

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

ISSN 0866-7160

tạp chí
SINH HỌC

Journal of Biology

TẬP 24 - SỐ 4

THÁNG 12-2002

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, PHẠM THỊ TRÂN
CHÂU, VŨ QUANG CÔN, NGUYỄN LÂN DŨNG, NÔNG
VĂN HẢI, TRƯƠNG NAM HẢI, ĐẶNG HUY HUỖNH,
NGUYỄN ĐĂNG KHÔI, NGUYỄN THỊ LÊ, PHAN KẾ LỘC,
NGUYỄN TÀI LƯƠNG, LÊ THỊ MUỘI, HOÀNG ĐỨC NHUẬN,
NGUYỄN HỮU PHỤNG, TRẦN DUY QUÝ, NGÔ KẾ SƯƠNG,
ĐẶNG NGỌC THANH, DƯƠNG ĐỨC TIẾN, LÊ XUÂN TÚ,
NGUYỄN VĂN UYÊN

Thư ký tòa soạn : **Trần Thanh Nga**

**PHÂN BỐ THEO ĐỘ CAO CỦA CÁC HỌ RUỒI
MUSCIDAE, CALLIPHORIDAE, SARCOPHAGIDAE
(DIPTERA: BRACHYCERA) Ở VIỆT NAM**

PHẦN 1: CÁC LOÀI BẮT GẬP Ở ĐỘ CAO 700-1200 m

TẠ HUY THỊNH

Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật

Độ cao ảnh hưởng tới sự phân bố của các hệ sinh thái, các loài sinh vật và đặc trưng của nó. Nước ta có nền khí hậu nhiệt đới gió mùa, song ở đai cao có đới khí hậu á nhiệt đới. Đại bộ phận lãnh thổ nước ta là đồi núi, đồng bằng chỉ chiếm 1/5 diện tích. Mặt khác, địa hình đồi núi chia cắt phức tạp và lãnh thổ trải dài qua nhiều vĩ độ tạo nên các vùng có khí hậu khác nhau. Nghiên cứu sự phân bố của côn trùng theo độ cao, tương ứng với thảm thực vật và các vùng sinh thái có ý nghĩa nâng cao hiệu quả bảo vệ đa dạng sinh học của chúng.

I. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Các đới cao được xác định để nghiên cứu là tham khảo theo cách phân chia của Viện điều tra quy hoạch rừng. Chúng bao gồm các độ cao: 0-300 m, 300-700 m, 700-1200 m và trên 1200 m.

Thành phần loài của 3 họ ruồi ở độ cao 700-1200 m được xác định qua các đợt thực địa từ 1995 đến 2001. Mẫu vật được thu thập trong rừng và ven rừng.

Các điểm điều tra nằm trong đới cao nghiên cứu như sau:

- (a) Sa Pa: Các xã dọc tuyến đường Lào Cai - Sa Pa, thuộc huyện Sa Pa (Lào Cai), thu mẫu nơi có độ cao 700-1200 m.

- (b) Điện Biên: Xã Mường Phăng và lân cận thuộc huyện Điện Biên (Lai Châu), thu mẫu nơi có độ cao 800-1200 m.
- (c) Pha Đin: Hai phía của đèo Pha Đin, hướng Thuận Châu (Sơn La) và hướng Tuần Giáo (Lai Châu), thu mẫu nơi có độ cao 800-1200 m.
- (d) Mai Châu: Các xã Chiềng Yên, Tân Sơn, Hang Kia, Pà Cò thuộc huyện Mai Châu (Hoà Bình), thu mẫu nơi có độ cao 900-1100 m.
- (e) Ba Vì: thuộc Vườn quốc gia Ba Vì (Hà Tây), thu mẫu nơi có độ cao 700-1200 m.
- (f) Tam Đảo: thuộc Vườn quốc gia Tam Đảo (Vĩnh Phúc), thu mẫu nơi có độ cao 800-1200 m.
- (g) Bạch Mã: thuộc Vườn quốc gia Bạch Mã (Thừa Thiên Huế), thu mẫu nơi có độ cao từ 700-1200 m.
- (h) Cao nguyên Di Linh: Tuyến đường từ thác Dambri, Bảo Lộc qua Di Linh, Đức Trọng tới thác Prenn (Lâm Đồng), thu mẫu nơi có độ cao 800-1200 m.

Các ký hiệu điểm điều tra (a, b, c, d, e, f, g, h) được sử dụng trong bảng danh sách các loài. Các loài mới cho Việt Nam được đánh dấu sao(*). Dẫn liệu về độ cao đã bắt gặp lấy từ các điều tra từ trước tới nay ở các độ cao khác nhau của Việt Nam [1-8].

II. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

DANH SÁCH CÁC LOÀI THUỘC CÁC HỌ MUSCIDAE, CALLIPHORIDAE, SARCOPHAGIDAE BẮT GẬP Ở ĐỘ CAO 700-1200 m

STT	Tên khoa học	Độ cao bắt gặp ở Việt Nam (m)	Điểm thu mẫu thuộc đới 700-1200 m
(1)	(2)	(3)	(4)
	Họ Muscidae		
1	<i>Atherigona atripalpis</i> Mall.	0-1000	a, b, c, d
2	<i>Atherigona crassiseta</i> (Stein)	400-1800	a, b, c, d
3	<i>Atherigona falcata</i> (Thomson)	0-900	d, g, h
4	<i>Atherigona laocaiensis</i> Shinonaga	900-2000	f
5	<i>Atherigona orientalis</i> Schiner	0-1100	a, b, c, d, e, f, g, h
6	<i>Atherigona oryzae</i> Mall.	0-1100	a, b, c, d, h
7	<i>Atherigona simplex</i> (Thomson)	400-900	h
8	<i>Atherigona ovatipennis vietnamensis</i> Shinonaga	900-2000	f
9	<i>Atherigona setitarsus</i> Shinonaga	900-2000	f
10	<i>Atherigona reversura</i> Vill.	0-900	e, f, h
11	<i>Brontaea ascendens</i> (Stein)	500-1500	h
12	<i>Brontaea nigrogrisea</i> (Karl)	800-2000	b, f
13	<i>Brontaea subtilis</i> (Stein)	900-1500	h
14	<i>Brontaea tonitrui</i> (Wd.)	0-1600	a, b, c, d, f, g, h
15	<i>Dichaetomyia apicalis</i> (Stein)	300-1800	a, d, f, g, h
16	<i>Dichaetomyia aureomarginata</i> Emden*	900-1200	d, f
17	<i>Dichaetomyia bibax</i> (Wd.)	200-2000	a, b, c, d, e, f, g, h
18	<i>Dichaetomyia fulvoapicata</i> Emden	900-1800	d, f
19	<i>Dichaetomyia luteiventris</i> (Rondani)	600-1200	f, h
20	<i>Dichaetomyia melanoteloides</i> Shinonaga	900-2000	a, d, h
21	<i>Dichaetomyia malayana</i> Mall.	900-1200	f
22	<i>Dichaetomyia persimilis</i> Emden*	900-1100	d
23	<i>Dichaetomyia varicaudata</i> Emden	800-1200	a
24	<i>Dichaetomyia xanthodorsalis</i> Shinogana	900-1800	f, h
25	<i>Dichaetomyia vietnamensis</i> Shinonaga	370-1500	a, d
26	<i>Graphomyia maculata</i> (Scopoli)	0-2000	a, b, c, d, e, f, h
27	<i>Graphomyia rufitibia</i> Stein	100-1000	c, d

(1)	(2)	(3)	(4)
28	<i>Graphomyia vittata</i> Stein	400-1200	e, f, h
29	<i>Haematobia exigua</i> de Meijere	0-1600	a, b, d, e, h
30	<i>Haematobosca sanguinolenta</i> (Austen)	0-2000	a, b, c, d, e, f, g, h
31	<i>Helina appendiculata</i> (Stein)	1000-1800	a, c, f
32	<i>Helina hirtifemorata</i> Mall.	900-1200	a, f
33	<i>Heliographa ceylanica</i> (Emden)	300-1800	f
34	<i>Heliographa tonsa</i> (Stein)	800-1800	a, c, f
35	<i>Hydrotaea gandakiana</i> Shinonaga	900-2000	f
36	<i>Hydrotaea meteorica</i> (Linné)	900-2000	f
37	<i>Hydrotaea vietnamensis</i> Shinonaga	900-1200	f
38	<i>Limnophora albonigra</i> Emden	0-1600	a, c, d, f, h
39	<i>Limnophora conica</i> Stein	400-1500	b, d, g, h
40	<i>Limnophora exigua</i> (Wd.)	0-1200	a, d, f, h
41	<i>Limnophora fallax</i> Stein	300-2000	c, f, h
42	<i>Limnophora himalayensis</i> Brunetti	900-1200	f
43	<i>Limnophora minutifallax</i> Lin et Xue	800-2000	a, c
44	<i>Limnophora procellaria</i> (Walk.)	250-1400	c
45	<i>Limnophora prominens</i> Stein	300-1600	h
46	<i>Limnophora vietnamensis</i> Shinonaga	900-2000	c, f
47	<i>Lispe binotata</i> (Becker)	900-1100	d
48	<i>Lispe kowarzi</i> Becker	0-1200	e, f, h
49	<i>Lispe leucopila</i> (Wd.)	0-1500	a, c, d, f, h
50	<i>Lispe longicollis</i> Meigen	0-1100	a, b, c, d, e, f, h
51	<i>Lispe orientalis</i> Wd.	0-2000	a, b, c, d, e, f, g, h
52	<i>Lispe pygmaea</i> Fall.	400-1500	a, f, h
53	<i>Mesembrina aurocaudata</i> Emden	1100	a
54	<i>Morellia hortensia</i> (Wd.)	600-1600	e, f, h
55	<i>Morellia nigrisquama</i> Mall.	300-2000	a, f
56	<i>Musca bezzii</i> Patt. et Cragg.	300-2000	b, d, e, f, h
57	<i>Musca conducens</i> Walk.	0-2000	a, b, c, d, e, f, g, h
58	<i>Musca confiscata</i> Speiser	0-900	d, f, h
59	<i>Musca convexifrons</i> Thomson	0-2000	a, b, c, d, e, f, g, h
60	<i>Musca craggi</i> Patton	0-900	f, h
61	<i>Musca crasirostris</i> Stein	0-1500	a, b, c, d, e, f, g, h
62	<i>Musca domestica</i> Linné	0-2000	a, b, c, d, e, f, g, h

(1)	(2)	(3)	(4)
63	<i>Musca fletcheri</i> Patt. et S.- W.	0-1100	a, b, c, d, e, f, g, h
64	<i>Musca formosana</i> Mall.	200-1500	b, c, d, e, f, g, h
65	<i>Musca hervei</i> Vill.	0-1200	a, h
66	<i>Musca inferior</i> Stein	0-1200	a, b, c, d, e, f, g, h
67	<i>Musca seniorwhitea</i> Patton	0-900	h
68	<i>Musca sorbens</i> Wd.	0-1600	a, b, c, d, e, f, g, h
69	<i>Musca ventrosa</i> Wd.	0-1800	a, b, c, d, e, f, g, h
70	<i>Musca xanthomelas</i> Wd.	900	h
71	<i>Myospila argentata</i> (Walk.)	300-1200	d, f
72	<i>Myospila laevis</i> (Stein)	300-1900	a, b, c
73	<i>Myospila lauta</i> (Stein)	500-900	d
74	<i>Myospila nigra</i> Shinonaga	500-1200	f
75	<i>Myospila pseudoelongata</i> Shinonaga	900-1200	a, c
76	<i>Myospila pseudopudica</i> Shinonaga	170-2000	a, f
77	<i>Myospila pudica</i> Mall.*	600-1000	d, g, h
78	<i>Myospila rufitarsis</i> Shinonaga	500-1200	f
79	<i>Myospila tenax</i> (Stein)	800-2000	a
80	<i>Neomyia claripennis</i> (Mall.)	0-1000	a, b, c, d, e, f, g, h
81	<i>Neomyia coeruleifrons</i> (Macq)	0-1500	a, b, c, d, e, f, g, h
82	<i>Neomyia diffidens</i> (Walk.)	900-1500	d, f
83	<i>Neomyia fletcheri</i> (Emden)	1100-2000	a, h
84	<i>Neomyia gavis</i> (Walk.)	800-1900	a, f
85	<i>Neomyia indica</i> (Rob.- Des.)	0-1500	a, b, c, d, e, f, g, h
86	<i>Neomyia timorensis</i> (Rob -Des.)	0-2000	a, b, c, d, e, f, g, h
87	<i>Neomyia yunnanensis</i> (Fan.)	400-900	d, e
88	<i>Ophyra chalcogaster</i> (Wd.)	0-2000	a, b, c, d, e, f, g, h
89	<i>Ophyra obscurifrons</i> Sabrosky	0-900	e, f
90	<i>Ophyra spinigera</i> Stein	0-2000	a, b, c, d, e, f, g, h
91	<i>Pygophora trimaculata</i> Karl	800-2000	a, h
92	<i>Pyrellia cadaverina</i> (Linné)	700-1800	a, f, h
93	<i>Rypellia flavipes</i> Mall.	900-2000	f, h
94	<i>Stomoys calcitrans</i> (Linné)	0-2000	a, b, c, d, e, f, g, h
95	<i>Stomoxys indica</i> Picard	0-1000	h
96	<i>Stomoxys pulla</i> Austen	200-1000	h
97	<i>Synthesiomyia nudiseta</i> (Van de Wulp)	0-1100	a, b, d, f, h

(1)	(2)	(3)	(4)
	Họ Calliphoridae		
98	<i>Bengalia chekiangensis</i> Fan.	1100-1400	f
99	<i>Bengalia escheri</i> Bezzi	400-1000	e, f
100	<i>Bengalia taiwanensis</i> Fan.	900-1600	f, h
101	<i>Bengalia varicolor</i> (Fabr.)	200-1350	b, d, g, h
102	<i>Borbororhinia bivittata</i> (Walk.)	450-1700	a, c, g, h
103	<i>Borbororhinia laojanae</i> K.et T.	300-1500	h
104	<i>Catapicephala sinica</i> Fan.	200-1100	b, c, f, h
105	<i>Chlororhinia exempta</i> (Walk.)	200-1200	c, d, f, h
106	<i>Chlororhinia fuscohirta</i> Mall.	300-1200	f
107	<i>Chrysomyia chani</i> Kurahashi	0-1900	a, b, c, d, e, f, g, h
108	<i>Chrysomyia megacephala</i> (Fabr.)	0-2000	a, b, c, d, e, f, g, h
109	<i>Chrysomyia nigripes</i> Aubertin	200-1700	f, h
110	<i>Chrysomyia pinguis</i> (Walk.)	700-1700	a, b, f, g, h
111	<i>Chrysomyia rufifacies</i> (Macq.)	0-1800	a, b, c, d, e, f, g, h
112	<i>Chrysomyia thanomthini</i> K.et T.	1000-1900	a, f, h
113	<i>Chrysomyia villeneuvei</i> Patton	200-1700	e, f, g, h
114	<i>Cosmina bicolor</i> (Walk.)	500-1200	f
115	<i>Cosmina biplumosa</i> (S. -W.)	300-1200	f
116	<i>Dexopollenia luteola</i> (Vill.)*	900-1100	d
117	<i>Dexopollenia yuphae</i> Kurahashi	900-1500	f, h
118	<i>Hemipyrellia ligurriens</i> (Wd.)	0-1700	a, b, c, d, e, f, g, h
119	<i>Hypopygiopsis infumata</i> (Bigot.)	50-1700	d, f, g, h
120	<i>Hypopygiopsis tumrasvini</i> Kurahashi	200-1700	f, g, h
121	<i>Idiella divisa</i> (Walk.)	200-1400	d, g, h
122	<i>Idiella mandarina</i> (Wd.)	200-1500	a, c, d, g, h
123	<i>Idiella tripartita</i> (Bigot)	900-1300	f
124	<i>Isomyia electa</i> (Vill.)	300-1200	a, c, f
125	<i>Isomyia fuscialis</i> James*	600-1400	d, g, h
126	<i>Isomyia isomyia</i> (Séguy)	800-1700	h
127	<i>Isomyia oetracea</i> (Séguy)	300-1100	d
128	<i>Isomyia prasina</i> (Bigot)	200-1500	h
129	<i>Isomyia viridana</i> (Townsend)*	600-1700	f, h
130	<i>Isomyia viridaurea</i> (Wd.)	800-1500	g, h
131	<i>Lucilia bazini</i> Séguy	0-1200	a, b, d, e, f, h

(1)	(2)	(3)	(4)
132	<i>Lucilia calviceps</i> Bezzi	0-1000	h
133	<i>Lucilia cuprina</i> (Wd.)	0-1500	a, b, d, f, g, h
134	<i>Lucilia hainanensis</i> Fan.	50-1200	f, h
135	<i>Lucilia papuensis</i> Macq.	500-1700	a, b, c, d, e, f, g, h
136	<i>Lucilia porphyrina</i> (Walk.)	0-1900	a, b, c, d, e, f, g, h
137	<i>Lucilia sinensis</i> Aubertin	0-1200	c, d, f
138	<i>Melinda scutellata</i> (S. -W.)	800-1500	d, f, h
139	<i>Polleniopsis dalatensis</i> Kurahashi	900-2000	h
140	<i>Phumosi coomani</i> (Séguy)	50-1600	c, d, e, f, g, h
141	<i>Phumosi indica</i> Surcouf*	600-1700	h
142	<i>Rhinia apicalis</i> (Wd.)	450-1500	a, c, d, f, h
143	<i>Rhyncomyia setipyga</i> Vill.	200-1500	c, e, f, h
144	<i>Silbomyia asiatica</i> Croskey	900-1100	a, d, f
145	<i>Stomorphina discolor</i> (Fabr.)	50-1800	a, b, c, d, e, f, g, h
146	<i>Stomorphina melastoma</i> (Wd.)	200-1500	h
147	<i>Stomorphina procula</i> (Walk.)	300-1900	a, c, d, f, h
148	<i>Stomorphina siamensis</i> K. et T.	200-1500	h
149	<i>Stomorphina xanthogaster</i> (Wd.)	200-1500	c, f, h
150	<i>Strongyloneura prolata</i> (Walk.)*	800-1700	h
151	<i>Sumatria chiekoae</i> K. et T.	300-1200	f
152	<i>Tainanina sarcophagoides</i> (Mall.)	600-1700	h
	Họ Sarcophagidae		
153	<i>Amobia auriceps</i> (Baranov)	900	d
154	<i>Blaesoxipha rufipes</i> (Macq.)	50-800	h
155	<i>Boettcherisca nathani</i> Lopes	150-2000	a, b, c, d, f, g, h
156	<i>Boettcherisca peregrina</i> (R. -D.)	0-1000	c, d, f, h
157	<i>Fengia ostindicae</i> (S. -W)	400-1200	a, f
158	<i>Lioproctia pattoni</i> (S. - W.)	0-1200	f, h
159	<i>Metopia sauteri</i> (Townsend)	170-1200	a, d
160	<i>Metopia tshernovae</i> Rohd.	900	d
161	<i>Miltogramma iberica</i> (Vill.)	50-900	b, d, e
162	<i>Parasarcophaga albiceps</i> (Meigen.)	0-2002	a, b, c, d, e, f, g, h
163	<i>Parasarcophaga aratrix</i> (Padelle)	900-1200	f
164	<i>Parasarcophaga brevicornis</i> (Ho.)	0-1200	a, d, h
165	<i>Parasarcophaga hirtipes</i> (Wd.)	400-1300	h

(1)	(2)	(3)	(4)
166	<i>Parasarcophaga iwuensis</i> (Ho.)	150-1200	a
167	<i>Parasarcophaga javana</i> (Macq.)	250-2000	d, f
168	<i>Parasarcophaga misera</i> (Walk.)	0-1500	a, b, c, d, g, h
169	<i>Parasarcophaga taenionota</i> (Wd.)	50-1200	a, b, c, d, f, h
170	<i>Parasarcophaga yunnanensis</i> Fan.	50-900	d
171	<i>Phallosphaera graveli</i> (S. -W.)	900-2000	a, f, g
172	<i>Sarcodendrofia antilope</i> (Bott.)	800-1800	a, d
173	<i>Sarcosolomonina hai</i> Kano et Kurahashi	900-1200	f
174	<i>Senotaenia navigatrix</i> (de Meijere)*	800	h
175	<i>Seniorwhitea princeps</i> (Wd.)	0-1400	b, c, d, f, h

Ba họ Ruồi Muscidae, Calliphoridae và Sarcophagidae có vị trí phân loại gần nhau, có nhiều điểm tương đồng về sinh thái và tập tính nên có thể xem xét cùng nhau. Các loài ruồi thuộc 3 họ này có phân bố liên quan đến rừng nhưng không chịu tác động trực tiếp của từng thực vật mà bị chi phối bởi nhiều thành phần khác nhau trong hệ sinh thái rừng.

Bài báo này còn thiếu dẫn liệu ở dãy núi vòng cung Đông Bắc và khối núi Kon Tum - Quảng Ngãi nên chưa đề cập đến phân bố địa lý động vật. Trong 8 điểm điều tra với độ cao từ 700-1200 m, có 1 điểm thuộc Hoàng Liên Sơn là dãy núi phân cách khu Đông Bắc với khu Tây Bắc, 3 điểm thuộc khu Tây Bắc, 2 khối núi thuộc khu Đông Bắc, 1 điểm cuối khu Bắc Trường Sơn và 1 điểm thuộc Cực Nam Trung bộ.

Từ các điểm điều tra có độ cao 700-1200 m, đã thu được 175 loài ruồi, chiếm 61,7% tổng số loài đã ghi nhận của 3 họ ruồi này ở Việt Nam.

Dẫn liệu về độ cao đã bắt gặp cho thấy phần lớn các loài ruồi có dải phân bố độ cao khá rộng. Chúng tôi nhận thấy những loài phân bố rộng theo độ cao chính là các loài bắt gặp ở nhiều nơi hoặc nói cách khác là phân bố rộng theo chiều ngang. Khả năng phát tán theo độ cao của các loài này dao động khoảng 1000-2000 m, tính trung bình trên 1500 m. Đồng thời, các loài có dải phân bố theo độ cao hẹp đi thì khả năng phân bố theo chiều ngang cũng hẹp đi.

Trong số 175 loài ruồi thu thập được ở độ cao 700-1200 m, thực chất chỉ có 18 loài chỉ

bắt gặp ở đới cao này. Chúng bao gồm: ở Sa Pa có 2 loài (*D. varicaudata*, *M. aurocaudata*), ở Mai Châu có 5 loài (*D. persimilis*, *L. binotata*, *D. luteola*, *A. auriceps*, *M. tshernovae*), ở Tam Đảo có 5 loài (*D. malayana*, *H. vietnamensis*, *L. himalayensis*, *P. aratrix*, *S. hai*), ở cao nguyên Di Linh có 2 loài (*M. xanthomelas*, *S. navigatrix*), cùng thấy ở Tam Đảo và Sa Pa có một loài (*H. hirtifemorata*), cùng thấy ở Mai Châu, Tam Đảo có 1 loài (*D. aureomarginata*), cùng thấy ở Sa Pa và Phadín có 1 loài (*M. pseudoelongata*), cùng thấy ở Mai Châu, Sa Pa, Tam Đảo có 1 loài (*S. asiatica*). Chưa thấy sự đồng thời bắt gặp các loài này ở miền Bắc và miền Nam. Có thể sau này có một loài nào đó trong số 18 loài trên được phát hiện thêm ở những độ cao khác, nhưng cho tới nay, tạm coi đây là những loài đặc trưng cho đới cao 700-1200 m. Sự phân bố rời rạc của chúng thể hiện dấu ấn tác động của địa hình chia cắt, một trong những cơ sở tạo thành các loài đặc trưng cho các vùng sinh thái.

Ngoài 18 loài nói trên, số liệu điều tra cho thấy có 53 loài chỉ phân bố tới đới cao 700-1200 m và có 37 loài chỉ phân bố từ đới cao này trở lên. Theo Vũ Tự Lập (1979), vành đai nhiệt đới ở miền Bắc Việt Nam lên tới độ cao 600-700 m, ở miền Trung là 700-800 m, ở Tây Nguyên là 800-900 m, tiếp theo là vành đai á nhiệt đới [9]. Theo kết quả nghiên cứu của chúng tôi, đới cao 700-1200 m có thể coi là một đới trung chuyển tính ưa độ cao của các loài ruồi.

Trong danh sách 175 loài đã nêu, có 9 loài

được ghi nhận lần đầu, bổ sung cho khu hệ Việt Nam. Đó là các loài: *Myospila pudica* Mall., *Dichaetomyia persimilis* Emden, *Dichaetomyia aureomarginata* Emden (Họ Muscidae), *Dexopollenia luteola* (Vill.), *Isomyia fascialis* James, *Isomyia viridana* (Townsend), *Strongyloneura prolata* (Walk.), *Phumosia indica* Surcouf (Họ Calliphoridae), *Senotaenia navigatrix* (de Meijere) (Họ Sarcophagidae).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Kano R., T. H. Thinh, H. Kurahashi, 1999: Bull. Nat. Sci. Mus. Tokyo, 25(2): 129-141.
2. Shinonaga S., T. H. Thinh, 1999: Jpn. J. Syst. Entomol., 5(2): 273-289.
3. Shinonaga S., T. H. Thinh, 2000: Jpn. J. Syst. Entomol., 6(1): 37-58.
4. Shinonaga S., T. H. Thinh, 2000: Jpn. J. Syst. Entomol., 6 (2): 183-197.
5. Tạ Huy Thịnh, 1998: Tạp chí Sinh học, 20 (2): 13-20.
6. Tạ Huy Thịnh, 1999: Tạp chí Sinh học, 21 (3): 1-8.
7. Tạ Huy Thịnh, 2000: Động vật chí Việt Nam, Tập 6. NXB Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội.
8. Tạ Huy Thịnh, 2001: Tạp chí Sinh học, 23 (2): 1-6.
9. Vũ Tự Lập, 1979: Địa lý tự nhiên Việt Nam. NXB Giáo dục, Hà Nội.

ALTITUDINAL DISTRIBUTION OF MUSCIDAE, CALLIPHORIDAE AND SARCOPHAGIDAE (DIPTERA: BRACHYCERA) IN VIETNAM

PART 1: THE SPECIES AT ALTITUDES OF 700-1200 m

TA HUY THINH

SUMMARY

The present paper records 175 species of Muscidae, Calliphoridae and Sarcophagidae from eight localities at altitudes of 700-1200 m in Vietnam. However, most of them were previously recorded from various altitudes and only 18 species are characteristic for the altitudinal zone of 700-1200 m. Nine of the 175 species collected are new for Vietnam and these newly recorded flies are preceded by asterisks in the list.

Ngày nhận bài: 15-12-2001

TÌNH HÌNH NHIỄM KÝ SINH TRÙNG Ở MỘT SỐ LOÀI RẮN NƯỚC THƯỜNG GẶP THUỘC HỌ COLUBRIDAE Ở VIỆT NAM

NGUYỄN THỊ LÊ, NGUYỄN THỊ MINH,
PHẠM VĂN LỤC, PHẠM NGỌC DOANH

Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật

Họ Rắn nước (Colubridae) ở Việt Nam bao gồm nhiều loài, trong đó có một số loài rất phổ biến được dùng làm thuốc, thức ăn đặc sản và xuất khẩu, như: rắn ráo thường - *Ptyas korros*, rắn bông trung quốc - *Enhydris chinensis* và rắn liu điu - *Enhydris plumbea*.

Trong những năm gần đây, Phòng Ký sinh trùng - Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật đã nghiên cứu ký sinh trùng ở các loài bò sát tại một số tỉnh miền Bắc Việt Nam. Bài báo này phân tích tình hình nhiễm ký sinh trùng ở 3 loài rắn thuộc họ Rắn nước Colubridae.

I. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Rắn được thu mua tại các hộ buôn rắn và được mổ khám bằng phương pháp mổ khám toàn diện của Skrjabin.

Mẫu sán lá, sán dây, giun đầu gai, chân khớp được bảo quản trong cồn 70°; mẫu giun tròn bảo quản trong dung dịch formol 4%. Mẫu vật lưu trữ tại Phòng Ký sinh trùng - Viện Sinh

thái và Tài nguyên sinh vật.

II. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

1. Tỷ lệ và cường độ nhiễm ký sinh trùng ở các loài rắn nước

Kết quả mổ khám 157 rắn ráo thường, 173 rắn bông trung quốc và 160 rắn liu điu cho thấy cả 3 loài rắn bị nhiễm giun sán với tỷ lệ và cường độ nhiễm khá cao. Tỷ lệ nhiễm cao nhất là ở rắn liu điu 98,8%, tiếp đến rắn bông trung quốc là 97,7% và thấp nhất ở rắn ráo thường là 83,4% (bảng 1). Ngoài ra, cả 3 loài rắn đều bị nhiễm đơn bào với tỷ lệ thấp hơn: 1,3% ở rắn ráo thường, 9,4% ở rắn bông trung quốc và 4,3% ở rắn liu điu. Rắn ráo thường còn bị nhiễm chân khớp (loài *Railietiella orientalis* Hett, 1915) với tỷ lệ 1,9%.

Đối với từng lớp giun sán thì cả 3 loài rắn đều nhiễm sán lá với tỷ lệ cao nhất từ 72-96,9%, tiếp đến là giun tròn 32,5-57,5%, thấp nhất là sán dây 0,6-7,6% và giun đầu gai 1,3-1,9%.

Bảng 1

Tỷ lệ và cường độ nhiễm giun sán ở 3 loài rắn thuộc họ Rắn nước ở Việt Nam

Vật chủ	Số lượng mổ	Tỷ lệ nhiễm đơn bào	Tỷ lệ nhiễm chân khớp	Tỷ lệ nhiễm giun sán								
				TL nhiễm chung	Sán dây		Sán lá		Giun tròn		Giun đầu ga	
					%	CD	%	CD	%	CD	%	CD
<i>P.korros</i>	157	1,3	1,9	83,4	7,6	1-5	72,0	1-299	32,5	1-50	1,9	1-8
<i>E.chinensis</i>	173	9,4	-	97,7	0,6	1-1	96,0	1-246	41,6	1-19	-	-
<i>E.plumbea</i>	160	4,3	-	98,8	1,9	1-2	96,9	1-81	57,5	1-16	1,3	1-1

Ghi chú: TL: tỷ lệ; %: tỷ lệ nhiễm; CD: cường độ nhiễm

2. Thành phần loài ký sinh trùng ở các loài rắn nước

Kết quả phân tích đã xác định được 27 loài ký sinh trùng thuộc 22 giống, 15 họ, 9 bộ, 6 lớp, 5 ngành, trong đó có 1 loài đơn bào, 1 loài sán dây, 9 loài sán lá, 14 loài giun tròn, 1 loài giun đầu gai và 1 loài chân khớp (bảng 2).

Ở rắn ráo, tìm thấy 16 loài ký sinh trùng, rắn bông trung quốc gặp 13 loài và rắn liu điu gặp 10 loài. Chỉ có 4 loài ký sinh trùng ký sinh chung cả ở 3 loài rắn là *Trypanosoma* sp., *Encyclometra asymmetrica*, *Singhiatrema*

vietnamensis và *Paurophillum simplexus*, còn mỗi loài rắn có các loài ký sinh trùng đặc trưng riêng. Điều này có liên quan đến môi trường sống và thức ăn của từng loài rắn.

Hầu hết các loài sán lá và giun đầu gai ký sinh tìm thấy ở các loài rắn nước đều phát triển với sự tham gia của vật chủ trung gian là các loài động vật không xương sống ở nước như ốc, Copepoda.... Một số loài còn gặp ở các nhóm động vật khác như: *Isoparorchis* sp., *Diplodiscus amphichrus*, *Acanthocephalus ranae*.. còn gặp ở cá, ếch nhái.

Bảng 2

Thành phần loài ký sinh trùng ở các loài rắn nước ở Việt Nam

TT	Tên loài ký sinh trùng	<i>P. korros</i>	<i>E. chinensis</i>	<i>E. plumbea</i>
1	Lớp Mastigophora			
	Họ Trypanosomatidae			
	<i>Trypanosoma</i> sp.	+	+	+
2	Lớp Cestoda			
	Họ Ophiotaeniidae			
	<i>Ophiotaenia nattereri</i> (Paton, 1911)		+	
3	Lớp Trematoda			
	Họ Isoparorchidae			
	<i>Isoparorchis</i> sp.		+	
4	Họ Acanthostomatidae			
	<i>Atrophecoecum burminis</i> (Bhalerao, 1940)		+	+
5	Họ Diplodiscidae			
	<i>Diplodiscus amphichrus</i> Tubangui, 1933		+	
6	Họ Plagiorchiidae			
	<i>Allopharynx tropidonoti</i> (Mc Callum, 1918)			+
7	<i>Encyclometra asymmetrica</i> Wallace, 1936	+	+	+
8	<i>Paurophillum simplexus</i> Byrd, Parker et Reiber, 1940	+	+	+
9	Họ Ommatobrephidae			
	<i>Ommatobrephus lobatum</i> Mehra, 1928	+		+
10	<i>Singhiatrema vietnamensis</i> Curran et al., 2001	+	+	+
11	Họ Cyathocotylidae			
	<i>Szidatia taiwanensis</i> (Fischthal and Kuntz, 1975)		+	+

TT	Tên loài ký sinh trùng	<i>P. korros</i>	<i>E. chinensis</i>	<i>E. plumbea</i>
	Lớp Nematoda			
	Họ Capillariidae			
12	<i>Capillaria murinae</i> Travassos, 1914	+		
13	<i>Capillaria</i> sp.		+	
	Họ Rhabditiidae			
14	<i>Rhabdias</i> sp.	+		
15	<i>Ophiorhabdias</i> sp.	+		
	Họ Diaphanocephalidae			
16	<i>Kalicephalus alatospiculus</i> Oschmarin et Demchin, 1972	+		
17	<i>K. indicus</i> Ortlepp, 1923	+		
18	<i>K. najae</i> Mapleston, 1921	+		
19	<i>K. nankingensis</i> Hsu, 1934	+		
20	<i>Kalicephalus</i> sp.		+	
	Họ Gnathostomatidae			
21	<i>Tanqua tiara</i> (Linstow, 1879)		+	
	Họ Thelaziidae			
22	<i>Agamospirura</i> sp.	+		
	Họ Camallanidae			
23	<i>Camallanus lacustris</i> (Zoega, 1776)		+	
24	<i>Zeylanema anabatis</i> Yeh, 1960		+	
	Họ Dracunculidae			
25	<i>Dracunculus oesophagea</i> (Polonio, 1859)			
	Lớp Acanthocephala			
	Họ Echinorhynchidae			
26	<i>Acanthocephalus ranae</i> (Schrank, 1788) Luhe, 1911	+		+
	Lớp Pentastomida			
	Họ Cephalobaenidae			
27	<i>Raillietiella orientalis</i> (Hett, 1915)	+		

III. KẾT LUẬN

1. Đã phát hiện 27 loài ký sinh trùng gồm: 1 loài đơn bào, 1 loài sán dây, 9 loài sán lá, 14 loài giun tròn, 1 loài giun đầu gai và 1 loài chân khớp. Trong đó có 1 loài sán lá được Curran et

all. 2001 mô tả là mới đối với khoa học: *Singhiatrema vietnamensis* Curran[[6]].

2. Chỉ có 4 loài ký sinh chung ở cả 3 loài rắn, còn mỗi loài rắn có thành phần ký sinh trùng đặc trưng riêng: rắn ráo thường tìm thấy 16 loài ký sinh trùng, rắn bông trung quốc - 13

loài, rắn liu điu - 10 loài. Sự khác biệt này có liên quan đến đời sống và thức ăn của từng loài vật chủ.

3. Tỷ lệ nhiễm giun sán ký sinh ở rắn khá cao: cao nhất là rắn liu điu - 98,8%, rắn bông trung quốc - 97,7% và thấp nhất ở rắn ráo - 83,4%. Cả 3 loài rắn đều bị nhiễm đơn bào với tỷ lệ thấp hơn và riêng loài rắn ráo thường còn bị nhiễm chân khớp *Raillietiella orientalis* (Hett, 1915).

4. Trong số 4 lớp giun sán thì tỷ lệ nhiễm sán lá cao nhất 72-96,9%, tiếp đến là giun tròn 32,5-57,5%, thấp nhất là sán dây 0,6-7,6% và giun đầu gai 1,3-1,9%.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nguyễn Thị Lê và cs., 1998: Tạp chí Sinh học, 20 (1): 12-18.
2. Nguyễn Văn Sáng, Hồ Thu Cúc, 1996: Danh lục bò sát ếch nhái Việt Nam, NXB Khoa học kỹ thuật, Hà Nội.
3. Sharpilo V. P., 1976: Parasitic worms of reptile fauna of the USSR, -287 p. Publ. House Naukova Dumka, Kiev (in Russian).
4. Skrjabin, 1949: Sán lá ký sinh ở người và động vật, tập III. NXB Matcova, tr, 310-315 (tiếng Nga).
5. Skrjabin, 1955: Sán lá ký sinh ở người và động vật, tập X. NXB Matcova: 276-286 (tiếng Nga).
6. Stephen S. Curran et al., 2001: Parasitol., 68 (2): 219-227.

PARASITE INFECTION IN SOME COLUBRID SNAKES IN VIETNAM

NGUYEN THI LE et al.

SUMMARY

157 individuals of *Ptyas korros*, 173 individuals of *Enhydryis chinensis* and 160 individuals of *Enhydryis plumbea* were examined for parasites. The result indicated that the helminth infection rate was quite high: 98,8% in *Enhydryis chinensis*, 97,7% in *Ptyas korros* and 83,4% in *Enhydryis plumbea*. All 3 snake species were infected with Protozoa (*Trypanosoma* sp.) at 1,3%, 9,4% and 4,3% in *Ptyas korros*, *Enhydryis chinensis* and *Enhydryis plumbea*, respectively. Only *Ptyas korros* was infected with Athropoda (*Raillietiella orientalis* (Hett, 1915)) at 1,9%.

Among these helminths, Trematoda and Nematoda were more frequently collected, meanwhile Cestoda and Acanthocephala were much rare, their respective infection rates were at 72-96,9%, 32,5-57,5%, 0,6-7,6% and 1,3-1,9%. Twenty-seven species of parasites were collected, including Protozoa-1, Cestoda-1, Trematoda - 9, Nematoda-14, Acanthocephala- and Athropoda-1.

Every species of these snakes had it's own fauna of parasite: *Ptyas korros* was infected with 16 species of parasites, *E. chinensis* - 13 and *E. plumbea* - 10.

Ngày nhận bài: 26-8-2001

BỔ SUNG MỘT CHI MỚI *Schnabelia* HAND.-MAZZ. (HỌ VERBENACEAE) CHO HỆ THỰC VẬT VIỆT NAM

VŨ XUÂN PHƯƠNG

Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật

Năm 1999, khi nghiên cứu hệ thực vật ở khu bảo tồn thiên nhiên Hang Kia - Pà Cò thuộc tỉnh Hoà Bình, chúng tôi đã phát hiện một chi mới cho hệ thực vật Việt Nam (*Schnabelia* Hand.-Mazz.) thuộc họ Verbenaceae. Chi *Schnabelia* phát hiện thấy ở Trung Quốc với hai loài. C. Y. Wu (1977) trong Thực vật chí Trung Quốc xếp nó trong họ Lamiaceae, gần đây S. L. Chen & G. Gilber lại xếp trong họ Verbenaceae. Xem các đặc điểm của chi này, chúng tôi thấy chúng được xếp trong họ Verbenaceae là hợp lý. Dưới đây là các đặc điểm nhận biết của chi *Schnabelia* và loài *Schnabelia oligophylla* Hand.-Mazz. gặp ở Việt Nam.

Schnabelia Hand.-Mazz. - Tứ làng thảo

Hand.-Mazz. 1921. Akad. Wiss. Wien. Math. Nat. Kl. Anz. 58: 92; S. L. Chen & M. G. Gilbert, 1994. Fl. China, 17: 47.

Cỏ nhiều năm. Thân vuông, có cánh mỏng viền dọc các lông thân. Lá đơn mọc đối, mép xẻ răng cưa hay xẻ thùy nông, thường sớm rụng. Cụm hoa ở nách lá, ít hoa hay tiêu giảm chỉ còn 1 hoa. Lá bắc nhỏ. Đài hình chuông, ống ngắn, có 8-10 gân dọc ống, 4-5 thùy xẻ sâu gần bằng nhau, hình mác hay hình dùi; đài đồng trường theo quả. Tràng có ống dài hơn đài, xẻ 5 thùy tạo thành 2 môi: môi trên 2 thùy ngắn, môi dưới 3 thùy với thùy giữa lớn hơn hai thùy bên. Nhị 4, thường thò dài khỏi tràng; chỉ nhị dính trên ống tràng. Bầu 4 ô, mỗi ô 1 noãn; vòi nhụy xẻ 2 thùy ở đỉnh. Quả nang mở bằng 4 van cho 4 hạch nhỏ.

Typus: Schnabelia oligophylla Hand.-Mazz.

Có 2 loài phân bố ở Trung Quốc. Việt Nam gặp một loài.

Schnabelia oligophylla Hand.-Mazz. - Tứ làng thảo

Hand.-Mazz. 1921. Akad. Wiss. Wien. Math. Nat. Kl. Anz. 58: 92; id. 1936. Symb. Sin. 7: 909; G. Chen, 1964. Acta Phytotax. Sin. 9(1): 9; id. 1977. Fl. Reip. Pop. Sin. 65(2): 85; S. L. Chen & M. G. Gilbert, 1994. Fl. China, 17: 47.

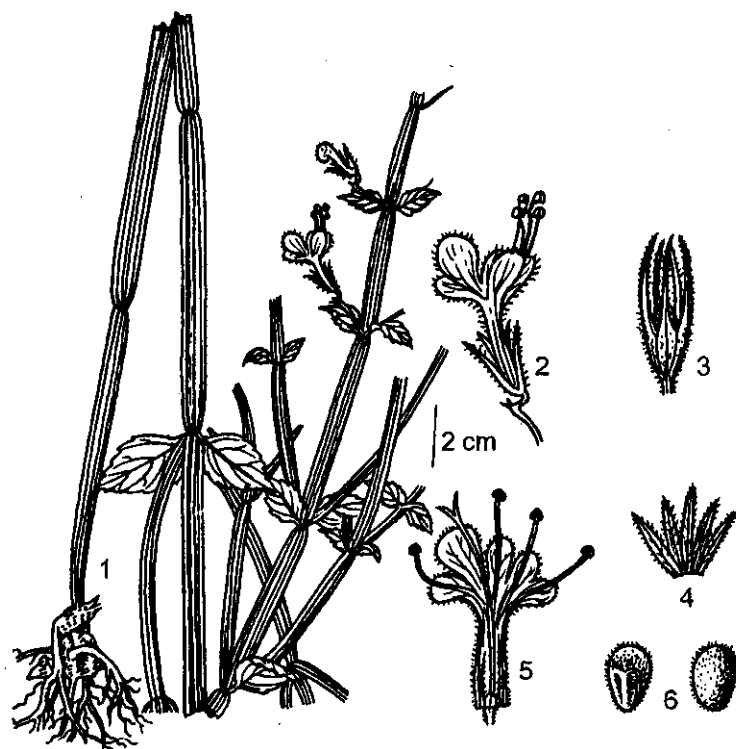
Cỏ nhiều năm, mọc đứng hay bò, cao 60-100 cm. Thân vuông có cánh mỏng dọc theo lông, nhẵn hay có lông rải rác ở các đốt, lông dài 3-8 (-12) cm. Lá hình trái xoan, trái xoan-tam giác hay thuôn, cỡ 1-5 × 0,8-2 cm; chóp lá nhọn hay tù; gốc lá hình nêm, gần tròn hay gần hình tim; mép lá xẻ răng cưa; cả 2 mặt đều nhẵn; gân bên 2-3 đôi, có 3 gân gốc; cuống lá dài 5-10 mm. Cụm hoa hình xim ở nách lá, tiêu giảm chỉ còn 1 hoa. Lá bắc hình dùi, nhỏ. Đài có ống ngắn, 10 gân dọc ống rõ, lông rải rác ở phía ngoài, xẻ sâu thành 5 thùy hình ngọn giáo, cỡ 5-8 × 1 mm. Tràng màu xanh tím, dài 1,4-1,8 cm, ống dài 1,2 cm, có lông, rải rác ở phía ngoài, 5 thùy tạo thành 2 môi: môi trên 2 thùy ngắn, môi dưới 3 thùy với thùy giữa lớn hơn 2 thùy bên. Nhị 4, thò dài khỏi tràng; chỉ nhị dính trên ống tràng; bao phấn 2 ô dãn ra. Bầu có lông; vòi dài bằng nhị, dính xẻ 2 thùy. Quả nang, cỡ 4-5 × 2-2,5 mm, mở bằng 4 van, mang 4 hạch; hạch có lông.

Loc. class.: China: Hunan.

Sinh học và sinh thái: Mùa hoa tháng 5-7; quả chín tháng 7-9. Gặp ở môi trường ẩm, độ che bóng vừa phải, ở độ cao 600-1800 m.

Phân bố: Hoà Bình (Mai Châu; Pà Cò). Còn có ở Trung Quốc.

Mẫu nghiên cứu: HÒA BÌNH, V. X. Phương 1790 (HN).



Schnabelia oligophylla Hand.-Mazz.

1. Cành mang hoa, 2. hoa, 3. đài, 4. đài mở, 5. tràng mở, 6. quả (vẽ theo mẫu Phương 1790)

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- | | |
|--|--|
| 1. Auctors, 1977: Flora Yunnanica, 1: 487. Pekin. | 3. P'ei C., 1932: <i>Verbenaceae</i> of China. Mem. Sci. Soc. Chin., 1: 182. |
| 2. Chen S. L. and Gilber M. G., 1994: Flora of China, 17: 47. Beijing. | 4. Wu C. Y., 1977: Flora Reipublicae Popularis Sinicae, 65(2): 85. Pekin. |
| | 5. Wu C. Y. and Chen C., 1964: Acta Phytotax. Sin., 9(1): 1-12. |

GENUS *SNABELIA* HAND.-MAZZ. (*VERBENACEAE*) A NEW RECORD FOR THE FLORA OF VIETNAM

VU XUAN PHUONG

SUMMARY

The genus *Schnabelia* Hand.-Mazz. (*Verbenaceae*) had been found in China with 2 species. When studying the flora of the reserve area Hangkia-Paco (Hoabinh province), we have found this genus with 1 species which was *Schnabella oligophylla* Hand.-Mazz. Specimens of this species were deposited in the Hanoi Herbarium, Institute of Ecology & Biological resources, Hanoi, Vietnam (HN).

Ngày nhận bài: 18-3-2002

MỘT SỐ DẪN LIỆU VỀ ĐỘNG THÁI CỦA CÁC QUẦN XÃ THỰC VẬT PHỤC HỒI TỰ NHIÊN SAU NƯƠNG RẦY Ở TỈNH THÁI NGUYÊN

LÊ NGỌC CÔNG, HOÀNG CHUNG, BÙI THỊ DẬU

Trường đại học Sư phạm Thái Nguyên

TRẦN ĐÌNH LÝ

Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật

Theo thống kê của Sở Nông nghiệp và Phát triển nông thôn tỉnh Thái Nguyên, hiện nay huyện Đồng Hỷ có diện tích đất trống, đồi trọc là khá lớn (8.412 ha), chiếm hơn 16% tổng diện tích của huyện.

Phần lớn diện tích đất trống đồi trọc hình thành do quá trình phá rừng làm nương rẫy hoặc khai thác gỗ, củi quá mức. Để phục hồi lại thảm thực vật rừng, có thể sử dụng phương thức phục hồi tự nhiên. Nó không những tạo ra hệ sinh thái rừng đa dạng, ổn định cao mà còn phù hợp với điều kiện kinh tế xã hội của nhân dân trong huyện [1].

Trong bài báo này, chúng tôi trình bày một số dẫn liệu về động thái của các quần xã thực vật phục hồi tự nhiên sau nương rẫy bỏ hóa (1 năm, 3 năm và 5 năm) ở huyện Đồng Hỷ, tỉnh Thái Nguyên.

I. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Đối tượng: các quần xã thực vật phục hồi tự nhiên sau nương rẫy bỏ hóa (1 năm, 3 năm và 5 năm) ở xã Văn Hán, huyện Đồng Hỷ, tỉnh Thái Nguyên.

Phương pháp: lập các ô tiêu chuẩn định vị có kích thước 20 × 20 m, mỗi quần xã bố trí 6 ô, phân đều ở 3 vị trí (chân đồi, sườn đồi, đỉnh đồi). Tiến hành thống kê số lượng loài và số lượng cây tái sinh (cây bụi và cây gỗ).

II. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

1. Sự phân bố của các loài cây tái sinh theo vị trí địa hình trong 3 quần xã thực vật phục hồi tự nhiên sau nương rẫy

Số lượng loài thực vật theo từng vị trí địa hình ở 3 quần xã được trình bày ở bảng 1.

Bảng 1

Số lượng loài thực vật trong 3 quần xã theo vị trí địa hình

Quần xã	Số loài theo vị trí địa hình		
	Chân đồi	Sườn đồi	Đỉnh đồi
Sau nương rẫy 1 năm	35	27	19
Sau nương rẫy 3 năm	28	24	16
Sau nương rẫy 5 năm	22	19	10

Qua bảng 1 cho thấy, ở cả ba quần xã thực vật phục hồi tự nhiên sau nương rẫy (1 năm, 3 năm và 5 năm), số loài cây tái sinh ở chân đồi là nhiều nhất, giảm dần khi lên sườn đồi và thấp nhất ở đỉnh đồi. Nguyên nhân là do phương thức canh tác nương rẫy. Khi nương rẫy bắt đầu bị bỏ hóa, quá trình rửa trôi bề mặt đã làm cho hàm lượng các chất dinh dưỡng trong đất dưới chân đồi cao hơn, đất ẩm hơn nên đã tạo điều kiện thuận lợi cho các loài cây tái sinh [3].

Cũng qua bảng 1 ta thấy, số loài thực vật giảm nhanh ở ba năm đầu và tiếp tục giảm ở quần xã sau 5 năm. Các loài gặp ở quần xã sau nương rẫy 1 năm và 3 năm chủ yếu là các loài tiên phong ưa sáng, có đời sống ngắn, giá trị kinh tế không cao thuộc các họ Cà phê (Rubiaceae), Thầu dầu (Euphorbiaceae) và Du

(Ulmaceae). Ở quần xã 5 năm, cây rừng bắt đầu khép tán nên sự cạnh tranh giữa các loài về điều kiện dinh dưỡng và ánh sáng diễn ra gay gắt, dẫn đến số loài bị giảm dần [2, 4].

2. Mật độ phân bố cây tái sinh theo vị trí địa hình trong 3 quần xã thực vật phục hồi tự nhiên sau nương rẫy

Kết quả được trình bày ở bảng 2.

Bảng 2

Mật độ phân bố cây tái sinh theo vị trí địa hình trong 3 quần xã

Quần xã	Số cây/ha theo vị trí địa hình			
	Chân đồi	Sườn đồi	Đỉnh đồi	Trung bình
Sau nương rẫy 1 năm	22.800	18.600	14.200	18.533
Sau nương rẫy 3 năm	17.100	15.300	12.400	14.933
Sau nương rẫy 5 năm	13.600	11.600	8.930	11.376

Số liệu ở bảng 2 cho thấy, mật độ phân bố cây tái sinh theo vị trí địa hình và theo số năm bỏ hóa đều có biến động lớn.

Theo vị trí địa hình thì số lượng cây tái sinh giảm từ chân đồi lên đỉnh đồi ở cả 3 quần xã.

Theo số năm bỏ hóa sau nương rẫy, số lượng cây giảm nhanh từ năm thứ nhất đến năm thứ 3 và năm thứ 5. Có sự biến động như trên là do từ quần xã sau nương rẫy 3 năm trở đi, các loài có tốc độ sinh trưởng nhanh, cây rừng bắt đầu khép tán, độ che phủ đạt 50% nên các loài cây ưa sáng không cạnh tranh nổi đã bị tiêu diệt, do đó số loài và mật độ cây cũng giảm dần. Ở quần xã sau nương rẫy 5 năm, mật độ cây tiếp tục giảm và đã xuất hiện một số loài cây gỗ bản địa có giá trị nhưng không nhiều thuộc các họ Long não (Lauraceae), Dẻ (Fagaceae) và Óc chó (Juglandaceae).

3. Tổ thành của một số loài cây gỗ tái sinh chủ yếu theo vị trí địa hình trong 3 quần xã thực vật phục hồi tự nhiên sau nương rẫy

Trong ô tiêu chuẩn (20 × 20 m), chúng tôi đã thống kê và tính được tỷ lệ tổ thành của một số loài cây gỗ tái sinh chủ yếu (bảng 3).

Bảng 3 cho thấy, hầu hết các loài cây gỗ tái sinh trong các quần xã sau nương rẫy (1 năm, 3 năm và 5 năm) có tỷ lệ tổ thành giảm từ chân đồi lên đỉnh đồi nhưng sự chênh lệch không nhiều. Tuy nhiên, có hai loài là thành ngạnh (*Cratogeomys cochinchinense*) và thầu tấu

(*Aporosa dioica*) có tỷ lệ tổ thành ở 3 vị trí (chân đồi, sườn đồi và đỉnh đồi) có sự chênh lệch rõ rệt hơn và tăng lên ở vị trí đỉnh đồi. Nguyên nhân là càng lên đỉnh đồi thì đất càng chặt hơn, độ ẩm thấp hơn và chất dinh dưỡng cũng nghèo kiệt hơn nên những loài cây tái sinh chịu được khô hạn như thành ngạnh và thầu tấu vẫn có khả năng sinh trưởng tốt [3].

Ở các quần xã sau nương rẫy 1 năm và 3 năm, các loài cây gỗ tái sinh chủ yếu là các loài ưa sáng, chịu hạn, có đời sống ngắn, giá trị kinh tế không cao. Ở quần xã sau nương rẫy 5 năm đã xuất hiện một số loài cây gỗ địa phương như dẻ, chẹo, kháo, trám... có giá trị kinh tế, dần dần thay thế cho các loài ưa sáng. Điều đó hoàn toàn phù hợp với quy luật chọn lọc tự nhiên, đào thải những loài không phù hợp ở giai đoạn rừng non.

III. KẾT LUẬN

Các quần xã thực vật phục hồi tự nhiên sau nương rẫy (1 năm, 3 năm và 5 năm) có số lượng loài và số lượng cây tái sinh giảm từ chân đồi lên sườn đồi tới đỉnh đồi và giảm từ quần xã 1 năm qua quần xã 3 năm tới quần xã 5 năm. Các loài cây gỗ tái sinh trong các quần xã nói trên có tỷ lệ tổ thành giảm từ chân đồi lên sườn đồi tới đỉnh đồi. Ở các quần xã 1 năm và 3 năm, những loài cây gỗ tái sinh chủ yếu là những loài hạn sinh, ưa sáng, có giá trị không cao. Ở quần xã 5 năm, xuất hiện một số loài cây gỗ địa phương có giá trị kinh tế cao như lim, dẻ, chẹo, kháo,

Tỷ lệ (%) tổ thành của một số loài cây gỗ tái sinh chủ yếu theo vị trí địa hình của 3 quần xã

Tên loài cây	Sau nương rẫy 1 năm			Sau nương rẫy 3 năm			Sau nương rẫy 5 năm		
	Chân đồi (%)	Sườn đồi (%)	Đỉnh đồi (%)	Chân đồi (%)	Sườn đồi (%)	Đỉnh đồi (%)	Chân đồi (%)	Sườn đồi (%)	Đỉnh đồi (%)
Đom đóm <i>Alchornea tiliacifolia</i> Muell. Arg.	27,72	29,97	25,38						
Bùm bụp <i>Mallotus apelta</i> Muell. Arg.	8,29	9,17	7,95						
Màng tang <i>Litsea cubeba</i> (Lour.) Pers.	6,48	6,12	5,81						
Muối <i>Rhus chinensis</i> Mill.	24,87	26,30	20,80	22,99	22,65	20,72			
Hu day <i>Trema orientalis</i> (L.) Blume	6,74	6,73	6,12	8,05	7,13	6,31			
Lông mang <i>Pterospermum heterophyllum</i> Hance				5,46	5,50	5,41			
Thành ngạnh <i>Cratogeomys cochinchinense</i> Blume			12,18	27,58	28,80	32,43	26,94	28,63	32,40
Thần tấu <i>Aporosa dioica</i> Muell. Arg.			8,00	16,38	17,80	22,52	15,15	16,03	18,52
Đẻ <i>Castanopsis indica</i> (Roxb.) A.DC.							7,07	6,87	6,02
Chèo <i>Engelhardtia roxburghiana</i> Wall.							6,73	6,10	5,56
Mán đĩa <i>Pithecolobium clypearia</i> Benth.							6,06	6,49	5,56
Các loài khác	25,90	21,71	13,76	19,54	18,12	12,61	38,05	35,88	31,94

Ghi chú: Chỉ thống kê các loài có tỷ lệ tổ thành trên 5%.

trám... và có khả năng phát triển thành rừng nếu được bảo vệ, không có những tác động lớn của động vật và con người.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Đinh Hữu Khánh**, 1999: Tạp chí Lâm nghiệp, 3+4: 23-24.
2. **Trần Đình Lý**, 1996: Nghiên cứu xác định diện tích và hệ thống biện pháp kỹ thuật cho việc khoanh nuôi phục hồi rừng. Khôi phục rừng và phát triển lâm nghiệp, NXB Nông nghiệp, Hà Nội.
3. **Lê Đồng Tấn**, 2000: Nghiên cứu quá trình phục hồi tự nhiên một số quần xã thực vật sau nương rẫy tại Sơn La phục vụ cho việc khoanh nuôi. Luận án tiến sĩ sinh học, Hà Nội.
4. **Thái Văn Trường**, 1970: Thảm thực vật rừng Việt Nam. NXB Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội.

SOME DATA ON THE DYNAMIC OF PLANT COMMUNITIES RESTORED NATURALLY FROM ABANDONED AREAS OF THE SHIFTING CULTIVATION IN THAI NGUYEN PROVINCE

LE NGOC CONG et al.

SUMMARY

The number of plant species and generated individuals of the 3 plant communities restored naturally from abandoned areas of the shifting cultivation varied decreasingly from the 1-year community to the 5-year community, from the foot to the sides of a hill.

The grouping component indexes of generated timber species in the communities varied decreasingly from the foot to the sides up to the top of a hill. In the 1-year community and the 3-year community, generated timber species were mainly limited- life and light fanciers, with low economical values. However, in the 5-year community, there appeared some local timber species with higher economical values such as ironwood, chestnut,... which could develop to be forest if being well protected.

Ngày nhận bài: 4-2-2001

KẾT QUẢ ĐIỀU TRA BƯỚC ĐẦU QUẦN THỂ VOI (*ELEPHAS MAXIMUS*) TẠI VƯỜN QUỐC GIA CÁT TIỀN, TỈNH ĐỒNG NAI

NGUYỄN XUÂN ĐẠNG, NGUYỄN TRƯỜNG SƠN

Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật

TRẦN VĂN THÀNH, PHẠM HỮU KHÁNH

Vườn quốc gia Cát Tiên

Loài voi châu Á (*Elephas maximus*) đang bị đe dọa diệt vong cao trên thế giới (Danh lục đỏ IUCN, 2000 xếp bậc EN-Nguy cấp). Tình trạng của chúng ở Việt Nam càng hết sức nghiêm trọng. Ước tính số lượng voi hoang dã trên toàn quốc còn không quá 200 cá thể và bị phân tán thành các nhóm nhỏ biệt lập từ 1 - 2 cho đến 15 cá thể [3]. Bên cạnh đó, rừng - sinh cảnh chính của chúng vẫn tiếp tục bị tàn phá, quấy nhiễu gây nên xung đột giữa voi và người ngày càng gia tăng. Vì vậy, việc nghiên cứu để tìm ra các giải pháp thích hợp nhằm bảo tồn và phục hồi voi ở nước ta đang là nhiệm vụ rất cấp thiết.

Vườn quốc gia Cát Tiên (VQG Cát Tiên) có tổng diện tích là 74.219 ha, thuộc địa phận 3 tỉnh Đồng Nai, Bình Phước và Lâm Đồng. Vườn được chia thành 2 khu vực hoàn toàn tách biệt nhau là: khu vực Cát Lộc (30.635 ha) ở phía bắc và khu vực tây Cát Tiên liên hoàn với nam Cát Tiên (44.124 ha, gọi tắt là Nam Cát Tiên) ở phía nam. Voi có mặt ở VQG Cát Tiên đã được nhiều nhà khoa học ghi nhận [1 - 5] nhưng chưa có cuộc điều tra chính thức nào được thực hiện trừ một cuộc điều tra ngắn ngày của Dawson và cộng sự [5]. Vì vậy, những hiểu biết về hiện trạng và sinh thái học của quần thể voi ở đây còn rất hạn chế, gây nhiều khó khăn cho công tác bảo tồn chúng.

Nhằm tạo lập cơ sở khoa học để xây dựng chiến lược bảo tồn thích hợp cho quần thể voi ở đây, VQG Cát Tiên đang thực hiện một chương trình điều tra nghiên cứu về hiện trạng và những đặc điểm sinh thái cơ bản của chúng. Báo cáo dưới đây giới thiệu một số kết quả nghiên cứu bước đầu về tình trạng và sự hoạt động của quần thể voi ở VQG Cát Tiên. Nghiên cứu được thực

hiện vào mùa khô (27/2 đến 10/4) năm 2001 với sự hỗ trợ kinh phí của VQG Cát Tiên và Chương trình nghiên cứu cơ bản trong khoa học tự nhiên.

I. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Điều tra theo tuyến

Nghiên cứu hiện trường được thực hiện tại khu vực Nam Cát Tiên (khu vực Cát Lộc không có voi). Để việc phân bố các tuyến điều tra được tương đối đồng đều, toàn bộ diện tích điều tra gồm khu vực Nam Cát Tiên và một phần vùng đệm có khả năng có voi hoạt động, được chia thành 27 ô vuông, diện tích mỗi ô khoảng 36 km² (6 × 6 km). Trong mỗi ô bố trí 2 tuyến điều tra thẳng, mỗi tuyến dài 1 km, theo hướng Đông - Tây hoặc Bắc - Nam tùy địa hình, các tuyến cách nhau ít nhất 1 km. Ngoài ra, còn thực hiện các tuyến điều tra theo các đường mòn hoặc đường tuần tra, với tổng chiều dài đường tuyến điều tra trên mỗi ô từ 5 đến 9 km.

Các cán bộ điều tra đi theo các tuyến, tập trung quan sát phát hiện tối đa các dấu vết hoạt động của voi như: dấu chân, phân, vết cọ mình, vết ăn hoặc bẻ gãy cây rừng. Mọi dấu vết phát hiện được đều ghi vào phiếu điều tra cùng với toạ độ địa lý xác định bằng máy định vị GPS 12 XL, Garmin, Mỹ. Đối với các dấu chân trước rõ nét, lấy các số đo: chu vi, chiều dài và chiều rộng; các bãi phân còn mới: đo chu vi cục phân, xem xét sơ bộ thành phần chất chứa và lấy mẫu (khoảng 100 g) để phân tích tại phòng thí nghiệm.

2. Phỏng vấn dân cư và nhân viên kiểm lâm

Tiến hành nhiều cuộc điều tra phỏng vấn

nhân viên các trạm kiểm lâm của Vườn cũng như các cư dân sống bên trong và gần Vườn về những thông tin liên quan đến hoạt động của voi và những tác động của voi đến hoạt động sinh sống, sản xuất của nhân dân trong vùng.

3. Nghiên cứu tập tính ăn của voi

Tất cả các cây phát hiện có dấu vết voi ăn đều được nhận diện hoặc thu mẫu để định loại, đồng thời ghi nhận các bộ phận của cây bị voi ăn. Các bãi phân phát hiện trên hiện trường được đập nát để sơ bộ xác định thành phần thức ăn còn sót lại trong phân. Đối với các bãi phân còn mới, tiến hành lấy mẫu (khoảng 100 g) đem về phân tích. Tại phòng thí nghiệm, các mẫu phân được rửa sạch bằng rá lỗ nhỏ. Phần lưu lại trong rá đem phơi khô, sau đó phân thành các nhóm: cỏ, thân

cây, vỏ cây, song mây, lồ ô,... để tính tỷ lệ khối lượng và tần số gặp.

II. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

I. Tình trạng và hoạt động của quần thể voi

Trong quá trình khảo sát, chúng tôi đã ghi nhận được 49 vị trí có dấu chân voi, 34 bãi phân voi; đã đo kích thước của 31 dấu chân rõ nét và thu 20 mẫu phân còn mới để phân tích. Đồng thời, đã gặp trực tiếp một đàn voi khoảng 5 cá thể vào ngày 10 tháng 3 năm 2001 tại toạ độ (11°22'48"; 107°16'06") gần trạm kiểm lâm Đồi Đất Đỏ. Số đo của 31 dấu chân được thể hiện trên bảng 1 và vị trí của các dấu chân được thể hiện trên hình vẽ trang ở 22.

Bảng 1

Số đo của các dấu chân voi phát hiện trong đợt điều tra tháng 3 - 4/2001

TT	Toạ độ (N; E)	Chu vi (cm)	Dài (cm)	Rộng (cm)	Tình trạng
1	N 11°22'48"; E 107°16'06"	130	42	40	mới
2	11°22'48"; 107°16'03"	125	40	40	cũ
3	11°16'44"; 107°18'47"	121	43	40	cũ
4	11°23'14"; 107°18'09"	127	42	36	cũ
5	11°21'07"; 107°12'09"	124	40	35	cũ
6	11°18'35"; 107°10'58"	122	41	35	cũ
7	11°23'05"; 107°16'20"	123	38	38	mới
8	11°23'05"; 107°16'44"	120	38	32	mới
9	11°23'09"; 107°16'44"	118	39	34	mới
10	11°23'22"; 107°17'33"	115	40	32	mới
11	11°22'44"; 107°15'55"	117	38	33	cũ
12	11°22'53"; 107°16'37"	117	35	34	mới
13	11°29'45"; 107°12'14"	116	36	34	cũ
14	11°29'24"; 107°19'59"	115	36	34	cũ
15	11°20'44"; 107°10'57"	114	38	36	cũ
16	11°20'44"; 107°10'57"		38	34	cũ
17	11°23'20"; 107°15'55"		37	30	cũ
18	11°22'55"; 107°16'19"		35	35	cũ

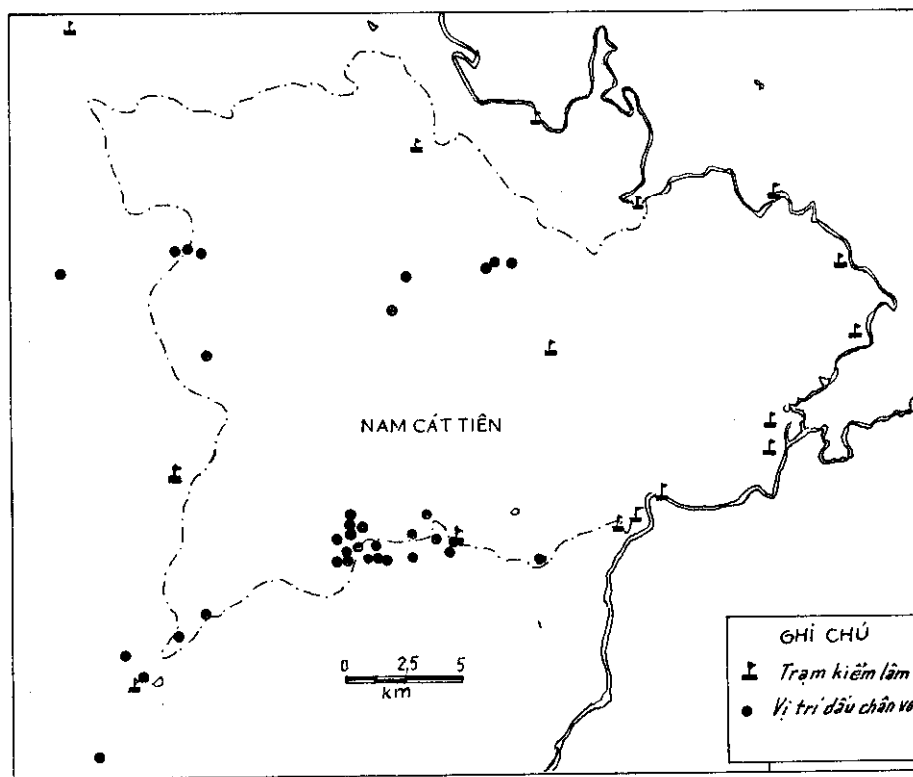
TT	Toạ độ (N; E)	Chu vi (cm)	Dài (cm)	Rộng (cm)	Tình trạng
19	11°23'33"; 107°16'11"	112	33	32	cũ
20	11°29'19"; 107°19'26"	110	34	31	cũ
21	11°22'53"; 107°16'55"	109	34	31	mới
22	11°22'53"; 107°16'45"	105	34	32	cũ
23	11°23'33"; 107°16'23"		33	31	cũ
24	11°23'33"; 107°16'11"		32	30	cũ
25	11°21'35"; 107°12'50"	93	30	27	cũ
26	11°23'28"; 107°16'11"		28	27	mới
27	11°29'23"; 107°19'35"	83	27	25	cũ
28	11°29'23"; 107°19'35"	80	25	23	cũ
29	11°29'24"; 107°19'59"	80	25	23	cũ
30	11°29'19"; 107°19'26"	77	24	22	cũ
31	11°22'48"; 107°16'06"	69	21	20	mới

Từ bảng 1 cho thấy có sự biến động khá lớn về kích thước của các dấu chân ghi nhận được. Loại trừ sự tác động của các yếu tố môi trường đến kích thước của dấu chân như nền đất cứng, mềm khác nhau, tư thế đi hoặc đứng khác nhau, sự biến động này còn thể hiện đàn voi có nhiều cá thể khác nhau. Nghiên cứu này chưa có đủ cơ sở để xác định đây là dấu chân của bao nhiêu cá thể nhưng cũng cho thấy trong đàn có các cá thể trưởng thành với dấu chân lớn (dấu chân số 1 đến 24) và các cá thể còn nhỏ với các dấu chân nhỏ hơn (dấu chân số 25 đến 31). Điều này cũng phù hợp với những ghi nhận của chúng tôi qua phỏng vấn các kiểm lâm viên và dân cư trong vùng rằng họ thỉnh thoảng nhìn thấy voi mẹ đi với voi con. Họ cũng khẳng định có ít nhất là 2 voi đực (có ngà) và khoảng 5 - 12 voi cái hoạt động trong vùng. Cho đến nay, chưa có các nghiên cứu tính toán số lượng voi ở VQG Cát Tiên được thực hiện. Polet G. và Phạm Hữu Khánh [4] dựa trên tập hợp các thông tin từ kiểm lâm viên và dân cư đã ước đoán số lượng voi ở đây dao động trong khoảng từ 10 - 30 cá thể. Chúng tôi sẽ đưa ra con số ước tính thích hợp về số lượng voi hiện nay ở VQG Cát Tiên trong nghiên cứu sau. Tuy nhiên, hiện nay có thể thấy là quần thể voi ở VQG Cát Tiên là quần thể đang phát triển có đủ đực, cái và con non.

Qua sự phân bố vị trí các dấu chân (xem hình), dấu phân và các dấu vết khác cũng như các thông tin ghi nhận được qua phỏng vấn các kiểm lâm viên và dân cư địa phương, cho thấy vùng hoạt động của voi hiện nay là khoảng 30.000 ha thuộc phía tây khu vực Nam Cát Tiên (phía tây các trạm C10, Bàu Sấu và Tà Lài). Điều cần lưu ý là voi không chỉ hoạt động bên trong địa phận của VQG Cát Tiên mà cả ở vùng đệm bên ngoài ranh giới Vườn, thuộc các lâm trường I, II, III của Công ty lâm nghiệp La Ngà và lâm trường Vĩnh An. Điều này, một mặt gây nên những trở ngại cho đời sống và hoạt động sản xuất của dân cư địa phương như phá hoại hoa màu, cây trồng, làm đổ nhà ở, gây tâm lý hoang mang lo sợ; mặt khác có nguy cơ bị săn bắn vì tình trạng săn động vật rừng ban đêm bằng súng trận ở đây vẫn thường xảy ra. Trong thời gian chúng tôi điều tra (tháng 3, 4), voi tập trung chủ yếu ở khu vực gần các trạm Đồi Đất Đỏ, Sa Mách và Suối Ràng. Voi đôi khi vào nhà dân lục tìm lúa gạo và muối ăn nên thường làm sạt đổ nhà và đe dọa tính mạng của người dân, khiến người dân đôi khi không dám ở lại nhà vào ban đêm. Từ 26/2 đến 20/3, có đàn voi thường xuyên ra khu vực các vườn điều gần trạm kiểm lâm Đất Đỏ ăn quả điều, khiến người dân ban đêm phải sơ tán ra khỏi khu vực này.

Sự hoạt động sinh sống của voi ở khu vực này đã được dân cư địa phương ghi nhận là từ xa xưa. Trước đây, khi rừng còn liên hoàn, voi hoạt động rộng hơn nhiều, bao gồm cả địa phận của Công ty lâm nghiệp La Ngà, các lâm trường Vĩnh An, Hiếu Liêm, Mã Đà, Nghĩa Trung,... Hiện nay, do rừng bị tàn phá và dân cư xâm nhập nhiều, nên voi một mặt bị suy giảm nhiều về số lượng, mặt khác hoạt động co cụm lại trên một diện tích nhỏ này. Polet và Phạm Hữu Khánh [4] cho rằng hiện nay có 2 quần thể voi hoạt động độc lập ở khu vực này: một quần thể

hoạt động ở khu vực suối Ty gần trạm kiểm lâm Đồi Đất Đỏ và Sa Mách, một quần thể ở khu vực Đồi 102 gần trạm kiểm lâm Đa Bông Cua và Bầu Sấu. Nghiên cứu hiện nay của chúng tôi chưa cho phép khẳng định thực sự ở đây có 2 quần thể voi hoạt động độc lập hay chỉ là một quần thể. Thực tế diện tích 30.000ha không phải là lớn lắm đối với hoạt động của voi, hơn nữa tổ chức đàn của voi cũng không chặt chẽ lắm, thường xuyên biến động, do vậy việc xem xét chúng thuộc 1 hay 2 quần thể cũng cần phải thận trọng.



Hình. Vị trí của các điểm có dấu chân voi thể hiện vùng hoạt động hiện nay của quần thể voi ở VQG Cát Tiên

2. Một số ghi nhận về tập tính ăn của voi

Trong quá trình điều tra, chúng tôi gặp được một số nơi có dấu vết voi ăn cây còn mới bên cạnh các cây rừng bị voi quần nát hoặc có nhiều dấu chân hoặc phân lưu lại. Chúng tôi nhận diện và thu thập mẫu vật để định loại. Kết quả phân tích các tư liệu này đã ghi nhận được 22 loài thực vật là cây thức ăn của voi (bảng 2). Thực tế, voi có thể ăn rất nhiều loài cây khác nhau,

nhưng đây là những ghi nhận đầu tiên về các loài cây thức ăn của voi ở VQG Cát Tiên, danh sách này sẽ được bổ sung trong những nghiên cứu tiếp theo. Bảng 2 cho thấy voi có thể ăn cả lô ô và song mây là những loài cây rất phổ biến trong rừng Cát Tiên hiện nay. Tuy nhiên, chúng sử dụng không nhiều, chỉ một ít phân lá, cành non hoặc măng non. Trong nghiên cứu này, chúng tôi cũng phát hiện voi ở VQG Cát Tiên

rất thích ăn quả điều. Điều đó thể hiện qua tần số gặp cao trong các bãi phân (85%, bảng 3) và số lượng hạt điều thải ra trong phân của chúng. Kiểm tra 9 bãi phân thu được trong các vườn điều gần trạm Đồi Đất Đỏ, chúng tôi ghi nhận

được số hạt điều tương ứng trong mỗi bãi phân là: 76, 50, 19, 34, 46, 8, 22, 7 và 14 hạt. Người dân thường tìm các bãi phân để thu lại các hạt điều bị voi ăn, họ cho biết có bãi thu được tới 200 hạt.

Một số loài cây thức ăn của voi ở VQG Cát Tiên

Bảng 2

TT	Tên phổ thông	Tên khoa học	Bộ phận ăn
1	Ba chạc	<i>Euodia lepta</i> (Spreng.)	Vỏ cây
2	Lưỡi ươi	<i>Scaphium lychnophorum</i> (Hance) Kost	Rễ
3	Mây nước	<i>Calamus dongnaiensis</i> Pierre ex Conrad	Thân
4	Dây vụ sa	<i>Indororouchera contestiana</i>	Thân
5	Chiếc ít hoa	<i>Barringtonia pauciflora</i> King.	Thân
6	Ngài gừng	<i>Alpinia</i> sp.	Rễ, củ
7	Gội	<i>Dysoxylum</i> sp.	Vỏ
8	Cỏ lác 3 cạnh	<i>Carex trialatus</i> (Boeck) Kern.	Toàn bộ
9	Trà rừng	<i>Adinandra dongnaiensis</i> Gagn.	Rễ
10	Lô ô	<i>Bambusa procera</i> A. Chev & A. Cam.	Lá, măng non
11	Mây giã	<i>Calamus dioicus</i> Lour.	Thân
12	Quần đầu sông lu	<i>Polyalthia luensis</i> (Pierre) Fin.&Gagn.	Lá, cành non
13	Thầu tấu	<i>Aporusa planchoniana</i> H. Bail. ex Muell..	Rễ
14	Nhọc lông	<i>Polyalthia</i> sp.	Rễ
15	Điều	<i>Anacardium occidentale</i> L.	Quả, lá
16	Mít nhà	<i>Artocarpus heterophylla</i> Lamk	Quả, lá
17	Chuối rừng	<i>Musa acuminata</i> Colla.	Thân
18	Đuôi voi nhiều gié	<i>Pennisetum polystachyon</i> D (L.) Schult.	Thân
19	Dứa (thơm)	<i>Ananas comosus</i> (L) Merr	Quả
20	Mía	<i>Saccharum officinarum</i> L.	Thân
21	Ngô(bắp)	<i>Zea mays</i> L.	Thân, bắp
22	Lúa	<i>Oryza sativa</i> L.	Thân, hạt

Kết quả phân tích 20 mẫu phân voi thu được trên hiện trường được thể hiện ở bảng 3. Mặc dù đây là phần thức ăn voi không tiêu hóa nên thải ra song cũng cho thấy một số đặc điểm về tập tính ăn của voi. Qua bảng 3, cho thấy cỏ các loại, tre, lô ô và song mây là những thành phần thức ăn phổ biến của voi. Chúng được tìm thấy trong tất cả các mẫu phân nghiên cứu (tần số

gặp là 100%). Cỏ chiếm tỷ lệ khá cao về lượng chất chứa trong phân, phần nào chứng tỏ cỏ là thành phần thức ăn quan trọng của voi. Giẻ rách quần áo cũ cũng đã tìm thấy trong 2 mẫu phân. Điều này phù hợp với các thông tin rằng voi thường vào nhà dân tìm muối, gạo ăn và đôi khi ăn cả quần áo cũ. Có lẽ do thiếu muối nên voi phải ăn quần áo cũ vì có mồ hôi mặn. Thường

thì trong vùng hoạt động của voi, có một số điểm muối khoáng voi hay đến ăn, nhưng chúng tôi chưa phát hiện ra các điểm khoáng này trong vùng nghiên cứu. Hy vọng rằng trong những nghiên cứu tiếp theo chúng tôi sẽ tìm ra vì điều này sẽ có ý nghĩa quan trọng trong việc xây dựng chiến lược bảo tồn voi.

Thảm thực vật ở khu vực Nam Cát Tiên chủ yếu là rừng thứ sinh, rừng phục hồi sau tác động

của con người; rừng nguyên sinh còn lại rất ít (khoảng 1%) tập trung chủ yếu ở phần phía đông của khu vực. Các dạng thảm thực vật hiện nay bao gồm: rừng thường xanh, rừng bán thường xanh, rừng tre, rừng hỗn giao, trảng cây bụi/cây nhỏ, trảng cỏ và các đồn điền trồng cây nông nghiệp (điều, cà phê, hoa màu ...). Nhìn chung, thảm thực vật khá phong phú, đa dạng, có thể cung cấp nguồn thức ăn dồi dào và nơi trú ẩn tốt cho voi và nhiều loài động vật khác.

Bảng 3

Tỷ lệ phần trăm và tần số gặp của một số thành phần chất chứa trong phân voi (n = 20)

Thành phần	Minimum - Maximum (%)	Trung bình (%)	Tần số gặp (%)
Cỏ các loại	19,2 - 87,7	57,7	100
Tre, lồ ô	1,2 - 8,8	4,1	100
Song mây	1,0 - 14,8	5,8	100
Vỏ cây	0,0 - 0,4	-	5
Thân, rễ, củ	0,0 - 4,1	1,8	95
Lá cây	0,0 - 3,0	0,8	70
Quả và hạt điều	0,0 - 73,7	32,3	85
Vải quần áo	0,0 - 0,8	-	10

III. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

Từ kết quả điều tra nghiên cứu nêu trên, cho thấy quần thể voi ở VQG Cát Tiên là quần thể đang phát triển, có đủ các thành phần đực cái, trưởng thành và con nhỏ. Hoạt động của chúng tập trung trên diện tích khoảng 30.000 ha thuộc nửa phía tây của khu vực Nam Cát Tiên, có xâm nhập vào một phần vùng đệm thuộc các lâm trường I, II, III của Công ty lâm nghiệp La Ngà và lâm trường Vĩnh An. Tình trạng xung đột giữa voi và người đã xảy ra, bao gồm gây hại hoa màu, cây trồng, làm hư hỏng nhà ở và phần nào gây bất ổn cho đời sống dân cư.

Bước đầu đã ghi nhận được 22 loài cây thức ăn của voi ở VQG Cát Tiên, xác định được tỷ lệ và tần số gặp của một số thành phần chất chứa trong phân voi. Cỏ các loại, lồ ô và song mây là những thành phần có tần số gặp và tỷ lệ khối lượng cao trong phân. Lần đầu tiên ghi nhận quả

điều là thức ăn rất ưa thích của voi ở VQG Cát Tiên.

Quần thể voi ở VQG Cát Tiên là một trong những quần thể voi lớn còn sót lại ở nước ta do đó có ý nghĩa bảo tồn quan trọng. Mặt khác, quần thể này đang bị đe dọa diệt vong nghiêm trọng nên vấn đề bảo tồn chúng là rất cấp bách. Để bảo vệ tốt quần thể này, cần có sự phối hợp chặt chẽ giữa VQG Cát Tiên, chính quyền địa phương và Ban quản lý các lâm trường I, II, III thuộc công ty lâm nghiệp La Ngà và lâm trường Vĩnh An nhằm:

- Tăng cường công tác tuần tra trong vùng hoạt động của voi để ngăn chặn các hoạt động săn bắt và những tác động có hại khác đối với voi. Nghiêm cấm việc sử dụng súng, thuốc nổ và những biện pháp xua đuổi khác để gây thương tích cho voi.

- Tuyên truyền giáo dục cho người dân trong vùng về tầm quan trọng phải bảo tồn đàn voi

này và hướng dẫn người dân các biện pháp hạn chế sự xâm nhập của voi vào các khu dân cư (thay đổi cơ cấu cây trồng, trồng những loài cây voi không ăn được hoặc không thích ăn, làm hào ngăn voi, ban đêm không ở lại trong rừng và các khu trồng cây lương thực, các vườn điều,...) cũng như các biện pháp phòng tránh voi gây thiệt hại về người và tài sản.

- VQG Cát Tiên cần nghiên cứu một số biện pháp thu hút voi về hoạt động trong phạm vi của Vườn, như tạo các hố muối, nguồn nước uống, bãi ăn,... để giảm thiểu sự xung đột với con người.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Đặng Huy Huỳnh, Nguyễn Xuân Đặng, Lê Văn Chiêm**, 1995: Bảo vệ và phát triển lâu bền tài nguyên động vật tại VQG Cát Tiên. Kỷ yếu Hội nghị "Các VQG và KBTTN Việt Nam", NXB Nông Nghiệp, Hà Nội, 99-109.
2. **Nguyễn Quốc Thắng**, 1987: Kết quả bước đầu điều tra khu hệ động vật có xương sống tại rừng cấm Nam Cát Tiên. Báo cáo tại Hội thảo quốc gia về Khu BTTN Nam Cát Tiên, Đồng Nai; tháng 12-1987.
3. **Do Tuoc**, 1999: The present status of the Asian Elephants in Vietnam 1997-1998. In Proceedings of the conference: Conservation of the Asian Elephant in Indochina, 24 - 27 November 1998, Hanoi, 17-20.
4. **Polet G. and Pham Huu Khanh**, 1999: On the Asian Elephants of Cat Tien National Park, Vietnam. In Proceedings of the conference: Conservation of the Asian Elephant in Indochina, 24-27 November 1998, Hanoi, 40-45.
5. **Dawson S. et al.**, 1993: Elephant surveys in Vietnam. WWF-Vietnam Programme.

RESULTS OF THE FIRST SURVEY ON THE ELEPHANT POPULATION (*ELEPHAS MAXIMUS*) IN THE CAT TIEN NATIONAL PARK, DONG NAI PROVINCE

NGUYEN XUAN DANG et al.

SUMMARY

The survey was carried out from 27 February to 10 April 2001, using the line-transect method. It was recorded 49 elephant footprint localities, 34 dung pile localities, of which 31 footprints were measured and 20 dung samples were taken for further analysis. The results indicate that the Cattien elephant population is developing, including adults, males, females and young. The population lives and frequents in an area of about 30,000 ha in western half of the South Cat Tien sector of the Park. This area includes a part of the adjacent forestry enterprises I, II and III of the Langa forestry company and the Vinhan forestry enterprise where there are some human-elephant conflicts, including crop and agricultural plantation raids, house destructions and threats of the human death.

Totally, 22 plant species eaten by the elephants were first recorded in the study area. The main components of the elephant dung were described together with their percentage and encountering frequency. Grasses, bamboos and rattans were found in all dung samples and grasses had very high percentage. The cashew fruits became a favorite food of the Cat Tien elephants during the survey time. The number of cashew nuts found in the elephant dung might reach from several to 200 seeds per pile. The vegetation in the South Cat Tien area could provide rich food resources for the elephant population.

Measures for the prevention and the control of human-elephant conflicts were discussed.

Ngày nhận bài: 12-5-2001

NGHIÊN CỨU TẬN DỤNG BÃ ĐÃ TRỒNG NẤM LINH CHI ĐỂ LÀM GIÁ THỂ TRỒNG NẤM BÀO NGƯ VÀ TẠO SINH KHỐI SỢI NẤM GIÀU PROTEIN

NGUYỄN DUY LÂM

Viện Khoa học và Kỹ thuật hạt nhân, Hà Nội

TAMIKAZU KUME

Viện Nghiên cứu hóa bức xạ Takasaki, Nhật Bản

Khi ngành trồng nấm phát triển thành một ngành công nghiệp với quy mô sản xuất lớn, thì cũng như nhiều ngành công nghiệp khác, nó sẽ gặp phải hai vấn đề cần giải quyết, đó là chất thải bã nấm và nguyên liệu làm giá thể trồng nấm. Chất thải bã nấm là rơm rạ ngũ cốc đã qua sử dụng sau khi trồng nấm mỡ (*Agaricus bisporus*) thường được dùng bón trực tiếp cho đất trồng như là một nguồn chất hữu cơ cải tạo đất. Tuy nhiên, cách thức này không thể áp dụng cho bã thải nấm từ nguyên liệu làm giá thể là mặt cưa gỗ. Tái sử dụng chất thải của ngành trồng nấm để trồng nấm cùng loại hay khác loại thêm một lần nữa có thể là một giải pháp quan trọng. Điều này sẽ có ý nghĩa đặc biệt hơn cho những nơi mà nguồn nguyên liệu là mặt cưa gỗ để trồng một số loại nấm nhất định chẳng hạn như nấm linh chi, nấm hương, có số lượng hạn chế. Khả năng của các loài nấm bào ngư (*Pleurotus* spp.) có thể mọc dễ dàng trên nhiều loại cơ chất, lại cho giá trị dinh dưỡng và hàm lượng protein cao [1-4], khiến chúng có thể được dùng cho mục đích đặt ra.

Có rất ít thông tin trong và ngoài nước về tái sử dụng bã nấm để trồng nấm lần thứ hai. Vì vậy, mục tiêu của nghiên cứu này là khảo sát sự phát triển của hệ sợi và quả thể nấm (bằng thực nghiệm lên men trên giá thể rắn) và hiệu quả chuyển hóa thành sinh khối hệ sợi giàu protein (lên men trong môi trường lỏng) của nấm bào ngư trên giá thể trước đó đã sử dụng trồng nấm linh chi. Một số phương pháp xử lý phối trộn hay chiếu xạ liều cao đối với bã nấm cũng được sử dụng để nâng cao hiệu quả tái sử dụng.

I. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Thí nghiệm đã sử dụng hai loài nấm linh chi (*Ganoderma lucidum*) và nấm bào ngư (*Pleurotus sajor-caju*), trong đó giống nấm linh chi do Phòng Sinh học phóng xạ-Viện Nghiên cứu hạt nhân Đà Lạt cung cấp. Giống nấm được duy trì trên môi trường thạch nghiêng PDA (Difco Lab, Detroit, Michigan).

Mặt cưa gỗ của cây *fagus* (phổ biến để trồng nấm ở Nhật Bản) được bổ sung thêm chất dinh dưỡng để trồng nấm linh chi. Thành phần dinh dưỡng, cách đóng bao và tiệt trùng bằng bức xạ gamma cũng như điều kiện ương sợi được duy trì giống như đã trình bày trong báo cáo trước [5]. Quả thể nấm được thu hoạch sau 80 ngày kể từ lúc cấy giống. Bã nấm là giá thể đã qua sử dụng được đem sấy khô ở 75°C tới độ ẩm khoảng 10% rồi xay lọt rây 2 mm. Nguyên liệu đó là thành phần chính cho giá thể trồng nấm bào ngư trong thí nghiệm tiếp theo. Bốn loại giá thể khác nhau về lượng bã nấm được sử dụng như sau: MCM chứa 100% mặt cưa mới, MCC chứa 100% mặt cưa cũ (bã nấm), MIX No.1 và MIX No.2 là phối trộn hai loại mặt cưa cũ và mới với nhau theo tỷ lệ tương ứng là 5: 1 và 5: 2. Giá thể được làm ướt tới độ ẩm 68 - 70% rồi phân vào các bình tam giác 500ml miệng rộng với lượng 100 g/bình. Tiệt trùng bằng bức xạ gamma ở liều hấp thụ 30 kGy trên thiết bị chiếu xạ tại Viện Nghiên cứu hóa bức xạ Takasaki, Nhật Bản. Sau 35 ngày ương, các mẫu được lấy ngẫu nhiên từ 5 bình của mỗi công thức để phân tích.

Thực nghiệm trồng nấm bào ngư: Ba loại giá thể MCM, MCC, và MIX No.2 được sử dụng để trồng nấm bào ngư. Cám gạo và bột đỗ tương cùng dinh dưỡng khoáng được bổ sung để

quả thể nấm phát triển tốt hơn. Quá trình ương được tiến hành trong tủ vi khí hậu, có thể điều chỉnh nhiệt độ và độ ẩm. Sự kích thích ra quả thể được thực hiện sau 28 ngày ủ nhờ tăng độ ẩm tới 90% và giảm nhiệt độ xuống 25°C trong 5 ngày tiếp theo [1].

Phân tích thành phần hóa học: Các chỉ số NDF (lượng xơ còn lại sau thủy phân bằng dung dịch trung tính), ADF (lượng xơ còn lại sau thủy phân bằng dung dịch axit), CEL (lượng xenluloza tổng số), ADL (lượng lignin còn lại sau thủy phân bằng dung dịch axit) được xác định bằng máy Fibertec System (Tecator, Thụy Điển). Lượng HEM (hemi-xenluloza) được tính là hiệu của NDF và ADF. Các lượng trên được biểu diễn bằng g/kg khối lượng khô. Tổn hao của thành phần xơ được tính theo công thức $[(C_{10} \times DW_0 - C_{11} \times DW_1) / (C_{10} \times DW_1)] \times 100$, trong đó C_{10} và C_{11} là lượng chất khô của thành phần i ở thời điểm đầu và thời điểm lấy mẫu, DW_0 và DW_1 là khối lượng khô của mẫu lúc đầu và lúc lấy mẫu [6].

Nuôi cấy trong môi trường lỏng: nấm bào ngư được nuôi cấy cho thích nghi trong môi trường lỏng Maldels chứa 1% glucoza [7]. Sử dụng 5 ml dịch đồng thể giống nấm đó cho vào bình chứa 100 ml môi trường để thực hiện lên men lỏng. Để đánh giá tác động của mật cưa tới quá trình lên men, đã bố trí các công thức thí nghiệm như sau: công thức đối chứng (ĐC) là môi trường Maldels chứa 1% glucoza, công thức (MCM) chứa 1% bột mật cưa mới, công thức (MCM + CX) chứa mật cưa mới đã chiếu xạ bằng chùm tia điện tử 1.000 kGy, công thức (MCC) chứa bột mật cưa đã trồng nấm linh chi, và công thức (MCC + CX) chứa mật cưa cũ đã chiếu xạ 1.000 kGy. Các bình lên men được ủ trong tủ cấy lắc ở nhiệt độ 30°C và tốc độ lắc 100 v/phút. Hàm lượng protein tổng số của sinh khối trong mỗi bình nuôi cấy được xác định dựa vào lượng nitơ theo phương pháp Kjeldhal với hệ số chuyển đổi 6,25. Mỗi phép đo được lặp lại 3 lần.

Phương pháp tiệt trùng bằng bức xạ gamma và các tham số kỹ thuật của xử lý bằng chùm tia điện tử (EB) đã được trình bày trong báo cáo trước [5, 13]. Các số liệu được xử lý thống kê dựa vào phần mềm WinSTAT®3.1.

II. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

1. Sự phát triển của nấm linh chi và kết quả biến đổi thành phần xơ của giá thể

Hệ sợi nấm linh chi phát triển nhanh và cho quả thể với số lượng lớn. Quá trình ương sợi hoàn thành chỉ sau 16 ngày, quả thể nấm cũng phát triển đầy đủ và phát tán bào tử 50-60 ngày sau khi cấy. Bã nấm được thu thập để phân tích vào ngày thứ 80, rồi cất giữ để trồng nấm đợt hai. Thành phần chất xơ của bã nấm này và của mật cưa ban đầu được nêu trong bảng 1. Tất cả các thành phần đều bị phân hủy rõ rệt sau 80 ngày trồng, tổn hao chất khô là 256,6 g/kg. Trong ba thành phần: hemi-xenluloza, xenluloza và lignin thì xenluloza bị tổn hao nhỏ nhất, còn lignin bị tổn hao lớn nhất do quá trình ương trồng nấm linh chi. Hàm lượng NDF và ADF của bã nấm mật cưa đều tăng lên so với mật cưa mới trước khi trồng nấm, cụ thể là từ 800,7 lên 817,1 g/kg đối với NDF và từ 629,8 lên 678,7 g/kg đối với ADF. Tuy nhiên, do tổn hao chất khô của toàn mẫu là lớn, nên hai giá trị NDF và ADF thực chất là bị giảm so với giá trị tương ứng của mẫu ban đầu, tính theo công thức nêu trong phần phương pháp. Adaskaveg và Gilberton [8] cũng chỉ ra rằng *G. lucidum* và một số loài nấm linh chi khác có khả năng phân hủy lignin lớn hơn holo-xenluloza. Các loài nấm linh chi từ lâu đời đã được biết đến như là nấm chữa bệnh, tuy vậy mãi tới gần đây người ta mới chỉ ra khả năng phân hủy lignin của chúng đối với gỗ cứng [9].

2. Sự phát triển hệ sợi nấm bào ngư trên giá thể là bã nấm đã trồng nấm linh chi

Để ương sợi nấm bào ngư, chúng tôi đã sử dụng giá thể có chứa bã nấm cũ (đã dùng trồng nấm linh chi) với tỷ lệ khác nhau. Thí nghiệm ương trong các bình thủy tinh này nhằm khảo sát ảnh hưởng của thành phần giá thể tới sự phát triển của hệ sợi trong giai đoạn ương. Kết quả chỉ ra rằng nấm bào ngư mọc chậm trên giá thể chứa 100% bã nấm (MCC), thể hiện ở thời gian để hoàn thành giai đoạn ương mất 20 ngày, trong khi trên giá thể là mật cưa mới (MCM) chỉ cần 15 ngày (bảng 2). Như dự đoán, hệ sợi được phát triển tốt hơn trên giá thể là MCC trộn với MCM ở tỷ lệ MCC/MCM là 5/1 và 5/2. Sự

quả thể nấm phát triển tốt hơn. Quá trình ương được tiến hành trong tủ vi khí hậu, có thể điều chỉnh nhiệt độ và độ ẩm. Sự kích thích ra quả thể được thực hiện sau 28 ngày ủ nhờ tăng độ ẩm tới 90% và giảm nhiệt độ xuống 25°C trong 5 ngày tiếp theo [1].

Phân tích thành phần hóa học: Các chỉ số NDF (lượng xơ còn lại sau thủy phân bằng dung dịch trung tính), ADF (lượng xơ còn lại sau thủy phân bằng dung dịch axit), CEL (lượng xenluloza tổng số), ADL (lượng lignin còn lại sau thủy phân bằng dung dịch axit) được xác định bằng máy Fibertec System (Tecator, Thụy Điển). Lượng HEM (hemi-xenluloza) được tính là hiệu của NDF và ADF. Các lượng trên được biểu diễn bằng g/kg khối lượng khô. Tổn hao của thành phần xơ được tính theo công thức $[(C_{i0} \times DW_0 - C_{i1} \times DW_1) / (C_{i0} \times DW_1)] \times 100$, trong đó C_{i0} và C_{i1} là lượng chất khô của thành phần i ở thời điểm đầu và thời điểm lấy mẫu, DW_0 và DW_1 là khối lượng khô của mẫu lúc đầu và lúc lấy mẫu [6].

Nuôi cấy trong môi trường lỏng: nấm bào ngư được nuôi cấy cho thích nghi trong môi trường lỏng Maldels chứa 1% glucoza [7]. Sử dụng 5 ml dịch đồng thể giống nấm đó cho vào bình chứa 100 ml môi trường để thực hiện lên men lỏng. Để đánh giá tác động của mật cưa tới quá trình lên men, đã bố trí các công thức thí nghiệm như sau: công thức đối chứng (ĐC) là môi trường Maldels chứa 1% glucoza, công thức (MCM) chứa 1% bột mật cưa mới, công thức (MCM + CX) chứa mật cưa mới đã chiếu xạ bằng chùm tia điện tử 1.000 kGy, công thức (MCC) chứa bột mật cưa đã trồng nấm linh chi, và công thức (MCC + CX) chứa mật cưa cũ đã chiếu xạ 1.000 kGy. Các bình lên men được ủ trong tủ cấy lắc ở nhiệt độ 30°C và tốc độ lắc 100 v/phút. Hàm lượng protein tổng số của sinh khối trong mỗi bình nuôi cấy được xác định dựa vào lượng nitơ theo phương pháp Kjeldhal với hệ số chuyển đổi 6,25. Mỗi phép đo được lặp lại 3 lần.

Phương pháp tiệt trùng bằng bức xạ gamma và các tham số kỹ thuật của xử lý bằng chùm tia điện tử (EB) đã được trình bày trong báo cáo trước [5, 13]. Các số liệu được xử lý thống kê dựa vào phần mềm WinSTAT®3.1.

II. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

1. Sự phát triển của nấm linh chi và kết quả biến đổi thành phần xơ của giá thể

Hệ sợi nấm linh chi phát triển nhanh và cho quả thể với số lượng lớn. Quá trình ương sợi hoàn thành chỉ sau 16 ngày, quả thể nấm cũng phát triển đầy đủ và phát tán bào tử 50-60 ngày sau khi cấy. Bã nấm được thu thập để phân tích vào ngày thứ 80, rồi cất giữ để trồng nấm đợt hai. Thành phần chất xơ của bã nấm này và của mật cưa ban đầu được nêu trong bảng 1. Tất cả các thành phần đều bị phân hủy rõ rệt sau 80 ngày trồng, tổn hao chất khô là 256,6 g/kg. Trong ba thành phần: hemi-xenluloza, xenluloza và lignin thì xenluloza bị tổn hao nhỏ nhất, còn lignin bị tổn hao lớn nhất do quá trình ương trồng nấm linh chi. Hàm lượng NDF và ADF của bã nấm mật cưa đều tăng lên so với mật cưa mới trước khi trồng nấm, cụ thể là từ 800,7 lên 817,1 g/kg đối với NDF và từ 629,8 lên 678,7 g/kg đối với ADF. Tuy nhiên, do tổn hao chất khô của toàn mẫu là lớn, nên hai giá trị NDF và ADF thực chất là bị giảm so với giá trị tương ứng của mẫu ban đầu, tính theo công thức nêu trong phần phương pháp. Adaskaveg và Gilberton [8] cũng chỉ ra rằng *G. lucidum* và một số loài nấm linh chi khác có khả năng phân hủy lignin lớn hơn holo-xenluloza. Các loài nấm linh chi từ lâu đời đã được biết đến như là nấm chữa bệnh, tuy vậy mãi tới gần đây người ta mới chỉ ra khả năng phân hủy lignin của chúng đối với gỗ cứng [9].

2. Sự phát triển hệ sợi nấm bào ngư trên giá thể là bã nấm đã trồng nấm linh chi

Để ương sợi nấm bào ngư, chúng tôi đã sử dụng giá thể có chứa bã nấm cũ (đã dùng trồng nấm linh chi) với tỷ lệ khác nhau. Thí nghiệm ương trong các bình thủy tinh này nhằm khảo sát ảnh hưởng của thành phần giá thể tới sự phát triển của hệ sợi trong giai đoạn ương. Kết quả chỉ ra rằng nấm bào ngư mọc chậm trên giá thể chứa 100% bã nấm (MCC), thể hiện ở thời gian để hoàn thành giai đoạn ương mất 20 ngày, trong khi trên giá thể là mật cưa mới (MCM) chỉ cần 15 ngày (bảng 2). Như dự đoán, hệ sợi được phát triển tốt hơn trên giá thể là MCC trộn với MCM ở tỷ lệ MCC/MCM là 5/1 và 5/2. Sự

phát triển phụ thuộc vào số lượng mặt cưa mới bổ sung thêm, cụ thể với tỷ lệ 5/2, nấm mốc phủ kín túi mất 17 ngày, trong khi với tỷ lệ 5/1 cần 18 ngày.

Độ lèn chặt của giá thể càng lớn thì hệ sợi càng khó lan toả, đó là nguyên nhân gây ra tốc độ mọc chậm. Với giá thể là 100% mặt cưa cũ, do đã bị phân hủy một phần từ lần trồng nấm trước mà độ lèn chặt cao hơn so với giá thể có trộn thêm mặt cưa mới. Ngoài ra, các hợp chất phenol sinh ra nhiều do sự phân hủy lignin bởi nấm linh chi trong lần trồng nấm đầu tiên cũng có thể là một nguyên nhân gây ra sự ức chế phát triển hệ sợi nấm. Tác dụng ức chế của các axit phenolic đối với vi sinh vật đã được nhiều tác giả đề cập [1, 2]. Nghiên cứu gần đây của chúng tôi đã chỉ ra rằng các chất chiết từ ligno-

xenuloza đã lên men bởi nấm bào ngư có thể ức chế sự nảy mầm của hạt mạnh hơn khi so sánh với chất chiết từ vật liệu không lên men [13].

Tổn hao chất khô (bảng 2) và tổn hao các thành phần xenuloza, hemi-xenuloza, NDF và ADF (bảng 3) cũng chỉ ra mối tương quan phù hợp với sự phát triển của hệ sợi trên từng loại giá thể có thành phần khác nhau. Mặt cưa mới (MCM) có mức tổn hao lớn nhất, tương ứng với hệ sợi phát triển tốt nhất. Mặt cưa cũ (MCC) bị tổn hao ít nhất do chứa ít xenuloza và hemi-xenuloza hơn so với MCM, hệ sợi phát triển kém nhất trên loại giá thể này. Tổn hao ở MIX No.2 cao hơn so với công thức MCC và sự phát triển tốt hơn của hệ sợi chứng tỏ có mối tương quan chặt chẽ giữa sự phát triển của nấm với sự phân giải thành phần cơ chất.

Bảng 1

Sự biến đổi thành phần chất xơ của mặt cưa gỗ *fagus* sau khi trồng nấm linh chi 80 ngày

Thời gian ươm trồng (ngày)	NDF (g/kg)	ADF (g/kg)	HEM (g/kg)	CEL (g/kg)	ADL (g/kg)	DW (g/kg)
0	800,7	629,8	170,9	655,7	237,4	312,6
80	817,1	678,7	138,4	616,4	190,6	232,4
Tổn hao (g/kg)	232,0	198,8	356,2	301,1	403,1	256,6

Ghi chú: ADF: Xơ còn lại sau thủy phân bằng dung dịch axit

NDF: Xơ còn lại sau thủy phân bằng dung dịch trung tính

CEL: xenuloza

ADL: Lignin còn lại sau thủy phân bằng dung dịch axit

DW: Tổng khối lượng khô.

Bảng 2

Sự phát triển hệ sợi nấm bào ngư và tổn hao chất khô của giá thể

Giá thể ⁽¹⁾	Thời gian hoàn thành ươm hệ sợi ⁽²⁾ (ngày)	Tổn hao chất khô sau 35 ngày ươm (g/kg)
MCM	15,2±0,5	164,2±9,4
MCC	20,1±0,5	131,4±5,7
MIX No.1	18,2±0,4	133,7±4,8
MIX No.2	17,1±0,3	142,4±8,9

Ghi chú: ¹⁾ MCC: mặt cưa cũ; MCM: mặt cưa mới; MIX No.1: hỗn hợp MCM với MCC tỷ lệ 5:1; MIX No. 2: hỗn hợp MCM với MCC tỷ lệ 5: 2.

²⁾ Tính khi hệ sợi phủ toàn bộ bề mặt ngoài giá thể ở trong bình.

3. Năng suất quả thể nấm bào ngư trồng trên bã nấm cũ (phương pháp túi PE)

Thời gian ươm sợi nấm trên giá thể MCM và MIX No.2 hoàn thành sau 16 ngày, trong khi cần 22 ngày cho nấm mọc trên MCC (bảng 4). Sự khác biệt này cũng đã quan sát thấy tương tự như thí nghiệm ươm trong các bình như nêu ở phần trên. Kết quả tính năng suất nấm tươi trung bình từ 5 túi sau 2 lần thu hoạch (bảng 4) cho thấy năng suất nấm cao hơn được thu nhận từ giá thể MCM, tiếp theo là từ MIX No.2 và thấp nhất từ MCC. Như vậy, giá thể đã sử dụng trồng nấm linh chi không thể cho năng suất nấm bào ngư cao so với giá thể là mật cưa mới, nhưng khi trộn với mật cưa mới thì cho năng suất cao hơn hẳn. Bổ sung nguyên liệu mới đã cải thiện điều kiện vật lý và hóa học trong túi lên men, là nguyên nhân làm cho nấm mọc tốt hơn. Nghiên cứu sử dụng chất thải của ngành nuôi tằm [3] hoặc sử dụng sinh khối lá [1] làm giá thể, đã chỉ ra rằng hiệu quả biến đổi chất khô thành nấm tươi của các nguyên liệu này có thể tăng lên rõ rệt bằng cách trộn thêm rơm rạ. Tỷ lệ 5:2 của hỗn hợp trộn giữa giá thể cũ và

mới có lẽ được coi là mức thấp nhất về thành phần để cho trồng nấm hiệu suất cao. Tổn hao chất khô của giá thể MCM cao hơn so với MCC và MIX. Tổn hao chất khô của MCC và MIX không khác nhau rõ rệt (tương ứng là 172,5 và 176,4 g/kg). Các giá thể này, sau khi bị mất nhiều thành phần chất xơ do hai lần sử dụng trồng nấm, đã có thể sử dụng làm chất cải tạo đất hoặc làm phân hữu cơ vì dễ dàng bị phân hủy trong môi trường đất trồng.

Bảng 3

Tổn hao thành phần chất xơ của mật cưa (g/kg) sau khi ươm nấm bào ngư 35 ngày

Giá thể	NDF	ADF	HEM	CEL
MCM	144,1	127,8	204,2	204,6
MCC	129,2	123,7	154,1	146,5
MIX No.1	125,1	116,6	161,4	144,9
MIX No.2	129,9	121,3	163,9	170,9

Bảng 4

Sự phát triển hệ sợi, năng suất quả thể nấm bào ngư và tổn hao chất khô của giá thể trồng nấm theo phương pháp túi PE

Giá thể	Thời gian hoàn thành ươm (ngày)	Năng suất quả thể tươi (g/kg)	Tổn hao chất khô của giá thể (g/kg)
MCM	16,2±0,4	684±52	213,4±7,6
MCC	22,0±0,8	338±43	172,5±12,7
MIX No.2	16,3±0,5	562±84	176,4±13,7

Ghi chú: Năng suất nấm tươi: g/kg giá thể khô.

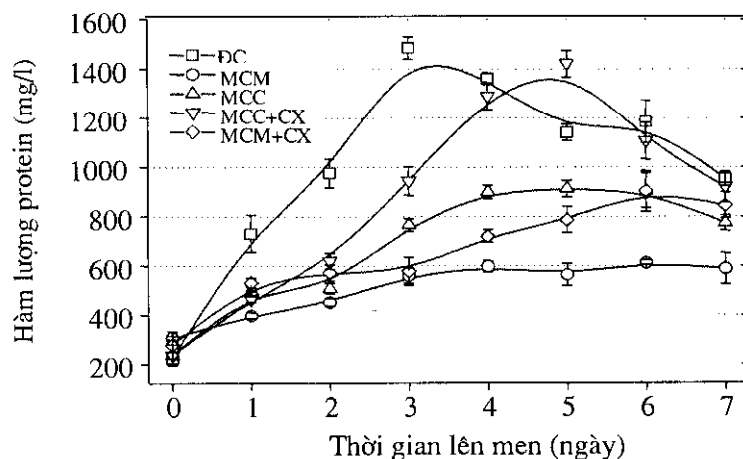
4. Chuyển hóa bã nấm thành sinh khối giàu protein nhờ phối hợp với xử lý chiếu xạ

Lượng protein tổng số của sinh khối sợi nấm bào ngư thu nhận hàng ngày từ quá trình lên men lỏng trong môi trường Mandels được nêu trên hình 1. Trong thí nghiệm này, chúng tôi đã chọn glucoza làm nguồn cacbon cho công thức đối chứng. Như dự đoán, các mẫu của công thức

đối chứng chứa glucoza có lượng protein tăng dần theo thời gian lên men và đạt giá trị cực đại (1485 mg/l) sau 3 ngày cấy, rồi bắt đầu giảm dần. Chiều hướng phát triển và hiệu quả tạo sinh khối sợi nấm bào ngư trong môi trường lỏng chứa glucoza trong thí nghiệm của chúng tôi là hoàn toàn phù hợp với kết quả nêu trước đây của Awafo và cs. [14]. Sự giảm dần sinh khối hay là giảm lượng protein tổng số trong bình

nuôi cấy là do sự thiếu hụt về nguồn năng lượng, dẫn tới hạn chế dần sự phát triển của nấm. Ở các mẫu mà môi trường chứa bột mật

cưa mới (MCM) thay cho glucoza, do thiếu nguồn cung cấp năng lượng nên nấm mọc rất chậm.



Hình 1. Sự thay đổi hàm lượng protein của sinh khối sợi nấm bào ngư được nuôi cấy trong môi trường lỏng chứa mật cưa đã được xử lý trước bằng phương pháp trồng nấm linh chi và chiếu xạ với chùm tia điện tử

Thay thế glucoza bằng bột mật cưa đã chiếu xạ trước ở liều 1.000 kGy đã cải thiện được đáng kể sự chuyển hóa mật cưa thành sinh khối nấm. Tuy nhiên, sự tăng rõ rệt chỉ xác định được ở những ngày lên men muộn hơn so với công thức đối chứng. Sự tăng lượng protein tổng số do phát triển sinh khối nấm đã phản ánh sự biến đổi về cấu trúc của mật cưa thành các chất dễ hòa tan làm cho nấm có thể sử dụng được. Trong nghiên cứu sơ bộ trước đây, chúng tôi thấy rằng chiếu xạ liều cao làm tăng tính tan của mật cưa rất rõ rệt [5]. Để tái sử dụng lõi bắp ngô thành sinh khối giàu protein, Awafo và cs. [14] cũng sử dụng nấm bào ngư trong lên men lỏng và đã chiếu xạ với liều 100, 500 và 1.700 kGy. Các tác giả này chỉ ra rằng chỉ có thể thu được hiệu quả chuyển hóa đáng kể khi chiếu xạ ở liều 1.700 kGy, còn liều 100 kGy không tạo ra hiệu ứng khác biệt so với đối chứng. So sánh với mật cưa mới (MCM), thì mật cưa cũ (MCC) lại có sự chuyển hóa tốt hơn rõ rệt, thậm chí tốt hơn cả MCM đã chiếu xạ 1.000 kGy. Bằng chứng là nấm mọc nhanh hơn và có thời gian chuyển sang pha logarit nhanh hơn. Sử dụng

MCC cho kết quả tạo sinh khối cao hơn MCM (912,4 so với 563,1mg/l). MCC là bã nấm thu được sau khi trồng nấm linh chi nên thành phần ligno-xenluloza của nó đã bị biến đổi rất nhiều, trong đó lượng lignin đã bị giảm rõ rệt. Kết quả của sự phân hủy lignin chính là việc tạo ra các dẫn xuất hay thành phần phân hủy thứ cấp mà điển hình là các hợp chất phenol. Trong số đó, có nhiều loại kích thích cho sự phát triển của nấm. Nghiên cứu của Cai và cs. chỉ ra rằng bổ sung thêm 1-10 mM axit vanilic, *p*-coumaric hay axit cafeic, 1-5 mM axit ferulic gây kích thích rõ rệt sự phát triển hệ sợi của nhiều loài nấm, kể cả nấm bào ngư [15].

Khi xử lý phối hợp với chiếu xạ 1.000 kGy đối với MCC thì kết quả chuyển hóa xơ sợi thành sinh khối nấm cao hơn rất nhiều so với sử dụng riêng rẽ công thức MCC hay MCM đã chiếu xạ. Lượng protein tổng số thu được từ môi trường nuôi cấy chứa MCC đã chiếu xạ tăng lên hàng ngày trong quá trình lên men và đạt giá trị lớn nhất (1455,3 mg/l), xấp xỉ giá trị thu được của công thức đối chứng (1485 mg/l). Tuy nhiên, thời gian lên men bị chậm đi 1-2 ngày so

với quá trình thực hiện bằng glucoza. Khi lưu ý tới kết quả của Awafo và cs. [14] sử dụng chiếu xạ lõi bắp ngô liều cao, họ chỉ đạt được hiệu quả chuyển hóa bằng với đối chứng khi xử lý thêm bằng dung dịch kiềm, thì rõ ràng quá trình lên men rắn (trồng nấm linh chi) có thể coi là một bước tiền xử lý trước khi chiếu xạ để tạo ra nguyên liệu cho quá trình lên men lỏng về sau. Kết quả tóm tắt ở phần này chỉ ra rằng bã nấm từ mặt cưa gỗ có thể sử dụng thay cho glucoza để bổ sung vào môi trường nuôi cấy tạo sinh khối sợi nấm giàu protein. Bản thân bã nấm có khả năng được chuyển hóa tốt hơn so với mặt cưa gỗ nguyên sơ. Hiệu quả chuyển hóa tăng lên tới mức có thể thay thế hoàn toàn lượng glucoza cần thiết khi bã nấm được phân hủy bằng xử lý chiếu xạ với chùm tia điện tử ở liều chiếu 1.000 kGy.

III. KẾT LUẬN

Các kết quả của nghiên cứu này chỉ ra khả năng tái sử dụng bã nấm đã dùng trồng nấm linh chi là loài phá gỗ mạnh được trồng làm thuốc chữa bệnh phổ biến ở nhiều quốc gia, trong đó có Việt Nam. Nấm bào ngư có khả năng phát triển tốt hệ sợi và quả thể trên bã nấm đã trồng nấm linh chi nếu đem trộn bã nấm đó với mặt cưa mới theo tỷ lệ tối thiểu là 5 cũ : 2 mới. Mặt cưa gỗ của cây *fagus* đã được chọn làm giá thể trong nghiên cứu này, tuy nhiên chúng tôi cho rằng các kết quả tương tự về năng suất nấm có thể đạt được khi sử dụng giá thể là mặt cưa từ loại cây gỗ khác, chẳng hạn gỗ cây cao su là cây có nhiều ở nước ta. Từ kết quả nhận được cũng có thể cho rằng ngoài nấm bào ngư thì một số loài nấm ưa mặt cưa gỗ khác (nấm hương, mộc nhĩ) cũng có thể sử dụng cho cùng mục đích. Kết quả khảo sát quá trình lên men lỏng trong thí nghiệm này chỉ ra một phương pháp khác để sử dụng bã nấm, đó là phương pháp xử lý chiếu xạ kết hợp với lên men lỏng tạo ra sinh khối sợi nấm giàu protein. Sinh khối này có thể sử dụng làm thức ăn chất lượng cao cho gia súc, gia cầm.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Chanda S. et al., 1993: Mush. Res., 2: 96-101.
2. Kume T. et al., 1993: Radiat. Phys. Chem., 42 (4-6): 727-730.
3. Patrabansh S., Madan M., 1997: Acta Biotechnol, 17 (2): 107-122.
4. Chang S. T., Miles P.G., 1989: Edible Mushroom and their cultivation. Boca-Raton, Roton Florida: CRC Press, 345.
5. Lam N. D., Nagasawa N., Kume T., 2000: Radiat. Phys. Chem., 59: 393-398.
6. Chen J. et al., 1995: J. Sci. Food Agric., 68: 91-98.
7. Maldels M., Weber J., 1969: Adv. Chem. Ser., 95: 391-414.
8. Adaskaveg J.E., Gilbertson R. L., 1994: Proceedings of Contributed Symposium 59A,B 5th International Mycological Congress, Vancouver, August 14-21, pp. 79-93.
9. Agosin E. et al., 1990: Appl. Environ. Microbiol., 56: 65-74.
10. Martinez A. T. et al., 1994: Proceedings of Contributed Symposium 59A,B 5th International Mycological Congress, Vancouver, August 14-21, pp. 67-77.
11. Besle J. M., Cornu A., Jouany J. P., 1994: J. Sci. Food Agric., 64: 171-190.
12. Shea S. K., Buswell J. A., 1992: Letters in Appl. Microbiol., 15: 12-14.
13. Lam N. D., Kume T., 1998: Report presented in the 16th International Conference on Plant Growth Substances, Chiba, Japan, 13-17 August.
14. Awafo V. A., Chahal D. S., Charbonneau R., 1995: Radiat. Phys. Chem., 46(4-6): 1299-1302.
15. Cai Y. J., Buswell J. A., Chang S. T., 1993: Wold J. Microbiol. Biotechnol., 9: 503-507.

STUDY TO REUSE THE SPENT COMPOST IN THE *GANODERMA LUCIDUM* CULTIVATION FOR PRODUCING FRUITBODIES AND PROTEIN-RICH MYCELIAL BIOMASS OF *PLEUROTUS SAJOR-CAJU*

NGUYEN DUY LAM, TAMIKAU KUME

SUMMARY

After the cultivation of *Ganoderma lucidum* mushroom, the spent compost of the *fagus* wood sawdust was analyzed and kept to use as a main substrate for the cultivation of *Pleurotus sajor-caju* mushroom. The *G. lucidum* cultivation drastically altered the fibre compositions and reduced the lignin content by 403.1 g kg⁻¹. The time of the completed growth of *P. sajor-caju* mycelium colonized on the spent compost was 5 days longer than that grown on the new sawdust. By mixing the spent compost with the new sawdust at different portions (5:1 and 5:2 w/w), the time for completing of the mycelium growth delayed only 3 and 2 days, respectively. The loss of the dry matter of these substrates was 131.4, 133.7 and 142.4 g kg⁻¹, respectively, while the loss of the new substrate was 164.2 g kg⁻¹. The cultivation of *P. sajor-caju* mushroom using the mixture of the spent compost with the new sawdust provided a high yield of fresh fruit bodies which was comparable to the yield from whole new substrate. The protein-rich biomass of *P. sajor-caju* obtained from the liquid fermentation using the spent sawdust was increased obviously (protein content was from 563.1 to 912.4 mg/l). The irradiation as pre-treatment much more improved the bioconversion of this residue to protein-rich mycelial biomass (1455.3 mg/l).

Ngày nhận bài: 26-1-2001

BẢN ĐỒ LIÊN KẾT PHÂN TỬ VỚI CÁC CHỈ THỊ SSR VÀ AFLP Ở QUẦN THỂ F6 GIỮA HAI GIỐNG LÚA CẠN VIỆT NAM

NGUYỄN THỊ KIM LIÊN, NGUYỄN ĐỨC THÀNH

Viện Công nghệ sinh học

Lúa là cây lương thực chính của hơn 50% dân số thế giới. Tốc độ gia tăng dân số hiện nay đặt ra một vấn đề cấp bách là phải cải biến các giống lúa nhằm nâng cao năng suất và sản lượng, đáp ứng nhu cầu ngày càng tăng về lương thực.

Tuy nhiên, để xác định và đánh giá các gen kiểm soát các tính trạng liên quan đến năng suất và sản lượng là rất khó khăn. Sự ra đời của các chỉ thị phân tử những năm 1980 như chỉ thị đa hình về độ dài các đoạn cắt hạn chế (RFLP), đa hình các đoạn nhân ngẫu nhiên (RAPD), đa hình độ dài các đoạn nhân chọn lọc (AFLP), đa hình các đoạn lặp lại ngẫu nhiên (SSR) và một số chỉ thị khác đã đem lại những thuận lợi trong quá trình chọn lọc. Các chỉ thị phân tử có số lượng phong phú và sự biểu hiện của chúng không phụ thuộc vào điều kiện môi trường và giai đoạn phát triển nên việc chọn lọc dựa trên mối liên kết chặt chẽ giữa những tính trạng quan tâm với các chỉ thị phân tử trở nên dễ dàng hơn và hiệu quả hơn. Vì vậy, việc phân tích hệ gen để xác định và phân lập các gen quan tâm trên bản đồ liên kết phân tử chi tiết là hết sức cần thiết.

Trong số các yếu tố bất lợi của môi trường ảnh hưởng lên năng suất và sản lượng lúa thì hạn hán được xem là yếu tố chính gây thiệt hại cho sản xuất, thậm chí làm mất trắng không cho thu hoạch. Nhiều nghiên cứu cho thấy rằng những giống có một hệ thống rễ phát triển với rễ dài, rễ dày, tỷ lệ rễ/thân cao là những giống có khả năng chịu hạn cao [2, 4, 6, 10, 19].

Bản đồ liên kết phân tử và bản đồ QTL (các locus tính trạng số lượng - Quantitative Trait

Loc) về các tính trạng hình thái của rễ như các tính trạng rễ dài, rễ dày...[2, 11, 13, 18, 20], bản đồ QTL về khả năng đâm xuyên của rễ [1, 12] ở lúa đã được xây dựng.

Trong bài báo này, chúng tôi đưa ra một số kết quả bước đầu về việc lập bản đồ liên kết phân tử của quần thể tái tổ hợp nội phối ở thế hệ F6 (135 cá thể) từ cặp lai giữa hai giống lúa cạn Việt Nam. Tiến tới xây dựng một bản đồ chi tiết về các tính trạng của rễ liên quan đến tính chịu hạn nhằm chọn tạo các giống lúa có khả năng chịu hạn và cho năng suất cao.

I. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Vật liệu

Quần thể cây F6 (gồm 135 cá thể) của cặp lai giữa hai giống lúa cạn Việt Nam (RDB09 x R2021). Đây là một quần thể tương đối thuần, các tính trạng đã ổn định, thích hợp cho việc lập bản đồ phân tử các tính trạng số lượng về hình thái của rễ liên quan đến tính chịu hạn.

Các enzym cắt hạn chế EcoRI, MseI và enzym gắn T4 DNA ligasa được mua của hãng New England BioLabs, môi AFLP được mua từ hãng Key Stone (Mỹ). Trình tự đoạn tiếp hợp (adapter) và môi AFLP sử dụng trong nghiên cứu được ghi trong bảng 1.

Chúng tôi đã sử dụng 5 mỗi EcoRI có 2 nucleotit chọn lọc (CT, AA, GC, AG, CA), 2 mỗi MseI có 2 nucleotit chọn lọc (CT, CA) và 10 mỗi EcoRI có 3 nucleotit chọn lọc, 15 mỗi MseI có 3 nucleotit chọn lọc phối hợp với nhau để có các tổ hợp môi cho nhân chọn lọc các đoạn ADN của hệ gen.

Trình tự đoạn tiếp hợp (adapter) và môi AFLP

Adapter và môi AFLP	Trình tự
EcoRI adapter	5' - CTC GTA GAC TGC GTA CC- 3' 3' - CTG ACG CAT GGT TAA - 5'
MseI adapter	5' - GAC GAT GAG TCC TGA G - 3' 3' - TA CTC AGG ACT CAT - 5'
Trình tự cố định của môi EcoRI (Core sequence of EcoRI primer)	5' - GAC TGC GTA CCA ATT C - 3'
Trình tự cố định của môi MseI (Core sequence of MseI primer)	5' - GAT GAG TCC TGA GTA A - 3'
Môi EcoRI nhân không chọn lọc (EcoRI pre-amplification primer)	Phần cố định của EcoRI + 0 (core sequence + no selective nucleotide)
Môi MseI nhân không chọn lọc (MseI pre-amplification primer)	Phần cố định của MseI + 0 (core sequence + no selective nucleotide)
Môi EcoRI nhân chọn lọc (EcoRI selective amplification primer)	Phần cố định của EcoRI +2 hoặc +3 (core sequence + 2 selective nucleotide) + 3
Môi MseI nhân chọn lọc (MseI selective amplification primer)	Phần cố định của MseI +2 hoặc +3 (core sequence + 2 selective nucleotide) + 3

2. Phương pháp

a) Tách ADN hệ gien

Để tách ADN hệ gien của các dòng trong quần thể, chúng tôi sử dụng phương pháp CTAB của Saghai - Maroof và cộng sự [14].

b) Phân tích AFLP

Chúng tôi sử dụng phương pháp phân tích AFLP theo Vos và cộng sự [17] và phương pháp nhuộm bạc theo công bố của Thành và Nguyễn [15].

c) Phân tích số liệu

Số liệu đã được xử lý thống kê và dùng chương trình lập bản đồ liên kết phân tử MapMarker (MapMarker Version 2.0 theo Lander và cs. [5]) để xác định nhóm liên kết.

Dựa trên các số liệu về nhóm liên kết và sử dụng chương trình vẽ Autocard 14, chúng tôi đã xây dựng một bản đồ liên kết phân tử với 12 NST ở lúa.

Tỷ lệ phân ly của mỗi locus chỉ thị được phân tích với phép thử χ^2 và sử dụng chương

trình máy tính MapManager Version 2.5 [9].

II. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

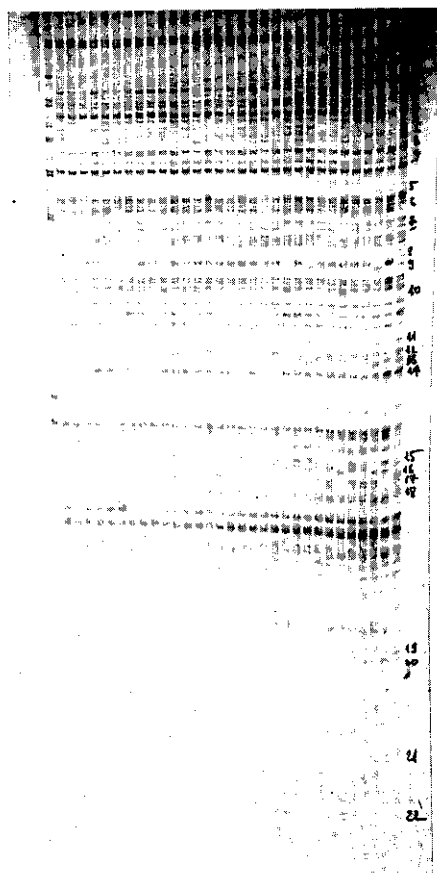
Để nghiên cứu sự phân bố của các chỉ thị AFLP trong hệ gien của lúa, chúng tôi đã bước đầu xây dựng một bản đồ liên kết phân tử với các chỉ thị AFLP trên quần thể F6 (gồm 135 cá thể) được tạo ra nhờ tái tổ hợp nội phối từ phép lai giữa 2 giống lúa cận Việt Nam là RDB 09 (*Japonica*, Isozym nhóm VI) và R2021 (*Indica*, Isozym nhóm I).

1. Phân tích AFLP

ADN của cây bố, mẹ được kiểm tra sự đa hình với 60 tổ hợp mỗi có hai và ba nucleotit chọn lọc (bảng 2, ảnh 1) để chọn ra các tổ hợp mỗi đa hình cho việc phân tích trên toàn bộ quần thể. 60 tổ hợp này được xây dựng từ 5 môi EcoRI (+2), 2 môi MseI (+2) phối hợp với 10 môi EcoRI (+3) và 15 môi MseI (+3) một cách ngẫu nhiên giữa mỗi EcoRI (+2) với mỗi MseI (+3) hoặc giữa mỗi MseI (+2) với mỗi EcoRI (+3).

Các tổ hợp mỗi ở trên cho một số lượng băng thay đổi rất lớn từ 27 đến 158 băng, trong đó số băng đa hình từ 3 đến 34 băng trên mỗi tổ hợp. Tỷ lệ đa hình của các tổ hợp mỗi thay đổi tương ứng từ 4% đến 46,15%. Trong số 60 tổ hợp mỗi đã chạy kiểm tra, có 7 tổ hợp cho tỷ lệ đa hình thấp dưới 10%, 20 tổ hợp cho tỷ lệ đa hình thấp dưới 20%, 19 tổ hợp cho tỷ lệ đa hình dưới 30% và 14 tổ hợp cho tỷ lệ đa hình cao trên 30%. Phân tích AFLP trên 60 tổ hợp cho

4451 băng, trong đó có 870 băng đa hình chiếm tỷ lệ 19,54%. Theo Mackill và cs. [7] từ 21 mỗi RAPD thu được 103 băng, trong đó có 43 băng đa hình và với 14 mỗi SSR cho 42 băng đa hình trong khi đó chỉ với 17 tổ hợp mỗi AFLP đã thu được 147 băng đa hình. Như vậy, chỉ thị AFLP cho số lượng băng đa hình cao hơn so với các chỉ thị RAPD và SSR, điều này rất thuận lợi cho việc sử dụng chỉ thị AFLP trong lập bản đồ liên kết phân tử.



Ảnh 1. Kết quả điện di trên gel polyacrylamit với các tổ hợp mỗi ở bố mẹ

Từ các tổ hợp mỗi này chúng tôi đã tiến hành phân tích 13 tổ hợp trên toàn bộ quần thể (ảnh 2). Kết quả phân tích sự đa hình của quần thể cho thấy trong số 1185 băng AFLP thu được từ 13 tổ hợp mỗi, có 120 băng đa hình chiếm 10,12%. Mức độ đa hình đạt được là tương đối thấp so với các nghiên cứu trước đây của Maheswaran và cs. [8], khi sử dụng 20 tổ hợp mỗi đã thu được 945 băng, trong đó có 208 băng đa hình chiếm tỷ lệ 21,8% và của Ali [1]

là 17,1%. Tỷ lệ đa hình này cũng thấp hơn so với nghiên cứu của Mackill và cs. [7] giữa hai giống lúa *indica* và *japonica*, từ 17 tổ hợp mỗi thu được 529 băng trong đó có 147 băng đa hình chiếm 27,78%. Tỷ lệ đa hình cao cũng đạt được trong nghiên cứu của Cho và cs. [3], khi dùng 10 tổ hợp mỗi giữa EcoRI và MseI trên quần thể tái tổ hợp nội phối (RI - Recombinant Inbred) MG (Milyang 23 và Gihoby eo) đã thu được 1011 băng, trong đó có 269 băng đa hình

chiếm 26,6%.

Bảng 2

Các tổ hợp môi đã chạy kiểm tra sự đa hình với bố mẹ

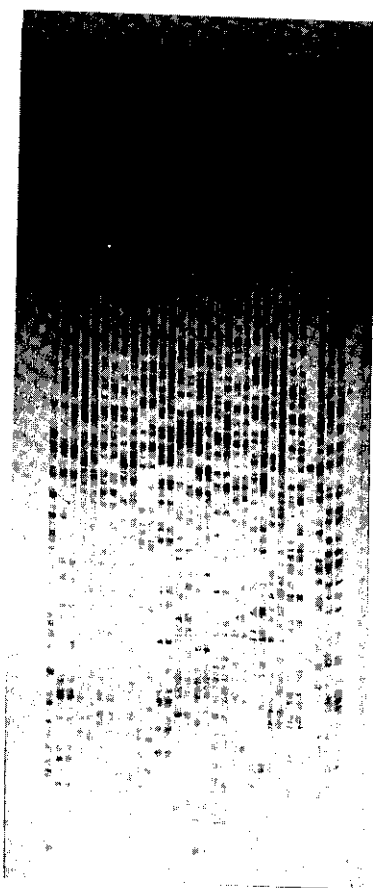
Tên tổ hợp	Tổ hợp môi	Tên tổ hợp	Tổ hợp môi
*AVM1	EcoRI CT/MseIGCG	*AVM31	EcoRI GC/MseICTG
*AVM2	EcoRI CT/MseICAC	*AVM32	EcoRI GC/MseIACC
*AVM3	EcoRI CT/MseICAG	*AVM33	EcoRI GC/MseICTA
*AVM4	MseI CT/EcoRIAGC	*AVM34	EcoRI GC/MseIGTG
*AVM5	MseI CT/EcoRIAGT	*AVM35	EcoRI AG/MseIAGC
*AVM6	MseI CT/EcoRIAGG	*AVM36	EcoRI AG/MseITGC
*AVM7	EcoRI CT/MseICTA	*AVM37	EcoRI AG/MseICAC
*AVM8	EcoRI CT/MseICTC	*AVM38	EcoRI AG/MseICAG
*AVM9	EcoRI CT/MseITGC	*AVM39	EcoRI AG/MseIACC
*AVM10	EcoRI CT/MseIACC	*AVM40	EcoRI AG/MseIGCG
*AVM11	EcoRI CT/MseICAT	*AVM41	EcoRI AG/MseIGTG
*AVM12	MseI CT/EcoRIACG	*AVM42	EcoRI AG/MseICAT
*AVM13	MseI CT/EcoRI AAT	*AVM43	EcoRI AG/MseICTA
*AVM14	EcoRI AA/MseICAC	*AVM44	EcoRI GC/MseICAC
*AVM15	EcoRI AA /MseICAG	*AVM45	EcoRI GC/MseICAG
*AVM16	EcoRI AA /MseICAT	*AVM46	EcoRI GC/MseICAT
*AVM17	EcoRI AA /MseIAGC	*AVM47	EcoRI CA/MseICAC
*AVM18	EcoRI AA /MseITGC	*AVM48	EcoRI CA/MseICAG
*AVM19	EcoRI AA /MseICTA	*AVM49	EcoRI CA/MseICAT
*AVM20	EcoRI AA /MseICTC	*AVM50	EcoRI CA/MseICTA
*AVM21	EcoRI CT/MseICAA	*AVM51	EcoRI CA/MseIAGC
*AVM22	EcoRI CT/MseICTT	*AVM52	EcoRI CA/MseITGC
*AVM23	EcoRI CA/MseIGTG	*AVM53	EcoRI CA/MseIATA
*AVM24	EcoRI CA /MseCIT	*AVM54	MseI CT/EcoRICAA
*AVM25	EcoRI CA/MseIACC	*AVM55	MseI CT/EcoRITTT
*AVM26	EcoRI CA/MseIGCG	*AVM56	MseI CT/EcoRICCC
*AVM27	EcoRI GC/MseIAGC	*AVM57	MseI CT/EcoRICAG
*AVM28	EcoRI GC/MseITGC	*AVM58	MseI CT/EcoRIATA
*AVM29	EcoRI GC/MseIGCG	*AVM59	MseI CA/EcoRIAGT
*AVM30	EcoRI GC/MseICTC	*AVM60	MseI CA/EcoRIAGG

2. Sự phân bố của các chỉ thị AFLP

Đối với mỗi chỉ thị, sự dao động về số cá thể mang các chỉ thị AFLP (bảng 3) là tương đối lớn (17,03% và 76,29%). Nhưng đánh giá về tổng thể thì sự phân ly của các chỉ thị trong quần thể RI ở thế hệ F6 cho thấy một tỷ lệ xấp

xĩ 1:1 của Mendel. Tỷ lệ dị hợp tử trong nghiên cứu của chúng tôi (1,77%) là thấp hơn so với nghiên cứu của Ali [1] ở quần thể RI (thế hệ F7) có tỷ lệ dị hợp tử là 3,46%. Tỷ lệ dị hợp tử mà chúng tôi thu được hoàn toàn phù hợp với tỷ lệ tính toán về mặt lý thuyết (1,6%), tính cho

một quần thể RI ở thế hệ F7. Tỷ lệ dị hợp tử của các chỉ thị trong quần thể là rất nhỏ, chứng tỏ quần thể ở F6 đã có độ thuần cao thích hợp cho việc lập bản đồ liên kết phân tử.



Ảnh 2. Kết quả điện di trên gel polyacrylamit ở quần thể cây F6

Bảng 3

Sự phân ly của các chỉ thị phân tử (đã được lập bản đồ) trong quần thể

STT	Tên chỉ thị	Số dòng giống p1 (%)	Số dòng giống p2 (%)	Số dòng dị hợp (%)
1	*AVM 1.7	45 (33,33)	73 (54,07)	
2	*AVM 3.5	77 (57,03)	50 (37,03)	
3	*AVM 3.6	23 (17,03)	103 (76,29)	
4	*AVM 3.7	52 (38,51)	75 (55,55)	
5	*AVM 4.2	50 (37,03)	47 (34,81)	
6	*AVM 4.4	61 (45,18)	60 (44,44)	
7	*AVM 4.9	71 (52,29)	53 (39,25)	
8	*AVM 4.11	44 (32,59)	68 (50,37)	
9	*AVM 5.6	63 (46,66)	40 (29,62)	
10	*AVM 7.4	60 (44,44)	54 (40,00)	

STT	Tên chỉ thị	Số dòng giống p1 (%)	Số dòng giống p2 (%)	Số dòng dị hợp (%)
11	*AVM 8.1	65 (48,14)	68 (50,37)	
12	*AVM 8.6	45 (33,33)	88 (65,18)	
13	*AVM 9.9	74 (54,81)	42 (31,11)	
14	*AVM 9.11	42 (31,11)	74 (54,81)	
15	*AVM 9.18	42 (31,11)	74 (54,81)	
16	*AVM 9.23	71 (52,29)	45 (33,33)	
17	*AVM 10.2	52 (38,51)	61 (45,18)	
18	*AVM 10.10	38 (28,14)	75 (55,55)	
19	*AVM 10.11	43 (31,85)	70 (51,85)	
20	*AVM 11.3	45 (33,33)	69 (51,11)	
21	*AVM 11.4	64 (47,40)	52 (38,51)	24 (17,77)
22	*AVM 11.5	47 (34,81)	67 (49,62)	24 (17,77)
23	*AVM 11.6	52 (38,51)	61 (45,18)	
24	*AVM 11.7	37 (27,40)	75 (55,55)	
25	*AVM 12.1	42 (31,11)	84 (62,22)	
26	*AVM 12.3	69 (51,11)	59 (43,70)	
27	*AVM 12.5	49 (36,29)	67 (49,62)	
28	*AVM 12.8	58 (42,96)	52 (38,51)	
29	*AVM 22.7	59 (43,70)	64 (47,40)	
30	*AVM 22.8	35 (25,92)	69 (51,11)	
31	*AVM 22.10	46 (34,07)	77 (57,03)	
32	*AVM 22.11	54 (40,00)	69 (51,11)	
33	*AVM 22.13	51 (37,77)	72 (53,33)	
34	*AVM 22.16	65 (48,14)	58 (42,96)	
35	*AVM 22.19	40 (29,62)	83 (61,48)	
36	*AVM 22.20	69 (51,11)	54 (40,00)	
37	*AVM 29.2	17 (12,59)	99 (73,33)	
38	*AVM 29.6	30 (22,22)	81 (60,00)	
39	*AVM 29.7	30 (22,22)	81 (60,00)	
40	*AVM 30.2	63 (46,66)	59 (43,70)	
41	*AVM 30.3	80 (59,25)	42 (31,11)	
42	*AVM 30.4	59 (43,70)	54 (40,00)	
43	*AVM 30.5	59 (43,70)	54 (40,00)	
44	*AVM 30.6	44 (32,59)	78 (57,77)	
45	*AVM 30.7	41 (30,37)	72 (53,33)	
46	*AVM 30.8	41 (30,37)	72 (53,33)	
Σ		2364 (43,71)	3044 (56,28)	48 (1,77)

Từ số liệu về sự đa hình chỉ thị AFLP của quần thể và sử dụng chương trình MapMarker Version 2.0 cho IBM với LOD score 3 đến 5, chúng tôi đã xây dựng một bản đồ liên kết phân tử với các chỉ thị AFLP và SSR. Dựa trên cơ sở các nhóm liên kết được xác định với 36 chỉ thị neo SSR [16], các chỉ thị AFLP đã được phân bố lên 12 nhóm liên kết. Bước đầu, chúng tôi đã có một bản đồ liên kết phân tử bao gồm 46 chỉ thị AFLP và 36 chỉ thị neo SSR trên tổng độ dài di truyền là 2151 cM, với khoảng cách trung bình giữa các chỉ thị là 25,9 cM (hình 1, 2).

46 chỉ thị AFLP đã được lập bản đồ có sự phân bố trên hầu hết các NST của hệ gien, ngoại trừ NST số 7 là chưa có chỉ thị nào. Tuy số lượng chỉ thị AFLP trên bản đồ còn chưa nhiều, nhưng sự phân bố của các chỉ thị này trên các NST là khá đồng đều, với 4-6 chỉ thị / NST. Trong số 12 NST của hệ gien lúa, ở NST số 1, 2 và 10 lượng chỉ thị AFLP mà chúng tôi có được còn thấp (1-2 chỉ thị/NST). Sự phân bố của các chỉ thị trên NST số 4, 5, 6, 8, 11 có khoảng cách giữa các chỉ thị khá đồng đều. Trên NST số 3, 9, 12, sự phân bố của các chỉ thị có xu hướng cụm lại thành từng vùng có mật độ chỉ thị cao hơn so với những vùng khác trên NST.

Trong các tổ hợp mỗi dòng trong phân tích AFLP trên toàn bộ quần thể, chúng tôi nhận thấy các tổ hợp mỗi AVM 11, AVM 12, AVM 22 và AVM 30 cho số băng đa hình cao hơn ở các tổ hợp mỗi khác và sự phân bố của các băng này là khá đều trên hầu hết các NST (tương ứng là 4 chỉ thị/3 NST, 4 chỉ thị/4 NST, 8 chỉ thị/7 NST và 7 chỉ thị/6 NST).

Như vậy, bằng phân tích AFLP trên cơ sở các chỉ thị neo SSR, bước đầu chúng tôi đã xây dựng được một bản đồ liên kết phân tử nhằm tiến tới việc xây dựng một bản đồ các tính trạng số lượng (QTL - Quantitative Trait Loci) của một số tính trạng hình thái của rễ liên quan đến tính chịu hạn. Từ đó mở ra triển vọng có thể sử dụng các chỉ thị liên kết chặt với các tính trạng của rễ liên quan đến tính chịu hạn như là các chỉ tiêu trong chọn và cải tạo các giống lúa đáp ứng nhu cầu thực tiễn.

III. KẾT LUẬN

Từ những kết quả thu được, chúng tôi đi đến một số kết luận:

1. Phân tích AFLP từ 60 tổ hợp mỗi, thu được 4451 băng trong đó có 870 băng đa hình. Như vậy chỉ thị AFLP cho sự đa hình cao hơn so với các chỉ thị RAPD và SSR. Điều này rất thuận lợi cho việc sử dụng chỉ thị AFLP trong lập bản đồ liên kết phân tử.

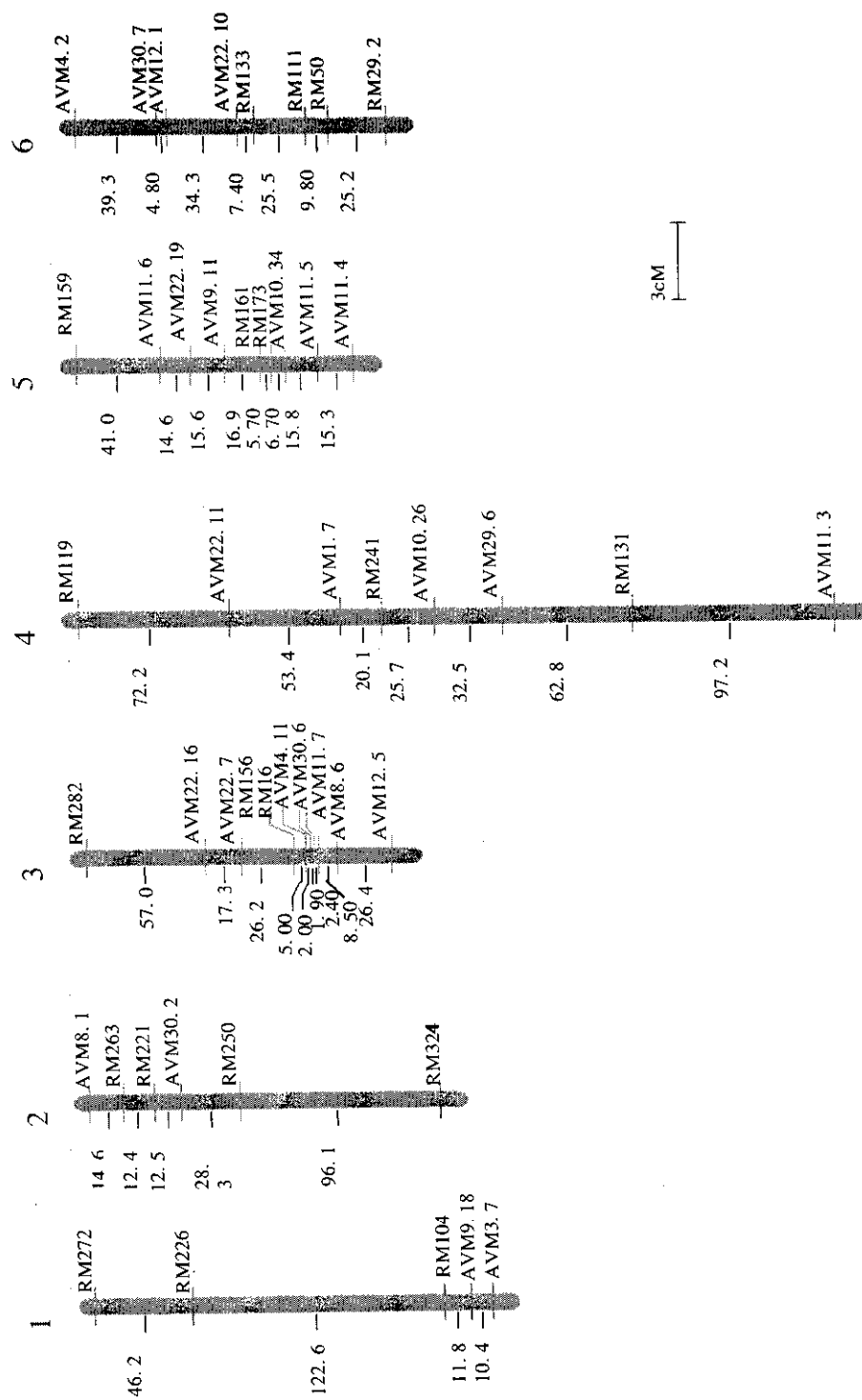
2. Kết quả phân tích AFLP ở quần thể RI thế hệ F6 từ 13 tổ hợp mỗi cho thấy, trong 1185 băng, đã có 120 băng đa hình chiếm tỷ lệ 10,12%.

3. Có sự dao động khá lớn về tỷ lệ số cá thể mang tính trạng của bố và mẹ đối với từng chỉ thị, nhưng về tổng thể tỷ lệ phân ly của các chỉ thị này trong quần thể là xấp xỉ 1:1 của Mendel. Tỷ lệ dị hợp tử trong quần thể F6 rất thấp (1,77%), cho thấy các dòng ở thế hệ F6 có độ thuần cao thích hợp cho việc sử dụng để lập bản đồ liên kết phân tử.

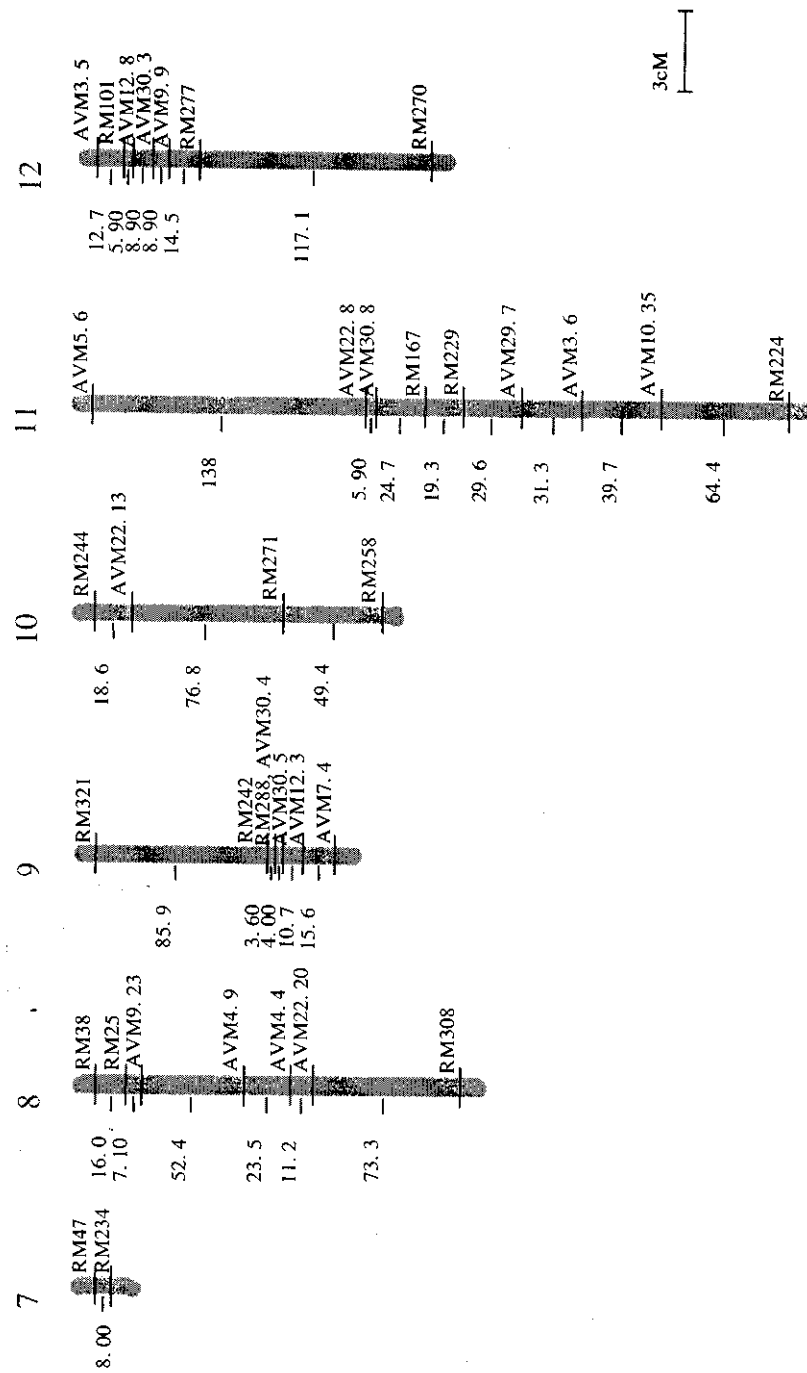
4. Dựa trên 12 nhóm liên kết được xác định nhờ 36 chỉ thị neo SSR, chúng tôi đã bước đầu thu được bản đồ liên kết với 46 chỉ thị AFLP trên tổng độ dài di truyền 2151 cM và với khoảng cách trung bình 25,9 cM.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Ali M. D. L., 1999: Mapping QTL for root traits related to drought resistance in rice (*O.sativa* L) using AFLP markers. A dissertation in Agronomy. Texas Tech University.
2. Champoux M. C. et al., 1995: Theor. Appl. Genet., 90: 969-981.
3. Cho Y. G. et al., 1998: Theor. Appl. Genet., 97: 370-380.
4. Ekanayake I. J. et al., 1985: Crop. Sci., 25: 927-933.
5. Lander E. S. et al., 1987: Genomics, 1: 174-181.
6. Loresto G. C. et al., 1983: Garcia de Orta, 10: 77-82.
7. Mackill D. J. et al., 1996: Genome, 39: 969-977.
8. Maheshwaran M. et al., 1997: Theor. Appl. Genet., 94: 39-45.
9. Manly K. F., 1995: New functions in Map Manager a microcomputer program for



Hình 1. Bản đồ liên kết phân tử với các chỉ thị AFLP và SSR



Hình 2. Bản đồ liên kết phân tử với các chỉ thị AFLP và SSR

- genomic mapping. Proceedings of Plant Genome III, San Diego CA 15-19 Jan, 61.
10. O'Toole J. C., 1982: Adaptation of rice to drought - prone environments. In Drought resistance in crops with emphasis on rice. Los Banos. Philippines. IRRI: 195-213.
 11. Price A. H., Tomos A. D., 1997: Theor. Appl. Genet., 95: 143-152.
 12. Ray JD, Yu L. X. et al., 1996: Theor. Appl. Genet., 92: 627-636.
 13. Redona E. D., Mackill D. J., 1996: Genome, 39: 395-403.
 14. Saghai-Maroo M. A. et al., 1994: Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 91: 5466-5470.
 15. Thanh N. D., Nguyen H. T., 2000: Advances in Natural Sciences, 1(1): 107-114.
 16. Thanh N. D., 2001: Final Report of Rockefeller Foundation Project RF 96001 # 506; RF90075 # 5.
 17. Vos P. et al., 1995: Nucl. Acids Res., 23 (21): 4407-4414.
 18. Yadav R. et al., 1997: Theor. Appl. Genet., 94: 619- 632.
 19. Yoshida S., Hasegawa S., 1982: The rice root system: its development and function. Drought resistance in crops with emphasis on rice. IRRI, 87-114.
 20. Zhang W. P. et al., 2001: Theor. Appl. Genet., 103: 118- 123.

AN AFLP AND SSR LINKED MAP BASED ON A F6 POPULATION DERIVED FROM A CROSS OF TWO VIETNAMESE UPLAND RICE CULTIVARS

NGUYEN THI KIM LIEN, NGUYEN DUC THANH

SUMMARY

A molecular map of rice consisting of 46 AFLPs and 36 SSRs has been constructed, using an F6 recombinant inbred (RI) population. The mapping population consisted of 135 RI lines and was developed via single - seed descent from an intercross between the genetically divergent parents RDB 09 (*japonica* type) and R2021 (*indica* type). The AFLP markers were derived from thirteen EcoRI (+2 or +3) and MseI (+3 or +2) primer combinations. Of the 1185 bands visible on the polyacrylamide gels, 120 (10,12 %) were polymorphic in the RI population. All marker types were distributed throughout the 12 chromosomes. The integrated map covered 2151 cM, with an average interval size of 25,9 cM. The population is also being used for the quantitative trait locus (QTLs) analysis and as the basis for the marker-assisted variety development.

Ngày nhận bài: 22/5-2002

KHẢO SÁT TÍNH KHÁNG PHÂN BÀO CỦA HAI HOẠT CHẤT GOSSYPOL VÀ PLUMBAGIN TRÊN DÒNG TẾ BÀO UNG THƯ BẰNG MỘT SỐ PHƯƠNG PHÁP THỬ NGHIỆM

NGUYỄN ĐĂNG QUÂN, PHAN KIM NGỌC,
HỒ HUỖNH THÙY DƯƠNG

Trường đại học Khoa học tự nhiên,
Đại học Quốc gia Tp. Hồ Chí Minh

DƯƠNG THỊ BẠCH TUYẾT

Trường đại học Sư phạm Tp. Hồ Chí Minh

Ung thư là một trong những bệnh phổ biến và có tỷ lệ tử vong cao nên việc nghiên cứu các phương pháp điều trị bệnh ung thư đang rất được chú trọng trên thế giới. Một trong những hướng nghiên cứu được nhiều nhà khoa học quan tâm hiện nay là những hoạt chất thiên nhiên, đặc biệt là từ thực vật, có hoạt tính kháng ung thư.

Việt Nam là một nước nhiệt đới với nguồn tài nguyên cây thuốc phong phú, trong đó có nhiều cây thuốc chứa các hoạt chất kháng ung thư mạnh, có thể ứng dụng vào điều trị. Vì vậy, việc phát triển những phương pháp thử nghiệm nhằm xác định hoạt chất kháng ung thư là cần thiết. Trong đề tài này, chúng tôi tiến hành xây dựng các phương pháp khảo sát hoạt tính kháng phân bào của 2 hoạt chất gossypol và plumbagin có nguồn gốc từ cây thuốc dân gian được biết là có khả năng kháng ung thư [6, 7] trên hai dòng tế bào ung thư của người trong điều kiện *in vitro*.

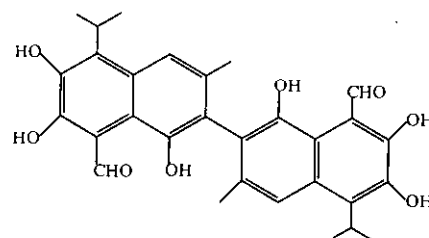
I. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Hoạt chất

a) Gossypol

Gossypol là một sắc tố vàng loại polyphenol có độc tính, được chiết xuất từ hạt của cây bông *Gossypium hirsutum* (thuộc họ Malvaceae), có nhiệt độ nóng chảy là 182°C [9].

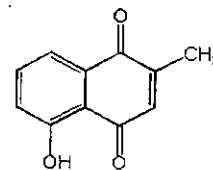
Công thức hóa học:



b) Plumbagin

Plumbagin là tinh thể màu vàng cam, hình kim, có nhiệt độ nóng chảy 77-78°C [8], được chiết xuất từ rễ của cây bạch hoa xà *Plumbago zeylanica* (thuộc họ Plumbaginaceae).

Công thức hóa học:



Gossypol và plumbagin sử dụng trong nghiên cứu này được TS. Nguyễn Kim Phi Phụng và cs., bộ môn Hóa hữu cơ, khoa Hóa, trường đại học Khoa học tự nhiên (ĐHQG Tp. Hồ Chí Minh) cung cấp.

2. Các dòng tế bào và điều kiện nuôi cấy

Chúng tôi sử dụng hai dòng tế bào ung thư ở người: dòng tế bào ung thư cơ RD (Rhabdomyosarcoma) và dòng tế bào ung thư biểu bì HEp2 (Epidermoid carcinoma).

Hai dòng tế bào này do Viện Pasteur Tp. Hồ Chí Minh cung cấp.

Tế bào được nuôi cấy trong môi trường EMEM có chứa glutamin, penicillin,

streptomycin, HEPES, NaHCO₃, phenol red, pH = 7,2, bổ sung 10% huyết thanh phôi bò (FBS: Foetal Bovine Serum), ủ ở 37,5 °C.

3. Phương pháp nhuộm tế bào với trypan blue (Trypan blue exclusion assay) [1]

Sau một thời gian nuôi cấy, tế bào được tách bằng trypsin/EDTA và được cấy vào plate 24 giếng; mỗi giếng gồm 100 µl dịch huyền phù tế bào và 400 µl môi trường.

Tế bào được ủ ở 37,5°C trong 24 giờ. Sau đó, môi trường cũ được thay bằng môi trường chứa gossypol với nồng độ 0,1-20 µg/ml hoặc

plumbagin với nồng độ 0,1-2µg/ml đối với dòng tế bào RD và 0,1-10µg/ml đối với dòng tế bào HEP2. Lô đối chứng được xử lý với môi trường chứa dung môi hòa tan hoạt chất là DMSO. Các lô được ủ trong 72 giờ ở 37,5°C.

Tế bào được tách bằng trypsin/EDTA, được hòa vào 500 µl môi trường và nhuộm bằng trypan blue 0,4% theo tỷ lệ 1 : 1. Số lượng tế bào sống (tế bào không bắt màu) được xác định bằng buồng đếm hồng cầu. Mỗi thí nghiệm được lặp lại ba lần. Khả năng ức chế sự phát triển các dòng tế bào ung thư của hoạt chất được tính theo công thức:

$$\text{Tỷ lệ ức chế (\%)} = \frac{\text{Mật độ tế bào đối chứng} - \text{Mật độ tế bào thí nghiệm}}{\text{Mật độ tế bào đối chứng}} \times 100\%$$

4. Phương pháp MTT (MTT assay) [2, 3, 4, 5]

Phương pháp MTT dựa trên sự chuyển chất MTT (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5 diphenyl tetrazolium bromit) thành MTT-formazan có màu xanh tím bởi enzym hô hấp ở ty thể của tế bào. Số lượng tế bào sống tỷ lệ thuận với nồng độ formazan, thể hiện qua giá trị mật độ quang (OD₅₇₀) của dung dịch.

Tế bào được cấy vào plate 96 giếng. Các lô thí nghiệm và đối chứng được xử lý với hoạt chất tương tự như phương pháp trên.

Sau 72 giờ ở 37,5 °C, môi trường xử lý được thay bằng môi trường chứa 0,5 mg/ml MTT. Sau 4 giờ ở 37,5 °C, môi trường chứa MTT được thay bằng hỗn hợp isopropanol-HCl (0,04M). Đo OD₅₇₀ của các lô thí nghiệm và đối chứng. Mỗi thí nghiệm được lặp lại ba lần. Khả năng ức chế sự phát triển các dòng tế bào ung thư của hoạt chất được tính theo công thức:

$$\text{Tỷ lệ ức chế (\%)} = \frac{\text{Số colony đối chứng} - \text{Số colony thí nghiệm}}{\text{Số colony đối chứng}} \times 100\%$$

$$\text{Tỷ lệ ức chế (\%)} = \frac{\text{OD}_{570} \text{ đối chứng} - \text{OD}_{570} \text{ thí nghiệm}}{\text{OD}_{570} \text{ đối chứng}} \times 100\%$$

5. Phương pháp clonogenic (clonegenic assay) [4, 5]

Phương pháp clonogenic dùng để xác định tỷ lệ tế bào ung thư bị ức chế phân bào dưới tác động của hoạt chất.

5000 tế bào RD hoặc 500 tế bào HEP2 được cấy vào mỗi giếng của plate 24 giếng.

Các lô thí nghiệm và đối chứng được xử lý với hoạt chất tương tự như phương pháp trên.

Sau 72 giờ ủ ở 37,5 °C, số cụm (colony) tế bào hình thành trong mỗi giếng được đếm dưới kính hiển vi. Khả năng ức chế phân bào của hoạt chất được tính theo công thức:

II. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Hai hoạt chất sử dụng cho nghiên cứu này có khả năng tiêu diệt hay ức chế phân bào tùy thuộc nồng độ sử dụng. Gossypol với nồng độ trên 20 µg/ml, giết chết hoàn toàn tế bào RD và HEP2 ; còn nồng độ 5-10 µg/ml đối với RD và

10 µg/ml đối với HEP2 sẽ gây ức chế phân bào nhưng một số tế bào vẫn sống. Ở nồng độ dưới 5 µg/ml đối với RD và dưới 10 µg/ml đối với HEP2, gossypol làm giảm số tế bào có khả năng phân chia (bảng 1 và hình 1a, 1b). Plumbagin ở nồng độ trên 2 µg/ml đối với RD và trên 5

$\mu\text{g/ml}$ đối với HEP2, giết chết hoàn toàn tế bào; ở nồng độ 0,5 $\mu\text{g/ml}$ đối với RD và 0,5-1 $\mu\text{g/ml}$ đối với HEP2, sẽ gây ức chế phân bào. Còn ở nồng độ 0,1 $\mu\text{g/ml}$, plumbagin làm giảm đáng kể số tế bào có khả năng phân chia (bảng 2 và hình 2a, 2b).

Ở cả hai loại hoạt chất, chúng tôi đều tìm thấy một nồng độ mà ở đó tác động ức chế phân bào rất mạnh, gần tương đương với những nồng độ cao gấp 2, 3 lần nhưng tính gây độc (không làm chết tế bào) lại thấp hơn. Nồng độ đó là 5 $\mu\text{g/ml}$ đối với gossypol và 0,5 $\mu\text{g/ml}$ đối với

plumbagin trên cả hai dòng tế bào thử nghiệm. Điều này thể hiện rõ nhất trên tế bào dòng HEP khi xử lý với plumbagin (biểu đồ 2b).

Các kết quả thu nhận từ cả ba phương pháp thử nghiệm đều phù hợp với nhau. Phương pháp nhuộm với trypan blue và MTT cho phép đánh giá tỷ lệ sống của tế bào sau khi xử lý với hoạt chất, còn khả năng phân bào thì được đánh giá bằng phương pháp clonogenic. Việc sử dụng phối hợp cả ba phương pháp cho phép khẳng định kết quả, đồng thời đánh giá một cách tương đối toàn diện tác động của hoạt chất lên dòng tế bào ung thư.

Bảng 1

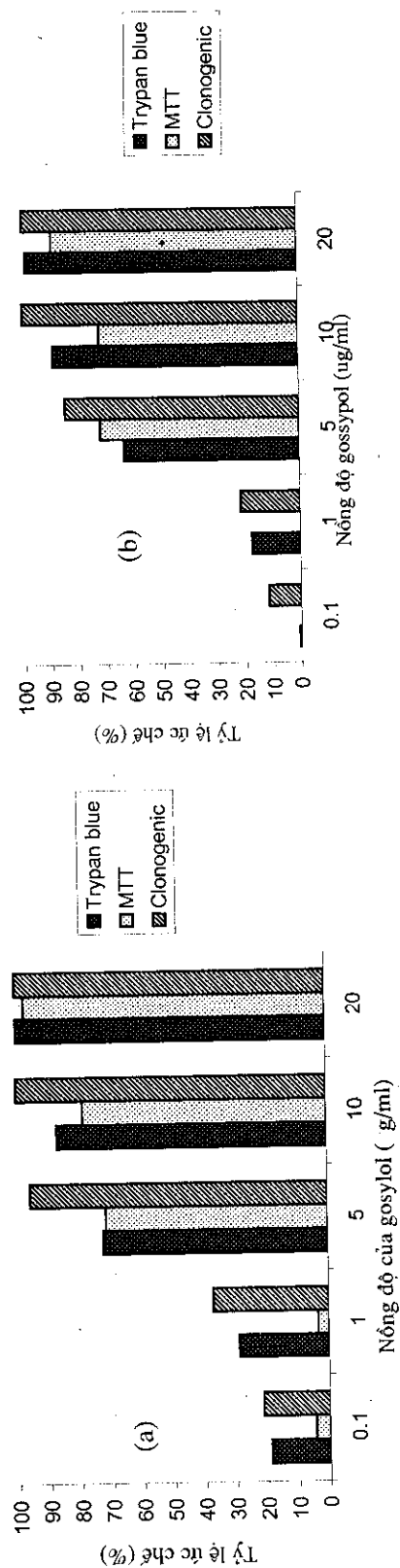
Tác động của gossypol lên hai dòng tế bào RD và HEP2

Dòng tế bào	Nồng độ ($\mu\text{g/ml}$)	Tỷ lệ ức chế phân bào (%)		
		Trypan blue	MTT	Clonogenic
RD	0,1	19,03	4,55	21,41
	1	29,06	3,52	37,24
	5	72,38	71,45	95,69
	10	86,91	78,7	100
	20	99,8	97,21	100
HEP2	0,1	0,81	0	11,88
	1	17,76	0	21,79
	5	63,53	72,13	84,64
	10	88,98	72,16	100
	20	98,68	89,1	100

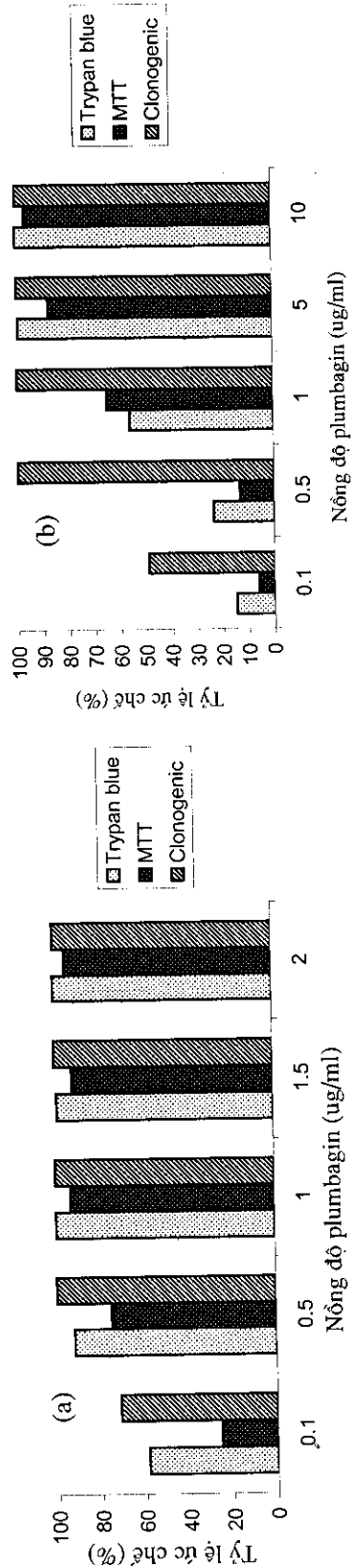
Bảng 2

Tác động của plumbagin lên hai dòng tế bào RD và HEP2

Dòng tế bào	Nồng độ ($\mu\text{g/ml}$)	Tỷ lệ ức chế phân bào (%)		
		Trypan blue	MTT	Clonogenic
RD	0,1	58,68	25,54	71,32
	0,5	92,13	75,07	100
	1	99,8	93,02	100
	1,5	98,94	91,95	100
	2	100	94,78	100
HEP2	0,1	14,89	6,18	49,1
	0,5	23,57	13,29	99,91
	1	56,03	65,02	99,85
	5	99,32	87,36	99,82
	10	100	96,42	100



Hình 1: a) Tác động của gossypol lên RD; b) Tác động của gossypol lên HEP2



Hình 2. a) Tác động của plumbagin lên RD; b) Tác động của plumbagin lên HEP2

III. KẾT LUẬN

1. Gossypol và plumbagin đều có tác động lên sự phát triển của 2 dòng tế bào ung thư RD và HEP2 ở điều kiện khảo sát. Tùy theo nồng độ tác động, gossypol và plumbagin có thể giết chết hoàn toàn, ức chế phân bào hoàn toàn hay ức chế phân bào một phần tế bào ung thư.

2. Plumbagin có tính kháng phân bào mạnh hơn gossypol trên 2 dòng tế bào khảo sát.

3. Ba phương pháp thử nghiệm sử dụng trong bài này cho phép đánh giá chính xác các mức độ tác động của hoạt chất lên sự phát triển của tế bào.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. World Health Organization, 1997: Manual for the virological investigation of polio, global programme for vaccines and immunization. 35-37.
2. Xin Lin, Wen Kui Li, Pei Gen Xiao, 1999: Pharm. Pharmacol. Commun., 5: 701-703.
3. K. V. Anis, G. Kuttan, R. Kuttan, 1999: Pharm. Pharmacol. Commun., 5: 697-700.
4. Keyong Ho Lee et al., 2000: J. Pharm. Pharmacol., 52: 1037-1041.
5. Ana. M. Pintao et al., 1995: Planta Med., 61: 233-236.
6. Uma Devi, F.E. Solomon, A. C. Sharada, 1999: Pharmaceutical biology, 3: 231-236.
7. Clinical pharmacology and pharmacology of gossypol.
<http://www.med.cornell.edu/gradschool/fac/reidenberg.html>.
8. Võ Hưng Sơn, 1995: Cô lập plumbagin từ rễ cây bạch hoa xà *Plumbago zeylanica* Linn, họ Plumbaginaceae. Luận văn cử nhân hóa học, Trường đại học Khoa học tự nhiên, ĐHQG Tp. HCM.
9. Trần Đệ Thăng, 1995: Khảo sát chất gossypol cô lập từ hạt cây bông *Gossypium hirsutum*, họ Malvaceae. Luận văn cử nhân hóa học, Trường đại học Khoa học tự nhiên, ĐHQG Tp. HCM.

SOME ASSAYS FOR INVESTIGATION OF THE ANTIMITOTIC ACTIVITY OF GOSSYPOL AND PLUMBAGIN ON TUMOUR CELL LINES

NGUYEN DANG QUAN et al.

SUMMARY

The antimitotic activity of gossypol (extracted from *Gossypium hirsutum*) and plumbagin (extracted from *Plumbago zeylanica*) on two human tumour cell lines, RD and HEP2, are determined by three assays : trypan blue exclusion, MTT and clonogenic assays. Both substances have lethal and total or partial antimitotic effects on these two cell lines depending on the used doses; plumbagin is more effective than gossypol. These three assays permit a good evaluation of the lethal and antimitotic effects of natural compounds.

Ngày nhận bài: 12-3-2002

NGHIÊN CỨU ẢNH HƯỞNG CỦA CÁC YẾU TỐ MÔI TRƯỜNG NUÔI TRỒNG ĐẾN HOẠT TÍNH ĐÔNG TỤ MÁU CỦA LECTIN CHIẾT TỪ RONG *KAPPAPHYCUS ALVAREZII*

LÊ ĐÌNH HÙNG, HUỖNH QUANG NĂNG, TRẦN KHA,
NGÔ QUỐC BƯU

Phân viện Khoa học vật liệu tại Nha Trang

Lectin là một chất có khả năng đông tụ máu (agglutinin), đặc trưng cho từng nhóm máu người và động vật. Nó gồm một protein liên kết với cacbohydrat (glycoprotein) không có nguồn gốc miễn dịch (non-immunological) và có thể bị ức chế bởi những đường đơn [1]. Hoạt tính sinh học đầu tiên để nhận biết lectin là khả năng của chúng làm đông kết hồng cầu của máu người hoặc động vật đã được xử lý với papain hoặc trypsin [2]. Lectin được dùng để tinh chế và nghiên cứu cấu trúc của những polyme chứa cacbohydrat, khảo sát cấu trúc của cacbohydrat phức tạp trên bề mặt của tế bào động vật, vi khuẩn và virus, xác định cấu trúc bề mặt tế bào và sự thay đổi của nó đối với sự biến đổi của bệnh ung thư, nghiên cứu cấu tạo của nhiễm sắc thể tế bào và phát hiện những nhiễm sắc thể lạ cũng như nghiên cứu cấu trúc của nhóm máu, nhận diện dạng máu mới (sự định bệnh của những chất tiết ra từ máu), xác định vị trí liên kết cacbohydrat đặc trưng trên protein ... [3]. Vai trò sinh hoá của lectin hiện nay không rõ ràng, có người cho rằng lectin đóng một vai trò trong những phản ứng bảo vệ động vật không có xương sống với chức năng như một thành phần huyết thanh và tác dụng như những thuốc bảo vệ chống khuẩn [4] hoặc chức năng không miễn dịch cũng như sự cộng sinh trung gian và thúc đẩy sự tái tổ hợp tế bào [5, 6].

Đã có nhiều kết quả nghiên cứu về lectin trên thế giới và ở Việt Nam, chủ yếu từ các loài thực vật bậc cao và động vật (kể cả các loài động vật thân mềm Mollusca ở biển), song lectin trong rong biển còn ít được đề cập. Boyd

[7] đã phát hiện sự có mặt của lectin trong rong biển ở Anh và Đức [8]. K. Hiro đã xác định sự có mặt của lectin trong 100 mẫu rong (trong tổng số 260 mẫu) từ rong lục (Chlorophyte) rong nâu (Phaeophyte), rong đỏ (Rhodophyte) ở Nhật Bản [9].

Khác với lectin trong các loài thực vật bậc cao, lectin từ các loài rong đỏ có trọng lượng phân tử thấp (từ 4200 trong *Hypnea japonica* [9] đến 64.500 trong *Ptilota serrata* [10], đặc biệt là hoạt tính của nó không bị biến đổi đối với pH và nhiệt độ, không phụ thuộc vào các cation hoá trị hai và có thể bảo quản trong một thời gian dài trong điều kiện ở nhiệt độ thấp.

Bài báo này trình bày một số kết quả nghiên cứu về ảnh hưởng của các yếu tố môi trường nuôi trồng (chủ yếu là nhiệt độ, độ mặn, cường độ ánh sáng, các chất dinh dưỡng) đến hoạt tính đông tụ máu của lectin trong rong *Kappaphycus alvarezii*.

I. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Đối tượng

Loài rong sụn *Kappaphycus alvarezii*, có nguồn gốc từ Philippin là nguyên liệu chính cho chế biến Kappa-Carrageenan hiện nay trên thế giới, được Phân viện Khoa học vật liệu tại Nha Trang di trồng và đang được phát triển nuôi ở các loại thủy vực khác nhau: vùng biển hở, trong các đầm phá, ao đầm tự nhiên và nhân tạo ven biển phía Nam Việt Nam.

Công trình được thực hiện với sự giúp đỡ và hỗ trợ của Phòng thí nghiệm Marine Greens Laboratory, Ehime Nhật Bản.

2. Phương pháp

a) Hệ thống bể nuôi

Dùng các bể kính (dung tích 60l) (B) và nước biển tự nhiên, có hệ thống lọc và sục khí tuần hoàn. Rong được cho vào các khung lưới và treo cố định trong các bể nuôi, thời gian nuôi mỗi đợt thí nghiệm là 20 ngày và xác định hoạt tính đông tụ máu của lectin (hemagglutination activity HA) so với hoạt tính ban đầu.

Kiểm soát các điều kiện nuôi trồng: Nhiệt độ (bằng hệ thống điều khiển nhiệt độ tự động của Nhật Bản Rei-sea, Temp-controller TG), ánh sáng (bằng hệ thống đèn huỳnh quang và ánh sáng tự nhiên, được đo bằng máy đo cường độ ánh sáng Custom lux Meter Lx 1332 Nhật Bản), độ mặn (pha mẫu nước biển và nước ngọt theo độ mặn mong muốn bằng máy đo độ muối Refractometer ATAGO S/MILL).

- Muối dinh dưỡng: các muối NH_4Cl , KNO_3 , KH_2PO_4 .

b) Phương pháp chiết dịch lectin

Hóa chất: NaCl , trypsin, concanavalin A do Phòng thí nghiệm Marine Green Japan cung cấp

Máu cừu và thỏ do Viện Pasteur Nha Trang cung cấp.

Phương pháp chiết mẫu: Rong tươi được rửa sạch bằng nước, cắt nhỏ thành đoạn 5 mm, nghiền nhuyễn và chiết với ethanol 20%, đưa toàn bộ dịch chiết vào ống ly tâm 50 ml, lắc đều và giữ lạnh ở 5°C trong 12 giờ hoặc hơn để chiết lectin, sau đó ly tâm mẫu ở 2000 vòng/phút trong 10 phút, chiết lấy phần nước ở trên cho vào 3 ống 1,8 ml, bảo quản ở nhiệt độ -20°C để xác định hàm lượng protein (Lowry et al., 1951), hàm lượng đường (Dubois et al., 1956), hàm lượng lectin (phương pháp ELISA với chất chuẩn concanavalin A) và hoạt tính đông tụ máu với máu thỏ và cừu [6, 7, 11].

Xử lý máu: Máu động vật được đưa vào dung dịch NaCl 0,85%, lắc đều, ly tâm 1800 vòng/phút, loại bỏ lớp trên và rửa lại vài lần với dung dịch NaCl 0,85%, sau đó xử lý hồng cầu ở dạng huyền phù với dung dịch trypsin 0,5% trong NaCl 0,85% ở nhiệt độ $37\pm 0,2^\circ\text{C}$ trong 60 phút, ly tâm và rửa lại vài lần với NaCl 0,85%, cuối cùng pha hồng cầu ở dạng huyền phù trong NaCl 0,85%, bảo quản ở $2-4^\circ\text{C}$ để thử hoạt tính

của lectin. Dùng concanavalin A làm chất chuẩn để đánh giá khả năng đông tụ máu của lectin đối với hồng cầu đã xử lý trypsin.

Phương pháp thử hoạt tính đông tụ máu của lectin: 25 μl dung dịch NaCl 0,85% được cho vào mỗi lỗ của đĩa microtiter (96 lỗ), 25 μl dịch chiết lectin được cho vào bằng sự pha loãng gấp đôi liên tiếp theo hàng, sau đó 25 μl huyền phù hồng cầu đưa vào mỗi lỗ, đĩa được trộn và lắc nhẹ, để yên ở nhiệt độ phòng trong 2 giờ và xác định hoạt tính đông tụ máu. Mẫu lectin không có hoạt tính, hồng cầu tập trung ở đáy giống như là một vết đỏ, ngược lại mẫu có hoạt tính, hồng cầu dính kết và làm thành kết tủa xung quanh mỗi lỗ của đĩa. Hoạt tính đông tụ máu được xác định bằng số lần pha loãng như 2^4 hoặc 2^8 ... [6]. Hàm lượng lectin được xác định bằng phương pháp ELISA.

II. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

1. Ảnh hưởng của các chất dinh dưỡng

Rong *Kappaphycus alvarezii* được nuôi trồng trong 6 bể (B) thí nghiệm bằng nước biển đã được lọc, với các chế độ bổ sung dinh dưỡng khác nhau, các điều kiện còn lại thì giống nhau.

Điều kiện môi trường ở các bể: nhiệt độ $28\pm 0,5^\circ\text{C}$, độ muối (S) 33‰, pH = 8,1, cường độ ánh sáng (LI) 35.000-45.000 lux.

Hoạt tính đông tụ máu của lectin thay đổi mạnh dưới tác dụng của muối dinh dưỡng (tùy từng loại cũng như kết hợp lại) được cho vào môi trường nuôi rong, trong đó muối NH_4Cl tác dụng cao nhất ($\text{HA}_s = 57,3$), tiếp đến KNO_3 (46,6) và KH_2PO_4 hầu như không có tác dụng. Hỗn hợp muối ($\text{NH}_4\text{Cl} + \text{KH}_2\text{PO}_4$) có tác dụng cao nhất ($\text{HA}_s = 256$), tiếp đến $\text{KNO}_3 + \text{KH}_2\text{PO}_4$ ($\text{HA}_s = 192$).

Như vậy, dạng muối $\text{NH}_4\text{Cl} + \text{KH}_2\text{PO}_4$ có tác dụng cao nhất đối với sự tăng lên của hoạt tính đông tụ máu của lectin trong rong sụn.

2. Ảnh hưởng của độ muối (S‰)

Điều kiện ở các bể thí nghiệm: nhiệt độ $28\pm 0,5^\circ\text{C}$, pH = 8,1, dinh dưỡng $\text{NH}_4\text{Cl} + \text{KH}_2\text{PO}_4$, cường độ ánh sáng (LI) 10.000-15.000 lux.

Ảnh hưởng của các chất dinh dưỡng đến hoạt tính đông tụ máu của lectin

Bể	B ₁	B ₂	B ₃	B ₄	B ₅	B ₆
Chất dinh dưỡng	không	KH ₂ PO ₄	KNO ₃	NH ₄ Cl	KNO ₃ + KH ₂ PO ₄	NH ₄ Cl + KH ₂ PO ₄
HA _i	4	4	4	4	4	4
HA _s	3,75	4	46,6	57,3	192	256

Ghi chú: HA_i: hoạt tính đông tụ máu của lectin đối với rong trước khi làm thí nghiệm

HA_s: hoạt tính đông tụ máu của lectin đối với rong sau khi kết thúc thí nghiệm

Giá trị HA được xác định từ giá trị trung bình của 3 lần thử

Bảng 2

Ảnh hưởng của độ muối đến hoạt tính đông tụ máu của lectin

Bể	B ₁	B ₃	B ₅	B ₂	B ₄
S%	15	20	30	33	40
HA _i	16	16	16	16	16
HA _s	128	256	384	512	64

Kết quả này cho thấy, nồng độ muối trong môi trường nuôi trồng thay đổi có ảnh hưởng mạnh đến sự tạo thành lectin trong quá trình phát triển của rong cũng như hoạt tính của lectin. So với hoạt tính ban đầu HA_i = 16, khi nồng độ muối giảm xuống S% = 15-20 thì hoạt tính tăng không đáng kể (HA_s = 128, 256); khi nồng độ muối trong môi trường nuôi trồng tăng lên S% = 30-33 (tương đương với nồng độ muối trong nước biển) thì hoạt tính của lectin đạt cao nhất HA_s = 512; khi nồng độ muối cao hơn nữa S% = 40 thì hoạt tính của lectin giảm rất nhanh HA_s = 64.

3. Ảnh hưởng của nhiệt độ

Điều kiện nuôi trồng ở các bể: dinh dưỡng NH₄Cl + KH₂PO₄, pH = 8,1, độ muối (S) 33‰, cường độ ánh sáng (LI) 10.000-15.000 lux.

So với hoạt tính ban đầu (HA_i = 96), khi nhiệt độ môi trường nuôi trồng rong thay đổi thì hoạt tính của lectin cũng thay đổi theo. Bể B₁ (t°C = 26±0,5) tương đương nhiệt độ trong mùa

đông ở một số vùng biển phía Nam, hoạt tính tăng lên không nhiều (HA_s = 426,6); khi nhiệt độ tăng lên như ở bể B₂ (t°C = 28±0,5) thì lectin cho hoạt tính cao nhất (HA_s = 896,6); trái lại, khi nhiệt độ tăng cao hơn nửa như ở bể B₃ và B₄ thì hoạt tính của lectin giảm xuống rõ rệt, đặc biệt là ở B₄ (t°C = 34) tương đương với nhiệt độ mùa hè (HA_s = 256); điều này lý giải tại sao hàm lượng và hoạt tính của lectin trong mùa hè thì thấp.

Bảng 3

Ảnh hưởng của nhiệt độ đến hoạt tính đông tụ máu của lectin

Bể	B ₁	B ₃	B ₂	B ₄
t°C	26±0,5	28 ± 0,5	32±0,5	34±0,5
HA _i	96	96	96	96
HA _s	426,6	896	384	256

4. Ảnh hưởng của cường độ ánh sáng (LI)

Cường độ ánh sáng giữ một vai trò quan trọng trong quá trình quang hợp và trao đổi chất của thực vật, vì vậy nó ảnh hưởng đáng kể đến sự hình thành lectin (glycoprotein) trong sự phát triển của rong biển. Điều kiện thí nghiệm ở các bể (B) thì giống nhau, ngoài trừ cường độ ánh sáng.

Điều kiện nuôi trồng ở các bể: dinh dưỡng NH₄Cl + KH₂PO₄, pH = 8,1, độ muối (S) 33‰, nhiệt độ 28±0,5°C.

Ảnh hưởng của cường độ ánh sáng (LI) đến hoạt tính đông tụ máu của lectin

Bể	B ₁	B ₂	B ₃	B ₄
LI (lux)	1.500-3.000	10.000-15.000	25.000-30.000	35.000-45.000
HA ₁	18	18	18	18
HA _s	182,6	512	256	128

Ở cường độ ánh sáng thấp LI = 1.500-3.000 lux, hoạt tính của lectin thấp (HA_s = 182,6) do khả năng quang hợp và trao đổi chất xảy ra chậm, nên sự hình thành sản phẩm trung gian (lectin) glucoprotein thấp. Trong khi đó, khi cường độ ánh sáng tăng lên LI = 10.000-15.000 lux thì lectin đạt hoạt tính cao nhất (HA_s = 512), ở cường độ ánh sáng này hàm lượng glycoprotein được tích lũy cao nhất trong rong. Trái lại, khi cường độ ánh sáng tăng cao LI = 35.000-45.000 lux (B₄) thì hoạt tính của lectin giảm xuống rất nhiều (HA_s = 128). Như vậy, ở cường độ ánh sáng 35.000-45.000 lux hoặc cao hơn nữa (tương tự như cường độ ánh sáng trong mùa hè) thì hàm lượng và hoạt tính của lectin rất thấp và hầu như không đáng kể.

III. KẾT LUẬN

Những kết quả nghiên cứu thu được đã chỉ ra rằng, các yếu tố môi trường nuôi trồng rong *Kappaphycus alvarezii* (nhiệt độ, độ muối, pH, chất dinh dưỡng và cường độ ánh sáng) giữ một vai trò quan trọng trong sự quyết định hàm lượng và hoạt tính của lectin.

Để nhận được một dịch chiết lectin từ rong *Kappaphycus alvarezii* có hàm lượng và hoạt tính cao, các điều kiện nuôi trồng qua khảo sát thu được như sau: chất dinh dưỡng NH₄Cl + KH₂PO₄ hoặc dạng KNO₃ + KH₂PO₄, pH = 8,1-8,3, độ muối 33-34‰, nhiệt độ 28±0,5°C và cường độ ánh sáng: 10.000-15.000 lux. Do đó, việc nuôi trồng rong sụn phải được quy hoạch tại những vùng có những yếu tố môi trường tương ứng với những kết quả thu được ở trên và kết quả này chúng tôi đã và đang áp dụng để nuôi trồng rong *Kappaphycus alvarezii* trong một số ao, đầm ở các tỉnh phía Nam.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Rogers D. J. and B. C. Fish, 1991: Lectin Reviews, 1: 129-142.
2. Goldstein I. J. and Poretz R. D., 1986: Properties, functions and applications in Biology and Medicine (Irwin J. Goldstein and Ronald D. Poretz: Isolation and chemical properties of flectins), 35-211, Academic Press Inc., New York.
3. Goldstein I. J. and Poretz R. D., 1986: Properties, functions and applications in Biology and Medicine (Halina Lis and Nathan Sharon: Applications of lectins): 294-355, Academic Press Inc., New York.
4. Ratcliffe N. A. and Rowley A. F., 1985: Int. Rev. Cytol., 97: 183-350.
5. Renwranzt L and Stahmer A., 1983: J. Comp. Physiol., 149: 535-546.
6. Thomas C. C. and Kimon T. B., 1989: Comp Biochem. Physiol., 94B (1): 107-111.
7. Boyd W. C., Almodovar L. R., Boyd L. G., 1966: Transfusion (Philadelphia), 6: 82-83.
8. Thomas C. C., and Kimon T. B., 1990: Carbohydrate research, 207: 319-326.
9. Kanji Hiro et al., 1986: Hypnins, low-molecular weight peptidic agglutinins Isolated from a marine red alga, Hypnea japonica: 228-236.
10. Rogers D. J., Fish. B. C., Barwell C. J., 1990: Biology, Biochemistry, clinical biochemistry, 7: 49-52. St. Louis, MO, USA.
11. Fabregas A. M. and Llovo, 1986: J. Exp. Mar. Biol Ecol., 97: 213-219.

**STUDY ON CULTIVATION FACTORS AFFECTING THE
HEMAGGLUTINATION ACTIVITY OF LECTIN EXTRACTED FROM
KAPPAPHYCUS ALVAREZII (DOTY)**

LE DINH HUNG et al.

SUMMARY

Environmental factors such as temperature, salinity, light intensity, nutrients ... affected greatly the content and the hemagglutination activity (HA) of the lectin extracted from the red seaweed *Kappaphycus alvarezii* (Doty). The experimental data particularly showed that the lectin was unstable under hot conditions such as: high temperature and intensive solar irradiation. The optimum environmental factors for the cultivation of *Kappaphycus alvarezii* with high quality lectin were set. The hemagglutination activity (HA) of the lectin from *Kappaphycus alvarezii* was the highest at these environmental factors: water temperature 26-28°C, light intensity 10,000-15,000 lux, salinity 30-33‰ and nutrients $\text{NH}_4^+ + \text{PO}_4^{3-}$.

Ngày nhận bài: 3-1-2002

KHẢ NĂNG HẤP THỤ VÀ TRAO ĐỔI MUỐI CỦA CÂY TRANG (*KANDELIA CANDEL* (L.) DRUCE) TRỒNG Ở CÁC MÔI TRƯỜNG THÍ NGHIỆM CÓ ĐỘ MẶN KHÁC NHAU

MAI SỸ TUẤN, TRẦN THỊ PHƯƠNG

Trường đại học Sư phạm Hà Nội

Trang (*Kandelia candel* (L.) Druce)) là một trong số những loài cây trồng chủ yếu ở vùng ven biển phía Bắc Việt Nam. Cũng như các thực vật ngập mặn khác, trang luôn phải chống chịu với các điều kiện bất lợi của môi trường sống, đó là đất lầy mặn, ngập triều, thiếu oxy. Trong đó, độ mặn muối (NaCl) là một nhân tố sinh thái đặc trưng của môi trường sống. C. Field [3] cho rằng thực vật ngập mặn điều chỉnh hàm lượng ion của chúng nhờ tổ hợp các quá trình loại trừ muối, đào thải muối, mọng nước và loại bỏ những bộ phận khi chứa nhiều muối. Hàm lượng ion trong cây ngập mặn còn liên quan với cơ chế của sự điều chỉnh áp suất thẩm thấu. Ở Việt Nam, đã có một số nghiên cứu về cơ chế điều tiết muối trong cây như nghiên cứu của Mai Sỹ Tuấn [6] về đặc tính sinh lý chịu mặn của cây mắm biển. Trong phạm vi bài này, chúng tôi trình bày một số thực nghiệm sinh lý sinh thái góp phần làm sáng tỏ cơ chế thích nghi của cây trang đối với các nồng độ muối, mức

độ hấp thụ, tích lũy ion trong các bộ phận khác nhau của trang (rễ, thân, lá) nhằm cung cấp thêm một số dẫn liệu về khả năng chống chịu của loài cây ngập mặn quan trọng này phục vụ cho việc giảng dạy cũng như trồng rừng ven biển.

I. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Trồng cây thí nghiệm

Chúng tôi thiết kế 5 công thức trồng cây thí nghiệm ở các độ mặn là: 0%, 25%, 50%, 75% và 100% độ mặn nước biển (tương đương 33‰ NaCl).

Trong thời gian đầu, chúng tôi dùng nước máy tưới cho các chậu cây. Sau 3 tuần thay nước máy bằng dung dịch dinh dưỡng cơ bản do K. Kyuma và cộng sự (1989) đề xuất và đã được áp dụng cho thực vật ngập mặn ở nhiều nước (bảng 1).

Bảng 1

Dung dịch dinh dưỡng Kimura's B dùng cho cây ngập mặn (K. Kyuma và cs., 1989)

Muối	Trọng lượng (mg/l)	Muối	Trọng lượng (mg/l)
(NH ₄) ₂ SO ₄	48,20	Fe- EDTA. 2 Na	34,4700
MgCl ₂ . 6H ₂ O	109,27	H ₃ BO ₃	24,0200
KCl	13,64	CuSO ₄ . 7H ₂ O	0,0786
KH ₂ PO ₄	24,80	ZnSO ₄ . 7H ₂ O	0,4398
Ca(NO ₃) ₂ . 4H ₂ O	86,20	MnCl ₂ . 4H ₂ O	0,7204

Sau 5 tuần, thêm vào dung dịch dinh dưỡng một lượng muối khác nhau theo thành phần cơ bản của nước biển (bảng 2). Từ công thức ở bảng 2, lấy 1/4; 1/2; 3/4 lượng hóa chất đó cho vào 1 lit nước ta sẽ có lần lượt các độ mặn 25%; 50%; 75% độ mặn nước biển; kiểm tra lại độ mặn của dung dịch bằng máy đo độ mặn ATAGO của Nhật.

Số lượng muối thêm vào một lít dung dịch Kimura's B để có dung dịch nước biển nhân tạo (100% độ mặn nước biển tương đương 33‰ NaCl)

Muối	Trọng lượng (mg/l)	Muối	Trọng lượng (mg/l)
NaCl	26,6920	KCl	0,5200
MgSO ₄ .7H ₂ O	3,9240	Ca(NO ₃) ₂ .4H ₂ O	2,2700
MgCl ₂ . 6H ₂ O	8,0550		

Để giữ ổn định độ mặn, chúng tôi thay đổi dung dịch trồng cây theo chu kỳ mỗi tháng một lần. Đổ hết dung dịch cũ và thay vào đó bằng dung dịch mới có cùng độ mặn và thành phần dinh dưỡng. Chúng tôi tiến hành tăng dần độ muối lên tạo điều kiện cho cây con không bị sốc với nồng độ muối cao.

2. Phân tích thành phần hóa học của các cơ quan thực vật

Lấy các cây ra khỏi chậu, rửa sạch bằng nước máy. Sau đó cắt riêng các bộ phận của cây thành mẫu nhỏ và sấy khô ở 80°C trong 4 ngày cho đến khi có trọng lượng khô không đổi (Field, 1984). Sử dụng mẫu sấy khô xác định nồng độ các ion trong từng bộ phận của cây: xác định nồng độ của các ion Na⁺, K⁺, Ca²⁺, Mg²⁺ trên máy quang phổ hấp thụ nguyên tử GBC 905AA; xác định nồng độ Cl⁻ thông qua chuẩn độ bằng nitrat bạc với sự có mặt của KCrO₄ trong môi trường trung tính; xác định nồng độ SO₄²⁻ theo phương pháp phân tích trọng lượng (dùng BaCl₂ kết tủa SO₄²⁻ dưới dạng BaSO₄, rửa, sấy, cân kết tủa). Các phương pháp phân tích được lặp lại 3 lần, tới khi không có sự sai khác rõ rệt về nồng độ ion giữa các lần lặp lại. Các phân tích hóa học tiến hành tại Phòng Phân tích đất và môi trường, Viện Quy hoạch và Thiết kế nông nghiệp, Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn. Kết quả phân tích ion trong các bộ phận của cây được tính toán, chuyển đổi ra mol/l nước thực vật (nước dịch cây), cụ thể gồm các bước sau:

- Dựa vào kết quả sấy khô mẫu, tính lượng nước bốc hơi (nước dịch cây) trong 1 gam chất khô.

- Căn cứ vào kết quả phân tích hàm lượng ion trong các bộ phận của cây tại Viện Quy hoạch và Thiết kế nông nghiệp, tính hàm lượng

các ion trong 1 gam mẫu khô.

- Tính nồng độ các ion/1 lít dịch nước cây.

Thí nghiệm được tiến hành với các cây trồng ở 5 độ mặn môi trường khác nhau: 0‰, 25‰, 50‰, 75‰ và 100‰ độ mặn nước biển.

3. Phương pháp đo áp suất thẩm thấu

Chúng tôi tiến hành xác định áp suất thẩm thấu của tế bào lá cây theo phương pháp so sánh tỷ trọng của dung dịch (Vũ Văn Vụ, 1999). Sau đó tính áp suất thẩm thấu ra atm theo công thức sau: $P = R \times C \times T \times i$.

R: hằng số (bằng 0,0821); T: nhiệt độ tuyệt đối của các dung dịch NaCl ($T = t^{\circ}\text{C} + 273$)

C: nồng độ của dung dịch NaCl có tỷ trọng bằng tỷ trọng của dịch bào (mol)

i: Mức độ ion hóa của dung dịch NaCl theo nồng độ $i = 1 + \alpha(n-1)$

Tiến hành xác định áp suất thẩm thấu của lá cây trồng ở 5 độ mặn khác nhau: 0‰, 25‰, 50‰, 75‰ và 100‰ độ mặn nước biển.

II. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

1. Hấp thụ và trao đổi muối

Để tìm hiểu khả năng hấp thụ các ion của cây từ dung dịch dinh dưỡng, chúng tôi đã phân tích nồng độ của một số ion trong các cơ quan dinh dưỡng của cây và so sánh với dung dịch trồng. Từ kết quả phân tích (bảng 3 và hình), chúng tôi nhận thấy:

- Nồng độ muối trong dung dịch trồng cây cao thì hàm lượng ion Na⁺ trong cơ thể của cây cũng cao. Ion Na⁺ ở lá, thân, rễ tăng dần khi tăng độ mặn môi trường bên ngoài, đặc biệt tăng cao ở rễ: 0,166 mol/l (ở 0‰ độ mặn nước biển);

0,309 mol/l (ở 25% độ mặn nước biển) và 0,488 mol/l (ở 100% độ mặn nước biển). Điều này thể hiện khả năng thích ứng của cây khi độ mặn môi trường thay đổi. Cây chủ động điều chỉnh quá trình hút ion, hút nhiều hơn khi ở độ mặn cao nhằm tăng khả năng hút nước vào cây phù hợp với sự thay đổi độ mặn của môi trường ngoài. Điều này làm sáng tỏ thêm rằng cây trang không phải là cây cần muối như một số tác giả nước ngoài nhận định.

- Hàm lượng ion K^+ , Ca^{2+} và Mg^{2+} tích lũy trong rễ, thân, lá của cây trang cao hơn trong dung dịch trồng cây nhiều lần, do cây lấy từ dung dịch trồng cây. Một số ion rất cần (đặc biệt là K^+), mặc dầu nồng độ trong dung dịch trồng cây thấp nhưng cây hút với tỷ lệ cao. Trong dung dịch trồng cây, nồng độ ion Na^+ cao hơn K^+ nhưng khả năng hút K^+ của cây lại cao hơn. Tương tự, ở rễ cây nồng độ ion Na^+ cao hơn K^+ nhưng khả năng hút ion K^+

của lá và thân cây cao hơn rễ cây. Ta có thể nhận thấy điều này qua tỷ lệ Na^+/K^+ ở trong dung dịch trồng cây là rất cao, nhưng ở các bộ phận của cây lại thấp hơn nhiều (bảng 4).

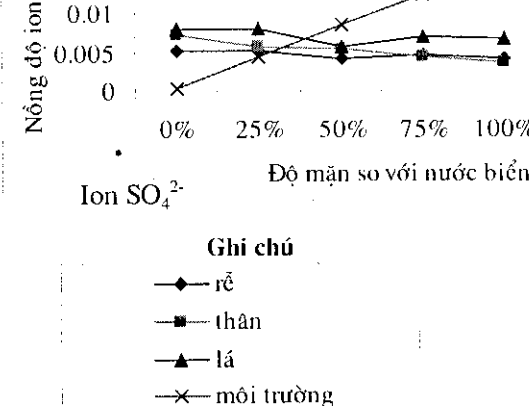
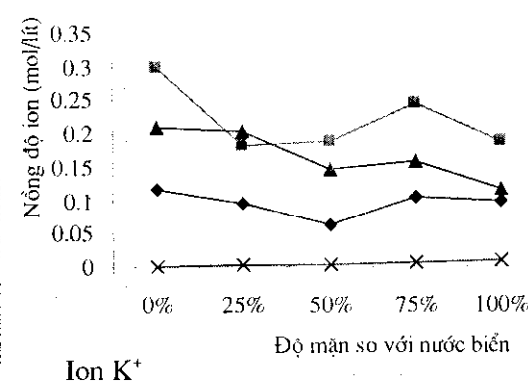
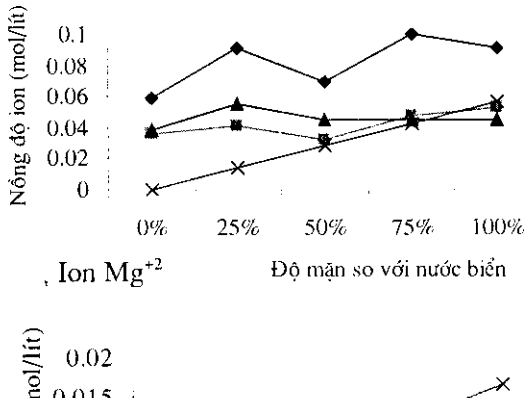
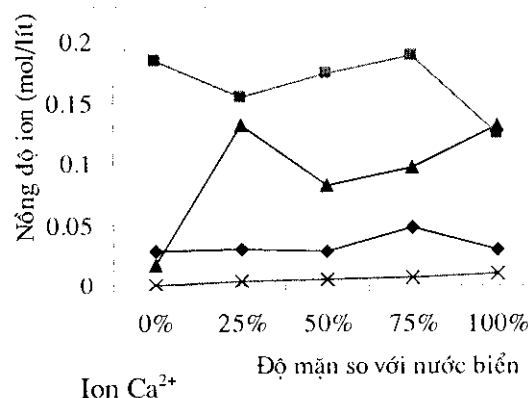
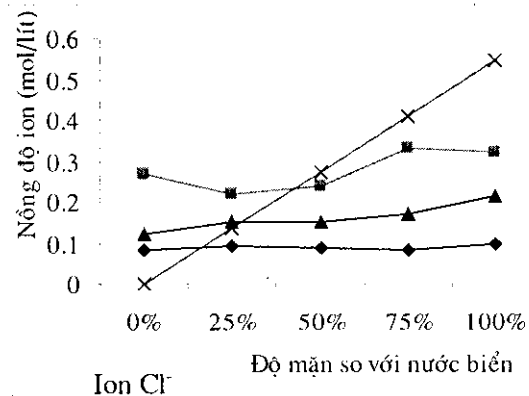
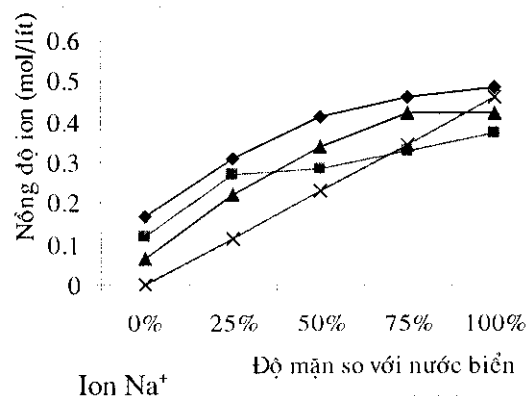
- Đối với ion Cl^- ở dung dịch thí nghiệm ứng với 75% và 100% độ mặn nước biển có nồng độ khá cao (0,41151 mol/l và 0,54840 mol/l), nhưng trong các cơ quan của cây tích chứa ít (bảng 3). Như vậy, với ion Cl^- độc cây cũng không thu nhận tích lũy nhiều trong cây. Nghiên cứu của chúng tôi cũng phù hợp với kết quả phân tích và nhận xét của P. N. Hồng [4]: Sống trong môi trường mặn rễ cây đã có khả năng điều chỉnh các ion từ ngoài vào cơ thể. Cây tìm cách hút thật nhiều những ion cần thiết, mặc dầu ở môi trường các ion đó có ít. Với những ion có hại khi hàm lượng trong cơ thể quá cao thì cây thu nhận có mức độ, hợp với khả năng chịu đựng của cơ thể.

Bảng 3

Nồng độ ion trong các bộ phận khác nhau của cây trang trồng ở các độ mặn khác nhau trong môi trường (nồng độ ion trong các môi trường tính bằng mol/l nước)

Độ mặn so với nước biển (33‰)	Các bộ phận của cây	Nồng độ ion (mol/l nước thực vật)					
		Na^+	K^+	Ca^{2+}	Mg^{2+}	Cl^-	SO_4^{2-}
0%	Rễ	0,16600	0,11500	0,02800	0,05900	0,08400	0,0050
	Thân	0,11700	0,29900	0,18400	0,03600	0,26900	0,0070
	Lá	0,06200	0,20800	0,01600	0,03900	0,12300	0,0080
	Dung dịch trồng cây	0,00008	0,00047	0,00036	0,00054	0,00127	0,0007
25%	Rễ	0,30900	0,09500	0,03000	0,09100	0,08000	0,0050
	Thân	0,27200	0,18400	0,15300	0,04100	0,21700	0,0060
	Lá	0,22000	0,20500	0,13000	0,05600	0,15100	0,0080
	Dung dịch trồng cây	0,11500	0,00223	0,00266	0,01450	0,13805	0,0046
50%	Rễ	0,41500	0,06200	0,06900	0,06900	0,08600	0,0040
	Thân	0,28600	0,18800	0,03200	0,03200	0,23900	0,0050
	Lá	0,33800	0,14800	0,04400	0,04400	0,15400	0,0060
	Dung dịch trồng cây	0,23008	0,00400	0,02850	0,02850	0,27483	0,0087
75%	Rễ	0,46100	0,10600	0,10000	0,10000	0,09500	0,1060
	Thân	0,33000	0,24600	0,04700	0,04700	0,32200	0,2460
	Lá	0,42100	0,15800	0,05500	0,05500	0,17200	0,1580
	Dung dịch trồng cây	0,34508	0,00574	0,04241	0,04241	0,41151	0,0054

Độ mặn so với nước biển (33‰)	Các bộ phận của cây	Nồng độ ion (mol/l nước thực vật)					
		Na ⁺	K ⁺	Ca ²⁺	Mg ²⁺	Cl ⁻	SO ₄ ²⁻
100%	Rễ	0,48800	0,09900	0,29700	0,09100	0,09900	0,0990
	Thân	0,37200	0,18900	0,12500	0,05200	0,33100	0,1890
	Lá	0,42300	0,21600	0,13100	0,05800	0,21400	0,2160
	Dung dịch trồng cây	0,46008	0,00750	0,00962	0,05637	0,54800	0,0070



Hình. So sánh nồng độ ion trong các cơ quan rễ, thân, lá của cây trang (*K. candell*) trồng ở các môi trường thí nghiệm có độ mặn khác nhau với nồng độ của môi trường bên ngoài

Tỷ lệ hàm lượng Na^+/K^+ ở rễ, thân, lá của cây trang và trong dung dịch trồng cây

Độ mặn so với nước biển	Dung dịch trồng cây	Rễ	Thân	Lá
0%	0,17	1,44	0,39	0,29
25%	51,56	3,25	1,48	1,07
50%	57,52	6,69	2,42	2,28
75%	60,12	4,35	1,34	2,66
100%	80,72	6,13	1,96	1,95

2. Áp suất thẩm thấu

Áp suất thẩm thấu là một trong các chỉ tiêu sinh lý quan trọng có vai trò điều chỉnh thế năng nước, tạo khả năng hút nước cho cây. Áp suất thẩm thấu của lá trang được trình bày ở bảng 5.

Bảng 5

Áp suất thẩm thấu ở lá cây trang

Đối tượng	Dung dịch so sánh	Độ mặn so với nước biển	Áp suất thẩm thấu (atm)	
			các giá trị đo	trung bình
Lá cây trang	NaCl	0%	17,38	17,38 $\pm 0,38$
			17,76	
			17,00	
		25%	18,00	18,21 $\pm 0,18$
			18,30	
			18,33	
		50%	18,99	18,92 $\pm 0,09$
			18,95	
			18,82	
		75%	19,30	19,33 $\pm 0,25$
			19,60	
			19,09	
		100%	19,80	20,00 $+ 0,23$
			19,95	
			20,25	

Khi độ mặn của môi trường tăng, áp suất thẩm thấu ở lá trang cũng tăng và đạt giá trị cao nhất 20 atm ở 100% độ mặn nước biển. Sự tích lũy ion Na^+ ở lá cây cũng là cao nhất 0,423 mol/l nước thực vật. Sự tích lũy ion cao góp phần cùng với các chất hoà tan khác, làm tăng áp suất thẩm thấu, tăng khả năng hút nước cho

cây từ môi trường ngoài. Áp suất thẩm thấu tăng dần khi độ muối ngày càng tăng trong dung dịch dinh dưỡng trồng cây, chứng tỏ cây có phản ứng thích nghi bằng cách điều chỉnh áp suất thẩm thấu, tạo ra sự chênh lệch về thế năng nước, giúp cho cây hút nước từ môi trường ngoài, đảm bảo cho quá trình sinh trưởng của cây.

Như kết quả đã phân tích, ngoài các ion K^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+} ... cần thiết cho quá trình trao đổi chất cây còn hút cả ion Na^+ khi sống trong môi trường mặn. Nồng độ muối trong cây được giữ ở mức độ cao hơn nồng độ muối của môi trường. Việc hút các ion này không giống nhau ở các độ mặn thí nghiệm. Ở độ mặn thấp cây hút và tích lũy ion ít hơn, áp suất thẩm thấu thấp; ở độ mặn cao cây hút nhiều Na^+ hơn và tích lũy Na^+ ở lá cây cũng cao hơn, đồng thời áp suất thẩm thấu cũng tăng cao. Nhưng ở 100% độ mặn nước biển, tích lũy ion ở lá lại thấp hơn so với ở môi trường ngoài, chứng tỏ cây đã chủ động điều chỉnh hấp thụ ion Na^+ ở mức cần thiết. Như vậy, việc điều chỉnh hút các ion của cây khi độ mặn môi trường thay đổi luôn có quan hệ chặt chẽ với việc điều chỉnh áp suất thẩm thấu của cây, cũng như khả năng hút nước từ môi trường.

Sự tích lũy hàm lượng ion Na^+ và Cl^- trong lá của trang là thấp hơn so với ở rễ (bảng 3). Có lẽ vì thế mà áp suất thẩm thấu của lá trang thấp nên khả năng vận chuyển nước lên lá cây bị hạn chế gây sốc nước. Từ đó ảnh hưởng tới các quá trình sinh lý diễn ra trong lá cây như tổng hợp diệp lục, quang hợp. Cuối cùng là khả năng sinh trưởng của cây ở độ mặn cao kém hơn. Đây cũng có thể là một trong những lý do giải thích khả năng chịu mặn của trang kém hơn so với đước vôi.

Tóm lại, cây có khả năng thích nghi bằng cách tự điều chỉnh nồng độ muối trong lá và trong các bộ phận khác của cây. Sự hấp thụ muối là cần thiết góp phần duy trì áp suất thẩm thấu giúp cho sự hấp thụ nước của cây, vì hầu hết các ion K^+ , Na^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+} đều tham gia vào việc làm tăng tính thẩm thấu của dịch bào, tăng sức hút nước cho cây. Còn sự thải bỏ muối có tác dụng làm giảm lượng muối dư thừa trong cây, là sự thích nghi rất quan trọng của cây trong điều kiện môi trường có độ mặn cao; có thể là một phần của cơ chế điều tiết muối đảm bảo cho cây vẫn tồn tại và sinh trưởng được.

Nghiên cứu của M. S. Tuấn (1995) trên cây mắm biển (*Avicennia marina*) cũng cho thấy tích lũy ion trong cây, nhất là ion Na^+ , có quan hệ với thế năng nước trong cây. Thế năng nước ở lá giảm từ -2,42 đến -4,20 MPa ở 100% độ mặn nước biển. Khi độ mặn môi trường ngoài tăng cao, cây hút nhiều ion Na^+ góp phần làm giảm thế năng nước, tăng khả năng hút nước cho cây. Downton (1982) cho rằng cây hấp thụ một hàm lượng ion cao trong

các tế bào để duy trì thế năng nước thấp hơn thế năng nước của môi trường. Chapman (1976) cũng nhận định: việc tăng khả năng hút ion vào cây là đòi hỏi tối thiểu để duy trì cân bằng nước.

III. KẾT LUẬN

Cây trang (*Kandelia candel*) có khả năng hút và tích lũy muối trong các bộ phận của cây khi sống trong các môi trường thí nghiệm có độ mặn khác nhau, không phải là cây cần muối. Hàm lượng ion Na^+ ở các bộ phận của cây hầu như đều cao hơn so với dung dịch trồng cây, đặc biệt là ở rễ và tăng dần khi độ mặn môi trường tăng cao.

Trong quá trình hút khoáng, cây chủ động hút các ion cần nhiều cho quá trình trao đổi chất mặc dù trong môi trường có ít. Các ion dinh dưỡng như K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} (đặc biệt là ion K^+) nồng độ có trong môi trường ít nhưng khả năng hút của cây lại cao hơn. Trong dung dịch trồng cây, nồng độ ion Na^+ cao hơn K^+ nhưng khả năng hút K^+ của cây lại cao hơn. Ta có thể nhận thấy điều này qua tỷ lệ Na^+/K^+ ở trong dung dịch trồng cây là rất cao, nhưng ở các bộ phận của cây lại thấp hơn nhiều. Điều đó chứng tỏ cây vẫn có khả năng hút nhiều K^+ trong môi trường mặn NaCl.

Cây hút muối là do yêu cầu tăng áp suất thẩm thấu, hạ thấp thế năng nước để tạo sức hút nước cho cây. Sự điều chỉnh áp suất thẩm thấu ở lá cây tăng cao hay hạ thấp tỷ lệ thuận với nồng độ ion (đặc biệt là ion Na^+) trong lá cây hút vào từ môi trường ngoài. Điều đó chứng tỏ cây có khả năng chủ động điều chỉnh hút muối trong mối liên quan chặt chẽ với việc điều chỉnh áp suất thẩm thấu, đảm bảo khả năng hút nước của cây khi độ mặn của môi trường thay đổi.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Chapman V. J., 1976: Mangrove vegetation, Cramer Lehre.
2. Downton W. J. S., 1982: J. Plant Physiol., Aust., 519-528.
3. Field C. D., 1984: "Ions in mangrove", In: Physiology and management of mangroves, The new South Wales Institute of Technology, Gore Hill, Sydney, Australia, 43-48.

4. Phan Nguyên Hồng, 1991: Sinh thái thảm thực vật rừng ngập mặn Việt Nam, Luận án tiến sĩ khoa học, Trường đại học Sư phạm Hà Nội, 130- 132.
5. Kyuma K. et al., 1989: Report on the field studies conducted by the soil group of the mangrove workshop held on Iriomote island.
6. Mai Sỹ Tuấn, 1995: "Phản ứng sinh lý sinh thái của cây mắm con (*Avicennia marina*) mọc ở các độ mặn khác nhau", Hội thảo khoa học phục hồi và quản lý hệ sinh thái rừng ngập mặn Việt Nam, Đồ Sơn, 149-163.
7. Vũ Văn Vụ, Vũ Thanh Tâm, Hoàng Minh Tấn, 2000: Sinh lý học thực vật, NXB Giáo dục, Hà Nội.

SALT ABSORPTION AND EXCHANGE OF *KANDELIA CANDEL* (L.) DRUCE GROWN IN DIFFERENT LEVELS OF EXTERNAL SALINITY

MAI SY TUAN, TRAN THI PHUONG

SUMMARY

The seedlings of *Kandelia candel* were grown at 5 different levels of external salinity (0, 25, 50, 75 and 100‰ salinity of the seawater). The salt concentration in the roots, stems and leaves of different seedlings was analyzed. The osmotic pressure of the leaves of the seedlings growing in different salinities was measured at the same time of the salt concentration analysis to discuss the water absorption capacity of the seedlings.

Kandelia candel was found to absorb a great amount of sodium (Na^+). Na^+ concentrations in the roots, stems and leaves were always higher than those of the external medium. The salt absorption increased with the increase of the external salinity up to the highest level in the seedlings growing in 100‰ seawater. The osmotic pressure in the leaves increased along with the increase of the salt concentration. The *Kandelia candel* seedlings had a great capacity of K^+ absorption in the medium with high Na^+ concentration. It was discussed that *Kandelia candel* regulated their water absorption capacity by their salt absorption. And therefore they could survive in the high salinity environment.

Ngày nhận bài: 12-12-2001

TÁCH CHIẾT PANCREATIN VÀ HOẠT TÍNH CỦA CHẾ PHẨM PANCREATIN THÔ

NGUYỄN THỊ TIẾT

Trường trung học Kỹ thuật nông nghiệp Tp. HCM

NGÔ KẾ SƯƠNG

Viện Sinh học nhiệt đới

Pancreatin là một hỗn hợp enzym gồm có: proteaza, amylaza, lipaza và nucleaza, được thu nhận từ tụy tạng lợn. Tụy tạng tiết ra một lượng lớn men có tác dụng thủy phân các chất đạm, tinh bột, chất béo để trợ giúp cho sự tiêu hóa ở động vật.

Theo thống kê của Chi cục Thú y, mỗi ngày tại Tp. Hồ Chí Minh các lò sát sinh đã giết mổ từ 4500-5000 con lợn, thu được khoảng 600-700 kg tụy tạng tươi. Bằng các phương pháp hóa sinh, chúng ta có thể tận dụng nguồn phế phẩm này để tạo ra chế phẩm pancreatin có giá trị sử dụng trong ngành y dược và trong chăn nuôi gia súc.

Pancreatin đã được sử dụng làm thuốc trợ tiêu hóa cho người dưới nhiều dạng với tên thương mại khác nhau.

Trong bài này, chúng tôi nêu một số kết quả nghiên cứu:

- Hiệu suất thu nhận của chế phẩm pancreatin bằng các phương pháp tủa và sấy
- Xác định hoạt tính của chế phẩm pancreatin để từ đó chọn ra được phương pháp nào khả thi nhất.
- Xác định khả năng thủy phân của chế phẩm tủa và sấy với các nguyên liệu dùng làm thức ăn cho gia súc trên 3 nhóm chất cung đạm, tinh bột, chất béo

I. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Nguyên liệu

Tụy tạng lợn: lấy ngay tại lò sát sinh sau khi giết mổ.

Bột cá, đậu tương, tấm, cám, ngô, lạc, đậu nành, cám gạo.

Axêton công nghiệp, axêton tinh khiết, cồn tuyệt đối, cồn 96°, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, NaHCO_3 , H_2SO_4 .

2. Phương pháp

a) Phương pháp thu nhận enzym

- Tách chiết pancreatin tủa bằng axêton

Tụy tạng lợn còn tươi, bảo quản ở nhiệt độ 0-4°C, loại bỏ các phần mỡ và mô liên kết, xay nhỏ, thêm NaHCO_3 nồng độ 1,25% (1:2), khuấy ở nhiệt độ 20°C trong 3 giờ. Sau đó đem lọc dung dịch, tủa bằng axêton lạnh với tỷ lệ tụy tạng so với axêton là (1:4), để lắng 15 phút ở nhiệt độ 10°C. Tủa enzym lần I, ly tâm 4.000 vòng/phút trong 15 phút. Rửa tủa bằng axêton, ly tâm lần II, lấy tủa, đem sấy tủa ở nhiệt độ 40°C, nghiền nhỏ, bảo quản khô, kín.

- Tách chiết pancreatin tủa bằng cồn tuyệt đối: các giai đoạn tách chiết tương tự như ở phần trên với các tỷ lệ cồn tuyệt đối so với dịch là 1:4, 1:5, 1:7.

- Tách chiết pancreatin thô tủa bằng cồn 96°: các giai đoạn tách chiết tương tự như ở phần trên nhưng thay thế bằng cồn 96°.

- Tách chiết pancreatin thô tủa bằng $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$:

Tụy tạng lợn còn tươi, bảo quản ở nhiệt độ 0-4°C, loại bỏ các phần phụ, xay nhỏ, thêm H_2O theo tỷ lệ (1:1), để tự phân ở 20°C trong thời gian từ 6-10 giờ. Lọc bằng vải thưa, thêm H_2SO_4 nồng độ 1,3% theo tỷ lệ (2 : 1) trong 1 giờ, lọc lấy dung dịch, thêm $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ theo tỷ lệ (1:2). Tủa enzym, ly tâm, lấy tủa, sấy ở nhiệt

độ 40°C, nghiền nhỏ, bảo quản.

b) *Phương pháp sấy ở nhiệt độ 40°C, 50°C, 60°C, 70 °C, 80°C*

Lấy tụy tươi được bảo quản, trộn với tinh bột bằng 10% so với trọng lượng, sau đó đem sấy ở các nhiệt độ 40°C, 50°C, 60°C, 70°C, 80°C cho đến khi mẫu khô, đem xay nhuyễn và được chế phẩm pancreatin thô.

c) *Phương pháp xác định hoạt tính của enzym*

Xác định hoạt tính proteaza theo Anson,

amylaza theo Willsteat Schude và lipaza [1].

Xác định hàm lượng protein theo phương pháp Lowry, khả năng thủy phân protein theo Sorensen [1].

II. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

1. Xác định trọng lượng khô tuyệt đối của tụy tạng tươi

Sấy mẫu ở nhiệt độ 105°C, cho đến khi trọng lượng không đổi.

Bảng 1

Trọng lượng khô tuyệt đối của tụy tạng tươi

	Mẫu thí nghiệm				
	1	2	3	4	5
Trọng lượng trước khi sấy (g)	5,0112	5,0044	5,0096	5,0232	5,0937
Trọng lượng sau khi sấy (g)	1,3386	1,3848	1,3955	0,5227	0,7947
Trọng lượng khô tuyệt đối (%)	26,71	27,67	27,86	10,41	15,60
TB Trọng lượng khô tuyệt đối (%)	21,65				

Trọng lượng khô tuyệt đối của tụy tạng tươi chiếm tỷ lệ 21,65% (bảng 1).

2. Hiệu suất thu nhận chế phẩm pancreatin thô

Bảng 2

Kết quả hiệu suất thu nhận chế phẩm pancreatin thô

Mẫu thí nghiệm	1	2	3	4
Mẫu rửa bằng axêton	Rửa rửa bằng axêton công nghiệp		Rửa rửa bằng axêton tinh khiết	
Hiệu suất thu nhận (%)	11,58	12,63	15,60	16,00
Mẫu rửa bằng cồn	Cồn tuyệt đối			Cồn 96°
	1:4	1:5	1:7	1:4
Hiệu suất thu nhận (%)	10,87	12,65	19,75	10,60
Mẫu rửa bằng (NH ₄) ₂ SO ₄	(NH ₄) ₂ SO ₄			
	60%	65%	70%	
Hiệu suất thu nhận (%)	35,50	38,20	42,42	
Mẫu sấy	40°C	50°C	60°C	70°C
Hiệu suất thu nhận (%)	40,30	37,15	36,75	36,47

Phương pháp rửa bằng axêton, khi rửa rửa bằng axêton tinh khiết có hiệu suất cao hơn rửa bằng axêton công nghiệp là 3,7%.

Phương pháp rửa bằng cồn tuyệt đối có hiệu suất cao nhất ở tỷ lệ 1:7 là 19,75%

Phương pháp rửa bằng $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ có hiệu suất cao nhất ở nồng độ muối 70% là 42,42%

Phương pháp sấy có hiệu suất cao nhất ở nhiệt độ 40°C là 40,30%, nhưng thời gian sấy

kéo dài đến 80 giờ do đó có ảnh hưởng đến hoạt tính của enzym (bảng 2).

3. Xác định hàm lượng $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ trong chế phẩm pancreatin

Chế phẩm pancreatin được thu nhận theo phương pháp rửa bằng $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ thường có nồng độ muối khá lớn, nên phải loại muối bằng phương pháp thẩm tích.

Bảng 3

	Mẫu thí nghiệm		
	$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 60%	$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 65%	$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 70%
Trọng lượng pancreatin trước khi thẩm tích (g)	7,77	7,64	9,72
Trọng lượng pancreatin sau khi thẩm tích (g)	1,01	1,20	1,73
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ trong chế phẩm (%)	87,00	84,30	82,20
Trọng lượng pancreatin thô (%)	13,00	15,70	17,80

Bảng 3 cho thấy sau khi thẩm tích thì lượng chế phẩm đạt hiệu suất cao nhất là 17,80% khi rửa bằng $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ở nồng độ 70%.

4. Xác định hoạt tính (proteaza, amylaza, lipaza) của chế phẩm pancreatin với các tác nhân rửa khác nhau

Bảng 4 cho thấy hoạt tính proteaza của phương pháp rửa bằng axêton là cao nhất so với rửa bằng cồn, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ và sấy, hoạt tính riêng proteaza cực đại đạt 2,37 đơn vị hoạt tính Anson/mg protein.

Hoạt tính proteaza của phương pháp rửa bằng $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ là khá cao so với rửa bằng cồn, và sấy, hoạt tính riêng đạt 2,16 đơn vị hoạt tính Anson/mg protein, trong khi rửa bằng cồn tuyệt đối là 1,20 đơn vị hoạt tính Anson/mg protein; rửa bằng cồn 96° hoạt tính riêng chỉ bằng 37,5% so với cồn tuyệt đối; sấy ở 50°C hoạt tính riêng chỉ bằng 51,38% so với phương pháp rửa bằng axêton.

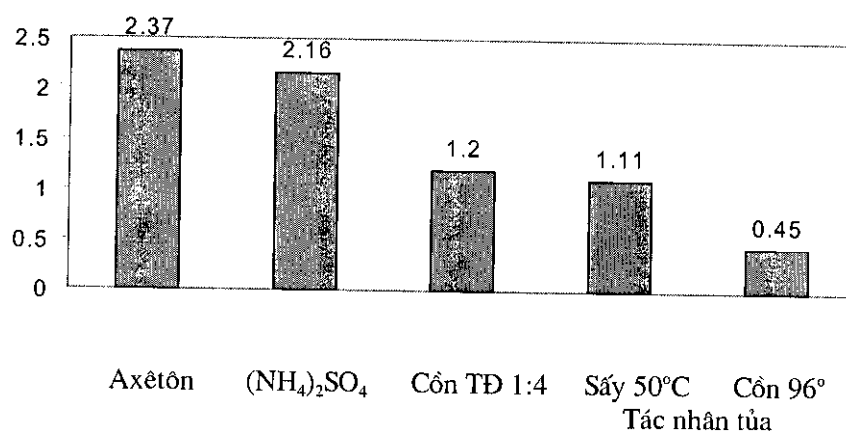
Hoạt tính amylaza của phương pháp rửa bằng axêton là cao nhất so với rửa bằng cồn,

$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ và sấy, hoạt tính riêng amylaza cực đại đạt 1,155 đơn vị hoạt tính amylaza/mg protein $\times 10^{-3}$, trong khi rửa bằng cồn tuyệt đối là 0,932 đơn vị hoạt tính amylaza/mg protein $\times 10^{-3}$; rửa bằng cồn 96° hoạt tính riêng chỉ bằng 55,15% so với cồn tuyệt đối; sấy ở 50°C hoạt tính riêng chỉ bằng 67,71% so với phương pháp rửa bằng axêton.

Hoạt tính lipaza của phương pháp rửa bằng axêton là cao nhất so với rửa bằng cồn, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ và sấy, hoạt tính riêng đạt 4,034 đơn vị hoạt tính lipaza/mg protein $\times 10^{-6}$; rửa bằng cồn 96° hoạt tính riêng chỉ bằng 43,22 % so với cồn tuyệt đối; sấy ở 50°C hoạt tính riêng chỉ bằng 53,42 % so với phương pháp rửa bằng axêton.

5. Xác định hoạt tính riêng (proteaza, amylaza, lipaza) của chế phẩm pancreatin với các tác nhân rửa khác nhau

Hoạt tính riêng proteaza (đơn vị Anson /mg protein).



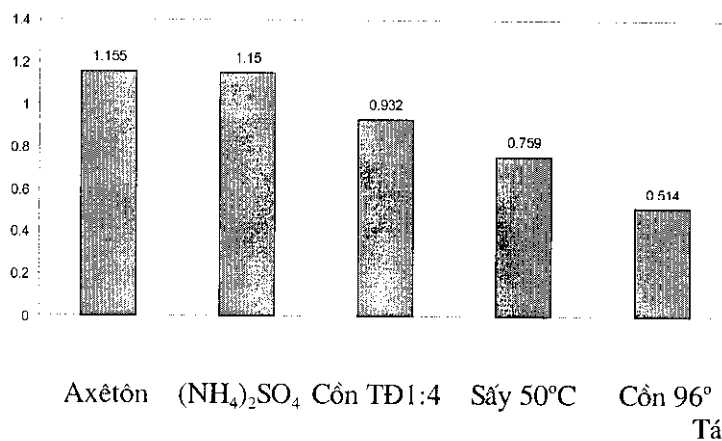
Hình 1. Hoạt tính riêng proteaza của chế phẩm pancreatin được rửa với các tác nhân khác nhau

Bảng 4

Hoạt tính của chế phẩm pancreatin

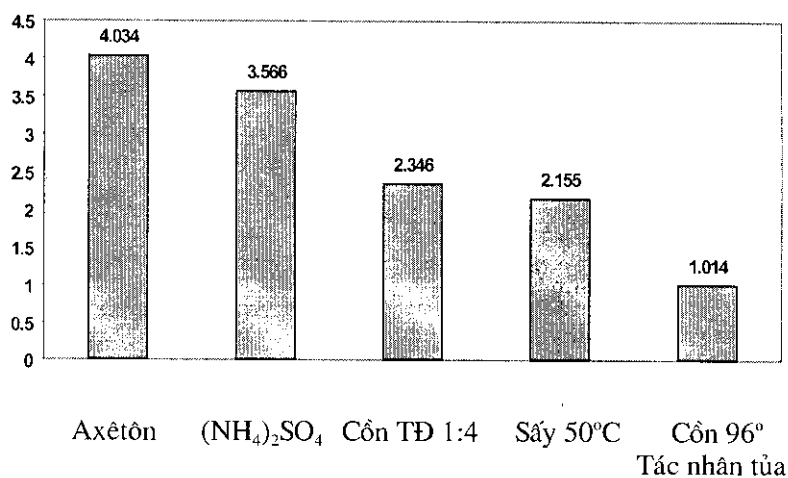
Chế phẩm pancreatin thô	Đơn vị hoạt tính Anson/g enzym	g maltosa/g chế phẩm/phút	mol NaOH N/10 x 10 ⁻³	Hàm lượng protein	Đơn vị hoạt tính proteaza/mgprotein	Đơn vị hoạt tính amylaza /mgprotein x 10 ⁻³	Đơn vị hoạt tính lipaza /mgprotein x 10 ⁻⁶
Dịch chiết tụy tươi (DD1)	1.406	1,82	2,71	930	1,51	1,956	2,913
Mẫu rửa bằng axêton							
Rửa bằng axêton công nghiệp	875	0,56	1,63	563	1,55	0,990	2,895
Rửa bằng axêton tinh khiết	1.380	0,62	2,34	580	2,37	1,155	4,034
Mẫu rửa bằng cồn tuyệt đối	625,5	0,48	1,22	520	1,20	0,932	2,346
Mẫu rửa bằng cồn 96°	318,7	0,36	0,71	700	0,45	0,514	1,014
Dịch chiết tụy tươi (DD2)	1.504	1,55	2,96	972	1,55	1,594	3,045
Mẫu rửa bằng $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 60%	1.300	0,69	2,14	600	2,16	1,150	3,566
Mẫu rửa bằng $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 65%	1.260	0,48	1,93	630	2,00	0,761	3,063
Mẫu rửa bằng $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 70%	1007	0,32	1,12	615	1,63	0,520	1,821
Mẫu sấy ở 40°C	525	0,39	1,01	600	0,87	0,650	1,683
Mẫu sấy ở 50°C	630	0,43	1,22	566	1,11	0,759	2,155
Mẫu sấy ở 60°C	500	0,36	0,91	534	0,93	0,674	1,704
Mẫu sấy ở 70°C	237	0,28	0,61	460	0,51	0,608	1,326
Mẫu sấy ở 80°C	200	0,25	0,50	430	0,46	0,581	1,162

Hoạt tính riêng amylaza (đơn vị hoạt tính amylaza/mg protein $\times 10^{-3}$)



Hình 2. Hoạt tính riêng amylaza của chế phẩm pancreatin được rửa bởi những tác nhân khác nhau

Hoạt tính riêng lipaza (đơn vị hoạt tính lipaza/mg protein $\times 10^{-6}$)



Hình 3. Hoạt tính riêng lipaza của chế phẩm pancreatin được rửa bởi các tác nhân khác nhau

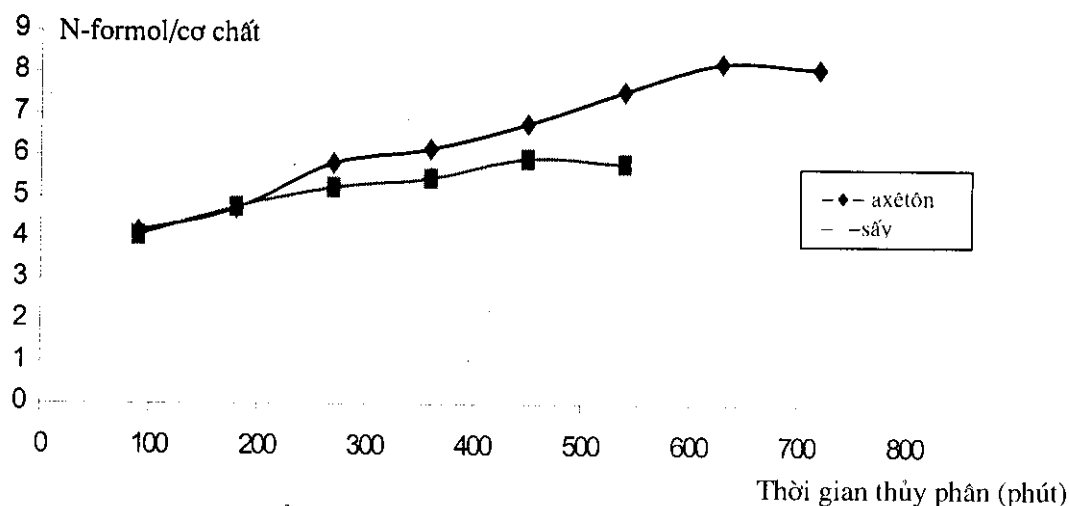
6. Khả năng thủy phân của chế phẩm pancreatin lên một số cơ chất

a) Khả năng thủy phân của chế phẩm pancreatin lên chất đạm (bột cá, khô đậu nành)

Khả năng thủy phân của chế phẩm pancreatin rửa bằng axêton

Đối với mẫu cơ chất là bột cá thì tỷ lệ N-formol/cơ chất tăng trong vòng 10 giờ nhưng sang giờ thứ 11 thì có chiều hướng giảm

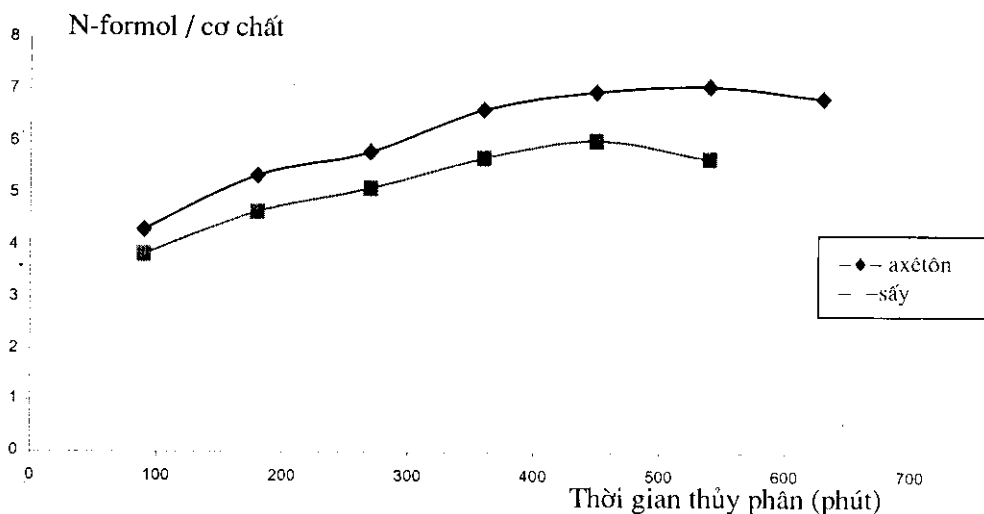
Đối với mẫu cơ chất là khô đậu nành thì tỷ lệ N-formol/cơ chất tăng trong vòng 9 giờ nhưng sang giờ thứ 10 thì có chiều hướng giảm



Hình 4. Sự biến đổi N-formol/cơ chất (bột cá) theo thời gian thủy phân

Khả năng thủy phân của chế phẩm pancreatin sấy ở 50°C:

Đối với cơ chất là bột cá, khô đậu nành thì tỷ lệ N-formol/cơ chất tăng trong vòng 7 giờ nhưng sang giờ thứ 9 thì có chiều hướng giảm.



Hình 5. Sự biến đổi N-formol/cơ chất (khô đậu nành) theo thời gian thủy phân

b) Khả năng thủy phân của chế phẩm pancreatin lên các chất tinh bột (như tấm, cám, bắp)

Bảng 4

Hoạt tính amylaza

Thủy phân tinh bột bằng chế phẩm pancreatin khi tủa bằng axêton			
Mẫu thí nghiệm	Tấm	Cám	Bắp
$\Delta V \text{ Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \text{ N/20 (ml)}$	5,60	3,80	5,30
g maltoza/g nguyên liệu/phút	0,67	0,45	0,63
Thủy phân tinh bột bằng chế phẩm pancreatin khi sấy ở 50°C			
Mẫu thí nghiệm	Tấm	Cám	Bắp
$\Delta V \text{ Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \text{ N/20 (ml)}$	4,60	3,05	4,25
g maltoza/g nguyên liệu/phút	0,55	0,36	0,50

c) Khả năng thủy phân của chế phẩm pancreatin lên các chất béo (như lạc, đậu nành, cám gạo)

Thủy phân chất béo bằng chế phẩm pancreatin khi rửa bằng axêton			
Mẫu thí nghiệm	Lạc	Đậu nành	Cám gạo
$\Delta V_{NaOH} \text{ N/10 (ml)}$	0,50	0,27	0,19
$\text{mol NaOH N/10.10}^{-3}$	1,01	0,60	0,40
Thủy phân chất béo bằng chế phẩm pancreatin khi sấy ở 50°C			
Mẫu thí nghiệm	Lạc	Đậu nành	Cám gạo
$\Delta V_{NaOH} \text{ N/10 (ml)}$	0,30	0,20	0,09
$\text{mol NaOH N/10.10}^{-3}$	0,61	0,40	0,20

III. KẾT LUẬN

Phương pháp tách chiết bằng cách rửa axêton có hoạt tính cao nhất so với các cách rửa khác. Pancreatin có khả năng thủy phân tốt các cơ chất có chứa chất đạm, chất béo và tinh bột. Việc tách chiết pancreatin giúp tận dụng được nguồn phế phẩm tại lò sát sinh, cung cấp nguồn enzym để kích thích tiêu hóa cho động vật.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Lâm Thị Kim Châu, Nguyễn Thượng Lệnh, Văn Đức Chín: Thực tập lớn sinh hóa: 27-31, 34-36, 41-46.
2. Paul. D. Boyer, Henry Lardy, 1960: The Enzyme, Vol 4. Academic press N.Y-London.
3. Vũ thị Bích Hạnh, 1995: Tách chiết và bước đầu nghiên cứu tạo pancreatin không tan, ĐHKHTN.
4. Alan H. Mehler, 1957: Introductoin to Enzymology. Academic press.Inc publisher N.Y.
5. Nguyễn Văn Uyển, Ngô Kế Sương, Nguyễn Tiến Thắng, 1994: Công nghệ sinh học và một số ứng dụng tại Việt Nam, tập I, II. Nxb Nông nghiệp.
6. James B. Summer, G. Fred Somers, 1960: Chemistry and method of enzymes. Academic press N.Y-London.
7. William B. Jacoby, 1971: Methods in Enzymology, Vol XXII, Enzyme purification and related techniques, Academic press N.Y-London.
8. MIMS Việt Nam, 1997: Volume 1: 25.
9. Ngô Thế Hùng, 1994: Dược phẩm đặc chế trong và ngoài nước, Nxb Y học.

EXTRACTION OF THE PANCREATINE AND ACTIVITY OF THE CRUDE PANCREATINE

NGUYEN THI TIET, NGO KE SUONG

SUMMARY

Pancreatine is extracted from the swines' pancreas. The precipitation with acetone gives the best effect in comparison with the precipitation with $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, absolute alcohol and alcohol 96°. The pancreatine can hydrolyze well substrates that contain protein, lipid and glucid.

The extraction of the pancreatine from the waste product in slaughter-houses provides enzymes to stimulate the animal digestion.

Ngày nhận bài: 3-4-2002

CONTENTS

		Page
1. TA HUY THINH	: Altitudinal distribution of Muscidae, Calliphoridae and Sarcophagidae (Diptera - Brachycera) in Vietnam. Part 1: The species at altitudes of 700-1200 m	1-8
2. NGUYEN THI LE et al.	: Parasite infection in some Colubrid snakes in Vietnam.	9-12
3. VU XUAN PHUONG	: Genus <i>Schnabelia</i> Hand.-Mazz. (Verbenaceae) a new record for the flora of Vietnam	13-14
4. LE NGOC CONG et al.	: Some data on the dynamic of plant communities restored naturally from abandoned areas of the shifting cultivation in Thai Nguyen province	15-18
5. NGUYEN XUAN DANG et al.	: Results of the first survey on the elephant population (<i>Elephas maximus</i>) in the Cat Tien national park, Dong Nai province	19-25
6. NGUYEN DUY LAM, TAMIKAZU KUME	: Study to reuse the spent compost in the <i>Ganoderma lucidum</i> cultivation for producing fruitbodies and protein-rich mycelial biomass of <i>Pleurotus sajor-caju</i>	26-32
7. NGUYEN THI KIM LIEN, NGUYEN DUC THANH	: An AFLP and SSR linked map based on a F6 population derived from a cross of two vietnamese upland rice cultivars.	33-42
8. NGUYEN DANG QUAN et al.	: Some assays for investigation of the antimitotic activity of gossypol and plumbagin on tumour cell lines.	43-47
9. LE DINH HUNG et al.	: Study on cultivation factors affecting the hemagglutination activity of lectin extracted from <i>Kappaphycus alvarezii</i> (Doty).	48-52
10. MAI SY TUAN, TRAN THI PHUONG	: Salt absorption and exchange of <i>Kandelia candel</i> (L.) Druce grown in different levels of external salinity.	53-59
11. NGUYEN THI TIET, NGO KE SUONG	: Extraction of the pancreatine and activity of the crude pancreatine.	60-66

MỤC LỤC

		Trang
1. TẠ HUY THỊNH	: Phân bố theo độ cao của các họ Ruồi Muscidae, Calliphoridae, Sarcophagidae (Diptera - Brachycera) ở Việt Nam. Phần 1: Các loài bắt gặp ở độ cao 700-1200 m.	1-8
2. NGUYỄN THỊ LÊ, NGUYỄN THỊ MINH, PHẠM VĂN LỤC, PHẠM NGỌC DOANH	: Tình hình nhiễm ký sinh trùng ở một số loài rắn nước thường gặp thuộc họ Colubridae ở Việt Nam.	9-12
3. VŨ XUÂN PHƯƠNG	: Bổ sung một chi mới <i>Schnabelia</i> Hand.-Mazz. (họ Verbenaceae) cho hệ thực vật Việt Nam.	13-14
4. LÊ NGỌC CÔNG, HOÀNG CHUNG, BÙI THỊ DẬU TRẦN ĐÌNH LÝ	: Một số dẫn liệu về động thái của các quần xã thực vật phục hồi tự nhiên sau nương rẫy ở tỉnh Thái Nguyên.	15-18
5. NGUYỄN XUÂN ĐẶNG, NGUYỄN TRƯỜNG SƠN TRẦN VĂN THÀNH, PHẠM HỮU KHÁNH	: Kết quả điều tra bước đầu quần thể voi (<i>Elephas maximus</i>) tại Vườn quốc gia Cát Tiên, tỉnh Đồng Nai.	19-25
6. NGUYỄN DUY LÂM, TAMIKAZU KUME	: Nghiên cứu tận dụng bã đã trồng nấm linh chi để làm giá thể trồng nấm bào ngư và tạo sinh khối sợi nấm giàu protein.	26-32
7. NGUYỄN THỊ KIM LIÊN, NGUYỄN ĐỨC THÀNH	: Bản đồ liên kết phân tử với các chỉ thị SSR và AFLP ở quần thể F6 giữa hai giống lúa cạn Việt Nam.	33-42
8. NGUYỄN ĐĂNG QUÂN, PHAN KIM NGỌC, HỒ HUỖNH THÙY DƯƠNG, DƯƠNG THỊ BẠCH TUYẾT	: Khảo sát tính kháng phân bào của hai hoạt chất gossypol và plumbagin trên dòng tế bào ung thư bằng một số phương pháp thử nghiệm.	43-47
9. LÊ ĐÌNH HÙNG, HUỖNH QUANG NĂNG, TRẦN KHA, NGÔ QUỐC BƯU	: Nghiên cứu ảnh hưởng của các yếu tố môi trường nuôi trồng đến hoạt tính đông tụ máu của lectin chiết từ rong <i>Kappaphycus alvarezii</i> .	48-52
10. MAI SỸ TUẤN, TRẦN THỊ PHƯƠNG	: Khả năng hấp thụ và trao đổi muối của cây trang (<i>Kana candel</i> (L.) Druce) trồng ở các môi trường thí nghiệm có mặn khác nhau.	53-55
11. NGUYỄN THỊ TIẾT, NGÔ KẾ SƯƠNG	: Tách chiết pancreatin và hoạt tính của chế phẩm pancreatin thô.	60-66