

E.29

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 2

THÁNG 6-2002

HÀ NỘI

Cv.27

TẠP CHÍ SINH HỌC

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

HỘI ĐỒNG BIÊN TẬP

NGUYỄN TÁC AN, ĐÁI DUY BAN, LÝ KIM BẢNG,
NGUYỄN TIẾN BÂN, ĐOÀN CẢNH, VŨ QUANG CÔN,
PHẠM THỊ TRÂN CHÂU, NGUYỄN LÂN DŨNG, NÔNG VĂN
HẢI, TRƯƠNG NAM HẢI, ĐẶNG HUY HUỲNH, NGUYỄN
ĐẶNG KHÔI, NGUYỄN THỊ LÊ, PHAN KẾ LỘC, NGUYỄN
TÀI LƯƠNG, LÊ THỊ MUỘI, HOÀNG ĐỨC NHUÂN, 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**

HAI LOÀI CUA MỚI THUỘC HỌ POTAMIDAE Ở VIỆT NAM

ĐẶNG NGỌC THANH, HỒ THANH HẢI

Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật

Khi phân tích các vật mẫu giáp xác nước ngọt thu được tại suối vùng A Lưới thuộc tỉnh Thừa Thiên-Huế và suối vùng Cúc Phương thuộc tỉnh Ninh Bình trong năm 2001, chúng tôi đã xác định có hai loài cua mới thuộc họ Potamidae, trong đó có 1 giống mới. Sau đây là mô tả hai loài cua mới này.

1. *Vietopotamon* gen. nov.

Đặc điểm chẩn loại

Mai rộng ngang, hình thang, cạnh bên trước viền mấu răng. Mặt trước mai hơi phồng, mặt sau phẳng. Mặt trên trán sù sì. Thùy sau trán nổi rõ. Chân hàm III có đốt ischium hình chữ nhật, sợi roi exopod dài. Đốt bụng VII có hình tam giác, cạnh bên hơi lõm, đầu vuốt nhỏ. GO1 con đực thanh, đốt trước ngọn có phần trên uốn ra ngoài. Đốt ngọn hình ngón tay, cong gập ra phía ngoài, đầu ngọn chẻ đôi thành hai thùy. GO2 có phần ngọn hình sợi dài.

Nhận xét

Giống mới khác về cơ bản với giống *Tiwaripotamon* Bott, 1970 ở cấu tạo, hình dáng GO1 con đực cũng như bề mặt mai. *Vietopotamon* gen. nov. cũng khác với *Ovipotamon* Peter et Masatsune, 1992 ở các điểm sau:

1. Mai rộng ngang, hình thang, không có hình ovoid, phần trước mặt mai sù sì, không nhẵn. Cạnh bên trước có viền răng, không nhẵn.
2. Ischium chân hàm III hình chữ nhật, không vuông.
3. Đốt bụng VII có cạnh bên lõm, không thẳng
4. Đốt ngọn GO1 con đực dài, cong gập ra phía ngoài, ngọn chẻ đôi. Ở *Ovipotamon*, đốt

này ngắn, chĩa thẳng lên phía trên.

Ngoài ra, về phân bố, các loài thuộc giống *Ovipotamon* cho tới nay chỉ được thấy ở Philippin [5], có thể mang tính chất giống đặc hữu cho vùng đất này.

Loài chuẩn: *Vietopotamon aluoiensis* sp. nov.

Vietopotamon aluoiensis sp. nov.

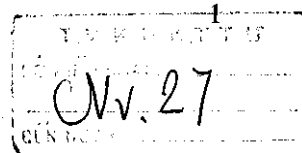
(Ảnh 1)

Holotyp: 1 con đực; Allotyp: 1 con cái, suối ở A Lưới (Thừa Thiên-Huế), tháng 8/2001. lưu giữ tại Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật, Hà Nội, Việt Nam.

Vật mẫu nghiên cứu: 7 con đực, 5 con cái thu được ở suối A Lưới (Thừa Thiên-Huế).

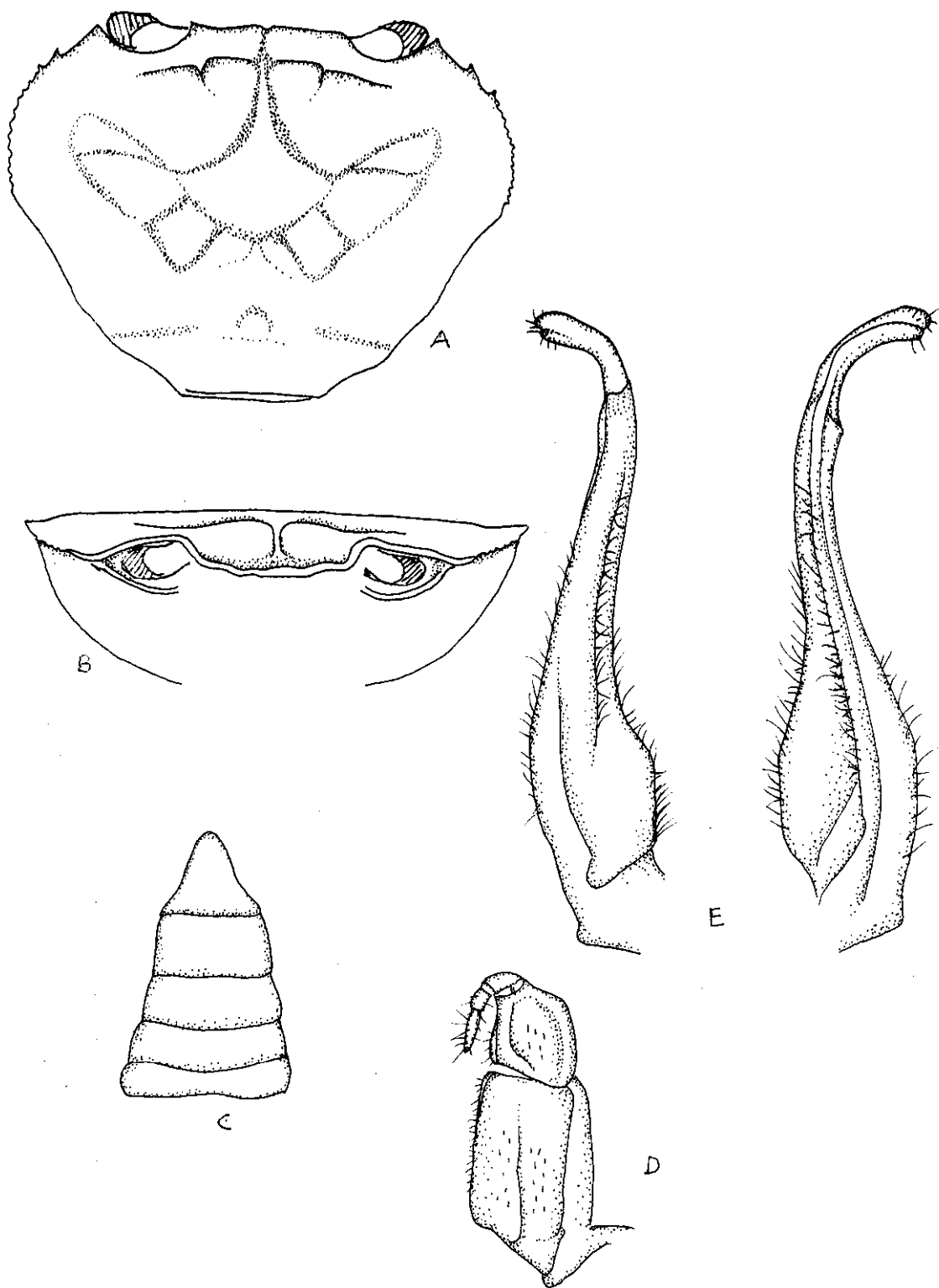
Mô tả

Mai rộng ngang, hình thang, cạnh bên trước viền mấu răng. Mặt trước mai hơi phồng, mặt sau phẳng. Vùng trán rộng, cạnh trước trán lượn sóng, góc ngoài gần vuông. Răng trên mang nhỏ, nom rõ, góc ổ mắt ngoài lớn. Mặt trên trán sù sì. Thùy sau trán nổi rõ. Gờ sau trán và gờ sau ổ mắt nom rõ, ngăn cách bởi rãnh sâu. Nửa trước mặt mai (vùng trước vị và vùng bên trước) sù sì. Nửa sau mặt mai (vùng sau vị, vùng mang, vùng tim) nhẵn. Rãnh đầu nông, rãnh bán nguyệt nom rõ. Chân hàm III có đốt ischium hình chữ nhật, sợi roi exopod dài. Càng có mặt trên carpus và bàn sù sì, gai ngọn trong carpus lớn. Ngón dài hơn bàn. Chân bò dài vừa, nhẵn. Đốt bụng VII có hình tam giác, cạnh bên hơi lõm, đầu vuốt nhỏ. Đốt VI hơi ngắn hơn đốt VII (5/6). GO1 con đực thanh, đốt trước ngọn có phần trên uốn ra ngoài. Đốt ngọn hình ngón tay, cong gập ra phía ngoài, đầu ngọn chẻ đôi thành 2 thùy. GO2 có phần ngọn hình sợi dài.





Ảnh 1: Vietopotamon aluoiensis sp. nov. (con đực)
A. Nhìn từ mặt lưng; B. Nhìn từ mặt bụng



Hình 1: *Vietopotamon aluiensis* nov. sp. (con đực)
A: mặt lưng; B: mặt trán; C: phần bụng; D: ischium chân hàm III; E: GOI

Thông số đo	Con đực	Con cái
Chiều rộng mai (L) (mm)	34	36
Chiều dài mai (l) (mm)	44	47
Chiều dày mai (e) (mm)	19	20
Chiều rộng trán (F) (mm)	12	15
Chiều rộng giữa hai ổ mắt (mm)	28	30
Chiều dài carpus (mm)	12	13
Chiều dài bàn (mm)	28	18
Chiều dài ngón (mm)	12	14
Chiều cao đốt bụng VII (mm)	06	08
Chiều cao đốt bụng VI (mm)	05	07
GO1 con đực: đốt cuối/đốt trước cuối	02/08	

2. *Geothelphusa vietnamica* sp. nov. (Ảnh 2)

Đặc điểm chẩn loại

Mai hình bầu dục, phồng to, góc bên trước tròn. Mặt trên mai nhẵn, các thùy thượng vị không phát triển nhưng nom rõ. Đốt bụng VII hình tam giác thấp, cạnh bên thẳng, dài gần bằng đốt VI. Đốt cuối GO1 con đực hình que, chia thẳng, phần gốc hơi to hơn phần ngọn, dài bằng 1/4 đốt trước cuối, đầu cụt có tám lỗ nhỏ ở ngọn.

Holotyp: 1 con đực; Allotyp: 1 con cái, suối Cúc Phương, Ninh Bình-Việt Nam, tháng 12/2001, lưu giữ tại Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật, Hà Nội-Việt Nam.

Vật mẫu nghiên cứu: 3 con đực thu được ở suối Cúc Phương, Ninh Bình-Việt Nam.

Mô tả

Mai hình bầu dục, phồng to, góc bên trước tròn, gờ bên trước mảnh chỉ thấy ở con non, không thấy rõ ở con trưởng thành. Mặt trên mai nhẵn, các thùy thượng vị không phát triển nhưng nom rõ. Gờ sau ổ mắt không nom rõ. Các rãnh đầu, rãnh bán nguyệt, rãnh chữ H kém phát triển nhưng nom rõ. Cạnh trước trán chia 2 thùy. Đốt bụng VII hình tam giác thấp, cạnh bên thẳng, dài bằng đốt VI. Các đốt *Ischium*, *merus* của

chân hàm 3 đều hơi dài hơn rộng. GO1 con đực có đốt trước cuối vuốt nhỏ về phía ngọn, cong 1 phía ngoài, cạnh trong thẳng, cạnh ngoài lõm. Đốt cuối hình que, chia thẳng, phần gốc hơi to hơn phần ngọn, dài bằng 1/4 đốt trước cuối, đầu cụt có tám lỗ nhỏ ở ngọn. GO2 có phần ngo hình sợi dài bằng phần gốc.

Thông số đo	Con đực	Con cái
Chiều rộng mai (L) (mm)	38	41
Chiều dài mai (l) (mm)	52	53
Chiều dày mai (e) (mm)	21	22
Chiều rộng trán (F) (mm)	08	09
Chiều rộng giữa hai ổ mắt (mm)	31	32
Chiều dài carpus (mm)	14	14
Chiều dài bàn (mm)	20	20
Chiều dài ngón (mm)	18	18
Chiều cao đốt bụng VII (mm)	05	07
Chiều cao đốt bụng VI (mm)	06	10
GO1 con đực: đốt cuối/đốt trước cuối	03/12	

Nhận xét

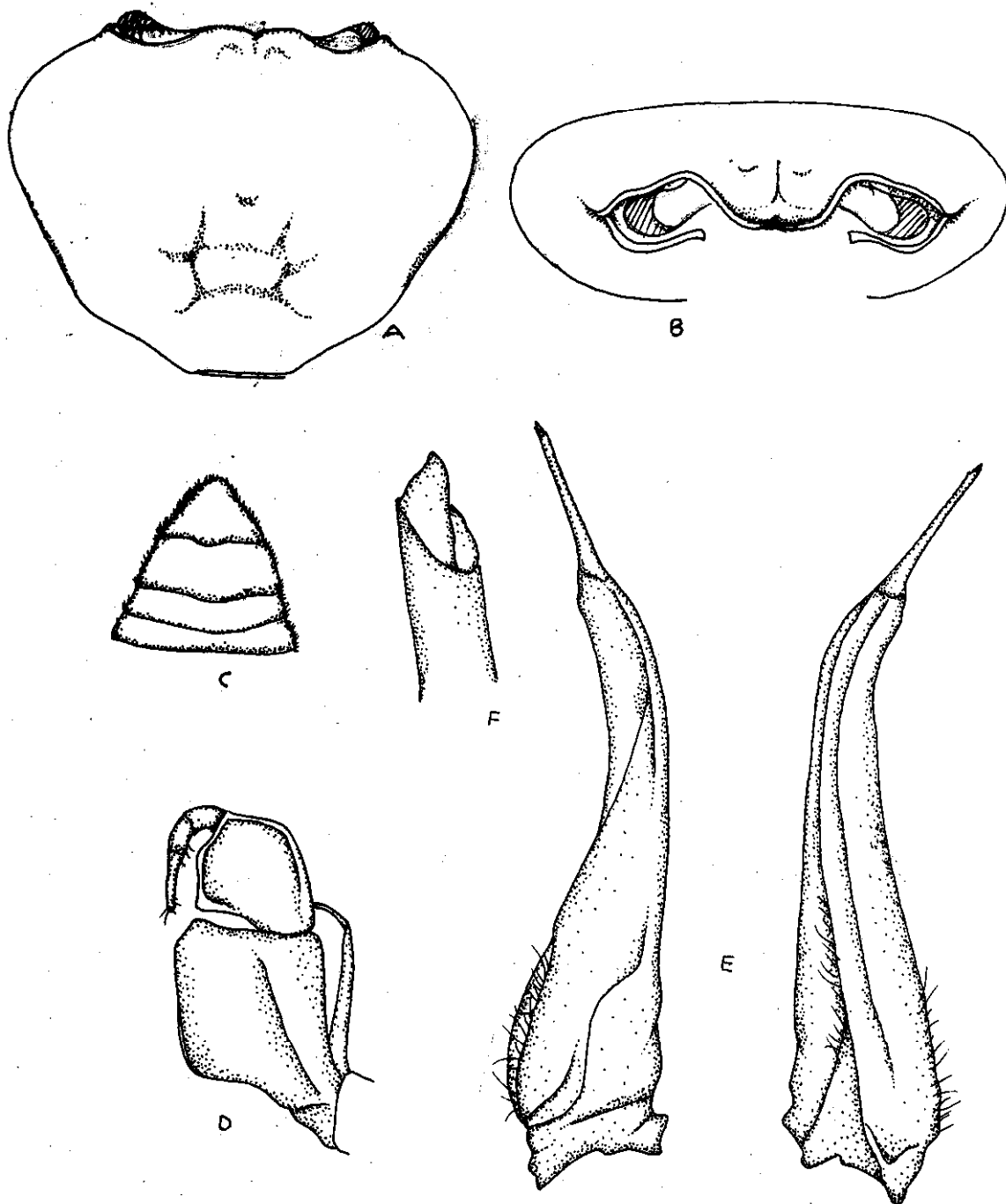
Loài mới *Geothelphusa vietnamica* sp. nov có những sai khác với các loài thuộc giống *Geothelphusa* đã biết hiện nay trong khu vực GO1 với đốt cuối dài bằng 1/4 đốt trước cuối (các loài khác chỉ bằng 1/5-1/6). Chân ngực mảnh, rất dài. Đây là loài đầu tiên thuộc giống *Geothelphusa* thấy ở phía bắc Việt Nam, trong khi các loài *Geothelphusa* khác ở vùng phía đông Châu Á cho tới nay chỉ mới thấy ở Nhật Bản, Đài Loan.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bott R.: 1970. Die Süßwasserkrabben von Europa Asien, Australien und ihre Stammesgeschichte. Abh. Senckenbergischen Nat. Ges., Frankfurt, 526: 1-338.
2. Đặng Ngọc Thanh et al.: 1980. Định loại động vật không xương sống nước ngọt bắc Việt Nam. NXB Khoa học và Kỹ thuật.



Ảnh 2: *Geothelphusa vietnamica* sp. nov. (con đực)
A. Nhìn từ mặt lưng; B. Nhìn từ mặt bụng



Hình 2: *Geothelphusa vietnamica* nov. sp. (con đực)

A: mặt lưng; B: mặt trán; C: phần bụng; D: ischium chân hàm III; E: GO1; F: đầu cụt của đốt cuối GO1

3. **Đặng Ngọc Thanh, Hồ Thanh Hải, 2000:** Động vật chí Việt Nam, Tập 5, Giáp xác nước ngọt. NXB Khoa học và Kỹ thuật.
4. **Jhy-Yun Shy, Peter K. L. Ng., Hsiang Ping Yu, 1994:** Raffles Bulletin of Zoology, 42(4): 781-846.
5. **Ng. P. K. L., Takeda M., 1992:** Bull. Nat. Sci. Tokyo Ser. A, 18(4): 149-166.

TWO NEW CRAB SPECIES OF *POTAMIDAE* FOUND IN VIETNAM

ĐANG NGOC THANH, HO THANH HAI

SUMMARY

Vietopotamon gen. nov.

Diagnosis: Carapace transverse, trapejoid, anterolateral margins convexe, cristate. Anterior region rather swollen, rugose, posterior part smooth. Frontal margin sinuous. Cheliped III with rectangular merus. Fingers slightly longer than palm. Ambulatory legs rather short and smooth. Male abdomen VII segment triangular with concave lateral margins. GO1 slender, with terminal segment finger form in shape, outwardly curved, tip bilobed.

Remarks:

This new genus *Vietopotamon* gen. nov. differs from the known genera *Tiwaripotamon* Bott, 1970 and *Ovipotamon* Peter K. L. et M. Takeda, 1992 in several significant aspects:

1. Carapace transverse, trapejoid (not ovoid). Anterolateral margins cristate.
2. Cheliped III ischium rectangular, not squarish
3. Male abdomen VII segment with concave lateral margins, not straight.
4. Terminal segment male GO1 long, finger form, outwardly curved, with a swollen tip, bilobed (not straight and with rounded tip).

Besides, all species of *Ovipotamon* up to now only known from Philippine, probably as Philippine island endemic species.

Type species: *Vietopotamon aluoiensis* sp. nov.

1. *Vietopotamon aluoiensis* sp. nov. (Fig. 1)

Holotype, 1 male; Allotype, 1 female, collected from the stream at the Aluoi district, Thuathienhue province, Vietnam, in August 2001, deposited in the Zoological Museum, Institute of Ecology and Biological resources, Hanoi-Vietnam.

Diagnosis: Carapace transverse, trapejoid, anterolateral margins convexe, cristate. Anterior region rather swollen, rugose. Posterior part smooth. Frontal margin sinuous. External angle squarish. Epibranchial tooth small, blunt, external orbital angle triangular. Epigastric lobes distinct, rugose, postfrontal and and postorbital cristae present, separated each other by broad notch. Cervical grooves shallow, semilunar groove distinct. Cheliped III with rectangular merus, exopod with well developed flagellum. Upper surface carpus and palm rugose, inner distal spine well developed. Fingers slightly longer than palm. Ambulatory legs rather short and smooth. Male abdomen VII segment triangular with concave lateral margins. The VI segment shorter than the VII one. GO1 slender, with terminal segment finger form in shape, outwardly curved, tip bilobed.

2. *Geothelphusa vietnamica* sp. nov. (Fig. 2)

Holotype, 1 male; Allotype, 1 female, collected from the stream at the Cucphuong National park, Ninh binh province, Vietnam, in December 2001, deposited in the Zoological Museum, Institute of Ecology and Biological resources, Hanoi-Vietnam.

Diagnosis: The 7 th. abdomen segment low triangular, lateral margin straight. GO1 in male with terminal segment stick-shaped, distal truncate with small hyaline crest length $1/4$ times that of subterminal segment. Ambulatory legs slender, very long.

Carapace oval elongate, strongly convex, dorsal surface smooth. Epigastric lobes and crista not developed, but well distinct. Cervical semilunar, H-shaped grooves moderately developed. Front anterior margin bilobed. Abdomen VII segment low triangular, lateral margin straight. Ischium, merus slightly long than wide. GO1 in male with subterminal segment gradually tapering from relatively broad base, slightly curved outwards. Outer border concave, while inner border straight. Terminal segment stick-shaped, turned upwards, distal part truncate with small hyaline crest length $1/4$ times that of subterminal segment. Ambulatory legs slender, very long.

Remarks:

This new species *Geothelphusa vietnamica* sp. nov. differs from the known species of *Geothelphusa* in the region nowadays in several significant aspects:

GO1 turned upwards, with small distal hyaline crest. Terminal segment length $1/4$ times that of subterminal segment. While others $1/5-1/6$. Ambulatory legs slender, very long. Abdomen VII segment low triangular. This species of *Geothelphusa* firstly found in the northern Vietnam while others species of *Geothelphusa* found only in eastern Asia, as Japan and Taiwan up to now.

Ngày nhận bài: 27 - 2 - 2002

MỘT GIỐNG MỚI VÀ MỘT LOÀI MỚI THUỘC HỌ *BALITORIDAE* (CYPRINIFORMES) TÌM THẤY Ở HUYỆN ĐIỆN BIÊN, TỈNH LAI CHÂU

NGUYỄN VĂN HẢO

Viện Nghiên cứu nuôi trồng thủy sản I

NGUYỄN HỮU DỤC

Trường đại học Sư phạm Hà Nội

Trong những năm công tác tại huyện Điện Biên, tỉnh Lai Châu (1996-1998), chúng tôi đã thu thập được một dạng cá Bám rất lạ ở sông Nậm Núa thuộc hệ thống sông Mê Công. Kết quả phân tích phân loại học cho thấy đây là một loài mới thuộc một giống mới của phân họ *Balitorinae*, họ *Balitoridae*, bộ *Cypriniformes*.

***Dienbienia* V.H Nguyen &
H.D. Nguyen gen. nov.**

Các mẫu thu được ở Nậm Núa, xã Noong Luống, huyện Điện Biên nên chúng tôi đặt tên giống mới là giống cá Bám Điện Biên.

Đặc điểm chẩn loại: thân dẹp bằng, hướng về sau dẹp bên dần. Viên lưng cong nông, viên bụng thẳng bằng. Chiều cao thân nhỏ hơn chiều rộng thân rõ ràng. Đầu bẹt. Mồm tây tròn, mé cạnh hơi mỏng. Miệng dưới, nhỏ, hình cong nông. Môi có nhiều mấu thịt. Mấu thịt môi trên phát triển, mấu thịt môi dưới nhỏ hơn và đều xếp thành một hàng. Trước miệng có một rãnh mồm và nếp mồm. Nếp mồm phân 3 thùy, giữa các thùy có 2 đôi râu mồm ngắn. Góc miệng có một đôi râu ngắn, thô. Mắt nhỏ ở phía trên và nửa sau của đầu. Khoảng cách hai mắt rộng và bằng. Lỗ mang rộng mở rộng xuống phía bụng của đầu. Các vây chẩn phát triển xoè bằng, cùng với miệng và mặt bụng tạo thành bàn bám. Gốc các vây đều có chất thịt phát triển; các tia không phân nhánh hai bên đều có nhiều gai khía răng cưa để tăng khả năng bám. Vây lưng có 12 tia không phân nhánh, 13 tia phân nhánh, mấu cuối tới ngang khởi điểm vây lưng. Vây bụng có 6 tia không phân nhánh, tia 13 phân nhánh; tia vây bên phải và bên trái không nối liền mà cách

nhau bằng 1/3 chiều rộng thân ở nơi đó. Vây đuôi lõm, thùy dưới dài hơn. Thân phủ vảy nhỏ. Đường bên hoàn toàn chạy giữa thân. Mặt bụng không phủ vảy kéo dài từ cằm tới ngực bụng, kết thúc ở phần tấm da hình tam giác sau gốc vây bụng.

Nhận xét: Họ *Balitoridae* có hai phân họ là *Gastromyzoninae* các vây chẩn chỉ có một tia không phân nhánh và *Balitorinae* các vây chẩn có hai tia không phân nhánh trở lên. Giống cá mới thuộc phân họ *Balitorinae*.

Loài chuẩn: *Dienbienia namnuaensis* V.H Nguyen & H.D. Nguyen sp. nov.

Phân họ *Balitorinae* có 10 giống thì có 4 giống các vây chẩn xoè bằng, cùng với miệng và mặt bụng tạo thành bàn bám là *Dienbienia* gen. nov., *Sinohomaloptera* Fang, 1930; *Sinogastromyzon* Fang, 1930 và *Metahomaloptera* Chang, 1944, trong đó hai giống đầu các tia bên phải và bên trái của vây bụng không nối liền nhau mà cách nhau một khoảng nhỏ hơn chiều rộng thân ở đó. Giống cá mới khác với giống *Sinohomaloptera* chủ yếu là đầu to, rộng, ngắn (chiều dài đầu nhỏ hơn chiều rộng), miệng nhỏ hình cong nông, mấu thịt ở môi kém phát triển, râu góc miệng một đôi. Tia vây không phân nhánh của các vây chẩn rất nhiều (vây ngực 12 tia, vây bụng 6 tia) và hai bên các tia vây đều có gai có khía răng cưa. Phần không có vảy ở ngực và bụng kéo dài hết tấm da hình tam giác ở sau gốc vây bụng. Còn giống kia đầu nhỏ, hẹp ngắn (chiều dài đầu lớn hơn chiều rộng đầu). Miệng lớn so với đầu, hình cung sâu hoặc hình móng ngựa; mấu thịt ở môi rất phát triển; râu góc miệng hai đôi. Tia vây không phân nhánh của

vây chẵn ít hơn (vây ngực 8 tia và vây bụng 3 tia) và các tia đều không có gai khía răng cưa; Phần không có vây ở ngực và bụng chỉ kéo dài đến trước gốc vây bụng [2, 9].

Khoá định loại các giống trong phân họ *Balitorinae*

1(6) Vây bụng có hai tia không phân nhánh

2(3) Mõm không có các mấu thịt

Giống cá Bám đá *Homaloptera* Hasselt, 1823

3(2) Mõm có các mấu thịt phát triển

4(5) Thân hình trụ, đầu rất đẹp bằng. Vây bụng kéo dài quá hậu môn. Hậu môn gần gốc vây bụng hơn vây hậu môn. Vây ngực bắt đầu sau mắt, có 14 tia phân nhánh với 4 tia không phân nhánh.

Giống cá Bám thân trụ *Balitoropsis* Smith, 1945

5(4) Thân và đầu rất đẹp bằng. Vây bụng kéo dài không tới hậu môn. Hậu môn gần gốc vây hậu môn hơn gốc vây bụng. Vây ngực bắt đầu ở dưới mắt, có 19 - 21 tia với 8 - 10 tia không phân nhánh.

Giống cá Bám vây *Balitora* Gray, 1833

6(1) Vây bụng có từ 3 tia không phân nhánh trở lên.

7(8) Cán đuôi dài; chiều dài gấp hơn 10 lần chiều cao của nó.

Giống cá Bám cán đuôi dài *Leuturichthys* Regan, 1911

8(7) Cán đuôi ngắn; chiều dài bằng hoặc nhỏ hơn 6 lần chiều cao của nó

9(18) Lỗ mang kéo dài đến phía bụng của đầu.

10(15) Vây ngực, vây bụng xoè bằng và cùng với mặt bụng tạo thành mặt bắm.

11(12) Vây bụng có gốc bên phải và bên trái nối liền nhau, không có khoảng hở.

Giống cá Bám vây liền *Sinogastromyzon* Fang, 1930

12(11) Vây bụng có gốc bên phải và bên trái không nối liền nhau mà cách một khoảng nhỏ hơn chiều rộng thân ở nơi đó.

13(14) Đầu vừa phải, chiều dài đầu lớn hơn chiều rộng đầu. Miệng lớn hình cung sâu, mấu thịt quanh môi phát triển; vây ngực có 8 tia không phân nhánh, vây bụng có 3 tia không phân nhánh, các tia đều không có gai khía răng cưa ở 2 bên; có hai đôi râu góc miệng.

Giống cá Bám Trung Hoa *Sinohomaloptera* Fang, 1930

14(13) Đầu lớn, chiều dài đầu nhỏ hơn chiều rộng đầu. Miệng rất nhỏ, hình cung nông; mấu thịt quanh môi kém phát triển; vây ngực có 12 tia không phân nhánh, vây bụng có 6 tia không phân nhánh, các tia đều có nhiều gai khía răng cưa ở hai bên; có một đôi râu góc miệng.

Giống cá Bám Điện Biên *Dienbienia* V.H. Nguyen & H.D. Nguyen

15(10) Vây ngực và vây bụng xoè bằng và không tạo thành bàn bắm.

16(17) Vây đuôi phân thùy sâu, chiều dài thân bằng hoặc nhỏ hơn chiều dài vây đuôi. Mặt cắt cán đuôi tròn hoặc hơi vuông.

Giống cá Bám vây đuôi thùy sâu *Jinskaia* Kottelat & Chu, 1988

17(16) Vây đuôi phân thùy nông, chiều dài thân lớn hơn 3,5 lần chiều dài cán đuôi. Mặt cắt cán đuôi hơi dẹp bên.

Giống cá Bám vây đuôi thùy nông *Hemimyzon* Regan, 1911

18(9) Lỗ mang dừng lại ở phía trên gốc vây ngực.

Giống cá Bám Mèta *Metahomaloptera* Chang, 1944

***Dienbienia namnuaensis* V.H. Nguyen & H.D. Nguyen sp. nov.**

(Ảnh 1)

Tên Việt Nam: Cá bắm Nậm Núa.

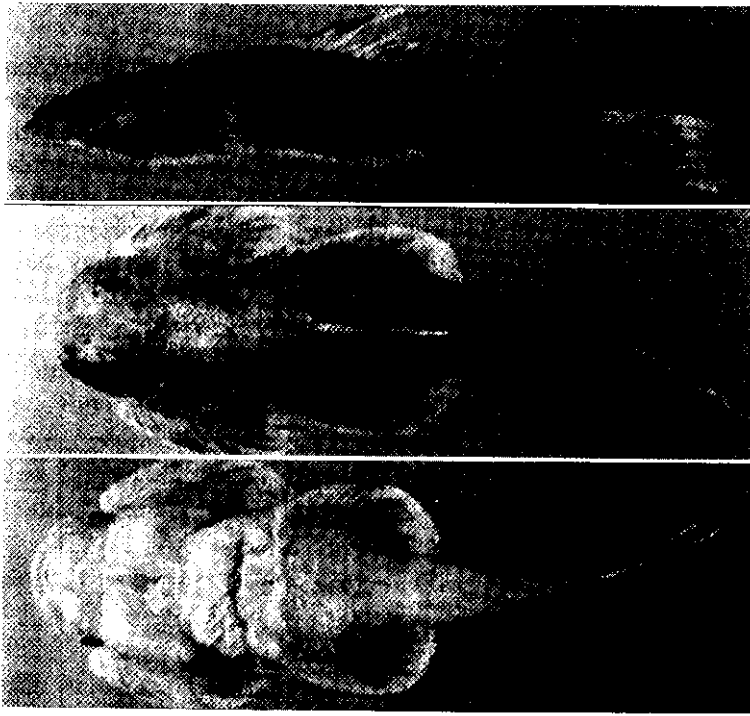
Holotyp: Cá thể đực, Mã số: H.04.10.01.01.

Nơi thu: sông Nậm Núa tại xã Noong Luống, huyện Điện Biên, tỉnh Lai Châu.

Ngày thu: 23/5/1997

Người thu: Nguyễn Văn Hào

Nơi lưu mẫu: Phòng tiêu bản cá, Viện NCNTTS I - Bắc Ninh.



a

b

c

Ảnh 1. Cá Bám Nạm Núa *Dienbienia namnuaensis* V. H. Nguyen & H.D. Nguyen sp. nov.
(L = 63 mm, LO = 50 mm): a) mặt nghiêng, b) mặt lưng, c) mặt bụng

Paratype: 1 mẫu. Cá thể cái.

Mã số: H.04.10.01.02.

Ngày, nơi và người thu như mẫu Holotyp.

Nơi lưu mẫu: Phòng tiêu bản cá, Viện NCNTTS I - Bắc Ninh.

Kích thước:

L = 61-63 mm, Lo = 48-50 mm.

D = 3,7; A = II,5; P = 12,13; V = 6,12; C = 18+2.

$L.l = 62 \frac{7}{5-v} 63$. Vây trước vây lưng 16. Vây dọc cán đuôi 12 - 13. Vây quanh cán đuôi 18.

Lo = 5,65 - 6,25H = 4,29 - 4,35T. T = 4,6 - 4,67O = 1,75 - 1,77OO.

Các số đếm và tỷ lệ hình thái các loại mẫu được chỉ dẫn ở bảng 1.

Mô tả:

Thân dẹp bằng, ngắn và rộng; chiều cao thân nhỏ hơn chiều rộng rõ ràng. Viên lưng cong nông, viên bụng bằng phẳng. Phần đuôi hơi dẹp bên. Đầu dẹp đứng, to, rộng và ngắn, chiều dài nhỏ hơn chiều rộng. Mồm tây tròn, cạnh mỏng, ngắn, chiều rộng gấp hai lần chiều dài. Lỗ mũi

dựa sát nhau, lỗ mũi trước nằm trong cánh mũi, cách viên mắt bằng 1/2 tới mút mồm. Mắt hơi nhỏ ở phía trên, chiều dài mồm lớn hơn phần đầu sau mắt. Khoảng cách hai mắt rộng và bằng. Miệng dưới, rất nhỏ, hình cung nông. Môi trên và môi dưới nối liền ở góc miệng và có nhiều mấu thịt. Mấu thịt môi trên phát triển hơn, có 10 chiếc lớn xếp thành một hàng, xen giữa là các mấu thịt nhỏ. Mấu thịt môi dưới nhỏ hơn, xếp một hàng khoảng 12 chiếc. Hàm trên và dưới hơi lộ ra ngoài và đều phân cách với môi. Trước miệng có rãnh mồm và nếp mồm. Rãnh mồm sâu và rộng, đi về hai bên hẹp và nông, vòng về phía trước, dừng ở gốc râu góc miệng. Nếp mồm có 3 thùy, thùy giữa lớn và dài, thùy bên nhỏ và ngắn; Giữa các thùy có 2 đôi râu mồm, xếp gần như một đường thẳng, râu trong ngắn tù, râu ngoài dài hơn và mút nhọn. Góc miệng có một đôi râu ngắn, thô. Lỗ mang nhỏ, men theo góc vây ngực, xuống mặt bụng của đầu. Eo mang rộng bằng 2/3 chiều dài đầu.

Vây lưng không có gai cứng, khởi điểm sau khởi điểm vây bụng, gần mút mồm hơn gốc vây đuôi, viên sau bằng, mút cuối ngang với hậu môn. Vây hậu môn có gai cứng mảnh, khởi điểm tới gốc vây đuôi bằng tới mút sau vây bụng; mút cuối cách gốc vây đuôi bằng chiều dài của nó. Các vây chân phát triển to, xòe bằng

cùng với miệng và mặt bụng tạo thành bàn bám; các tia vây không phân nhánh đều có khía răng cưa ở hai bên để tăng thêm khả năng bám. Vây ngực có khởi điểm ở dưới đường thẳng góc giữa trước mắt và lỗ mũi; mút sau kéo dài tới ngang khởi điểm vây lưng. Vây bụng có khởi điểm gần gốc vây đuôi hơn mút mõm; các tia bên phải và

bên trái không nối liền mà cách một khoảng bằng 1/3 chiều rộng thân ở nơi đó; viền sau vây tròn, mút cuối không đạt tới hậu môn; khoảng cách tia cuối hai bên không song song mà gốc rộng, giữa thon và cuối lại phình to ra. Hậu môn cách vây hậu môn bằng 1/3 tới mút sau gốc vây bụng. Vây đuôi lõm sâu, thùy dưới dài hơn.

Bảng 1

Các số đếm và tỷ lệ số đo hình thái mẫu Holotyp và Paratyp của
Dienbienia namnuaensis V.H. Nguyen & H.D. Nguyen sp. nov.

TT	Các chỉ tiêu	Holotyp	Paratyp
1	Chiều dài toàn thân (L, mm)	63	61
2	Chiều dài thân bỏ đuôi (Lo, mm)	50	48
3	Số tia vây lưng (D)	3,7	3,7
4	Số tia vây hậu môn (A)	II,5	II,5
5	Số tia vây ngực (P)	12,13	12,13
6	Số tia vây bụng (V)	6,12	6,12
7	Số tia vây đuôi (C)	18+2	18+2
8	Vây đường bên (L.I)	63. 7/5	62. 7/5
9	Vây trước vây lưng	16	16
10	Vây dọc cán đuôi	13	12
11	Vây quanh cán đuôi	18	18
12	Chiều dài thân / Chiều cao thân	6,25	5,65
13	Chiều dài thân / Chiều dài đầu	4,35	4,29
14	Chiều dài thân / Khoảng cách trước vây lưng	2,17	2,15
15	Chiều dài thân / Khoảng cách sau vây lưng	2,50	2,40
16	Chiều dài thân / Chiều dài cán đuôi	11,41	11,43
17	Chiều dài thân / Chiều cao cán đuôi	14,29	15,00
18	Chiều dài thân / Chiều dày thân	3,85	3,84
19	Chiều dài đầu / Chiều dài mõm	2,09	2,11
20	Chiều dài đầu / Đường kính mắt	4,60	4,67
21	Chiều dài đầu / Phần đầu sau mắt	3,29	3,20
22	Chiều dài đầu / Khoảng cách mắt	1,77	1,75
23	Chiều dài đầu / Chiều cao đầu ở gáy	2,30	2,15
24	Chiều dài đầu / Chiều cao đầu ở giữa mắt	2,30	2,20
25	Chiều dài đầu / Chiều rộng đầu	1,10	1,12
26	Chiều dài đầu / Chiều rộng miệng	2,88	2,95
27	Chiều cao thân / Chiều dày thân	0,62	0,68
28	Chiều cao thân / Chiều cao cán đuôi	2,29	2,66
29	Khoảng cách 2 mắt / Đường kính mắt	2,60	2,67
30	Khoảng cách PV / Khoảng cách VA	0,81	0,84
31	Chiều dài cán đuôi / Chiều cao cán đuôi	1,29	1,31
32	Chiều dài vây đuôi / Chiều dài tia giữa vây đuôi	1,50	1,75

Vây nhỏ. Đường bên hoàn toàn chạy từ lỗ trên mang, cong xuống tới ngang khởi điểm vây ngực, hơi cong lên tới mút sau vây ngực đi vào giữa thân và cán đuôi. Phần ngực bụng không phủ vây và kéo dài đến hết tấm da hình tam giác sau gốc vây bụng, khoảng tới 1/2 chiều dài vây bụng. Gốc vây ngực và vây bụng có chất thịt phát triển, phía trên không phủ vây. Phía trước mắt và phía trên gốc vây ngực có các hạt tròn trắng xếp theo.

Màu sắc: Thân xám sẫm, bụng vàng nhạt. Dọc lưng có 7-8 đốm nâu sẫm. Dọc thân có nhiều vết đen, không qui tắc. Ở giữa vây lưng các tia vây màu đen, tạo thành một sọc đen rộng. Vây đuôi có 3 vết đen nhạt ngang vây. Ở các vây chẵn mặt lưng có phần gốc vàng, ngọn xám; mặt bụng gốc xám, ngọn trắng nhạt. Vây hậu môn vàng nhạt.

Nhận xét: loài cá này khác với các loài trong giống *Sinohomaloptera* (*S. kwangsiensis* Fang, *S. yaotanensis* Fang và *S. yaotanensis aculicauda* Fang), chủ yếu vẫn là các đặc điểm sai khác giữa hai giống đã trình bày ở phần 1. Cá sống ở các sông suối nước chảy xiết hoặc thác nước và thường sống len lỏi trong các khe đá. Cá cỡ nhỏ, không có giá trị kinh tế.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nguyễn Hữu Dục, 1995: Góp phần nghiên cứu khu hệ cá nước ngọt Nam Trung Bộ Việt Nam. Luận án phó tiến sĩ sinh học - Trường ĐHSPI - Hà Nội: 88-90.
2. Vương Dĩ Khang, 1962: Ngư loại phân loại học. Nxb Nông thôn Hà Nội: 261-273.
3. Nguyễn Thái Tự, 1983: Khu hệ cá lưu vực

sông Lam, Nghệ An. Luận án phó tiến sĩ sinh học - Trường Đại học Tổng hợp Hà Nội: 70-71.

4. Mai Đình Yên, 1978: Định loại cá nước ngọt các tỉnh phía Bắc Việt Nam. Nxb Khoa học kỹ thuật Hà Nội: 203-223.
5. Mai Đình Yên và cộng sự, 1992: Cá nước ngọt Nam Bộ Việt Nam. Nxb Khoa học kỹ thuật Hà Nội: 135-136.
6. Chen Yiyu, 1998: The fishes of the Hongdun mountain region. China (Chinese): 260-275.
7. Chevey P. & Lemasson J., 1937: Contribution à l'étude des poissons des eaux douces tonkinoises. Not. Inst. ocengr, Indochine, Hanoi: 97.
8. Chu Xinluo, Chen Yinrui et al, 1990: The fishes of Yunnan, China, part II: 83-113.
9. Fang P. W., 1930: Sinensia, 1 (3): 25-27.
10. Inger, R. F. & Chin P. K., 1962: The freshwater fishes of North Borneo, Chicago Natural History Museum: 104-114.
11. Kottelat, M., 1996: Fishes of the Nam Theun and Xe Bangfai basins (Lao): 31-36.
12. Rainboth, W. J., 1996: Fishes of the Cambodian Mekong: 123-127.
13. Robert J. R., 1989: The freshwater fishes of Western Borneo (Kalimantan Barat, Indonesia). San Francisco, pp. 81 - 93.
14. Smith, H. M., 1945: The freshwater fishes of Siam or Thailand: 278-279.
15. Taki Y., 1974: Fishes of Lao Mekong basin: 163-164.

A NEW GENUS AND A NEW SPECIES OF FRESHWATER FISH BALITORIDAE, CYPRINIFORMES FROM THE DIENBIEN DISTRICT, LAICHAU PROVINCE, VIETNAM

NGUYEN VAN HAO, NGUYEN HUU DUC

SUMMARY

Dienbienia namnuaensis is a new species of the new genus *Dienbienia* belonging to *Balitorinae* - *Balitoridae* - *Cypriniformes*. This new genus *Dienbienia* was collected in the Namnua river, belonging to the Mekong river system, at the Dienbien district, Laichau province, North of Vietnam. In this paper,

identification of the new genus was compared to similar genera of *Balitorinae*. The taxonomic key of the present genera of *Balitorinae* has been clearly set up. Specimens of this new species were stored in the Fisheries Museum of the Research Institute for Aquaculture I, Tuson, Bacninh.

***Dienbienia* gen. nov.**

Generic diagnosis: Body flat, compressed. Height of body smaller than body width. Mouth is small, subterminal, slightly circular. Upper and lower lip lobate. Four short maxilla barbels and one pair of small barbels at corner of mouth. Gill opening wide, laterally expanded. 12 simple rays and 13 branched rays in dorsal fin; 6 simple rays and 13 branched rays in pelvic fin. Pelvic fins are not continuous. Pectoral fins are not continuous. Pectoral and abdominal areas have no scale. Lateral line complete.

Remarks: 4 of 10 genera of *Balitorinae* have even wide fins, laterally expanded and *Dienbienia* is one of them. Only the pelvic fins of *Dienbienia* and *Sinohomaloptera* are not continuous. *Dienbienia* is different from *Sinohomaloptera* in the number of the simple ray of the even fins (*Dienbienia* has 12 in pectoral fins and 6 in pelvic fins, compared with 8 and 3 ones of *Sinohomaloptera*). The spiny rays of *Dienbienia* are serrated while the spiny rays of *Sinohomaloptera* are unserrated. *Dienbienia* has one pair of barbels at the corner of the mouth while *Sinohomaloptera* has two pairs.

Type species: *Dienbienia namnuaensis* sp. nov.

***Dienbienia namnuaensis* sp. nov.**

Holotype: Male, collected from the Mamnua river at the Noongluong village, Dienbien district, Laichau province, Vietnam, deposited in the Fisheries museum of the Research Institute for Aquaculture No. 1, Tuson, Bacninh, Vietnam.

Paratype: Female. Same data as the holotype.

Description: Body flat, compressed. Caudal peduncle slender, slightly laterally flattened, height of body smaller than body width. Snout obtusely rounded. Width of snout is two times of its length. Nostril near eye, far from snout. Eye small, placed on upper part and half end of head side. Gill opens wide, laterally expanded. Preorbital length larger than postorbital. Interorbital distance large. Mouth small, subterminal, slightly circular. Upper and lower lip continuously at the corner of the mouth. Upper and lower lip lobate. The upper lip lobate bigger than lower lip one; both of them arrange in a row. Four short maxillary barbels and one pair of small barbels at corner of mouth.

Dorsal fin with 12 simple and 13 branched rays. Dorsal fin origin behind pelvic fin insertion; distance from dorsal fin origin to snout smaller than to caudal fin base. Anal fin with small spine. 6 simple and 13 branched rays in pelvic fin. Pelvic fins are not continuous. Caudal fin is concave, the lower lip longer than upper lip. Even fins big, laterally expanded, simple rays with laterally serrated. Anus near anal fin. Scales tiny, cycloid. Pectoral and abdominal area have no scale. Lateral line complete.

Body grey. A row of 7-8 large black blotches along back. Irregular black pattern along body sides. Dorsal fin with a large darker bar; Caudal fin with 3 slightly darker bar. Anal fin pale yellow. Upper side of even fins are grey on top, yellow on base, while lower side of which are pale white on top, grey on base.

Ngày nhận bài: 14-2-2001

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU DOI Ở KHU VỰC PÙ HOẠT, TỈNH NGHỆ AN

VŨ ĐÌNH THỐNG

Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật

Khu vực Pù Hoạt nằm ở 19°25' - 20°00' vĩ Bắc; 104°37' - 104°14' kinh Đông, thuộc địa bàn huyện Quế Phong, tỉnh Nghệ An; độ cao thay đổi từ 250 đến 2.452 m so với mực nước biển, nhiều đỉnh cao trên 1.700 m, cao nhất là đỉnh Pù Hoạt (2.452 m). Khu vực này hiện có diện tích rừng nguyên sinh rất rộng; bao gồm những cánh rừng đầu nguồn của hơn 40 dòng suối với tổng diện tích hơn 100 km² và toàn bộ hệ thống sông Cả [11].

Năm 1999, Pù Hoạt có tổng diện tích là 67.934 ha; theo kế hoạch thì diện tích của Pù Hoạt sẽ tăng lên 200.000 ha vào những năm tới. Pù Hoạt có nhiều điều kiện tự nhiên như: địa hình, khí hậu... rất thuận lợi cho sự sinh sống của những loài động, thực vật. Kết quả điều tra năm 1997 (Viện Điều tra Quy hoạch Rừng phối hợp với Ủy ban Nhân dân tỉnh Nghệ An) đã ghi nhận được 45 loài thú, nhưng chưa có nhiều ghi nhận về các loài thú nhỏ như gặm nhấm và dơi [11]. Như vậy, cho tới trước năm 1999, Pù Hoạt đã thiếu hẳn những nghiên cứu chuyên sâu về dơi.

Miền Trung Việt Nam là vùng có khí hậu điển hình rất phức tạp. Mặt khác, hầu hết cư dân sinh sống ở Pù Hoạt là dân tộc thiểu số như: Thanh, Thái, H'mông... với đời sống chủ yếu dựa vào các sản phẩm khai thác được từ rừng, từ nương rẫy. Điều đó dẫn đến nhiều hiện tượng khai thác bất hợp lý tài nguyên rừng; đốt, phá rừng để lấy đất canh tác ... vẫn còn tồn tại. Đó là những nguyên nhân chính có tác động nguy hại đến Pù Hoạt. Vì vậy, điều tra và nghiên cứu hiện trạng đa dạng sinh học của Pù Hoạt để làm cơ sở cho việc thiết lập những giải pháp bảo tồn (khai thác một cách hợp lý trên cơ sở khoa học, bảo tồn và phát triển bền vững...) là việc làm cần thiết và cấp bách.

Trong năm 1999, chúng tôi đã phối hợp với Tổ chức Frontier-Vietnam nghiên cứu chuyên sâu về dơi của khu vực Pù Hoạt trong 3 giai đoạn: giai đoạn 1 từ tháng 1 đến tháng 3, giai đoạn 2 từ tháng 4 đến tháng 6, giai đoạn 3 từ tháng 10 đến tháng 12.

I. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Chúng tôi đã sử dụng phối hợp nhiều phương pháp khác nhau như: đặt bẫy, phỏng vấn, quan sát trực tiếp và gián tiếp.... Trong đó, phương pháp chủ yếu được sử dụng là đặt bẫy để trực tiếp thu mẫu trong các sinh cảnh có dơi sinh sống (hang động, dưới tán cây...).

Bẫy Thụ Cầm và các loại lưới mờ có kích cỡ khác nhau (9 m x 2,5 m; 6 m x 2,5 m; 20 m x 2,5 m...) đã được sử dụng. Chúng có thể được sử dụng riêng biệt hoặc kết hợp với nhau (tùy thuộc vào địa hình) nhằm nâng cao hiệu quả thu mẫu [9]. Có 2 cách sử dụng phối hợp bẫy Thụ Cầm và lưới mờ mà chúng tôi đã sử dụng rất thành công trong thời gian điều tra là:

+ Đặt bẫy Thụ Cầm vuông góc với đường bay của dơi (lối mòn, suối nhỏ...) và giăng lưới mờ ở hai bên tạo thành hình phễu để hướng dơi bay vào bẫy.

+ Đặt bẫy Thụ Cầm như mô tả ở trên, giăng lưới mờ ở trước và sau (một cái thấp và một cái cao), mỗi lưới cách bẫy khoảng 6-10 m.

Tất cả lưới mờ và bẫy Thụ Cầm đều được mở vào lúc mặt trời lặn và đóng lại lúc mặt trời mọc, chúng được theo dõi thường xuyên trong suốt thời gian bẫy. Bẫy Thụ Cầm được mở đầu đêm còn lưới mờ thường được đóng lại lúc giữa đêm

(khoảng từ 23h00 đêm đến 4h00 sáng hôm sau) - đó là thời gian thu mẫu đạt kết quả thấp trong đêm. Mọi cá thể dơi bị bắt đều được kiểm tra các thông số cần thiết như: giới tính, tuổi, tình trạng sinh lý, chiều dài cánh tay, trọng lượng, v.v.... Mỗi loài được giữ lại 1-2 mẫu đại diện; đồng thời, những cá thể có những đặc điểm lạ hoặc đặc điểm nghi vấn cũng được giữ lại.

Những mẫu giữ lại sẽ được xử lý bằng cách: cho vào hộp kín chứa bóng tấm ê-te (để giết), sau đó tiêm côn 96° vào cơ thể (bắt thịt, nội quan, sọ) rồi được ngâm trong côn 70°. Một số nội quan (gan, thận) được tách ra và ngâm vào trong côn 96° để phân tích ADN sau này (nếu cần thiết) [9].

Tất cả những mẫu đều được phân loại sơ bộ tại hiện trường theo một số tài liệu hiện có [4, 5, 6, 7, 8], sau đó được lưu giữ và bảo quản tại Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật - Hà Nội. Một số mẫu được gửi đi Bảo tàng Lịch sử tự nhiên Hungari, Bảo tàng Hoàng gia Ontario-Canada, Viện Harrison-Anh, Bảo tàng Lịch sử tự nhiên London-Anh, v.v... để kiểm định kết quả.

II. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

1. Thành phần loài

Căn cứ vào đặc điểm của 369 cá thể bị bắt từ lưới mờ và bẫy Thụ Cầm, chúng tôi đã định loại được 23 loài thuộc 11 chi, 5 họ, 2 phân bộ (Megachiroptera và Microchiroptera) (bảng 2). Trong đó, họ Dơi quả (*Pteropodidae*) có 3 loài, họ Dơi ma (*Megadermatidae*) có 1 loài, họ Dơi lá mũi (*Rhinolophidae*) có 6 loài, họ Dơi nếp mũi (*Hipposideridae*) có 4 loài và họ Dơi muỗi (*Vespertilionidae*) có 9 loài. Hầu hết các loài được bắt tại bẫy Thụ Cầm, chỉ có 3 loài Dơi quả và 1 loài Dơi ma được bắt ở lưới mờ. So với khu hệ dơi của một số Khu Bảo tồn thiên nhiên và Vườn Quốc gia như: Bến En: 19 loài [2], Hoàng Liên Sơn: 17 [1], Ba Bể: 6 [3]... thì thành phần các loài dơi đang sinh sống ở khu vực Pù Hoạt phong phú hơn các khu vực đó rất nhiều.

2. Những loài dơi được phát hiện lần đầu tiên ở Việt Nam

Theo “Danh lục các loài thú Việt Nam” [8] và

“Thú Việt Nam” [6], trong số 23 loài dơi đã ghi nhận được ở khu vực Pù Hoạt, có loài dơi lông mặt (*Myotis annectans*) được phát hiện lần đầu tiên cho Việt Nam (bảng 3) và những ghi nhận về loài dơi quả núi cao (*Sphaerias blanfordi*) đã bổ sung tư liệu cho việc khẳng định sự phân bố của loài này ở Việt Nam.

3. Những loài dơi quý hiếm ghi nhận được ở khu vực Pù Hoạt

Căn cứ vào Sách Đỏ Việt Nam năm 2000 [12] và Danh lục đỏ của IUCN năm 2000 [13], khu vực Pù Hoạt không có loài dơi nào được ghi trong Sách Đỏ Việt Nam năm 2000. Hiện chỉ có 2 loài đã được ghi trong Danh lục đỏ của IUCN năm 2000, bao gồm:

- * Dơi lá tô-ma (*Rhinolophus thomasi*).
- * Dơi lông mặt (*Myotis annectans*).

Cả 2 loài trên đều được xếp ở cấp độ LR/nt. Điều đáng chú ý là: kết quả điều tra chỉ ghi nhận được một cá thể của loài dơi lông mặt; ngược lại, loài dơi tô-ma đã được ghi nhận rất thường xuyên trong quá trình điều tra, trong hầu hết các sinh cảnh nghiên cứu. Một cá thể thuộc loài dơi lá tô-ma đã bị bắt ở độ cao trên 1.250 m trong rừng pơ-mu thuần chủng; đây là ghi nhận đầu tiên ở Việt Nam về loài này ở độ cao trên 1.200 m.

4. Sự phân bố của dơi ở khu vực Pù Hoạt (theo độ cao của sinh cảnh)

Căn cứ vào vị trí của các cá thể dơi bị mắc bẫy, chúng tôi đã chia sinh cảnh của khu vực Pù Hoạt theo 3 cấp độ cao là: dưới 500 m, 500-800 m và trên 1.000 m (không có cá thể nào bị bắt trong các sinh cảnh thuộc độ cao 800-1.000 m). Có 15 loài dơi ghi nhận được trong các sinh cảnh thuộc độ cao 500-800 m, 5 loài ghi nhận được trong các sinh cảnh thuộc độ cao dưới 500 m và 7 loài ghi nhận được trong các sinh cảnh thuộc độ cao trên 1.000 m (bảng 1, hình 2). Có 2 loài ghi nhận được trong cả 3 cấp độ sinh cảnh nêu trên là: dơi lá đuôi (*Rhinolophus affinis*) và dơi mũi ống lông chân (*Murina tubinaris*) (bảng 2).

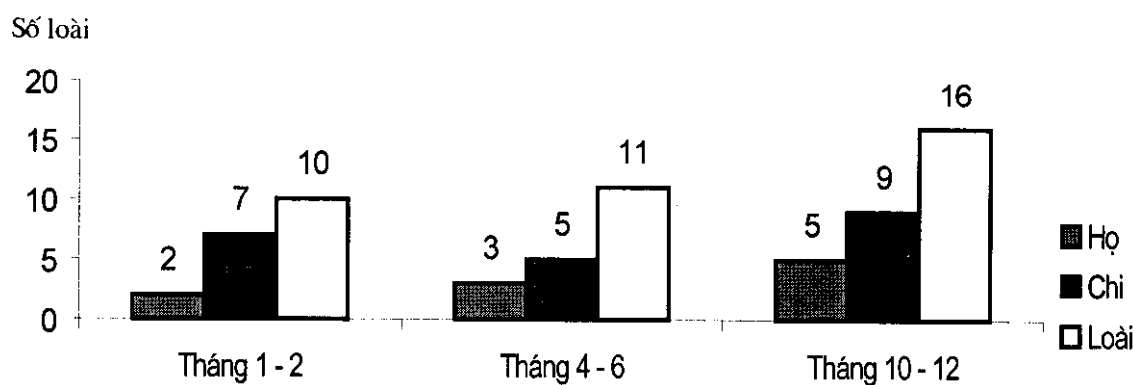
5. Vấn đề bảo tồn

Trong các quần thể dơi đã phát hiện được ở khu vực Pù Hoạt, chỉ có quần thể loài dơi lá đuôi

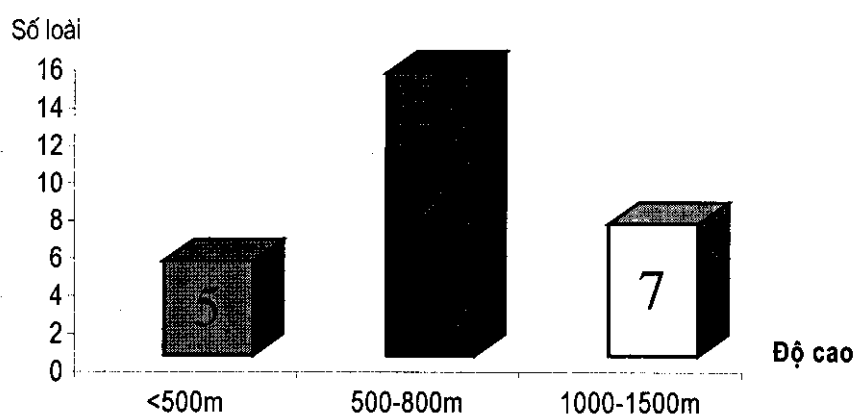
Bảng 1

Sự phân bố của dơi ở khu vực Pù Hoạt theo sinh cảnh thuộc các độ cao khác nhau

Độ cao của sinh cảnh	Số loài ghi nhận được	Tỷ lệ phần trăm trong tổng số loài của khu vực Pù Hoạt (%)
< 500 m	5	4,35
500-800 m	15	65,22
> 1.000 m	7	30,43



Hình 1. So sánh số lượng và thành phần loài dơi bị bắt vào các tháng khác nhau trong năm



Hình 2: Mối quan hệ giữa số lượng loài dơi và độ cao của sinh cảnh

Danh sách các loài dơi của khu vực Pù Hoạt (1999)

STT	Thành phần loài		Độ cao phân bố	Tình trạng (IUCN)
	Tên Việt Nam	Tên khoa học		
Bộ Dơi				
Phân bộ Dơi lớn				
Họ Dơi quả				
1	Dơi chó Ấn	<i>Cynopterus sphinx</i> Vahl, 1797	x	
2	Dơi mặt hoa lớn	<i>Macroglossus sobrinus</i> K. Andersen, 1911	x	
3	Dơi quả núi cao (+)	<i>Sphaerias blanfordi</i> Thomas, 1891	x	
Phân bộ dơi nhỏ				
Họ Dơi nếp mũi				
4	Dơi mũi ba lá	<i>Aselliscus stoliczkanus</i> Dobson, 1871	x	
5	Dơi mũi xám	<i>Hipposideros larvatus</i> Horsfield, 1823	x	
6	Dơi mũi xinh	<i>Hipposideros pomona</i> Andersen, 1918	x	
7	Dơi mũi quạ	<i>Hipposideros armiger</i> Hodson, 1835	x	
Họ Dơi lá mũi				
8	Dơi lá đuôi	<i>Rhinolophus affinis</i> Horsfield, 1823	x	x
9	Dơi lá le-pi-đút	<i>Rhinolophus lepidus</i> Blyth, 1844	x	
10	Dơi lá muỗi	<i>Rhinolophus pusillus</i> Temminck, 1834	x	

STT	Thành phần loài		Độ cao phân bố			Tình trạng (IUCN)
	Tên Việt Nam	Tên khoa học	< 500 m	500 - 800 m	> 1000 m	
11	Dơi lá tô-ma	<i>Rhinolophus thomasi</i> Andersen, 1905			x	LR/nt
12	Dơi lá pecxôn	<i>Rhinolophus pearsoni</i> Horsfield, 1851		x		
13	Dơi lá rút	<i>Rhinolophus rouxi</i> Temmick, 1835			x	
	Họ Dơi ma	Megadermatidae Gill, 1872				
14	Dơi ma Bắc	<i>Megaderma lyra</i> Geoffroy, 1810	x			
	Họ Dơi muỗi	Vespertilionidae Gray, 1821				
15	Dơi ống tai tròn	<i>Murina cyclotis</i> Dobson, 1872		x		
16	Dơi mũi ống lông chân	<i>Murina tubinaris</i> Scully, 1881	x	x	x	
17	Dơi mũi nhọn	<i>Kerivoula hardwickii</i> Horsfield, 1824		x		
18	Dơi mũi nhọn ja va	<i>Kerivoula papillosa</i> Temminck, 1840		x		
19	Dơi bụng nâu	<i>Myotis muricola</i> Gray, 1846		x		
20	Dơi tai có ria	<i>Myotis mystacinus</i> Kuhl, 1819		x		
21	Dơi lông mặt (*)	<i>Myotis annectans</i> Dobson, 1871		x		LR/nt
22	Dơi rô-bút	<i>Tylonycteris robustula</i> Thomas, 1915	x			
23	Dơi tre	<i>Tylonycteris pachypus</i> Temminck, 1840	x			

Ghi chú: (*): Loài mới phát hiện ở Việt Nam.

(+) Dơi quả núi cao - *Sphaerias blanfordi* (Thomas, 1891) đã được tác giả và cộng sự công bố trong Tạp chí Sinh học, 23 (1), 3/2001.

(*Rhinolophus affinis*) và loài dơi tô-ma (*Rhinolophus thomasi*) là đang sinh sống với số lượng lớn (khoảng hơn 100 con/quần thể). Chúng mắc bẫy ngay cả trong những ngày có mưa to.

Họ Dơi quả và họ Dơi ma có số lượng cá thể bị bắt rất ít; chỉ có 12 cá thể thuộc họ Dơi quả và 3 cá thể thuộc họ Dơi ma bị bắt trong suốt 3 giai đoạn ở các sinh cảnh thuộc vùng trung tâm của khu vực; đó là những tiểu khu rừng chưa bị tác động của con người hoặc mới bị ảnh hưởng rất ít.

Thành phần loài dơi bắt được ở các tháng khác nhau là khác nhau (tháng 1 - 2: 10 loài, thuộc 7 chi, 5 họ; tháng 4 - 6: 11 loài thuộc 5 chi, 3 họ; tháng 10 - 12: 16 loài thuộc 9 chi, 5 họ) (hình 1). Sự khác nhau đó có phần liên quan với điều kiện thời tiết và nguồn thức ăn cho dơi. Các kết quả nghiên cứu về khí hậu, về động vật không xương sống của khu vực Pù Hoạt đã cho thấy rằng: từ cuối tháng 6 đến tháng 10 là mùa mưa, điều kiện thời tiết thuận lợi cho sự sinh trưởng và phát triển

của côn trùng và các loại động vật không xương sống khác [11]. Như vậy, sau mùa mưa thì lượng thức ăn của dơi đã tăng lên hơn hẳn so với các tháng khác.

Người dân địa phương thường bắt dơi với những mục đích rất khác nhau như: ngâm rượu, làm thức ăn cho người, cho gia súc.... Họ dùng cành cây, vợt cầm tay, lưới... để bắt dơi trong các hang động nhỏ, trong các khe, hẻm có dơi sinh sống; dùng cung tên, nỏ để bắn dơi trú ngụ dưới tán cây, v.v.. Khoảng 4.000 cá thể dơi đã bị giết hại trong những ngày nghiên cứu. Đó chỉ là số lượng cá thể mà chúng tôi đã trực tiếp quan sát được trong quá trình điều tra, còn có bao nhiêu cá thể dơi khác đã, đang và sẽ bị giết hại bởi người dân địa phương? Vì cho tới nay, khu vực Pù Hoạt vẫn chưa có một dự án hoặc chương trình nào nghiên cứu chuyên sâu về cấp độ ảnh hưởng của các nhân tố (săn bắt động vật, khai thác tre, gỗ...) đối với đời sống của dơi nên chưa thể có dẫn liệu đầy đủ và chính xác về vấn đề này.

Bảng 3

Một số dẫn liệu của cá thể thuộc loài dơi lông mặt

Thông số													Thời gian
HB	TA	E	HF	FA	TH	3 rd		4thF	5thF	W	S	A	
						A	B						
54	48	14	11	47	7	56	19	61	57	8.5	m	a	2/12/1999

Ghi chú:

HB: chiều dài thân	TH: chiều dài ngón tay cái	HF: chiều dài bàn chân sau	5 th F: chiều dài ngón tay 5	S: giới tính
TA: chiều dài đuôi	3 rd : chiều dài ngón tay thứ 3	FA: chiều dài cẳng tay	W: trọng lượng	A: tuổi
E: chiều dài tai	4 th F: chiều dài ngón tay 4	m: đực	TG: thời gian thu mẫu	a: trưởng thành

III. KẾT LUẬN

1. Ở khu vực Pù Hoạt đã xác định được 23 loài thuộc 11 giống, 5 họ, 2 phân bộ dơi trong năm 1999. Trong đó, có loài dơi lông mặt (*Myotis annectans*) được ghi nhận đầu tiên cho Việt Nam và loài dơi quả núi cao (*Sphaerias blanfordi*) được ghi nhận đã bổ sung tư liệu để khẳng định sự phân bố của loài này ở Việt Nam.

2. Ở khu vực Pù Hoạt không có loài nào được ghi trong Sách Đỏ Việt Nam năm 2000; có 2 loài được ghi trong Danh lục đỏ của IUCN năm 2000 ở cấp độ LR/nt là: dơi lông mặt (*Myotis annectans*) và dơi lá tô-ma (*Rhinolophus thomasi*).

3. Ở khu vực Pù Hoạt có 15 loài dơi sinh sống trong các sinh cảnh ở độ cao 500-800 m, 7 loài ở độ cao trên 1.000 m và 5 loài ở độ cao dưới 500 m.

4. Chưa có sự quan tâm đến vấn đề bảo tồn dơi của khu vực Pù Hoạt. Việc săn bắt dơi của người dân ở Pù Hoạt đã và đang đe dọa nghiêm trọng đối với đời sống của dơi. Khoảng 4.000 cá thể dơi đã bị người dân giết hại trong thời gian nghiên cứu.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Andrew Tordoff et al., 1999: Technical Report No. 13. Hanoi, July.
2. Andrew Tordoff et al., 2000: Technical Report No. 15. Hanoi, August.
3. Mike Hill et al., 1997: Technical Report No. 18. Hanoi, July.
4. Paul JJ Bates and David Harrison, 1997: Bat of the Indian Subcontinent. H. Z. M., 258ps.
5. Corbet G. B and J. B. Hill, 1992: The Mammals of the Indomalayan Region: A systematic review. N. H. M. P. Oxford University Press.
6. Dieter Kock and Gerhard Storch, 1996: Vietnamese mammals: information pack on Bats and Rodents. H.Z. M. England.
7. Lekagul B., Jeffrey A. McNeely, 1977: Mammals of Thailand. Bangkok. 43-264 ps.
8. Đặng Huy Huỳnh và cộng sự, 1994: Danh lục các loài thú (Mammalia) Việt Nam. Nxb. KH&KT, Hà Nội.
9. Kate Barlow, 1999: Bats: Expedition Field Techniques. Expedition Advisory Centre, London, UK.
10. Pham Duc Tien and Vu Dinh Thong, 1999: Technical Report No. 15, Hanoi.
11. Ủy Ban Nhân dân tỉnh Nghệ An, 1997: Luận chứng kinh tế kỹ thuật Khu Bảo tồn thiên nhiên dự kiến Pù Hoạt.
12. Bộ Khoa học, Công nghệ và Môi trường, 2000: Sách Đỏ Việt Nam (tái bản). Nxb. KHKH Hà Nội.
13. IUCN, 2000: Red List of threatened animals.

RESULTS OF THE BAT RESEARCH AT PUHOAT AREA, NGHEAN PROVINCE

VU DINH THONG

SUMMARY

Puhoat proposed Nature Reserve (19°25'-20°00'N; 104°37'-104°14'E) is situated in Quephong district, Nghean province in North-Central Vietnam. Altitudes vary from 250 m to 2,452 m above sea level, with many peaks above 1,700 m, one of which is Puhoat (2,452 m), the fourth highest mountain in Vietnam. It was first proposed as a Nature Reserve in 1997, by the Provincial People Committee of Nghean, in conjunction with the Forestry Inventory Planning Institute (FIPI). Currently, the Proposed Reserve covers an area of 67.934 ha. There had not been any research on bats of Puhoat by 1998. In 1999, we conducted some bat surveys at the area in conjunction with Frontier-Vietnam and recorded 23 species, belonging to 11 genera, 5 families (Pteropodidae: 3 species, Megadermatidae: 1, Rhinolophidae: 6, Hipposideridae: 4 and Vespertilionidae: 9). According to the researches, there have existed some rare species such as Hill long-tongued fruit bat (*Macroglossus sobrinus*), Greater false vampire (*Megaderma lyra*); Great himalayan leaf-nosed bat (*Hipposideros armiger*) etc.; especially, two species of which were first found in Vietnam, including Mountain fruit bat (*Sphaerias blanfordi*) and Hairy-faced bat (*Myotis annectans*), two species are listed in the 2000 Red List of Threatened animals, including hairy-faced bat (*Myotis annectans*) and Thomas' horseshoe bat (*Rhinolophus thomasi*).

Based on the collected data, some conclusions of the up-to-date status of bats at Puhoat area have also been given.

Ngày nhận bài: 24 -8- 2001

DẪN LIỆU VỀ THÀNH PHẦN LOÀI VÀ PHÂN BỐ CỦA VI TẢO BIỂN ĐỘC HẠI SỐNG BĂM TRÊN CÁC RẠN SAN HỒ Ở PHÍA BẮC VIỆT NAM

CHU VĂN THUỘC

Phân viện Hải dương học tại Hải Phòng

Các loài vi tảo tiềm tàng độc hại sống đáy thuộc lớp tảo giáp (Dinophyceae) (tạm gọi tắt là vi tảo đáy độc hại (VTĐDH)) thường sống bám trên các giá thể ở đáy như rong biển, san hô chết, cát v.v. và chúng là tác nhân gây ngộ độc "ciguatera" [8], với các triệu chứng về thần kinh và tiêu hoá rất đặc trưng. Độc tố ciguatera do tảo đáy sản sinh ra, đi tới con người thông qua việc người ta sử dụng một số loài cá rạn san hô có tập tính ăn rong biển (thuộc họ cá Đuôi gai - *Acanthuridae*, họ cá Mỏ - *Serranidae* v.v.) hoặc các động vật giáp xác như cua, ghẹ đã bị nhiễm độc tố ciguatoxin làm thực phẩm. Ví dụ về ngộ độc ciguatera gần đây nhất xảy ra ở Hồng Kông (1998), đã làm khoảng 100 người bị ngộ độc sau khi ăn cá san hô [9].

Các nghiên cứu liên quan tới VTĐDH ở vùng biển phía Bắc Việt Nam bước đầu cũng đã có một số công bố [14, 15, 16, 17]. Tuy nhiên, chưa có công trình nào đề cập sâu về thành phần loài và phân bố của VTĐDH ở vùng biển này.

Từ các đợt điều tra, nghiên cứu vào các năm 1998, 1999 và 2000, chúng tôi đã thu được một số dẫn liệu bước đầu về VTĐDH ở vùng biển phía Bắc. Bài viết này trình bày vắn tắt kết quả nghiên cứu đạt được.

I. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Đối tượng

Bao gồm các loài VTĐDH thuộc lớp tảo giáp (Dinophyceae) đã thu thập được trên rạn san hô thuộc các đảo Bạch Long Vỹ (6 mặt cắt), Cát Bà - Hạ Long (5 điểm), Long Châu (3 điểm) vào các năm 1998, 1999, 2000 (xem sơ đồ thu mẫu).

2. Phương pháp

Sử dụng phương pháp nghiên cứu tảo độc của Andersen (1996) và Hallegraeff et al. (1995) [2, 8] do UNESCO ấn hành, cách làm cụ thể như sau:

a) Phương pháp khảo sát, thu mẫu ở hiện trường

• Thu mẫu để định tính VTĐDH

Thu tảo rong biển (chủ yếu là rong quạt - *Padina* sp.) và tảng san hô chết tại những vực nước tương đối yên tĩnh (các vụng). Sau đó, đem ngâm các mẫu rong, san hô chết trong nước biển đã lọc qua lưới phù du và pha thêm dung dịch formol ở nồng độ 1%, để khoảng 1 giờ. Tiếp theo cho các mẫu rong và san hô nhỏ vào lọ và lắc kỹ, đối với các tảng san hô lớn có thể dùng bàn chải để chải. Lọc nước mẫu qua lưới phù du 20µm hoặc các sàng có kích thước mắt tương đương để thu vi tảo. Cố định mẫu vật bằng dung dịch formol (nồng độ 3 - 4%) hoặc lugol (nồng độ 2 - 4 ml/l).

• Thu mẫu định lượng VTĐDH

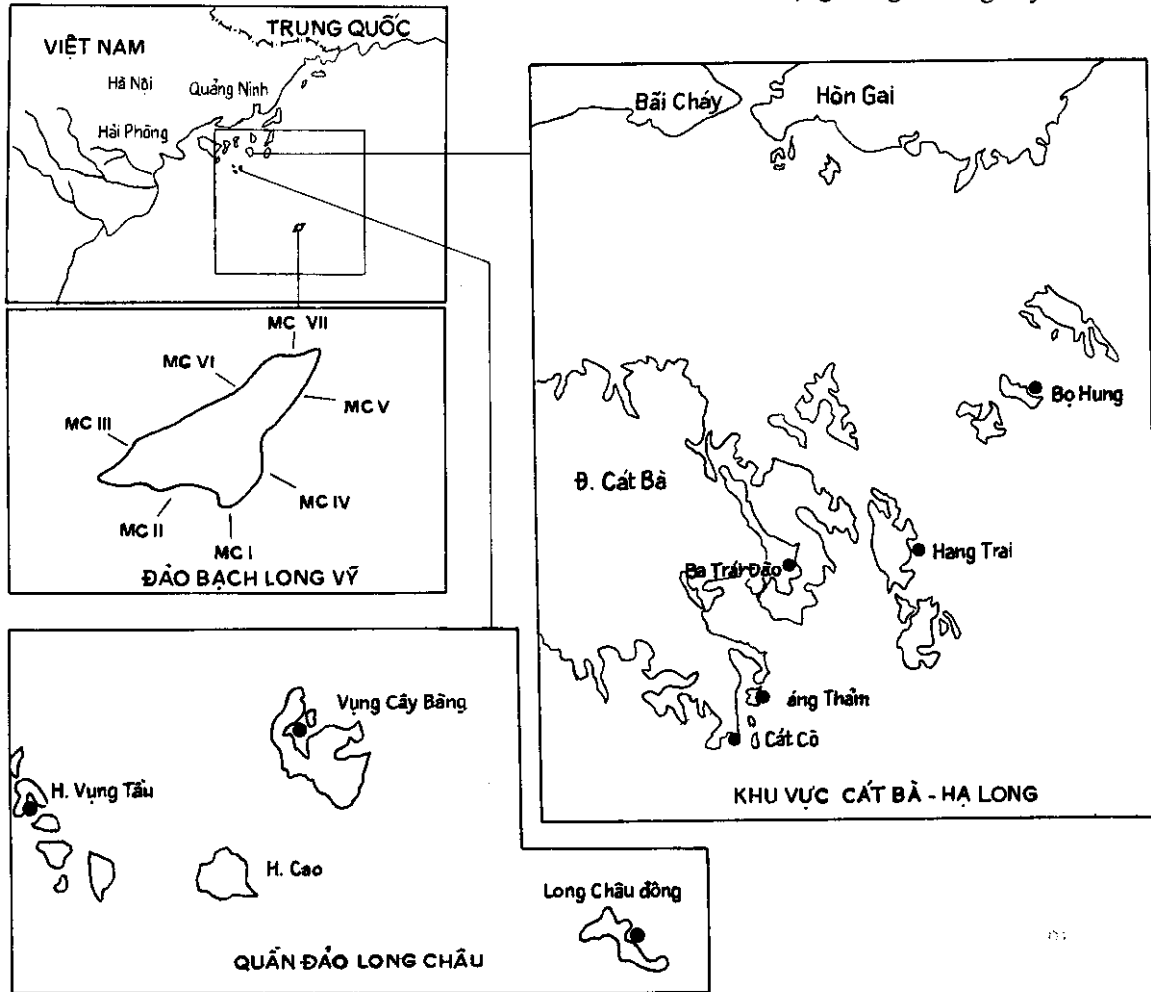
Thu các tảo rong biển, để ráo nước và cân trọng lượng các tảo rong biển đã thu được. Ngâm các tảo rong vào nước biển lọc đã được bổ sung formol (nồng độ 1%) trong khoảng 1 giờ. Sau đó, cho các tảo rong vào lọ và lắc kỹ. Lọc phần nước ngâm mẫu rong và nước mẫu trong lọ qua lưới phù du hoặc sàng thép 20 µm để thu vi tảo. Cố định mẫu bằng dung dịch formol (nồng độ 3-4%) hoặc lugol (nồng độ 2- 4 ml/l).

b) Phương pháp xử lý và phân tích mẫu trong phòng thí nghiệm

Trước khi phân tích mẫu, lọc các mẫu tảo đáy qua các rây (sàng) với các kích thước mắt rây khác nhau (20, 38, 125 và 250 µm) để loại

bỏ các mảnh vụn của rong, cát, bùn.... Thông thường, chúng tôi sử dụng hai cỡ sàng: 20 và

125 μm để lọc vì hầu hết các loài tảo đáy có kích thước dao động trong khoảng này.



Sơ đồ các điểm thu mẫu tảo đáy ở vùng nghiên cứu

• Điểm thu mẫu

— Mặt cát thu mẫu

Phân tích các mẫu định tính, đếm số lượng tảo đáy dưới kính hiển vi OLYMPUS (độ phóng đại từ 100 đến 1000 lần) và kính hiển vi đảo ngược dùng kỹ thuật tương phản huỳnh quang LEICA (độ phóng đại 40 - 400 lần) tại phòng thí nghiệm của Phân viện Hải dương học Hải Phòng.

Trong quá trình phân tích, chúng tôi đã sử dụng một số tài liệu chuyên sâu về định loại VTĐDH của các tác giả: Adachi and Fukuyo (1979), Faust (1991), Faust et al. (1999), Fukuyo (1981), Fukuyo et al. (1990), Holmes (1998) [1, 3, 4, 6, 7, 11].

II. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

1. Thành phần loài VTĐDH ở vùng nghiên cứu

Trên cơ sở các tài liệu công bố từ trước đến nay về thành phần loài VTĐDH thuộc lớp tảo giáp (Dinophyceae) ở trên thế giới và các nước trong khu vực, từ kết quả phân tích các mẫu thu được trên rạn san hô thuộc các đảo Bạch Long Vĩ, Cát Bà - Hạ Long, Long Châu, dựa vào các tiêu chuẩn định loại về hình thái học, bước đầu chúng tôi đã xác định được 12 loài thuộc nhóm VTĐDH nằm trong 5 chi, 3 họ, 3 bộ, 1 lớp tảo

giáp (Dinophyceae). Trong số 5 chi VTĐĐH đã được phát hiện ở vùng nghiên cứu thì chi *Prorocentrum* gặp nhiều loài nhất (có 4 loài), tiếp đó là chi *Ostreopsis* (3 loài), hai chi *Amphidinium* và *Gambierdiscus* (mỗi chi gặp 2 loài), chi *Coolia* mới chỉ gặp 1 loài (bảng 1). Các loài tảo đáy và các chi *Amphidinium*, *Coolia*, *Gambierdiscus*, *Ostreopsis* được phát hiện trong nghiên cứu này là các dẫn liệu mới, bổ sung cho khu hệ vi tảo biển miền Bắc Việt Nam.

Dưới đây là một số đặc điểm chung về các bộ, họ và khoá xác định các loài VTĐĐH đã phát hiện ở vùng nghiên cứu.

BỘ GONYAULACALES TAYLOR

Tế bào có vỏ giáp, các tấm vỏ tế bào sắp xếp không cân đối nhất là vùng đáy và vùng trước bụng của tế bào. Trình tự sắp xếp tấm vỏ tế bào là: 1 phức hệ lỗ đỉnh (APC), 4 tấm đỉnh, không có các tấm trung gian, có 6 tấm trước rãnh ngang, 6 tấm rãnh ngang, 6 tấm sau rãnh ngang, 1 tấm trung gian đáy, 1 tấm đáy và 5 tấm rãnh dọc.

Họ *Goniodomaceae* Lindemann

Tế bào của các loài thuộc họ này có 6 tấm trước rãnh ngang, 6 tấm rãnh ngang, 5-7 tấm sau rãnh ngang, có 3-4 tấm đỉnh. Rãnh dọc có 3-5 tấm. Tấm sau rãnh dọc có thể là phần kéo rãnh dọc kéo dài hướng xuống dưới, không cân đối hoặc tạo nên một tấm đáy ngoài rãnh dọc.

Khoá xác định loài của hai chi *Gambierdiscus*, *Coolia*

1. Tế bào hình gần tròn (nhìn từ đỉnh) hoặc elip (nhìn từ mặt bụng), đường kính 75-98 μm , chiều dài lưng-bụng 75-85 μm , dày khoảng 55 μm . Rãnh ngang sâu, hẹp. Hai đầu rãnh ngang gần trùng nhau và kết thúc ở điểm trung sâu của rãnh dọc. Trình tự sắp xếp tấm vỏ là: Po, 3', 7'', 6c, 8s, 6'', 2'''. APC có một dấu phẩy hình lưỡi câu, xung quanh có các lỗ nhỏ (38-43 lỗ). Tấm 2''' hình tứ giác, chiếm phần lớn mặt đáy của tế bào *Gambierdiscus toxicus*.

1a. Tế bào hình trứng (nhìn từ đỉnh) hoặc trứng hơi lệch (nhìn từ mặt bên), đường kính 45-60 μm , chiều dài lưng-bụng 55-70 μm , dày khoảng 60 μm . Rãnh ngang nông. Hai đầu của

rãnh ngang lệch nhau. Trình tự sắp xếp tấm vỏ là: Po, 3', 7'', 6c, 6s, 5'', 2'''. APC có dấu phẩy hình lưỡi câu dài, xung quanh có các lỗ nhỏ (khoảng 34 lỗ). Tấm 2''' hình 5 cạnh, hai cạnh bên song song. *Gambierdiscus yasumotoi*.

2. Tế bào hình trứng rộng thuôn dần về phía bụng (nhìn từ đỉnh) hoặc trứng lệch sang trái (nhìn từ mặt bụng). Chiều dài lưng-bụng 25-27 μm , dày khoảng 25 μm . Rãnh ngang hẹp, sâu. Hai đầu của rãnh ngang lệch nhau một khoảng bằng chiều cao của rãnh. Trình tự sắp xếp tấm vỏ là: Po, 3', 7'', 5'', 1'''. *Coolia monotis*.

Khoá xác định loài của chi *Ostreopsis*

1. Tế bào hình trứng rộng, dài 45-50 μm , rộng nhất 35-45 μm , phần đỉnh hơi nhọn, phần đáy tròn và phình rộng (nhìn từ mặt vỏ). Nhìn từ phía bụng, tế bào không lượn sóng. *Ostreopsis siamensis*.

1a. Tế bào hình trứng rộng, thuôn dần về phía bụng (nhìn từ mặt vỏ), có kích thước khá lớn, chiều dài lưng-bụng 60-75 μm , rộng nhất khoảng 65 μm . Nhìn từ phía bụng, tế bào lượn sóng. *Ostreopsis lenticularis*.

1b. Tế bào hình trứng thuôn nhọn ở đầu (nhìn từ mặt vỏ), có kích thước từ nhỏ đến trung bình, chiều dài lưng-bụng 55-60 μm , rộng nhất khoảng 40 μm . Bề mặt tấm vỏ có các lỗ tròn phân bố. *Ostreopsis ovata*.

BỘ GYMNODINIALES ASPTEIN

Các đại diện của bộ này là các tế bào trần, không có vỏ giáp. Tế bào kiểu *dinokont* có rãnh ngang và rãnh dọc riêng biệt. Tế bào có hoặc không có diệp lục, không có tế bào châm, mắt đơn hoặc các cấu trúc bên trong chứa silic.

Họ *Gymnodiniaceae* (Bergh) Lankester

Họ này bao gồm các loài tảo trần, không có xương và mắt đơn, không tạo quần thể giả (có nhiều nhân trong một tế bào đơn). Rãnh ngang nằm theo hướng xích đạo hoặc thậm trí tịnh tiến tới cực tế bào, thường gặp là kiểu rãnh ngang chạy theo đường xoắn ốc từ ít đến nhiều lần (có thể tới 4 lần).

Khoá xác định loài của chi *Amphidinium*

1. Tế bào có hình trứng, dẹp lưng-bụng, dài 12-15 μm , rộng khoảng 10 μm . Phần trên

(episome) của tế bào thường nhỏ, dài khoảng 2,5µm, có dạng lưỡi hoặc lưỡi liềm, cong xuống dưới. *Amphidinium carterae*.

1a. Tế bào hình dạng giống *A. carterae* nhưng kích thước lớn hơn. Phần trên (episome) nhỏ, có dạng lưỡi và cong về phía trái. *Amphidinium klebsii*.

BỘ PROROCENTRALES LEMMERMANN

Tế bào có vỏ giáp, kiểu *desmokont*, gồm hai mảnh ghép lại với nhau ở phần đai. Các roi gắn ở một đầu của tế bào. Vùng xuất phát các roi gọi là vùng quanh roi nằm ở phía trước của tế bào. Tế bào không có rãnh ngang và rãnh dọc.

Họ *Prorocentraceae* Stein

Tế bào dẹp bên, có hai mảnh vỏ lớn và khớp lại với nhau bằng một đường khớp hình răng cưa. Hai roi không giống nhau, xuất phát từ vùng lõm ở phần trên của mảnh vỏ bên phải. Không có rãnh roi, có hai gờ thấp và một trong hai gờ này thường phát triển tạo thành một gai ở phía đỉnh hoặc có một răng xuất phát từ các tấm nhỏ quanh roi.

Khóa xác định loài của chi *Prorocentrum*

1. Tế bào hình trứng rộng, dài 45-50 µm, rộng 40-45 µm. Phần đỉnh tế bào hình tam giác, lõm xuống và không có gai. Phần trung tâm tế bào có một hạt tạo bột khá lớn, ở gần mép dưới có một nhân. Mép vỏ tế bào dày, không có lỗ. Mặt vỏ có các lỗ nhỏ, trừ khu trung tâm không có. *Prorocentrum concavum*.

1a. Tế bào hình trứng, dài khoảng 40 µm, rộng 25-26 µm. Phần đỉnh tế bào lõm xuống và không có gai. Phần trung tâm có một hạt tạo bột khá tròn, phía dưới mép vỏ có một nhân lớn. Mép mặt vỏ có một hàng lỗ chạy dọc. Mặt vỏ có các lỗ, trừ phần trung tâm không có. *Prorocentrum lima*.

1b. Tế bào hình trứng rộng, dài 30-35 µm, rộng 25-30 µm. Phần đỉnh tế bào lõm sâu xuống tạo thành khe hình chữ V. Hạt tạo bột và nhân không rõ. Mép vỏ có một hàng lỗ thưa. Bề mặt vỏ có các lỗ xếp thành tia phóng xạ, trừ phần trung tâm. *Prorocentrum emarginatum*.

1c. Tế bào hình trứng hơi lệch, dài 30-32,5 µm, rộng 20-22,5 µm. Phần đỉnh hơi lõm và có một tấm lõi lên như một gai ngắn. Mép vỏ không có các lỗ. Ở phần trên của mặt vỏ có các lỗ phân bố rải rác và ở phần dưới xếp thành tia hình phóng xạ. *Prorocentrum mexicanum*.

Bảng 1

Danh mục loài vi tảo độc hại sống đáy trên các rạn san hô ở vùng ven biển phía Bắc Việt Nam

(Sắp xếp theo hệ thống phân loại của Fensome et al. 1993 [5])

STT	Tên khoa học	Ghi chú
	Lớp Dinophyceae Pascher	
	Bộ Gonyaulacales Taylor	
	Họ Goniodomaceae Lindermann	
	Chi Gambierdiscus Adachi and Fukuyo	
1	<i>Gambierdiscus toxicus</i> Adachi et Fukuyo	Tảo bám (epiphytic)
2	<i>G. yasumotoi</i> Holmes	= nt =
	Chi Coolia Meunier	
3	<i>Coolia monotis</i> Meunier	= nt =
	Chi Ostreopsis Schmidt	
4	<i>Ostreopsis ovata</i> Fukuyo	= nt =
5	<i>O. lenticularis</i> Fukuyo	= nt =

STT	Tên khoa học	Ghi chú
6	<i>O. siamensis</i> Schmidt	= nt =
	Bộ Gymnodiniales Apstein	
	Họ Gymnodiniaceae (Bergh) Lankester	
	Chi Amphidinium Claparède and Lachmann	
7	<i>Amphidinium carterae</i> Hulburt	Tảo trần, sống đáy
8	<i>A. klebsii</i> Kofoid et Swezy	= nt =
	Bộ Prorocentrales Lemmermann	
	Họ Prorocentraceae Stein	
	Chi Prorocentrum Ehrenberg	
9	<i>Prorocentrum concavum</i> Fukuyo	Tảo bám
10	<i>P. emarginatum</i> Fukuyo	= nt =
11	<i>P. lima</i> (Ehrenberg) Dodge	= nt =
12	<i>P. mexicanum</i> Tafall	Tảo đáy, phù du

Kết quả so sánh giữa thành phần loài VTĐDH ở vùng nghiên cứu với một số vùng biển khác thuộc khu vực Tây Thái Bình Dương được thể hiện trong bảng 2.

Bảng 2

Thành phần loài VTĐDH ở một số vùng biển thuộc Tây Thái Bình Dương

Tên loài	Địa điểm nghiên cứu				
	Polynesia (Niu Caledoni), đảo Ryukyu (Nhật Bản) [6]	Đảo Okinawa (Nhật Bản) [12]	Đài Loan [13]	Đảo Heron (Ôxtrâyliá) [10]	Vùng biển phía Bắc Việt Nam*
<i>Gambierdiscus toxicus</i>	+	+	+	+	+
<i>G. yasumotoi</i>	-	-	-	-	+
<i>Coolia monotis</i>	+	+	+	+	+
<i>Ostreopsis ovata</i>	+	+	-	-	+
<i>O. lenticularis</i>	+	-	+	-	+
<i>O. siamensis</i>	+	-	-	-	+
<i>O. sp.</i>	-	+	-	-	-
<i>Amphidinium carterae</i>	+	-	+	-	+
<i>A. klebsii</i>	+	-	+	-	+
<i>A. sp.</i>	-	+	-	-	-
<i>Prorocentrum lima</i>	+	+	+	+	+
<i>P. concavum</i>	+	+	-	+	+
<i>P. emarginatum</i>	+	+	-	+	+
<i>P. mexicanum</i>	+	+	+	-	+
<i>P. sp.</i>	-	+	-	-	-
Cộng	11	10	7	5	12

Ghi chú: + Loài có mặt

- Loài chưa gặp

* Trong bài báo này

Từ bảng 2 cho thấy, thành phần loài VTĐĐH trên các rạn san hô phía Bắc Việt Nam khá phong phú, phần lớn các loài có mặt ở vùng nghiên cứu phân bố tương đối rộng, có thể gặp chúng ở các vùng biển từ Nhật Bản cho tới Ôxtrâyliá.

2. Phân bố của VTĐĐH ở vùng nghiên cứu

Kết quả điều tra cho thấy, sự phân bố của VTĐĐH ở các khu vực nghiên cứu không giống nhau, thậm chí ngay trong một khu vực cũng có sự sai khác về phân bố của các loài (bảng 3). Trong 3 khu vực đã khảo sát thì Cát Bà - Hạ Long là nơi có số loài VTĐĐH phong phú nhất (12 loài), tiếp đó là Long Châu (9 loài) và Bạch Long Vỹ (8 loài).

Dưới đây là sự phân bố số loài VTĐĐH ở các khu vực nghiên cứu.

Đảo Bạch Long Vỹ đã phát hiện 8 loài VTĐĐH, số loài gặp ở các mặt cắt dao động từ 4 đến 7 loài. Trong số 8 loài có mặt ở đây thì *Prorocentrum lima* là loài chiếm ưu thế tại tất cả các mặt cắt, tiếp đó các loài *P. mexicanum*, *P. concavum*, *Ostreopsis ovata* và *O. siamensis* cũng thường gặp. Hai loài *Gambierdiscus toxicus* và *Coolia monotis* mới chỉ gặp ở một mặt cắt (bảng 4).

Ở quần đảo Long Châu, đã phát hiện 9 loài VTĐĐH; điểm Long Châu đông có số loài phong phú nhất (9 loài), hòn Vụng Tàu (6 loài) và vụng Cây bàng (5 loài). Hai loài *Prorocentrum emarginatum* và *Ostreopsis ovata* phân bố trên cả 3 điểm khảo sát. Các loài còn lại phân bố hẹp hơn, chỉ gặp ở 2 hoặc 1 điểm (bảng 5).

Bảng 3

Phân bố của VTĐĐH ở vùng nghiên cứu

STT	Tên loài	Khu vực		
		Bạch Long Vỹ	Cát Bà-Hạ Long	Long Châu
1	<i>Prorocentrum lima</i>	+	+	+
2	<i>P. emarginatum</i>	+	+	+
3	<i>P. concavum</i>	+	+	+
4	<i>P. mexicanum</i>	+	+	+
5	<i>Ostreopsis ovata</i>	+	+	+
6	<i>O. lenticularis</i>	-	+	-
7	<i>O. siamensis</i>	+	+	+
8	<i>Gambierdiscus toxicus</i>	+	+	+
9	<i>G. yasumotoi</i>	-	+	+
10	<i>Coolia monotis</i>	+	+	+
11	<i>Amphidinium carterae</i>	-	+	-
12	<i>A. klebsii</i>	-	+	-
Cộng		8	12	9

Ở khu vực Cát Bà - Hạ Long, đã phát hiện 12 loài VTĐĐH; điểm Ba Trái Đảo có số loài phong phú nhất (gặp 9 loài), tiếp đó là Cát Cò (8 loài), Áng Thảm (5 loài), ít nhất là 2 điểm Bọ Hung và Hang Trai, mới chỉ gặp 2 loài tại

mỗi điểm. Các loài *Prorocentrum lima*, *P. emarginatum*, *Ostreopsis ovata*, *Gambierdiscus toxicus* và *Coolia monotis* gặp phổ biến. Các loài còn lại mới chỉ gặp ở 1 hoặc 2 điểm khảo sát (bảng 6).

Bảng 4

Phân bố của VTĐĐH ở vùng biển đảo Bạch Long Vỹ

STT	Tên loài	Mật cắt thu mẫu					
		MCI	MCII	MCIV	MCV	MCVI	MCVII
1	<i>Prorocentrum lima</i>	+++	+++	+++	+++	+	+++
2	<i>P. emarginatum</i>	+	++	+++	+	+	+
3	<i>P. concavum</i>	+	++	++	+	+	+
4	<i>P. mexicanum</i>	-	+	+	-	+	+
5	<i>Ostreopsis ovata</i>	+	++	+	++	+	+
6	<i>O. siamensis</i>	-	-	-	+	+	+
7	<i>Gambierdiscus toxicus</i>	-	-	-	+	-	-
8	<i>Coolia monotis</i>	-	-	-	+	-	-
Cộng		4	5	5	7	6	6

Ghi chú: +++ Loài ưu thế ++ Loài thường gặp + Loài có mặt - Loài chưa gặp

Bảng 5

Phân bố của VTĐĐH ở vùng biển đảo Long Châu

STT	Tên loài	Trạm thu mẫu		
		Long Châu đông	Vụng Cây Bàng	Hòn Vụng Tàu
1	<i>Prorocentrum emarginatum</i>	+	+	+
2	<i>P. lima</i>	+	+	+
3	<i>P. mexicanum</i>	+	-	-
4	<i>P. concavum</i>	+	-	-
5	<i>Ostreopsis ovata</i>	+++	+	+++
6	<i>O. siamensis</i>	+	-	+
7	<i>Gambierdiscus toxicus</i>	+	+	+
8	<i>G. yasumotoi</i>	+	-	-
9	<i>Coolia monotis</i>	+++	+	+++
Cộng		9	5	6

Về phân bố mật độ của VTĐĐH trên các rạn san hô, mới chỉ thu được mẫu định lượng VTĐĐH bám trên rong quạt (*Padina* sp.) ở khu vực Long Châu. Kết quả đếm số lượng tảo bằng kính huỳnh quang cho thấy, sự phân bố mật độ VTĐĐH ở đây không giống nhau. Điểm Long Châu đông có mật độ cao nhất (khoảng 75 tế bào/g rong biển tươi) với ưu thế thuộc về các

loài: *Ostreopsis ovata* (33 TB/g), *Coolia monotis* (32 TB/g), số còn lại có mật độ không đáng kể. Tiếp theo là hòn Vụng Tàu (49 TB/g), hai loài *Coolia monotis* và *Ostreopsis ovata* cũng chiếm ưu thế về số lượng với mật độ tương ứng là 23 và 17 TB/g. Vụng Cây Bàng có mật độ tảo thấp nhất, trung bình chỉ khoảng 5 TB/g và không có loài nào chiếm ưu thế.

Phân bố của VTĐDH ở vùng Cát Bà - Hạ Long

STT	Tên loài	Trạm thu mẫu				
		Cát Cò	Áng Thảm	Ba Trái Đào	Bộ Hung	Hang Trai
1	<i>Gambierdiscus toxicus</i>	+	+	++	-	-
2	<i>G.yasumotoi</i>	-	-	+	-	-
3	<i>Prorocentrum lima</i>	+	+	++	-	+
4	<i>P. concavum</i>			+		
5	<i>P. emarginatum</i>	+	++	++	-	+
6	<i>P. mexicanum</i>	-	-	-	+	-
7	<i>Ostreopsis siamensis</i>	+	-	++	-	-
8	<i>O. lenticularis</i>	-	-	+	-	-
9	<i>O. ovata</i>	+++	++	+++	+	-
10	<i>Coolia monotis</i>	+	++	+	-	-
11	<i>Amphidinium carterae</i>	+	-	-	-	-
12	<i>A. klebsii</i>	+	-	-	-	-
Cộng		8	5	9	2	2

III. KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

Đã xác định được 12 loài VTĐDH thuộc 5 chi, 3 họ, 3 bộ và 1 lớp tảo giáp (Dinophyceae) phân bố trên các rạn san hô Bạch Long Vỹ, Cát Bà - Hạ Long, Long Châu, trong đó chi *Prorocentrum* gặp 4 loài, *Ostreopsis* 3 loài, 2 chi *Amphidinium* và *Gambierdiscus* mỗi chi gặp 2 loài, chi *Coolia* mới chỉ gặp 1 loài. Các loài VTĐDH và các chi *Amphidinium*, *Coolia*, *Gambierdiscus*, *Ostreopsis* phát hiện ở vùng nghiên cứu đều là dẫn liệu mới, bổ sung cho khu hệ vi tảo biển miền Bắc Việt Nam.

Trên đây là một số dẫn liệu bước đầu về thành phần loài và phân bố của VTĐDH trên rạn san hô vùng biển phía Bắc Việt Nam dựa trên cơ sở nghiên cứu đặc điểm hình thái. Để khẳng định về tính độc của các loài, trong thời gian tới cần tiến hành các nghiên cứu tiếp theo như: phân tích độc tố, thử nghiệm trên chuột... từ việc phân lập và nuôi sinh khối từng loài. Sự hiện diện của các loài VTĐDH ở vùng nghiên cứu có thể là nguy cơ tiềm ẩn của ngộ độc ciguatera. Vì vậy, việc điều tra VTĐDH và các độc tố của

chúng cần được đưa vào trong nội dung nghiên cứu, khảo sát của các đề án nghiên cứu đa dạng sinh học biển nói chung cũng như các chương trình kiểm soát môi trường biển, an toàn thực phẩm nói riêng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Adachi R. and Fukuyo Y., 1979: *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*, 45: 67-71.
2. Andersen P., 1996: Design and implementation of some harmful algal monitoring system, IOC Technical Series No. 44. UNESCO.
3. Faust M. A., 1991: *J. Phycol.*, 28: 94-104.
4. Faust M. A., Larsen J. and Moestrup Ø., 1999: Potentially toxic phytoplankton, 3. Genus *Prorocentrum* (Dinophyceae). International Council for the Exploitation of the Sea.
5. Fensome R. A. et al., 1993: A classification of living and fossil

- dinoflagellates, Micropaleontology, Special Publication Number 7. Clearance Center, Inc. Massachusetts.
6. Fukuyo Y., 1981: *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*, 47(8): 967 - 978.
 7. Fukuyo Y. et al., 1990: Red tide organisms in Japan. An illustrated taxonomic guide. Uchida Rokakuho, Tokyo, Japan.
 8. Hallegraeff G. M. et al., 1995: Manual on Harmful Marine Microalgae, IOC Manuals and Guides No. 33. UNESCO.
 9. Harmful Algae News, 1999, No. 18: 1-3. IOC of UNESCO.
 10. Heil C. A., Bird P. and Dennison W. C., 1998: Macroalgal habitat preference of ciguatera dinoflagellates at Heron island, a coral cay in the Southeastern Great Barrier Reef, Australia. In *Harmful Algae* (Eds. Reguera et al.), pp. 52-53. Xunta de Galicia and IOC of UNESCO.
 11. Holmes M. J., 1998: *J. Phycol.*, 34: 661-668.
 12. Koike K., Ishimazu T. and Murano M., 1991: *Nipp. Suis. Gakk.*, 57(12): 2261-2264.
 13. Lu C. K. and Chou H. N., 2000: Toxic dinoflagellates and toxin studies in Taiwan. In Conference Abstracts & Participants of the Ninth International Conference on Harmful Algal Blooms (7-11 Feb. 2000), Hobart, Tasmania, Australia, pp. 168.
 14. Chu Văn Thuộc và cs., 1998: Trong *Tài nguyên và Môi trường biển*, V: 155 - 166. Nxb Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội.
 15. Chu Văn Thuộc, 2000: Trong *Tài nguyên và Môi trường biển*, VII: 207-213. Nxb Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội.
 16. Yoshida M. et al., 2000a: In *Fisheries Science*, 66: 177-179.
 17. Yoshida M. et al., 2000b: The occurrence of PSP and DSP causative dinoflagellates in Northern Vietnamese coastal waters. In Conference Abstracts & Participants of the Ninth International Conference on Harmful Algal Blooms (7-11 Feb. 2000), Hobart, Tasmania, Australia. pp. 248.

DATA ON THE SPECIES COMPOSITION AND THE DISTRIBUTION OF HARMFUL MARINE EPIPHYTIC MICROALGAE LIVING ON CORAL REEFS IN THE NORTH VIETNAM

CHU VAN THUOC

SUMMARY

A total of 12 epiphytic species belonging to 5 genera, 3 families, 3 orders and 1 class of dinoflagellates (*Dinophyceae*) have been found on the coral reefs of Bachlongvy, Catba - Halong and Longchau islands. Among them, the genus *Prorocentrum* consisted of 4 species, *Ostreopsis* (3 sps.), *Amphidinium* and *Gambierdiscus* (2 sps. for each one) and *Coolia* had only 1 species. All of these species and some genera: *Amphidinium*, *Coolia*, *Gambierdiscus* and *Ostreopsis* are the new data recorded for the marine microalgal flora of North Vietnam. The distribution of marine epiphytic dinoflagellates at three surveyed sites was different. In which, the most abundant was Catba-Halong area (12 sps.) then was Longchau island (9 sps.) and the lowest one was Bachlongvy island (8 sps.).

Ngày nhận bài: 24-6-2001

TẠO DÒNG GIEN MÃ HOÁ α -AMYLaza LẠNH TỪ VI KHUẨN CHỊU LẠNH *PSEUDOALTEROMONAS HALOPLANCTIS* 505

LÊ VĂN TRƯỜNG, TRƯƠNG NAM HẢI, LÊ TRẦN BÌNH

Viện Công nghệ sinh học

THOMAS SCHWEDER

Viện Vi sinh và Sinh học phân tử, Greifswald, CHLB Đức

Sinh vật ưa lạnh (*psychrophs*) và chịu lạnh (*psychrotrophs*) mới được nghiên cứu từ những năm cuối thập niên sáu mươi [1, 2]. Theo Morita, sinh vật ưa lạnh sinh trưởng tốt ở nhiệt độ dưới 15°C và không phát triển được ở điều kiện trên 20°C. Sinh vật chịu lạnh sinh trưởng tốt ở nhiệt độ dưới 20-25°C, nhưng không sinh trưởng được ở nhiệt độ trên 40°C [3]. Enzym được tiết ra từ các cơ thể sinh vật ưa lạnh và chịu lạnh có cơ chế xúc tác phản ứng mạnh ở nhiệt độ thấp hơn 30°C; điều kiện nhiệt độ cao hơn 30°C có thể làm biến tính các enzym này [4]. Đặc tính xúc tác ở nhiệt độ thấp của các enzym lạnh rất có ý nghĩa kinh tế so với các enzym phân lập từ các cơ thể sinh vật *mesophiles* và *thermophiles*: tiết kiệm được năng lượng, chống được sự nhiễm của các vi khuẩn *mesophiles*, giữ được các hương vị và các vitamin trong nước quả ép không bị phân huỷ bởi nhiệt độ [5].

Gần đây, một số gen mã hoá cho enzym lạnh đang được nhiều nhà khoa học trên thế giới quan tâm. Cummings và Black [6] đã phân lập được vi khuẩn có khả năng phân huỷ xylan và xelluloza từ bùn đất 3°C trên biển Nam cực. Georges Feller và cộng sự [7] đã tách dòng được gen α -amylaza từ vi khuẩn *Alteromonas haloplanctis*, enzym này hoạt động tối ưu ở nhiệt độ 30°C, pH tối ưu là 7,0 và bị biến tính ở 45°C.

Chủng vi khuẩn *Pseudoalteromonas haloplanctis* 505 được phân lập từ vùng nước

trên bề mặt của biển Nam cực, sinh trưởng tốt ở nhiệt độ từ 0°C- 30°C [8]. Trong bài báo này chúng tôi trình bày kết quả tạo dòng gen α -amylaza từ chủng vi khuẩn chịu lạnh *P. haloplanctis* 505 phân lập từ biển Nam cực.

I. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Chủng *P. haloplanctis* 505 phân lập từ biển Nam cực được nuôi cấy trong môi trường Zobell (pepton 5g/l, cao nấm men 1g/l, FePO₄ 0,01g/l, nước biển nhân tạo 700 ml/l) [9]. Điều kiện nuôi cấy ở 5°C trong 3 ngày, tốc độ lắc 200v/phút.

Chủng *E. coli* DH-5 α được dùng cho thí nghiệm phân lập gen. Môi trường LB được dùng làm môi trường nuôi cấy. Ampixillin được bổ sung vào môi trường với nồng độ 100 μ g/ml khi cần thiết.

Các enzym hạn chế, T4 ligase, Blocking reagent, chất cộng hợp kháng thể (antibody conjugates) và CDP star mua từ hãng Boehringer Mannheim. Màng nylon từ hãng Roche Diagnostis. Các đoạn nối được tổng hợp từ hãng Pharmacia.

Plasmid pUC18 và pCR2.1 được sử dụng để tạo ngân hàng gen và phân lập gen.

Enzym ngoại bào của chủng 505 được thu nhận từ dịch nuôi cấy sau 3 ngày trên môi trường Zobell lỏng có bổ sung 0,5% tinh bột. Dịch nuôi cấy được ly tâm 10000 rpm để loại bỏ

Công trình được thực hiện tại Viện Marine Biotechnology, Greifswald, CHLB Đức với sự tài trợ của dự án hợp tác giữa Viện Công nghệ Sinh học với Viện Vi sinh và Sinh học phân tử CHLB Đức.

tế bào, phần dịch nổi được thu lấy và cất giữ ở 4°C cho các thí nghiệm xác định hoạt tính amylaza.

Hoạt tính amylaza được định lượng dựa vào sự phát hiện gốc đường khử theo phương pháp của Bernfeld [10]. 50 μ l dung dịch enzym được bổ sung vào 450 μ l dung dịch tinh bột 1% trong 50 mM đệm photphat với pH khác nhau. Phản ứng được thực hiện ở 30°C trong thời gian 20 phút, sau đó bổ sung 0,5 ml dung dịch DNSA (dinitrosalicylic acid), đun sôi 10 phút, làm lạnh tới nhiệt độ phòng và đo ở độ hấp phụ 530 nm.

Phương pháp phân lập gen

- *Thiết kế đoạn môi.* Dựa vào các vùng bảo thủ từ các trình tự amino axit của các gen amylaza đã biết, chúng tôi đã tổng hợp 3 cặp môi, các cặp này được sử dụng cho phản ứng PCR để nhân 3 đoạn gen nằm giữa mỗi thuận (forward primer) và mỗi nghịch (reverse primer).

- *Tổng hợp mẫu dò ADN (probe).* Mẫu dò ADN được tổng hợp từ bộ kit tổng hợp (DIG-labelling kit) theo như hướng dẫn của hãng. Sau khi tổng hợp bằng PCR, mẫu dò được tách trên gel 0,8% agarosa, làm sạch qua cột Gel-purification kit (QA-gel) và bảo quản ở -20°C cho các thí nghiệm lai ADN.

- *Tạo ngân hàng gen từ ADN genom.* ADN genom của chủng 505 được cắt không hoàn toàn bằng enzym hạn chế *Sau3A* và tách trên gel 0,8% agarosa. Các đoạn ADN kích thước khoảng 3-4 kb được thu nhận và gắn vào plasmid pUC18 qua điểm *Bam*HI. Phản ứng gắn được thực hiện qua đêm ở 16°C, sau đó biến nạp vào chủng DH-5 α bằng phương pháp xung điện [11]. Các thể biến nạp được chọn lọc trên môi trường thạch LB, có bổ sung ampicillin nồng độ 100 μ g/ml và 50 μ l dung dịch 2% X-gal/đĩa, nuôi qua đêm ở 37°C. Các khuẩn lạc có mang đoạn ADN ngoại lai (màu trắng) được cấy chuyển sang 2 đĩa môi trường LB có bổ sung Amp, (50 khuẩn lạc/đĩa). Một đĩa để phân lập plasmid dùng cho thí nghiệm lai ADN, đĩa còn lại cất giữ ở 4°C cho thí nghiệm tiếp theo.

- *Lai ADN.* Gồm 2 bước: lai nhóm khuẩn lạc từ đĩa và lai khuẩn lạc riêng rẽ.

Lai nhóm khuẩn lạc. Plasmid tách từ ngân hàng gen được biến tính ở 95°C trong 10 phút, làm lạnh nhanh trong nước đá, sau đó hút 5 μ l

của mỗi mẫu chấm lên màng nylon. Plasmid được cố định trên màng bằng việc chiếu trên đèn UV 260 nm trong 1 phút. Thí nghiệm lai được thực hiện trong lò lai phân tử ở 68°C trong đệm SSC 5x, 0,1% N-lauroylsarcosine và 1% Blocking reagent với nồng độ mẫu dò thích hợp. Các bước rửa và hiện được tiến hành như mô tả trong sách "Nonradioactive In Situ Hybridization Application Manual" của hãng Boehringer Mannheim [12].

Lai khuẩn lạc riêng rẽ. Sau khi lai nhóm khuẩn lạc để tìm ra nhóm khuẩn lạc dương tính, plasmid từ các khuẩn lạc đơn của các mẫu dương tính được phân lập để lai khuẩn lạc riêng rẽ. Các bước lai được thực hiện như đối với lai nhóm khuẩn lạc. Plasmid từ những khuẩn lạc dương tính được tách chiết để đọc trình tự nucleotit và phân tích gen.

Phân tích gen. Các phần mềm Blast và Clusta được sử dụng trong việc phân tích cấu trúc gen.

II. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

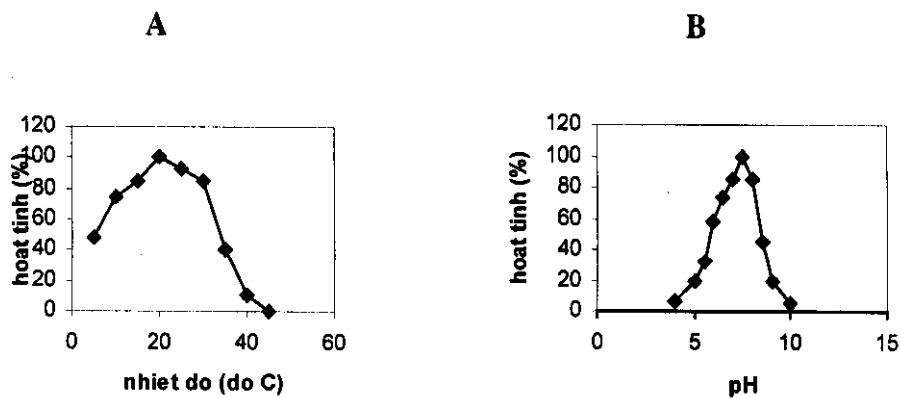
1. Đặc tính thủy phân tinh bột của amylaza từ chủng *P. haloplanctis* 505

Chủng vi khuẩn *P. haloplanctis* 505 có khả năng sinh trưởng ở nhiệt độ từ 0°C-30°C và có hoạt tính thủy phân tinh bột cao. Khi nuôi cấy chủng này ở 5°C thì khả năng tiết amylaza là cao nhất, với nhiệt độ nuôi cấy tăng dần thì khả năng tiết amylaza bị giảm dần; ở 35°C, vi khuẩn 505 không thể sinh trưởng được.

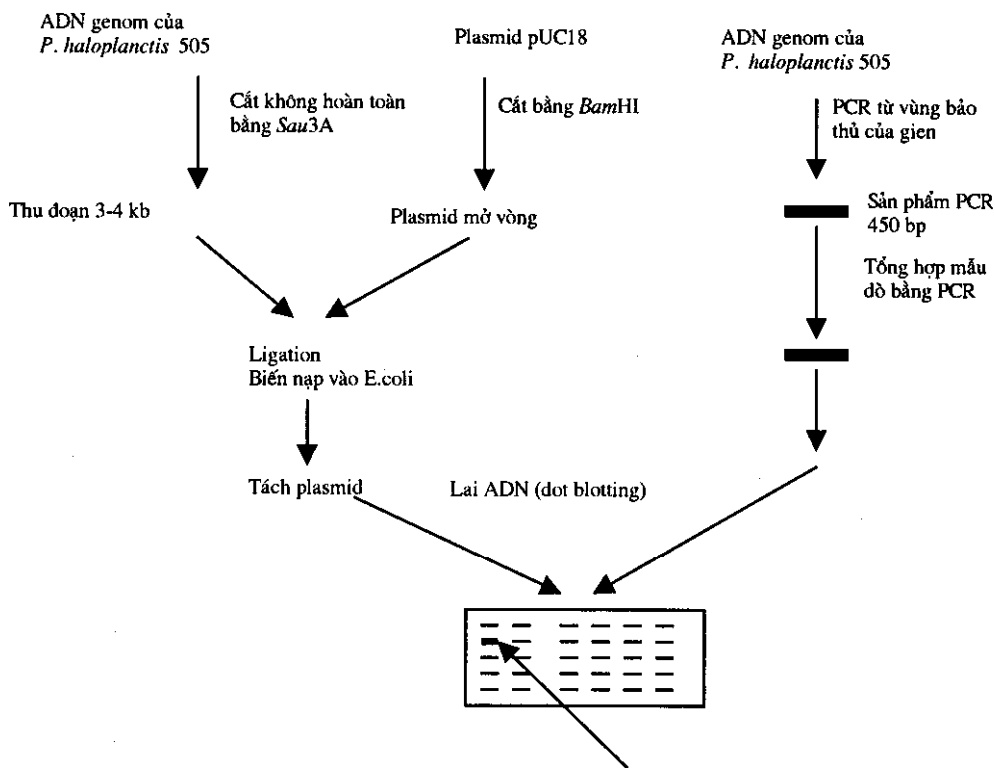
Để nghiên cứu tính chất của amylaza, dịch enzym ngoại bào thu nhận từ môi trường lỏng sau nuôi cấy được sử dụng làm phản ứng với tinh bột 1% trong đệm photphat như mô tả trong phần phương pháp. Kết quả chỉ ra rằng nhiệt độ tối thích cho hoạt tính thủy phân tinh bột của enzym này là 20°C, pH tối ưu của hoạt tính enzym là 7,5. Điều đáng quan tâm là ở 5°C hoạt tính thủy phân tinh bột của enzym này đạt được 50% và mất hoạt tính hoàn toàn ở 40°C, đây là đặc tính điển hình của enzym lạnh (hình 1).

2. Sơ đồ phân lập gen

Các bước phân lập gen được mô tả trên hình 2. Trước tiên các đoạn đặc thù cho cấu trúc câu từ vùng bảo thủ của gen α -amylaza được nhân lên từ ADN genom của chủng 505 bằng PCR,



Hình 1. Ảnh hưởng của nhiệt độ (A) và pH (B) tới hoạt tính amylaza

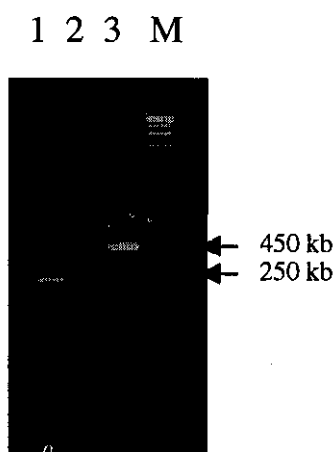


Hình 2. Sơ đồ phân lập gen amylaza từ chủng *P. haloplanctis* 505

sau đó gắn vào véc tơ pCR2.1 để đọc trình tự nucleotit. Đoạn gen này sẽ được phân tích trên chương trình phân tích gen xem có phải là gen amylaza hay không. Sau khi đã khẳng định đoạn gen này là gen amylaza, bước tiếp theo là tổng hợp mẫu dò và tạo ngân hàng gen từ ADN genom của chủng 505. Cuối cùng là lai mẫu dò với ngân hàng gen của chủng 505 để tìm ra khuẩn lạc mang gen amylaza.

3. Nhân đoạn gen amylaza của chủng 505 từ vùng bảo thủ bằng PCR

Muốn tổng hợp mẫu dò cho gen amylaza của chủng 505, trước hết phải biết được trình tự nucleotid một đoạn bất kỳ trên gen amylaza này. Để làm được việc đó, chúng tôi thiết kế 4 đoạn mỗi dựa vào vùng bảo thủ của các gen amylaza đã biết để nhân chúng lên bằng PCR.



Ảnh. Sản phẩm PCR được nhân lên từ vùng bảo thủ của gen amylaza từ chủng *P. haloplanctis* 505

Ghi chú: 1, 2, 3: đoạn gen được nhân lên từ các cặp mồi P1AmyF- P3AmyR, P2AmyF-P4AmyR và P1AmyF-P4AmyR. M: marker SPPI/EcoRI

Trình tự các đoạn mồi như sau:

P1AmyF: gatacgcttattaacct

P2AmyF: cggttgatgcttctaaa

P3AmyR: tgttagaagcatcaaac

P4AmyR: gtcgtgattgtctacaa

P1AmyF được thiết kế từ vùng bảo thủ I của các gen α -amylaza đã biết, tương tự P2AmyF và P3AmyR được thiết kế từ vùng II, P4AmyR được thiết kế từ vùng IV. Các cặp P1AmyF-P4AmyR khi chạy PCR sẽ nhân lên đoạn gen có độ dài khoảng 450bp, cặp P1AmyF-P3AmyR, P2AmyF-P4AmyR sẽ nhân lên đoạn gen có độ dài khoảng 250bp.

PCR được thực hiện trong điều kiện sau:

- Điều kiện biến tính (denaturation): 94°C trong 30 giây
- Điều kiện bắt cặp (annealing): 55°C, 1 phút
- Điều kiện kéo dài chuỗi (prolongation): 72°C, 40 giây
- Số chu kỳ lặp lại: 30 chu kỳ

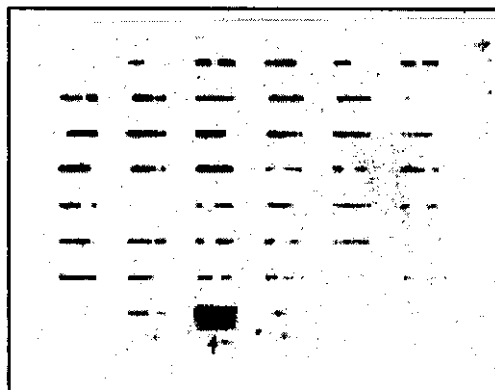
Sản phẩm PCR được kiểm tra trên điện di agarosa 1% trong đệm TBE (ảnh). Kết quả trên hình 3 cho thấy cả 3 cặp mồi này khi chạy PCR đều nhân lên các đoạn ADN với kích thước

đúng như dự kiến ban đầu. Chúng tôi chọn đoạn gen được nhân lên từ cặp P1AmyF-P4AmyR (độ dài khoảng 450bp) để gắn vào vector pCR2.1 và gửi đi đọc trình tự nucleotid của đoạn gen này. Kết quả phân tích trình tự nucleotid trên chương trình phân tích gen đã chỉ ra rằng đây chính là đoạn gen amylaza (kết quả không trình bày). Đoạn gen amylaza này sẽ được dùng làm khuôn mẫu để tổng hợp mẫu dò trong thí nghiệm lai ADN.

4. Tạo ngân hàng gen và tổng hợp mẫu dò

Ngân hàng gen được tạo theo các bước như đã mô tả trong phần phương pháp, hơn 5000 khuẩn lạc có mang ADN ngoại lai được tách plasmid để dùng cho thí nghiệm lai ADN. Mẫu dò được tổng hợp bằng phản ứng PCR với sợi khuôn là đoạn gen được nhân từ vùng bảo thủ. Các dNTP được đánh dấu bằng dioxygenin (DIG). Sau khi tổng hợp xong, mẫu dò được làm sạch và kiểm tra nồng độ cũng như độ nhạy trên phim X-quang để chọn nồng độ thích hợp cho thí nghiệm lai ADN.

5. Lai ADN (Southern hybridization)



Hình 3: Lai ADN của chủng *P. haloplanctis* 505 Mẫu dương tính được chỉ bằng mũi tên

Thí nghiệm lai được thực hiện ở 68°C qua đêm trong lò lai phân tử như đã mô tả trong phần phương pháp. Do mẫu dò được tổng hợp từ khuôn mẫu gen amylaza của chủng 505 với độ dài 450bp, nên khả năng bắt cặp với gen này rất lớn. Kết quả lai cho thấy những mẫu lai cho tín hiệu mạnh đều là những mẫu mang gen amylaza của chủng 505 (hình 3). Sau hai bước

lai ADN, chúng tôi đã tìm được 2 khuẩn lạc có tín hiệu mạnh với mẫu dò. Hai khuẩn lạc này được tách plasmid và gửi đi đọc trình tự nucleotit.

6. Trình tự nucleotit của gen amylaza phân lập từ chủng *P. haloplanctis* 505

Trình tự nucleotit của gen amylaza từ chủng *P. haloplanctis* 505 được trình bày trên hình 4. Gen này có độ dài 1431bp, mã hoá cho một protein có 453 amino axit với mã khởi đầu là ATG. Đoạn peptit tín hiệu tiết có độ dài là 24 amino axit và cắt tại điểm Ala-Thr. Khi so sánh trình tự amino axit của gen này với các gen đã biết, kết quả cho thấy chúng thuộc về dòng gen α -amylaza.

```

aagcgttgaaggcgcatattttatagagcttgctactcaaaatgggctttattaaatgc
tcattgccaaagtaaaagccacgcctaataaagatattagccgagtttaatggcatttag
ctatgtataaaagcgattttagaatcatcaacccctgtgtattagaaacttaataatcacctac
accgctgatttatagccctgtgcaaacgattttattgaaaatgtaaatggccaagtta
tgtaggttatctagtaataaaggataatttacctattatgcatacgtattcagtttttat
ttaatcaattctcaatctagtgttaaccacttgtaataatgctcgagtagttgttttgc
- 35 - 10
cgctcaacagttggatcacacactatgaaactcaataaaataatcaccacgcaggttta
RBS M K L N K I I T T A G L
agcctagggttgctcttaccgagttattgccacagctacgcccaccacatttgctcatttg
S L G L L L P S I A T A T P T T F V H L
tttgaatggaattggcaagatgtagcgcaagaatgtgagcaatacctagaccacaaaggc
F E W N Q D V A Q E C E Q Y L G P K G
tacgtgcagtagcaggtctcgccgcctaataagacattacaggaagccaatggggaca
Y A A V V Q V S P P N E H I T G S Q W W T
cgttatcagccagtaagttatgaaactgcaaacgtcggtggcgaacccgtgcgcagttatc
R Y Q P V S Y E L Q S R G G N R A Q F I
gatattgtaaatcgctgtagtgacgtgggttgatatttcagttgatacgtttattaac
D M V N R C S A A G V D I Y V D T L I N
catatggcagcaggaagtggcacaggcacagcggaataagcctttgtaataaaagcttt
H M A A G S G T G T A G N S F G N K S F
cctatttatagccacacagattttcatgaaagttgtaccattaatagctctgactatggc
P I Y S P Q D F H E S C T I N S S D Y G
aacgatcgctaccgagttcaaaattgtgaactcggtggacttgcgatttagataccgct
N D R Y R V Q N C E L V G L A D L D T A
tcaaactatgtacaaaataccattgcagcatatattaacgacttgaagctattggcgta
S N Y V Q N T I A A Y I N D L Q A I G V
aaaggctttcggtttgatgcttctaacaatgttgacgaagcgatatacgaagttaatg
K G F R F D A S K H V A A S D I Q S L M
gctaaagtaaatggctcgccagtggtttttcaagaagtgtatgataaggtggggaggct
A K V N G S P V V F Q E V I D Q G G E A
gttggtgcctctgaatatttaagcacaggttttagtaactgaatttaatatagcactgag
V G A S E Y L S T G L V T E F K Y S T E
cttggttaacacttttagaaacggctcgcttgatggctgagtaattttggcgaagggttg
L G N T F R N G S L A W L S N F G E G W
ggctttatgccaaagctcttctgcggtggtttttgtagataatcacgacaatcaacgtggt
G F M P S S S A V V F V D N H D N Q R G
catggcgcgctggtgaatgaattacctttgaggtggcgcttatatgacttagccaat
H G G A G N V I T F E D G R L Y D L A N
gtatttatgttggttctatccgtacggttatccaaaagtaatgctgagttatgatttccat
V F M L A Y P Y G Y P K V M S S Y D F H
ggtgatacagatgctggtgggcaaatgtaccggtacataataatgtaacttagagtggt
G D T D A G G P N V P V H N N G N L E C
tttgctagtaattggaagtgtgacatcgctggtcatatattgcagcggggtcgatttt
F A S N W K C E H R W S Y I A G G V D F
agaaataacacgcccacaaattgggcagtaacaaactggtgggataacacaaataatcaa
R N N T P D N W A V T N W W D N T N N Q
atttcattttgcccaggtagctcggtcatatggctattaacaagaagactcaacactt
I S F G R G S S G H M A I N K E D S T L
agtgaactgtgcaaacgatatggcgccaggcgaatactgtaattgtttaaaggcgag
S A T V Q T D M A P G Q Y C N V L K G E
ttgtcagctgatgctaaaagtgttagtgccgaggttataacggttaattccgacggtact
L S A D A K S C S G E V I T V N S D G T
attaatcttaataattggcgcttggtggtgcatggcaattcataaaatgccaaagttaaat
I N L N I G A W D A M A I H K N A K L N
acaagttcagcgccatgactgaaagtgtgacgagcggttattttattaatgct
T S S A P -
acaaacacaaagtggacaagatatgtttttgcgcggtggaattgaccacgcttatgcaa
cgcaaatctgggtcgaaatttgcaaaacagtaattttgagtggtgcaatgcctattcgta
taataatttaaaaaacgtaacacaaagcccttggaagcaaatgataactaccttgattg
gtatggtatagaaaatgggcaagtagcgaagcagaaggttctgctaccgactggacaac
gaatgtttggctcgaggttggggcgctgaaaaaacgctaaacacagatggttttgggtg
aacactattaaatatatggggcgaacactattggatgcttgatgtggatagtgattgtag
taaagcggttaattggatggtttgaactaaagcattcattaaaaatggccaaggtggga
gactgctattgctcaaaacacacttatcaagcactaatcatatggcgcaatggcg
aaaagttaataaatttgagtttaataattcaagtgtagtaattcgtagtttttaaaagta

```

Hình 4: Trình tự nucleotit của gen amylaza của chủng *P. haloplanctis* 505. Trình tự promotor được đánh số -35, -10; Vùng bám của ribosom ký hiệu RBS. Trình tự amino axit leader sequence được gạch dưới, điểm cắt của signal peptidase ký hiệu bằng mũi tên thẳng đứng. Bộ ba kết thúc là tag kế tiếp là trình tự lặp lại của terminator (mũi tên ngược nhau).

7. So sánh gen amylaza của chủng *P.*

haloplanctis 505 với các gen amylaza đã biết

Chương trình BLAST và CLUSTA được sử dụng để so sánh gen amylaza này với các gen amylaza đã biết. Kết quả cho thấy trình tự amino axit của gen amylaza này giống 96% so với trình tự amino axit của gen α -amylaza từ chủng *Alteromonas haloplanctis* A23 [7]. Điều này chứng tỏ gen amylaza này chính là gen α -amylaza và chủng *P. haloplanctis* 505 rất gần gũi với chủng *A. haloplanctis* A23.

III. KẾT LUẬN

Chủng vi khuẩn chịu lạnh *P. haloplanctis* 505 có khả năng thủy phân tinh bột cao ở nhiệt độ thường, nhiệt độ tối ưu cho hoạt tính enzym là 20°C và bị biến tính ở 40°C; pH tối ưu là 7,5. Gen α -amylaza của chủng *P. haloplanctis* 505 đã được phân lập và nhân dòng trong *E. coli*. Trình tự amino axit của gen này giống 96% với gen α -amylaza của chủng *A. haloplanctis* A23. Hiện nay, các nghiên cứu tiếp theo về hoạt tính của enzym này cũng như việc biểu hiện nó trong các thể chủ thích hợp đang được tiến hành.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Larkin JM and JL Stokes, 1966: J Bacteriol, 91: 1667-1671
2. Gounot A-M, 1986: Psychrophilic and psychrotrophic microorganisms. Experi-

entia, 42: 1192-1197.

3. Morita RY, 1975: Bacteriol Rev., 39: 144-169.
4. Charler Gerday et al., 2000: Cold-adapted enzym: from fundamentals to biotechnology. *TIBTECH*, Vol. 8.
5. R. Margesin, F. shchinner, 1999: Cold-Adapted Organisms.
6. Cumming SP. and Black G. W., 1999: Polymer hydrolysis in a cold climate. *Extremophiles*, 3: 81-87.
7. Georges Feller et al., 1992: Journal of biological chemistry, 267(8): 5217-5221.
8. Le Van Truong et al., 2001: Cloning of two pectate lyase genes from the marine Antarctic bacterium *Pseudoalteromonas haloplanctis* strain ANT/505 and characterization of the enzymes. *Extremophiles*, 5: 35-44.
9. Weyland H., H. J. Ruger and H. Schwaz, 1970: Veroff. Inst. Meeresf. Bremerh., 12: 269-296.
10. Bernfeld P. 1955: Amylase α and β . In: Colowick SP, Kaplan NO (eds) Method in enzymology. Academic, New York: 149-155.
11. Sambrock et al., 1989: Molecular cloning a laboratory manual, 2nd edition.
12. Nonradioactive In situ Hybridization Application Manual, 1996: Boehringer Mannheim Co. 2nd edition.

CLONING OF A GENE ENCODING COLD-ADAPTED α -AMYLASE FROM THE PSYCHROTROPHIC BACTERIUM *PSEUDOALTEROMONAS HALOPLANCTIS* STRAIN 505

LE VAN TRUONG et al

SUMMARY

The marine antarctic psychrotrophic bacterium *Pseudoalteromonas haloplanctis* strain 505, isolated from the sea ice which covered the surface of the Southern Ocean, showed an amylolytic activity. The cold-adapted amylase from this strain 505 was characterized by a high activity at low temperature and its optimal temperature was 20°C and optimal pH was 7.5. The α -amylase gene was cloned and sequenced. The open reading frame of this gene was 1431 bps and coded for a protein with 453 amino acids. This amylase contained a signal peptide of 24 amino acids. The amino acid sequence of this cloned gene showed 96% homology to the α -amylase gene from the *Alteromonas haloplanctis* strain A23.

Ngày nhận bài: 27-2-2001

QUAN HỆ LIÊN KẾT GIỮA CÁC LOCUS ISOZYM Ở CÂY KHOAI MÔN LƯỠNG BỘI ($2n=2x$), *COLOCASIA ESCULENTA* (L.) SCHOTT

NGUYỄN XUÂN VIỆT

Trường đại học Sư phạm Hà Nội

Bản đồ liên kết có được ở bất cứ loài nào cũng là một công cụ có giá trị trong nhiều lĩnh vực của di truyền thực vật học và chọn giống. Phân tích di truyền các biến dị isozym đã xác định được nhiều gen mã hoá cho các enzym. Các locus isozym đã góp phần đáng kể trong việc xây dựng các bản đồ như thế ở nhiều loài cây trồng khác nhau [8, 7]. Hơn nữa, việc sử dụng một cách có hiệu quả các gen chỉ thị (marker) trong nghiên cứu chọn giống là phụ thuộc vào thông tin về mối quan hệ liên kết giữa các gen marker.

Nhiều công trình phân tích di truyền các biến dị isozym, phát hiện mối quan hệ liên kết giữa các locus isozym đã được tiến hành và bản đồ liên kết isozym cũng đã có được ở nhiều loài cây trồng [6, 2].

Cây khoai môn *Colocasia esculenta* (L.) Schott là một trong những cây trồng lấy củ quan trọng ở châu Á và Thái Bình Dương [1]. Theo số liệu của Tổ chức Lương thực Thế giới (FAO) thì diện tích trồng khoai môn trên thế giới trong năm 1998 là 1.070.000 ha và tổng sản lượng khoai môn kể cả khoai mùng (*Xanthosoma*) đạt 6.586.000 tấn. Tuy nhiên, có quá ít công trình nghiên cứu di truyền đối với *Colocasia esculenta*, đặc biệt cho đến nay, vẫn chưa có cố gắng nghiên cứu nào nhằm mục đích xây dựng một bản đồ di truyền liên kết ở loài cây trồng này.

Isshiki và cộng sự (1995) đã mô tả 3 locus isozym của 3 hệ enzym: Asparat aminotransaminaza, Phốtphoglucoisomeraza và Shikimat dehydrogenaza [3]. Theo báo cáo này thì không có quan hệ liên kết được phát hiện giữa các locus isozym nói trên.

Chúng tôi đã tiến hành phân tích 13 hệ

enzym từ dịch nghiền của lá và đã công bố kết quả nghiên cứu xác định di truyền các biến dị isozym ở loài khoai môn *Colocasia esculenta* (L.) Schott [4, 5].

Trong bài báo này trình bày kết quả phân tích quan hệ liên kết giữa các locus isozym đã được xác định ở *Colocasia esculenta*, phát hiện các nhóm liên kết isozym và bước đầu xây dựng bản đồ liên kết ở loài cây trồng này.

I. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Vật liệu

Cây khoai môn *Colocasia esculenta* (L.) Schott thuộc chi khoai môn *Colocasia*, họ ráy *Araceae*.

14 cây môn trồng và mọc dại được dùng làm cây bố mẹ để thu nhận các quần thể tự thụ phấn và lai. Tổng cộng có 14 quần thể cây tự thụ phấn và 8 quần thể cây lai tạo ra đã được sử dụng để phân tích sự di truyền của các biến dị isozym [4, 5].

Các hệ enzym trong lá đã được phân tích là: Alcohol dehydrogenaza (ADH, E.C. 1.1.1.1), Diaphoraza (DIA, E.C. 1.6.99. -), Glutamat oxaloacetat transaminaza (E.C. 2.6.1.1), Shikimat dehydrogenaza (SKD, E.C. 1.1.1.25), Isoxitrat dehydrogenaza (IDH, E.C. 1.1.1.42), Superoxit dismutaza (SOD, E.C. 1.15.1.1), Hexokinaza (HEX, E.C. 2.7.1.1), Phốtphoglucosmutaza (PGM, E.C. 5.4.2.2), axit phốtphataza (ACP, E.C. 3.1.3.2), Loxin aminopeptidaza (LAP, E.C. 3.4.11.1), Esteraza (EST, E.C. 3.1.1.) và Phốtphoglucoisomeraza (PGI, E.C. 5.3.1.9).

Số liệu phân ly đồng thời của các cặp locus từ 21 locus isozym đã phát hiện được dùng cho các phân tích liên kết (bảng 1 và 2).

2. Phương pháp

Phân tích di truyền các biến dị isozym được tiến hành theo phương pháp đã mô tả trong các báo cáo trước [4, 5]

Phương pháp thống kê: Tất cả những quần thể có số liệu phân ly đồng thời về các cặp locus so sánh đều được dùng để phân tích liên kết. Đối với một cặp locus được phát hiện là có liên kết, giá trị tái tổ hợp và sai lệch chuẩn, khoảng tin cậy sẽ được ước lượng bằng phương pháp hợp lý cực đại. Tất cả công việc tính toán đã

được thực hiện trên máy vi tính sử dụng chương trình phân tích liên kết "LINKEM" của Wowden và cộng sự, 1995 [9].

II. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Kết quả phân tích di truyền các biến dị isozym đã xác định được 22 locus isozym thuộc 13 hệ enzym ở cây môn [4, 5].

Số locus đa hình và cấu trúc của các isozym trong 13 hệ enzym đã phân tích, được tổng hợp trong bảng 1.

Bảng 1

Các locus đa hình và cấu trúc của các isozym ở *C. esculenta* (L.) Schott

Enzym	Số ký hiệu (E.C.)	Locus	Số Alen	Cấu trúc enzym
Alcohol dehydrogenaza (ADH)	E.C. 1.1.1.1	<i>Adh-2</i>	2	Dime
Diaphoraza (DIA)	E.C. 1.6.99.	<i>Dia-2</i>	2 (1 null)	Monome
Isoxtrat dehydrogenaza (IDH)	E.C. 1.1.1.42	<i>Idh-1</i>	3	Dime
Photphogluconat dehydrogenaza (PGD)	E.C. 1.1.1.44	<i>Pgd-1</i>	2 (1 null)	Monome
Shikimat dehydrogenaza (SKD)	E.C. 1.1.1.25	<i>Skdh</i>	3	Monome
Superoxit dismutaza (SOD)	E.C. 1.15.1.1	<i>Sod-2</i>	2 (1 null)	Monome
		<i>Sod-3</i>	2	Dime
		<i>Sod-4</i>	3	Dime
Glutamat oxaloaxetat transminaza (GOT)	E.C. 2.6.1.1	<i>Got-1</i>	2	Dime
		<i>Got-5</i>	2	Dime
Hexokinaza (HEX)	E.C. 2.7.1.1	<i>Hex-1</i>	3 (1 null)	Monome
Phốtphoglucomutaza (PGM)	E.C. 5.4.2.2	<i>Pgm-1</i>	3 (1 null)	Monome
		<i>Pgm-2</i>	2 (1 null)	Monome
		<i>Pgm-3</i>	2	Monome
Axit phốtphataza (ACP)	E.C. 3.1.2.2	<i>Acp-4</i>	3	Monome
Lơxin aminopeptidaza (LAP)	E.C. 3.4.11.1	<i>Lap-1</i>	3 (1 null)	Monome
Esteraza (EST)	E.C. 3.1.1.-	<i>Est-1</i>	2	Monome
		<i>Est-3</i>	3	Dime
		<i>Est-4</i>	2 (1 null)	Monome
		<i>Est-8</i>	2	Monome
Phốtphoglucoisomeraza (PGI)	E.C. 5.3.1.9	<i>Pgi-3</i>	3	Dime

Cặp locus isozym được kiểm tra quan hệ liên kết

Locus	Adh-2	Adh-3	Dia-2	Est-1	Est-3	Est-4	Est-8	Got-1	Got-5	Hex-2	Idh-1	Lap-1	Pgi-3	Pgd-1	Pgm-1	Pgm-2	Pgm-3	Skdh	Sod-2	Sod-3	Sod-4
Acp-4	3	3	1	2	2	2	2	-	2	2	2	-	2	-	-	-	-	1	2	2	2
Adh-2		2	-	2	2	2	2	1	2	2	2	2	2	-	1	-	-	1	2	2	2
Adh-3			1	1	1	1	1	-	1	1	-	1	1	-	-	-	-	-	1	1	1
Dia-2				1	1	2	1	-	1	2	-	2	1	1	1	-	1	1	2	1	1
Est-1					6	2	6	1	2	3	1	5	3	-	1	-	1	1	2	2	2
Est-3						4	8	1	2	5	1	7	4	2	4	3	4	1	3	3	3
Est-4							3	-	2	2	-	2	3	-	3	2	3	2	2	2	2
Est-8								1	2	5	1	6	4	-	3	2	3	1	2	2	2
Got-1									-	-	2	1	-	-	2	-	1	-	-	-	-
Got-5										2	-	4	2	-	-	-	-	1	2	2	2
Idh-1											-	2	2	1	2	1	2	1	3	2	3
Lap-1												-	-	-	2	-	1	-	-	-	-
Pgi-3													2	-	3	-	3	2	2	2	2
Pgd-1														1	1	1	1	1	2	2	2
Pgm-1															2	1	2	1	-	-	-
Pgm-2																3	6	1	1	-	-
Pgm-3																	2	-	1	-	-
Skdh																		1	1	-	-
Sod-2																			1	1	-
Sod-3																			1	1	1
Sod-4																				2	2

Ghi chú: Các chữ số trong bảng là số quần thể có số liệu phân ly đồng thời đối với cả 2 locus trong cặp kiểm tra;
- không thu được số liệu phân ly

Kiểm tra sự phân ly đồng thời đã được tiến hành đối với tất cả các cặp locus có thể có từ 21 locus đem phân tích. Trong 210 tổ hợp cặp locus có thể tạo ra, số tổ hợp cặp locus có số liệu phân ly đồng thời là 156 tổ hợp, số quần thể đã nghiên cứu đối với mỗi cặp locus riêng biệt

được chỉ ra trong bảng 2.

Trong 21 locus phân ly, chúng tôi đã phát hiện được 14 locus có biểu hiện quan hệ liên kết với mức ý nghĩa 0,05%. Giá trị tái tổ hợp của các cặp locus liên kết và mức ý nghĩa được chỉ ra trong bảng 3.

Bảng 3

Giá trị tái tổ hợp (r) $\pm$ SE của các cặp locus isozym liên kết

Cặp locus isozym	$r \pm SE$	P
<i>Adh-2 / Idh-1</i>	$0,24 \pm 0,080$	0,02
<i>Hex-2 / Lap-1</i>	$0,29 \pm 0,091$	0,01
<i>Est-1 / Lap-1</i>	$0,21 \pm 0,049$	< 0,0001
<i>Est-1 / Hex-2</i>	$0,15 \pm 0,079$	0,04
<i>Est-8 / Pgm-2</i>	$0,18 \pm 0,090$	0,03
<i>Est-8 / Hex-2</i>	$0,23 \pm 0,076$	0,04
<i>Est-1 / Est-8</i>	$0,27 \pm 0,053$	0,02
<i>Lap-1 / Got-5</i>	$0,17 \pm 0,067$	< 0,0001
<i>Est-4 / Sod-2</i>	$0,29 \pm 0,096$	0,03
<i>Lap-1 / Pgm-3</i>	$0,21 \pm 0,071$	0,03
<i>Lap-1 / Pgm-1</i>	$0,28 \pm 0,073$	0,009
<i>Pgm-1 / Pgm-3</i>	$0,15 \pm 0,064$	0,002
<i>Pgm-2 / Hex-2</i>	$0,27 \pm 0,080$	0,007
<i>Pgd-1 / Pgi-3</i>	$0,22 \pm 0,125$	0,04
<i>Pgi-3 / Pgm-1</i>	$0,24 \pm 0,094$	0,04
<i>Sod-3 / Sod-4</i>	$0,18 \pm 0,058$	< 0,0001

Các locus có liên kết đã hình thành 4 nhóm (G_1 , G_2 , G_3 và G_4 ; hình 1). *Adh-2* liên kết với *Idh-1* trong nhóm liên kết G_1 , giá trị tái tổ hợp giữa 2 locus bằng $0,24 \pm 0,080$. Sự liên kết giữa *Est-1* và *Lap-1*, *Lap-1* và *Got-5* trong nhóm liên kết G_2 là có mức ý nghĩa cao ($P < 0,0001$; bảng 3). Tuy nhiên, vì số liệu phân ly đồng thời của *Got-5* và *Est-1* cũng như của *Got-5* với các locus khác đã không thu được trong nghiên cứu này, do đó vị trí của locus *Got-5* so với *Est-1* và *Lap-1* là chưa thể xác định chính xác. Từ số liệu liên kết thu được, phán đoán vị trí có thể của các locus gien này là *Hex-2*, *Est-1*, *Lap-1* và *Got-5*. Mặc dầu số liệu chi tiết không nêu ra trong báo cáo này, nhưng ước lượng giá trị tái tổ hợp thu được từ số liệu phân ly trong 2 quần thể cây lai khác nhau đối với cặp locus *Pgm-1 / Pgm-3* là

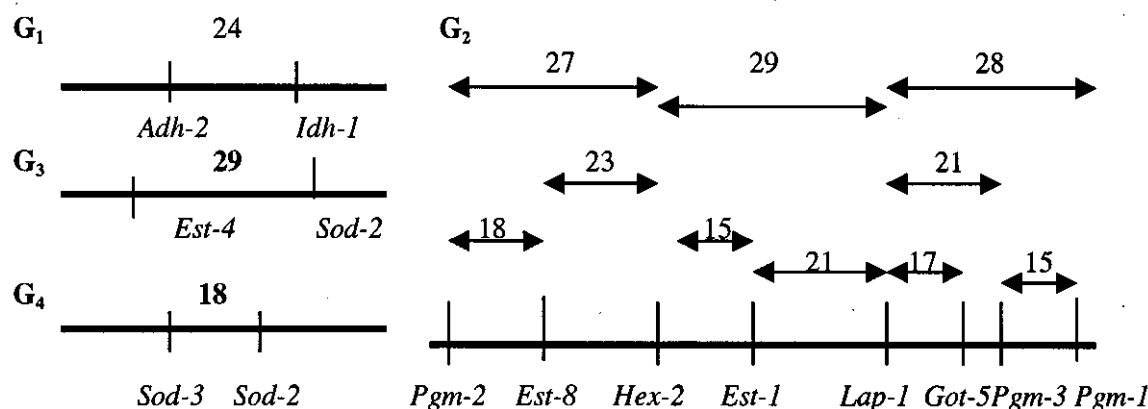
khác nhau ($r = 0,25 \pm 0,080$ ở một quần thể và trong một quần thể khác $r = 0,15 \pm 0,064$). Giá trị tái tổ hợp giữa locus *Lap-1* và *Pgm-1* là $0,28 \pm 0,073$; giữa locus *Lap-1* và *Pgm-3* là $0,21 \pm 0,071$ (bảng 3). Do đó, có thể nói rằng giá trị tái tổ hợp $r = 0,15 \pm 0,064$ giữa *Pgm-1 / Pgm-3* có thể là giá trị phù hợp hơn so với giá trị $r = 0,25 \pm 0,080$.

Sự liên kết có ý nghĩa phát hiện thấy chỉ ở 1 trong 6 quần thể đã kiểm tra liên kết đối với cặp locus *Est-8 / Est-1*, cho thấy rằng quan hệ liên kết nếu có thì cũng rất lỏng lẻo. *Pgm-2* liên kết với *Hex-2* ($r = 0,27 \pm 0,080$) và với *Est-8* ($r = 0,18 \pm 0,090$), do đó trật tự các locus gien trong nhóm liên kết có thể là: *Pgm-2*, *Est-8*, *Hex-2*, *Est-1*, *Lap-1*, *Got-5*, *Pgm-3* và *Pgm-1*.

Giá trị tái tổ hợp giữa *Est-4* và *Sod-2* trong nhóm liên kết G_3 là $0,29 \pm 0,096$. Trong nhóm liên kết G_4 , sự kết hợp có ý nghĩa cao ($P < 0,0001$) giữa *Sod-3* và *Sod-2* quan sát thấy trong cả 2 quần thể phân ly đối với các locus này (bảng 3).

Giá trị tái tổ hợp ước lượng được giữa *Est-1*

và *Est-3* là $r = 0,26 \pm 0,065$ trong một quần thể tự thụ phấn, nhưng trong một quần thể cây lai khác giá trị r này đạt tới $0,40 \pm 0,048$ (Số liệu không chỉ ra trong báo cáo). Tuy nhiên, khi hợp nhất số liệu, ước lượng thu được là $r = 0,42 \pm 0,038$ ($p = 0,03$), vì thế các locus *Est-1* và *Est-3* đã không bao hàm trong bản đồ liên kết.



Hình 1. Các nhóm liên kết của các locus isozym ở *Colocasia esculenta* (L.) Schott (Khoảng cách được biểu thị bằng % đơn vị tái tổ hợp)

Không có mối quan hệ liên kết được phát hiện trong các locus: *Got-1*, *Pgi-3* và *Skdh*. Kết luận này là phù hợp với báo cáo của Isshiki và cộng sự (1995). Các giá trị r của các cặp locus liên kết quan sát thấy trong một số quần thể nhất định, thường cao hơn giá trị r thu được của cùng cặp locus đó từ nhiều quần thể khác, cho thấy tập tính tái tổ hợp hình như bị ảnh hưởng bởi kiểu gen hoặc tổ hợp đem lai.

Kết quả phân tích quan hệ liên kết giữa các locus isozym trình bày trong báo cáo này là bước khởi đầu để xây dựng một bản đồ di truyền liên kết các locus isozym ở loài *Colocasia esculenta*. Tuy nhiên, để cho một bản đồ như thế thực sự là công cụ có giá trị trong chọn giống, cần mở rộng nghiên cứu để phát hiện và thêm vào bản đồ những locus gen hình thái và nông học quan trọng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Coates D. J., D. E. Yen & P. M. Gaffey, 1988: *Cytologia*, 53: 551-560.
2. Doble J., 1989: Isozymic evidence and evolution of crop plants. In: Soltis D. E. and P. S. Soltis (Eds.). *Isozym in plant biology*. Chapman and Hall Ltd., London, 165-191.
3. Isshiki S. et al., 1995: *J. Japan Soc. Hort. Sci.*, 64: 113-119.
4. Nguyen V. X., H. Yoshino & M. Tahara, 1998: *Breeding Science*, 48: 273-280.
5. Nguyen V. X., H. Yoshino & M. Tahara, 1999: *Breeding Science*, 49: 179-185.
6. Tanksley S. D., 1984: *Chromosoma*, 89: 352-360.
7. Whehling P., 1991: *Theor. Appl. Genet.* 82: 567-576.
8. Whehling F. and G. Schmidt-stohn, 1984: *Theor. Appl. Genet.*, 67: 149-153
9. Wowden C. and M. S. Ridout, 1995: LINKEM: a program for genetic linkage analysis. Horticulture Research International East Malling, West Malling, Kent, ME19 6BJ, UK.

LINKAGE RELATIONSHIP OF ISOZYME LOCI IN DIPLOID TARO *COLOCASIA ESCULENTA* (L.) SCHOTT

NGUYEN XUAN VIET

SUMMARY

The linkage analysis for 21 isozyme loci of 13 enzyme systems in *Colocasia esculenta* (L.) Schott was carried out to determine the linkage relationships among these isozyme loci and constructed a preliminary linkage map in taro. Test of the joint segregation for pairwise comparisons of all isozyme loci indicated that 14 loci were linked in four linkage groups (marked G1 to G4) in following order: *Adh-2* and *Idh-1* (G1), *Pgm-2*, *Est-8*, *Hex-2*, *Est-1*, *Lap-1*, *Got-5*, *Pgm-3* and *Pgm-1* (G2); *Est-4* and *Sod-2* (G3) and *Sod-3* and *Sod-4* (G4). No evidence for the linkage was detected among the remaining enzyme loci.

The linkages reported here represented an initial step in the elaboration of a genetic linkage map for taro.

Ngày nhận bài: 20-5-2001

TÁCH VÀ BƯỚC ĐẦU PHÂN TÍCH TÍNH CHẤT CỦA CÁC NOROTOXIN TỪ NỌC CỦA LOÀI BÒ CẠP *BUTHUS* sp.

HOÀNG NGỌC ANH

Viện Hóa học

PISKOREV V.E., BEREZIN B.B., YAMSKOV I.A.

Viện Hóa các hợp chất cơ kim, Matxcova

Hiện nay, việc nghiên cứu các toxin tự nhiên đóng vai trò quan trọng trong các lĩnh vực electrophysiology và neurochemistry [1]. Loài bò cạp *Buthus* sp. là một nguồn cung cấp các toxin [2,3]. Toxin của nọc bò cạp cho đến nay vẫn chưa được nghiên cứu. Tiếp theo những nghiên cứu trước đây về lectin tách từ nọc bò cạp *Buthus* sp. [4], nọc bò cạp này sau khi loại các mucoprotein không tan, chúng tôi đã tách và bước đầu phân tích tính chất của các norotoxin.

I. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Sắc ký lọc qua gel protein được tiến hành ở nhiệt độ phòng, trên cột (1x100 cm) với sephadex G-50 (Pharmacia Thụy Điển). Cột đã được cân bằng trước trong bufer 20 mM axetat ammoni pH = 4,7. Sự có mặt của protein trong các phân đoạn sắc ký được xác định theo mật độ quang ở 280 nm trên máy Uvicord ("LKB" Thụy Điển).

Độc tính của các phân đoạn tách ra được thử trên chuột bạch C57BL/6 cả hai giống (18-20 g) bằng cách tiêm bắp. Để tiêm, phải hoà phân đoạn cần thử vào 0,5 ml dung dịch 0,9% NaCl. Lượng protein trong mỗi lần tiêm phù hợp 0,2 ml dung dịch với mật độ quang bằng $A_{1,0} = 1,000$ tại bước sóng 280 nm (khoảng gần 0,2 mg)[5]. Sử dụng ba mức độ để thể hiện tính độc của các phân đoạn tách ra. Phân đoạn không độc là, sau khi tiêm phân đoạn này, chuột không thể hiện dấu hiệu độc (giống như khi tiêm nước muối không). Phân đoạn độc là, sau khi tiêm nó,

chuột thể hiện bất kỳ một trong số các dấu hiệu sau: bị kích động, chảy nước miếng, chảy nước mắt, ngạt thở, liệt chi (nhưng phục hồi trong thời gian 24 giờ sau khi tiêm). Phân đoạn độc chết là làm chuột chết sau khi thể hiện một hoặc vài dấu hiệu trên.

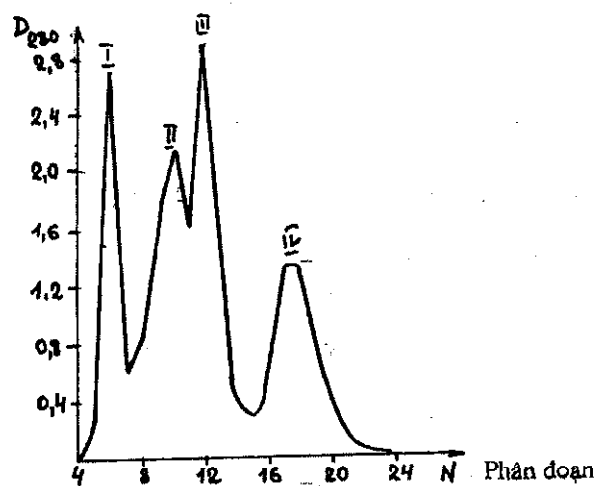
Tiếp theo, để tách các toxin, chúng tôi đã sử dụng phương pháp sắc ký lỏng cao áp trong hệ gradient Gilson (Pháp) trên cột (19x150 mm) μ -Bondapak C18 (5 μ m). Sử dụng dung dịch axetonitril để rửa cột theo gradient tuyến tính 0-50%, trong đó dung dịch (A): 0,1% TFA trong nước; còn dung dịch (B): 0,1% TFA trong axetonitril. Tốc độ rửa cột: 5 ml/phút. Sự có mặt của protein trong các phân đoạn sắc ký được phát hiện bằng quang phổ kế tại bước sóng 206 nm. Các phân đoạn chứa toxin được đông khô và làm sắc ký lại trên cột C18 để thu được các toxin sạch.

Điện di được thực hiện trên gel polyacrylamit 15% theo phương pháp Reisfeld [6]. Khối lượng phân tử của các toxin được xác định trên máy MALDI Mass-spectrometry Vision 2000 (Thermo Bio Analysis, Anh).

II. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

1. Tách các norotoxin từ nọc của loài bò cạp *Buthus* sp.

Nọc của loài bò cạp *Buthus* sp. sau khi lọc qua gel được tách ra làm 4 thành phần với khối lượng phân tử khác nhau thể hiện ở 4 đỉnh (hình 1). Thử hoạt tính sinh học lên chuột cho thấy các đỉnh II và III có độc tính.



Hình 1. Sắc ký lọc qua cột gel sephadex G-50 (1x100 cm) của phần nọc bò cạp tan trong nước. Mẫu mang lên cột 80 mg, tốc độ rửa cột 9,6 ml/h, thể tích các phân đoạn 4,8 ml, dung dịch rửa: buffer axêtat ammonium pH = 4,7

120 phút, sau đó 50-100% 0,1 TFA axêtonitril trong 120 phút. Tốc độ rửa cột 5 ml/phút. Sự có mặt của protein trong dung dịch rửa ra được xác định bằng máy quang phổ tại bước sóng 206 nm.

Tiếp theo, để tách các norotoxin từ đỉnh III, chúng tôi đã sử dụng phương pháp sắc ký lỏng cao áp trong hệ gradient pha tuần hoàn trên cột C18. Kết quả cho thấy đỉnh III được tách ra làm nhiều phân đoạn protein (hình 2). Thử hoạt tính của các phân đoạn này trên chuột cho thấy các phân đoạn 5, 7, 9, 10, 13, 14 và 19 rất độc. Khi tiêm vào bắp, chuột chết ngay hoặc chết trong vòng 1/2-3 giờ. Những norotoxin này chiếm một phần rất nhỏ trong nọc bò cạp (từ 0,01- 0,12%) và rửa ra khỏi cột từ 33,7- 141 phút (xem bảng). Để làm sạch các norotoxin này, đã làm sắc ký lỏng cao áp lại các phân đoạn đã tách ra trên cột C18, chúng tôi thu được các norotoxin sạch số 5, 7, 9, 10, 13, 14 và 19.

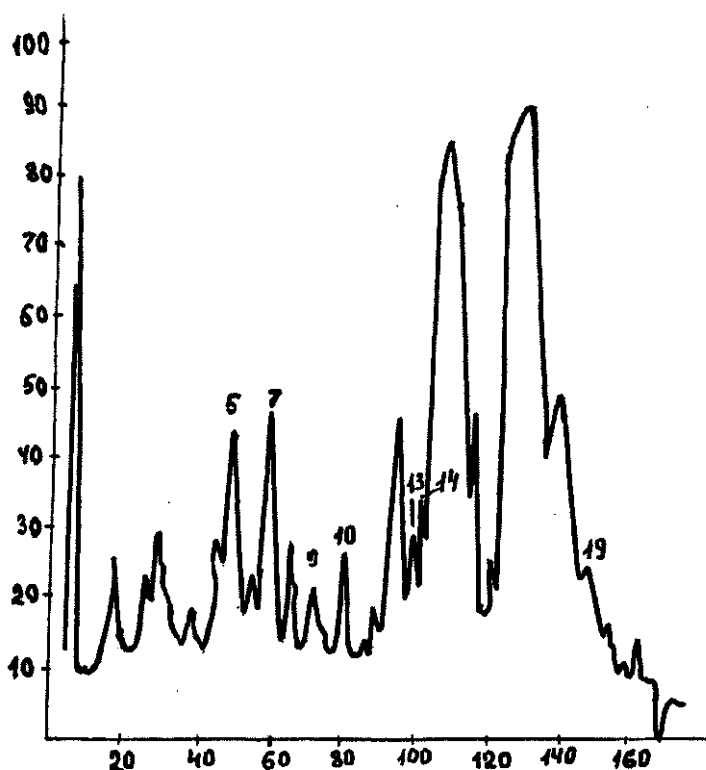
Protein được rửa khỏi cột bằng dung dịch axêtonitril trong nước với gradient tuyến tính: 20-50% 0,1 TFA axêtonitril trong

Bảng

Tính chất hóa-lý của các norotoxin của loài bò cạp *Buthus sp.*

TT	Loại norotoxin	Thời gian rửa ra khỏi cột C ₁₈ (phút)	Hàm lượng norotoxin trong nọc thô (%)
1	5	33,7	0,065
2	7	36,2	0,120
3	9	38,9	0,010
4	10	41,5	0,020
5	13	45,3	0,013
6	14	46,9	0,016
7	19	141	0,017

Phương pháp điện di trên gel polyacrylamit cho thấy các norotoxin tách ra là sạch, không chứa các tạp chất protein khác.



Hình 2. Sắc ký lỏng cao áp của đỉnh III (xem hình 1) trong hệ gradient Gilson (Pháp) trên cột μ -Bendepak C18 (10 μ m, 19 x 150 mm)

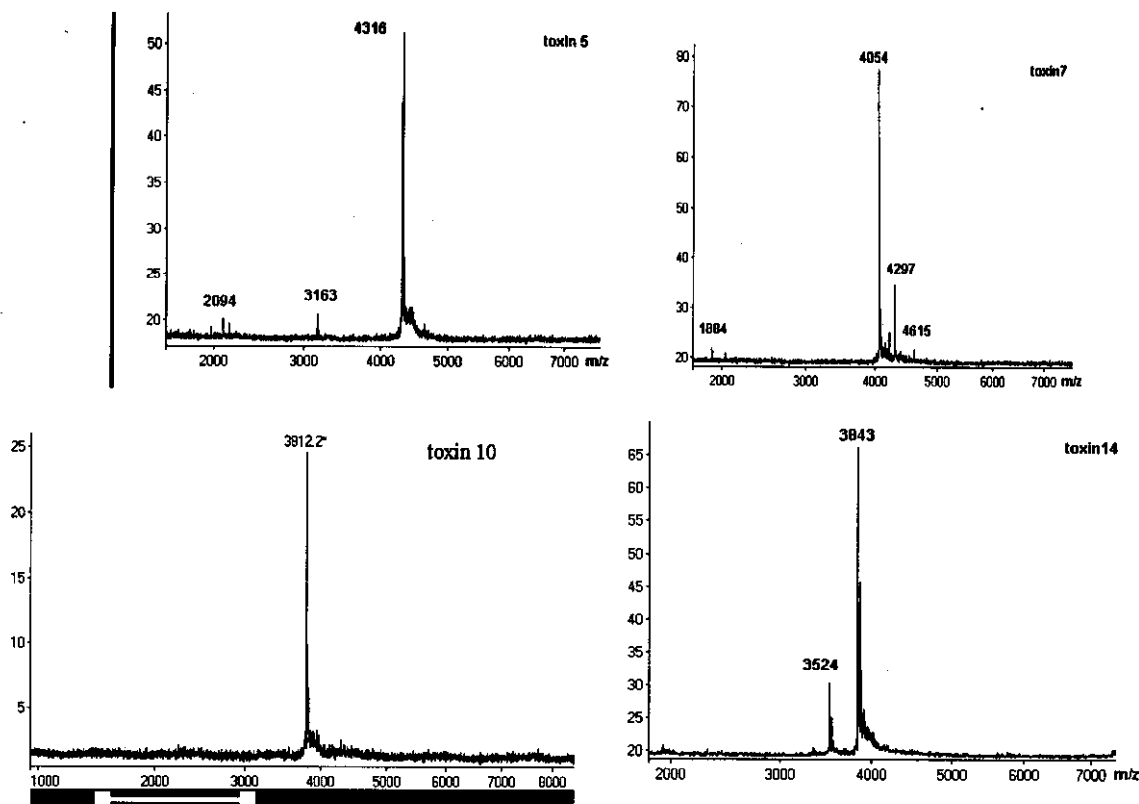
2. Đặc điểm của các norotoxin của nọc bò cạp *Buthus* sp.

Sử dụng phương pháp khối phổ đã xác định các norotoxin số 9, 5, 7, 19, 14 và 10 có khối lượng phân tử tương ứng: 4948 Da; 4316 Da; 4054 Da; 3958 Da; 3843 Da và 3812 Da. Khối phổ của bốn trong những norotoxin này được trình bày trong hình 3. Đó là các norotoxin “ngắn”, khối lượng phân tử của chúng nằm trong khoảng từ 3800 Da đến 4500 Da. Tài liệu về norotoxin của nọc bò cạp cho biết khối lượng phân tử của chúng có thể đóng vai trò quan trọng để chỉ thị được tính của chúng. Những norotoxin tách từ nọc bò cạp có khối lượng phân tử nằm trong vùng 3000-4000 Da thì thường ức chế hoạt động của kênh K^+ (kali) của tế bào

thần kinh, trong khi đó các norotoxin ức chế hoạt động của kênh Na^+ (natri) có khối lượng phân tử nằm trong vùng từ 6000 đến 8000 Da [7]. Như vậy, các norotoxin tách từ nọc bò cạp *Buthus* sp. có thể có tác dụng ức chế sự hoạt động của các kênh ion K^+ (kali).

III. KẾT LUẬN

Như vậy, bằng hai bước sắc ký: sắc ký lọc qua gel sephadex G-50 và sắc ký lỏng cao áp trên cột C-18, chúng tôi đã tách và làm sạch các norotoxin với khối lượng phân tử từ 3500 đến 5000 Da, từ nọc của loài bò cạp *Buthus* sp. Các norotoxin này tác dụng lên trạng thái sinh lý của động vật.



Hình 3. Khối phổ của các nerotoxin 5, 7, 10, 14
ghi trên máy khối phổ MALDI Vision 2000 (Thermo Bio Analysis, Anh)

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bon C., 2000: Biochemie, 82: 791-792.
2. Posani L. D. et al., 1999: Eur. J. Biochem., V. 264: 287-300.
3. Legos C., Martin-Euclaire M. F., 1997: C. R. Soc. Biol, 191: 345-380.
4. Hoàng Ngọc Anh, Berezin B. B., Yamskov I. A., 1998: Tạp chí Sinh học, 20(2): 39-42.
5. Sampaio S. V., Laure C. J., Giglio J. R., 1983: Toxicon, 21(2): 265-277.
6. Reisfeld R. A., Lewis V. J., Williams D.E., 1962: Nature, 195: 281-282.
7. Romi-Lebrun R. et al, 1997: Biochemistry, 36: 13473-13482.

ISOLATION AND PRELIMINARY STUDY THE SCORPION NEUROTOXINS *BUTHUS* sp.

HOANG NGOC ANH et al

SUMMARY

A number of neurotoxins were isolated from the venom of the scorpion *Buthus* sp. by the combination of sephadex G-50 gel-filtration and RP-HPLC. These neurotoxins had molecular weights from 3500 to 5000 Da. The tests of the isolated neurotoxins activity proceeded by injection administered at the buttocks of the C57BL/6 mice. After injection from 1/2 to 3 hours, these mice were died. These neurotoxins occupied from 0.01-0.12% of the venom of the scorpion *Buthus* sp. We have shown that these isolated neurotoxins effectively acted on the physiological state of animals.

Ngày nhận bài: 14-6-2001

KHẢ NĂNG DIỆT NẤM PHÒNG LÁ CHÈ (*EXOBASIDIUM VEXANS* MASSEE) CỦA CHITOSAN CHIẾU XẠ

PHẠM THỊ LỆ HÀ, TRẦN THỊ THỦY, LÊ HẢI,
NGUYỄN QUỐC HIỂN

Viện Nghiên cứu hạt nhân Đà Lạt

Chitosan là một polyme sinh học, gồm các đơn vị của glucosamin và N-axetylglucosamin liên kết với nhau qua cầu nối β , 1-4 glycosit. Do các đặc tính như không độc, tính tương hợp sinh học nên chitosan được sử dụng trong bảo quản thực phẩm, trong lĩnh vực y tế để làm màng mỏng, ... [3, 6]. Bên cạnh đó, chitosan cũng có khả năng kháng các loại vi khuẩn, virus, nấm bệnh trên thực vật mà không gây ô nhiễm môi trường, do vậy chitosan tỏ ra rất hữu ích trong việc sản xuất các loại nông phẩm và rau quả sạch [1-4, 6, 8]. Tuy nhiên, do chitosan có mức độ deaxetyl hoá khác nhau và khối lượng phân tử khá cao nên phần nào hạn chế khả năng ứng dụng của nó. Bức xạ gamma có khả năng cắt mạch các loại polysacarit như tinh bột, anginat, chitosan, ... [5].

Trong bài báo này, chúng tôi nghiên cứu tăng cường khả năng kháng nấm phòng lá chè (*Exobasidium vexans* Massee) của chitosan chiếu xạ.

I. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Chitosan

Sử dụng loại chitosan 7B, 8B và 10B có mức độ deaxetyl hoá tương ứng 70, 80 và 99% là sản phẩm của hãng Katokichi, Nhật Bản. Bột chitosan được chiếu xạ trên nguồn gamma Co-60 tại Viện Nghiên cứu hạt nhân Đà Lạt với liều xạ 50, 75, 100, 150 và 200 kGy, suất liều 2,2 kGy/h. Các mẫu chitosan nghiên cứu được hoà tan trong axit axetic 0,5% và điều chỉnh về pH = 6,0 bằng NaOH 1N. Sau đó, dung dịch được lọc bằng màng lọc Millipore (Millex GS) 0,22 μ m và pha loãng với các nồng độ 400, 300, 200, 100 ppm trong môi trường nuôi cấy.

2. Nấm phòng lá chè (*Exobasidium vexans* Massee)

Nấm phòng lá chè được nuôi cấy trên môi trường Czapeck-Dox có bổ sung 1% nước chiết lá chè ở nhiệt độ 25°C.

3. Thử nghiệm khả năng kháng nấm *in vitro*

Thử nghiệm khả năng kháng nấm *in vitro* được thực hiện theo phương pháp như đã mô tả trong công trình trước đây [6]. Khả năng kháng nấm của chitosan được xác định như sau: đếm số khuẩn lạc trong môi trường đối chứng không có chitosan (N_0), số khuẩn lạc trong môi trường nuôi cấy chứa chitosan với nồng độ khác nhau (N), xác định tỷ lệ N/N_0 ở các nồng độ chitosan khác nhau.

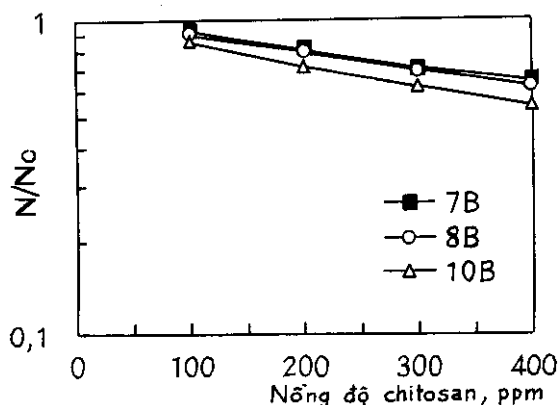
Biểu diễn sự phụ thuộc N/N_0 theo nồng độ chitosan trên giấy bán logarit, xác định nồng độ chitosan gây chết 50% (LD_{50}) số tế bào nấm. Mỗi thí nghiệm được tiến hành lặp lại 5 lần.

4. Khả năng kháng nấm *in vivo*

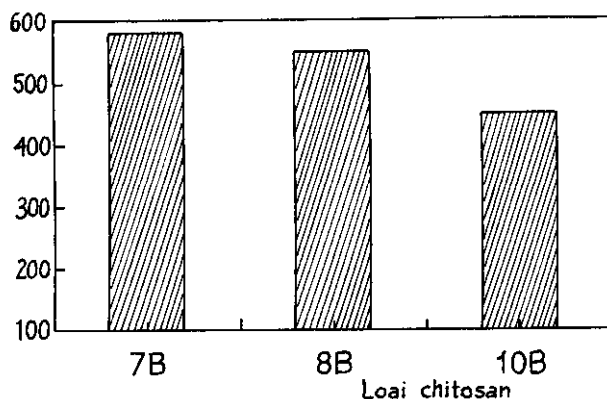
Cây chè 6 tháng tuổi được chia ra làm 3 lô thí nghiệm, mỗi lô 30 cây. Lô 1 (đối chứng) được chăm sóc bình thường, lô 2 và lô 3 được phun 3 lần với dung dịch nấm có số bào tử (hoặc hệ sợi) là 10^6 /ml cho ướt đều hai mặt lá, mỗi lần cách nhau 2 ngày. Sau 2 ngày tính từ lần phun thứ 3, lô 2 được phun dung dịch chitosan 10B chiếu xạ 75 kGy với nồng độ 3g/l, phun 5 lần, mỗi lần cách nhau 3 ngày. Lô 3 tiếp tục chăm sóc bình thường. Thí nghiệm được lặp lại 3 lần và tiến hành trong 50 ngày. Các chỉ tiêu đo đạc là chiều cao cây, số lá, tần suất bệnh trên lá chè [7].

II. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

1. Khả năng kháng nấm phòng lá chè *in vitro* của 3 loại chitosan



Hình 1. Tương quan giữa tỷ lệ N/N_0 và nồng độ chitosan

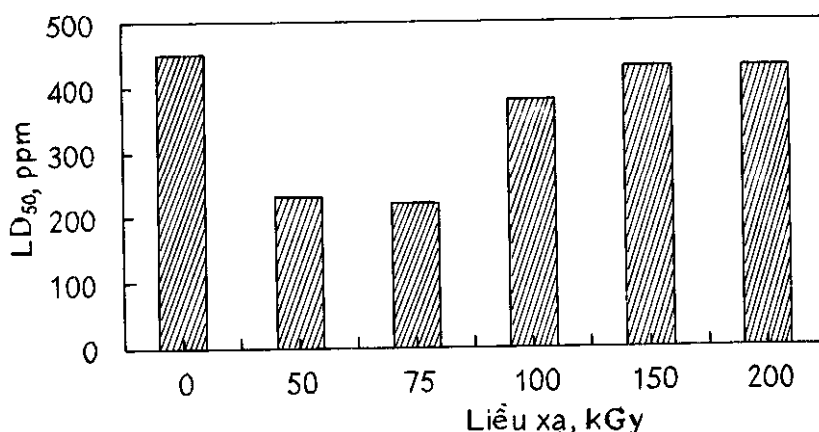


Hình 2. Nồng độ gây chết 50% (LD_{50}) của chitosan 7B, 8B và 10B không chiếu xạ

Kết quả ở hình 1 cho thấy chitosan có khả năng kháng nấm phòng lá chè. Các loại chitosan với mức độ deacetyl hoá khác nhau có khả năng kháng nấm khác nhau. Theo Kendra (1984), khả năng kháng nấm của chitosan có liên quan đến mức độ deacetyl hoá, nếu mức độ này quá thấp (chitin) thì khả năng kháng nấm cũng không cao.

Chitosan có mức độ deacetyl hoá càng cao khả năng kháng nấm càng lớn. Để ức chế 50% tế bào nấm, loại chitosan 7B cần nồng độ cao nhất (580ppm), trong khi đó loại chitosan 10 B, nồng độ này là thấp nhất (450 ppm) (hình 2).

2. Ảnh hưởng của liều xạ lên khả năng kháng nấm của chitosan 10B



Hình 3. Ảnh hưởng của liều xạ lên khả năng kháng nấm của chitosan 10B

Hình 3 cho thấy bức xạ đã ảnh hưởng lên khả năng kháng nấm của chitosan 10B và chitosan 10B chiếu xạ từ liều 50-200 kGy. Ở liều 50kGy, nồng độ chitosan ức chế 50% số tế bào nấm chỉ còn 230 ppm và ở liều 75 kGy nồng độ này là 220 ppm. Từ liều xạ 100 kGy đến 200 kGy, nồng độ ức chế 50% bắt đầu gia tăng. Như vậy, chiếu xạ chitosan liều cao cũng không mang lại

hữu ích đáng kể trong việc ức chế sự phát triển của nấm.

3. Ảnh hưởng của chitosan 10B chiếu xạ lên chiều cao cây và số lá cây chè

Bảng I cho thấy chitosan ảnh hưởng lên chiều cao và số lá cây chè. Sau 1 tháng, ở lô có phun chitosan 10B chiếu xạ 75kGy, cây đã cao hơn và

đặc biệt số lá nhiều hơn so với cây ở lô đối chứng.

Bảng 1

Ảnh hưởng của chitosan 10B chiếu xạ lên chiều cao và số lá cây chè

Lô	Ngày đo							
	30 tháng 6				30 tháng 7			
	Chiều cao (cm)	%	Số lá/cây	%	Chiều cao (cm)	%	Số lá/cây	%
1	38,1 $\pm$ 0,2	100,0	11,4 $\pm$ 0,1	100,0	41,0 $\pm$ 0,1	100,0	13,1 $\pm$ 0,1	100,0
2	38,0 $\pm$ 0,4	99,7	11,3 $\pm$ 0,1	99,1	41,8 $\pm$ 0,2	102,0	14,2 $\pm$ 0,2	108,4
3	38,2 $\pm$ 0,1	100,3	11,0 $\pm$ 0,2	96,5	40,6 $\pm$ 0,3	99,0	12,8 $\pm$ 0,1	97,7

Lô 1: đối chứng (cây được chăm sóc bình thường)

Lô 2: cây được nhiễm nấm nhân tạo, sau đó phun dung dịch chitosan 10B chiếu xạ 75 kGy để trị bệnh

Lô 3: cây được nhiễm nấm nhân tạo, nhưng không phun dung dịch chitosan để trị bệnh

4. Khả năng kháng nấm phòng lá chè *in vivo* của chitosan 10B chiếu xạ

Khả năng kháng nấm phòng lá chè trên cây chè của chitosan chiếu xạ được thể hiện rõ trên bảng 2. Ở giai đoạn đầu, các lô 1, 2 và 3 đều bị nhiễm bệnh gần như tương đương nhau (ngày 30/6). Sau khi cho nhiễm bệnh thì lô 2 và 3 nhiễm bệnh cao, do ngoài nhiễm tự nhiên còn bị nhiễm nhân tạo. Các giai đoạn sau, tần suất nhiễm bệnh phòng lá chè trên cây chè đều ở cấp 1, ở lô 2 (nhiễm bệnh nhân tạo và phun

chitosan) tần suất nhiễm bệnh thấp nhất 0,173. Ở lô 1 (đối chứng) tần suất nhiễm bệnh là 0,421 gần bằng với lô 3 (nhiễm bệnh nhân tạo và không phun chitosan) là 0,471, có lẽ do trong không gian tồn tại vô số bào tử nấm bệnh trong khi đó điều kiện khí hậu trong tháng 7 (ấm, ẩm) phù hợp cho sự nảy mầm và phát triển của nấm bệnh, dẫn đến có tần suất nhiễm bệnh cao hơn nhiều so với lô 2. Như vậy chitosan 10B chiếu xạ 75 kGy đã chứng tỏ hiệu ứng ức chế sự phát triển của nấm phòng lá chè trên cây.

Bảng 2

Ảnh hưởng của chitosan 10B chiếu xạ đến khả năng kháng nấm phòng lá chè trên cây

Lô \ Tần số bệnh	Ngày đo				
	30/6	8/7	15/7	22/7	30/7
1	0,078	0,132	0,345	0,394	0,421
2	0,078	0,153	0,180	0,140	0,173
3	0,077	0,420	0,431	0,442	0,471

Lô 1: đối chứng (cây được chăm sóc bình thường)

Lô 2: cây được nhiễm nấm nhân tạo, sau đó phun dung dịch chitosan 10B chiếu xạ 75kGy để trị bệnh

Lô 3: cây được nhiễm nấm nhân tạo, nhưng không phun dung dịch chitosan

III. KẾT LUẬN

Từ những kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của chitosan chiếu xạ lên khả năng kháng nấm phồng lá trên cây chè, có thể rút ra các kết luận sau:

1. Trong các loại chitosan nghiên cứu thì chitosan 10B có khả năng kháng nấm tốt nhất.
2. Chitosan 10B chiếu xạ ở liều 75kGy với nồng độ 220 ppm đã ức chế 50% số lượng nấm.
3. Phun dung dịch chitosan 10B chiếu xạ 75 kGy lên cây chè không những đã làm giảm tần suất bệnh từ 0,421 xuống còn 0,173 mà còn có hiệu ứng tăng trưởng thêm qua sự gia tăng chiều cao và số lá của cây chè.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Allan C. R. and Hadwiger L. A., 1979:

Exper. Mycol., 3: 285-287.

2. Chin L. F. and Wu J. C., 1998: Chitosan benefits cultivation of vegetable, 3rd Asia-Pacific Chitin and Chitosan Symposium, Taiwan.
3. Hirano S., 1996: Biotechnology Annual Review, 2: 237-258.
4. Kendra D. F. and Hadwiger L. A., 1984: Exper. Mycol. 8: 276-281.
5. Matsushashi S. and Kume T., 1997: J. Sci. Food Agric., 73: 237-241.
6. Pham Thi Le Ha, 1999: Food Irradiation, 34: 43-46.
7. Vụ Đào tạo, Bộ Nông nghiệp, 1976: Phương pháp thí nghiệm đồng ruộng, Nxb Nông nghiệp.
8. Pospieszny H., Chirkov S. and Atabekov J., 1991: Plant Science, 79: 63-68.

ANTI-FUNGAL ACTIVITY OF IRRADIATED CHITOSAN AGAINST *EXOBASIDIUM VEXANS* MASSEE

PHAM THI LE HA et al

SUMMARY

The anti-fungal activity of chitosan induced by the irradiation has been investigated. The highly deacetylated chitosan (99%) irradiated at the dose 75 kGy, was the most effective for the growth inhibition of *Exobasidium vexans* Massee and the 50% lethal concentration (LD₅₀) was of 220 ppm. The frequency of diseased leaves was 0.173 for tea bud sprayed with chitosan compared with 0.421 for the control.

Ngày nhận bài: 25-5-2001

ẢNH HƯỞNG CỦA SỰ LÂY NHIỄM VI KHUẨN PHÂN GIẢI PHỐT PHO KHÓ TAN VÀO ĐẤT ĐẾN MỘT SỐ CHỈ TIÊU SINH LÝ CỦA GIỐNG LÚA KHANG DÂN

PHẠM THỊ NGỌC LAN, TRƯƠNG VĂN LUNG

Trường đại học Khoa học - Đại học Huế

Trong đất, photpho dễ tan thường tồn tại với lượng rất ít, còn phần lớn là ở dạng photpho khó tan như apatit, $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, các muối photphat của sắt, nhôm... Khi bón phân lân hóa học vào đất, cây cũng không thể hấp thụ hết mà phần lớn còn tồn dư ở dạng khó tan [2]. Việc chuyển hóa các dạng lân khó tan thành dễ tan trong đất, có sự đóng góp của nhóm vi khuẩn phân giải photpho.

Nếu tuyển chọn được các chủng vi khuẩn có hoạt tính phân giải lân mạnh tạo thành chế phẩm sinh học bón trở lại đất, sẽ góp phần tăng hiệu quả sử dụng lân cho cây. Đây cũng là một trong những biện pháp tăng sản lượng cây trồng.

I. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Hai chủng vi khuẩn P_4 và P_8 được phân lập và tuyển chọn từ đất trồng lúa nước ở tỉnh Thừa Thiên - Huế, có khả năng phân giải photpho khó tan khá mạnh. Sinh khối của hai chủng vi khuẩn này được tạo thành bằng cách nuôi cấy lactic trên môi trường dịch thể có thành phần (g/l):

Saccaroza	20
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,5
$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	5,0

FeSO_4	0,01
NaNO_3	3,5
Nước	1000 ml

Các chế phẩm vi khuẩn được lây nhiễm vào đất bằng cách hồ rẫy mạ trước khi cấy lúa. Tiến hành đánh giá tác động của chế phẩm vi khuẩn qua một số chỉ tiêu sinh lý ở ba thời kỳ đẻ nhánh, làm đồng và thu hoạch.

- Xác định hàm lượng diệp lục theo phương pháp Wettstein [1].

- Cường độ quang hợp được xác định bằng phương pháp Tiurin [1].

- Trọng lượng tươi, khô, số bông, số lượng hạt chắc, hạt lép, chiều cao cây được xác định bằng các phương pháp cân, đo và đếm.

- Bố trí thí nghiệm: lúa được trồng trong chậu nhựa tròn 18 x 20cm với nền đất ruộng ướn, 10 lần lặp lại. Lô không bón chế phẩm làm đối chứng.

II. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

1. Tác động của các chế phẩm vi khuẩn đến chiều cao cây và khả năng đẻ nhánh của lúa

Bảng 1

Ảnh hưởng của các chế phẩm VKPGPKT đến chiều cao cây và số nhánh của cây lúa

Chế phẩm	Chiều cao cây		Khả năng đẻ nhánh	
	cm	% so với đối chứng (ĐC)	Số nhánh/chậu	% so với ĐC
P_4	$58,86 \pm 1,3$	106,49	$12,60 \pm 0,87$	121,15
P_8	$56,17 \pm 1,15$	101,62	$12,60 \pm 0,93$	121,15
ĐC	$55,27 \pm 1,33$	100,00	$10,40 \pm 0,68$	100,00

Qua bảng 1 cho thấy, vào thời kỳ đẻ nhánh (sau khoảng 1 tháng cấy lúa) ở các chậu có bón chế phẩm vi khuẩn, chiều cao cây cũng như số nhánh đều tăng so với đối chứng, nhưng chỉ tiêu chiều cao cây tăng không đáng kể. Nguyên nhân của sự tăng số nhánh ở các lô thí nghiệm có thể là do khi lây nhiễm vào đất, các chủng vi khuẩn phân giải photpho khó tan (VKPGPPKT) sẽ tiết ra các axit hòa tan photpho khó tan ở trong đất, làm tăng lượng photphat hòa tan cho cây hấp thụ, mà ở giai đoạn đẻ nhánh là giai đoạn cây cần lân nhất. Theo một số tác giả, "đối với lúa

thì thời kỳ khủng hoảng photpho ở giai đoạn đẻ nhánh, thời kỳ hiệu suất cao là giai đoạn mạ và thời kỳ tích lũy nhiều nhất là giai đoạn làm đòng" và khi tăng lân sẽ tăng khả năng đẻ nhánh của cây lúa [3, 5].

2. Ảnh hưởng của các chế phẩm vi khuẩn đến trọng lượng cây lúa

Đánh giá tác động của các chế phẩm vi khuẩn tới trọng lượng cây lúa qua các thời kỳ sinh trưởng. Kết quả được trình bày ở bảng 2.

Bảng 2

Ảnh hưởng của các chế phẩm VKPGPPKT đến trọng lượng của cây lúa

Giai đoạn	Chế phẩm	Trọng lượng tươi		Trọng lượng khô	
		g/cây	% so với ĐC	g/cây	% so với ĐC
Đẻ nhánh	P ₄	3,53 ± 0,02	119,20	0,45 ± 0,26	115,38
	P ₈	3,67 ± 0,08	123,99	0,42 ± 0,09	107,69
	ĐC	2,96 ± 0,09	100,00	0,39 ± 0,24	100,00
Làm đòng	P ₄	4,37 ± 0,38	136,56	0,65 ± 0,07	110,17
	P ₈	3,97 ± 0,63	124,06	0,74 ± 0,15	125,42
	ĐC	3,20 ± 0,12	100,00	0,59 ± 0,07	100,00
Chín sấp	P ₄	8,55 ± 0,29	115,54	2,29 ± 0,30	103,15
	P ₈	8,26 ± 0,34	111,62	2,47 ± 0,06	111,26
	ĐC	7,40 ± 0,30	100,00	2,22 ± 0,06	100,00

Qua kết quả thí nghiệm, chúng tôi nhận thấy các chế phẩm nghiên cứu đều có tác dụng làm tăng trọng lượng tươi cũng như trọng lượng khô của cây qua các thời kỳ sinh trưởng. Tác động của chủng P₄ làm tăng trọng lượng khô của cây từ 3-15%, chủng P₈ tăng từ 7-25% so với đối chứng, trong khi đó trọng lượng tươi của cây lại tăng khá mạnh khi có lây nhiễm riêng rẽ từng chủng vi khuẩn, từ 11-36% so với đối chứng.

3. Ảnh hưởng của các chế phẩm vi khuẩn tới hàm lượng sắc tố của lúa

Để đánh giá ảnh hưởng của các chế phẩm vi khuẩn đến hàm lượng sắc tố tạo thành trong cây, chúng tôi tiến hành thu mẫu lá ở các giai đoạn đẻ nhánh, làm đòng và chín sấp để xác định

hàm lượng diệp lục. Kết quả phân tích được trình bày ở bảng 3.

Qua bảng 3, nhận thấy: ở cả lô thí nghiệm và đối chứng vào giai đoạn đẻ nhánh, hàm lượng diệp lục a tăng mạnh, trong khi đó hàm lượng diệp lục b lại đạt cực đại ở giai đoạn làm đòng. Giai đoạn chín sấp, ở lô có lây nhiễm chủng P₄, hàm lượng diệp lục giảm chậm hơn rất nhiều so với lô đối chứng và hàm lượng diệp lục tổng số vẫn cao hơn so với đối chứng 21%. Trên thực tế, khi sấp sửa thu hoạch, ở các chậu có bón chủng P₄, cây lúa vẫn còn xanh hơn nhiều so với lô đối chứng.

4. Tác động của các chế phẩm vi khuẩn đến cường độ quang hợp

Tiến hành xác định cường độ quang hợp ở các chế phẩm vi khuẩn lên cây lúa. Kết quả ba thời kỳ sinh trưởng để đánh giá tác động của được trình bày ở bảng 4.

Bảng 3

Ảnh hưởng của các chế phẩm VKPGPPKT đến hàm lượng sắc tố của giống lúa Khang Dân

Giai đoạn	Chế phẩm	Diệp lục a		Diệp lục b		Diệp lục tổng số	
		mg/g lá tươi	% so với ĐC	mg/g lá tươi	% so với ĐC	mg/g lá tươi	% so với ĐC
Đẻ nhánh	P ₄	8,06 ± 0,04	119,05	2,78 ± 0,04	110,75	10,84 ± 0,04	116,43
	P ₈	7,30 ± 0,07	107,82	2,81 ± 0,08	111,95	10,11 ± 0,09	108,59
	ĐC	6,77 ± 0,09	100,00	2,51 ± 0,04	100,00	9,31 ± 0,06	100,00
Làm đồng	P ₄	7,98 ± 0,05	120,00	3,26 ± 0,03	110,14	11,24 ± 0,05	116,59
	P ₈	6,97 ± 0,08	104,81	2,96 ± 0,01	100,00	9,93 ± 0,03	103,01
	ĐC	6,65 ± 0,06	100,00	2,96 ± 0,13	100,00	9,64 ± 0,07	100,00
Chín sấp	P ₄	6,22 ± 0,09	119,38	2,34 ± 0,04	125,13	8,56 ± 0,03	121,25
	P ₈	5,44 ± 0,12	104,41	2,26 ± 0,05	120,85	7,70 ± 0,10	109,07
	ĐC	5,21 ± 0,02	100,00	1,87 ± 0,06	100,00	7,06 ± 0,04	100,00

Bảng 4

Ảnh hưởng của các chế phẩm VKPGPPKT đến cường độ quang hợp của cây lúa

Giai đoạn	Chế phẩm	Cường độ quang hợp	
		mg CO ₂ /dm ² /h	% so với ĐC
Đẻ nhánh	P ₄	19,49 ± 0,91	110,74
	P ₈	17,81 ± 1,03	101,19
	ĐC	17,60 ± 0,94	100,00
Làm đồng	P ₄	18,92 ± 1,24	126,56
	P ₈	18,85 ± 1,03	126,09
	ĐC	14,95 ± 0,94	100,00
Chín sấp	P ₄	17,85 ± 0,82	113,05
	P ₈	17,04 ± 0,48	107,92
	ĐC	15,79 ± 0,67	100,00

Qua các số liệu thu được cho thấy: các chế phẩm vi khuẩn nghiên cứu hầu hết đều có tác dụng tăng cường độ quang hợp so với đối chứng qua các thời kỳ sinh trưởng của cây lúa, riêng chế phẩm P_8 ở giai đoạn đẻ nhánh thì cường độ quang hợp tăng không đáng kể (1,19%). Nhưng ở lô thí nghiệm có lây nhiễm chủng P_4 , cường độ quang hợp tăng từ 10-26% so với đối chứng.

5. Ảnh hưởng của các chế phẩm vi khuẩn tới sản lượng lúa

Tiến hành đánh giá tác động của sự lây nhiễm hai chủng vi khuẩn P_4 và P_8 đến sản lượng lúa theo công thức:

Sản lượng lý thuyết = (Số bông/m² x Số hạt/bông x % hạt chắc x Trọng lượng ^{1000 hạt})/1000

Kết quả được trình bày ở bảng 5.

Bảng 5

Ảnh hưởng của các chế phẩm VKPGPKT đến sản lượng của giống lúa Khang Dân

Chế phẩm	Trọng lượng thóc		Sản lượng lý thuyết	
	g/chậu	% so với ĐC	kg/m ₂	% so với ĐC
P_4	15,13 ± 0,63	158,10	4,74	136,41
P_8	13,97 ± 0,18	145,98	3,95	113,51
ĐC	9,57 ± 0,92	100,00	3,48	100,00

Từ kết quả trên cho thấy, hai chủng vi khuẩn P_4 và P_8 đều có tác dụng làm tăng trọng lượng thóc/chậu và tăng sản lượng lý thuyết so với đối chứng, nhưng hiệu lực của chủng P_4 vẫn mạnh hơn so với chủng P_8 . Qua các thí nghiệm về vi sinh học của hai chủng vi khuẩn này, cũng đã đánh giá được hoạt lực phân giải photpho của chủng P_4 mạnh hơn nhiều so với chủng P_8 , do đó khi bổ sung vào đất, chủng P_4 đã thể hiện khả năng chuyển hóa photpho khó tan thành dạng dễ tan mạnh hơn chủng P_8 [4].

III. KẾT LUẬN

Thử nghiệm bước đầu khi bón hai chế phẩm vi khuẩn P_4 và P_8 có khả năng phân giải photpho khó tan trên nền đất trồng giống lúa Khang Dân ở Thừa Thiên - Huế cho thấy:

1. Ở thời kỳ đẻ nhánh, chiều cao cây lúa tăng không đáng kể so với đối chứng, khả năng đẻ nhánh tăng 21%.
2. Trọng lượng tươi và khô tăng ở cả ba thời kỳ sinh trưởng, mạnh nhất là ở giai đoạn làm đòng.
3. Hàm lượng diệp lục tổng số và cường độ quang hợp thay đổi một cách đáng kể khi lây

nhiễm chủng P_4 .

4. Khi lây nhiễm riêng rẽ từng chủng vi khuẩn, trọng lượng thóc/chậu tăng 45-58%, sản lượng lý thuyết tăng 13-36% so với đối chứng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Lê Đức Diên, Cung Đình Lượng, Hà Duy Thứ. 1968: Thực tập lớn sinh lý thực vật. Tủ sách Trường đại học Tổng hợp Hà Nội.
2. Nguyễn Lân Dũng, 1984: Vi sinh vật đất và sự chuyển hóa các hợp chất cacbon và nitơ. NXB KH&KT, Hà Nội.
3. Trần Mạnh Hùng, 1992: Ảnh hưởng của Cu, Mn, Zn và quan hệ giữa Zn và P đối với giống lúa CR 203 trên đất phù sa sông Hồng. Luận án PTS, Hà Nội.
4. Phạm Thị Ngọc Lan, 2001: Phân lập và tuyển chọn vi khuẩn có khả năng phân giải photpho khó tan từ đất trồng lúa. Thông tin khoa học - Trường đại học Khoa học Huế, 12(4), 34-38.
5. Lê Văn Trí, 1996: Phân phức hợp hữu cơ vi sinh. NXB Nông nghiệp. Hà Nội.

EFFECT OF THE INOCULATION OF PHOSPHATE SOLUBILIZING BACTERIA ON SOME CHARACTERISTICS OF THE KHANGDAN RICE CULTIVAR

PHAM THI NGOC LAN, TRUONG VAN LUNG

SUMMARY

Two phosphate solubilizing bacteria strains P_4 and P_8 were inoculated in the Khangdan rice cultivar soil. Some characteristics of the Khangdan rice cultivar altered. The height of the rice plant increased inconsiderably but the raw and dry weights, the number of the branches, the photosynthesis, the chlorophyll content and the theoretical yield enlarged considerably in the experiment with the inoculation of the strain P_4 .

Ngày nhận bài: 22-7-2001

SỬ DỤNG VENT DNA POLYMERASE TRONG KỸ THUẬT PCR ĐỂ KHUẾCH ĐẠI CÁC ALLEN D17S5 (YNZ22)

NGUYỄN HOÀI GIANG, NGUYỄN HẠNH PHÚC,
LÊ THỊ KIM TUYẾN

Viện Vệ sinh Dịch tễ Trung ương

Trước đây, việc nghiên cứu xác định đặc trưng cá thể và các quan hệ huyết thống thường dựa vào các chỉ tiêu sinh học như dấu hiệu kiểu hình bên ngoài, nhóm máu, kiểu huyết thanh, các enzym của hồng cầu, hệ HLA (Human Leucocyte Antigens-các kháng nguyên hồng cầu người) ... Các chỉ tiêu này có độ tin cậy khá cao, tuy nhiên các chỉ tiêu kể trên vẫn còn có nhiều hạn chế vì không đủ tính chuyên biệt tuyệt đối cho từng cá thể. Trong công bố trước [3], chúng tôi đã thành công trong việc sử dụng kỹ thuật PCR với enzym xúc tác Taq DNA polymerase để khuếch đại các alen của locus D17S5 của người Việt Nam phục vụ nghiên cứu xác định đặc trưng cá thể và các quan hệ huyết thống ở mức độ DNA.

Các nghiên cứu khoa học [4,7] cũng đã chỉ rõ Vent DNA polymerase có những ưu điểm vượt trội so với Taq DNA polymerase như: Vent DNA polymerase bị mất 50% hoạt tính ở 95°C sau 360 phút so với 40 phút của Taq polymerase trong cùng điều kiện [7]. Vent polymerase cũng ít gây lỗi trong quá trình xúc tác tổng hợp DNA (1/31.000) so với Taq polymerase (từ 1/290 đến 1/2.400). Hơn nữa, Vent DNA polymerase còn có hoạt tính exonuclease theo chiều 3'-5' [4, 7]. Những ưu điểm này của Vent DNA polymerase sẽ rất có ý nghĩa nếu ứng dụng được nó trong kỹ thuật PCR để phục vụ công tác khoa học hình sự và y học...

Do vậy, nghiên cứu này của chúng tôi nhằm mục đích tìm điều kiện PCR tối ưu để khuếch đại các alen D17S5 khi sử dụng Vent DNA polymerase.

I. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

DNA của các cá thể khác nhau (lựa chọn

ngẫu nhiên cho nghiên cứu) được tách chiết bằng đệm phân giải và proteinase K từ máu tươi hoặc máu giữ trong chất chống đông [1].

Phản ứng PCR theo nguyên lý của Kary Mullis với các cặp mồi đặc hiệu cho locus D17S5 và enzym xúc tác Vent DNA polymerase [7]; điện di sản phẩm PCR trên gel polyacrylamid 6% [1]; nhuộm bản gel sau điện di bằng phương pháp nhuộm bạc [1].

Tối ưu hoá điều kiện PCR cho Vent DNA polymerase theo phương pháp thay đổi một thông số và cố định các thông số còn lại đã được chuẩn hoá với Taq DNA polymerase (1,2mM Mg^{2+} , nhiệt độ gán mỗi 60°C và 200 μM của bốn loại bazơ nitơ) [3].

II. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

1. Tối ưu hoá theo $MgSO_4$

Kỹ thuật PCR được tiến hành theo thường quy chuẩn [7] với DNA khuôn là các mẫu DNA tách chiết được từ các cá thể khác nhau, cặp mồi đặc hiệu cho locus D17S5, enzym xúc tác cho quá trình tổng hợp là Vent DNA polymerase và sự có mặt của $MgSO_4$. Do Vent DNA polymerase hoạt động tốt với sự có mặt của $MgSO_4$ từ 0 đến 10 mM [4,7], chúng tôi sử dụng các nồng độ $MgSO_4$ khác nhau thay đổi từ 0, 2, 4, 6, 8 và 10 mM để tìm ra thông số phù hợp nhất để khuếch đại các alen D17S5. Kết quả điện di sản phẩm PCR cho thấy khi không có $MgSO_4$ thì các băng DNA thu được rất mờ, thậm chí không quan sát được. Còn ở các nồng độ $MgSO_4$ khác là 4, 6, 8 và 10 mM thì thấy xuất hiện khá nhiều các băng DNA (trên dưới 10 băng khác nhau), nhưng không thể phân biệt được các băng đặc hiệu của alen D17S5. Ngược

lại, ở nồng độ $MgSO_4$ là 2 mM, các mẫu PCR thu được đều có 1 băng kép (đối với cá thể đồng hợp tử ở locut này) hoặc hai băng riêng biệt (dị hợp tử) và nằm đúng trong khoảng kích thước đã được công bố của các alen D17S5 (từ 170 đến 1080 cặp bazơ nitơ) [3, 5, 6]. Như vậy, để khuếch đại các alen D17S5, nồng độ $MgSO_4$ thích hợp nhất là 2 mM.

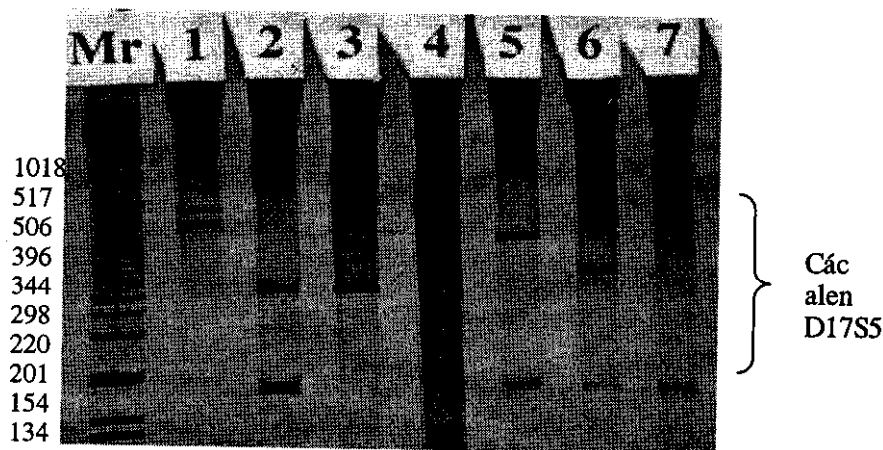
2. Tối ưu hoá theo nhiệt độ gắn mỗi

Trong kỹ thuật PCR như chúng ta đã biết, nhiệt độ gắn mỗi cũng là một yếu tố quan trọng góp phần nâng cao tính đặc hiệu của sản phẩm tạo ra [7]. Hơn nữa, theo các tài liệu khoa học đã công bố [4, 7], Vent DNA polymerase cho phép nâng nhiệt độ gắn mỗi lên thêm từ 4 đến 7°C so với cùng trường hợp sử dụng Taq DNA polymerase. Do vậy, chúng tôi tiến hành thí nghiệm PCR sử dụng Vent DNA polymerase với các nhiệt độ gắn mỗi khác nhau dựa trên thông số này đã được tối ưu hoá với Taq DNA polymerase cho locut D17S5 (60°C) [3]. Thí nghiệm được tiến hành với dãy nhiệt độ gắn mỗi khác nhau thay đổi từ 60, 62, 64, 66 và 68°C. Kết quả điện di các sản phẩm PCR được tạo ra từ các nhiệt độ gắn mỗi 60 và 62°C thu được cho các băng DNA rõ nét. Ở nhiệt độ gắn mỗi là 64°C, các sản phẩm PCR này đã mờ đi rất nhiều; ở 66 và 68°C thì gần như không quan sát được các băng DNA này nữa. Do vậy để tăng tính đặc

hiệu cho việc khuếch đại các alen D17S5 khi có Vent DNA polymerase là enzym xúc tác, 62°C được chúng tôi chọn làm nhiệt độ gắn mỗi. Điều này có thể được giải thích là do nồng độ Mg^{2+} dùng với Vent DNA polymerase là 2 mM, trong khi đó với Taq DNA polymerase chỉ là 1,2 mM, nên Mg^{2+} này cho phép gắn mỗi nhiệt độ cao hơn [7].

3. Tối ưu hoá theo bốn loại bazơ nitơ (dNTPs)

Khác với Taq DNA polymerase, Vent DNA polymerase có hoạt tính exonuclease theo chiều 3'-5', nên nồng độ dNTPs (bốn loại ATP, TTP, GTP và CTP) cũng là yếu tố quan trọng giúp cho DNA khuôn không bị thoái hoá trong quá trình thực hiện PCR [4, 7]. Chúng tôi tiến hành thí nghiệm với các nồng độ dNTPs thay đổi từ 50, 100, 150 và 200 μM . Kết quả điện di sản phẩm PCR cho thấy, chỉ ở nồng độ 200 μM chúng tôi mới thu được băng DNA đúng kích thước của các alen D17S5. Ở nồng độ dNTPs là 50 và 100 μM thì sản phẩm PCR không quan sát được. Còn ở nồng độ 150 μM , các sản phẩm PCR thu được có xuất hiện, nhưng mờ hơn trường hợp sử dụng 200 μM dNTPs rất nhiều. Kết quả này cho thấy nồng độ dNTPs bằng 200 μM là phù hợp nhất để khuếch đại các alen D17S5.



Ảnh. Kết quả khuếch đại alen D17S5 từ các cá thể khác nhau bằng PCR sử dụng enzym Vent DNA polymerase

Chú thích: Mr - Thang DNA chuẩn (1kb).

1, 2, 3, 4, 5, 6, và 7 - Các alen D17S5 được khuếch đại bằng PCR ở 7 cá thể khác nhau.

(Điều kiện PCR: 94°C 4'/94°C 1' - 62°C 1' - 72°C 1'/72°C 5': 25 chu kỳ - 1 đơn vị Vent DNA polymerase/50 μl hỗn hợp PCR - 2mM $MgSO_4$ - 200 μM dNTPs).

III. KẾT LUẬN

1. Khi tiến hành PCR để khuếch đại các alen D17S5 với Vent DNA polymerase thì nồng độ MgSO_4 thích hợp nhất là 2 mM.
2. Nhiệt độ gắn mỗi đặc hiệu là 62°C.
3. Nồng độ dNTPs cần sử dụng là 200 μM .

Sử dụng enzym Vent DNA polymerase trong kỹ thuật PCR cho phép khuếch đại thành công các alen của locus D17S5.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nguyễn Hoài Giang, 2000: Sử dụng các locus có đoạn lặp (VNTRs) để xác định đặc trưng cá thể ở người. Luận văn thạc sĩ sinh học - Trường đại học Khoa học tự nhiên.
2. Lê Đình Lương và cs., 2000: Sự phân bố các alen D1S80 (pMCT118) ở người Việt nam. Tạp chí Di truyền học & ứng dụng, số 3/2000.
3. Lê Đình Lương và cs., 2000: Sự phân bố các alen D17S5 (YNZ22) ở người Việt Nam. Tạp chí Di truyền học & ứng dụng, số 4/2000.
4. Catalog and Technical Reference, 2000-2001: New England Biolabs: 73-79.
5. Gecz. J., 1998: Nucleic Acids Research; 19(20): 5806
6. Harashima và cs., 1996: Nippon Hoigaku Zasshi, 50(4): 237-240.
7. Rolfs. A. I., et al., 1992: PCR: Clinical Diagnostics and Research. Springer-Verlag Berlin, Heidelberg: 1-12, 125, 244-250.

APPLYING OF VENT DNA POLYMERASE FOR THE AMPLIFICATION OF D17S5 (YNZ22) ALLELES BY PCR

NGUYEN HOAI GIANG, NGUYEN HANH PHUC,
LE THI KIM TUYEN

SUMMARY

D17S5 locus is highly polymorphic and has been used worldwide as an important marker for forensic, medical analyses and paternity tests.

Vent DNA Polymerase is a high-fidelity thermophilic DNA polymerase. The fidelity of Vent DNA Polymerase is 5 to 15 folds higher than that observed for Taq DNA Polymerase. This high fidelity derives in part from an integral 3'→5' proofreading exonuclease activity in Vent DNA Polymerase. Greater than 90% of the polymerase activity remains after one hour incubation at 95°C. Because of these advantages, we want to apply Vent DNA Polymerase for the amplification of D17S5 alleles by PCR.

Our study showed that PCR conditions for Vent DNA Polymerase were rather different than for Taq DNA Polymerase. The amplification of D17S5 alleles with Vent DNA Polymerase was optimal with the following parameters:

1. A final concentration of MgSO_4 in PCR mixture of 2 mM.
2. An annealing temperature for the specific D17S5 primers of 62°C.
3. A final concentration of dNTPs of 200 μM .

Ngày nhận bài: 17-10-2001

NHÂN GIỐNG *IN VITRO* CÂY TRE TÀU (*SINOCALAMUS LATIFLORUS*) VÀ TRE MẠNH TÔNG (*DENDROCALAMUS ASPER*)

VŨ NGỌC PHƯƠNG, PHẠM ĐỨC TRÍ,
ĐOÀN THỊ ÁI THUYỀN, TRINH VIỆT NGÀ,
TRẦN XUÂN DU, NGUYỄN VĂN UYỂN

Viện Sinh học nhiệt đới

Tre là nguyên liệu, nhiên liệu và thực phẩm quan trọng đối với Việt Nam cũng như nhiều nước nhiệt đới khác. Tre có đặc tính sinh học đặc biệt là sau hàng chục năm sinh trưởng và phát triển, thậm chí cả trăm năm mới ra hoa kết quả một lần nhưng sau đó bị chết hết. Vì vậy việc tái tạo giống hoặc nhân giống bằng hạt rất khó khăn. Phương pháp nhân giống truyền thống không đáp ứng được nhu cầu cây giống cho việc trồng rừng hiện nay. Việc nhân giống tre *in vitro* sẽ góp phần giải quyết tình trạng thiếu tre giống.

I. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Hai loài tre được dùng trong nghiên cứu này là tre tàu (*Sinocalamus latiflorus*) và tre mạnh tông (*Dendrocalamus asper*). Mẫu cấy là hạt tre của những cây trưởng thành mọc ở rừng bảo tồn Nam Cát Tiên. Hạt được rửa sạch bằng xà phòng, sau đó khử trùng trong cồn 70° và xử lý lần lượt trong hypoclorit canxi 3% trong 15 phút, HgCr₂ 0,05% trong 5 phút. Sau đó, mẫu được rửa nhiều lần bằng nước vô trùng và được đưa vào nuôi cấy.

Môi trường nuôi cấy là Murashige-Skoog 1962 (MS) [7] có bổ sung đường saccharose 30g/l, agar 8g/l, tổ hợp các chất điều hòa sinh trưởng khác nhau (ĐHST) gồm 6-Benzyl adenin (BA); 6-Furfuro aminopurin (Kinetin-Kin); -Naphthalen axit axetic (NAA); indol butyric axit (IBA) và pH = 5,8 trước khi hấp vô trùng. Nhiệt độ trong suốt quá trình thực nghiệm là 28°C ± 1.

Giai đoạn tạo và nhân chồi: cường độ ánh sáng 2000 lux, thời gian chiếu sáng 8 h/ngày. Các chất ĐHT được sử dụng BA, Kin.

Giai đoạn tạo rễ: Khoáng MS được giảm còn một nửa, nồng độ đường 10 g/l. Cường độ chiếu sáng 4000 lux, thời gian chiếu sáng 16 h/ngày. Các chất ĐHT được sử dụng NAA, IBA.

Thí nghiệm được bố trí theo kiểu ngẫu nhiên, lặp lại 3 lần.

Các số liệu được ghi nhận vào ngày thứ 30 sau khi cấy.

II. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

1. Sự hình thành chồi từ hạt

Hạt có kích thước từ 1-3 mm được gieo trên môi trường khoáng MS không có chất ĐHT, mỗi lần gieo 30 hạt, lặp lại 3 lần; sau một tuần cây cao 5-7 cm. Tỷ lệ hạt nảy mầm là 50-60%, tùy mỗi đợt. Có 3-4% số cây bị bạch tạng và được loại bỏ ngay.

Cây con được tách ra và cấy trên môi trường lỏng có bổ sung các chất ĐHT: BA 1-5 mg/l và Kin 0,5-2 mg/l. Qua tài liệu và thí nghiệm, cho thấy auxin, nhất là NAA, kìm hãm sự đẻ chồi [8, 10].

Các kết quả ở bảng 1 cho thấy nồng độ BA tốt nhất cho sự hình thành chồi ở cả hai loài trong giai đoạn này là từ 2-3 mg/l. Tăng BA lên 4 mg/l, số chồi hình thành tăng nhưng chồi nhỏ đi. Ở nồng độ 5 mg/l, chồi rất bé và có tỷ lệ nhỏ mầm bị chết.

Kết hợp Kin với BA tốt hơn khi chỉ sử dụng BA. Kin giúp tăng khả năng đẻ chồi nhưng cây không bị bé. Những cụm chồi mọc trên môi trường có BA và Kin cho hệ số nhân tương đương trên môi trường có nồng độ BA cao nhất nhưng không gây chết cụm chồi.

Bảng 1

Ảnh hưởng của BA và Kin lên sự hình thành chồi từ hạt

BA (mg/l)	Kinetin (mg/l)	Tre tàu			Tre mạnh tông		
		Số chồi	Chiều cao (mm)	% chết	Số chồi	Chiều cao (mm)	% chết
1	0	3	55	0	5-7	20-30	0
0	1	2	50	0	1-2	25	0
1	0,5	5	50	0	8-10	15	0
2	0	7	50	0	8-10	15	0
2	1	8	45	0	10-12	15	0
0	2	4	50	0	3-5	25	0
3	0	15	30	10	15-20	15	10
3	1	17	25	10	15-20	15	10
4	0	20	15	80	17-20	10	0
4	1	20	15	80	17-20	10	0
5	0	-	-	95	20	5	0
5	1	-	-	95	20	5	0

Nếu dùng BA và Kin riêng rẽ thì BA gây đẻ chồi tốt hơn Kin, nhưng chồi mọc trên môi trường có Kin xanh, khỏe và cao hơn chồi mọc trên môi trường có BA.

Mầm có kích thước 5-10 mm được cắt và cấy truyền sang môi trường mới tốt hơn là mầm có kích thước 25-30 mm.

2. So sánh khả năng sinh trưởng của hạt giống và vị trí mẫu nhân giống

Trong cùng một môi trường như nhau, tre mạnh tông đẻ chồi mạnh hơn tre tàu. Ngọn tre mạnh tông khi cắt rời và cấy trên môi trường cho cụm chồi chứa từ 12-30 chồi, trong khi đó tre tàu chỉ cho 8-10 chồi từ một ngọn.

Trường hợp lấy đốt giữa để cấy thì khả năng đẻ chồi kém hơn hẳn so với đốt ngọn. Điều này quan sát cả ở tre tàu lẫn tre mạnh tông.

Bảng 2

Khả năng đẻ chồi từ các đốt khác nhau

BA (mg/l)	Kinetin (mg/l)	Số chồi (tre tàu)			Số chồi (tre mạnh tông)		
		Từ ngọn	Từ đốt	Từ gốc	Từ ngọn	Từ đốt	Từ gốc
1	0	3	2	3	6	2	4
2	0	6	3	4	8	3	5
0	1	3	2	2	5	2	3
0	2	5	2	3	6	2	5
1	0,5	6	2	4	12	3	6
2	1	8	3	5	22	4	6
3	1	10	3	6	25	4	7

Khả năng đẻ chồi của ngọn tốt hơn các đốt khác cho thấy hướng lấy mẫu từ cây trưởng thành để nhân giống in vitro. Nên tiếp tục nghiên cứu theo hướng nhân giống trực tiếp từ chồi của cây trưởng thành dựa trên những kết quả nhân giống từ hạt [9]. Các kết quả trong bảng 2 gợi ý nên lấy mẫu nuôi cấy ban đầu là các ngọn cành non thì xác suất thành công cao hơn. Vấn đề giống cũng tương tự, nuôi cấy tre tàu khó hơn là tre mạnh tông.

Có thể có mối tương quan nào đó giữa nhân giống bằng chồi thân (stem bud) của cây in vitro và chồi thân của cây trưởng thành. Vì vậy nghiên cứu môi trường nhân giống chồi thân in vitro sau đó ứng dụng cho nuôi cấy ở cây trưởng thành là cần thiết. Việc lấy được hạt tre để lưu giữ nguồn gen và nhân giống là cơ hội hiếm hoi, trong khi đó việc nhân giống invitro từ một mẫu cây ban đầu kéo dài thường không tốt [3, 4].

3. Thời gian nuôi cấy và hệ số nhân

Nhận thấy hiện tượng là sau một số lần cấy truyền ban đầu, số chồi hình thành từ một cụm chồi tương đối nhiều, nhưng tốc độ nhân lại giảm dần (bảng 3).

Nồng độ chất BA lúc mới tạo cụm chồi tương đối cao từ 3-4 mg/l (bảng 1). Sau 2 lần cấy truyền, nồng độ chất ĐHST tối ưu là 2 mg/l BA + 1 mg/l Kin. Tổ hợp này có thể dùng để nhân rất nhiều thế hệ. Việc dùng BA và Kin ở nồng độ cao 4-5 mg/l không tốt vì làm chết chồi từ lần cấy truyền thứ 10 trở đi.

Tre tàu đẻ chồi kém hơn tre mạnh tông. Sau nhiều lần cấy truyền, tre tàu mất dần khả năng đẻ chồi trong khi đó tre mạnh tông lại giữ nguyên tốc độ. Bảng 3 cho thấy kết quả nhân chồi nhon qua 10 lần cấy truyền. Các con số trong bảng biểu thị hệ số nhân, là số chồi của một cụm chồi đẻ từ 1 chồi ngọn sau 3 tuần nuôi cấy. Trường hợp cây chết không nhân chồi tiếp tục được thì trong bảng biểu thị hệ số nhân là bằng 0.

Bảng 3

Ảnh hưởng của BA và Kinetin lên sự nhân chồi qua nhiều lần cấy truyền

BA (mg/l)	Kinetin (mg/l)	Số chồi sau số lần cấy truyền							
		Lần 1		Lần 2		Lần 3		Lần 10	
		Tre tàu	Tre mạnh tông	Tre tàu	Tre mạnh tông	Tre tàu	Tre mạnh tông	Tre tàu	Tre mạnh tông
1	0,5	6	12	12	22	10	21	5	15
2	1	8	22	14	26	12	22	6	17
3	1	10	25	10	27	7	24	0	20
4	1	20	25	0	30	0	0	0	0
5	0	0	20	0	0	0	0	0	0

Điều thú vị là cây tre ra hoa trên môi trường có BA (ảnh 3). Tre tàu ra hoa ngang thân, tre mạnh tông ra hoa ở gốc. Chưa xác định chính xác các yếu tố để chủ động làm tre ra hoa in vitro [2, 5]. Có thể BA cao góp phần kích thích sự ra hoa

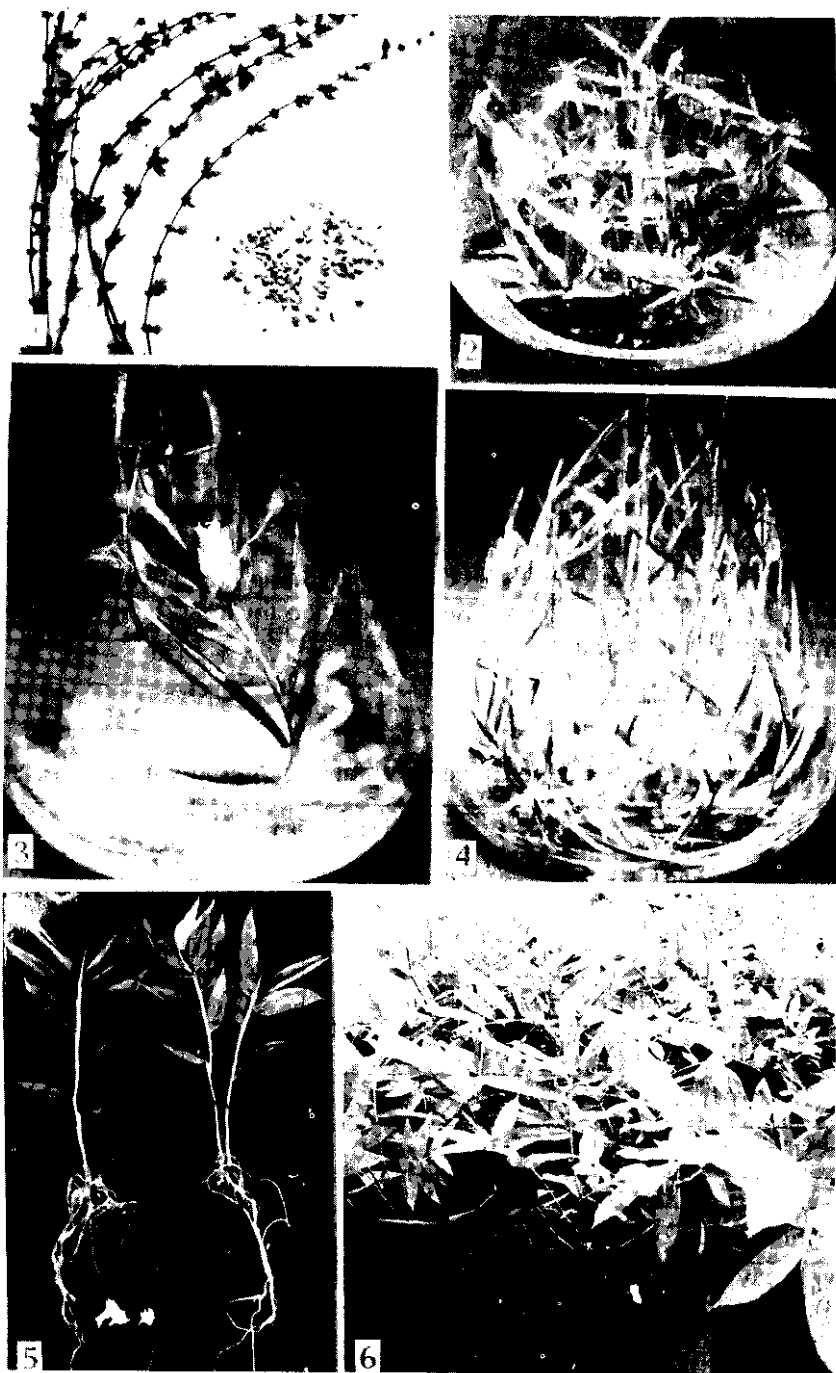
4. Tạo rễ

Trên nguyên tắc khi chuyển cây con sang môi trường có bổ sung auxin như IBA hoặc NAA và không có xytokinin, chúng sẽ phát triển

thành cây khỏe mạnh và có rễ [1]. Kết quả ở bảng 4 và ảnh 4-5 cho thấy rễ mọc tốt nhất trên môi trường có 10 mg/l IBA và tốt hơn NAA.

Nếu cấy một chồi nhỏ hoặc chồi có đốt thân vào môi trường ra rễ, cây tre sẽ sinh trưởng thành cây hoàn chỉnh và có bộ rễ khỏe mạnh. Trong khi đó, nếu cấy cây lớn hoặc cụm chồi vào môi trường ra rễ, cây sẽ ra rễ kém, do đó tỷ lệ sống sót ngoài vườn ươm cũng giảm.

Đối với tre mạnh tông, nên giữ những cụm cây cho những lần nhân giống tiếp theo. Còn đối



Ảnh 1. Hoa và hạt tre mạnh tông; 2. Chồi tre mạnh tông trên môi trường có BA 2 mg/l và Kin 1mg/l; 3. Tre tàu ra hoa trong ống nghiệm; 4. Cây tre tàu chuẩn bị cấy truyền sang môi trường tạo rễ; 5. Cây tre mạnh tông con chuẩn bị trồng vào bầu đất; 6. Cây tre mạnh tông 40 ngày tuổi trong bầu đất

với tre tàu, khả năng đâm chồi mới và hình thành rễ từ gốc thân rất kém cho nên chỉ dùng chồi ngọn để cấy sang môi trường tạo cây hoàn chỉnh. Tre tàu chỉ ra rễ trên môi trường có IBA.

Khả năng tái sinh của đốt thân tre tàu phần nào lý giải cho hệ số nhân thấp hơn so với cụm chồi tre mạnh tông trên môi trường nhân chồi có chứa BA và Kin (bảng 2 và 3).

Bảng 4

Ảnh hưởng của NAA và IBA lên sự ra rễ của cụm cây hoặc đốt tre

	Tỷ lệ ra rễ (%)		Số rễ		Chiều dài rễ (mm)	
	Tre tàu	Tre mạnh tông	Tre tàu	Tre mạnh tông	Tre tàu	Tre mạnh tông
Cụm cây + IBA 5ppm	50	80	3-5	8-10	60-80	30-50
Cụm cây + IBA 10ppm	80	100	3-5	10-15	60-80	30-50
Cụm cây + IBA 15ppm	70	90	3-5	10-15	60-80	30-50
Cụm cây + NAA3ppm	0	15	0	3-5	60-80	30-50
Đốt thân + IBA 5ppm	5	80	3-5	3-5	60-90	40-60
Đốt thân + IBA 10ppm	10	100	3-5	3-5	60-90	40-60
Đốt thân + IBA 15ppm	8	90	3-5	3-5	60-90	40-60
Đốt thân + NAA 3ppm	0	7	0	3-5	0	30-50

Bảng 4 cho thấy tre mạnh tông ra rễ tốt hơn tre tàu. Lá tre mạnh tông lớn hơn trong khi đó thân tre tàu to hơn và thẳng hơn. Khi trồng ra đất, tre mạnh tông dễ sống hơn tre tàu (ảnh 6).

III. KẾT LUẬN

Có thể nhân giống in vitro tre mạnh tông và tre tàu theo các bước sau:

1. Tạo chồi từ hạt tốt trên môi trường MS có BA 3mg/l và Kinetin 1mg/l.
2. Nhân chồi tốt trên môi trường MS có BA 2mg/l và Kinetin 1mg/l.
3. Chồi, cây con ra rễ và sinh trưởng thành cây hoàn chỉnh tốt trên môi trường có nồng độ khoáng MS giảm 1/2 và có IBA 10mg/l.
4. Hệ số nhân giống được ước tính 3^{12} cây bầu đất/năm/1 hạt tre ban đầu.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Arya S. et al., 1999: Plant Cell Reports, 18: 879-882.
2. Chambers S. M. et al., 1999: Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 27: 45-48.
3. D'Amato F., 1986: Spontaneous mutation and somaclonal variation, (session I) Genetic variation from in vitro culture, in: Nuclear techniques and in vitro culture for plant improvement. Proceedings of symposium jointly organized by IAEA and FAO, Vienna, 19-23 August: 3-10.
4. Debergh P. C. and Zimmerman R. H., 1991: Micropropagation technology and application. Kulwer Academic Press, Dordrecht, the Netherlands.
5. John C. K and Nadgauda R. S., 1999: In vitro Cell Dev. Biol-Plant, 35: 309-315.
6. McClure F. A., 1966: Them bamboos-a fresh perspective. Haward Universit Press, Cambridge, Mass.
7. Murashig T. and Skoog F., 1962: Physiol. Plant, 15: 473.
8. Prutpongse P. and Gavinlertvatana P., 1992: Hort. Science, 27(5): 453-454.

9. Ravikumar R. et al., 1998: Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 52: 189-192. 10. Saxena S., 1990: Plant Cell Report, 9: 431-434.

MICROPROPAGATION OF TWO BAMBOO SPECIES *SINOCALAMUS LATIFLORUS* AND *DENDROCALAMUS ASPER* BY TISSUE CULTURE

VU NGOC PHUONG et al.

SUMMARY

The micropropagation of two bamboo species *Sinocalamus latiflorus* and *Dendrocalamus asper* by tissue culture includes 4 steps:

1. Multishoot induction: Young shoots from germinating seeds. Basal MS salt medium supplemented with BA 3 mg/l and Kinetin 1 mg/l.
2. Multiple shoot propagation: MS medium supplemented with BA 2 mg/l and Kinetin 1 mg/l.
3. Induction of roots and full plantlets: Half-strength MS salt medium supplemented with IBA 10 mg/l.
4. A high rate of micropropagation, 3¹² of potted plantlets per year, could be attained, using this protocol.

Ngày nhận bài: 17-3-2001

NATIONAL CENTRE FOR NATURAL SCIENCE AND TECHNOLOGY OF VIETNAM
JOURNAL OF BIOLOGY
VOLUME 24 - NUMBER 2
6 - 2002

CONTENTS

	<i>Pages</i>
1. DANG NGOC THANH, HO THANH HAI	1-8
2. NGUYEN VAN HAO, NGUYEN HUU DUC	9-14
3. VU DINH THONG.	15-21
4. CHU VAN THUOC	22-30
5. LE VAN TRUONG, et al.	31-36
6. NGUYEN XUAN VIET	37-42
7. HOANG NGOC ANH, et al.	43-46
8. PHAM THI LE HA et al.	47-50
9. PHAM THI NGOC LAN, TRUONG VAN LUNG	51-55
10. NGUYEN HOAI GIANG, NGUYEN HANH PHUC, LE THI KIM TUYEN	56-58
11. VU NGOC PHUONG et al.	59-64

MỤC LỤC

		Trang
1. ĐẶNG NGỌC THANH, HỒ THANH HẢI	: Hai loài cua mới thuộc họ <i>Potamidae</i> ở Việt Nam.	1-8
2. NGUYỄN VĂN HẢO, NGUYỄN HỮU DỤC	: Một giống mới và một loài mới thuộc họ <i>Balitoridae</i> (Cypriniformes) tìm thấy ở huyện Điện Biên, tỉnh Lai Châu.	9-14
3. VŨ ĐÌNH THỐNG	: Kết quả nghiên cứu đơi ở khu vực Pù Hoạt, tỉnh Nghệ An.	15-21
4. CHU VĂN THUỘC	: Dẫn liệu về thành phần loài và phân bố của vi tảo biển độc hại sống bám trên các rạn san hô ở phía Bắc Việt Nam.	22-30
5. LÊ VĂN TRƯỜNG, TRƯƠNG NAM HẢI, LÊ TRẦN BÌNH, THOMAS SCHEWEDER	: Tạo dòng gen mã hóa α -amylaza lạnh từ vi khuẩn chịu lạnh <i>Pseudoalteromonas haloplanctis</i> 505.	31-36
6. NGUYỄN XUÂN VIẾT	: Quan hệ liên kết giữa các locus isozym ở cây khoai môn lưỡng bội ($2n = 2x$) <i>Colocasia esculenta</i> (L.) Schott.	37-42
7. HOÀNG NGỌC ANH, PISKOREV B. E., BEREZIN B. B., YAMSKOV I. A.	: Tách và bước đầu phân tích tính chất của các notoxin từ nọc của loài bò cạp <i>Buthus</i> sp.	43-46
8. PHẠM THỊ LỆ HÀ TRẦN THỊ THỦY, LÊ HẢI, NGUYỄN QUỐC HIẾN	: Khả năng diệt nấm phồng lá chè (<i>Exobasidium vexans</i> Masee) của chitosan chiếu xạ.	47-50
9. PHẠM THỊ NGỌC LAN, TRƯƠNG VĂN LUNG	: Ảnh hưởng của sự lây nhiễm vi khuẩn phân giải photpho khó tan vào đất đến một số chỉ tiêu sinh lý của giống lúa Khang dân.	51-55
10. NGUYỄN HOÀI GIANG, NGUYỄN HẠNH PHÚC, LÊ THỊ KIM TUYẾN	: Sử dụng VENT DNA polymerase trong kỹ thuật PCR để khuếch đại các alen D1 7S5 (YNZ22).	56-58
11. VŨ NGỌC PHƯỢNG, PHẠM ĐỨC TRÍ, ĐOÀN THỊ ÁI THUYỀN, TRỊNH VIỆT NGÀ, TRẦN XUÂN DU, NGUYỄN VĂN UYẾN	: Nhân giống <i>in vitro</i> cây tre tàu (<i>Sinocalamus latiflorus</i>) và tre mạnh tông (<i>Dendrocalamus asper</i>).	59-64

CV 27