	9,20
10 : 00	7,74 ± 0,10	3,60 ± 0,16	11,34	6,22 ± 0,14	3,10 ± 0,12	9,32
10 : 30	6,40 ± 0,08	4,20 ± 0,12	10,60	6,24 ± 0,14	3,12 ± 0,10	9,36
12 : 00	4,21 ± 0,16	4,21 ± 0,10	8,42	6,40 ± 0,08	3,12 ± 0,08	9,52
12 : 30	3,08 ± 0,16	4,21 ± 0,10	7,29	6,54 ± 0,08	3,16 ± 0,10	9,57
13 : 00	2,58 ± 0,20	4,30 ± 0,06	6,88	6,04 ± 0,12	3,16 ± 0,12	9,20
13 : 30	2,00 ± 0,16	4,32 ± 0,12	6,32	5,02 ± 0,12	3,10 ± 0,10	8,12
14 : 00	2,90 ± 0,20	4,29 ± 0,08	6,29	5,00 ± 0,12	3,10 ± 0,10	7,95
14 : 30	5,02 ± 0,22	4,06 ± 0,10	6,96	4,95 ± 0,15	3,00 ± 0,12	7,95
15 : 00	5,08 ± 0,10	3,92 ± 0,14	8,94	4,90 ± 0,10	3,00 ± 0,12	7,90
15 : 30	4,69 ± 0,14	3,70 ± 0,12	9,50	2,76 ± 0,04	2,64 ± 0,08	3,52
16 : 00	3,40 ± 0,10	3,68 ± 0,12	7,08	2,00 ± 0,04	2,50 ± 0,10	4,50
16 : 30	3,00 ± 0,12	3,60 ± 0,10	6,60	0	2,50 ± 0,10	4,50
17 : 00	0	3,24 ± 0,18	3,24	kxd	2,46 ± 0,10	kxd
17 : 30	kxd	kxd	kxd	kxd	kxd	kxd

Tuy vậy, phần lớn thời gian trong ngày, cường độ quang hợp của lá ngoài sáng thường cao hơn so với lá bị che bóng. Hoạt động quang hợp của lá thuận lợi nhất vào khoảng từ 9 giờ đến 10 giờ 30 sáng và từ 15 giờ đến 15 giờ 30 chiều. Những lá bị che bóng bắt đầu quang hợp biểu kiến muộn hơn và kết thúc sớm hơn so với những lá ngoài ánh sáng. Trong mùa khô, vào thời điểm từ 13 giờ đến 14 giờ, không đo được cả cường độ quang hợp biểu kiến lẫn hô hấp, có lẽ do khí khổng đóng. Hiện tượng đóng khí khổng giữa

trưa đã được Nutman, 1937; Nunes, 1968; Kumar và Tieszen, 1980 đề cập đến khi nghiên cứu trên cây cà phê chè [4]. L. Taiz và E. Zeiger, 1991 cho rằng: khi gặp stress về nước (ở đây do nhiệt độ cao và cường độ ánh sáng mạnh gây ra), axit abscissic (ABA) tự do tăng lên, ABA là chất xuất hiện đầu tiên, điều khiển sự đóng mở của khí khổng. Hàm lượng ABA cao làm khí khổng đóng lại [7]. Với cả hai yếu tố nhiệt độ và ánh sáng cùng thuận lợi, vào mùa mưa, cường độ quang hợp đạt trị số cao hơn ở hầu hết các thời điểm trong ngày và thời

gian hoạt động quang hợp kéo dài hơn.

Cường độ hô hấp của lá cà phê với cũng có sự biến động lớn hơn trong ngày, theo quy luật nhiệt độ không khí tăng thì cường độ hô hấp tăng, đặc biệt vào thời điểm bình minh của ngày CO₂ của lá thải khá lớn (trước 6 giờ 30 sáng). Trong mùa mưa ở những lá không che bóng cường độ quang hợp cũng có một cực tiểu và hai cực đại như trong mùa khô, nhưng không rõ rệt, ở những lá bị che hoàn toàn không có hiện tượng này. Trong mùa mưa, không thấy có sự đóng khí khổng vào giữa trưa, kể cả ở những lá ngoài nắng vì mặc dù cường độ ánh sáng có thấp hơn, nhưng vẫn đạt ở mức cao.

Qua hai bảng (2a và 2b), chúng tôi thấy rằng sự tái sử dụng CO₂ do hô hấp tạo ra, vào ngày quang hợp là rất quan trọng (khi quang hợp biểu kiến bằng 0 nhưng quang hợp thực vẫn có giá trị dương). Trong tự nhiên, rất khó xác định được điểm bù ánh sáng của quang hợp.

III. KẾT LUẬN

1. Cường độ quang hợp của lá cà phê với trong mùa mưa cao hơn trong mùa khô, kể cả giá trị tuyệt đối lẫn thời gian quang hợp trong ngày. Trong cùng một điều kiện cường độ quang hợp của lá ngoài ánh sáng cao hơn lá bị che bóng hoàn toàn.

2. Cường độ quang hợp trong ngày xuất hiện một cực tiểu vào khoảng 13 giờ - 14 giờ đối với những lá ngoài ánh sáng trong mùa khô. Độ hụt quang hợp này phụ thuộc chủ yếu vào nhiệt độ không khí.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Phạm Quang Anh** và ctv, 1985: Hệ sinh thái cà phê Đắc Lắc, tập 1. Báo cáo chương trình nghiên cứu tổng hợp hệ cà phê.
2. **Lê Ngọc Báu**, 1998: Tạp chí Nông nghiệp và Công nghiệp thực phẩm, 6: 250-252.
3. **Byoer J.**, 1968: Café - cacao - thé, XII (4): 303-320.
4. **Cannell M. G. R.**, 1987: Botany biochemistry and production of beans and beverage. In Clifford and Wilon: Coffe, 88-121.
5. **Long S. P.** and **Hallgren J. E.**, 1983: Measurement of CO₂ assimilation by plant in the field and laboratory. In Photosynthesis and Production in Changing Environment.
6. **Nguyễn Sĩ Nghi**, 1985: Cây cà phê ở Việt Nam. NXB Nông nghiệp, Hà Nội.
7. **Taiz L.** and **Zeiger E.**, 1991: Plant physiology. Longman Publ., 430-465.

MEASUREMENT OF DAILY CO₂ ASSIMILATION RATE OF ROBUSTA COFFEE IN BUON MA THUOT (DAC LAC PROVINCE)

PHAN VAN TAN, NGUYỄN VĂN THƯỜNG

SUMMARY

The measurement of CO₂ assimilation rate of 9 - 10 years old Robusta coffee by using Portable CO₂ infrared analyzer (RA-411) was carried out once every 30 minutes. The results showed that the CO₂ assimilation rate of sunny leaves was larger than shade leaves; the rate in the rainy season it was larger than in the dry season. It got two maximum values at 9 - 10 a.m. and 3 - 3.30 p.m., and one minimum value at 1 - 2 p.m. on every day of sunny leaves.

In Buon Ma Thuot, the temperature has more strongly affects to the CO₂ assimilation rate than the light.

Ngày nhận bài: 22-1-1999

MỘT SỐ ĐẶC ĐIỂM SINH HỌC, SINH THÁI VÀ HIỆN TRẠNG HƯƠNG XẠ Ở KHU BẢO TỒN THIÊN NHIÊN HỮU LIÊN

ĐẶNG NGỌC CẦN, NGUYỄN XUÂN ĐẶNG

Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật

Hương xạ là loài động vật hoang đại có ý nghĩa kinh tế cao. Đã từ lâu hương xạ không những được dùng làm thuốc mà còn là một chất định hương tuyệt hảo cho kỹ nghệ nước hoa và xà phòng... Ở Việt Nam, hương xạ chỉ có ở vùng Đông Bắc, chủ yếu là Cao Bằng và Lạng Sơn (Lê Hiền Hào, 1973; Đặng Huy Huỳnh, 1986; Trần Hồng Việt, 1995) nhưng do việc khai thác quá mức, hương xạ trở nên rất hiếm. Sách đỏ Việt Nam (1992) đã xếp hương xạ vào danh sách những loài thú có nguy cơ bị đe dọa tuyệt chủng. Mặc dù hương xạ là loài thú đã được nhà nước ra pháp lệnh cấm săn bắn, cần bảo vệ nhưng thực tế hương xạ vẫn thường xuyên bị đánh bắt để lấy xạ.

Nhiều địa phương ở Cao Bằng, Lạng Sơn trước kia có hương xạ nhưng đến nay không còn hoặc bị khai thác cạn kiệt. Nếu vẫn cứ tình trạng khai thác hương xạ như hiện nay thì trong một tương lai không xa hương xạ sẽ bị tuyệt chủng ở Việt Nam.

I. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Năm 1997-1998, với 7 lần điều tra khảo sát (tổng số 45 ngày).

Khu bảo tồn thiên nhiên (KBTTN) Hữu Liên nằm ở phía Tây Nam tỉnh Lạng Sơn, phía bắc huyện Hữu Lũng, bao gồm xã Hữu Liên và một phần xã Yên Thịnh ở tọa độ địa lý: 21°37' - 21°45' vĩ Bắc, 106°19' - 106°25' kinh Đông. Diện tích tự nhiên là 10.640 ha (trong đó diện tích núi đá là 9734 ha). Là vùng núi đá vôi hiểm trở, địa hình toàn khu như một lòng chảo, bao bọc xung quanh là các đỉnh núi cao và trung bình, có nhiều đỉnh cao trên 500 m. Trung tâm là vùng đồi đất thấp có dân cư sinh sống và là nơi sản xuất nông nghiệp.

Khí hậu KBTTN Hữu Liên chia thành 2 mùa. Mùa mưa từ tháng 4 đến tháng 11 (lượng mưa chiếm 89%), mùa khô từ tháng 12 đến tháng 3 năm sau (lượng mưa chiếm 11%). Nhiệt độ trung bình năm là 22,7°C, cao nhất vào tháng 6 (39,8°C); thấp nhất vào tháng 1 (10°C).

Hữu Liên có 427 hộ gồm 2658 người thuộc 4 dân tộc: Kinh (67,8%), Dao (13,1%), Tày (11,2%), Nùng (7,7%). Cuộc sống chủ yếu của nhân dân trong vùng là trồng lúa, ngô, khoai, sắn. Bình quân lương thực 20 kg/người/tháng. Có 95 hộ nghèo (22,2%), 49 hộ đói (11,4%), 135 hộ trung bình (31,5%), 148 hộ khá (34,6%). Có 9 hộ không có ruộng.

Điều tra phỏng vấn thợ săn và những người đã nuôi hương xạ về sinh cảnh hương xạ hoạt động, số lượng hương xạ (đực, cái) bị bắt và các loài thực vật hương xạ ăn.

Tiến hành các đợt khảo sát thực địa để nghiên cứu sinh cảnh và dấu vết hương xạ hoạt động để lại (phân, dấu chân) để ước tính số lượng hương xạ.

Thu thập cây thức ăn mà hương xạ đã ăn để định tên.

II. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

1. Đặc điểm hình thái hương xạ:

Theo Peter Grubb (1990) trên thế giới có 5 loài hương xạ. Hương xạ ở Việt Nam (*Moschus berezovskii* Flerob, 1929) thuộc họ Moschidae, bộ thú có guốc ngón chẵn Artiodactyla. Loài này chỉ có ở Trung Quốc, Việt Nam.

Kích thước bé hơn hoẵng, khối lượng từ 6 kg đến 10 kg. Nửa thân sau bầu và to, chân sau dài hơn chân trước. Do vậy, hương xạ có dáng đứng cao ở phía sau, hơi gù. Mồm nhọn, tai dài 75-80 mm,

gốc tai hình ống.

Màu lông hơi xám nâu hoặc xám đen, vành tai viền lông đen.

Chi có ngón II và V phát triển gần bằng ngón III và V nhưng mọc chế sang hai bên ở phía sau. Vì thế nên hươu xạ đứng trên đất bằng ở chỗ đất mềm có thể thấy dấu chân gồm 4 vết: 2 lớn, 2 nhỏ (2 vết sau nhỏ vì 2 ngón sau ở vị trí cao hơn). Khi lên dốc thấy dấu chân 2 ngón trước với phần mũi ấn sâu xuống đất.

Hươu xạ không có sừng. Con đực trưởng thành có răng nanh hàm trên phát triển, mọc lộ ra ngoài mép và có tuyến xạ nằm giữa phần rốn và cơ quan sinh dục.

Phân dạng viên, gần giống hạt lạc nhỏ, không dính vào nhau, một đầu tròn, đầu kia hơi nhọn. Đường kính 3-5 mm, dài 6-8 mm. Phân hươu đực màu đen, phân hươu cái màu nâu đen.

2. Nơi sống của hươu xạ:

Hươu xạ sống ở núi đá vôi ở độ cao 200 - 600 m, có sườn dốc, lởm chởm. Trên các sườn núi có các hốc đá có diện tích từ 2 - 3 m², nền đất tối xốp là chỗ ở của hươu xạ.

Hươu xạ chỉ xuống thấp khi thiếu nước, thức ăn hoặc di chuyển nơi ở.

Nơi sống của hươu xạ có thể xếp thành 2 loại sinh cảnh.

- Núi đá phần trên không có rừng cây cao, có nhiều cây bụi mọc xen với cây sậy và các loại cỏ thảo khác. Phần dưới thung lũng là những cây to khép tán.

- Núi đá có những cây cao trung bình, chưa khép tán, thưa thoáng, nhiều cây bụi và cỏ phát triển.

Hươu xạ ít thay đổi nơi sống. Khi có bất lợi hoặc thiếu thức ăn, hươu chuyển đến quả núi gần đó, nhưng một thời gian sau thực vật làm thức ăn phục hồi, hươu lại về nơi cũ.

3. Thức ăn của hươu xạ:

Bước đầu đã xác định được hươu xạ có thể ăn lá, một số quả và hoa của 108 loài thực vật thực thuộc 41 họ, trong đó: họ Hòa thảo (Poaceae):

10,18%, họ Dâu tằm (Moraceae): 8,33%, họ Đậu (Fabaceae): 7,40%, họ Bông (Malvaceae): 7,40% và các họ khác: 66,69%. Nếu xét về dạng cây thì cây thảo có tỉ lệ cao nhất (45,37%) sau đó là cây bụi (34,25%) và cây gỗ (20,37%).

Điều này hoàn toàn phù hợp với nơi sống của hươu xạ trong thiên nhiên: hươu thích sống trên núi đá vôi, rừng thưa, có nhiều cây bụi, cỏ và những khoảng rừng có cây cao trung bình nhưng chưa khép tán.

4. Tỉ lệ đực cái:

Để xác định tỉ lệ hươu xạ đực và cái trong thiên nhiên, chúng tôi thống kê ngẫu nhiên một số hươu đã bị săn bắt (bảng 1).

Bảng 1 cho thấy: Trong số 304 hươu xạ bị đánh bắt có 98 hươu đực và 206 hươu cái như vậy tỉ lệ đực/cái $\approx 1/2$. Có thể kết luận hươu đực trong thời kỳ động dục có thể ghép đôi với ít nhất là 2 hươu cái.

5. Ý nghĩa của hươu xạ và tình hình săn bắt ở Hữu Liên:

a. Ý nghĩa của hươu xạ:

Về môi trường: Cũng như các loài thú có guốc khác, hươu xạ góp phần duy trì, thúc đẩy sự phục hồi và phát triển hệ sinh thái rừng, luôn luôn có mối tương hỗ với các thành phần khác và môi trường xung quanh.

Về khoa học: Hươu xạ ở Việt Nam là một trong 5 loài hươu xạ trên thế giới mà chỉ có ở Trung Quốc và Việt Nam, là nguồn gen quý hiếm của vùng Đông Bắc Việt Nam.

Về kinh tế:

- Cung cấp thịt làm thực phẩm.

- Da hươu xạ làm mũ, túi, áo,...

- Xạ hươu dùng làm thuốc (đây là ý nghĩa kinh tế lớn nhất).

Theo đông y, tuyến xạ đề bào chế thuốc có tác dụng đặc biệt đối với bệnh thổ tả, sởi giật trẻ em, cam lâu mã, tràng nhạc, thấp khớp. Theo Thọ Chấn Hoàng (1962), chất xạ có tác dụng gây hưng phấn trung khu thần kinh nhất là trung khi hô hấp

Bảng 1

Một số trường hợp hươu xạ đực và cái đã bị săn bắt

Số TT	Địa điểm săn bắt Làng (bản), xã, huyện, tỉnh	Số hươu bị bắt		Nguồn thông tin
		Đực	Cái	
1	Hữu Vĩnh, Bắc Sơn, Lạng Sơn	32	86	Trần Hồng Việt (1995)
2	Hữu Vĩnh, Bắc Sơn, Lạng Sơn	6	15	Ông Xuân Liệp
3	Phong Nậm, Trùng Khánh, Cao Bằng	13	27	Ông Hoàng Văn Khóa
4	Thị Trấn Trùng Khánh, Cao Bằng	3	7	Anh Tạ Văn Sơn
5	Cao Chương, Trà Lĩnh, Cao Bằng	12	31	Ông Thính Dầm
6	Hữu Liên, Hữu Lũng, Lạng Sơn	5	2	Anh Triệu Văn Dũng
7	Hữu Liên, Hữu Lũng, Lạng Sơn	0	3	Anh Hoàng Văn Lam
8	Hữu Liên, Hữu Lũng, Lạng Sơn	1	2	Anh Hoàng Văn Linh
9	Yên Vượng, Hữu Lũng, Lạng Sơn	1	1	Ông Nguyễn Hữu Mai
10	Vạn Linh, Hữu Lũng, Lạng Sơn	2	2	Anh Vũ Hồng Thung
11	Ba Lạng, Hữu Liên, Hữu Lũng, Lạng Sơn	1	2	Anh Phan Thanh Quân
12	Ba Lạng, Hữu Liên, Hữu Lũng, Lạng Sơn	1	0	Anh Nguyễn Văn Định
13	Làng Bên, Hữu Liên, Hữu Lũng, Lạng Sơn	2	2	Anh In
14	Làng Bên, Hữu Liên, Hữu Lũng, Lạng Sơn	1	1	Anh Hoàng Văn Thảm
15	Làng Bên, Hữu Liên, Hữu Lũng, Lạng Sơn	1	0	Chị Ngô Thị Thủy
16	Nà Noọc, Hữu Liên, Hữu Lũng, Lạng Sơn	1	1	Anh Trần Văn Ngoan
17	Làng Cướm, Hữu Liên, Hữu Lũng, Lạng Sơn	7	18	Anh Trần Văn Truyền
18	Làng Rọ, Hữu Liên, Hữu Lũng, Lạng Sơn	3	2	Anh Vi Văn Phình
19	Hữu Liên, Hữu Lũng, Lạng Sơn	2	1	Anh Hường
20	Lân Châu, Hữu Liên, Hữu Lũng, Lạng Sơn	1	2	Anh Thanh
21	Lân Đật, Hữu Liên, Hữu Lũng, Lạng Sơn	3	1	Anh Đường
Tổng cộng		98	206	

và trung khu tim mạch. Xạ hươu còn dùng để điều trị bệnh ung thư. Hiện nay ở Trung Quốc có ít nhất 300 loại thuốc có chứa chất xạ.

- Chất xạ được sử dụng trong kỹ nghệ hương liệu nước hoa và xà phòng cao cấp. Pháp đã sử dụng nhiều xạ hươu để sản xuất nước hoa (Nga 1991 xuất sang Pháp 15 kg xạ, 1992 là 7 kg), năm 1994 Nga xuất sang Đức 10 kg xạ.

Nhu cầu sử dụng: Tại hội nghị quốc tế lần thứ nhất về "Sử dụng các loài thú có nguy cơ tuyệt chủng trong y học cổ truyền của các nước Đông Á", tháng 12/97 tại Hồng Kông, cho biết: hàng năm chỉ riêng Trung Quốc cần từ 500 kg đến 1000 kg xạ

hươu. Ngoài ra, Hồng Kông, Nê Pan, Xanhgapo, Nam Triều Tiên, Mỹ,... cũng sử dụng xạ hươu để làm dược phẩm.

b. Số hươu xạ bị săn bắt ở Hữu Liên:

Có nhiều hình thức đánh bắt nhưng chủ yếu là dùng cạm bẫy. Theo thống kê chưa đầy đủ, chỉ trong vòng 4 năm ở KBTTN Hữu Liên đã có 72 hươu xạ bị đánh bắt (1994: 29 con, 1996: 19 con, 1997: 14 con, từ tháng 1 đến tháng 9/1998: 10 con).

c. Nguyên nhân dẫn đến số lượng hươu xạ bị giảm sút nhanh:

- Do giá xạ hươu cao nên người ta tìm mọi cách để bắt.

- Hươu xạ là loài thú sống hẹp sinh cảnh ít thay đổi nơi sống và vùng kiếm ăn nên dễ bị theo dõi.
- Trong quá trình hoạt động hươu để lại dấu vết (phân, thức ăn, dấu chân...) nên dễ bị phát hiện.
- Hươu xạ thường đi kiếm ăn và trở về chỗ ở theo những lối nhất định nên dễ bị thợ săn phát hiện để đặt bẫy.
- Ở trên núi đá hươu nhảy và luồn lách nhanh nhẹn nhưng nếu bị dồn đuổi xuống cánh đồng hươu hoạt động chậm chạp dễ bị đuổi bắt.
- Khi gặp nguy hiểm hươu xạ không chạy một mạch mà cứ chạy 20-30 m lại dừng lại, ngoái cổ nhìn, nghe ngóng nên dễ bị bắn chết.
- Mùa khô lạnh hay mưa, hươu vào hang trú ẩn nên thợ săn lợi dụng đặc điểm này để rình bắt.
- Vào mùa động dục, hươu đực tiết ra xạ hương có mùi thơm nên dễ bị thợ săn phát hiện để

rình bẫy.

6. Ước tính số lượng hươu xạ tại KBTTN Hữu Liên:

Số lượng hươu xạ được xác định dựa trên mật độ phân bố ở các điểm điều tra (bảng 2) và suy diễn ra toàn khu.

KBTTN Hữu Liên có 97,3km² núi đá vôi là sinh cảnh sống của hươu xạ. Như thế số lượng hươu xạ trên toàn KBTTN Hữu Liên là:

$$\frac{97,3 \text{ km}^2 \times 17 \text{ con}}{20 \text{ km}^2} = 83 \text{ con}$$

Tính theo vùng Nà Nọc và Lân Ty (nơi có mật độ cao nhất):

$$\frac{97,3 \text{ km}^2 \times 10 \text{ con}}{9 \text{ km}^2} = 108 \text{ con}$$

Kết luận: ở KBTTN Hữu Liên hiện có từ 83-108 cá thể hươu xạ.

Bảng 2

Số lượng hươu xạ tại các khu vực nghiên cứu

TT	Khu vực nghiên cứu	Diện tích (km ²)	Số hươu xạ (con)	Mật độ tương đối (con/km ²)
1	Lân Ba Mìn	2	2	1
2	Lân Đất	3	2	0,67
3	Lân Châu	3	2	0,67
4	Lân Đô	1	0	0
5	Lân Ty	3	3	1
6	Lân Sóc	2	1	0,5
7	Nà Nọc	6	7	1,17
	Tổng số	20	17	

III. KIẾN NGHỊ BIỆN PHÁP BẢO VỆ VÀ PHÁT TRIỂN HƯƠU XẠ

- Cần tiếp tục và thường xuyên tuyên truyền giáo dục nâng cao hiểu biết về ý thức bảo vệ thiên nhiên của nhân dân. Tăng cường dự án đầu tư hỗ trợ vật chất và khoa học kỹ thuật cho nhân dân trong vùng phát triển kinh tế để họ an tâm

sản xuất, không phá rừng, săn bắt động vật nói chung và hươu xạ nói riêng.

- Bố trí một số lực lượng của nhân dân địa phương tham gia vào công tác quản lý, bảo vệ rừng.
- Cần tăng cường lực lượng kiểm lâm, cán bộ kiểm lâm cần được trang bị tương đối đầy đủ

về kiến thức bảo vệ thiên nhiên và phương tiện làm việc để họ quản lý và bảo vệ rừng hiệu quả.

- Cần phải xử lý phạt nặng, nghiêm khắc với các trường hợp săn bắn, buôn bán các loài động vật quý hiếm, nhất là đối với hươu xạ.
- Cần tiếp tục tiến hành nghiên cứu đặc điểm sinh học, sinh thái của hươu xạ trong tự nhiên làm cơ sở cho việc bảo vệ phục hồi và phát triển chúng. Mặt khác, nên tổ chức thử nghiệm nuôi hươu xạ ở hình thức bán tự nhiên để nghiên cứu quy trình công nghệ nhân nuôi để lấy xạ như ở một số nước đã làm. Ở Lạng Sơn có rất nhiều núi đá vôi, đó là những thuận lợi cơ bản đối với việc gây thả và phát triển hươu xạ ngoài thiên nhiên.

IV. KẾT LUẬN

Trong hệ thống các khu rừng đặc dụng của nước ta duy nhất chỉ có KBTTN Hữu Liên là có hươu xạ sinh sống. Trên thực tế, Hữu Liên cũng là nơi có số lượng hươu xạ lớn. Tuy thế, những năm gần đây hươu xạ vẫn bị đánh bắt, theo ước tính hiện nay ở KBTTN Hữu Liên chỉ còn khoảng 83 - 108 con, một số lượng nhỏ để đảm bảo cho sự tồn tại của loài. Nếu như vẫn khai thác như hiện nay thì chỉ trong tương lai gần sẽ không còn hươu xạ nữa.

Vì vậy bảo vệ quần thể hươu xạ ở KBTTN Hữu Liên là nhiệm vụ vô cùng quan trọng và cấp bách để bảo tồn nguồn gien quý hiếm của cả nước

và chắc chắn cùng với bảo vệ hươu xạ sẽ bảo vệ được nguồn tài nguyên động thực vật quý hiếm khác có mặt trong khu bảo tồn.

Việc bảo vệ, nhân nuôi, phục hồi và khai thác hợp lý hươu xạ là góp phần bảo vệ nguồn gien quý, bảo vệ tính đa dạng sinh học và đây cũng mở ra một hướng chăn nuôi đầy triển vọng làm tăng thu nhập, giảm bớt khó khăn cho người dân, góp phần nâng cao đời sống vật chất, giới hạn hữu hiệu sự khai thác lâm sản, góp phần tích cực bảo vệ rừng và tài nguyên rừng càng thêm hiệu quả.

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, Hà Nội, Tr. 83-84.
2. Đặng Huy Huỳnh, 1986: Sinh học và sinh thái các loài thú có guốc ở Việt Nam. NXB Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội, Tr. 76-81.
3. Lê Hiền Hào, 1973: Thú kinh tế miền Bắc Việt Nam, Tập I. NXB Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội, Tr. 276-290.
4. Trần Hồng Việt, 1995: Hiện trạng hươu xạ (*Moschus berezovski*) Việt Nam. Báo cáo Chương trình KHCN cấp nhà nước KT 0208, 46 tr.
5. Peter Grubb, 1990: Deer Biology and Conservation: Reserch problem. In species survival commission, Deer specialist group newsletter, No. 8, pp. 8-14.

SOME CHARACTERISTICS OF THE BIOLOGY AND STATUS OF MUSK DEER IN HU LIEN NATURE RESERVE

DANG NGOC CAN, NGUYEN XUAN DANG

SUMMARY

Musk deer (*Moschus berezovskii*, Flerov 1929) is an endangered species of Vietnam and in the critical status. Huu Lien Nature Reserve (Lang Son province) is the only protected area for musk deer in Vietnam. Preliminary estimation of about 100 musk deers in Huu Lien Nature Reserve given. Morphological and ecological features of the deer are presented. Reasons of the population dagation and measures for improvement of their conservation are discussed.

Ngày nhận bài: 10-1-1999

NGHIÊN CỨU TÁCH CHIẾT HỢP PHẦN γ -CONGLYXININ TỪ PROTEIN DỰ TRỮ CỦA HẠT ĐẬU TƯƠNG BẰNG PHƯƠNG PHÁP LỌC GEL VÀ SẮC KÝ TRÊN CỘT HYDROXYLAPATIT (HA)

PHẠM QUANG CHINH

Trường đại học Sư phạm Huế

A-LÉCH-XÂY-E-VA M. V.

Trường đại học Tổng hợp Kishinev, Moldova

Protein dự trữ là protein được tích tụ trong hạt khi hạt chín, sau đó được sử dụng khi hạt nảy mầm. Chức năng đặc thù của chúng là sau khi được phân giải cung cấp nguồn axit amin tự do cho phôi để phôi sinh trưởng và phát triển [1]. Chúng thường là globulin. Globulin của hạt cây họ đậu chứa hai thành phần chính là legumin (protein 11S) (phần chủ yếu), vilixin (protein 7S) và các protein thứ yếu khác. Khác với protein 11S đã được nghiên cứu khá đầy đủ, protein 7S được nghiên cứu ít hơn, các số liệu về chúng có những khác biệt [2, 4].

Trong protein 7S đậu tương, ngoài thành phần chính là β -conglyxinin thoát ra ở đỉnh D trong sắc ký trên cột HA có khả năng dimer hóa khi giảm lực ion μ xuống 0,1 có phân đoạn 7S dị sinh khác (protein 7S thứ cấp) có khối lượng phân tử nhỏ hơn là γ -conglyxinin. Phân đoạn này, khi sắc ký protein đậu tương toàn phần trên cột HA, thoát ra ở đỉnh BI ở nồng độ photphat 0,08 M [2]. Cho đến nay chưa có tác giả nào nghiên cứu protein này ở dạng đồng nhất, bởi vì trong các đỉnh từ BI đến BIV ngoài protein 7S thứ cấp còn chứa protein 2S (ở đỉnh BII ứng với nồng độ photphat là 0,105 M) [2].

I. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Hạt đậu tương (*Glycine hyspida*) được bóc vỏ, bỏ mầm, nghiền nhỏ, loại bỏ dầu bằng cách ngâm trong axeton (1 giờ, ở 4-5°C). Bột được phơi khô rồi rây. Hòa tan bột trong đệm photphat 0,1 M, pH 7,6; dùng giấy lọc bỏ tủa rồi mang lên

cột chứa sephadex G-200 trong đệm photphat (như trên). Tốc độ dịch thoát ra 3 - 4 ml/giờ.cm². Dịch thoát ra được thu trong các ống nghiệm trên giá di chuyển tự động. Nồng độ protein được xác định theo độ hấp thụ ánh sáng trên quang phổ kế SFD-2 ở bước sóng 278 nm (E₂₇₈).

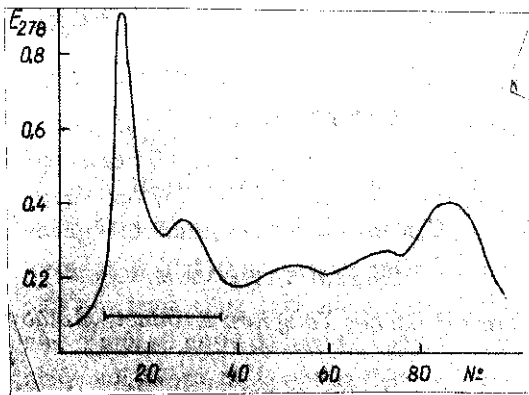
Các phân đoạn protein được chọn ở lọc gel sau khi được kết tủa bằng sunphat amon (SA), thẩm tách loại SA, được cho lên cột chứa chất hấp phụ là HA - [3Ca₃(PO₄)₂.Ca(OH)₂] trong đệm photphat 0,03 M, pH 7,6. Sau khi cho protein vào cột HA, tiếp tục rửa cột bằng đệm photphat 0,03 M. Khi dịch thoát được 60% dung tích cột HA, đặt gradien nồng độ photphat 0,03 M - 0,8 M (đựng trong 2 ngăn thông nhau). Tốc độ chảy 8 ml / giờ.cm². Dịch thoát được thu và xác định nồng độ protein như ở lọc gel.

Điện di được tiến hành trên lớp gel polyacrylamit (PAA) mỏng (0,15 cm), thẳng đứng, nồng độ 7,5%. Dịch đệm chạy điện di là tris-glyxin pH 8,3; thời gian chạy 2 giờ; cường độ 15 mA; điện áp 400 - 600 V; nhiệt độ trong phòng. Sau khi kết thúc chạy điện di, cố định protein (trong gel) bằng dung dịch metanol : nước : axit axetic (5 : 5 : 1) rồi nhuộm bằng dung dịch xanh brilliant 0,1%. Cuối cùng ngâm trong dung dịch axit axetic 7% để tẩy chất nhuộm thừa.

II. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

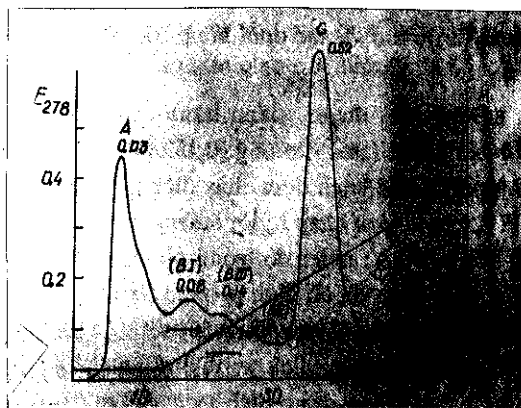
Đề tách chiết γ -conglyxinin từ protein dự trữ của đậu tương, chúng tôi lấy dịch chiết của

protein toàn phần (trong đệm photphat) đem lọc gel qua sephadex G-200. Kết quả lọc gel ở hình 1.



Hình 1. Đồ thị lọc gel qua sephadex G-200 dung dịch protein toàn phần (cột 3 cm × 65 cm; 4 ml / ống nghiệm)

Ta thấy protein toàn phần chia làm 3 phân đoạn: phân đoạn thứ nhất và thứ hai đánh giá theo dung lượng thoát ra, chứa protein cao phân tử 11S và 7S. Phần còn lại chứa protein có khối lượng phân tử thấp trong đó có protein 2S. Để tách chiết protein 7S γ -conglyxinin chúng tôi lấy protein 2 phân đoạn đầu tiên (đoạn kẻ ngang trên hình 1) cho chạy sắc ký trên cột HA sau khi đã kết tủa bằng SA và thẩm tách loại bỏ SA. Kết quả sắc ký ở hình 2.



Hình 2. Sắc ký đồ protein cao phân tử của đậu tương trên cột HA (cột 1,2 × 27 cm, 3,1 ml / ống nghiệm)

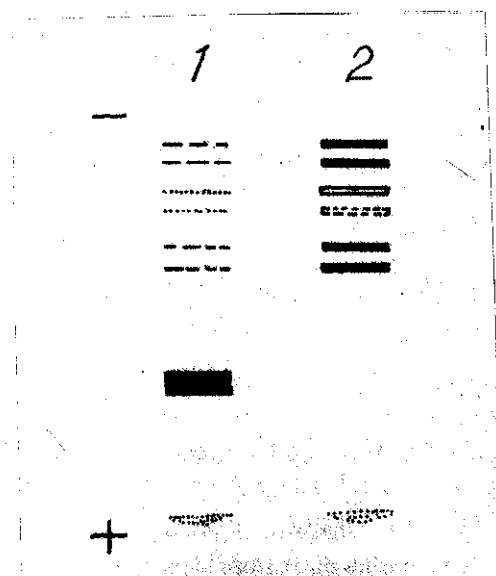
Trên sắc ký đồ ta thấy protein cao phân tử

được chia làm 4 phân đoạn. Phân đoạn thứ nhất thoát ra trước khi đặt gradien nồng độ photphat (0,03 M) không chứa protein (xét theo tỉ lệ $E^{260}/_{280}$). Phân đoạn thứ 2 thoát ra sau khi đặt gradien nồng độ, chia làm 3 đỉnh ứng với nồng độ muối photphat lần lượt là 0,08 M; 0,14 M; 0,19 M. Phân đoạn thứ 3 thoát ra ở 0,32 M và phân đoạn thứ 4 ở 0,43 M.

Theo Shutov và Waintraub, protein toàn phần của đậu tương khi sắc ký trên cột HA chia làm 4 phân đoạn A, B, C, D. Phân đoạn A chứa protein 2S và các chất khác không phải protein. Phân đoạn B chứa protein 2S và protein 7S, phân đoạn C chứa protein 11S và 15S, phân đoạn D chứa protein 7S khác với protein 7S của phân đoạn B ở khả năng dimer hóa khi giảm μ [3]. Cũng theo [3] phân đoạn B chia làm 4 đỉnh: BI, BII, BIII, BIV thoát ra ở nồng độ muối photphat lần lượt là 0,08 M, 0,105 M, 0,15 M, 0,20 M, trong đó có 1 đỉnh (BII ứng với 0,105 muối photphat) là protein 2S. So sánh kết quả của chúng tôi với kết quả của 2 tác giả trên thấy rằng trên sắc ký đồ của chúng tôi không có đỉnh 0,105 M (đỉnh BII) chứa protein 2S - có nghĩa là nó đã bị loại bỏ khi lọc qua sephadex G-200. Như hai tác giả trên đã chỉ ra, protein 7S của đỉnh BI là γ -conglyxinin chứa nhiều protein tạp 2S sau khi sắc ký protein toàn phần của đậu tương, bước tiếp theo của chúng tôi là kiểm tra độ đồng nhất của protein đỉnh BI sau khi đã loại bỏ protein 2S, bằng điện di trên gel PAA. Để tiện so sánh chúng tôi lấy dung dịch protein các phân đoạn BI (0,08 M) và BIII (0,14 M) (các đoạn gạch ngang trên hình 2) kết tủa bằng axit tricloaxetic (5%), rửa tủa bằng axeton rồi hòa tan trong dung dịch lemml (0,06 M tris-HCl, 0,2% mecaptoctanol), đun sôi dung dịch 2-3 phút rồi cho chạy điện di. Kết quả thu được điện di đồ ở hình 3.

Ta thấy protein phân đoạn 0,08 M (đỉnh BI) chứa một vạch đậm và các vạch mờ khác. Các vạch mờ này tương ứng với các vạch của phân đoạn 0,14 M (đỉnh BIII). Như vậy chúng tôi đã thu được phân đoạn protein 7S có khối lượng phân tử thấp là γ -conglyxinin ở dạng tương đối đồng nhất. Các protein tạp khác của γ -conglyxinin có thể bị loại bỏ nếu chúng ta tiến hành sắc ký lại protein

này bởi vì theo độ di động trên gel PAA chúng phù hợp với các vạch của định 0,14 M.



Hình 3. Điện di đồ các phân đoạn protein 0,08 M (1) và 0,14 M (2)

III. KẾT LUẬN

Chúng tôi đã đưa ra một sơ đồ tách chiết hợp phần γ -conglyxinin từ protein dự trữ của đậu tương ở dạng tương đối đồng nhất.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Derbyshire E., Wright J., Boulter D., 1976: Legumin and Vicilin, storage protein of legume seeds. *Phytochem.*, 15, 3.
2. Shutov A. D., 1982: Sự phân giải protein dự trữ trong hạt đậu nành mầm. Luận văn Tiến sĩ khoa học Sinh học, Kishinev. (bản tiếng Nga).
2. Shutov A. D., Waintraub I. A., 1967: Về thành phần phân đoạn B của globulin hạt đậu tương. *Tạp chí Hóa Sinh*, tập 32, số 6, trang 1220-1226 (bản tiếng Nga).
4. Yamauchi F., Sato M., Sato W., Kamata Y., and Shibasaki K., 1981: Isolation and Identification of a New type of β -conglyxinin in soybean globulins. *Agric. Biol. Chem.*, 42, 2863.

ISOLATION STUDY OF γ -CONGLYXININ IN STORAGE PROTEINS OF SOYBEAN

PHAM QUANG CHINH, A-LÊCH-XÂY-E-VA M. V.

SUMMARY

We studied the isolation of γ -conglyxinin in storage proteins of soybean. Used material, performed research methods and obtained results are as following:

Soybean grain were grinded to powder. That powder was steeped in acetone at 4-5°C, 1 hour for excluding oil, then dissolving dry powder in phosphate buffer 0.1 M, pH 7.6, filtering by paper. Obtained fluid was again filtered on sephadex G-200, gel in above phosphate buffer with ran rapidity 3-4 ml / h.cm². Three protein fractions 11S, 7S and 2S were obtained (Fig. 1).

Two collected protein fractions 11S and 7S were precipitated by amonium sulfate, then were performed the chromatography on the hydroxyl apatite (HA) column in phosphate buffer 0.03 M, pH 7.6 with ran rapidity 8 ml / h.cm². Four protein fractions A, B, C, D were obtained (Fig. 2).

Isolated protein fractions after sephadex gel filter and after chromatography on the HA were defined by spectrophotometer at $\lambda = 278$ nm (E_{278}).

Two protein small fractions in large fraction B were isolated for running electrophoresis on polyacrylamide gel 7.5%. Results were shown in fig. 3, in which obtained protein 7S having low molecular weight is γ -conglyxinin with comparative homogenous type (form) and these results were discussed in present paper.

Ngày nhận bài: 18-2-1999

NGHIÊN CỨU MỘT SỐ ĐIỀU KIỆN ẢNH HƯỞNG ĐẾN QUÁ TRÌNH HÌNH THÀNH BÀO TỬ CỦA *BACILLUS THURINGIENSIS*

PHAN BỒN

Viện Vắcxin Nha Trang

Hoạt lực diệt sâu của *Bacillus thuringiensis* và tính ổn định của chế phẩm phụ thuộc rất lớn vào khả năng hình thành của bào tử và số lượng bào tử. Vì thế, chúng tôi tiến hành khảo sát sự tạo thành bào tử ở một số chủng *B. thuringiensis* trong các điều kiện nuôi cấy khác nhau và đã thu được kết quả khá quan.

I. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Chủng giống: Ba chủng *Bacillus thuringiensis* được ký hiệu BT Berline, BT 12 và BL ở dạng đông khô do Viện Vắcxin Nha Trang cung cấp.

Môi trường thí nghiệm gồm:

- Môi trường nhân giống: thạch cơ sở ở dạng bột khô của Đức.

- Môi trường sản xuất:

a. Môi trường 1: thạch - pepton - gluco - nguyên tố khoáng (K_2HPO_4 , $MgSO_4$, $MnSO_4$, $CaCl_2$).

b. Môi trường 2: thạch - pepton - gluco - NaCl.

- Môi trường thạch 7,2: pha theo thường quy của Viện Vắcxin, dùng để đếm độ sống.

Máy móc và các dụng cụ thí nghiệm: Kính hiển vi JENA - Đức, cân phân tích PROLABO - Pháp, pH kế - Đức, tủ ấm JOAN - Pháp, Lò hấp Hungary.

Pha chế môi trường dựa theo thường quy của Viện Vắcxin Nha Trang.

Nuôi cấy theo phương pháp nuôi cấy bề mặt, trên môi trường thạch rắn ở chai Roux.

Quá trình nuôi cấy được tóm tắt như sau:

- Hồi chính chủng đông khô và cấy vào thạch

cơ sở, để ở nhiệt độ $32^\circ C$ 24 giờ.

- Cấy chuyển chủng từ thạch cơ sở sang hộp Roux. Láng đều khắp mặt thạch và để ở nhiệt độ $32^\circ C$.

Sau 48 giờ, 72 giờ và 96 giờ, gặt hỗn dịch vi khuẩn và đem bất hoạt ở nhiệt độ $65^\circ C$ 39 phút, để kiểm tra số lượng bào tử.

- Tiến trình được thực hiện song song giữa hai môi trường 1 và 2 để so sánh.

Để kiểm tra số lượng bào tử tiến hành xử lý hỗn hợp dịch tế bào dựa theo phương pháp xử lý của A. A. Yourten và M. H. Rogoff bằng cách bất hoạt ở nhiệt độ $65^\circ C$ 30 phút rồi đếm khuẩn lạc trên bề mặt môi trường thạch 7,2.

II. KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

1. Sự tạo thành bào tử của chủng *B. thuringiensis* (BT Berline) theo thời gian nuôi cấy, trên hai môi trường khác nhau:

Kết quả trình bày ở bảng 1 cho thấy, trên môi trường 1, ở thời điểm nuôi cấy 48 giờ, số lượng bào tử thu được là thấp nhất $\bar{X} = 16,2.10^{11}$; ở thời điểm 72 giờ, số lượng bào tử đạt $25,3.10^{11}$; đến thời điểm 96 giờ, số lượng bào tử không thay đổi. Trên môi trường 2, cũng cho kết quả tương tự nhưng, ở cả ba thời điểm, số lượng bào tử đều thấp hơn so với trên môi trường 1. Như vậy, môi trường có bổ sung thêm các nguyên tố khoáng đã làm thay đổi quá trình chuyển hóa và kích thích khả năng hình thành bào tử, quá trình tạo thành bào tử đạt đến mức cao nhất vào một thời gian nhất định. Kết quả này phù hợp với nhận xét của một số tác giả trong và ngoài nước [1, 5, 6].

Bảng 1

Kết quả tạo thành bào tử của chủng *B. thuringiensis* (BT Berline) theo thời gian nuôi cấy trên môi trường 1 và 2

Môi trường Thời gian (giờ)	Môi trường 1				Môi trường 2			
	Số lượng bào tử / 1 ml hỗn dịch				Số lượng bào tử/1 ml hỗn dịch			
	Lần thí nghiệm				Lần thí nghiệm			
	1	2	3	X	1	2	3	X
48	18,7.10 ¹¹	19,2.10 ¹¹	10,8.10 ¹¹	16,2.10 ¹¹	4,4.10 ¹¹	1,1.10 ¹¹	4,2.10 ¹¹	3,2.10 ¹¹
72	25,9.10 ¹¹	28,2.10 ¹¹	21,8.10 ¹¹	25,3.10 ¹¹	5,2.10 ¹¹	1,4.10 ¹¹	4,5.10 ¹¹	3,7.10 ¹¹
96	24,2.10 ¹¹	27,2.10 ¹¹	21,1.10 ¹¹	24,3.10 ¹¹	5,1.10 ¹¹	1,5.10 ¹¹	4,5.10 ¹¹	3,7.10 ¹¹

2. Sự tạo thành bào tử của chủng *Bacillus thuringiensis* (BL) theo thời gian nuôi cấy, trên hai môi trường khác nhau:

Kết quả trình bày ở bảng 2 cho thấy, trên môi trường 1, ở thời điểm 48 giờ, chủng *Bacillus thuringiensis* BL có khả năng tạo bào tử cao nhất $X = 49,6.10^{11}$; đến giai đoạn 72 giờ và 96 giờ

không làm gia tăng sự tạo thành bào tử. Trên môi trường 2, khả năng tạo bào tử trong các khoảng thời gian từ 48 giờ đến 96 giờ không có sự khác biệt lớn $X = 6,3.10^{11} - 6,7.10^{11}$ nhưng số lượng bào tử thấp hơn trên môi trường 1. Khả năng tạo bào tử sớm của chủng BL rất có ý nghĩa trong sản xuất.

Bảng 2

Kết quả tạo thành bào tử của chủng *B. thuringiensis* (BL) theo thời gian nuôi cấy trên môi trường 1 và 2

Môi trường Thời gian (giờ)	Môi trường 1				Môi trường 2			
	Số lượng bào tử / 1 ml hỗn dịch				Số lượng bào tử/1 ml hỗn dịch			
	Lần thí nghiệm				Lần thí nghiệm			
	1	2	3	X	1	2	3	X
48	61,2.10 ¹¹	41,2.10 ¹¹	46,5.10 ¹¹	49,6.10 ¹¹	8,0.10 ¹¹	5,1.10 ¹¹	7,0.10 ¹¹	6,7.10 ¹¹
72	57,8.10 ¹¹	39,3.10 ¹¹	39,5.10 ¹¹	45,5.10 ¹¹	7,7.10 ¹¹	4,7.10 ¹¹	6,5.10 ¹¹	6,3.10 ¹¹
96	56,9.10 ¹¹	38,0.10 ¹¹	40,3.10 ¹¹	45,1.10 ¹¹	7,6.10 ¹¹	4,7.10 ¹¹	6,6.10 ¹¹	6,3.10 ¹¹

3. Sự tạo thành bào tử của chủng *Bacillus thuringiensis* (BT12) theo thời gian nuôi cấy trên môi trường 1 và 2:

Kết quả trình bày ở bảng 3 cho thấy, trên môi trường 1, ở thời điểm 48 giờ, số lượng bào tử tạo thành thấp nhất $X = 32.10^{11}$; số lượng bào tử đạt cao nhất ở các thời điểm 72 giờ và 96 giờ $X = 39,4.10^{11} - 39,9.10^{11}$. Trên môi trường 2, cũng cho kết quả tương tự như môi trường 1,

nhưng mức độ tạo thành bào tử ít hơn $X = 6,0.10^{11} - 6,6.10^{11}$.

Tóm lại, với cả ba chủng *Bacillus thuringiensis*, khi được nuôi cấy trên môi trường có bổ sung các nguyên tố khoáng, đều cho khả năng tạo bào tử nhiều hơn. Mức độ tạo bào tử của ba chủng có khác nhau và thời gian để cho số lượng bào tử tạo thành cao nhất tùy thuộc vào mỗi chủng.

Bảng 3

Kết quả tạo thành bào tử của chủng *Bacillus thuringiensis* BT12 theo thời gian nuôi cấy trên môi trường 1 và 2

Môi trường Thời gian (giờ)	Môi trường 1				Môi trường 2			
	Số lượng bào tử / 1 ml hỗn dịch				Số lượng bào tử/1 ml hỗn dịch			
	Lần thí nghiệm				Lần thí nghiệm			
	1	2	3	X	1	2	3	X
48	37,8.10 ¹¹	28,6.10 ¹¹	30,0.10 ¹¹	32,0.10 ¹¹	6,5.10 ¹¹	4,0.10 ¹¹	6,0.10 ¹¹	5,5.10 ¹¹
72	42,5.10 ¹¹	38,8.10 ¹¹	38,5.10 ¹¹	39,9.10 ¹¹	7,2.10 ¹¹	5,1.10 ¹¹	6,6.10 ¹¹	6,3.10 ¹¹
96	42,3.10 ¹¹	39,1.10 ¹¹	36,9.10 ¹¹	39,9.10 ¹¹	7,2.10 ¹¹	501.10 ¹¹	6,1.10 ¹¹	6,1.10 ¹¹

III. KẾT LUẬN

Từ những kết quả trên, chúng tôi rút ra các kết luận sau:

1. Môi trường có bổ sung các nguyên tố khoáng K₂HPO₄, MgSO₄, MnSO₄, và CaCl₂, là cần thiết cho quá trình tạo thành bào tử của các chủng *Bacillus thuringiensis*.

2. Thời gian nuôi cấy để tạo thành số lượng bào tử nhiều nhất, tùy thuộc vào mỗi chủng:

- Thời gian nuôi cấy 72 giờ là thích hợp cho các chủng BT Berline và BT12.

- Thời gian nuôi cấy 48 giờ là thích hợp cho chủng BL.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Liên hiệp Khoa học sản xuất hóa chất Tp. Hồ Chí Minh, 1984: Báo cáo đề tài "Nghiên cứu công nghệ sản xuất thuốc trừ sâu vi sinh *Bacillus thuringiensis*".
2. Nguyễn Lân Dũng, 1981: Sử dụng vi sinh vật để phòng trừ sâu hại cây trồng, tr. 122-166. NXB Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội.
3. Angus T. A., 1954: Nature, 173: 545-546.
4. Angus T. A., 1956: Journal of Microbiology, 416-426.
5. Gollakota K. G., Halvorson H. O., 1960: Journal of Bacteriology, 79: 1-8.
6. Yousten A. A., Togoff M. H., 1960: Journal of Bacteriology, 1229-1236.

SOME CONDITIONS FOR THE SPORULATION OF *BACILLUS THURINGIENSIS*

PHAN BON

SUMMARY

The addition of mineral elements K₂HPO₄, MgSO₄, MnSO₄ and CaCl₂ to the medium culture necessary to increase the sporulation of *Bacillus thuringiensis* and the convenient culture time change according to every *B. thuringiensis* strain: 72 h for BT Berline and BT12 strains, 48 h for BL strain.

Ngày nhận bài: 20-2-1999

NATIONAL CENTRE FOR NATURAL SCIENCE AND TECHNOLOGY OF VIETNAM
JOURNAL OF BIOLOGY
VOLUME 21 - NUMBER 3
9 - 1999

CONTENTS

		<i>Page</i>
1	TA HUY THINH : List and taxonomic keys of the muscid fly species (Diptera: Muscidae) in Vietnam. Part 2: Subfamilies Stomoxyinae, Phaoniinae, Coenosiinae and Mydaeinae.	1 - 8
2	VU XUAN PHUONG : Presence of genus <i>Abelia</i> R. Br. (Caprifoliaceae) in Vietnam. <i>et al.</i>	9 - 10
3	LE DUC MINH : The development of ear abalones ovaries (<i>Haliotis asinina</i>) in Nha Trang bay (Khanh Hoa province).	11-14
4	CHU HOANG MAU <i>et al.</i> : Application of random amplified polymorphic DNA (RAPD) technology in genomic assessment of some mung bean mutant lines.	15-23
5	TRAN QUOC DUNG <i>et al.</i> : Generation of loach (<i>Misgurnus anguillicaudatus</i>) harbouring human growth hormone gene.	24-28
6	HOANG KIM GIAO <i>et al.</i> : Results of frozen bovine embryo transfer in Hanoi and Ha Tay provinces.	29-32
7	VAN THI HANH <i>et al.</i> : Use the SF9 insect cell line to study and diagnose the baculoviruses of shrimp.	33-36
8	HA THI QUYEN <i>et al.</i> : Entomopathogenic microfungi strains, isolated from soil and insect samples of some localities in Vietnam.	37-45
9	TRAN VAN TUA, : Growth Characters and productivity of <i>Spirulina platensis</i> V. E. SEMENENCO in intensive cultivation.	46-48
10	PHAN VAN TAN, : Measurement of daily CO ₂ assimilation rate of robusta coffee NGUYEN VAN THUONG in Buon Ma Thuot (Dac Lac province).	49-53
11	DANG NGOC CAN, : Some characteristics of the biology and status of musk deer NGUYEN XUAN DANG in Huu Lien nature reserve.	54-58
12	PHAM QUANG CHINH : Isolation study of γ -conlycinin in storage proteins of soybean. <i>et al.</i>	59-61
13	PHAN BON : Some conditions for the sporulation of <i>Bacillus thuringiensis</i> .	62-64

TRUNG TÂM KHOA HỌC TỰ NHIÊN VÀ CÔNG NGHỆ QUỐC GIA
TẠP CHÍ SINH HỌC
TẬP 21 - SỐ 3
9 - 1999

MỤC LỤC

		<i>Trang</i>
1	TẠ HUY THỊNH : Danh lục và khóa định loại các loài thuộc họ ruồi nhà (Diptera: Muscidae) ở Việt Nam. Phần 2. Các phân họ Stomoxiinae, Phaoniinae, Coenosiniinae và Mydaeiinae.	1 - 8
2	VŨ XUÂN PHƯƠNG : Phát hiện chi <i>Abelia</i> R. Br. (Caprifoliaceae) có ở Việt Nam. và cộng sự	9 -10
3	LÊ ĐỨC MINH : Sự phát triển buồng trứng của loài Bào ngư vằn tai (<i>Haliotis asinina</i> L., 1758) ở Vịnh Nha Trang, Tỉnh Khánh Hòa.	11-14
4	CHU HOÀNG MẬU : Ứng dụng kỹ thuật phân tích hiện tượng đa hình các phân và cộng sự đoạn ADN được nhân bản ngẫu nhiên (RAPD) vào việc đánh giá bộ gen của các dòng đậu xanh đột biến.	15-23
5	TRẦN QUỐC DUNG : Tạo cá chạch mang gen hoóc môn sinh trưởng của người. và cộng sự	24-28
6	HOÀNG KIM GIAO : Kết quả cấy truyền phôi bò đông lạnh ở Hà Nội và Hà Tây. và cộng sự	29-32
7	VĂN THỊ HẠNH : Sử dụng tế bào côn trùng SF9 để nghiên cứu và chẩn đoán và cộng sự nhanh các baculovirus gây bệnh cho tôm.	33-36
8	HÀ THỊ QUYẾN : Một số chủng vi nấm diệt côn trùng phân lập từ các mẫu đất và cộng sự và côn trùng ở một số địa phương của nước ta	37-45
9	TRẦN VĂN TỰA, : Đặc trưng sinh trưởng và năng suất của tảo lam <i>Spirulina</i> V. E. SEMENENCO <i>platensis</i> trong nuôi trồng tăng tốc.	46-48
10	PHAN VĂN TÂN, : Diễn biến của cường độ quang hợp trong ngày và theo mùa NGUYỄN VĂN THƯỜNG của lá cà phê vối tại Buôn Mê Thuột (Đắk Lắk).	49-53
11	ĐẶNG NGỌC CẦN, : Một số đặc điểm sinh học, sinh thái và hiện trạng hươu xạ ở NGUYỄN XUÂN ĐẶNG khu bảo tồn thiên nhiên Hữu Liên.	54-58
12	PHẠM QUANG CHINH, : Nghiên cứu tách chiết hợp phần γ -conglyxinin từ protein A-LẾCH-XÂY-E-VA M. V. dự trữ của hạt đậu tương bằng phương pháp lọc gel và sắc ký trên cột hydroxylapatit (HA).	59-61
13	PHAN BỒN : Nghiên cứu một số điều kiện ảnh hưởng đến quá trình hình thành bào tử của <i>Bacillus thuringiensis</i> .	62-64