

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 22 - SỐ 4

THÁNG 12-2000

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

Thư ký tòa soạn : **Trần Ngọc Trấn**

MỘT SỐ LOÀI THỰC VẬT MỚI CHO HỆ THỰC VẬT VIỆT NAM PHÁT HIỆN ĐƯỢC Ở NÚI ĐÁ VÔI TỈNH CAO BẰNG

NGUYỄN TIẾN HIỆP

Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật

PHAN KẾ LỘC

Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, ĐHQG Hà Nội

L. V. AVERYANOV

Viện Thực vật học Cômarốp, Liên bang Nga

Cao bằng là một tỉnh vùng núi ở cực đông bắc nước ta, nơi có giới sinh vật phong phú và đa dạng nhưng chưa được hiểu biết nhiều. Mặt khác, tốc độ tàn phá rừng và việc buôn bán quốc tế các loài đang bị tiêu diệt cũng như các sản phẩm của chúng vẫn chưa kiểm soát được hoàn toàn. Nói riêng núi đá vôi của Cao Bằng chiếm một diện tích lớn và ở nhiều độ cao khác nhau, từ 200-300 m đến gần 1600 m, nối liền với núi đá vôi của các tỉnh lân cận như Lạng Sơn, Bắc Kan và Hà Giang cũng như của tỉnh Quảng Tây (Trung Quốc). Núi đá vôi một mặt chứa đựng tính đa dạng thực vật rất cao và độc đáo, mặt khác là hệ sinh thái rất mỏng manh, một khi đã bị tàn phá, nhất là bị đốt cháy thì rất khó có khả năng được phục hồi. Phần lớn loài gặp trong hệ sinh thái này, chẳng hạn các loài thuộc lớp Thông hay nhiều loài Lan cũng trong tình trạng như vậy.

Chính vì vậy trong chương trình "Điều tra phát hiện tính đa dạng thực vật của núi đá vôi Việt Nam" chúng tôi đã chọn trước hết tỉnh Cao Bằng. Thực ra việc nghiên cứu này đã được bắt đầu từ 4 năm trước đây nhưng chỉ hạn chế ở vùng quanh hồ Thang Heng (huyện Trà Lĩnh). Các kết quả đã đạt được mà điển hình là việc phát hiện ra *Paphiopedilum helenae* Aver. - *Lan hài helen* và không ít loài LAN mới cho khoa *Pseudotsuga brevifolia* W. C. Cheng et L. K. Fu *Thiết sam giả lá ngắn* Carrière- *Du sam đá vôi* cho thấy cấp thiết phải mở rộng hơn nữa địa bàn và đối tượng nghiên cứu với thời gian lâu hơn.

I. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Chúng tôi đã thực hiện 2 đợt nghiên cứu: đợt 1 vào các tháng 11-12 năm 1998 vào mùa nhiều loài cây có quả và đợt 2 vào tháng 4 năm 1999 khi phần lớn cây ra hoa. Các địa điểm nghiên cứu chủ yếu thuộc các huyện Bảo Lạc, Nguyên Bình, Trà Lĩnh, Hạ Lang và Thạch An. Trên các núi đá vôi có nhiều quần xã thực vật khác nhau, nguyên sinh cũng như thứ sinh. Tuy nhiên chỉ những quần xã thực vật nguyên sinh mới có ý nghĩa quan trọng trong việc nghiên cứu tính đa dạng thực vật. Trong số các quần xã đó thì các quần xã thực vật nguyên sinh trên đỉnh và đường đỉnh chứa đựng tính đa dạng thực vật cao nhất và độc đáo nhất. Tổng cộng đã thu được 1078 số hiệu mẫu vật. Chúng được lưu trữ chủ yếu tại các Tập mẫu thực vật khô thuộc Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật, Việt Nam (Hà Nội), Viện Thực vật học Cômarốp, Liên Bang Nga (LE) và Vườn Thực vật Mítxuri, Hoa Kỳ (MO).

II - KẾT QUẢ

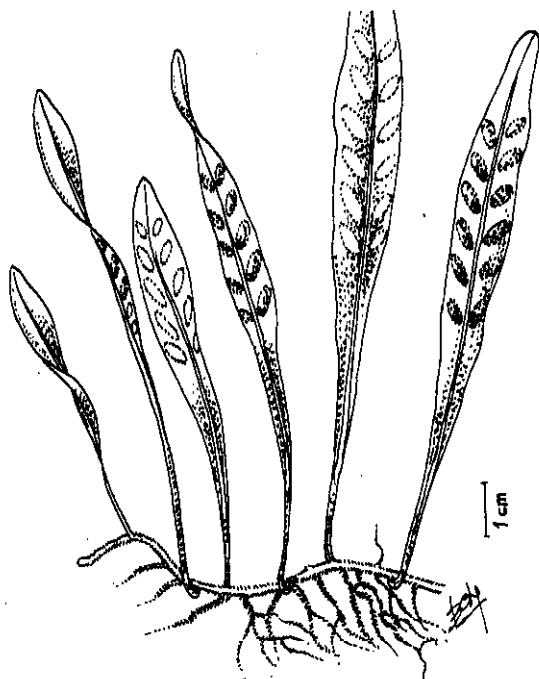
Kết quả nghiên cứu bước đầu một số mẫu thu thập được cho thấy các loài sau đây mới dồi với Hệ thực vật Việt Nam.

A - Các loài (Thực vật) Không hạt (trước đây vẫn dùng từ Hán Việt là Thực vật khuyết):

1. *Loxogramme graminoides* (Baker) C. Chr., 1997. Ind. Fil. Suppl. II: 21. *Gymnogramma graminoides* Baker, 1889. Journ. Bot. 27: 178. - **Ráng ỏ nghiêng dạng lâm bài** (POLYPODIACEAE - RÁNG) Hình 1.

* Công trình nhận được sự tài trợ của Hội Địa lý quốc gia Hoa Kỳ (tài trợ số 6300-98) và của Chương trình nghiên cứu cơ bản trong Khoa học tự nhiên, Việt Nam (Đề tài số 6.2.11).

CVv 27



Hình 1. *Loxogramme grammitoides* (Baker) C. Chr. - Răng ở nghiêng dạng lâm bài.
Hình dạng chung. Vẽ theo mẫu Phan Kế Lộc & Averyanov CBL-497

Loài thuộc yếu tố Đông Á, trước đây chỉ mới gặp ở Nhật Bản, trung và nam Trung Quốc (Icon..., 1972). Rất gần *L. acroscopa* (H. Christ) C. Chr., nhưng phân biệt ở chỗ phần dưới cuống "lá" không có lông, cũng như gần *L. chinensis* Ching, nhưng phân biệt ở chỗ "lá" có cuống rõ rệt, dài 1 - 2 cm. Mọc bám phổ biến trên thân cây gỗ, đôi khi cả trên đá ở trong rừng và trắng cây bụi rậm thường xanh mây mù nguyên sinh cũng như thứ sinh, trên đường đỉnh núi đá vôi có độ cao khoảng 1500 - 1580 m.

Mẫu vật nghiên cứu (Mvnc): Bảo Lạc, Đình Phùng, núi Nam Linh, Phan Kế Lộc & Averyanov CBL-497.

2. *Pteris actinopteroides* C. Chr. 1899. Bull. Herb. Boiss. 7: 6. - *Pteris henryi* sensu Taudieu & C. Chr., 1940. In Fl. Gén. Indoch. 7, 2: 147. p.p.- Sẹ gà cánh đều (PTERIDACEAE - SẼ GÀ) Hình 2.

Tác giả Blö và Crixtenxen (l.c.: 147) coi *P. actinopteroides* C. Chr. chỉ là tên đồng nghĩa của *P. henryi* C. Chr., nhưng chúng tôi chấp nhận quan điểm của các tác giả công bố trong Fl. Reip. Pop. Sin. (R. C. Ching & K. H. Shing, 1990) coi đó là 2 loài độc lập, phân biệt với

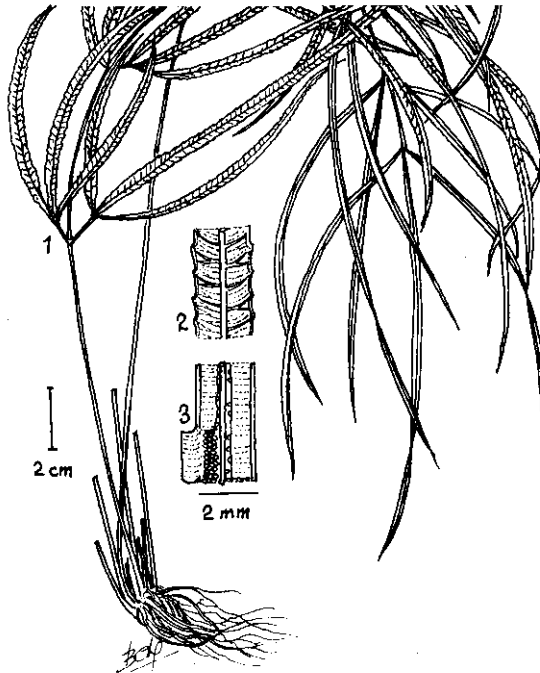
nhau chủ yếu ở màu sắc và độ nhăn bóng của cuống "lá". Cũng gần *P. multifida* Poir., nhưng phân biệt ở chỗ gốc thùy không men theo cuống thành cánh. Loài thuộc yếu tố Đông Á, trước đây chỉ mới gặp ở trung và nam Trung Quốc, trong đó có 3 tỉnh giáp giới với Việt Nam là Vân Nam, Quảng Tây và Quảng Đông. Theo Icon. Corm. Sin. (1: 149, hình 298) thì loài này cũng có ở Việt Nam nhưng không chỉ ra điểm gặp cụ thể. Chúng tôi chưa có điều kiện nghiên cứu lại các mẫu mà Tác giả Blö và Crixtenxen (1940) đã sử dụng để khẳng định xem có mẫu nào thuộc loài này hay không. Mọc bám ở hốc đất mùn ẩm giữa các khe đá vôi, nơi có khá nhiều ánh sáng, chủ yếu ở chân và phần sườn gần chân, nơi có độ cao khoảng 650-700 m.

Mvnc: Trà Lĩnh, Quang Vinh, Nguyễn Tiến Hiệp et al. CBL-1021.

B. Các loài thuộc lớp Thông:

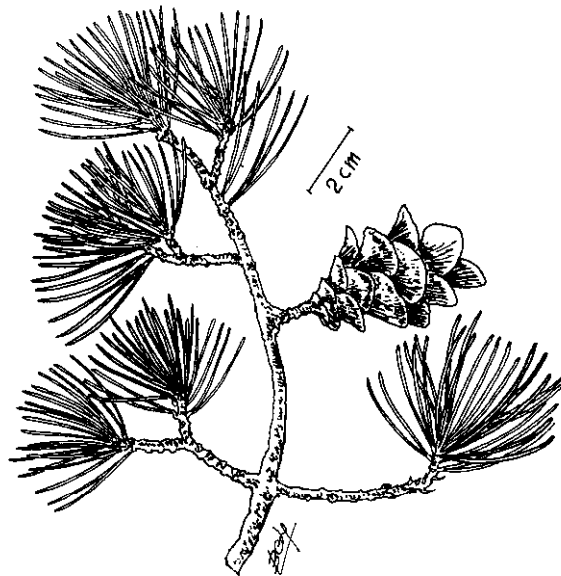
1. *Pinus kwangtungensis* Chun ex Tsiang var. *varifolia* N. Li & Y. C. Zhong., 1997. In N. Li & L. K. Fu, Novon 7 (3): 261. - Thông pà có ít lá (PINACEAE - THÔNG) Hình 3.

Ở Việt Nam *Pinus kwangtungensis* Chun ex



Hình 2. *Pteris actiniopteroides* C. Chr.- Sọ gỗ cánh dều.

1. Cây mang "lá" sinh dưỡng và "lá" sinh sản; 2. Một phần "lá" sinh dưỡng; 3. Một phần "lá" sinh sản. Vẽ theo mẫu Nguyễn Tiến Hiệp et al. CBL-1012



Hình 3. *Pinus kwangtungensis* Chun ex Tsiang var. *varifolia* N. Li & Y. C. Zhong- Thông pà cò ít lá. Một cành mang nón cái đã rụng hết hạt.
Vẽ theo mẫu Phan Kế Lộc & Averyanov CBL-748

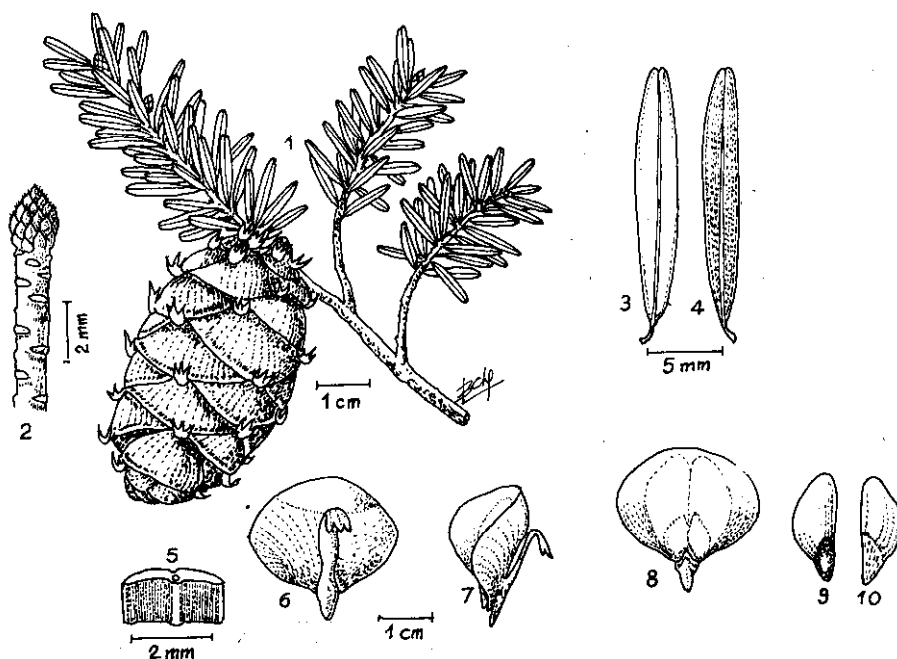
Tsiang lần đầu tiên được phát hiện ở núi đá vôi Pà Cò (huyện Mai Châu, tỉnh Hòa Bình) (Phan Kế Lộc, 1984) và nó thuộc về thứ chuẩn, var. *kwangtungensis* (N. Li & L. K. Fu, 1997). Trên đường đỉnh của nhiều ngọn núi đá vôi ở quanh hồ Thăng Heng, Trà Lĩnh (Nguyễn Tiến Hiệp & Phan Kế Lộc, 1998) và ở hầu hết các huyện khác cũng đã thu được nhiều mẫu vật của loài Thông

này nhưng thuộc về thứ khác - var. *varifolia* N. Li & Y. C. Zhong, phân biệt ở chỗ số lượng lá trên cành cực ngắn không phải luôn luôn 5 mà thường chỉ 3 - 4 và nón cái trưởng thành có kích thước nhỏ hơn, ít khi dài quá 4 cm và rộng quá 2 - 3 cm, trong khi ở thứ chuẩn các dẫn liệu tương ứng là 9 - 11 cm và 7 cm. Cả 2 thứ và do đó loài nói chung thuộc về yếu tố Đông Á, gặp ở nhiều tỉnh nam Trung Quốc, trong đó có Quảng Tây, Quảng Đông và Hải Nam, trên đá vôi và đá axit, ở độ cao 700 - 1600 m. Ở Cao Bằng *P. kwangtungensis* var. *varifolia* N. Li & Y. C. Zhong - *Thông pà cò ít lá* mọc trên nhiều đỉnh núi đá vôi có độ cao từ khoảng 800 đến 1440 m, rải rác trong quần xã ưu thế *Pseudotsuga*

brevifolia- *Thiết sam giả lá ngắn*.

Mvnc: Nguyên Bình, Yên Lạc, Nguyễn Tiến Hiệp et al. CBL-247, Phan Kế Lộc & Averyanov CBL-1564, CBL-1566; Trà Lĩnh, Cò Mườì, Nguyễn Tiến Hiệp et al. CBL-1121; Hạ Lang, Đức Quang, Lũng Hoàì, Phan Kế Lộc & Averyanov CBL-748, Đồng Loan, Phan Kế Lộc & Averyanov CBL-660.

2. *Pseudotsuga brevifolia* W. C. Cheng & L. K. Fu, 1975, Acta Phytotax. Sin. 13(4): 83, fig. 16. - *Pseudotsuga sinensis* Dode var. *brevifolia* (W. C. Cheng & L. K. Fu) Farjon & Silba. In Silba, 1990. Phytologia 68 (1): 71. - *Thiết sam giả lá ngắn* (PINACEAE-THÔNG) Hình 4.



Hình 4. *Pseudotsuga brevifolia* Cheng & L. K. Fu- *Thiết sam giả lá ngắn*

1. Cành mang nón cái già; 2. Một đoạn cành với chồi và vết rụng của lá; 3. Lá (mặt trên);
4. Lá (mặt dưới); 5. Sơ đồ cắt ngang lá (nhìn từ mặt dưới); 6. Vảy hạt (mặt lưng);
7. Vảy hạt và vết rụng của hạt (mặt bụng); 8. Vảy hạt cùng lá vảy (nhìn nghiêng);
9. Hạt cùng cánh (mặt ngoài); 10. Hạt cùng cánh (mặt tiếp xúc với vảy hạt).

Vẽ theo mẫu Nguyễn Tiến Hiệp et al. CBL-1185.

Ở tất cả các đường đỉnh và đỉnh núi đá vôi chưa bị chặt phá hay bị lửa rừng, có độ cao khoảng từ 500 đến 1500 m của tất cả các địa điểm nghiên cứu đều gặp các quần xã rừng nguyên sinh thuần loại hay ưu thế một loài Thông. Trong các đợt nghiên cứu trước đây ở

Thăng Heng (thuộc xã Quốc Toàn) chúng tôi chỉ thu được mẫu vật với nón cái đã rụng xuống cho nên lầm tưởng là *nón cái mọc dựng đứng*, do đó đã xếp nó vào chi *Keteleeria* Carrière-*Du sam* giống như ý kiến của Trần Ngũ Phương (1970) và định loại nhầm là *Keteleeria fortunei*

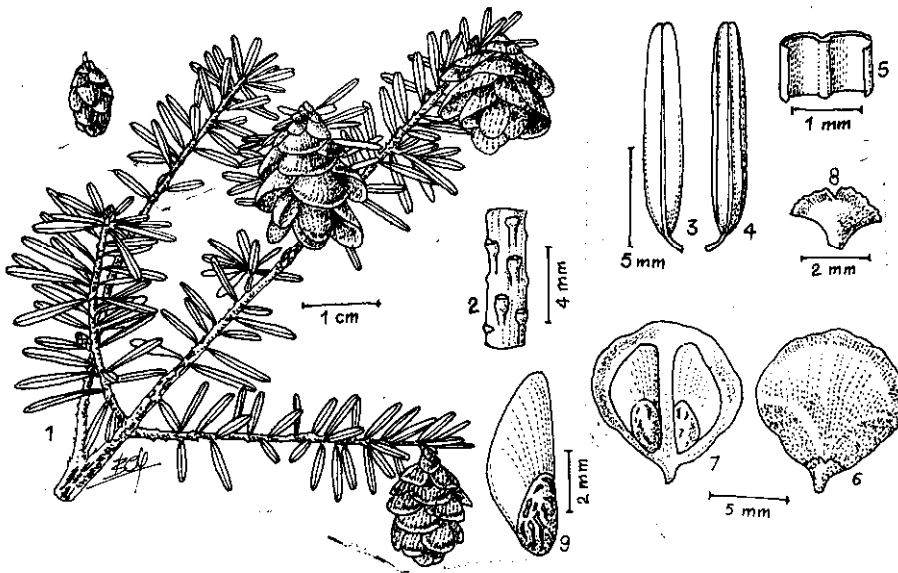
(A. Murray) Carrière - *Du sam đá vôi* (Nguyễn Tiến Hiệp et al., 1998). Trong 2 đợt nghiên cứu này chúng tôi đã thu được rất nhiều mẫu vật kèm theo nón cái già còn dính trên cành, luôn luôn ở tư thế *mọc chúc xuống* cho nên chúng không thể thuộc về chi *Keteleeria* Carrière- **Du sam** được. Hơn thế nữa do các vảy cái có lá vảy (trước đây thường dùng từ lá bắc, một thuật ngữ phiên âm chệch từ tiếng nước ngoài, tiếng latin là *bractea*, tiếng Anh là *bract* hay tiếng Pháp là *bractée*) *quạt ngược ra ngoài và trông thấy rõ trong nón cái* cho nên chúng thuộc về một chi mới đối với hệ thực vật Việt Nam, chi **Pseudotsuga** Carrière - **Thiết sam giả**. Chi này gồm 4-5 loài, 1-2 loài phân bố ở vùng ôn đới tây Bắc Mỹ và Mêhicô, 3 loài còn lại ở ôn đới và cận nhiệt đới Đông Á: Nhật Bản, Đài Loan và ở đất liền Trung Quốc (chủ yếu về nam sông Dương Tử, tây và nam Trung Quốc). Tất cả những mẫu vật mà chúng tôi thu được đều được định loại là *Pseudotsuga brevifolia* W. C. Cheng & L. K. Fu - **Thiết sam giả lá ngắn**. Nó rất gần *Pseudotsuga sinensis* Dode - **Thiết sam giả tấu**, và thậm chí có tác giả (ví dụ Farjon và Silba cho chỉ là một thứ của loài này), nhưng khác chủ yếu ở chỗ có lá ngắn hơn, rất ít khi dài đến 2 cm, trong khi ở loài kia thường dài 2 - 3 cm. Loài này thuộc yếu tố Đông Á, trước đây chỉ gặp ở Tứ Xuyên, Quý Châu, Triết Giang, Vân Nam và Quảng Tây (điểm thu mẫu gần Việt Nam nhất đồng thời cũng ở cực nam là Long Châu, ở độ cao 1250 m). Cây mọc ở chính đường đỉnh thường không cao quá 10 - 12 m và có thân ít nhiều vắn vẹo, còn khi mọc ở phần sườn gần đỉnh thì có thân thẳng và cao hơn, đến 18-22 m; cành nằm ngang làm cho tán cây có hình ô, rộng đến 10 - 15 m. Những cây có nón cái trưởng thành hình trứng hơi dài gặp rất phổ biến trong khi những cây có nón cái hình trụ ngắn gặp ít hơn nhiều. Quần xã thuần loại hay ưu thế *Pseudotsuga brevifolia* - **Thiết sam giả lá ngắn** mọc xen rải rác với 2 loài cây cùng họ là *Pinus kwangtungensis* var. *varifolia* - **Thông pà cò ít lá** và *Tsuga chinensis* var. *chinensis* - **Thiết sam đông bắc** và một loài cây lá rộng là *Quercus cf. Q. rupestris* Hickel & A. Camus - **Sồi cau đá** trước khi bị con người chặt phá và nạn lửa rừng chắc chắn đã bao phủ toàn bộ các đỉnh và đường đỉnh đá vôi của tỉnh Cao Bằng cũng như các tỉnh lân cận như Lạng Sơn, Bắc Cạn, Hà Giang, ở độ cao từ khoảng 500 m đến

các ngọn cao nhất như Nam Lĩnh 1587 m. Gỗ có cấu tạo mịn, màu trắng ngà, hơi thơm, không bị mối mọt, dễ gia công chế biến, nên rất được ưa chuộng để đóng đồ dùng gia đình.

Mvnc: Nguyễn Bình, Cà Thành, *Phan Kế Lộc & Averyanov CBL-385*, *Phan Kế Lộc et al. CBL-1284*; Trà Lĩnh, Quốc Toản, quanh hồ Thang Heng, *Nguyễn Tiến Hiệp et al. NTH-2103*, Lưu Ngọc, Lũng Mu, *Nguyễn Tiến Hiệp et al. CBL-1185 & CBL-1196*, Cò Mườì, Lũng Đát, *Nguyễn Tiến Hiệp et al. CBL-909 & CBL-1131*, Quang Vinh, *Nguyễn Tiến Hiệp et al. CBL-994 & CBL-1052*; Hạ Lang, An Lạc, Phia Đeng, *Phan Kế Lộc & Averyanov CBL-768*, Thanh Nhật, *Phan Kế Lộc & Averyanov CBL-698*, Đức Quang, Lũng Hoài, *Phan Kế Lộc & Averyanov CBL-747*, Đồng Loan, *Phan Kế Lộc & Averyanov CLB-673*.

2. *Tsuga chinensis* (Franch.) Pritz, 1901, Bot. Jahrb. 29: 217.- *Abies chinensis* Franch. 1899. Journ. Bot. 13: 259. - var. **chinensis** - **Thiết sam đông bắc** (PINACEAE-THÔNG) Hình 5.

Trong tổng số 10 loài của chi **Tsuga** (Endl.) Carrière - **Thiết sam**, một chi phân bố ở các vùng ôn đới ẩm và cận nhiệt đới của Bắc Mỹ và châu Á thì ở Việt Nam trước đây chỉ mới gặp ở một điểm duy nhất là núi Phăng Xi Păng (huyện Sa Pa, tỉnh Lào Cai), mọc trên núi đá granit, đất có tầng dày và ẩm ướt, ở độ cao khoảng từ 2400 đến 2800 m (Phan Kế Lộc, 1984), gần đây được định tên lại là *Tsuga dumosa* (D. Don) Eichler - **Thiết sam himalaya** (Nguyễn Tiến Hiệp & Vidal, 1996). Trên đường đỉnh của một dãy núi đá vôi có độ cao khoảng từ 1350 đến 1400 m, chúng tôi đã gặp một số cá thể của một loài khác thuộc chi **Tsuga** (Endl.) Carrière - **Thiết sam** và định loại là *Tsuga chinensis* (Franch.) Pritz. - **Thiết sam đông bắc**. Đây là loài thuộc yếu tố Đông Á, trước đây chỉ biết phân bố từ Đài Loan và miền trung Trung Quốc xuống đến miền Nam, trong đó có 3 tỉnh giáp với Việt Nam là Vân Nam, Quảng Tây và Quảng Đông (Icon..., 1972; W. C. Cheng et al., 1978; Sykes, 1994). Hơn thế nữa, nó thuộc về thứ chuẩn, var. *chinensis*, phân biệt với các thứ còn lại ở chỗ có cành mảnh hơn, đường kính thường chỉ khoảng 1 mm và có nón cái nhỏ hơn. Cần lưu ý là những mẫu chúng tôi thu được có số lượng vảy cái hữu thụ ít hơn so với mô tả chuẩn. Ngoài sự khác



Hình 5. *Tsuga chinensis* (Franch.) Pritz. var. *chinensis*- *Thiết sam đông bắc*
 1. Cảnh mang nón cái đã phóng thích hết hạt; 2. Một đoạn cành với vết rụng của lá;
 3. Lá (mặt trên); 4. Lá (mặt dưới); 5. Sơ đồ cắt ngang lá (nhìn từ mặt dưới);
 6. Vảy hạt (mặt lưng); 7. Vảy hạt với hạt (mặt bụng); 8. Lá hoa; 9. Hạt và cánh.
 Vẽ theo mẫu Nguyễn Tiến Hiệp et al. CBL-246

nhau rõ rệt về phân bố địa lý, độ cao so với mặt biển và môi trường sống thì 2 taxon của chi *Tsuga* (Endl.) Carrière - *Thiết sam* hiện gặp ở Việt Nam còn phân biệt với nhau bởi một số đặc điểm hình thái như sau:

1a. Chóp lá hơi nhọn, rất ít khi khía đôi; mép nguyên hay hơi có răng nông và thưa ở phần trên; lá dài nhất đến 20 mm.....
1. *T. dumosa* (D. Don) Eichler

1b. Chóp lá tù và luôn luôn khía đôi; mép nguyên, lá dài nhất đến 14 mm.....
2. *Tsuga chinensis* (Franch.) Pritz. var. *chinensis*

Ở Trung Quốc thứ chuẩn này gặp rộng rãi ở vùng núi bắc và trung Quảng Tây, ở Quảng Đông, Vân Nam và một số tỉnh khác ở miền trung. Ở Cao Bằng chỉ mới gặp *Tsuga chinensis* (Franch.) Pritz. var. *chinensis* - *Thiết sam đông bắc* ở xã Yên Lạc, mọc rải rác trong tầng ưu thế sinh thái đồng thời là tầng cao nhất của quần xã ưu thế *Pseudotsuga brevifolia*- *Thiết sam giả lá ngắn* ở độ cao khoảng 1350-1440 m. Cây gỗ mọc ở chính đường đỉnh và đỉnh có thân thường không cao quá 10 - 15 m và ít nhiều vụn vẹo,

còn cây mọc ở phần sườn gần đường đỉnh có thân thẳng và có thể cao hơn 20 m với đường kính thân đến 60 - 70 cm. Gỗ có cấu tạo mịn, màu trắng ngà, hơi thơm, không bị mối mọt, dễ gia công chế biến, nên rất được ưa chuộng để đóng đồ dùng gia đình.

Mvnc: Nguyễn Bình, Yên Lạc, Nguyễn Tiến Hiệp et al. CBL-246, Phan Kế Lộc et al. CBL-1561.

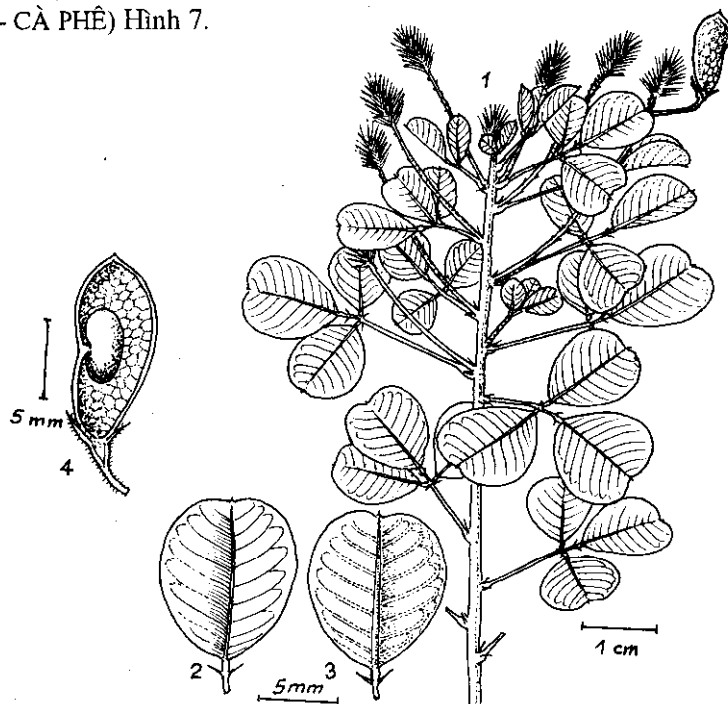
C. Các loài thuộc ngành Ngọc lan (thực vật Hạt kín) :

1. *Campylotropis henryi* (Schindl.) Schindl. 1912. Feddes Repert. Spec. Nov. Regni Veg. 11: 347.- *Lespedeza henryi* Schindl. 1911. l.c. 9: 517. - *Liệt đà có mũi* (ĐẬU - DƯỚI HỌ ĐẬU - LEGUMINOSAE - PAPILIONOIDEAE) Hình 6.

Loài thuộc yếu tố Đông Á, trước đây chỉ mới gặp ở tây nam Trung Quốc (Tây Tạng và Quý Châu) và bắc Lào (Luang Prabang). Cây bụi cao 1 - 2 m, chịu hạn và lửa rừng, mọc phổ biến trong rừng cây bụi nửa rụng lá thứ sinh trên đường đỉnh núi đá vôi, ở độ cao khoảng 600 - 900 m.

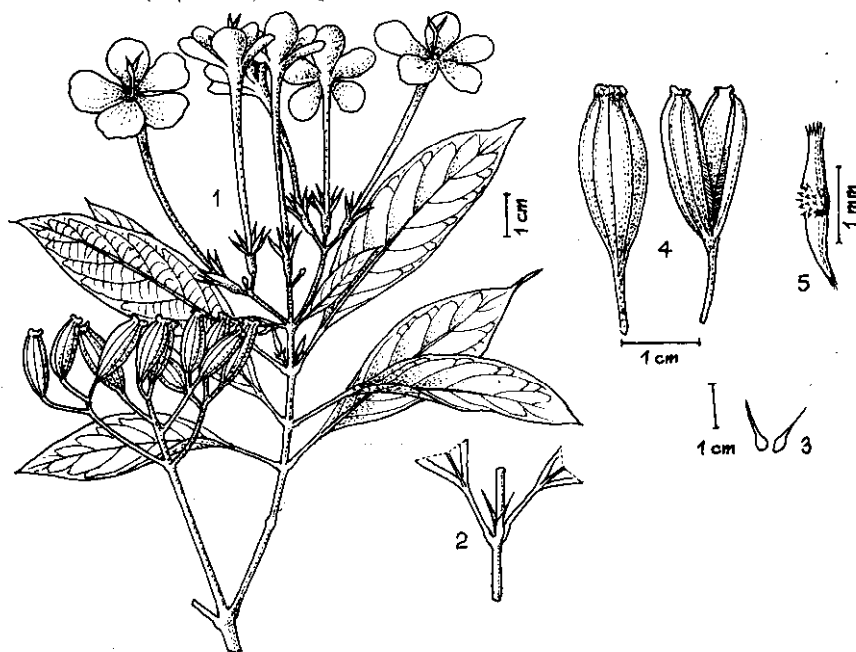
Mvnc: Hạ Lang, Đồng Loan, *Phan Kế Lộc & Averyanov CBL-644*; Thạch An, Thái Cường, *Phan Kế Lộc et al. CBL-993/1*.

2. *Luculia yunnanensis* S. Y. Hu, 1951. Journ. Arnold Arb. 32: 398. - **Lu cu thơm ngát** (RUBIACEAE - CÀ PHÊ) Hình 7.



Hình 6. *Campylotropis henryi* (Schindl.) Schindl. - **Iệt đà có mũi**.

1. Hình dạng chung cành mang di tích các cụm hoa và quả già. 2. Lá chét (mặt trên); 3. Lá chét (mặt dưới); 4. Quả. Vẽ theo mẫu *Phan Kế Lộc et al. CBL-993/1*



Hình 7. *Luculia yunnanensis* S. Y. Hu- **Lu cu thơm ngát**

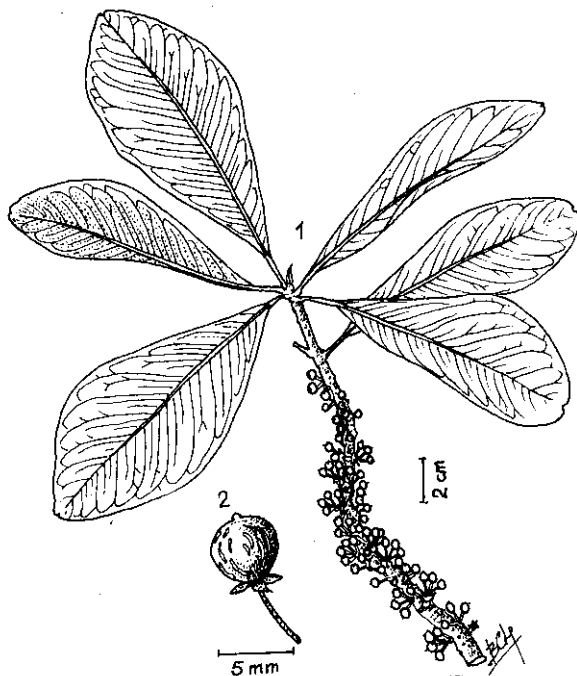
1. Cành mang hoa và quả; 2. Cuống lá và lá kèm; 3. Lá kèm; 4. Quả; 5. Hạt.
Vẽ theo mẫu *Nguyễn Tiến Hiệp et al. CBL-279*

Theo Phạm Hoàng Hộ (1993: 164, hình 7486) ở Việt Nam chỉ gặp một loài thuộc chi **Luculia** Sweet - **Lu cu** trồng làm cảnh ở Sa Pa là *Luculia pinceana* Hook f. Những mẫu vật mà chúng tôi thu được khác với loài vừa kể chủ yếu ở chỗ có ống tràng dài đến 5 - 7 cm, cuống lá ngắn hơn, phiến lá có lông ở mặt dưới và có số lượng gân bậc hai ít khi đến 10. Hoa rất thơm. Nó được định loại là *Luculia yunnanensis* Hu-Lu cu thơm ngát, một loài thuộc yếu tố Đông Á, cho đến nay mới chỉ gặp ở Vân Nam. Cây mọc

tự nhiên trong các thảm cây bụi thứ sinh ở chân và trên sườn núi đá vôi, ở độ cao khoảng 1100 - 1400 m.

Mvnc: Nguyễn Bình, Yên Lạc, Nguyễn Tiến Hiệp et al. CBL-279

3. *Myrsine kwangsiensis* (E. H. Walker) Pipoly & C. Chen, 1995. Novon 5(4): 361. - *Rapanea kwangsiensis* E. H. Walker, 1931. Bull. Fan Mem. Inst. Biol. 9: 133. - **Xây lá to** (MYRSINACEAE - ĐÓN NEM) Hình 8.



Hình 8. *Myrsine kwangsiensis* (E. H. Walker) Pipoly & C. Chen- **Xây lá to**.
1. Cành mang quả; 2. Quả già. Vẽ theo mẫu Averyanov et al. CBL-294.

Rất gần với *Myrsine neriifolia* Siebold et Zucc. (syn. *Rapanea neriifolia* (Siebold et Zucc.) Mez), nhưng phân biệt ở chỗ có phiến lá to hơn, dài đến 16 - 21 cm chứ không phải chỉ 7 - 17 cm. Loài thuộc yếu tố Đông Á, trước đây chỉ mới gặp ở Quảng Tây. Cây gỗ nhỏ, thường xanh, cao đến 15 - 20 m, đường kính thân đến 25 - 35 cm, ưa sáng, chịu hạn và lửa rừng, thường mọc trong rừng thưa và trảng cây bụi rậm thường xanh thứ sinh trên sườn và đường đỉnh núi đá vôi ở độ cao khoảng từ 700 đến 1400 m. Gặp khá phổ biến. Tái sinh bằng hạt tốt.

Mvnc: Quảng Hòa, Quốc Phong, Lũng Trang, Phan Kế Lộc P-7836; Thạch An, Thái Cường, Averyanov et al. CBL-924.

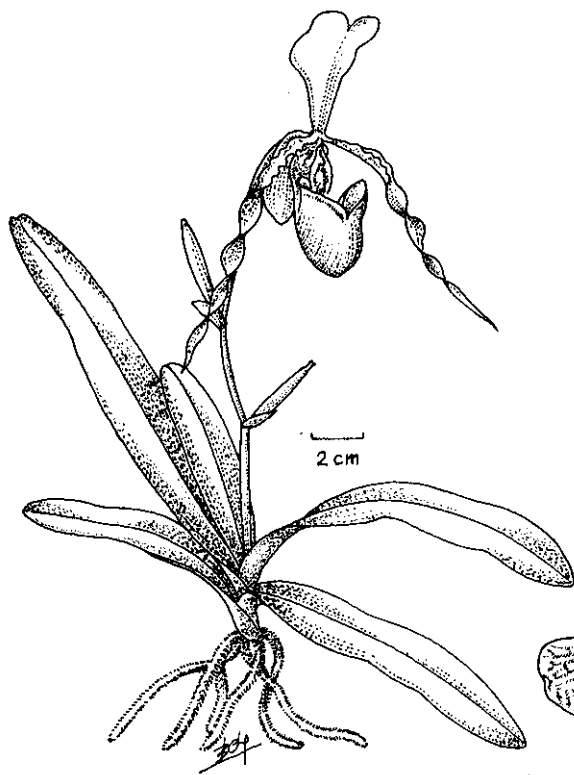
4. *Paphiopedium dianthum* T. Tang & F. T. Wang, 1940, Bull. Fan. Mem. Inst. Biol. Ser. 10: 24. - **Lan hài xoắn** (ORCHIDACEAE - LAN) Hình 9.

Loài thuộc yếu tố Đông Á, trước đây chỉ mới gặp ở nam Trung Quốc trong đó có 2 tỉnh giáp giới với Việt Nam là Vân Nam và Quảng Tây (Cribb: 193). Ở Việt Nam gần đây có gặp trồng ở Sa Pa cũng như một vài vùng núi khác. Theo dân địa phương, cây lấy từ hoang dại ở các cùng núi lân cận giáp giới Việt - Trung nhưng không biết rõ địa điểm và môi trường sống cụ thể. Đây là lần đầu tiên chúng tôi thu thập được mẫu vật trong tự nhiên kèm theo đầy đủ lý lịch. Chỉ mới gặp một lần. Cây mọc thành

cụm rất rải rác, bám ở khe và vách đá vôi có nhiều mùi ẩm, dưới tán rừng rậm thường xanh thuần loại *Pseudotsuga brevifolia*- *Thiết sam giả lá ngắn* trên đường đỉnh hay sườn gần đỉnh núi đá vôi, ở độ cao khoảng 1400 m. Cây nở hoa vào tháng 11.

Mvnc: Nguyễn Bình, Ca Thành, *Phan Kế Lộc et al. CBL-394*.

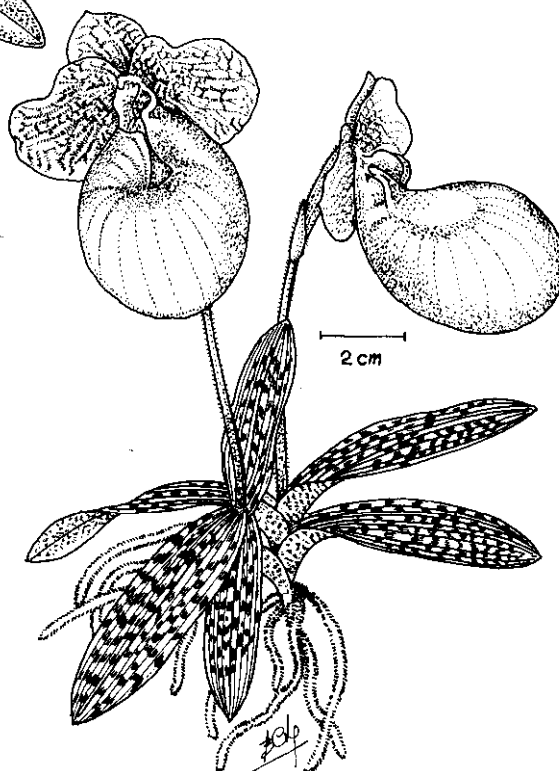
5. *Paphiopedilum micranthum* T. Tang & F. T. Wang, 1951. Acta Phytotax. Sin. 1: 56.- **Lan hài hoa mạng đỏ tía** (ORCHIDACEAE - LAN) Hình 10.



Hình 9. *Paphiopedilum dianthum* T. Tang & F. T. Wang - **Lan hài xoắn**.

Hình dạng cây mang hoa.

Vẽ theo mẫu *Phan Kế Lộc et al. CBL-394*.



Hình 10. *Paphiopedilum micranthum* T. Tang & F. T. Wang - **Lan hài hoa mạng đỏ tía**.

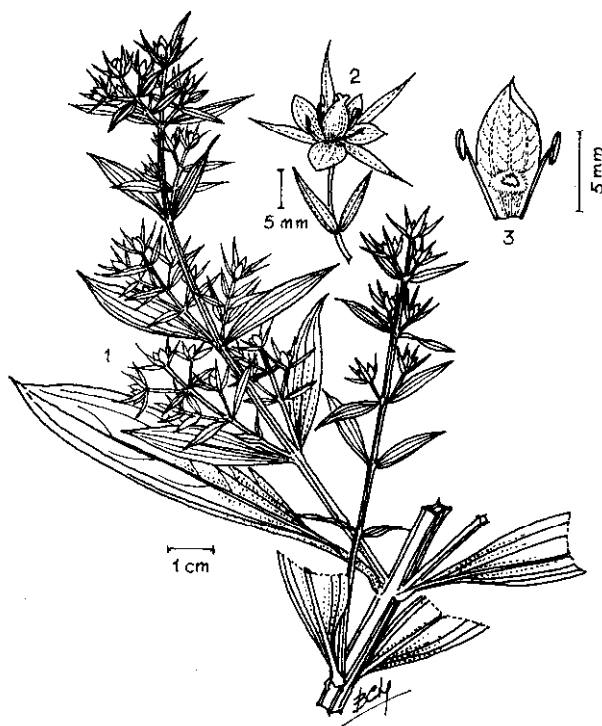
Hình dạng cây mang hoa. Vẽ theo mẫu *Phan Kế Lộc et al. CBL-1477*

Loài thuộc yếu tố Đông Á, trước đây mới chỉ gặp ở nam Trung Quốc, trong đó có 2 tỉnh giáp giới với Việt Nam là Vân Nam và Quảng Tây, mọc trên sườn núi đá vôi ở độ cao 450 - 1550 m so với mặt biển (Cribb: 99). Loài này phân bố khá rộng rãi ở các vùng núi đá vôi của Cao Bằng, mọc thành từng đám nhỏ ở các khe đá vôi giàu mùn, ẩm và ít ánh sáng trên đường đỉnh và phần sườn gần đường đỉnh của nhiều dãy núi đá vôi có độ cao khoảng từ 700 đến 1400 m, dưới tán rừng rậm thường xanh thuần loại hay ưu thế *Pseudotsuga brevifolia* - *Thiết sam giả lá ngắn*, có khi là *Tsuga chinensis* var. *chinensis* - *Thiết sam đông bắc*, thậm chí cả

dưới tán trắng cây bụi rậm thường xanh hay nửa rụng lá gồm các loài *Lithocarpus* sp., *Quercus* sp., *Platycarya strobilacea*, *Rhododendron* sp., *Ulmus* sp., *Carpinus* sp., *Illicium difengpii* v.v., sót lại hay tái sinh sau khi chặt hết cây gỗ nhưng chưa từng chịu lửa rừng. Cây nở hoa rõ từ cuối tháng 3 đến đầu tháng 5.

Mvnc: Nguyễn Bình, Ca Thành, Phan Kế Lộc & Averyanov CBL-1477 & 1577

6. *Swertia nervosa* (Wall. ex G. Don) C. B. Clarke, 1883. In Fl. Brit. India 4: 125.- *Agathotes nervosa* Wall. ex G. Don, 1837. Gen. Hist. 4: 177.- **Hoạt gân màu** (GENTIANACEAE - LONG ĐỎM) Hình 11.



Hình 11. *Swertia nervosa* (Wall. ex D. Don) C. B. Clarke- *Hoạt gân màu*.
1. Cảnh mang hoa; 2. Hoa; 3. Cánh hoa mang tuyến ở gần gốc và 2 nhị đực.
Vẽ theo mẫu Nguyễn Tiến Hiệp et al. CBL-280

Ở Việt Nam Phạm Hoàng Hộ (Cây cỏ Việt Nam 2 (2): 853, hình 6083 và hình 6084) lần đầu tiên ghi nhận được 2 loài thuộc chi này mọc ở đồng cỏ hay rừng thưa của chân núi Lang Bian và đèo Prenn (Lâm Đồng) là *Swertia angustifolia* Buch.-Ham. ex D. Don và *Swertia pulchella* (D. Don) Buch.-Ham. phân biệt với

nhau bởi chiều dài của thùy dài so với thùy tràng. Ngày nay một số tác giả (ví dụ T. N. Ho et al., 1995) coi chúng chỉ là 2 thứ: var. *angustifolia* và var. *pulchella* (D. Don) Burkill của cùng một loài *Swertia angustifolia* Buch.-Ham. Những mẫu vật mà chúng tôi thu được phân biệt với 2 thứ của loài kể trên chủ yếu ở

chỗ có thù dài dài hơn thù trằng rõ rệt và thù trằng không có các đốm màu nâu mà là gân có màu đỏ tía, và sau đó là lá, cuống hoa, chỉ nhị và bao phấn dài hơn. Nó thuộc về loài *Swertia nervosa* (Wall. ex G. Don) C. B. Clarke, một loài thuộc yếu tố Đông Á, phân bố từ bắc Ấn Độ, Nepal, Xích Kim, Butan qua trung và nam Trung Quốc (trong đó có 2 tỉnh giáp giới với nước ta là Vân Nam và Quảng Tây) và lan xuống đến cực bắc Việt Nam. Cây mọc rải rác trên nương rẫy vừa bỏ hoang ở chân núi đá vôi, ở độ cao khoảng 1200 m.

Mvnc: Nguyễn Bình, Yên Lạc, *Nguyễn Tiến Hiệp et al. CBL-280*

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Cheng W. C.** et al., 1978: **Pinaceae.** In W. C. Cheng & L. K. Fu (eds.). *Fl. Reip. Pop. Sin.* 7: 103, 117. Science Press. Beijing.
2. **Cribb P.**, 1988: The genus **Paphiopedilum.** 2nd ed. Natural History Publications (Borneo) & The Royal Botanic Gardens, Kew: 91, 189.
3. **Gaussen H.**, 1966: **Tsuga.** Les Gymnospermes actuelles et fossiles VIII. Toulouse, Fac. Sciences. 637-662.
4. **Ho T. N.** et al., 1988: **Gentianaceae.** In T. N. Ho (ed.). *Fl. Reip. Pop. Sin.* 62: 386. Science Press. Beijing.
5. **Ho T. N.** & **J. S. Pringle**, 1995: **Gentianaceae.** In C. Y. Wu & P. H. Raven (eds.). *Fl. China* 16: 116. Science Press (*Beijing*) & Missouri Botanical Garden (*St. Louis*).
6. **Huo, S. H.**, 1986: **GYMNOSPERMAE.** In C. Y. Wu et al. (eds.). *Fl. Yunnan* 4: 1. Science Press. Beijing.
7. **Iconographia Cormophytorum Sinicorum**, 1972: Tomus 1: 197. Science Press. Beijing.
8. **Li H. L.** & **H. Keng**, 1994: **Pinaceae.** In *Fl. Taiwan.* 2nd ed. Vol. 1: 557. Taipei, Taiwan, ROC.
9. **Li N.** & **L. K. Fu.**, 1997: Notes on Gymnosperms I. Taxonomic treatments of Some Chinese Conifers. *Novon* 7(3): 261-264.
1. **Nguyễn Tiến Hiệp & J. E. Vidal**, 1996: **Pinaceae.** In *Fl. Camb. Laos & Vietn.* 28: 24-50, Paris.
2. **Nguyễn Tiến Hiệp, L. V. Averyanov và Phan Kế Lộc**, 1998: Cần bảo vệ quần xã Du sam đá vôi vùng Thảng Heng (Trà Lĩnh, Cao Bằng). *Tạp chí Lâm nghiệp* 6: 38-40.
12. **Nguyễn Văn Thuán**, 1987: **Campylotropis.** In *Fl. Camb. Laos & Vietn.* 23: 194, Paris.
13. **Phạm Hoàng Hộ**, 1991-1993: Cây cỏ Việt Nam 1(2), 3(1), Montréal.
14. **Phan Kế Lộc**, 1984: Các loài thuộc lớp **Thông Pinopsida** của hệ thực vật Việt Nam. *Tạp chí Sinh học* 6, 4: 5-10.
15. **Pipoly III J. J.** & **C. Chen**, 1995: Nomenclature Notes on the **Myrsinaceae** of China. *Novon* 5(4): 361.
16. **Shieh W. C.** et al., 1994: **Polypodiaceae.** In T. C. Huang (ed.). *Flora of Taiwan.* 2nd ed. Vol. I: 496. Taipei, Taiwan, ROC.
17. **Shing K. H.** et al., 1990: **Pteridaceae.** In R. C. Ching & K. H. Shing (eds.). *Fl. Reip. Pop. Sin.* 3(1): 20. Science Press. Beijing.
18. **Silba J.**, 1990: A Supplement to the international Census of the **Coniferae** II. *Phytologia* 68 (1): 71.
19. **Sykes W. R.**, 1991: Gymnospermae of Guangxi, South China. *Guihaia* 11(4): 339-376.
20. **Wu C. Y.** (ed.), 1977: **Myrsinaceae.** In *Fl. Yunnan* 1: 383. Science Press. Beijing.

(Xem tiếp trang 30)

GIỐNG CÁ CHÁO *OPSARIICHTHYS* Ở VIỆT NAM VÀ MÔ TẢ 2 LOÀI MỚI THUỘC GIỐNG NÀY

NGUYỄN VĂN HẢO

Viện nghiên cứu nuôi trồng thủy sản I

NGUYỄN HỮU DỰC

Trường đại học Sư phạm Hà Nội I

Theo các tài liệu giống cá Cháo *Opsariichthys* Bleeker, 1863 (*Danioninae*, *Cyprinidae*, *Cypriniformes*) có 2 loài: *Opsariichthys uncirostris* (Temminck & Schlegel, 1842) và *O. bidens* Gunther, 1873 phân bố ở Nhật Bản, Đông Bắc sông Hắc Long giang và sông Trung Hoa (Trung Quốc).

Các tài liệu đã công bố ở nước ta về giống này, có nêu 2 dạng sau:

- *Opsariichthys uncirostris* (non Temm. & Sch.) như Chevey & Lemasson [8], Nguyễn Văn Hảo [2] và Nguyễn Hữu Dực [1].

- *O. uncirostris bidens* (Gunther) như Mai Đình Yên [6] và Nguyễn Thái Tự [4].

Các nghiên cứu gần đây cho thấy các tên trên chỉ là tên đồng vật của các loài cá Cháo *Opsariichthys bidens* Gunther phân bố rộng ở miền Bắc và miền Trung nước ta.

Năm 1987 Nguyễn Thái Tự đã công bố 2 loài mới thu được ở Nghệ An và Hà Tĩnh [5] nâng tổng số các loài cá thuộc giống này phân bố ở nước ta lên 3 loài là: *O. bidens* Gunther, 1873, *O. hienii* Tự, 1987, và *O. beai* Tự, 1987.

Khi nghiên cứu khu hệ cá vùng Tây Bắc, chúng tôi đã tìm thấy thêm 2 loài cá mới thuộc giống này, xin mô tả dưới đây:

1. *Op sariichthys songmaensis* V. H. Nguyen & H.D. Nguyen, sp. nov.

(Ảnh 1)

Holotyp: Cá thể đực

- Tên Việt Nam: Cá Cháo.

- Tên địa phương: Pa Xăm (tiếng Thái).

- Nơi sưu tầm: Sông Mã, tại Thị trấn Sông Mã, huyện Sông Mã, tỉnh Sơn La.

- Thu ngày: 4 tháng 5 năm 1999.

- Lưu trữ mẫu tại: Phòng tiêu bản cá, Viện Nghiên cứu nuôi trồng thủy sản I.

- Ký hiệu mẫu: H.01.15.02.01.

- Người thu mẫu: Nguyễn Văn Hảo.

Paratyp: 5 mẫu

- 2 mẫu cùng nhân với holotyp. Ký hiệu mẫu: H.01.15.02.02 và H.01.15.02.03. Lưu trữ tại Phòng tiêu bản cá, Viện nghiên cứu nuôi trồng thủy sản trung ương I. Người thu mẫu: Nguyễn Văn Hảo.

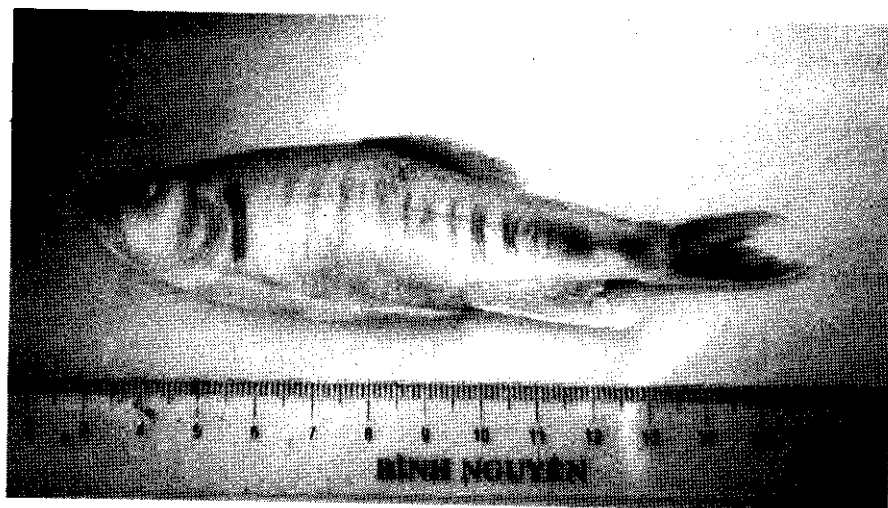
- 3 mẫu thu tại Chiềng Sinh, Tuần Giáo, Lai Châu, trên suối Nậm Khoai, thuộc lưu vực sông Mã. Ký hiệu mẫu: LM.P.01.01.12.199; LM.P.01.02.12.99 và LM.P.01.03.12.99. Lưu trữ tại Phòng mẫu vật, Bộ môn Động vật học, khoa Sinh-KTNN, Đại học Sư phạm Hà Nội. Người thu mẫu: Nguyễn Hữu Dực.

Mô tả:

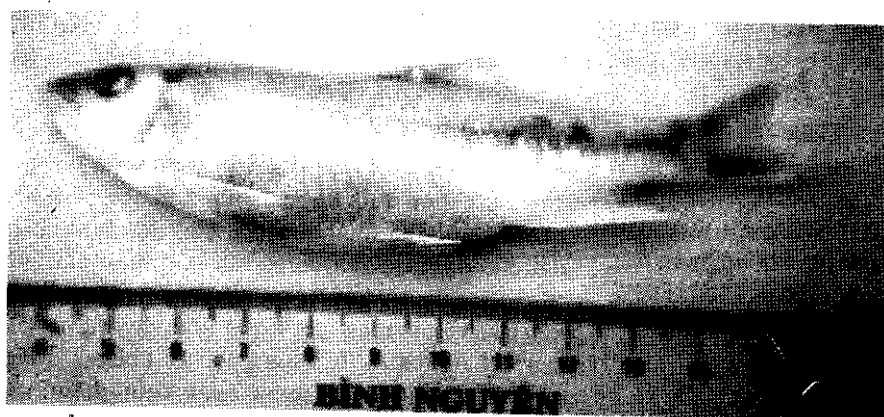
$L = 99,6 - 138 \text{ mm}$; $L_0 = 83-109 \text{ mm}$; $D = 2,7$; $A = 3,9$; $P = 1,12$; $V = 1, 7-8$; $C = 17-18$; Số lược mang trên cung mang thứ nhất: bên ngoài: 7, bên trong: 8. Răng hầu: 1.2.4-5.3.1. Đốt sống toàn thân: $41(23+18)$; $L_1 = 45 \frac{7-8}{3-V} 48$; $L_0 = 3,9-4,04 (3,79)$ $H = 3,40-3,89 (3,72)$ T.

$T = 4,78-5,80 (5,52)$ $O = 2,90-3,58$ O. Vảy dọc cán đuôi: 12-13; Vảy quanh cán đuôi: 16; Vảy trước vây lưng: 14-15.

Thân dài, hơi cao, dẹp bên. Viền lưng hơi



Ảnh 1. Cá Cháo sông Mã *Opsariichthys songmaensis* n. sp. (cá đực)



Ảnh 2. Cá Cháo sông Mã *Opsariichthys songmaensis* n. sp. (cá cái)

cong, viền bụng độ cong lớn hơn viền lưng nhiều. Ở cá đực trước vây lưng gồ cao hẳn lên. Chiều dài đầu nhỏ hơn chiều cao thân. Đầu lớn. Mồm tày, tròn, chiều rộng nhỏ hơn chiều dài. Lỗ mũi ở giữa mút mồm và viền sau mắt. Mắt ở bên đầu, gần sát đỉnh, gần mút mồm hơn mút sau mang. Khoảng cách 2 mắt rộng bằng, chiều rộng nhỏ hơn chiều dài mồm. Miệng kê trên, mép lớn, vát nghiêng, xiên. Xương hàm trên kéo dài gần tới viền trước mắt. Xương hàm dưới phát triển to bản, mút trước có đột nhô lên, khớp với khuyết của hàm trên. Hai bên thân lõm trước và sâu, lồi sau rất cao, khớp với phần lồi trước, lõm sau của hàm trên. Không có râu.

Vây lưng không có tia cứng, khởi điểm trước với khởi điểm vây bụng, gần gốc vây đuôi hơn mồm, viền sau hơi lồi. Tia vây dài nhất của vây lưng ngắn hơn chiều dài đầu. Khởi điểm của

vây hậu môn gần gốc vây bụng hơn gốc vây đuôi, viền sau hơi lồi và kéo dài do bốn tia phân nhánh trước cao dần. Tia thứ 5 và 6 dài nhất và sau đó giảm dần, phía sau không chạm tới gốc vây đuôi. Vây ngực mút cuối nhọn, cách gốc vây bụng một tấm vây. Vây đuôi phân thùy sâu, thùy dưới dài hơn thùy trên. Lược mang thưa và ngắn. Răng hầu mảnh và thưa, mút nhọn, hơi móc câu.

Vây lớn trung bình, mé trên gốc vây ngực có một nếp da hình tam giác. Gốc vây bụng có 1-2 tấm vây nách dài bằng $\frac{1}{3}$ chiều dài vây bụng. Đường bên hoàn toàn, phần trước cong, vòng xuống phía bụng, phần

sau đi vào giữa cán đuôi. Hậu môn sát gốc vây hậu môn. Bống hơi 2 ngăn, ngăn trước ngắn nhỏ, ngăn sau to dài, chiều dài ngăn sau gấp 2 lần ngăn trước. Ruột dài bằng 1,7 lần dài thân.

Lưng xám sẫm, bụng trắng bạc, có 1 sọc nâu sẫm từ sau chẩm tới gốc vây đuôi; 1 vết đen đậm và rộng sau nắp mang, viền mắt và mép miệng màu đỏ. Bên thân có 15 sọc đứng ngang thân to nhỏ đậm nhạt không theo quy luật. Vây ngực, vây bụng đỏ hồng, vây hậu môn màu vàng có vết đen ở giữa các tia. Màng giữa các tia vây lưng màu đen, gốc tia xám, ngọn nâu, phía ngoài màu hồng. Vây đuôi xám vàng, 2 rìa xám đen. Có chấm sao dạng hạt thô ở 2 mép hàm dưới, phần mồm và kéo dài xuống dưới mắt, má, xương nắp mang và vây hậu môn. Các vây khác màu vàng mốc và trắng ngà.

**2. *Opsariichthys dienbienensis* V. H. Nguyen
& H. D. Nguyen, sp. nov.**

Holotyp: Cá thể đực.

- Tên Việt Nam: Cá Cháo.
- Tên địa phương: Pa Sảm (tiếng Thái).
- Nơi sưu tầm: Thị xã Điện Biên Phủ, tỉnh Lai Châu, trên sông Nậm Rốm.
- Thu ngày: 20/10/1996.
- Lưu trữ tại: Phòng tiêu bản cá, Viện Nghiên cứu nuôi trồng thủy sản I.
- Ký hiệu mẫu: H.01.15.03.01.
- Người thu mẫu: Nguyễn Văn Hào.

Paratyp: 5 mẫu

- 2 mẫu cùng nhãn với holotype. Ký hiệu mẫu H.01.15.03.02 và H.01.99.03.01. Lưu trữ tại Phòng tiêu bản cá, Viện nghiên cứu nuôi trồng thủy sản I.

- 3 mẫu thu tại Thị xã Điện Biên Phủ, tỉnh Lai Châu, trên sông Nậm Rốm, thu ngày 15/03/1999. Ký hiệu mẫu: P.02.01.03.99, P.02.02.03.99 và P.02.03.03.99. Người thu mẫu: Nguyễn Hữu Dực. Lưu trữ tại Phòng mẫu vật, Bộ môn Động vật học, Khoa Sinh-KTNN, ĐHSPT Hà Nội.

$L = 87-145$ mm. $L_0 = 69-86$ mm.

$D = 2,7$; $A = 3,9$; $P = 1,12$; $V = 1,8$; $C = 18$.

Lược mang trên cùng mang thứ nhất: bên ngoài: 6, bên trong: 8. Răng hầu 3 hàng: 1.3.4-

4.3.1 hoặc 1.2.4-4.2.1. Đốt sống toàn thân: 45
(23+22); $L_1 = 42 \frac{7-8}{3-V} 45$; $L_0 = 3,63-4,27$ (3,48)

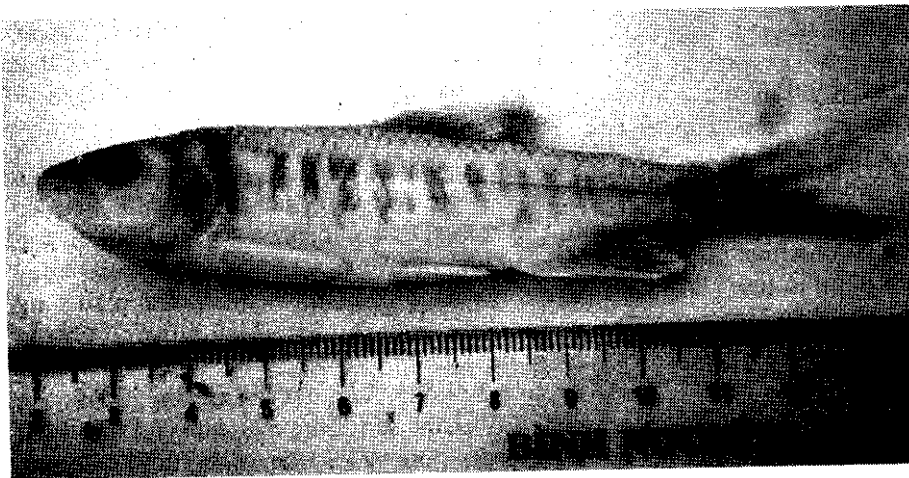
$H = 3,37-3,73$ (3,62) $T; T = 3,73-5,50$ (4,53) $O = 3,02-3,38$ (3,21) OO . Vây dọc cán đuôi: 10-12; Vây quanh cán đuôi: 16; Vây trước vây lưng: 14-16.

Thân dài, dẹp bên. Viền lưng từ mút mõm đến khởi điểm vây lưng cong. Bụng tròn, không có lườn bụng. Chiều dài đầu lớn hơn chiều cao thân. Mõm tròn, tủy, chiều rộng bằng chiều dài. Lỗ mũi gần viền sau mắt hơn mút mõm. Mắt ở 2 bên đầu, gần sát viền trên, gần mút mõm hơn viền sau nắp mang. Khoảng cách 2 mắt hơi lớn, chiều rộng nhỏ hơn chiều dài mõm. Miệng kẻ trên, mép lớn, vát nghiêng xiên; rạch miệng kéo dài tới quá đường trước mắt nhiều. Hàm dưới kém phát triển, mút trước nhỏ, có mấu tiếp hợp khớp với eo lõm của hàm trên; hai bên hàm lõm trước lỗ sau hợp với phần lỗ trước lõm sau của hàm trên. Không có râu.

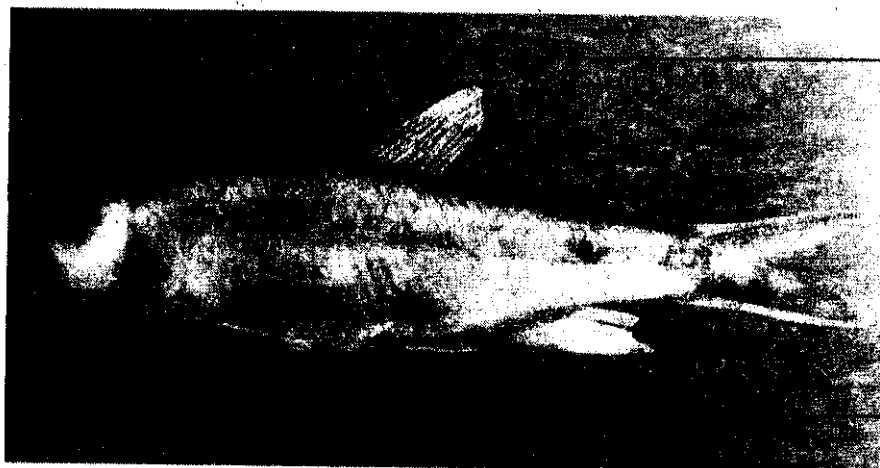
Vây lưng không có gai cứng, khởi điểm của nó hơi trước khởi điểm vây bụng một ít, gần gốc vây đuôi hơn mút mõm, viền sau lỗ. Tia vây phân nhánh dài nhất của vây lưng lớn hơn chiều dài đầu nhiều. Khởi điểm vây hậu môn gần gốc vây bụng hơn gốc vây đuôi, phía sau tròn, lỗ; kéo dài về phía sau vượt quá gốc vây đuôi. Mút sau vây ngực hơi tù, cách gốc vây bụng 2-3 tấm vây. Khởi điểm vây bụng sau khởi điểm vây lưng, nằm giữa khoảng cách giữa mút mõm và gốc vây đuôi. Vây đuôi phân thùy sâu, mút cuối nhọn, thùy dưới hơi dài và lớn hơn thùy trên.

Lược mang ngắn, thưa. Răng hầu mảnh, xếp chụm hơn, đỉnh nhọn hình móc câu. Có các hạt hạch tròn phân bố ở 2 mé hàm dưới, mõm, dưới mắt, má, vây hậu môn và các tấm vây giáp với vây hậu môn.

Vây trung bình. Mé trên vây ngực có một nếp da hơi dày. Gốc vây ngực có vây



Ảnh 3. Cá Cháo Điện Biên *Opsariichthys dienbienensis* sp. nov. (cá đực)



Ảnh 4. Cá Cháo Điện Biên *Opsariichthys dienbienensis* sp. nov. (cá cái)
 nách nhỏ, nhọn, dài bằng 1/4 chiều dài vây
 bụng. Đường bên hoàn toàn, phần trước cong
 đều xuống phía bụng, phần sau đi vào giữa cán
 đuôi. Hậu môn nằm sát gốc vây hậu môn. Bống

phần bụng, không có ở phần lưng, độ to nhỏ
 không đồng đều. Các vây lưng và vây đuôi có
 gốc xám, nhọn nhát. Các vây ngực, vây bụng và
 vây hậu môn hồng nhát.

hơi 3 ngân: ngân
 trước to và dài, ngân
 giữa nhỏ và ngắn;
 ngân cuối to vừa và
 rất dài. Tỷ lệ chiều
 dài giữa các ngân là:
 2/1/4 ở cá thể đực và
 1/1/2 ở cá thể cái.

Lưng cá màu nâu
 xám, bụng trắng bạc.
 Dọc lưng từ sau chẩm
 đến gốc vây đuôi có
 một sọc đen khá to và
 đậm. Mắt có viền đỏ.
 Dọc thân có 13-15
 sọc đen ngang thân,
 các sọc này chỉ có từ
 giữa thân kéo dài đến

Các đặc điểm sai khác giữa 3 loài trong giống *Opsariichthys* có ở Tây Bắc

STT	Các chỉ tiêu	<i>O. bidens</i>	<i>O. diendienensis</i>	<i>O. songmaensis</i>
1	D	2,6-8	2,7	2,7
2	A	2-3,8-11	3,9	3,9
3	L_1	$40 \frac{8-9}{2-4} 44$	$42 \frac{7-8}{3} 45$	$45 \frac{7-9}{3} 48$
4	$\frac{L_0}{H}$	4,05	3,90	3,75
5	$\frac{L_0}{T}$	3,60	3,70	3,89
6	$\frac{T}{O}$	5,00	4,46	5,40
7	$\frac{T}{OO}$	3,46	3,07	3,38
8	Số đốt sống	42(24+18)	45(23+22)	41(23+18)
9	Bống hơi	2 ngân	3 ngân	2 ngân
10	Răng hầu	2,4,5-4,4,2	1,3,4-4,3,1	1,2,4-5,3,1
11	Lược mang	9-11	6-8	7-8
12	Rạch miệng	Kéo dài quá cạnh trước ổ mắt	Kéo dài quá cạnh trước ổ mắt	Chưa tới cạnh trước ổ mắt
13	Xương hàm	Nhỏ và dài	Nhỏ và dài	To và ngắn

Khóa định loại các loài thuộc giống *Opsariichthys* ở Việt Nam

- 1(8) Vây đường bên 33-48. Chiều dài thân lớn hơn 5 lần chiều dài đầu. Vây hậu môn 6-10 tia phân nhánh.
- 2(7) Vây đường bên 41-48 cái. Chiều dài thân nhỏ hơn 4,3 lần chiều cao lớn nhất của thân. Vây hậu môn có 8-10 tia phân nhánh.
- 3(6) Xương hàm nhỏ, dài. Rạch miệng kéo dài quá đường thẳng đứng viễn trước ở mắt nhiều. Đốt sống nhiều hơn 41 cái.
- 4(5) Chiều cao vây lưng ngắn hơn chiều dài đầu. Đốt sống 42(24+18). Bống hơi 2 ngăn *Opsariichthys bidens* Gunther.
- 5(4) Chiều cao vây lưng dài hơn chiều dài đầu. Đốt sống 45 (23+22). Bống hơi 3 ngăn *O. dienbienensis* n.sp.
- 6(3). Xương hàm to và ngắn. Rạch miệng kéo dài chưa tới đường thẳng đứng trước mắt. Đốt sống 41 cái..... *O. songmaensis* n.sp.
- 7(2) Vây đường bên 33-44 cái. Chiều dài thân bằng hoặc lớn hơn 5 lần chiều cao lớn nhất của thân. Vây hậu môn có 6-7 tia phân nhánh..... *O. hieni* Tự.
- 8(1) Vây đường bên 50-54. Chiều dài thân bằng hoặc nhỏ hơn 5 lần chiều dài đầu. Vây hậu môn 12 tia phân nhánh..... *O. bea* Tự.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nguyễn Hữu Dục, 1995: Góp phần nghiên cứu khu hệ cá Nam Trung bộ, Việt Nam. Luận án PTS. : 65.

2. Nguyễn Văn Hảo, 1993: Ngư loại học tập 2. NXB Nông nghiệp: 110.

3. Nguyễn Văn Hảo và Đoàn Lệ Hoa, 1969: Các loại cá họ Chép (*Cyprinidae*) ở miền Bắc Việt Nam. Tài liệu lưu trữ VN CNTTS I.

4. Nguyễn Thái Tự, 1983: Khu hệ cá lưu vực sông Lam. Luận án PTS.: 50-51.

5. Nguyễn Thái Tự, 1987: Giống *Opsariichthys* Bleeker, 1863 (*Leuciscinae-Cyprinidae*) ở lưu vực sông Lam (Nghệ Tĩnh). Tạp chí Sinh học, 9(2): 31-33.

6. Mai Đình Yên, 1978: Định loại cá nước ngọt các tỉnh phía Bắc Việt Nam. NXB KHK: 119-121.

7. Chen Y., 1982: Chính lý phân loại cá Mã khẩu các, Trung Quốc (tiếng Trung Quốc), Hải Dương và ao hồ 13(3): 293-294.

8. Chevey P. & Lemasson J., 1937: Contribution a l' étude des poissons des eaux douces tonkinoises Hanoi : 70, Fig. 41.

9. Chu X. & Chen Y., 1989: The fishes of Yunnan China, Part I: *Cyprinidae*, p. 31 (Chinese).

10. Lin S. Y., 1935: Contribution to study of *Cyprinidae* of Kwantung and adjacent Provinces. Lingn. Sci. Jour. Caton, 14(4): 652.

11. Nichols, 1943: Freshwater fishes of China, Vol. IX: 97.

12. Nguyễn Điền Ngũ thập Cát, 1943: Các loài cá nước ngọt đảo Hải Nam, Trung Quốc (tiếng Nhật): 33, hình 55.

13. Ngũ Hiếu Văn, 1964: Trung Quốc lý khoa như loại chí, tập 1: 40-41, hình 1, 25 (tiếng Trung Quốc).

TWO NEW SPECIES OF THE FISH GENUS OF OPSARIITHYS FROM VIETNAM

NGUYEN VAN HAO, NGUYEN HUU DUC

SUMMARY

Until now, 4 species of the Genus *Opsariichthys* Bleeker, 1863 (*Cypriniformes, Cyprinidae, Danioninae*) were found. They are: *Opsariichthys uncirostris* (Temm. & Sch.), 1984; *O. bidens* (Gunther), 1873; *O. hieni* Tự, 1987 and *Obea* Tự 1987. Two new species of this genus were found from Vietnam by the authors: *Opsariichthys songmaensis* V. H. Nguyen & H. D. Nguyen sp. nov. (fig. 1) and *dienbienensis* V. H. & H. D. Nguyen, sp. N (fig. 2). The authors described them in details, brought up the differences between them and set up the key to identify the species of this genus from Vietnam.

Ngày nhận bài: 26-2-2000

PHÁT TRIỂN TIẾN HÓA CỦA VI THẬN VÁCH CỦA GIỐNG GIUN ĐẤT *PHERETIMA* KINBERG, 1867

TRẦN THỊ THANH BÌNH

Trường đại học Sư phạm Hà Nội I

Ở giun đất *Pheretima* vi thận vách là dạng thận mở, đổ và ruột. Khi dạng vi thận này được phát hiện và mô tả (Bahl, 1919) Woodland đã nhận xét rằng có thể đó là một bước tiến hóa thích nghi việc giữ nước cho cơ thể. Nhận xét này đã được Bahl, 1934 kiểm tra và chứng minh bằng so sánh tập quán sống của hai giống giun đất là *Eutyphoeus* (chỉ có vi thận đổ ra ngoài) và *Pheretima* (có vi thận vách là vi thận mở, đổ vào ruột) [2]. Như vậy ở *Pheretima* vi thận vách không chỉ có vai trò quan trọng trong việc bài tiết chất thải của cơ thể mà còn là một bước tiến hóa thích nghi việc giữ nước cho cơ thể.

I. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Trong phát triển tiến hóa của các loài trong giống *Pheretima* Kinberg, 1867 nhóm có nhiều đốt nhận tinh, có môi trước (prolobous) đã được chứng minh là nhóm cổ hơn, xuất hiện sớm hơn so với các nhóm có đốt nhận tinh giảm dần và có môi giữa (epilobous). Trong giống này giảm dần số đốt nhận tinh gắn liền với quá trình hoàn chỉnh cơ chế truyền tinh [3], còn chuyển từ môi trước sang môi giữa gắn liền với quá trình lấy thức ăn là mùn lân đất trong đất sang lấy thức ăn là vụn cây ở các giai đoạn phân giải khác nhau trên mặt đất [1, 4].

Dựa vào độ phong phú của các loài (tính bằng % số loài quan sát) có các đặc trưng khác nhau của vi thận vách trong các nhóm loài có các đặc điểm xuất hiện trước (có nhiều đốt nhận tinh, có môi trước) hoặc sau (có số đốt nhận tinh giảm dần, có môi giữa) trong tiến hóa của *Pheretima*, chúng tôi xác định chiều hướng biến đổi tiến hóa của vi thận vách trong giống này.

Chúng tôi đã quan sát, thống kê đặc điểm thận vách của 70 loài thuộc giống *Pheretima* Kinberg, 1867. Thời gian, địa điểm của mẫu lượm, số cá thể quan sát của từng loài được giới thiệu ở bảng 1.

Vị trí và số lượng vi thận vách được quan sát và thống kê dưới kính lúp M C-10 với độ phóng đại từ 14-56 lần. Các phép tính và đồ thị hóa được thực hiện trên phần mềm Excel bởi máy tính Compaq Presario CDS 524.

II. KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

Bảng 2 giới thiệu đặc điểm vị trí miệng phễu và vị trí bám của vi thận vách của các loài nghiên cứu. Trong bảng này chúng tôi sắp xếp các loài theo 4 mức độ phát triển của bộ túi nhận tinh từ cổ nhất (4 đốt nhận tinh) đến tiến hóa nhất (1 đốt nhận tinh) [2].

Bảng 1

Địa điểm, sinh cảnh, thời điểm thu mẫu và số cá thể quan sát của các loài nghiên cứu
(C: cá thể có đại sinh dục; A: cá thể chưa có đại sinh dục)

STT	Tên loài	Số mẫu quan sát	Thời điểm thu mẫu	Sinh cảnh	Địa điểm
1	<i>Ph. adexilis</i> Thai, 1984	3C	6/96	Rừng trầu	Xuân Mai, Hòa Bình
2	<i>Ph. aluxa</i> Thai, 1984	3C	27/1/90	Đất vườn	Tràng Định - Lạng Sơn

* Tác giả xin chân thành cảm ơn GS. TS. Thái Trần Bái đã đọc và góp nhiều ý kiến cho bài báo này.
Công trình được sự tài trợ của Chương trình nghiên cứu khoa học cơ bản KHCN.01.04.6.1.7.

STT	Tên loài	Số mẫu quan sát	Thời điểm thu mẫu	Sinh cảnh	Địa điểm
3	<i>Ph. bianensis</i> Stephenson, 1931	3C	18/10/89	Rừng khộp	Lâm trường Ealốp - Đắk Lắk
4	<i>Ph. corticus</i> (Kinberg, 1867)	3C	8/8/84	Sườn núi	Xiêng Khoáng - Lào
5	<i>Ph. conghanungensis</i> Thai, 1984	1C	?	Sườn núi	?
6	<i>Ph. duplicocca</i> Thai, 1984	3C	17/3/92	Gỗ mục	Luông Tạc Ngà - Đức Xuân - Hà Tĩnh
7	<i>Ph. fluvialoides</i> Huynh, 1998	3C	14/5/90	Bờ sông	Krôngna - Yokdon - Đắk Lắk
8	<i>Ph. juliani</i> Perrier, 1875	3C	16/10/87	Bờ sông	Sépôn - Lào
9	<i>Ph. khami</i> Thai, 1984	3C	28/8/87	Vườn trường	Trường Sư phạm, số 5 Savanakhét - Lào
10	<i>Ph. lacertina</i> Chen, 1946	1C	11/5/91	Thảm mục	Ô quý Hồ - Sa Pa
11	<i>Ph. lunata</i> Chen, 1938	3C	15/3/92	Ven suối	Khan Cỏ Ma - Lê Lợi - Thuận An
12	<i>Ph. modigliani</i> Rosa, 1889	3C	15/11/87	Chân tháp	Tháp Cánh Tiên - Đố Bàn - An Nhơn
13	<i>Ph. munghumensis</i> Thai et Samphon, 1988	2C	2/8/86	Sườn núi	Núi Khao Khoai - Viêng Chăn - Lào
14	<i>Ph. multitheca multitheca</i> Chen, 1938	3C	15/4/95	Vườn rau	Đức Phổ - Phổ Minh - Quảng Ngãi
15	<i>Ph. multitheca dipapillata</i> Thai et tran, 1986	3C	1/2/86	?	Mường Lống - Kỳ Sơn - Nghệ An
16	<i>Ph. polychaetifera</i> Thai, 1984	1C	4/4/95	bờ ruộng	Tánh Linh - Đức Bình - Ninh Thuận
17a	<i>Ph. postuma</i> (Vaillant, 1896)	15C+5A	6/88	Bờ sông	Phômpenh - Campuchia
17b	<i>Ph. postuma</i> (Vaillant, 1896)	27C+3A	10/96	Vườn	Từ Liêm - Hà Nội
18	<i>Ph. rodericensis</i> Grube, 1879	3C	16/4/95	Bờ rãnh	Bùi Thị Xuân - Quy Nhơn
19	<i>Ph. samphoni</i> Thai et Samphon, 1988	3C	10/88	Bờ sông	Luông Pạ Bang - Lào
20	<i>Ph. seponensis</i> Thais et Samphon, 1989	3C	16/10/87	Sườn núi	Núi Cho - Sépôn - Savanakhét - Lào
21	<i>Ph. tenebrica</i> Chen, 1946	3A	21/6/95	Lá cây rừng	Rừng âm - Tháp truyền hình Tam Đảo
22	<i>Ph. truongsongensis</i> Thai, 1984	1C+1A	25/6/88	Đất treo	Vườn quốc gia Bạch Mã - Huế
23	<i>Ph. bahli</i> Gates, 1945	3C	24/7/79	?	Thành phố Hồ Chí Minh
24	<i>Ph. binhgiaensis</i> Le, 1994	1C	29/3/92	Gỗ mục	Bình Gia - Lạng Sơn
25	<i>Ph. birmanica</i> (Rosa, 1888)	3C	6/88	Đất vườn	Campuchia
26	<i>Ph. campanulata</i> (Rosa, 1890)	3C	18/10/89	Rừng khộp	Lâm trường Ealốp - Đắk Lắk
27	<i>Ph. campypaillata</i> Thai et Samphon, 1988	3C	24/10/87	Ven đường	Pác Xế - Champasac - Lào
28	<i>Ph. danangana</i> Thai, 1984	3C	17/3/88	Bờ ruộng	Điện Bàn - Quảng Nam Đà Nẵng (QNDN)
29	<i>Ph. fakhaensis</i> Thai et Samphon, 1988	3C	28/8/87	Vườn trường	Trường SP số 5 Savanakhét - Lào
30	<i>Ph. hawayana</i> (Rosa, 1891)	3C	?	?	Đà Lạt
31	<i>Ph. houlleti</i> (Perrier, 1872)	3C	10/8/96	Trong làng	Mường Hóm
32	<i>Ph. hupeiensis</i> Mich, 1895	3C	26/3/92	Bờ sông	Bình Gia - Lạng Sơn
33	<i>Ph. kyaensis</i> Thai, 1996	2C	24/11/89	Sườn núi	Núi Thánh - QNDN
34	<i>Ph. kyonensi</i> Thai et Tran, 1986	3C	31/12/85	?	Mường Lống Kỳ Sơn-Nghệ An
35	<i>Ph. lateropapillata</i> Thai et Samphon, 1988	3C	16/10/87	Trong bản	Sépôn - Savanakhét - Lào
36	<i>Ph. manicata quephongmontis</i> Do et tran, 1994	3C	12/87	Rừng nứa	Quế Phong
37	<i>Ph. pacseana</i> Thai et Samphon, 1988	3C	27/10/86	Bản làng	Thị xã Pác Xế - Lào
38	<i>Ph. papulosa</i> Rosa, 1896	3C	16/4/95	Vườn	Hoài Thanh Tây - Hoài Nhơn - Bình Định

STT	Tên loài	Số mẫu quan sát	Thời điểm thu mẫu	Sinh cảnh	Địa điểm
39	<i>Ph. peguana</i> (Rosa, 1890)	2C	6/88	Bờ sông	Phôm-pénh - Campuchia
40	<i>Ph. penichaetifera</i> Thai, 1984	3C	2/4/92	Đôi chuối	Tuyên Hóa - QNĐN
41	<i>Ph. plantopapillata</i> Thai, 1982	3C	20/6/95	Rừng ẩm	Đỉnh Rừng Rinh - Tam Đảo
42	<i>Ph. plantopapillata</i> Thai, 1982	2C	1980	Vườn	Cổ Nhuế - Từ Liêm - Hà Nội
43	<i>Ph. rarus</i> Thai, 1997	2C+1A	21/6/86	Rừng già	Tham Hang - Mường Lống - Kỳ Sơn
44	<i>Ph. spiridonovi</i> Thai, 1996	2C	9/1/89	Sườn đồi	Đèo Đức Mụ - Đường 24 - Phú Khánh
45	<i>Ph. tiencanhensis</i> Pham, 1996	2C	27/1/88	Bờ tre	Tiên Cảnh - Tiên Phước - QNĐN
46	<i>Ph. thevedaensis</i> Thai et Huynh, 1993	1C	22/10/87	Gốc chuối	Rừng Bualaven-Pac Song-Lào
47	<i>Ph. unciperifera</i> Thai et Samphon, 1988	3C	10/88	Bờ sông	Pac Song - Luông Pha Bang - Lào
48	<i>Ph. varians songbaana</i> Thai, 1984	3C	11/8/91	Vườn chuối	Liên Sơn - Mai Hóa
49	<i>Ph. arboricola</i> Gates, 1936	3A	20/6/95	Rừng ẩm	Rừng Rinh - Tam Đảo
50	<i>Ph. aspergillum</i> (Perrier, 1872)	3C	20/10/96	Vườn	Từ Liêm - Hà Nội
51	<i>Ph. brevicapitata</i> Thai, 1984	3C	21/2/79	Vườn	Thái Bình
52	<i>Ph. californica</i> Kinberg, 1867	3C	21/2/80	Vườn	Thái Bình
53	<i>Ph. colonensis</i> Thai, 1996	3A	25/6/89	Sườn núi	Đảo Công Lớn
54	<i>Ph. dorsomorrisi</i> Do et Tran, 1994	3C	18/6/86	Rừng	Mường Lống - Mường Xén - Nghệ An
55	<i>Ph. casupana</i> Thai et Huynh, 1993	2C	19/10/89	Vườn chuối	Ealóp - Đắk Lắk
56	<i>Ph. elongata</i> (Perrier, 1872)	18C+12A	10/96	Ven rãnh	Từ Liêm - Hà Nội
57	<i>Ph. exilis</i> Gates, 1935	3C	15/12/83	Khu dân cư	Tam Đảo - Vĩnh Phú
58	<i>Ph. grandisetosa</i> Thai, 1996	2A	25/6/89	Sườn núi	Đảo Côn Lôn
59	<i>Ph. morrisi</i> Beddard, 1892	30C	8/96	Rừng nửa	Từ Liêm - Hà Nội
60	<i>Ph. prava muongxenensis</i> Thai et Tran, 1986	3C	1/86	?	Hòa Sơn - Kỳ Sơn - Nghệ An
61	<i>Ph. robusta</i> Perrier, 1872	3C	10/96	Vườn	Từ Liêm - Hà Nội
62	<i>Ph. thaibinhensis</i> Thai, 1984	3A	25/88	Bờ sông	Chiêng Chung Va - Campuchia
63	<i>Ph. triastriata</i> Chen, 1946	3C	2/10/97	Vườn	Thanh Ninh - Thanh Hóa
64	<i>Ph. dacnomongtis</i> Thai et Huynh, 1992	3C	13/10/89	Bờ suối	Rừng Khốp Đắkno - Đắk Lắk
65	<i>Ph. phaluongana</i> Do et Huynh, 1992	3C	20/1/91	Bờ suối	Bản Nà Mường - Xuân Nha
66	<i>Ph. parataprobae</i> Thai, 1984	3C	15/12/93	Đôi cây bụi	Tam Đảo - Vĩnh Phú
67	<i>Ph. taprobanae</i> Thai et Nguyen, 1993	1C	12/1/85	Vườn	Huế
68	<i>Ph. taprobanae</i> (Beddard, 1892)	5C	18/5/91	Vườn chuối	Tân Trạch - Bố Trạch - Quảng Bình
69	<i>Ph. tripidoporophorata</i> Thai et Nguyen, 1993	3C	15/4/85	Vườn	Nguyệt Biền - Huế
70	<i>Ph. zenkevichi</i> Thai, 1982	3C	1998	Chân đồi	Tiên Liên - Phù Ninh - Phú Thọ

Bảng 2

Đặc điểm vi thận vách của các loài trong giống *Pheretima*

STT	Tên loài	Vị trí của miệng phễu	Vị trí bám của vi thận	Số lượng vi thận ở mặt trước vách so với sau vách	Kiểu môi
4 đốt nhận tính					
1	<i>Ph. adexilis</i> Thai, 1984	Trước vách	Trên vách	Nhỏ hơn	epi
2	<i>Ph. aluxa</i> Thai, 1984	Trước vách	Trên vách	Nhỏ hơn	epi

STT	Tên loài	Vị trí của miệng phễu	Vị trí bám của vì thân	Số lượng vì thân ở mặt trước vách so với sau vách	Kiểu môi
3	<i>Ph. bianensis</i> Stéphénon, 1931	Trước vách	Trên vách	Nhỏ hơn	epi
4	<i>Ph. corticus</i> (Kinberg, 1867)	Trước và sau vách	Trên vách	Tương đương	?
5	<i>Ph. conghanungensis</i> Thai, 1984	Trước vách	Trên vách	?	epi
6	<i>Ph. duplicoecca</i> Thai, 1984	Trước vách	Trên vách	Nhỏ hơn	epi
7	<i>Ph. fluvialoides</i> Huynh, 1998	Trước và sau vách	Trên thành	Tương đương	pro
8	<i>Ph. juliani</i> Perrier, 1875	Trước và sau vách	Trên thành	Tương đương	pro
9	<i>Ph. khami</i> Thai, 1984	Trước và sau vách	Trên thành	Lớn hơn	epi
10	<i>Ph. lacertina</i> Chen, 1946	Trước và sau vách	Trên thành	Tương đương	epi
11	<i>Ph. lunata</i> Chen, 1938	Trước vách	Sát gốc vách	Tương đương	epi
12	<i>Ph. Modigliani</i>	Trước vách	Sát gốc vách	Tương đương	epi
13	<i>Ph. munghumensis</i> Thai et Samphon, 1988	Trước và sau vách	Sát gốc vách	Tương đương	epi
14	<i>Ph. multitheca multitheca</i> Chen, 1938	Trước và sau vách	Trên vách	Tương đương	epi
15	<i>Ph. multitheca dipapillata</i> Thai et tra, 1986	Trước và sau vách	Sát gốc vách	Nhỏ hơn	epi
16	<i>Ph. polychaetifera</i> Thai, 1984	Trước và sau vách	Sát gốc vách	Tương đương	epi
17	<i>Ph. posthuma</i> (Vaillant, 1896)	Trước vách	Trên vách	Tương đương	pro
18	<i>Ph. rodericensis</i> Grube, 1879	Trước vách	Sát gốc vách	Nhỏ hơn	epi
19	<i>Ph. samphoni</i> Thai et Samphon, 1988	Trước vách	Sát gốc vách	Tương đương	pro
20	<i>Ph. seponensis</i> Thai et Samphon, 1989	Trước vách	Trên vách	Nhỏ hơn	epi
21	<i>Ph. tenebrica</i> Chen, 1946	Trước vách	Sát gốc vách	Tương đương	epi
22	<i>Ph. truongsonensis</i> Thai, 1984	Trước vách	Trên vách	Nhỏ hơn	epi
3 đợt nhận tính					
1	<i>Ph. bahli</i> Gates, 1945	Trước vách	Trên vách	Tương đương	epi
2	<i>Ph. binhgiaensis</i> Le, 1994	Trước vách	Sát gốc vách	Nhỏ hơn	epi
3	<i>Ph. birmanica</i> (Rosa, 1888)	Trước vách	Trên vách	?	epi
4	<i>Ph. campanulata</i> (Rosa, 1890)	Trước vách	Sát gốc vách	Lớn hơn	epi
5	<i>Ph. campipapillata</i> Thai et Samphon, 1988	Trước và sau vách	Trên thành	Nhỏ hơn	epi
6	<i>Ph. danangana</i> Thai, 1984	Trước vách	Sát gốc vách	Nhỏ hơn	epi
7	<i>Ph. fackhaensis</i> Thai et Samphon, 1988	Trước và sau vách	Trên thành	Nhỏ hơn	epi
8	<i>Ph. hawayana</i> (Rosa, 1891)	Trước vách	Sát gốc vách	Tương đương	epi
9	<i>Ph. houletti</i> (Perrier, 1872)	Trước vách	Trên vách	Nhỏ hơn	epi
10	<i>Ph. hupeiensis</i> Mich, 1895	Trước và sau vách	Trên vách	Tương đương	epi
11	<i>Ph. kyhaensi</i> Thai, 1996	Trước vách	Sát ruột	Nhỏ hơn	epi
12	<i>Ph. kysorensi</i> Thai et Tran, 1986	Trước vách	Sát gốc vách	Lớn hơn	epi
13	<i>Ph. lateropapillata</i> Thai et Samphon, 1988	Trước và sau vách	Sát gốc vách	Tương đương	epi
14	<i>Ph. manicata quephongmontis</i> Do et Tran, 1994	Trước vách	Sát gốc vách	Tương đương	epi
15	<i>Ph. pacseana</i> Thai et Samphon, 1988	Trước và sau vách	Trên thành	Tương đương	epi
16	<i>Ph. papulosa</i> Rosa, 1896	Trước vách	Trên vách	Nhỏ hơn	epi
17	<i>Ph. peguana</i> (Rosa, 1890)	Trước vách	Sát gốc vách	Tương đương	epi
18	<i>Ph. penichaetifera</i> Thai, 1984	Trước vách	Sát gốc vách	Nhỏ hơn	epi
19	<i>Ph. plumatomusculata</i> Thai, 1982	Trước vách	Sát gốc vách	Nhỏ hơn	epi
20	<i>Ph. plantopapillata</i> Thai, 1982	Trước vách	Sát ruột	Tương đương	epi
21	<i>Ph. rara</i> Thai, 1997	Trước vách	Sát gốc vách	Nhỏ hơn	epi
22	<i>Ph. spiridonovi</i> Thai, 1996	Trước vách	Sát gốc vách	Nhỏ hơn	epi

STT	Tên loài	Vị trí của miệng phễu	Vị trí bám của vi thân	Số lượng vi thân ở mặt trước vách so với sau vách	Kiểu môi
23	<i>Ph. tiencarhensis</i> Pham, 1996	Trước và sau vách	Sát ruột	Tương đương	epi
24	<i>Ph. thevedaensis</i> Thai et Huynh, 1993	Trước và sau vách	Trên thành	?	epi
25	<i>Ph. unciperifera</i> Thai et Samphon, 1988	Trước và sau vách	Trên thành	Tương đương	epi
26	<i>Ph. varians songhaana</i> Thai, 1984	Trước và sau vách	Sát ruột	Nhỏ hơn	epi
2 đốt nhận tinh					
1	<i>Ph. arboricola</i> Gates, 1936	Trước vách	Sát gốc vách	Nhỏ hơn	epi
2	<i>Ph. aspergillum</i> (Perrier, 1872)	Trước và sau vách	Sát gốc vách	Lớn hơn	epi
3	<i>Ph. brevicapillata</i> Thai, 1984	Trước vách	Trên vách	Lớn hơn	epi
4	<i>Ph. californica</i> Kinberg, 1867	Trước vách	Sát gốc vách	Lớn hơn	epi
5	<i>Ph. colonensis</i> Thai, 1996	Trước vách	Trên vách	?	pro
6	<i>Ph. dorsomorrisi</i> Do et Tran, 1994	Trước vách	Sát gốc vách	Tương đương	epi
7	<i>Ph. easupana</i> Thait et Huynh, 1993	Trước vách	Trên vách	?	
8	<i>Ph. elongata</i> (Perrier, 1872)	Trước và sau vách	Trên thành	Tương đương	pro
9	<i>Ph. exilis</i> Gates, 1935	Trước vách	Sát ruột	Nhỏ hơn	epi
10	<i>Ph. grandisetosa</i> Thai, 1996	Trước vách	Trên vách	?	pro
11	<i>Ph. morris</i> Beddard, 1892	Trước vách	Sát gốc vách	Nhỏ hơn	epi
12	<i>Ph. prava muongxenensis</i> Thai et Tran, 1986	Trước và sau vách	Sát gốc vách	Tương đương	epi
13	<i>Ph. robusta</i> Perrier, 1872	Trước vách	Sát gốc vách	Tương đương	epi
14	<i>Ph. thaibinhensis</i> Thai, 1984	Trước vách	Sát gốc vách	Tương đương	epi
15	<i>Ph. triastriata</i> Chen, 1946	Trước vách	Trên vách	Nhỏ hơn	epi
1 đốt nhận tinh					
1	<i>Ph. dacnomotis</i> Thai et Huynh, 1992	Trước vách	Sát gốc vách	Chỉ có sau vách	epi
2	<i>Ph. phaluongana</i> Do et Huynh, 1992	Trước vách	Sát gốc vách	Lớn hơn	epi
3	<i>Ph. plantoporophorata</i> Thai, 1984	Trước và sau vách	Sát ruột	Tương đương	epi
4	<i>Ph. parataprobanae</i> Thai et Nguyen, 1993	Trước vách	Trên vách	Nhỏ hơn	pro
5	<i>Ph. taprobanae</i> (Beddard, 1892)	Trước vách	Trên vách	Tương đương	pro
6	<i>Ph. tripidoporophorata</i> Thai et Nguyen, 1993	Trước vách	Trên vách	Tương đương	epi
7	<i>Ph. zenkevichi</i> Thai, 1982	Trước vách	Sát gốc vách	Nhỏ hơn	epi

Về vị trí miệng phễu của vi thân vách, ở *Pheretima* gặp 2 dạng đó là: miệng phễu ở cả trước và sau vách và miệng phễu chỉ ở trước vách.

Độ phong phú của các loài khác nhau về vị trí miệng phễu trong các nhóm phân chia theo số đốt nhận tinh và phân chia theo kiểu môi được giới thiệu ở bảng 3 và sơ đồ 1.

Ở nhóm có 4 đốt nhận tinh có 40,91% số loài có phễu trước và sau vách. Tỷ lệ này giảm dần ở nhóm có 3 đốt nhận tinh (34,62%), nhóm có 2 đốt nhận tinh (26,67%) và thấp nhất ở nhóm có 1 đốt nhận tinh (14,28%) (bảng 3). Tỷ lệ các loài có phễu trước và sau vách ở nhóm

môi trước cao hơn (33,33%) so với nhóm môi giữa (31,67%) (Sơ đồ 1).

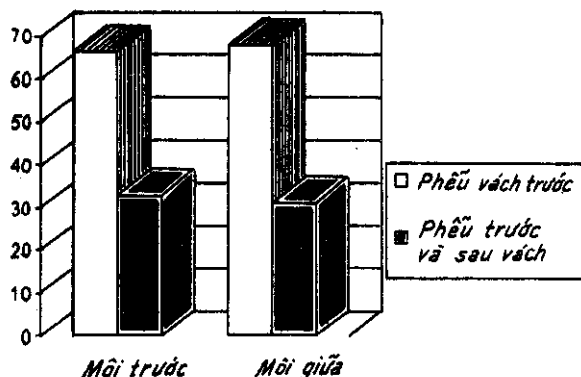
Như vậy ở nhóm cổ hơn tỷ lệ các loài có phễu trước và sau vách cao hơn. Còn ở nhóm tiến hóa hơn tỷ lệ các loài chỉ có phễu trước vách cao hơn. *Nói cách khác phễu thân ở cả trước và sau vách cổ hơn phễu phận chỉ ở trước vách.*

Về vị trí bám của vi thân vách có thể phân biệt 2 dạng ở *Pheretima*: vi thân vách bám trên thành cơ thể và vi thân vách bám trên vách. Độ phong phú của các loài khác nhau về vị trí bám của vi thân vách trong các nhóm phân chia theo số đốt nhận tinh và phân chia theo kiểu môi

Bảng 3

Độ phong phú của các loài khác nhau về vị trí miệng phễu vi thận vách trong các nhóm phân chia theo số đốt nhận tinh trong giống *Pheretima* (n: số loài)

Đặc điểm \ Nhóm	4 đốt nhận tinh		3 đốt nhận tinh		2 đốt nhận tinh		1 đốt nhận tinh	
	n	%	n	%	n	%	n	%
Phễu trước và sau vách	9	40,91	9	34,62	4	26,67	1	14,28
Phễu trước vách	13	59,09	17	65,38	11	73,38	6	85,72



Sơ đồ 1. Độ phong phú của các loài khác nhau về vị trí miệng phễu trong các nhóm phân chia theo kiểu môi trong giống *Pheretima*

được giới thiệu ở bảng 4 và sơ đồ 2.

Tỷ lệ của các loài có vi thận vách bám trên thành cơ thể cao ở nhóm 4 đốt nhận tinh (18,18%) và nhóm 3 đốt nhận tinh (19,33%). Tuy chỉ gặp 6,67% ở nhóm 2 đốt nhận tinh và không gặp ở nhóm 1 đốt nhận tinh. Tỷ lệ vi thận bám trên vách tăng dần ở các nhóm 3 đốt nhận tinh (80,07%), và 2 đốt nhận tinh (93,33%). Ở nhóm 1 đốt nhận tinh 100% số loài có vi thận bám trên vách. Không gặp dạng vi thận vách bám trên thành cơ thể ở nhóm 1 đốt nhận tinh (bảng 4).

Các loài có vi thận vách trên thành cơ thể cũng chiếm tỷ lệ cao hơn ở nhóm môi trước (33,33%) so với nhóm môi giữa (11,67%) (sơ đồ 2).

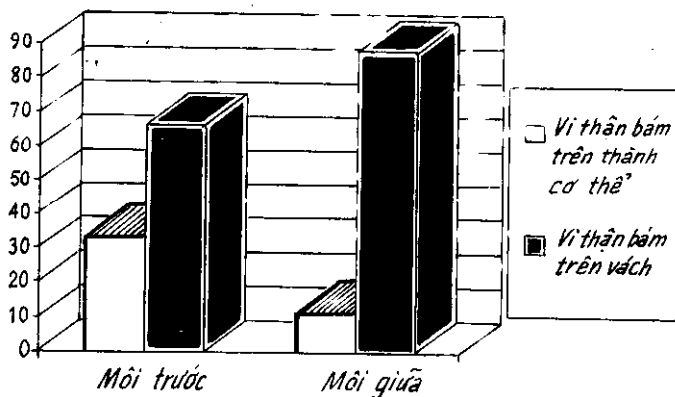
Bảng 4

Độ phong phú của các loài khác nhau về vị trí bám của vi thận vách trong các nhóm phân chia theo số đốt nhận tinh trong giống *Pheretima* (n: số loài)

Đặc điểm \ Nhóm	4 đốt nhận tinh		3 đốt nhận tinh		2 đốt nhận tinh		1 đốt nhận tinh	
	n	%	n	%	n	%	n	%
Vi thận bám trên thành cơ thể	8	18,18	5	19,23	1	6,67	0	0
Vi thận bám trên vách	18	82,82	21	80,07	14	93,33	7	100,00

Như vậy xu hướng phát triển của vị trí bám của vi thận là từ bám trên thành cơ thể chuyển dần lên bám trên vách. Sự phát triển này có thể theo xu hướng giảm đường đi của ống dẫn từ vi thận đến ruột.

Kết hợp đặc điểm vị trí phễu và vị trí bám của vi thận ở *Pheretima* có thể phân biệt 3 dạng là: vi thận bám trên thành cơ thể, phễu trước và sau vách; vi thận bám trên vách, phễu trước và sau vách; vi thận bám trên vách, phễu trước vách.



Sơ đồ 2. Độ phong phú của các loài khác nhau về vị trí bám của vi thân vách trong các nhóm phân chia theo kiểu môi trong giống *Pheretima*

Ở *Pheretima* không gặp một loài nào có vi thân bám trên thành cơ thể có phễu ở trước vách. Tất cả các loài có vi thân vách bám trên thành cơ thể đều có phễu trước và sau vách (bảng 2), đây là dạng cổ nhất trong 3 dạng đã gặp ở *Pheretima*. Dạng này gặp đa số ở nhóm 4 đốt nhận tinh (17,39%) và 3 đốt nhận tinh (19,23%), chỉ gặp 6,67% ở nhóm 2 đốt nhận tinh và không gặp ở nhóm 1 đốt nhận tinh. Phễu trước và sau vách ở cả 2 dạng vị trí bám của vi thân vách, như vậy đặc điểm này được củng cố thích nghi trong tiến hóa của *Pheretima*. Phễu trước vách chỉ gặp ở vi thân bám trên vách (không gặp ở dạng vi thân bám trên thành cơ thể), như vậy nó đã xuất hiện khi đã có sự biến đổi tiến hóa về vị trí bám của vi

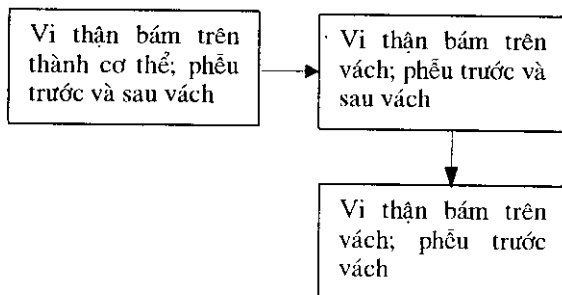
thân từ thành cơ thể lên vách. Và nó trở thành dạng chiếm ưu thế vì gặp ở đa số các loài ở tất cả các nhóm, đặc biệt ở các nhóm có 2 và 1 đốt nhận tinh (bảng 5).

Bảng 5

Độ phong phú các loài có vị trí miệng phễu và vị trí bám đặc trưng của vi thân vách trong các nhóm khác nhau về bộ túi nhận tinh trong giống *Pheretima* (n: số loài)

Đặc điểm vi thân vách	Nhóm	4 đốt nhận tinh		3 đốt nhận tinh		2 đốt nhận tinh		1 đốt nhận tinh	
		n	%	n	%	n	%	n	%
bám trên thành cơ thể, phễu trước và sau vách		4	17,39	5	19,23	1	6,67	0	0
bám trên vách, phễu trước và sau vách		5	21,74	4	15,38	4	26,67	0	0
bám trên vách, phễu trước vách		14	60,87	17	65,39	10	66,66	7	100

Như vậy có thể hình dung sơ đồ phát triển tiến hóa về vị trí miệng phễu và vị trí bám của vi thân vách như sau:



Số lượng vi thân vách bám trên một vách gồm số lượng vi thân bám trước vách và số lượng vi thân bám sau vách. Nếu xét về tương quan số lượng này, trong nhóm *Pheretima* đã gặp 3 dạng đó là: số vi thân trước vách lớn hơn số vi thân sau vách; số vi thân trước và sau vách tương đương; số vi thân trước vách ít hơn số vi thân sau vách.

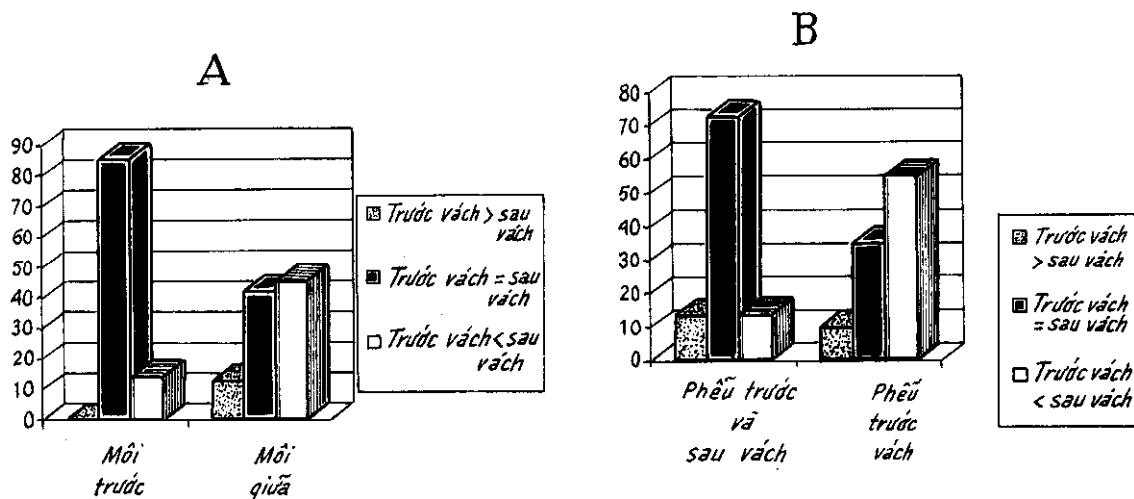
Sơ đồ 3A, 3B giới thiệu độ phong phú các loài có tương quan số lượng vi thân vách ở trước và sau vách theo nhóm khác nhau về vị trí của phễu vi thân vách và kiểu môi.

Tỷ lệ các loài có số lượng vi thân bám trước và sau vách tương đương (sơ đồ 3A) chiếm ưu thế ở nhóm có môi trước (85,72%) so với nhóm có môi giữa (41,82%). Ngược lại, các loài có số lượng vi thân bám trước vách ít hơn sau vách lại chiếm đa số ở nhóm có môi giữa (45,45%) trong khi ở nhóm có môi trước chỉ gặp 14,28%.

Ở nhóm có phễu trước và sau vách (sơ đồ 3B) có tỷ lệ cao về các loài có số lượng vi thân bám trước vách nhiều hơn sau vách và các loài

có số lượng vi thân bám trước và sau vách tương đương (13,64% và 72,72%) so với nhóm chỉ có phễu trước vách (10% và 35%). Còn ở nhóm có phễu trước vách, tỷ lệ các loài có số lượng vi thân bám trước vách ít hơn sau vách chiếm đa số (55%). Trong khi ở nhóm phễu trước và sau vách chỉ gặp rất ít các loài này (13,64%).

Như vậy ở *Pheretima* vi thân có xu hướng chuyển từ bám trước và sau vách sang bám tập trung ở phía sau vách.



Sơ đồ 3. Độ phong phú của các loài có tương quan số lượng vi thân vách ở trước và sau vách trong các nhóm khác nhau về kiểu môi (A) và vị trí miệng phễu (B)

III. KẾT LUẬN

Có thể hình dung rằng ở *Pheretima*, vi thân vách phát triển tiến hóa theo xu hướng từ bám trên thành cơ thể lên bám trên vách; miệng phễu có xu hướng tập trung về phía trước vách; còn thân vi thân có xu hướng tập trung về phía sau vách.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Thái Trần Bái, Trần Thị Thanh Bình, 1998: Tạp chí Sinh học, 20(2): 21-27.
2. Bahl K. N., 1947: Quart. F. Micr. Sci., 87: 357-371.
3. Thái Trần Bái, 1983: Zool. Zurn., 62(10): 1457-1461.
4. Perel T. S., 1977: Sai khác về tổ chức các loài giun đất (*Lumbricidae, Oligochaeta*) liên quan đến đặc điểm sinh thái của chúng. Thách nghi của động vật đất trong môi trường sống. Viện Hàn lâm khoa học Liên Xô. Viện Sinh thái và hình thái tiến hóa động vật A. N. Serversov. 1977: 129-144 (tiếng Nga).

EVOLUTIONARY DEVELOPMENT OF THE SEPTAL NEPHRIDIA IN THE EARTHWORM GENUS *PHERETIMA* KINBERG, 1867

TRAN THI THANH BINH

SUMMARY

Based on the abundance of the species (counted by the percentage of observed ones) which have different septal nephridia features among the species-group with pleisiomorphous features (plenteous spermathecal segments, prostomium prolobous) or apomorphous ones (less spermathecal segments, prostomium epilobous) in the genus *Pheretima*, we have found out the trend in the evolution of the *Pheretima's* septal nephridia.

We have observed and listed the features of the position and the quantity of the septal nephridia on 70 species of *Pheretima* Kinberg, 1867

In the species-group with pleisiomorphous features, the majority of the species are characterised by the septal nephridia fixing on the body wall, the septal nephridial funnels being in front of and behind the septal and the number of septal nephridia in front of each septum is more than or equal to that on the back. In the species-group with apomorphous features, the majority of the species are characterised by the septal and the number of septal nephridia on the front of each septum is less than that on the back.

In the evolution of *Pheretima*, the septal nephridia were displaced from the body wall to the septal. The septal nephridial funnels were tended to gather towards the front of each septum while the body of septal nephridia on the back of one.

Ngày nhận bài: 4-9-1999

(Tiếp theo trang 60)

8. Đào Văn Tiến, 1964: Notes ecologiques sur le triton de Deloustal (*Paramesotriton deloustali* Bourret).

SOME ECOLOGICAL CHARACTERISTICS OF THE TAMDAO SALAMANDER (*PARAMESOTRITON DELOUSTALI*) IN BREEDING IN AQUARIUM

LE NGUYEN NGAT, DOAN THI PHUONG LY

SUMMARY

This paper presents some ecological characteristics of the Tamdao salamander *Paramesotriton deloustali* living in aquarium, including the food composition, the need on food volume, the skin shedding, the breeding season, the egg laying and the time for development of eggs with the breeding factors.

Ngày nhận bài: 6-1998

SỰ DUY TRÌ VÀ BIỂU HIỆN ỔN ĐỊNH CỦA CÁC GIEN LỤC LẠP NGOẠI LAI TRONG CÂY THUỐC LÁ *NICOTIANA PLUMBAGINIFOLIA* BIẾN NẠP QUA CÁC THỂ HỆ R_1 , R_2

NGHIÊM NGỌC MINH, NGUYỄN ĐỨC THÀNH, LÊ THỊ MUỘI

Viện Công nghệ sinh học

Thành công đầu tiên về chuyển gen ổn định vào lục lạp được thông báo bởi Svab và các cộng sự, 1990: tuy nhiên tần số chuyển gen còn thấp. Bằng kỹ thuật chuyển gen trực tiếp vào protoplast nhờ xử lý PEG, một số tác giả cũng đã nhận được những kết quả chuyển gen vào lục lạp ổn định [Golds T., Maliza P., O'neil C., Horvath G. B.]. Một số phương pháp khác (chuyển gián tiếp thông qua *Agrobacterium* hoặc phương pháp vi tiêm) cũng đã được sử dụng để chuyển gen vào lục lạp nhưng không nhận được sự chuyển gen lục lạp ổn định [Weber G. Monajemb S., 1989, Whifeld P. R., 1989, Bottomley W., 1983]. Tuy nhiên hầu hết các công trình đã công bố này chỉ tập trung vào việc nghiên cứu khả năng chuyển gen lục lạp ổn định ở thể hệ R_0 . Một vấn đề đặt ra là liệu các gen ngoại lai đã được biến nạp có được tồn tại và biểu hiện ổn định trong các cây biến nạp qua các thể hệ (R_1 , R_2 ...) hay không thì còn rất ít được quan tâm nghiên cứu.

I. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

- Lá của các cây *Nicotiana plumbaginifolia* biến nạp và không biến nạp (thể hệ R_1 , R_2) cũng như lá của cây *Solanum nigrum* nuôi cấy trong điều kiện *in vitro* được sử dụng để tách ADN lục lạp.

- Hạt của các cây *N. plumbaginifolia* biến nạp và không biến nạp (thể hệ R_1 , R_2) được sử dụng để kiểm tra tính kháng streptomycin và spectinomycin của chúng.

Hạt của các cây nhận được từ chuyển gen

và cây đối chứng được vô trùng bằng cồn 70% và dung dịch 5% nước javen rồi xử lý trong nước có chứa 1 mg/l gibberellin trong khoảng 1 giờ. Sau đó những hạt này được gieo trên môi trường cơ bản MS có chứa 500 mg/l spectinomycin và 500 mg/l streptomycin, để thử tính kháng dựa trên khả năng nảy mầm của hạt. Kết quả được đánh giá sau 3 - 4 tuần nuôi cấy.

Lục lạp được tách từ những cây vô khuẩn nuôi cấy *in vitro* trong dung dịch có nồng độ các ion cao [2]. Tách và làm sạch ADN lục lạp được tiến hành theo quy trình chuẩn của Sambrook và cộng sự, 1989 [7].

Phản ứng PCR:

Hai đoạn mồi (primer), trong đó một mồi có ký hiệu là SSP (5'-ACACITCACCACGGAAC-3') đặc thù cho nghiên cứu ADN lục lạp của *S. nigrum* và một mồi có ký hiệu là CMP (5'-GGACCAATTTAGTCACG-3') được sử dụng như là mồi ngược. Cặp mồi này có khả năng nhân một đoạn cpDNA (khoảng 800 bp) của *S. nigrum*.

Hỗn hợp phản ứng PCR với tổng số là 25 μ l bao gồm 1 μ M mồi (mỗi loại), 0,5 μ l enzym polymeraza Taq, 2,5 μ l dung dịch đệm 10 lần (PCR buffer $\times 10$), 1,5 mM $MgCl_2$, 5 μ M dNTP mỗi loại và 50 ng ADN lục lạp. Phản ứng được thực hiện trên máy PCR (MJ Research Inc, USA) với 30 chu kỳ, mỗi chu kỳ gồm 1 phút ở 94°C, 1 phút ở 55°C, 1 phút ở 72°C. Cuối cùng giữ 8 phút ở 72°C để phản ứng xảy ra hoàn toàn. Sau khi kết thúc phản ứng, sản phẩm PCR được phân tích bằng điện di trên gel agarosa 1%,

* Công trình được sự hỗ trợ kinh phí của Chương trình nghiên cứu khoa học cơ bản cấp nhà nước giai đoạn 1998-2000.

hiệu điện 80 V trong thời gian 60 phút. Sau đó gel được nhuộm với ethidium bromide và xem điện di đồ nhờ ánh sáng của đèn cực tím.

II. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

1. Kiểm tra khả năng nảy mầm của hạt trên môi trường chọn lọc:

Để kiểm tra tính kháng đồng thời cả streptomycin và spectinomycin (được quy định bởi 2 gen lục lạp rps12 và 16S rRNA của *S. nigrum*) có được duy trì ổn định trong các cây *N. plumbaginifolia* biến nạp qua một vài thế hệ hay không, chúng tôi đã gieo hạt của 4 dòng *N. plumbaginifolia* biến nạp (CT6-3.1.1., CT6-3.5.3, CT-3.5.6 và CT6-3.6.2) ở thế hệ R_1 và hạt của cây *N. plumbaginifolia* không biến nạp trên môi trường MS [5] có bổ sung cả hai loại streptomycin và spectinomycin với nồng độ 0,5 g/lit mỗi loại. Kết quả cho thấy, sau khoảng 4 tuần nuôi cấy, hạt của cây R_1 nảy mầm có màu xanh, trái lại hạt của cây đối chứng có nảy mầm nhưng bị bạch tạng hoàn toàn (hình 1 và bảng 1).

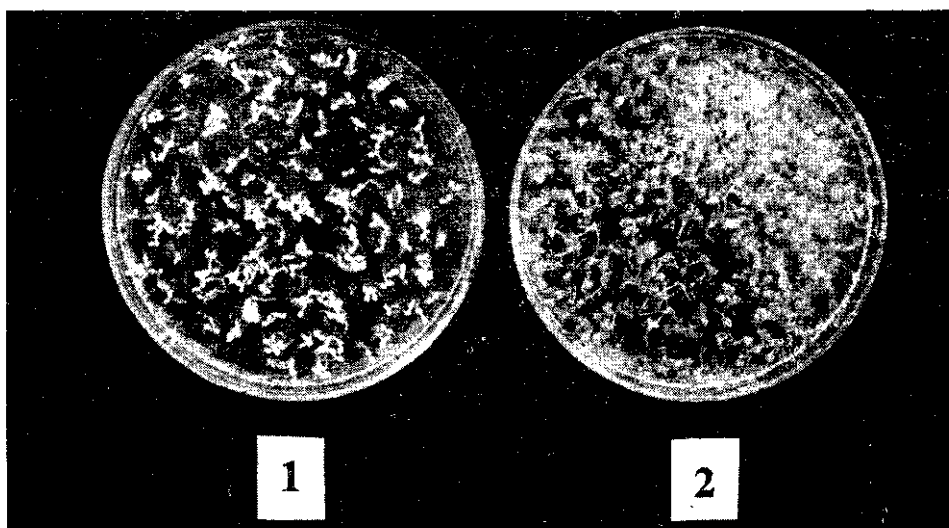
Số liệu ở bảng 1 còn cho thấy hầu hết hạt của cả cây biến nạp và không biến nạp đều có tỷ lệ nảy mầm khá cao. Tuy nhiên có một số hạt không nảy mầm, điều này theo chúng tôi có thể

những hạt này bị lép hoặc chưa đủ già nên không có khả năng nảy mầm được.

Tương tự như vậy những hạt nhận được từ 4 dòng *N. plumbaginifolia* biến nạp (CT6-3.1.1., CT6-3.5.3, CT-3.5.6 và CT6-3.6.2) ở thế hệ R_2 và hạt của cây *N. plumbaginifolia* không biến nạp cũng đã được đưa lên môi trường MS có bổ sung cả hai loại streptomycin và spectinomycin với nồng độ 0,5 g/lit mỗi loại để kiểm tra khả năng kháng của 2 loại kháng sinh này. Kết quả nhận được cũng tương tự với trường hợp khi thử với thế hệ R_0 và R_1 , tức là hạt của những dòng biến nạp nảy mầm có màu xanh còn hạt của cây đối chứng nảy mầm bị bạch tạng (bảng 1).

Hai loại kháng sinh streptomycin và spectinomycin có khả năng ức chế quá trình tổng hợp protein ở lục lạp, làm cho cây mất khả năng lục hóa, vì vậy nhiều tác giả đã sử dụng những đột biến kháng sinh như là những đặc điểm chỉ thị lục lạp để chọn lọc các thể lai lục lạp trong các thí nghiệm dung hợp hoặc chuyển gen lục lạp [4, 9, 6].

Như vậy những kết quả nhận được trong phòng thí nghiệm của chúng tôi đã chứng tỏ tính kháng hai loại kháng sinh trên (được quy định bởi 2 gen lục lạp của *S. nigrum* đã được biểu hiện khá ổn định tới thế hệ R_2 trong các cây thuốc lá biến nạp gen lục lạp.



Hình 1: Hạt của cây *N. plumbaginifolia* đối chứng (1) và cây *N. plumbaginifolia* biến nạp thế hệ R_1 (2) nảy mầm trên môi trường chứa 0,5 g/l streptomycin và 0,5 g/l spectinomycin

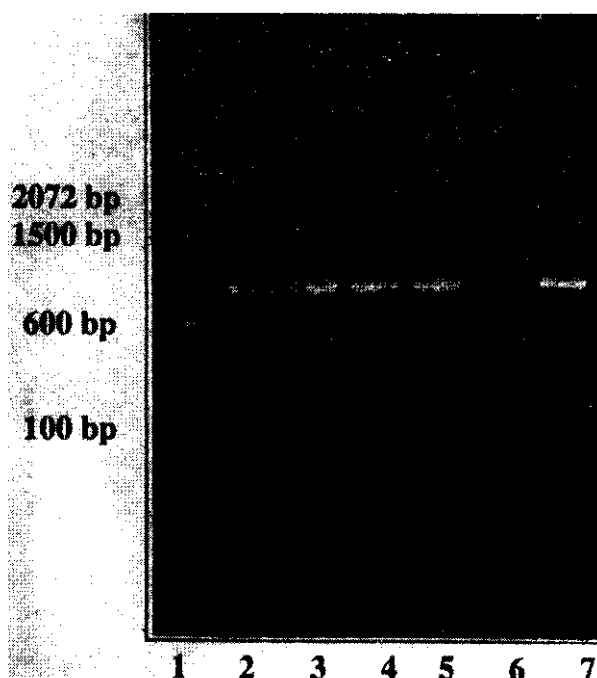
Bảng 1

Kết quả kiểm tra khả năng nảy mầm của hạt trên môi trường chọn lọc
(chứa 0,5 g/l streptomycin và 0,5 g/l spectinomycin)

Tên dòng	Tổng số hạt kiểm tra	Số hạt nảy mầm màu xanh	Số hạt nảy mầm bị bạch tạng	Số hạt không nảy mầm
Hạt R₁				
<i>N. plumbaginifolia</i> (không chuyển gen)	500	0 (0%)	481 (96,2%)	19 (3,8%)
CT6-3.1.1	500	485 (97%)	0 (0%)	15 (3%)
CT6-3.5.3	500	472 (94,4%)	0 (0%)	28 (5,6%)
CT6-3.5.6	500	479 (95,8%)	0 (0%)	21 (4,2%)
CT6-3.6.2	500	467 (93,4%)	0 (0%)	33 (6,6%)
Hạt R₂				
<i>N. plumbaginifolia</i> (không chuyển gen)	500	0 (0%)	487 (97,6%)	13 (2,6%)
CT6-3.1.1	500	489 (97,8%)	0 (0%)	11 (2,2%)
CT6-3.5.3	500	468 (93,6%)	0 (0%)	32 (6,4%)
CT6-3.5.6	500	482 (96,4%)	0 (0%)	18 (3,6%)
CT6-3.6.2	500	474 (94,8%)	0 (0%)	26 (5,2%)

2. Nghiên cứu LpADN của những cây biến nạp:

Để chứng minh sự có mặt của các ADN lục lập của *S. nigrum* trong các cây *N. plumbaginifolia* biến nạp có được duy trì ổn định qua các thế hệ R₁ và R₂ hay không, chúng tôi đã sử dụng kỹ thuật PCR với cặp mồi đặc thù cho *S. nigrum* trong phân tích ADN lục lập của 4 cây biến nạp ở thế hệ R₁ và R₂ (CT6-3.1.1., CT6-3.5.3, CT-3.5.6 và CT6-3.6.2), cây *N. plumbaginifolia* không biến nạp và cây *S. nigrum* mang gen đột biến kháng spectinomycin và streptomycin. Sau khi tiến hành phản ứng PCR với đoạn đặc thù *S. nigrum* và phân tích các sản phẩm PCR trên gel agarosa, chúng tôi nhận thấy trên điện di đồ xuất hiện duy nhất những băng khoảng 80 cặp bazơ ở các mẫu ADN lục lập của cây *S. nigrum* và những dòng biến nạp. Trái lại ở cây *N. plumbaginifolia* đối chứng thì không thấy xuất hiện băng này (hình 2). Băng (có chiều dài khoảng 800 cặp bazơ) này nằm giữa đầu 3' của gen 12 rps



Hình 2. Điện di đồ sản phẩm PCR của ADN lục lập tách từ *S. nigrum* (7), *N. plumbaginifolia* không biến nạp (6) và các cây *N. plumbaginifolia* biến nạp ở thế hệ R₂ (2, 3, 4, 5). Chỉ thị phân tử ADN bậc 100 bp (1)

(kháng streptomycin) và đầu 5' của gen 16S rRNA (kháng spectinomycin) trong đoạn ADN lục lạp của *N. plumbaginifolia*. Như vậy kết quả nhận được của chúng tôi đã cho thấy ở cả 4 dòng biến nạp được nghiên cứu đã mang đoạn ADN lục lạp (khoảng 800 cặp bazơ) của cây *S. nigrum* ổn định tới thế hệ R_2 , còn ở cây *N. plumbaginifolia* không biến nạp thì không mang đoạn ADN lục lạp này.

III. KẾT LUẬN

Từ những kết quả nhận được qua thực nghiệm chúng tôi rút ra một số nhận xét sau: tính kháng hai loại kháng sinh streptomycin và spectinomycin (được quy định bởi 2 gen lục lạp rps12 và 16S rRNA của *S. nigrum*) đã được biểu hiện khá ổn định qua các thế hệ R_1 , R_2 trong các cây thuốc lá biến nạp gen lục lạp. Đồng thời một đoạn ADN lục lạp (khoảng 800 bp) nằm giữa 2 gen rps12 và 16S rRNA của *S. nigrum* cũng đã được duy trì ổn định tới thế hệ R_2 trong các cây thuốc lá biến nạp lục lạp.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nguyễn Đức Thành, Nghiêm Ngọc Minh, Lê Thị Muội, 1998: Chuyển gen lục lạp của *Solanum nigrum* vào cây thuốc lá *Nicotiana plumbaginifolia*. Kỷ yếu Viện Công nghệ sinh học (Annual Report) 1997. Nhà xuất bản KHKT: 239-245.

2. Bookjans G., Stumman B. M., Henningsen K. W., 1984: Preparation of chloroplast DNA from pea plastids isolated in a medium of high ionic strength. Anal Biochem. 141: 244-247.

3. Golds T., Maliga P., and Koop H. U., 1993: Stable plastid transformation in PEG-treated protoplasts of *Nicotiana tabacum*.

Bio/Technology: 95-97.

4. Medgyesy P., Menczel L. and Maliga P., 1980: The use of cytoplasmic streptomycin resistance: Chloroplast transfer from *Nicotiana plumbaginifolia* into *Nicotiana sylvestris* and isolation of their somatic hybrids. Mol. Gene. Genet. 179: 639-698.

5. Murashige T., Skoog F., 1962: A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiol. Plant 15: 473-497.

6. O'Neil C., Horvath G. B., Horvath E., Dix P., Medgyesy P., 1993: Chloroplast transformation in plants: polyethylene glycol (PEG) treatment of protoplast is an alternative to biolistic delivery systems. The Plant Journal. 3(5): 729-738.

7. Sambrook J., Fritsch E. F., Maniatis T., 1989: Molecular cloning: a laboratory manual 2nd edn., Cold Spring Harbor, New York.

8. Svab Z., Hajdukiewicz P., and Maliga P., 1990: Stable transformation of plastids in higher plants. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87: 8526-8530.

9. Thanh N. D., Páy A., Smith M. A., Medgyesy P., Márton L., 1988: Intertribal chloroplast transfer by protoplast fusion between *Nicotiana tabacum* and *Salpiglossis sinuata*. Mol. Gen. Genet. 213: 186-190.

10. Weber G., Monajemb S., Greulich K. O., and Wolfrum J., 1989: Uptake of DNA in chloroplasts of *Brassica napus* L. facilitated by UV-laser micro beam. Eur. J. Cell 49: 73-79.

11. Whifeld P. R., Bottomley W., 1983: Organization and structure of chloroplast genes. Annu. Rev. Plant. Physiol 34: 279-310.

MAINTENANCE STABLE AND EXPRESSION OF *SOLANUM NIGRUM* CHLOROPLAST GENES IN THE *NICOTIANA PLUMBAGINIFOLIA* TRANSFORMED PLANT THROUGH R_1 , R_2 PROGENIES

NGHIEM NGOC MINH, et al.

SUMMARY

The chloroplast transformed plants (R_0 progeny) were obtained after the PEG-treatment of the *Nicotiana*

plumbaginifolia protoplasts with pSSH1 plasmid carrying *Solanum nigrum* DNA fragment, on which mutated 16S rRNA and rps12 genes encoding the resistance to spectinomycin and streptomycin were located respectively.

We report here on the streptomycin and spectinomycin resistance of the *N. plumbaginifolia* chloroplast transformed plants which was stably maintained in R₁, R₂ progenies. Especially, the stable presence of the *S. nigrum* cpDNA fragment, lying between 3'-end of 16S rRNA and 5'-end of rps12 genes, in *N. plumbaginifolia* transformed plants through the R₁, R₂ progenies, was confirmed by the PCR amplification of cpDNA isolated from these plants with specific primers.

Ngày nhận bài: 28-11-1999

(Tiếp theo trang 11)

SOME NEW SPECIES FORA THE FLOR OF VIETNAM COLLECTED FROM THE LIMESTONE MOUNTAINS OF CAO BANG PROVINCE

NGUYEN TIEN HIEP, et al.

SUMMARY

Loxogramme grammitoides (Baker) C. Chr. (Polypodiaceae), *Pteris actiniopteroides* C. Chr. (Pteridaceae), *Pinus kwangtungensis* Chun ex Tsiang var. *varifolia* N. Li & Y. C. Zhong, *Pseudotsuga brevifolia* W. C. Cheng & L. K. Fu and *Tsuga chinensis* (Franch.) Pritz. var. *chinensis* (Pinaceae), *Campylotropis henryi* (Schindl.) Schindl. (Leguminosae-Papilionoideae), *Luculia yunnanensis* S. Y. Hu (Rubiaceae), *Myrsine kwangsiensis* (E. H. Walker) Pipoly & C. Chen (Myrsinaceae), *Paphiopedilum dianthum* T. Tang & F. T. Wang and *Paphiopedilum micranthum* T. Tang & F. T. Wang (Orchidaceae), *Swertia nervosa* (Wall. ex G. Don) C. B. Clarke (Gentianaceae) are new records for the flora of Vietnam. All of them are eastern asiatic elements.

Ngày nhận bài: 5-6-1999

ĐẶC ĐIỂM PHÂN LOẠI VÀ KHẢ NĂNG PHÂN HỦY HIĐROCACBON CỦA MỘT SỐ CHỦNG VI KHUẨN GRAM ÂM ĐỂ PHÂN LẬP TỪ NHIÊN LIỆU MÁY BAY JET A1

PHẠM THỊ HÀNG, LAI THÚY HIỀN

Viện Công nghệ sinh học

NGUYỄN ĐÌNH QUYẾN

Trường Đại học Khoa học tự nhiên, ĐHQG Hà Nội

Cho đến nay, các nhiên liệu bay dùng trong ngành hàng không Việt Nam đều phải nhập ngoại, trước kia dùng TC1 nhập từ Nga, gần đây thường dùng nhiên liệu jet A1 của một số nước Đông Nam Á. Do điều kiện khí hậu nhiệt đới nóng ẩm, nhiên liệu thường bị nhiễm khuẩn, nhất là những chủng thuộc nhóm vi khuẩn Gram âm.

Sự có mặt của vi khuẩn trong nhiên liệu có thể gây ra những hậu quả nghiêm trọng. Trước hết chúng có khả năng oxi hóa các mạch cacbon làm thay đổi cấu trúc hóa lý của nhiên liệu, tạo cặn trong các bể chứa, trong hệ thống nhiên liệu gây tắc nghẽn đường dẫn, màng lọc. Nguy hiểm hơn, một số vi khuẩn còn có khả năng tạo axit gây ăn mòn thùng chứa nhiên liệu và hệ thống vận chuyển gây rò rỉ dẫn đến tai nạn.

Trên thế giới, đã có nhiều nghiên cứu phát hiện các vi sinh vật có khả năng phân hủy dầu mạnh nhằm mục đích xử lý và làm sạch môi trường ô nhiễm dầu. Ngược lại, những vi khuẩn trong nhiên liệu phải được hạn chế và loại trừ vì những tác hại do chúng gây ra. Những chi vi khuẩn thường gặp trong nhiên liệu TC là: *Pseudomonas*, *Mycobacterium*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Proteus*. Trong đó, *Pseudomonas* là chi thường gặp nhất, chiếm tới 80% trong tổng số vi sinh vật phân lập được từ nhiên liệu TC1.

Trong bài này chúng tôi muốn nêu một số kết quả nghiên cứu vi khuẩn trong nhiên liệu jet A1 và hy vọng rằng những kết quả thu được sẽ góp phần làm rõ về thành phần chủng loại vi

khuẩn nhiễm trong nhiên liệu jet A1. Trên cơ sở đó tìm ra giải pháp thích hợp để phòng trừ những sự cố do vi sinh vật gây ra cho ngành hàng không Việt Nam. Mặt khác, việc nghiên cứu những đặc điểm hình thái, sinh lý, sinh hóa của những chủng vi khuẩn phân lập được và khả năng phân hủy hidrocarbon mạnh sẽ mở ra những ứng dụng trong làm sạch môi trường ô nhiễm dầu, một vấn đề cấp bách hiện nay.

I. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Các chủng vi khuẩn phân lập từ nhiên liệu jet A1 của các máy bay đang sử dụng trong Hàng không Việt Nam, các bể chứa, các xe nạp nhiên liệu ở sân bay Nội Bài - Hà Nội, Đà Nẵng và Tân Sơn Nhất (Thành phố Hồ Chí Minh).

Môi trường nuôi cấy vi khuẩn:

- Môi trường MPA (g/l): cao thịt: 3,0; pepton: 10,0; NaCl: 5,0; agar: 20,0; nước cất: 1000 ml; pH = 7,2.

- Môi trường khoáng Gost 9023-74 (g/l): KNO₃: 3,0; KH₂PO₄: 0,3; Na₂HPO₄: 0,7; MgSO₄: 0,4; nước máy: 1000 ml; pH: 6,9.

Quan sát hình thái tế bào dưới kính hiển vi điện tử JEM 1010 của Nhật¹. Phân loại vi khuẩn theo API 20 NE (Pháp) và khóa phân loại của Bergey (1984).

Đánh giá khả năng sử dụng hidrocarbon của các chủng vi khuẩn bằng phương pháp nuôi cấy trên môi trường Gost, bổ sung 5% nguồn cacbon duy nhất lần lượt là nhiên liệu jet A1, dầu DO và dầu thô. Mức độ phân hủy

các thành phần hidrocarbon được đánh giá dựa trên kết quả đếm số lượng vi khuẩn trước và sau khi nuôi; cân trọng lượng và sắc ký dầu (sử dụng cột mao quản CP5 và xử lý theo Pros-Nelson 87).

2. Đặc điểm hình thái (bảng 1):



Hình 1. Chủng vi khuẩn N1B1 (×30.000)

II. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

1. Kết quả phân lập:

Từ hơn 100 mẫu nhiên liệu jet A1, chúng tôi phân lập được 14 chủng vi khuẩn, trong đó có 6 chủng Gram âm tồn tại trong nhiên liệu với số lượng lớn được chọn đi sâu vào nghiên cứu đặc điểm phân loại, ký hiệu là: ASA, ASB, ASC, ACD, ASJ và N1B1.

Bảng 1

Đặc điểm hình thái khuẩn lạc và tế bào của các chủng vi khuẩn

TT	Ký hiệu chủng	Hình thái khuẩn lạc			Hình thái tế bào		
		Kích thước (cm)	Màu sắc	Hình dạng	Kích thước (μm)	Hình dạng	Tiền mao
1	ASA	3-4	vàng, ánh xanh	đet, lan	1,25×0,5	que ngắn	chùm ở bên cạnh
2	ASB	4-5	vàng ngà, ánh xanh	đet, lan	1,4×0,5	ovan dài	đơn cực
3	ASC	4-5	vàng trong, ánh xanh	tâm lõi, lan	1,5×0,7	ovan	đơn cực
4	ASD	5-8	vàng trong, ánh xanh	đet, trơn	1×0,65	ovan dài	chùm ở một cực
5	ASJ	3-4	vàng đục, ánh xanh	đet, trơn	1,9×0,7	que, kết chuỗi	đơn cực
6	N1B1	3-4	đỏ boocđô	đet, trơn	0,95×0,65	ovan ngắn	đơn cực

3. Phân loại vi khuẩn:

Kết quả phân loại các chủng vi khuẩn Gram âm nhờ kit chuẩn API 20NE được trình bày ở bảng 2.

Từ kết quả trên, kết hợp đối chiếu với API profile index và hình thái khuẩn lạc, hình thái tế bào, có thể xếp các chủng vi khuẩn ASA, ASB, ASC, ASD, ASJ vào chi *Pseudomonas* và chủng vi khuẩn N1B1 vào chi *Aeromonas*. Trong đó:

- Chủng ASA có 95,5% các đặc điểm giống với loài *Pseudomonas aeruginosa*.
- Chủng ASB có 99,9% các đặc điểm giống với loài *Pseudomonas cepacia*.
- Chủng ASC có 99,9% các đặc điểm giống với loài *Pseudomonas cepacia*.
- Chủng ASD có 99,9% các đặc điểm giống với loài *Pseudomonas cepacia*.

Dựa vào các đặc điểm hình thái, hai chủng ASI và N1B1 có thể lần lượt xếp vào các chi *Pseudomonas* và *Aeromonas*, nhưng do có một số sai khác so với kit chuẩn API 20NE nên cần phải nghiên cứu sâu hơn để đưa đến kết luận chính xác.

Bảng 2

Một số đặc điểm sinh hóa của các chủng vi khuẩn

STT	Phép thử	Ký hiệu chủng					
		ASA	ASB	ASC	ASD	ASI	N1B1
1	NO ₃	N ₂	N ₂	N ₂	N ₂	N ₂	N ₂
2	TRP	-	-	-	-	-	+
3	GLU	+	-	-	-	-	+
4	ADH	+	+	+	-	-	+
5	URE	+	+	+	+	-	+
6	ESL	-	+	-	+	+	+
7	GEL	+	+	-	+	+	+
8	PNPG	-	+	-	+	+	+
9	GLU	+	+	-	+	+	+
10	ARA	+	+	-	+	+	+
11	MNE	+	+	-	+	+	+
12	MAN	+	+	+	+	+	+
13	NAG	+	+	-	+	+	+
14	MAL	+	+	-	-	+	+
15	GNT	+	+	+	+	+	+
16	CAP	+	+	+	+	+	+
17	ADI	+	+	+	+	+	+
18	MLT	+	+	+	+	+	+
19	CTT	+	+	-	+	+	+
20	PAC	+	+	+	+	+	+
21	OX	+	+	+	+	+	-

4. Ảnh hưởng của vi khuẩn đến chất lượng nhiên liệu jet A1, dầu DO và dầu thô:

4.1. Sự phát triển của vi khuẩn sau khi nuôi trên môi trường có nguồn cacbon duy nhất lần lượt là nhiên liệu jetA1, dầu diesel (DO) và dầu thô

Kết quả ở bảng 3 cho thấy, chỉ có chủng N1B1 không có khả năng phân hủy hidrocarbon, tất cả các chủng còn lại đều có khả năng phân hủy nhiên liệu và các loại dầu với mức độ khác nhau. Mạnh nhất là chủng ASB, số lượng vi khuẩn tăng 10^4 - 10^5 lần.

4.2. Khả năng phân hủy hidrocarbon của một số chủng thuộc chi *Pseudomonas*

Lượng dầu và nhiên liệu thu hồi sau khi nuôi với các chủng vi khuẩn được trình bày ở bảng

4.

Bảng 3

Số lượng vi khuẩn trước và sau khi nuôi với jet A1, DO và dầu thô

STT	Chủng vi khuẩn	Số lượng vi khuẩn ban đầu (tế bào/ml)	Số lượng vi khuẩn sau thí nghiệm (tế bào/ml)		
			Nhiên liệu jetA1	Dầu DO	Dầu thô
1	ASB	$2,0 \times 10^6$	$8,4 \times 10^8$	$1,6 \times 10^9$	$4,8 \times 10^9$
2	ASB	$1,8 \times 10^6$	$9,6 \times 10^{10}$	$1,6 \times 10^{10}$	$3,8 \times 10^{11}$
3	ASC	$1,6 \times 10^6$	$1,2 \times 10^9$	$8,0 \times 10^7$	$4,6 \times 10^9$
4	ASD	$3,2 \times 10^6$	$1,2 \times 10^8$	$1,4 \times 10^9$	$1,0 \times 10^9$
5	ASJ	$1,0 \times 10^6$	$2,6 \times 10^8$	$2,0 \times 10^9$	$3,1 \times 10^8$
6	N1B1	$3,0 \times 10^6$	$7,0 \times 10^5$	$2,5 \times 10^6$	$6,8 \times 10^5$

Bảng 4

Lượng dầu và nhiên liệu thu hồi sau khi nuôi với các chủng vi khuẩn

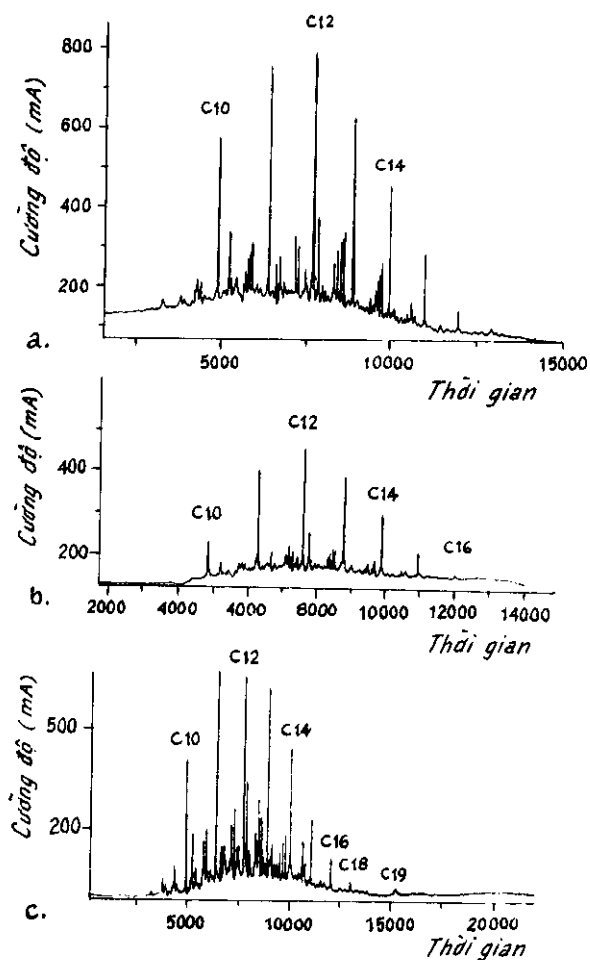
SIT	Mẫu	Lượng dầu sau thí nghiệm (mg/l)	% so với đối chứng
1	K-jetA ₁	30443	100
2	ASB-jetA ₁	10909	36
3	ASJ-jetA ₁	18000	55
4	K-DO	40322	100
5	ASB-DO	14744	32
6	ASJ-DO	11624	29
7	K-Dầu thô	45018	100
8	ASB-Dầu thô	31736	70

Sau 7 ngày nuôi cấy, lượng jet A1, dầu DO, dầu thô bị giảm đi đáng kể. Chủng ASB phân hủy jet A1 mạnh nhất được 64%, chủng ASJ phân hủy 45% (hình 2). Điều đáng lưu ý là thành phần cacbon từ C₁₁ đến C₁₃ chiếm số lượng lớn nhất trong nhiên liệu bị vi khuẩn sử dụng nhiều nhất. Do đó, sự phân hủy các mạch cacbon nói trên đã làm thay đổi hoàn toàn chất lượng và tính năng sử dụng của nhiên liệu jet A1.

Đối với dầu DO, chủng ASB phân hủy 68% lượng dầu ban đầu, 73% nhựa, 63% hidrocarbon no, 73% hidrocarbon thơm và mạnh nhất trong vùng cacbon từ C₁₇ đến C₂₅. Chủng ASJ phân hủy 71% lượng dầu DO, 69% nhựa, 71% hidrocarbon no, 74% hidrocarbon thơm và mạnh nhất trong vùng cacbon > C₂₅ (hình 3-5). Dầu DO được vi khuẩn phân hủy mạnh hơn so với nhiên liệu jet A1 vì thành phần dầu DO có nhiều hidrocarbon mạch thẳng, ít hidrocarbon thơm và phụ gia hơn [11]. Khả năng phân hủy hidrocarbon với các tỷ lệ nêu trên là khá cao so với những nghiên cứu đã được công bố trước đây [5, 8].

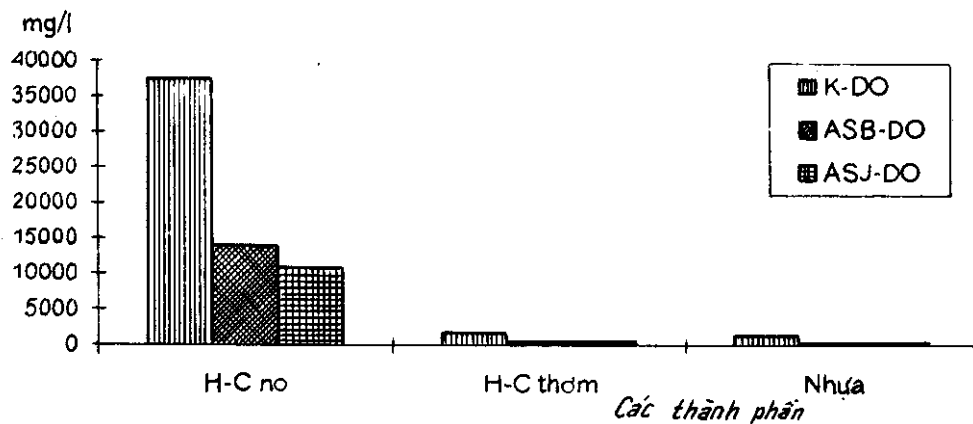
Dầu thô có thành phần hóa học thay đổi và phức tạp hơn cả nên vi khuẩn khó sử dụng nhất [8]. Chủng ASB có khả năng sử dụng dầu thô khá mạnh: 31% hidrocarbon no, mạnh nhất ở vùng

carbon từ C_{12} đến C_{19} ; 43% hidrocarbon thơm, mạnh nhất ở vùng carbon từ C_{11} đến C_{16} và 18% nhựa. Kết quả này phù hợp với nghiên cứu của Atlas [2].

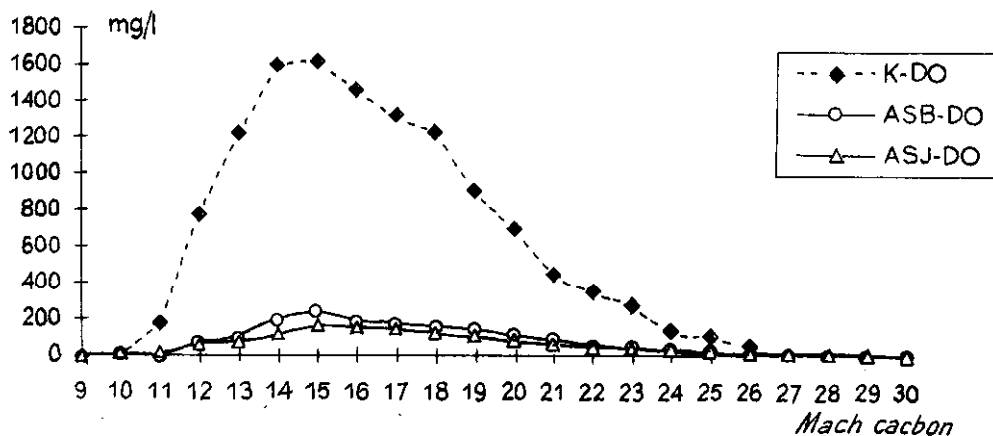


Hình 2. Phổ sắc ký toàn phần nhiên liệu jet A1

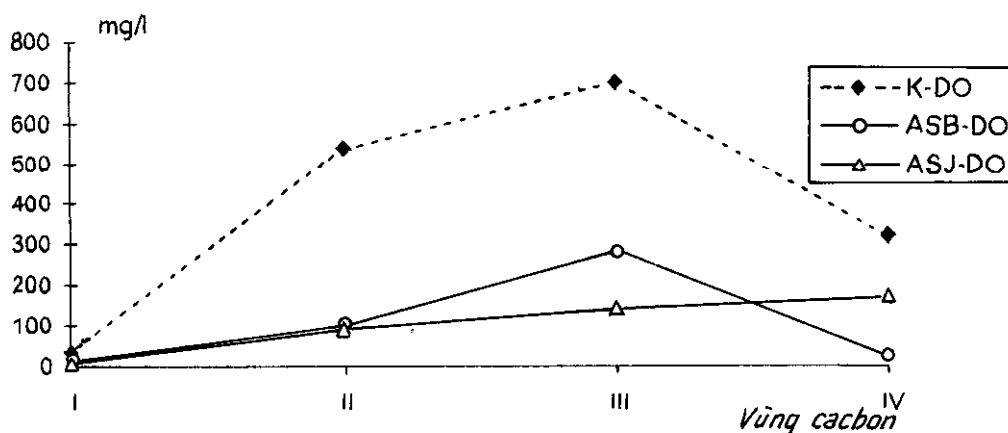
a. Đối chứng; b. jet A1 nuôi với chủng ASB; c. jet A1 nuôi với chủng ASJ



Hình 3. Khả năng phân hủy các thành phần trong dầu DO của một số chủng vi khuẩn



Hình 4. Khả năng sử dụng hidrocarbon no trong DO của một số chủng vi khuẩn



Hình 5. Khả năng sử dụng hidrocarbon thơm trong dầu DO của một số chủng vi khuẩn

III. KẾT LUẬN

1. Từ kết quả phân loại các chủng vi khuẩn thường gặp trong nhiên liệu jet A1 theo kit chuẩn API 20NE, có thể kết luận: các chủng vi khuẩn thường gặp trong nhiên liệu jet A1 ở Việt Nam phần lớn thuộc hai chi *Pseudomonas* (*P. aeruginosa*, *P. cepacia*) và *Aeromonas*.

2. Hầu hết các chủng thuộc chi *Pseudomonas* phân lập được đều có khả năng phân hủy nhiên liệu jet A1, dầu DO và dầu thô.

Đối với nhiên liệu jet A1, chủng ASB sử dụng 64% tổng số nhiên liệu, chủng ASJ sử dụng 45% tổng số nhiên liệu.

Đối với dầu DO, chủng ASB phân hủy 63% hidrocarbon no, 73% hidrocarbon thơm và 73% nhựa. Chủng ASJ phân hủy 71% hidrocarbon no, 74% hidrocarbon thơm và 69% nhựa.

Đối với dầu thô, chủng ASB sử dụng 31% hidrocarbon no, 43% hidrocarbon thơm và 18% nhựa.

3. Sự tồn tại của vi khuẩn trong nhiên liệu máy bay đã làm giảm chất lượng và tính năng sử dụng của nhiên liệu. Cần thường xuyên kiểm tra vi sinh vật ở các mẫu nhiên liệu để có biện pháp xử lý kịp thời.

4. Có thể sử dụng chủng ASB để tạo ra chế phẩm làm sạch ô nhiễm dầu nhất là dầu thành phẩm.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Aislable J., 1989: Isolation of micro-organisms capable of degrading isoquinoline under aerobic conditions. Appl. Environ. Microbiol., 12: 3247-3249.

2. **Atlas R. M.**, 1980: Microbial aspects of oil spills. New AAM fellows, 9: 495-499.
3. **Becker P. M.**, 1995: Functional analysis of communities of aerobic heterotrophic bacteria from hydrocarbon-contaminated sites. Microbiol. Ecol., 30: 285-296.
4. **Bùi Việt Vương**, 1997: Một số kiến thức về dầu mỏ. Bài giảng Học viện hậu cần. N4: 620.
5. **Grisenkov V. G.**, 1997: Prikladnaia biokhimiia i microbiologia, 4: 423-427.
6. **Iagaphanova G. G.**, 1996: Prikladnaia biokhimiia i microbiologia, 2: 224-227.
7. **Kleespies M.**, 1996: *Mycobacterium hodleri* sp. nov., a new member of the fast-growing mycobacteria capable of degrading polycyclic aromatic hydrocarbons. Inter. J. System. Bacteriol., 3: 583-687.
8. **Korponeli T. V.**, 1996: Prikladnaia biokhimiia i microbiologia, 6: 579-585.
9. **Lại Thúy Hiền, Đặng Cẩm Hà, Lý Kim Bảng, Nguyễn Thanh Hải**, 1998: Vi sinh vật trong nhiên liệu TC₁ ở Việt Nam. Tạp chí Sinh học, 10(1): 5-9.
10. **Lại Thúy Hiền, Đặng Cẩm Hà, Lý Kim Bảng**, 1989: Vi sinh vật trong xăng, diesel và dầu nhớt ở Việt Nam. Tạp chí Sinh học, 11(3): 4-6.
11. **Lại Thúy Hiền**, 1997: Chuyên đề vi sinh vật dầu mỏ. Giáo trình cao học.
12. **Romanov V.**, 1994: *Pseudomonas aeruginosa* 142 uses a three-component ortho-halobenzoate 1,2-dioxygenase for metabolism of 2,4-dichloro and 2-chlorobenzoate, J. Bacteriol., 11: 3368-3374.
13. **Xidorov D. G.**, 1997: Prikladnaia biokhimiia i microbiologia, 5: 497-502.
14. **Yang Y.**, 1994: Metabolism of naphthalene, fluorene, and phenanthrene: Preliminary characterization of a cloned gene cluster from *Pseudomonas putida* NCIB 9816. J. Bacteriol., 8: 2158-2164.

TAXONOMIC CHARACTERISTICS AND HYDROCARBON-DEGRADATION ABILITY OF SOME GRAM NEGATIVE BACTERIA STRAINS ISOLATED FROM THE JET A1 FUEL

PHAM THI HANG, et al.

SUMMARY

From over hundred samples taken from the jet A1 fuel, 10 Gram negative bacteria strains were isolated and screened. Most of them belonged to two genera: *Pseudomonas* and *Aeromonas*. Among them, the jet A1 fuel-degrading strains belonged to the genus *Pseudomonas* (*P. cepacia*, *P. aeruginosa*). These strains were also able to degrade some other petroleum products such as diesel oil and crude oil. The *Pseudomonas*-ASB strain had the strongest degradation ability: 64% of jet A1 fuel 68% of diesel oil and 30% of crude oil.

Ngày nhận bài: 16-2-2000

VI KHUẨN ƯA MẶN TRUNG BÌNH VÀ KHẢ NĂNG SỬ DỤNG DẦU THÔ CỦA *MARINOBACTER AQUAEOLEI* PHÂN LẬP TỪ MỎ DẦU BẠCH HỔ

NGUYỄN BÁ HỮU, ĐẶNG THỊ CẨM HÀ

Viện Công nghệ sinh học

Vi sinh vật ưa mặn trung bình được xác định là những cá thể phát triển tối ưu trong các môi trường dinh dưỡng chứa từ 3-15% NaCl [7]. Gần đây từ những khảo sát vi sinh vật ở mỏ dầu Bạch Hổ - Vũng Tàu, một số nhóm vi sinh vật khác nhau đã được phân lập, trong đó gồm các vi khuẩn ưa mặn trung bình và có khả năng chịu muối cao. Hai loài vi khuẩn mới: *Desulfovibrio vietnamensis* và *Marinobacter aquaeolei* [2, 11] được phân lập từ khu vực này. Trong nghiên cứu này chúng tôi sẽ trình bày một số kết quả nghiên cứu phân loại các chủng vi khuẩn ưa mặn trung bình VT5, VT7, VT9, VT10 và khả năng sử dụng dầu thô của chủng *Marinobacter aquaeolei* VT8 phân lập từ mỏ dầu Bạch Hổ.

I. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

- Các chủng vi sinh vật có nguồn gốc từ Trung tâm tế bào và vi sinh vật của Đức (Deutsche Sammlung von Microorganismen und Zellkulturen - DSMZ): *Chromohalobacter marismortui* DSM 6770^T (*C. marismortui*), *Marinobacter hydrocarbonoclasticus* DSM 8798^T (*M. hydrocarbonoclasticus*), *Halmonas elongata* DSM 2581^T (*H. elongata*), *Marinomonas communis* DSM 5604^T (*M. communis*), *M. vaga* DSM, *Pseudomonas nautica* DSM 54018^T (*P. nautica*), *H. pacifica* DSM 4742^T, *H. halophila* DSM 4770^T, *Salinivibrio costicola* DSM 11403^T (*S. costicola*) tên cũ - *Vibrio costicola* (T = chủng khuẩn).

- Các chủng vi khuẩn VT5, VT6, VT7, VT8, VT9, VT10 và VT11 phân lập từ các mẫu nước và nước lẫn dầu trong giếng khoan và các thiết bị khai thác trên mỏ Bạch Hổ theo như đã miêu tả trước đây [9, 11].

- Nghiên cứu ảnh hưởng của NaCl, nhiệt độ, pH đến sinh trưởng của các chủng VT5, VT6, VT7, VT8, VT9, VT10 theo như mô tả ở [9, 11].

- Đánh giá khả năng sử dụng các cơ chất (nồng độ 10 mM) như nguồn cacbon và năng lượng duy nhất của chủng VT7 trên môi trường *Halomonas* muối khoáng chứa 5% NaCl [11].

Sinh trưởng của các chủng vi sinh vật được xác định bằng phương pháp đo độ đục (OD) của môi trường nuôi cấy trên máy so màu quang phổ (Novaspec II - Pharmacia) tại bước sóng 600 nm.

- Đã sử dụng các phương pháp nghiên cứu vi sinh vật khác như: hình thái tế bào dưới kính hiển vi điện tử, độ nhạy cảm với kháng sinh, nhuộm Gram theo các phương pháp miêu tả trong [11]. Phân tích protein tổng số của các tế bào vi sinh vật theo phương pháp miêu tả trong [8, 11].

- Phân tích khả năng sử dụng dầu thô (tăng Mioxen) mỏ Bạch Hổ của VT8 theo phương pháp đã miêu tả trong các nghiên cứu trước đây [2, 10].

II. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Do ứng dụng phương pháp bơm ép nước biển trong quá trình khai thác dầu tại mỏ Bạch hổ nên các chủng vi khuẩn VT5, VT6, VT7, VT8, VT9, VT10 và VT11 phân lập từ môi trường chứa 10% NaCl cho vi khuẩn lên men đều là các vi khuẩn chịu muối cao. Chủng VT8 được xác định thuộc loài *M. aquaeolei* [11], và có quan hệ gần gũi với các chủng khác trong các chi *Marinobacter*, *Marinobacterium*, *Oceanospirillum*, *Marinomonas* [11]. VT6 và VT11 thuộc loài *Chromohalobacter marismortui* [9]. Một số kết quả phân loại của chủng VT6, VT11 và VT8 được dùng trong nghiên cứu so sánh với các đặc điểm phân loại của VT5, VT7, VT9 và VT10.

1. Đặc điểm phân loại:

- Hình thái tế bào:

Tế bào của các chủng VT5, VT9, VT10 có dạng que, VT7 dạng xoắn (hình 1); Gram âm, chuyển động, không có bào tử. Kích thước của

các tế bào từ $0,5-0,6 \mu\text{m} \times 1,4-2,6 \mu\text{m}$. Khuẩn lạc của các chủng này có màu vàng nâu, dạng tròn, lồi, trơn, đường kính từ 1,5 đến 2 mm sau hai ngày nuôi cấy ở 30°C trên môi trường Ha.



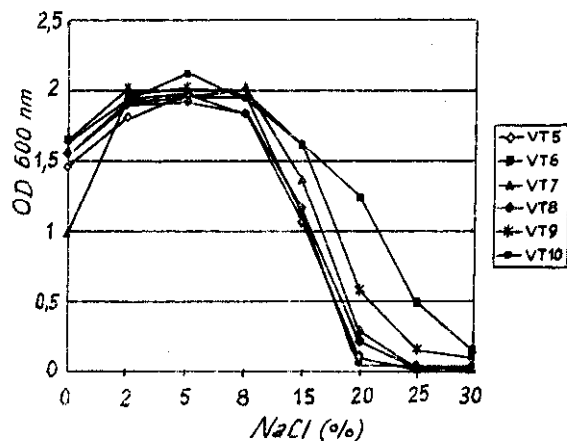
Hình 1. Ảnh kính hiển vi điện từ của chủng VT7 (độ phóng đại 20.000)

- Đặc tính sinh trưởng và sinh lý - sinh hóa:

Các chủng VT là các vi khuẩn ưa mặn trung bình. VT5, VT7, VT8, VT10 phát triển ở các nồng độ 0 đến 20%, và phát triển tối ưu trong khoảng 5-8% NaCl (đồ thị 1). VT6, VT9, VT11 phát triển ở các nồng độ 0 đến 30% NaCl, và phát triển tối ưu trong khoảng 5% NaCl (đồ thị 1) [9]. Nhiệt độ tối ưu cho phát triển của VT7 là 30°C chủng này có thể phát triển trong khoảng nhiệt độ từ 13 đến 50°C . Không quan sát thấy sự phát triển ở 4 và 55°C . pH tối ưu cho phát triển của chủng VT7 là 7,3, chủng này có thể phát triển trong khoảng pH rộng từ 5 đến 10. Chủng VT7 biểu hiện những đặc tính sinh trưởng giống như chủng VT8 [11].

Chủng VT7 có thể sử dụng DL-lactat, xitrat, axetat, butyrat và các axit amin: L-alanin, L-leucin nhưng không sử dụng D⁺glucoza, D⁺fructoza, D⁺mantoza, D,L-arabinoza, lactoza, L-isoleucin, và benzoat như là các nguồn cacbon và năng lượng duy nhất. Khả năng sử dụng một số nguồn cacbon và năng lượng của chủng VT7 giống như VT8 [11], tuy nhiên VT7, VT8 không

sử dụng một số đường và axit amin như VT6, VT11 [9].



Đồ thị 1. Ảnh hưởng của nồng độ NaCl trong môi trường Ha đến sinh trưởng của các chủng VT (OD đo tại 24 giờ)

Độ nhạy cảm kháng sinh của VT5, VT6, VT7, VT9, VT10, VT11 và các chủng đại diện trong lớp phụ gamma Proteobacteria Bảng 1

Kháng sinh	Số lượng trên đĩa thạch, µg	Vòng ức chế của các chủng vi khuẩn, mm								
		VT5	VT6	VT7	VT8	VT9	VT10	VT11	<i>C. marismortui</i> 6770	<i>Ma. hydrocarbonoclasticus</i> 8798
Ampicillin	20	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Anisomysin	15	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Bacitracin	20	12	12	13	12	12	13	13	13	12
Chloramphenicol	30	31	20	20	22	24	20	20	25	32
Erythromycin	15	20	21	20	18	21	18	22	21	22
Gentamycin	30	14	17	15	13	18	14	20	18	14
Kanamycin	30	11	12	12	10	13	10	12	13	10
Novobiocin	30	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Oleandomycin	25	0	12	0	0	14	0	12	16	0
Streptomycin	20	10	10	12	9	12	9	10	12	10
Tetracyclin	20	0	0	0	0	0	0	0	0	0

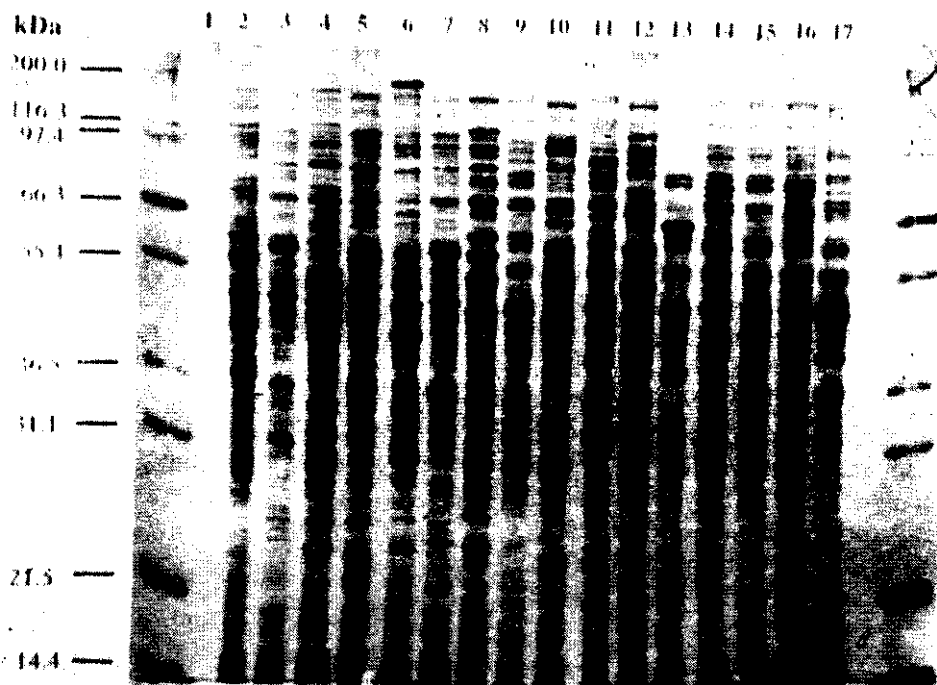
- Sự nhạy cảm với kháng sinh:

Các chủng nghiên cứu có thể xếp vào hai nhóm khác nhau dựa trên sự nhạy cảm đối với kháng sinh (bảng 1). Nhóm 1 gồm: VT6, VT9, VT11 và *C. marismortui* DSM 6770. Nhóm 2 gồm: VT5, VT7, VT8, VT10 và *Ma. hydrocarbonoclasticus* DSM 8798. Tất cả các chủng trong hai nhóm này nhạy cảm với bacitracin, chloramphenicol, erythromycin, streptomycin, kanamycin, getamycin và bền vững với tetracycline, novobiocin, anisomycin, ampicillin.

Tuy nhiên sự khác nhau chính giữa hai nhóm này là sự nhạy cảm với oleandomycin. VT6, VT9, VT11 và *C. marismortui* DSM 6770 có phản ứng nhạy cảm, trong khi đó VT5, VT7, VT8, VT10 và *Ma. hydrocarbonoclasticus* DSM 8798 bền vững với oleandomycin.

- Phân tích protein tổng số của tế bào vi khuẩn:

So sánh protein tổng số của tế bào bằng điện di gel polyacrylamide là một trong các phương pháp chuẩn trong phân loại vi khuẩn [6]. Protein tổng số của tế bào thể hiện một phần kiểu gen của các cá thể và có độ chính xác như phương pháp lai ADN : ADN. Trong nghiên cứu



Hình 2. Protein tổng số của các chủng VT và các chủng đại diện trong lớp phụ gamma Proteobacteria (1-dung dịch đệm mẫu, 2- *H. elongata* DSM 2581, 3-VT6, 4-*H. halophila* DSM 4770, 5-VT9, 6-*H. pacifica* DSM 4742, 7-VT11, 8-*C. marismortui* DSM 6770, 9-VT5, 10-*M. communis* DSM 5604, 11-VT7, 12-*M. vaga* DSM 5605, 13-VT8, 14-*Ma. hydrocarbonoclasticus* DSM 8798, 15-VT10, 16-*P. nautica* DSM 4742, 17-*S. costicola* DSM 11403).

này các chủng VT được so sánh protein tổng số với các chủng khác trong gamma Proteobacteria nhằm kiểm tra thêm về quan hệ giữa các chủng đó (hình 2). Kết quả cho thấy có nhiều sự giống nhau giữa protein tổng số của VT6, VT9, VT11 và *C. marismortui*, VT5, VT7, VT9, VT10 và VT8, *Ma. hydrocarbonoclasticus* DSM 8798. Tuy nhiên giữa các chủng VT5, VT7, VT9, VT10 và VT8, *Ma. hydrocarbonoclasticus* DSM 8798 vẫn có những băng protein khác biệt.

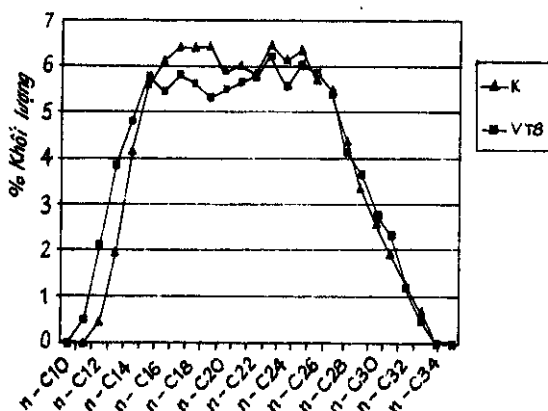
Các chủng vi khuẩn VT5, VT7, VT8, VT9, VT10 phát triển tối ưu ở nồng độ muối NaCl từ 5-8% và được xem như thuộc nhóm vi khuẩn ưa mặn trung bình [7]. Dựa trên các đặc điểm hình thái, sinh lý-sinh hóa, nhạy cảm với kháng sinh, protein tổng số các chủng VT5, VT7, VT10 có thể thuộc chi *Marinobacter*, VT9 có thể thuộc chi *Chromohalobacter* tuy nhiên cần có thêm các kết quả phân tích 16S rRNA, lai DNA:DNA, đặc tính sinh hóa để có thể phân loại đến loài và có những kết luận rõ hơn về quan hệ giữa các

chủng trên. Chủng VT5, VT7, VT9 và VT10 được phân lập cùng địa điểm mỏ dầu Bạch Hổ với vi khuẩn biển *Desulfovibrio vietnamensis* và *C. marismortui* VT6, *C. marismortui* VT11 và *M. aquaeolei* VT8 [2, 8, 11]. Dựa trên các đặc tính như khả năng phát triển tối ưu tại 30°C, 5-8% NaCl, khả năng sử dụng một số cơ chất có trong nước biển (VT7) các chủng VT5, VT7, VT9, VT10 có thể thuộc các nhóm vi khuẩn biển xâm nhập, và thích nghi trong các điều kiện của mỏ dầu Bạch Hổ, kết quả này cũng phù hợp với các nghiên cứu trước đây và của các tác giả khác [1].

2. Khả năng sử dụng dầu thô của chủng *M. aquaeolei* VT8:

Chi *Marinobacter* và loài *M. hydrocarbonoclasticus* được Gauthier và cộng sự phân lập từ mẫu đáy vùng bờ biển Địa Trung Hải nhiễm dầu mỏ mô tả lần đầu tiên năm 1992. Loài này có thể sử dụng cacbuahydro như n-hexadecan, phenanthren, p-hydroxybenzoat,

eicosan trong môi trường khoáng chứa 0,08-3M NaCl [4, 5, 12]. Theo các tác giả này sử dụng eicosan không phụ thuộc rõ ràng vào NaCl, tuy nhiên khả năng phân hủy lớn nhất ở nồng độ NaCl 0,6-1 M NaCl [4, 5]. Chúng *M. aquaeolei* VT8 có thể sử dụng n-hexadecan, pristan nhưng không sử dụng benzoat [11]. Trong nghiên cứu này chủng VT8 được thử khả năng sử dụng dầu thô tăng miocen lấy từ mỏ Bạch Hổ. Sau 7 ngày nuôi trên môi trường khoáng chứa 5% NaCl và 5% dầu thô chủng VT8 đã phân hủy 23% dầu thô và sử dụng 59% cacbuahydro no, 48% cacbuahydro thơm và có thể phân hủy thành phần asphalten (21%). Chủng VT8 có thể sử dụng các phân đoạn n-parafin từ C16 đến C25 (đồ thị 2) và cacbuahydro thơm từ C9 đến C25, kết quả cuối cùng dẫn đến sự thay đổi rõ rệt các hệ số đặc trưng (pristan/phytan, n-C17/pristan, n-C18/phytan và H-C no/H-C thơm) của dầu thô.



Đồ thị 2. Phân bố n-parafin theo số nguyên tử cacbon trong dầu thu hồi

* Một phần công việc trong bài báo này được thực hiện tại Viện Di truyền và Sinh học đại cương, Đại học tổng hợp Salzburg, Cộng hòa Áo. Các tác giả bày tỏ sự cảm ơn đến Đinh Thúy Hằng và Nguyễn Thu Hằng đã giúp đỡ trong quá trình nuôi cấy thử khả năng sử dụng dầu thô của chủng *M. aquaeolei* VT8.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bernard, F. P., J. Connan, M. Magot, 1992: Indigenous Microorganisms in connate Water of Many Oil Fields: A new Tool in Exploration and Production Techniques: 467-476. In 67th Annual Technical Conference and Exhibition of Society of Petroleum Engineers, October 4-7, Washington, DC.
2. Đặng Thị Cẩm Hà và cộng sự, 1995: Kỷ yếu Viện Công nghệ sinh học. Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật: 344-358.
3. Dang P. N., et al, 1996: Anaerobe J., 2: 385-392.
4. Gauthier M., et al., 1992: Int. J. Syst. Bacteriol., 42: 568-576.
5. Gauthier M., e al., 1997: Syst. Appl. Microbiol., 20: 150-153.
6. Kerster K., and J. De Ley, 1980: Classification and identification of bacteria by electrophoresis of their protein: 273-297. In M. Goodfellow and R. G. Bourd (ed.). Microbiological classification and identification. Academic Press, New York.
7. Kushner, D. J. and Kemekura, M., 1988: Physiology of halophilic eubacteria: 109-140. In F. Rodriguez-valera (ed.). Halophilic Bacteria, Vol. I. CRC Press Inc., Boca Raton.
8. Laemmli, U. K., 1970: Nature (London), 227" 684-685.
9. Nguyễn Bá Hữu, và cộng sự, 1998: Tạp chí Sinh học, 20 (2): 33-38.
10. Nguyễn Bá Hữu, Đặng Thị Cẩm Hà, 1998: Kỷ yếu Viện Công nghệ sinh học. Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật: 291-301.
11. Nguyen B. Huu et al., 1999: Int. J. Syst. Bacteriol., 49: 367-375.
12. Sproer, C., et al.,: Int. J. Syst. Bacteriol. 48: 1445-1448.

MODERATELY HALOPHILIC BATERIA AND THE CRUDE OIL BIODEGRADATION ABILITY OF MARINOBACTER AQUEOLEI ISOLATED FROM THE BACH HO OIL FIELDS

NGUYEN BA HUU, DANG THI CAM HA

(Xem tiếp trang 58)

XÁC ĐỊNH HOẠT TÍNH KHÁNG VIRUT CỦA CHẾ PHẨM SUPERFERON (INTERFERON α -2b)

VÂN THỊ HẠNH, NGÔ KẾ SƯƠNG, NGUYỄN THU HÀNG

Viện Sinh học nhiệt đới, Tp. Hồ Chí Minh

Interferon α -2b người (HuIFN α 2b) là loại protein kích thích cảm biến tính kháng sinh virut của tế bào. Sản phẩm này hiện nay được sản xuất thông qua tế bào E.coli tái tổ hợp mang đoạn ADN mã hóa protein interferon α -2b tách được từ leucocyt người gồm 165 amino axit.

Tác động của interferon vô cùng đa dạng. Kết quả thực nghiệm thu được từ nhiều phòng thí nghiệm trên thế giới và việc ứng dụng trong thực tiễn lâm sàng ở người bệnh cho thấy interferon có các hoạt tính sau:

1. Kháng virut (Viêm gan siêu vi và các bệnh lây lan khác do siêu vi)
2. Điều hòa miễn dịch
3. Kháng sinh ở khối u
4. Ảnh hưởng đến biệt hóa tế bào
5. Điều hòa sinh trưởng tế bào
6. Hoạt tính giải độc
7. Kháng đột biến

Thử nghiệm lâm sàng gần đây nhất tại Bệnh viện ung bướu Thiên Tân Trung Quốc cho thấy, phương pháp tiêm trực tiếp interferon α -2b tái tổ hợp vào các khối u trong ung thư vú, ung thư buồng trứng, ung thư biểu mô các tổ chức phần mềm và u sắc tố cho kết quả hết sức khả quan. Trong 43 trường hợp điều trị bằng phương pháp này, có 21 trường hợp khối u hoàn toàn và 11 trường hợp có cải thiện rõ rệt.

Dự án chuyển giao công nghệ được triển khai tại Viện Sinh học Nhiệt đới và Viện Vacxin và các chế phẩm sinh học Nha Trang đã sản xuất được interferon α -2b, với tên thương mại là Superferon (SPF). Trung tâm Kiểm định Quốc gia Sinh phẩm Y học đã xác nhận SPF đạt các tiêu chuẩn quốc gia và quốc tế (Giấy phép đăng ký số VNSOP-054-0100, ngày 26-01-2000).

Xác định được hoạt tính sinh học của chế phẩm là một khâu quan trọng trong công nghệ sản xuất SPF. Bài báo này giới thiệu phương pháp xác định hoạt tính kháng virut của chế phẩm SPF, đang được tiến hành tại Viện Sinh học Nhiệt đới, thuộc Trung tâm KHTN và CNQG. Phương pháp này cũng được áp dụng để xác định hoạt tính sinh học của interferon α -2b nguyên liệu.

I. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

- Tế bào dòng MDBK (Madin-Darby Bovin Kidney)
- Virut VSV (Vesicular Stomatitis Virut)
- Interferon chuẩn HuIFN α 2b tái tổ hợp của Viện quốc gia Các chất chuẩn và Kiểm tra sinh học Anh (National Institute for Biological Standards and Control (NIBSC)).

Môi trường nuôi cấy tế bào: RPMI (ICN-USA).

Môi trường nhân virut: MEM (Minimum Essential Medium, GIBCO-USA).

Trypsin-EDTA, huyết thanh bào thai bê (Fetal Bovin Serum - FBS, USA)

Đĩa chuẩn độ 96 và 6 giếng, dụng cụ nuôi cấy tế bào.

Môi trường RPMI bổ sung 5% FBS, 16 mg gentamycin/100 ml môi trường.

Sử dụng tế bào ở thời kỳ phát triển logarit (2 ngày sau khi cấy chuyển). Bỏ môi trường cũ. Xử lý trypsin cho lớp tế bào rời khỏi bề mặt bám. Sục lấy tế bào ra, đếm số lượng tế bào trong buồng đếm hồng hồng cầu.

Hòa tan SPF dạng bột đông khô trong ampul bằng môi trường nuôi cấy sao cho dung dịch SPF có nồng độ 1×10^6 đơn vị/ml (UI/ml).

Dung dịch SPF 1×10^6 UI/ml được pha loãng tiếp thành 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} . Sử dụng dung dịch 10^{-3} như là dung dịch working solution. Dung dịch này có 1×10^3 UI/ml.

Ngày thứ nhất:

1. Cho 100 μ l môi trường vào mỗi giếng của đĩa chuẩn độ 96 giếng.

2. Cho 100 μ l dung dịch working solution SPF vào hàng giếng đầu.

3. Tiếp tục pha loãng 2 lần liên tiếp bằng cách dùng multipipet chuyển lần lượt 100 μ l dung dịch trong các giếng từ hàng này sang hàng khác. Bỏ 100 μ l dung dịch trong các giếng ở hàng cuối cùng.

4. Cho vào mỗi giếng 100 μ l dung dịch $3,8 \times 10^4$ tế bào/ml. Lắc đều và giữ ở 37°C trong tủ ấm CO_2 24 giờ.

Ngày thứ hai:

5. Gây nhiễm virus:

- Môi trường virus: MEM: 5% FBS, gentamycin 80 $\mu\text{g/ml}$ môi trường.

- Chuẩn bị dung dịch virus working solution từ stock virus (Dung dịch virus được chuẩn độ theo phương pháp Reed & Muench). Pha loãng stock virus với môi trường MEM tới 1000 $\text{TCID}_{50}/\text{ml}$.

- Hút môi trường từ các giếng trong đĩa chuẩn độ bằng hút chân không.

- Pha dung dịch virus 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} từ dung dịch working solution.

- Cho vào mỗi giếng 100 μ l dung dịch virus. Dành hai hàng giếng để kiểm tra nồng độ virus theo sơ đồ: 10^0 , 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} .

- Giữ 37°C trong tủ ấm CO_2 .

1/2								
1/4								
1/8								
1/16								
1/32								
1/64								
1/128								
1/256								
1/512								
1/1024								
Virus 10^{-3}								10^{-2}
Virus 10^0								10^{-1}

Kiểm tra kết quả sau 24 giờ (Stock Interferon chuẩn: 10^3 UI/ml).

Ngày thứ ba:

Kiểm tra tế bào dưới kính hiển vi (24 giờ sau khi gây nhiễm).

Biểu hiện tế bào

Đánh dấu

a. Tất cả tế bào bị chết, không còn lớp tế bào

++++

b. < 20% tế bào còn sống

+++

c. < 50% tế bào còn sống

++

d. Tạo các plaque riêng biệt

+

e. Lớp tế bào nguyên vẹn

-

Công thức tính mật độ virus (theo Reed và Muench):

Phương pháp tính liều LD_{50} của Reed và Muench là phương pháp phổ biến nhất để tính LD_{50} trong các thí nghiệm nghiên cứu sự gây nhiễm virus. Phương pháp này cơ bản dựa trên nguyên tắc tích lũy: Tế bào hoặc động vật đã chết sau khi nhiễm liều virus không lớn chắc chắn sẽ bị nhiễm ở liều cao hơn; ngược lại, tế

bào và động vật còn sống sau khi bị nhiễm ở liều thấp sẽ không bị chết khi bị nhiễm ở nồng độ thấp hơn. Điểm LD₅₀ là nồng độ mà tại đó có 50% đáp ứng dương và 50% đáp ứng âm.

Công thức tính:

$$\text{Lg TCID}_{50} = \text{LgB} + (b-50)/(b-a) \times d$$

Trong đó:

B là liều mà ở đó nhận được hiệu quả > 50%

b là % lớn hơn và gần sát 50%

a là nhỏ hơn ngay sau 50%

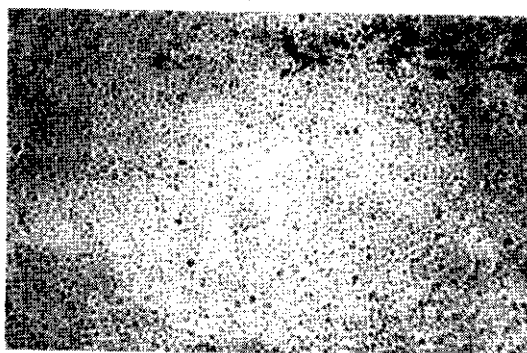
d là logarit của hệ thống pha loãng

II. KẾT QUẢ

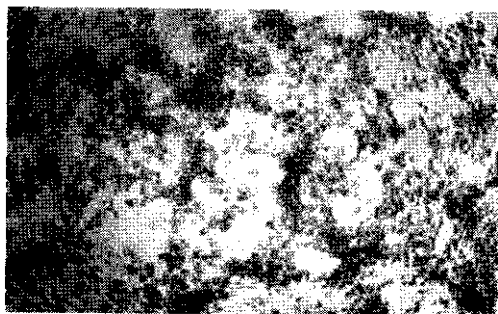
Với liều virus 100 TCID₅₀/một giếng, toàn bộ lớp tế bào trong giếng sẽ bị phá hủy. Với sự có mặt của SPF, sự hủy hoại tế bào bởi virus sẽ bị ức chế ở những nồng độ nhất định của chế phẩm này. Dựa vào đó ta có thể tính được một cách chính xác hoạt tính kháng virus của chế phẩm. Số âm tính virus sẽ là số dương tính của SPF. Dựa vào hoạt tính của interferon chuẩn, suy ra hoạt tính của SPF cần được xác định.



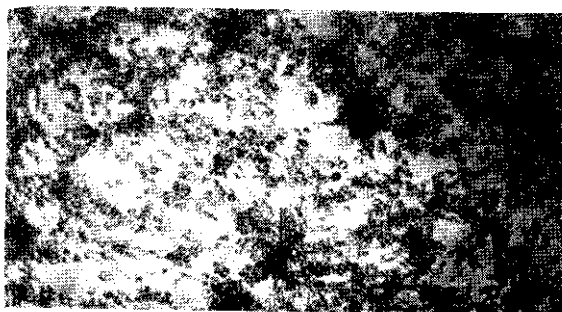
Hình 1a. Lớp tế bào MDBK 2 ngày sau khi cấy chuyển



Hình 1b. Lớp tế bào nhiễm virus VS 2000 TCID₅₀/ml + 7,83 UI SPF/ml 1 ngày sau khi gây nhiễm



Hình 2a. Lớp tế bào bị nhiễm virus VS 2000 TCID₅₀/ml 1 ngày sau khi gây nhiễm



Hình 2b. Lớp tế bào nhiễm virus VS 2000 TCID₅₀/ml + 0,49 UI SPF/ml 1 ngày sau khi gây nhiễm

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Colowick S. P. and Kaplan N. O., 1986: Methods in enzymology. Vol.119, Interferon part C. Academic Press INC.
2. David R. O'Reilly, 1993: Baculovirus Expression Vector. W. H. Freeman and Company New York.
3. Topch M. K., 1967: Những bài tập thực hành về virus học (tiếng Nga). Nhà xuất bản Trường đại học Tổng hợp Kiev.
4. Nguyễn Hồng Diệt, 1984: Interferon và sử dụng trong điều trị ung thư. Nhà xuất bản Y học Hà Nội.
5. Đỗ Trung Phần, 1979: Miễn dịch qua trung gian tế bào. Nhà xuất bản Y học Hà Nội.
6. Ngô Kế Sương, 1999: Superferon (Interferon α -2b tái tổ hợp) thành tựu mới, sản phẩm mới của Việt Nam - Ứng dụng trong virus và ung biểu học. Tạp chí Y học Tp. Hồ Chí Minh 3(4).
7. Thuốc và sức khỏe số 156-157 (15.01 & 01.02.2000).

DETERMINATION OF THE ANTIVIRAL ACTIVITY OF THE SUPERFERON PRODUCT (INTERFERON α -2B)

VAN THI HANH, et al.

SUMMARY

The determination of the antiviral activity of the SUPERFERON product (SPF) Interferon α -2b produced in Vietnam was carried out at the Institute for Tropical Biology. The results showed that the conditions for the determination and the quality of the SPF are at the International Standards.

Ngày nhận bài: 6-4-2000

NGHIÊN CỨU MỘT SỐ CHỈ TIÊU SINH LÝ, SINH HÓA CỦA CÂY ĐẬU TƯƠNG TRONG ĐIỀU KIỆN GÂY HẠN

NGUYỄN VĂN MÃ*, PHAN HỒNG QUÂN

Trường đại học Sư phạm Hà Nội II

Hiện nay nhiều vùng đất gieo trồng đậu tương ở nước ta thường hay gặp hạn và hạn hán là yếu tố hạn chế năng suất chủ yếu của đậu tương ở các vùng đất này. Việc nghiên cứu khả năng chịu hạn để tìm kiếm những giống thích hợp cho các vùng sinh thái khác nhau là việc làm có ý nghĩa thực tiễn sâu sắc. Trước đây Ngô Đức Dương, Nguyễn Huy Hoàng đã nghiên cứu đánh giá khả năng chịu hạn của một số giống đậu tương [1, 3]; Trần Thị Phương Liên và cộng sự đã nghiên cứu thành phần điện di protein của một số giống đậu tương [6]; Phạm Đình Thái đã nghiên cứu ảnh hưởng của nguyên tố vi lượng tới khả năng chịu hạn của đậu tương [8].

Nghiên cứu của chúng tôi tập trung tìm hiểu sự biến đổi của một số chỉ tiêu sinh lý, sinh hóa trong điều kiện gây hạn để tìm hiểu sâu hơn khả năng chịu hạn của một số giống đậu tương có năng suất triển vọng ở nước ta.

I. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Sử dụng 7 giống đậu tương do Viện Di truyền Nông nghiệp cung cấp. Các giống trên do tác giả Mai Quang Vinh chọn bằng gây đột biến (DT83, DT84, DT95) và lai tạo (DT90, DT94, DT96, DT99) (**).

Các giống đậu tương được gieo trong chậu với 6 lần nhắc lại. Đến khi bắt đầu ra nụ hoa, một nửa số chậu thí nghiệm được tiếp tục cấp nước đầy đủ, phần còn lại ngừng tưới nước 7 ngày cho tới khi lá dưới cùng bắt đầu héo. Sau đó xác định các chỉ tiêu về trao đổi nước, hàm lượng diệp lục, khả năng huỳnh quang. Khả năng giữ nước, hút nước, độ hút nước "còn lại"

của lá được xác định theo Kozushko [5], trong đó lượng nước giữ được của lá khi bị héo được tính bằng phần trăm so với tổng lượng nước, theo công thức $k = \frac{b - V}{B - V} \times 100\%$, trong đó b- khối lượng lá tươi sau khi héo, V là khối lượng khô của lá, B là khối lượng tươi ban đầu của lá.

Lượng nước không hút được của lá được tính bằng phần trăm so với khối lượng lá tươi bão hòa nước theo công thức $a = \frac{A_1 - A_2}{A_1} \times 100\%$, trong đó A_1 là khối

lượng tươi của lá sau lần bão hòa nước đầu tiên, A_2 là khối lượng tươi của lá bão hòa nước sau khi bị héo.

Độ hút nước "còn lại" được tính bằng phần trăm của lượng nước còn thiếu hút so với khối lượng lá tươi bão hòa nước, theo công thức $d = \frac{A - B}{A} \times 100\%$, trong đó A là khối lượng tươi của lá bão hòa nước, B là khối lượng tươi ban đầu của lá.

Hàm lượng diệp lục của lá được xác định theo Nguyễn Duy Minh và Nguyễn Như Khanh [7]. Khả năng huỳnh quang của diệp lục đo bằng máy Hansatech. Hàm lượng nitơ trong hạt xác định theo phương pháp Microkjeldahl [2].

II. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

1. Khả năng giữ nước và hút nước của lá khi gây hạn:

Kết quả nghiên cứu ở bảng 1 cho thấy, ở cây

(*) Chúng tôi chân thành cảm ơn Chương trình nghiên cứu cơ bản trong các lĩnh vực khoa học tự nhiên đã hỗ trợ cho việc triển khai nghiên cứu này.

(**) Chúng tôi chân thành cảm ơn TS. Mai Quang Vinh, KS. Ngô Phương Thịnh đã cung cấp giống đậu tương cho công trình nghiên cứu.

bị hạn, lượng nước giữ lại được của lá khi bị héo thấp hơn so với cây đủ nước. Điều đó chứng tỏ rằng hạn đã ảnh hưởng xấu đến khả năng giữ nước của cây. Ở thời điểm ra hoa, khi được cấp nước đầy đủ, mô lá của các giống DT84, DT94, DT96, DT99 có khả năng giữ nước khá tốt, nhưng khi bị hạn chỉ có giống DT84 còn giữ được lượng nước tương đối lớn hơn so với các giống khác, trong khi đó giống DT95 có lượng nước giữ lại ít nhất.

Bảng 1

Lượng nước giữ được của lá đậu tương khi bị héo

Giống	Lượng nước giữ được ở thời điểm ra hoa (%/tổng số)			Lượng nước giữ được ở thời điểm ra quả non (%/tổng số)		
	Cây đủ nước	Cây bị hạn		Cây đủ nước	Cây bị hạn	
	$\bar{X} \pm m$	$\bar{X} \pm m$	so với cây đủ nước (%)	$\bar{X} \pm m$	$\bar{X} \pm m$	so với cây đủ nước (%)
DT83	48,60 $\pm$ 0,13	35,92 $\pm$ 0,17	73,90	48,00 $\pm$ 0,43	35,47 $\pm$ 0,05	73,90
DT84	53,50 $\pm$ 0,06	43,66 $\pm$ 0,03	81,60	51,60 $\pm$ 0,03	42,66 $\pm$ 0,07	82,69
DT90	49,00 $\pm$ 0,03	36,17 $\pm$ 0,04	73,82	46,56 $\pm$ 0,12	32,73 $\pm$ 0,03	70,30
DT94	51,00 $\pm$ 0,01	39,10 $\pm$ 0,07	76,67	49,00 $\pm$ 0,02	38,23 $\pm$ 0,06	78,02
DT95	49,16 $\pm$ 0,13	34,34 $\pm$ 0,03	69,85	48,10 $\pm$ 0,12	33,70 $\pm$ 0,2	70,07
DT96	52,06 $\pm$ 0,04	38,63 $\pm$ 0,13	74,20	49,20 $\pm$ 0,17	38,20 $\pm$ 0,03	77,65
DT99	52,66 $\pm$ 0,16	40,08 $\pm$ 0,03	77,48	50,60 $\pm$ 0,07	40,43 $\pm$ 0,08	79,90

Ở thời điểm ra quả non, lượng nước giữ được ở mô lá ít hơn khi ra hoa. Lúc này ở cây bị hạn, lượng nước giữ lại được ở giống DT84 bị giảm ít nhất, còn ở các giống DT90 và DT95 bị suy giảm khá nhiều. Khi ra quả non, trừ các giống DT83, DT90 và DT95, 4 giống còn lại có xu hướng phục hồi dần khả năng giữ nước của mô lá sau khi bị hạn.

Kết quả ở bảng 2 cho thấy lượng nước không hút được của lá cây bị hạn lớn hơn rõ rệt so với cây đủ nước. Vào thời điểm ra hoa, khi thiếu nước, lượng nước không hút được của mô lá ở các giống DT90 và DT95 khá lớn, còn ở giống DT84 và DT99 có lượng nước không hút được nhỏ hơn cả. Khi ra quả non, lượng nước không hút được có tăng lên, song các giống đã thấy có dấu hiệu phục hồi sức trương khá tốt. Các cây bị hạn ở giống DT84 thể hiện khả năng hút nước tốt nhất, trong khi đó giống DT95 hút nước yếu nhất.

Biểu đồ 1 cho thấy rõ ảnh hưởng của việc gây hạn tới lượng nước thiếu hụt trong mô lá. Chỉ tiêu này được đo vào buổi sáng sớm khi sự thoát hơi nước ở lá còn ở mức tối thiểu. Kết quả cho thấy việc gây hạn làm thiếu hụt nước nhiều nhất ở các giống DT90 và DT95 và ít nhất ở DT84.

2. Hàm lượng diệp lục và khả năng huỳnh quang của lá đậu tương khi gây hạn:

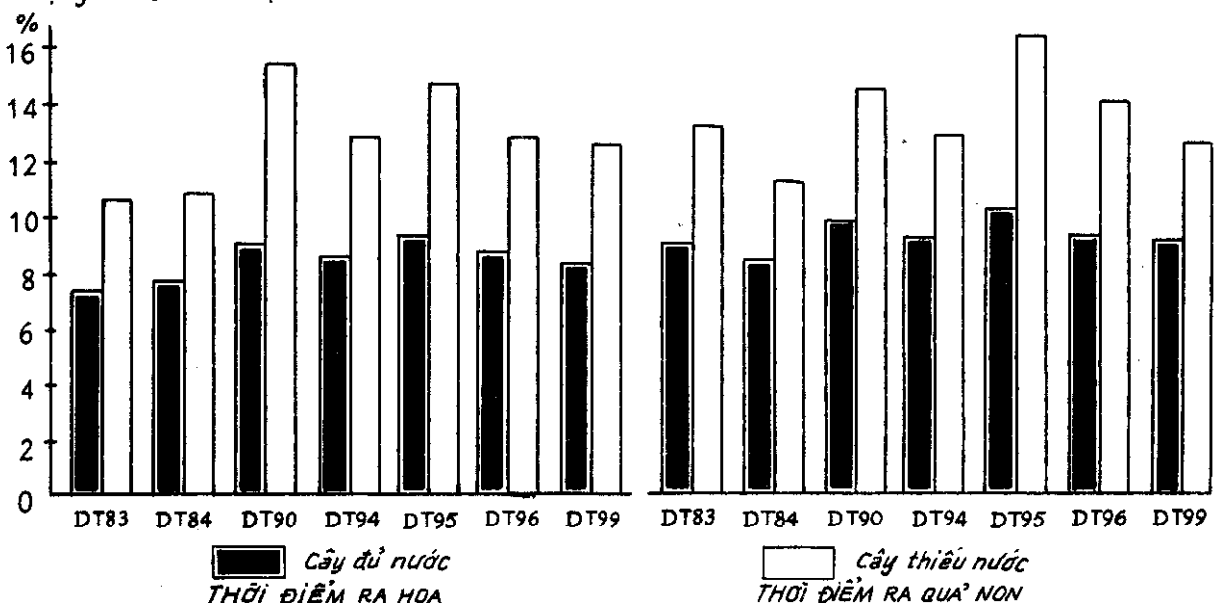
Hàm lượng diệp lục tổng số của lá đậu tương biến động khá rõ nét khi cây thiếu nước (bảng 3). Việc gây hạn đã làm suy giảm lượng diệp lục khá mạnh vào thời điểm ra hoa và ảnh hưởng khá lớn tới các giống DT90, DT95 và DT96 (làm giảm tới khoảng 10% lượng diệp lục). Ở thời điểm cây ra quả non, tác động của gây hạn thể hiện rõ nhất ở giống DT95, trong khi đó ở giống DT84 hàm lượng diệp lục của cây bị hạn tương đương với cây được tưới đủ nước.

Bảng 2

Lượng nước không hút được của lá đậu tương khi bị hạn

Giống	Lượng nước không hút được của lá ở thời điểm ra hoa (%/khối lượng tươi bão hòa)			Lượng nước không hút được của lá ở thời điểm ra quả non (%/khối lượng tươi bão hòa)		
	Cây đủ nước	Cây bị hạn		Cây đủ nước	Cây bị hạn	
	$\bar{X} \pm m$	$\bar{X} \pm m$	so với cây đủ nước (%)	$\bar{X} \pm m$	$\bar{X} \pm m$	so với cây đủ nước (%)
DT83	9,80 $\pm$ 0,40	15,69 $\pm$ 0,12	160,10	11,50 $\pm$ 0,40	15,80 $\pm$ 0,15	137,39
DT84	9,31 $\pm$ 0,13	14,59 $\pm$ 0,07	156,70	11,60 $\pm$ 0,12	15,00 $\pm$ 0,15	129,31
DT90	10,10 $\pm$ 0,20	17,22 $\pm$ 0,15	169,50	12,70 $\pm$ 0,14	17,65 $\pm$ 0,05	138,98
DT94	9,90 $\pm$ 0,13	16,68 $\pm$ 0,10	165,10	12,20 $\pm$ 0,23	17,00 $\pm$ 0,24	139,34
DT95	10,30 $\pm$ 0,03	17,53 $\pm$ 0,06	170,16	12,70 $\pm$ 0,26	18,15 $\pm$ 0,42	142,91
DT96	10,10 $\pm$ 0,10	16,75 $\pm$ 0,08	165,80	12,30 $\pm$ 0,24	16,98 $\pm$ 0,06	138,05
DT99	9,90 $\pm$ 0,33	15,64 $\pm$ 0,16	157,98	12,00 $\pm$ 0,12	16,00 $\pm$ 0,16	133,33

Lượng nước thiếu hụt



Biểu đồ 1. Lượng nước còn thiếu hụt của lá đậu tương

Kết quả ở bảng 4 cho thấy, khi gây hạn, giá trị huỳnh quang ổn định (F_0) ở các giống đều tăng. Riêng ở các giống DT84 và DT95 sự tăng F_0 không đáng kể. Cường độ huỳnh quang cực đại (F_m) bị giảm nhẹ khi cây bị hạn ở đa số giống. Riêng giống DT83, DT84 giá trị F_m tăng lên khi thiếu nước. Hiệu suất huỳnh quang biến đổi (F_v/F_m) giảm nhiều nhất ở các giống DT90 và DT96. Hiện tượng giảm trị số F_v/F_m , theo Đặng Diễm Hồng [3] có liên quan tới việc giảm khả năng sử dụng năng lượng kích thích trong phản ứng quang hóa của các tâm phản ứng PSII khi cây gặp điều kiện bất lợi.

Bảng 3

Hàm lượng diệp lục của lá đậu tương

Giống	Hàm lượng diệp lục của lá ở thời điểm ra hoa (mg/g lá)			Hàm lượng diệp lục của lá ở thời điểm ra quả non (mg/g lá)		
	Cây đủ nước	Cây bị hạn		Cây đủ nước	Cây bị hạn	
	$\bar{X} \pm m$	$\bar{X} \pm m$	so với cây đủ nước (%)	$\bar{X} \pm m$	$\bar{X} \pm m$	so với cây đủ nước (%)
DT83	3,25 $\pm$ 0,12	1,99 $\pm$ 0,03	92,00	3,30 $\pm$ 0,02	3,14 $\pm$ 0,12	95,15
DT84	3,45 $\pm$ 0,06	3,28 $\pm$ 0,16	95,07	3,57 $\pm$ 0,16	3,49 $\pm$ 0,05	97,76
DT90	3,42 $\pm$ 0,10	3,06 $\pm$ 0,02	89,47	3,45 $\pm$ 0,03	3,24 $\pm$ 0,10	93,91
DT94	3,10 $\pm$ 0,23	2,88 $\pm$ 0,16	92,90	3,15 $\pm$ 0,12	3,02 $\pm$ 0,12	95,87
DT95	3,41 $\pm$ 0,02	3,07 $\pm$ 0,05	90,03	3,50 $\pm$ 0,16	3,18 $\pm$ 0,06	90,86
DT96	3,20 $\pm$ 0,06	2,94 $\pm$ 0,03	90,00	3,30 $\pm$ 0,03	3,13 $\pm$ 0,10	94,85
DT99	3,30 $\pm$ 0,04	3,07 $\pm$ 0,10	93,09	3,30 $\pm$ 0,01	3,20 $\pm$ 0,02	96,97

Bảng 4

Khả năng huỳnh quang của đậu tương khi gây hạn

Giống	F ₀		F _m		F _v (F _m -F ₀)		F _v /F _m	
	Cây đủ nước	Cây bị hạn	Cây đủ nước	Cây bị hạn	Cây đủ nước	Cây bị hạn	Cây đủ nước	Cây bị hạn
DT83	550,00	577,50	3008,67	3808,41	2458,67	2430,91	0,817	0,808
DT84	509,01	510,09	3008,00	3022,24	2578,99	2512,15	0,835	0,831
DT90	534,00	609,40	2756,67	2618,84	2222,67	2009,44	0,806	0,767
DT94	559,33	560,92	2933,33	28,74,66	2374,00	2313,74	0,809	0,805
DT95	558,25	558,57	2700,50	2688,74	2142,25	2130,17	0,793	0,792
DT96	492,04	516,60	2930,00	2842,10	2437,96	2325,50	0,832	0,818
DT99	506,00	526,24	2990,00	2930,20	2484,00	2403,96	0,831	0,820

3. Sự ra hoa tạo quả và hàm lượng nitơ trong hạt đậu tương khi gây hạn:

Khi gây hạn, số hoa của các giống đậu tương đều bị giảm sút một cách rõ rệt (bảng 5). Mức độ suy giảm nhiều nhất ở 2 giống DT83 và DT90 (giảm tới trên 30% số hoa) và ít nhất ở giống DT96 (chỉ giảm 26,6% số hoa khi bị hạn). Số quả ở giống DT84 bị giảm ít nhất khi bị thiếu nước (giảm 23,2%), trong khi đó ở các giống DT90, DT95, DT96 số quả lại bị giảm khá nhiều (giảm trên 30% số quả khi bị hạn).

Trong điều kiện gây hạn, hàm lượng nitơ tổng số của hạt các giống DT94, DT95 bị giảm sút, tuy với mức độ không lớn (bảng 6). Trong lúc này, hàm lượng nitơ protein ở các giống DT90, DT94, DT95 cũng bị suy giảm, trong đó các giống DT90 và DT95 có mức suy giảm lớn hơn DT94. Còn lại sự biến động số liệu ở các giống khác không đủ tin cậy về mặt thống kê. Như vậy, sự thiếu nước ảnh hưởng không lớn tới hàm lượng nitơ chứa trong hạt đậu tương.

Sự ra hoa tạo quả của đậu tương

Giống	Số hoa trên cây			Số quả trên cây		
	Cây đủ nước	Cây bị hạn		Cây đủ nước	Cây bị hạn	
	$\bar{X} \pm m$	$\bar{X} \pm m$	so với cây đủ nước (%)	$\bar{X} \pm m$	$\bar{X} \pm m$	so với cây đủ nước (%)
DT83	14,3±0,2	9,9±0,1	69,2	11,0±0,2	8,2±0,2	74,6
DT84	14,5±0,1	10,4±0,3	71,7	12,2±0,1	8,6±0,1	76,8
DT90	12,3±0,2	8,3±0,1	67,5	8,5±0,3	5,5±0,1	64,7
DT94	13,2±0,3	9,4±0,2	71,2	9,7±0,1	6,8±0,2	70,1
DT95	12,0±0,1	8,7±0,1	72,5	8,3±0,3	5,6±0,1	67,5
DT96	12,8±0,2	9,4±0,2	73,4	9,4±0,1	6,1±0,2	64,9
DT99	14,0±0,3	10,2±0,3	72,9	10,6±0,2	7,9±0,3	74,5

Bảng 6

Hàm lượng nitơ của hạt đậu tương

Giống	Hàm lượng nitơ tổng số (%)			Hàm lượng nitơ protein (%)		
	Cây đủ nước	Cây bị hạn		Cây đủ nước	Cây bị hạn	
	$\bar{X} \pm m$	$\bar{X} \pm m$	so với cây đủ nước (%)	$\bar{X} \pm m$	$\bar{X} \pm m$	so với cây đủ nước (%)
DT83	5,90±0,04	5,86±0,07	99,32	4,15±0,12	4,11±0,03	99,04
DT84	6,40±0,03	6,37±0,04	99,53	4,50±0,04	4,46±0,02	99,11
DT90	6,20±0,05	6,14±0,04	99,03	4,20±0,01	4,11±0,02	97,95
DT94	6,00±0,02	5,88±0,03	98,00	4,41±0,01	4,37±0,01	99,09
DT95	6,10±0,01	6,01±0,02	98,52	4,00±0,02	3,89±0,02	97,25
DT96	5,80±0,02	5,78±0,03	99,66	4,02±0,01	3,99±0,04	99,25
DT99	5,98±0,02	5,96±0,12	99,69	4,60±0,04	4,55±0,05	98,91

III. KẾT LUẬN

Khi gây hạn, khả năng giữ nước, khả năng hút nước phục hồi sức trương, hàm lượng diệp lục của lá ở các giống đậu tương đều bị giảm sút rõ rệt.

Khi cây thiếu nước, cường độ huỳnh quang ổn định của lá tăng, trong khi đó huỳnh quang cực đại có xu hướng giảm sút, hiệu suất huỳnh quang biến đổi giảm rõ rệt.

Sự thiếu hụt nước ảnh hưởng sâu sắc tới khả năng ra hoa tạo quả, song không ảnh hưởng nhiều tới hàm lượng nitơ trong hạt đậu tương.

Sự biến động nhỏ nhất ở các chỉ tiêu trao đổi nước, hàm lượng diệp lục và khả năng huỳnh quang thấy ở giống DT84 và sau đó là DT99, chứng tỏ chúng chịu đựng khá tốt điều kiện thiếu nước; trong khi đó các giống DT90, DT95 thể hiện sức chống chịu yếu nhất so với các

giống đã nghiên cứu.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Ngô Đức Dương và cs., 1995: Xác định khả năng chịu hạn của giống đỗ tương ĐT80. Tạp chí Sinh học, 17(3): 85-87.
2. Phạm Thị Trân Châu và cs., 1997: Thực hành sinh hóa học. NXB Giáo dục.
3. Nguyễn Huy Hoàng, 1992: Nghiên cứu đánh giá khả năng chịu hạn của các mẫu giống đậu tương nhập nội ở miền Bắc Việt Nam. Luận án PTS. Hà Nội.
4. Đặng Diễm Hồng và cs., 1996: Bản chất sự mất hoạt tính của quang hệ 2 (PS2) của tế bào Chlorella ở trong tối và nhiệt độ cao. Tạp chí Sinh học, 18(2): 21-28.
5. Kozushko. N. N., 1984: Xác định tính chịu hạn của cây lấy hạt theo sự biến đổi thông số chế độ nước (khả năng giữ nước, khả năng hút nước, độ hút nước). NXB Vir. Leningrad: 3-11 (tiếng Nga).
6. Trần Thị Phương Liên và cs., 1996: Nghiên cứu thành phần diên di protein của một số giống đậu tương có khả năng chịu hạn khác nhau. Tạp chí Sinh học, 18(4): 15-19.
7. Nguyễn Duy Minh, Nguyễn Như Khanh, 1982: Thực hành sinh lý thực vật. NXB Giáo dục.
8. Phạm Đình Thái, 1969: Kết quả bước đầu về việc nghiên cứu hiệu lực phân vi lượng đối với một số cây trồng. Nghiên cứu sinh lý thực vật. NXB Khoa học: 171-206.
9. Turner N. C., 1979: Drought resistance and adaptation to water deficit in crop plants. Stress physiol. Crop plants: 343-347.

RESEARCH ON SOME PHYSIOLOGICAL AND BIOCHEMICAL CRITERIA OF THE SOYBEAN PLANTS IN THE ARTIFICIAL DRIED CONDITIONS

NGUYEN VAN MA, PHAM HONG QUAN

SUMMARY

We have studied the drought tolerance of 7 high yield soybean varieties in the artificial dried conditions. The results have shown that:

In the dried conditions, the water regime has tried considerably change and the chlorophyll content is decreased. In this case, the maximal fluorescence and the ratio F_v/F_m are decreased. The water deficit remarkably influences on the flowering and fruiting, but unnoticeably influences on the nitrogen content of soybean seeds.

The DT84 and DT99 varieties are the best drought resistants while the DT90 and DT95 varieties are the worst drought tolerants among these 7 studied varieties.

Ngày nhận bài: 18-4-2000

ĐẶC ĐIỂM PHÂN LOẠI CỦA CÁC CHỦNG *BACILLUS THURINGIENSIS* *ISRAESENSIS* PHÂN LẬP Ở VIỆT NAM

VÕ THỊ THỨ, NGUYỄN KIM THOA

Viện Công nghệ sinh học

Khả năng tổng hợp protein tinh thể diệt côn trùng của *Bacillus* đã được nghiên cứu và ứng dụng hơn nửa thế kỷ này. Ước tính trên thế giới có gần 40.000 chủng *Bacillus* được phân lập và nghiên cứu với mục đích tạo được các chủng mới ưu việt hơn để sản xuất và ứng dụng phục vụ con người. Tuy vậy ở Việt Nam vấn đề phân lập và phân loại *Bacillus* diệt côn trùng chỉ mới bắt đầu, mặc dù khả năng nghiên cứu sử dụng *Bacillus* trong đấu tranh sinh học đã được quan tâm nghiên cứu từ vài thập kỷ nay.

Một trong những đặc điểm quan trọng của *Bacillus thuringiensis* (Bt) là hoạt lực diệt côn trùng. Người ta cho rằng hoạt lực diệt côn trùng được quyết định bởi sự tồn tại các lớp gen Cry. Mỗi lớp gen Cry mã hóa protein gây độc đặc trưng với một hoặc hai lớp côn trùng. Bởi vậy việc phát hiện sự có mặt các lớp gen Cry trong các chủng phân lập cho phép phân loại đến một số loài phụ, đặc biệt đối với loài phụ *Bacillus thuringiensis israelensis* (Bti) [4].

I. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Chủng chuẩn *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis* (Bti), *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* HD1 (Btk), *Bacillus thuringiensis* subsp. *tenebrionis* (Btt) nhận được từ ICGB, New Delhi.

Các chủng Bt phân lập.

Các đoạn mồi (primer) do hãng Stratagene (CHLB Đức) cung cấp.

Phân lập Bt theo Travers và cs [8].

Nghiên cứu đặc điểm hình thái, sinh hóa theo Gordon và cs [3].

Xác định sự tồn tại gen Cry IV theo Carozzi và cs [2].

Phân loại Bt theo Gordon và cs [3], Barjac và cs [1], Thiery và cs [7].

II. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Đối với các chủng phân lập có mục đích sử dụng rõ ràng, việc phân loại đến loài để khẳng định một cách chính xác đối tượng nghiên cứu mang tính chất quyết định sự thành công. Thông thường *Bacillus* được phân loại đến loài dựa trên các đặc điểm truyền thống (hình thái tế bào, bào tử, đặc điểm sinh lý, sinh hóa [3, 6]. Tuy nhiên các đặc điểm hình thái dễ bị biến động và có giá trị thấp đối với quan điểm phân loại hiện đại [6]. Phương pháp phân loại *Bacillus* bằng đặc điểm sinh lý, sinh hóa tuy tốn thời gian nhưng dễ thực hiện nhất là đối với điều kiện Việt Nam. Tuy nhiên những năm gần đây, người ta không còn coi trọng kết quả phân loại *Bacillus* nếu chỉ dựa vào đặc điểm sinh lý, sinh hóa [1, 6, 7]. Những thành tựu trong lĩnh vực sinh học phân tử đã mở ra triển vọng ứng dụng có hiệu quả trong phân loại. Đó là phân tích tỷ số GC hay sử dụng phương pháp lai phân tử để xem xét sự tương đồng của các chuỗi nucleotit. Nhưng cả hai chỉ tiêu đó đều không phân biệt rõ ràng giữa *Bacillus thuringiensis* và *Bacillus cereus* [1].

Cho đến nay, phương pháp phân loại *Bacillus thuringiensis* được sử dụng khá phổ biến là dựa trên các đặc điểm sinh hóa và huyết thanh học, nhưng trong thực tế chưa đưa ra được hệ thống phân loại biểu hiện mối quan hệ giữa đặc điểm sinh hóa, typ huyết thanh và hoạt lực diệt côn trùng [5].

Hofte và Whiteley [4] đưa ra ý tưởng đầu tiên về hệ thống phân loại Bt trên cơ sở các lớp gen Cry, protein, hình dạng tinh thể, typ huyết thanh và hoạt lực diệt côn trùng. Mỗi lớp gen

ĐẶC ĐIỂM PHÂN LOẠI CỦA CÁC CHỦNG *BACILLUS THURINGIENSIS ISRAELENSIS* PHÂN LẬP Ở VIỆT NAM

VÕ THỊ THỨ, NGUYỄN KIM THOA

Viện Công nghệ sinh học

Khả năng tổng hợp protein tinh thể diệt côn trùng của *Bacillus* đã được nghiên cứu và ứng dụng hơn nửa thế kỷ này. Ước tính trên thế giới có gần 40.000 chủng *Bacillus* được phân lập và nghiên cứu với mục đích tạo được các chủng mới ưu việt hơn để sản xuất và ứng dụng phục vụ con người. Tuy vậy ở Việt Nam vấn đề phân lập và phân loại *Bacillus* diệt côn trùng chỉ mới bắt đầu, mặc dù khả năng nghiên cứu sử dụng *Bacillus* trong đấu tranh sinh học đã được quan tâm nghiên cứu từ vài thập kỷ nay.

Một trong những đặc điểm quan trọng của *Bacillus thuringiensis* (Bt) là hoạt lực diệt côn trùng. Người ta cho rằng hoạt lực diệt côn trùng được quyết định bởi sự tồn tại các lớp gen Cry. Mỗi lớp gen Cry mã hóa protein gây độc đặc trưng với một hoặc hai lớp côn trùng. Bởi vậy việc phát hiện sự có mặt các lớp gen Cry trong các chủng phân lập cho phép phân loại đến một số loài phụ, đặc biệt đối với loài phụ *Bacillus thuringiensis israelensis* (Bti) [4].

I. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Chủng chuẩn *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis* (Bti), *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* HD1 (Btk), *Bacillus thuringiensis* subsp. *tenebrionis* (Btt) nhận được từ ICGB, New Delhi.

Các chủng Bt phân lập.

Các đoạn mồi (primer) do hãng Stratagene (CHLB Đức) cung cấp.

Phân lập Bt theo Travers và cs [8].

Nghiên cứu đặc điểm hình thái, sinh hóa theo Gordon và cs [3].

Xác định sự tồn tại gen Cry IV theo Carozzi và cs [2].

Phân loại Bt theo Gordon và cs [3], Barjac và cs [1], Thiery và cs [7].

II. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Đối với các chủng phân lập có mục đích sử dụng rõ ràng, việc phân loại đến loài để khẳng định một cách chính xác đối tượng nghiên cứu mang tính chất quyết định sự thành công. Thông thường *Bacillus* được phân loại đến loài dựa trên các đặc điểm truyền thống (hình thái tế bào, bào tử, đặc điểm sinh lý, sinh hóa [3, 6]. Tuy nhiên các đặc điểm hình thái dễ bị biến động và có giá trị thấp đối với quan điểm phân loại hiện đại [6]. Phương pháp phân loại *Bacillus* bằng đặc điểm sinh lý, sinh hóa tuy tốn thời gian nhưng dễ thực hiện nhất là đối với điều kiện Việt Nam. Tuy nhiên những năm gần đây, người ta không còn coi trọng kết quả phân loại *Bacillus* nếu chỉ dựa vào đặc điểm sinh lý, sinh hóa [1, 6, 7]. Những thành tựu trong lĩnh vực sinh học phân tử đã mở ra triển vọng ứng dụng có hiệu quả trong phân loại. Đó là phân tích tỷ số GC hay sử dụng phương pháp lai phân tử để xem xét sự tương đồng của các chuỗi nucleotit. Nhưng cả hai chỉ tiêu đó đều không phân biệt rõ ràng giữa *Bacillus thuringiensis* và *Bacillus cereus* [1].

Cho đến nay, phương pháp phân loại *Bacillus thuringiensis* được sử dụng khá phổ biến là dựa trên các đặc điểm sinh hóa và huyết thanh học, nhưng trong thực tế chưa đưa ra được hệ thống phân loại biểu hiện mối quan hệ giữa đặc điểm sinh hóa, typ huyết thanh và hoạt lực diệt côn trùng [5].

Hofte và Whiteley [4] đưa ra ý tưởng đầu tiên về hệ thống phân loại Bt trên cơ sở các lớp gen Cry, protein, hình dạng tinh thể, typ huyết thanh và hoạt lực diệt côn trùng. Mỗi lớp gen

Cry mã hóa tổng hợp một hoặc vài protein có tác dụng gây độc đặc trưng với một lớp côn trùng (bảng 1). Hệ thống phân loại này hiện nay được sử dụng để phân loại Bt đến các loài phụ.

Bảng 1

Mối quan hệ giữa các lớp gen Cry, protein, hình dạng tinh thể và hoạt lực diệt côn trùng

Lớp gen Cry	Protein (trọng lượng phân tử kDa)	Hình dạng tinh thể	Typ huyết thanh	Hoạt lực diệt côn trùng	
Cry I	A	131 hay 133	Hình tháp đôi	1	Cánh vảy
	B	138	Hình tháp đôi	3	Cánh vảy
	C	135	Hình tháp đôi	6	Cánh vảy
	D	133	Hình tháp đôi	7	Cánh vảy
	E	133	Hình tháp đôi	7	Cánh vảy
Cry II	A	71	Hình tròn	3	Cánh vảy/hai cánh
	B	71	Hình tròn	3	Cánh vảy
Cry III	A	73	Hình tháp đôi	8	Cánh cứng
	B	74	Hình tháp đôi	8	Cánh cứng
	C	129	Hình tháp đôi	8	Cánh cứng
	D	73	Hình tháp đôi	8	Cánh cứng
Cry IV	A	134	Không đồng nhất	14	Hai cánh
	B	128	Không đồng nhất	14	Hai cánh
	C	78	Không đồng nhất	14	Hai cánh
	D	72	Không đồng nhất	14	Hai cánh
Cry V	81	Hình tháp đôi	3	Cánh vảy/cánh cứng	
Cry VI	?	?	?	Giun tròn	
Cyt	A	28		14	

Theo Hofte & Whiteley (1989); Lereclus và cs (1989)

1. Kết quả nghiên cứu đặc điểm hình thái tế bào, bào tử, tinh thể protein:

Từ các mẫu đất, lá, bùn ao hồ ở các địa phương thuộc Từ Liêm, Đông Anh (Hà Nội), Hoài Đức (Hà Tây), Kiến Thụy (Hải Phòng) và Quảng Ninh (Quảng Bình) đã phân lập được một số chủng *Bacillus* với các đặc điểm: Gram+, hình que, có bào tử, sản sinh katalaza và sinh trưởng hiếu khí hoặc kỵ khí không nghiêm ngặt. Trong số đó, có 30 chủng được định tên thuộc loài Bt trên cơ sở nghiên cứu đặc điểm hình thái tế bào, bào tử và tinh thể protein. Kết quả nghiên cứu đặc điểm hình dạng tinh thể protein

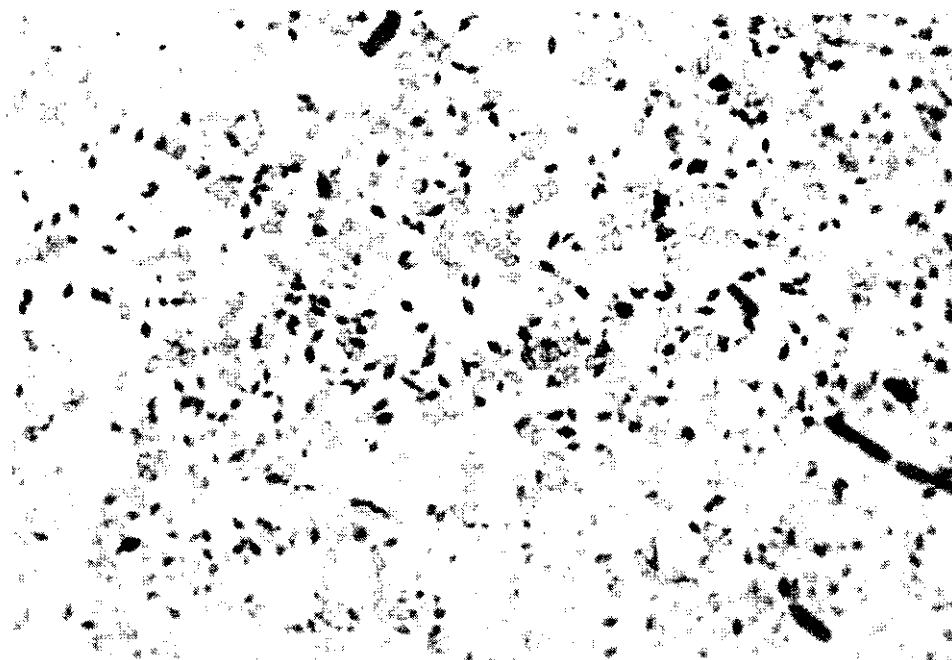
cho thấy phần lớn các chủng Bt phân lập đều có tinh thể hình tháp đôi giống Bt *kurstaki* HD1 (hình 1), một số chủng có tinh thể hình kim, hình tròn to, nhỏ khác nhau (hình 2).

2. Kết quả nghiên cứu đặc điểm sinh hóa:

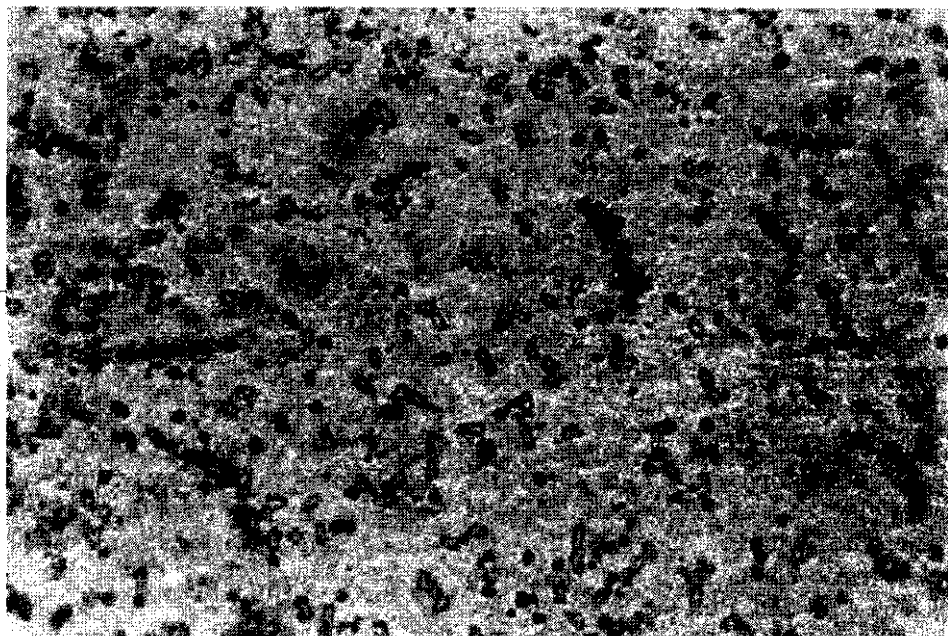
Chúng tôi cũng đã tiến hành nghiên cứu đặc điểm sinh hóa của các chủng phân lập: sản sinh axetoin, ureaza, catalaza, lên men đường mannoza, sucroza, thủy phân tinh bột... cùng với các chủng đối chứng Btk (có hoạt lực với côn trùng cánh vảy), Btt (cánh cứng), Bti (hai cánh) để so sánh. Kết quả bước đầu cho thấy có 8 chủng có các đặc điểm sinh hóa giống Bti (bảng

2), các chủng còn lại tương tự Btk. Trong 8 chủng có đặc điểm sinh hóa giống Bti, có 2 chủng (97-20, 97-33) có tinh thể hình tháp đôi. Theo Whiteley [4] các chủng Bt có tinh thể dạng

hình tháp đôi phân lớn mang gien Cry I, có khả năng diệt côn trùng cánh vẩy. Như vậy đối với 2 chủng (97-20, 97-33), có sự mâu thuẫn giữa đặc điểm hình thái và đặc điểm sinh hóa.



Hình 1. Bào tử và tinh thể của chủng 97-20



Hình 2. Bào tử và tinh thể của chủng VN1

Đặc điểm sinh hóa của một số chủng *B. thuringiensis* phân lập

Ký hiệu chủng	MA	SU	VP	KA	TB	URE	Hình dạng tinh thể	Địa điểm phân lập
VN1	-	-	+	+	+	-	Tròn, to	Đông Anh, HN
VN2	-	-	+	+	+	-	Tròn, to	Đông Anh, HN
VN3	-	-	+	+	+	-	Tròn, to	Cổ Nhuế, HN
VN4	-	-	+	+	+	-	Tròn, to	Từ Liêm, HN
VN5	-	-	+	+	+	-	Tròn, to	Cổ Nhuế, HN
VN6	-	-	+	+	+	-	Tròn, to	Hoài Đức, HT
97-20	-	-	+	+	+	-	Tháp đôi	Quảng Ninh, QB
97-33	-	-	+	+	+	-	Tháp đôi	Kiến Thụy, HP
Bti	-	-	+	+	+	-	Tròn, nhỏ	
Btk	+	+	+	+	+	+	Tháp đôi	
Btu	-	+	+	+	+	+	Tròn, nhỏ	

Chú thích: MA: lên men đường mannoza, SU: lên men đường sucroza, VP: sản sinh axeton, Ure: sinh sản ureaza, KA: sản sinh catalaza, TB: thủy phân tinh bột

3. Kết quả xác định gen Cry:

Để phát hiện sự hiện diện các lớp gen Cry, chúng tôi sử dụng phản ứng liên kết chuỗi (PCR) với 12 primer đặc trưng cho côn trùng cánh vảy, cánh cứng, hai cánh. Các lớp gen Cry được xác định căn cứ vào trọng lượng phân tử của các chuỗi nucleotit tạo thành sau phản ứng [2].

Tuy nhiên, trong điều kiện Việt Nam không thể sử dụng kỹ thuật PCR để phân loại tất cả các chủng Bt phân lập vì rất tốn kém. Bởi vậy chúng tôi đã kết hợp giữa phương pháp phân loại truyền thống và phương pháp phân loại hiện đại để phân loại các chủng Bt phân lập.

Với mục đích chọn được các chủng Bti sử dụng để sản xuất chế phẩm sinh học diệt muỗi nhằm ngăn ngừa các mầm bệnh sốt rét, sốt xuất huyết, viêm não Nhật Bản, chúng tôi đặc biệt quan tâm đến các chủng mang các đặc điểm sinh hóa của loài phụ Bti: sản sinh axetoin, katalaza, thủy phân tinh bột, không sản sinh ureaza, không lên men đường sucroza, mannoza (bảng 2).

Kết quả cho thấy có 6 chủng có sản phẩm PCR tương ứng với chủng chuẩn Bti và 2 chủng có sản phẩm PCR tương ứng với chủng chuẩn Btk HD1 (hình 3). Chúng tôi dự đoán có 6 chủng mang gen Cry IV (VN1, VN2, VN3, VN4, VN5, VN6) và 2 chủng 97-20, 97-33 mang gen CryI. Điều đáng chú ý là 6 chủng mang gen Cry IV đều có tinh thể hình tròn không đồng nhất giống chủng chuẩn Bti và 2 chủng có sản phẩm PCR tương ứng với chủng chuẩn Btk cũng có tinh thể hình tháp đôi.

Qua đó thấy rằng hình dạng tinh thể là một trong những đặc điểm quan trọng để phân loại Bt. Điều đáng chú ý là thời gian tạo tinh thể của các chủng Bt phân lập ở Việt Nam ngắn hơn các chủng nhận được ở nước ngoài. Điều đó rất có ý nghĩa trong việc sử dụng chủng Việt Nam để lên men tạo chế phẩm sinh học diệt muỗi (rút ngắn thời gian lên men, tiết kiệm năng lượng).

4. Kết quả phân loại:

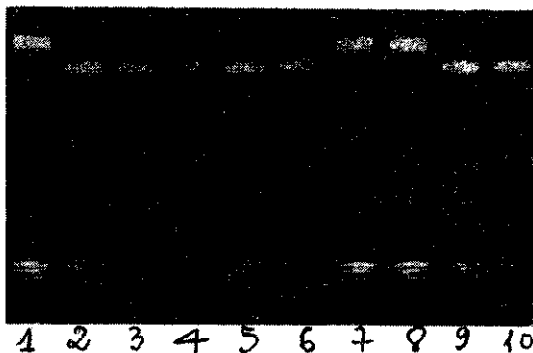
Từ kết quả nghiên cứu đặc điểm hình thái tế bào, bào tử, protein tinh thể đã phân loại được 30 chủng phân lập ra loài Bt (Gram+, hình que,

có bào tử, sản sinh katalaza, sinh trưởng hiếu khí hoặc kỵ khí không nghiêm ngặt và có khả năng tạo tinh thể [4, 7]. Để phân loại các chủng Bt ra loài phụ, chúng tôi sử dụng các đặc điểm sinh hóa (sản sinh axetoin, ureaza, katalaza,

mở ra triển vọng trong việc xây dựng tập đoàn chủng *Bacillus* diệt côn trùng ở Việt Nam.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. H. De Barjec and E. Frachon, 1990: Classification of *Bacillus thuringiensis* strains. *Entomophaga* (35(2): 233-240.
2. Carozzi N. B., Vance C. K., Gragory W. N., Stephen E., Michael G. K., 1991: Prediction of insecticidal activity of *Bacillus thuringiensis* strains by polymerase chain reaction product profiles. *App. Environ. Microbiol* 57: 3057-3061.
3. Gordon R. P., Hayner W. C., Pang N. H. C., 1973: The genus *Bacillus*. United States Department of Agriculture. Washington. D. C.
4. Hofte, H. & Whiteley H. R., 1989: Insecticidal crystal protein of *Bacillus thuringiensis*. *Microbiol. Rev.* 53: 242-255.
5. M. M. Lecadet et al., 1993: Diversity of *Bacillus thuringiensis* toxin and genes. *Bacillus thuringiensis*. An Environmental Biospecticide. Theory and practice. Edited by P. f. Entwistle, J. S. Cory, M. J. Bailey and S. Higgs.
6. Priest G. F., 1993: The *Bacillus*, in: *Biotechnology* 1: 368-397.
7. Thiery and E. Frachon, 1997: Identification, isolation, culture and preservation of entomopathogenic bacteria. *Manual of Techniques in Insec Pathology*. Academic press limited.
8. Travers S. R., et al., 1987: Selective process for efficient isolation of soil *Bacillus* spp. *App. Environ. Microbiol* 60: 353-356.



Hình 3. Điện di sản phẩm PCR trên gel agarosa

Chú thích: Cột 1: Bt; Cột 2: chủng VN1; Cột 3: chủng 97-33; Cột 4: chủng 97-20; Cột 5: chủng VN2; Cột 6: chủng VN3; Cột 7: chủng VN4; Cột 8: chủng VN5; Cột 9: chủng VN6; Cột 10: chủng Btk HD1

thủy phân tinh bột, không lên men đường sucroza, mannoza) kết hợp với sự xác định các lớp gien Cry và hình dạng tinh thể. Trong số 8 chủng có đặc điểm sinh hóa giống Bt, chỉ có 6 chủng có tinh thể hình tròn và mang gien CryIV. Theo Whiteley [4] các chủng Bt có khả năng sản sinh axetoin, không sản sinh ureaza, thủy phân tinh bột, không lên men đường sucroza, mannoza, mang gien CryIV và có tinh thể hình tròn đều có khả năng diệt côn trùng hai cánh (muỗi Anopheles, Celex, Aedes) và thuộc loài phụ *Bacillus thuringiensis israelensis*. Đó là các chủng VN1, VN2, VN3, VN4, VN5, VN6.

III. KẾT LUẬN

Sử dụng các phương pháp phân loại cổ truyền kết hợp với phương pháp phân loại hiện đại có thể phân loại *B. thuringiensis* ra loài phụ *B. thuringiensis israelensis*. Kết quả bước đầu

CLASSIFIC CHARACTERIZATION OF *BACILLUS THURINGIENSIS* *ISRAELENSIS* ISOLATES OBTAINED IN VIETNAM

VO THI THU, NGUYEN KIM THOA

SUMMARY

30 *Bacillus thuringiensis* isolates obtained in Vietnam were determined by biochemical reactions and morphological characters.

Classific methods based on five classes of Cry protein, sharp of crystal and biochemical characterers were used for determinating of *Bacillus thuringiensis* isolates collected from different samples in Vietnam. The results showed that 6 of 30 Bt isolates were determinated as *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis*.

Ngày nhận bài: 26-2-2000

(Tiếp theo trang 42)

SUMMARY

Seven moderately halophilic bacterial strains were isolated from the Bach Ho oil fields in Vietnam and designed as VT5, VT6, VT7, VT8, VT9, VT10 and VT11. All of them were grew optimally at 5-8% NaCl (w/v). Previously, our results suggested that VT6 and VT11 belonged to the species *Chromohalobacter marismortui* and VT8 was the type strain of the species *Marinobacter aquaeolei*. Based on their antibiotic susceptibility, the phenotypic characteristics, whole-cell protein patterns, the habitats and the utilization of the carbohydrate compounds as sole and energy sources, we proposed VT5, VT7 and VT10 strains should be placed to the genus *Marinobacter*. The VT8 strain was able to degrade 23% Bach Ho crude oil after 7 days cultivation on mineral medium containing 5% NaCl and 5% crude oil as sole carbon and energy sources. This VT8 strain was utilized 41% alphatic hydrocarbon, 52% aromatic hydrocacbon and 21% asphanten. This VT8 strain utilized n-parafin fractions from C16 to C25 and aromatic fractions from C9 to C25.

Ngày nhận bài: 7-1-2000

DẪN LIỆU BỔ SUNG VỀ MỘT SỐ ĐẶC ĐIỂM SINH THÁI HỌC CỦA CÁ CỐC TAM ĐẢO - *PARAMESOTRITON DELOUSTALI* (BOURRET, 1934) TRONG ĐIỀU KIỆN NUÔI

LÊ NGUYỄN NGẬT, ĐOÀN THỊ PHƯƠNG LÝ

Trường đại học Sư phạm Hà Nội I

Cá Cóc Tam Đảo (cá Cóc), họ Salamandridae, bộ Urodela là một trong hai loài ếch nhái có đuôi rất ít gặp ở Việt Nam; đến nay mới tìm thấy trong các suối của dãy núi Tam Đảo thuộc Vĩnh Phúc, Tuyên Quang và Thái Nguyên. Sách Đỏ Việt Nam, 1992 xếp cá Cóc ở bậc E (đang có nguy cơ tuyệt chủng), trong Nghị định 18/HĐBT, 1992 xếp ở nhóm I (nghiêm cấm khai thác, sử dụng). Sau phát hiện của Bourret R., 1934 đã có các nghiên cứu của: Đào Văn Tiến, 1964; Ivan Reháček, 1981; Hồ Thu Cúc và cộng sự, 1993-1995. Những năm gần đây cá Cóc ngoài thiên nhiên vẫn bị bắt để bán nên số lượng giảm nhiều, chúng tôi nuôi nghiên cứu để có thêm những dẫn liệu về sinh thái, nhằm góp phần đề xuất biện pháp bảo vệ và phát triển loài động vật đặc hữu này.

I. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Từ tháng 6/1996 đến tháng 5/1997, nuôi 13 cá thể trưởng thành (L: 163 mm - 196 mm) trong bể kính, đặt cạnh cửa sổ phòng thí nghiệm, bộ môn Động vật, trường ĐHSP Hà Nội I theo:

Lô I: 2 đực, 2 cái. P: 38 g - 48,4 g.

Lô II: 2 đực, 2 cái. P: 36,3 g - 45,8 g.

Lô III: 2 đực, 3 cái. P: 30 g - 41,5 g.

Mức nước: 30-40 cm (ứng với mỗi con khoảng 8 lít); nhiệt độ nước từ 17,1 đến 29,8°C. Để giữ nước sạch và đủ ôxi, có thả thêm rong đuôi chó (*Ceratophyllum*), thường xuyên dùng máy lọc và máy sục khí DD-39-65 của Trung Quốc, 2-3 tuần thay khoảng 1/2 lượng nước trong bể, 30-40 ngày cọ rửa bể một lần. Thức ăn chủ yếu gồm: giun Hồng (*Limodrilus*) để nguyên con; thịt giun Đất (*Pheretima*), Tôm đồng (*Branchiura*), cá Mè hoa (*Aristichthys*), cá

Trôi (*Cirrhina*), cá Mương (*Hemiculter*) cắt nhỏ cỡ 1-3 g/miếng, nhặt bỏ xương.

Để theo dõi hoạt động của cá Cóc, chúng tôi quan sát trực tiếp, ghi chép và chụp ảnh. Để nghiên cứu sự phát triển của trứng và nòng nọc, nuôi riêng trong các xô nhựa nhỏ, nhằm cách ly với cá thể trưởng thành, đồng thời tránh hiện tượng cá Cóc nuốt mất trứng và nòng nọc như đã có lần bắt gặp. Chúng tôi có trao đổi kinh nghiệm nuôi với các đồng nghiệp ở viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật, ở vườn thú Hà Nội.

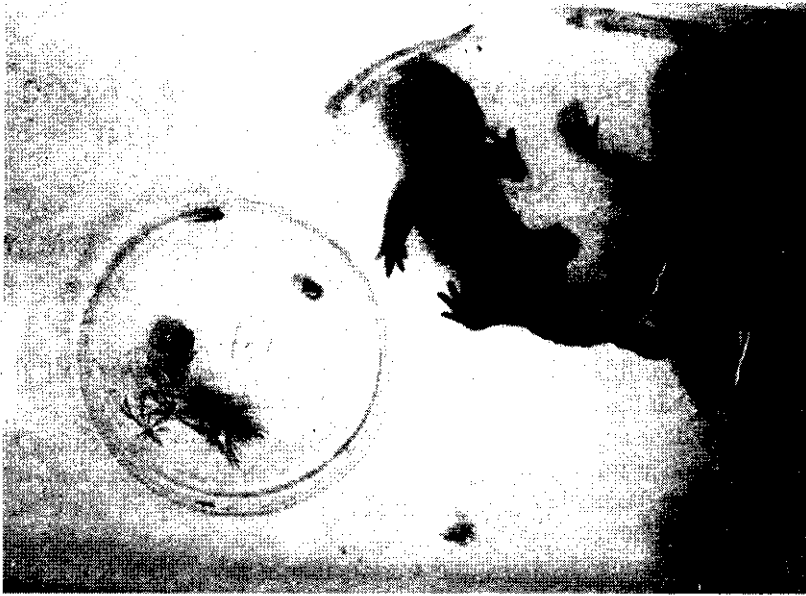
II. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

- Đặc điểm hình thái:

Cơ thể thuần dài. Đầu hơi hẹp, miệng rộng, mắt lồi có mí động. Lưng màu tro hoặc pha nâu với nhiều mụn cóc to nhỏ không đều; dọc lưng có gờ giữa rõ, hai gờ bên được tạo bởi những nốt sần lớn. Bụng có nhiều mảng màu đỏ da cam rực rỡ, hình dạng và kích thước khác nhau, giới hạn bởi những dải màu đen hình mạng. Khe huyết dọc. Đuôi dẹp bên, tù, dài tương đương 1/2 cơ thể, màu xám tro; từ tháng 10 đến tháng 3 năm sau, hai bên đuôi con đực có màu xanh mốc, ánh bạc, rìa dưới đuôi thường vàng sáng. Chân trước 4 ngón, chân sau 5 ngón: đầu ngón tù, màu nhạt; màng bơi không phát triển. Các cơ bơi chủ yếu nhờ đuôi, chân để bò, chúng có thể xa nguồn nước và sống nhiều giờ trên cạn. Con cái thường lớn hơn con đực (dài hơn 1,5-6,5 cm; nặng hơn 3,8-11,8 g), khe huyết dài; con đực có khe huyết ngắn, chung quanh huyết lồi to.

- Nhu cầu thức ăn:

Đã thử nghiệm cho cá Cóc ăn: giun Hồng, giun Đất, Châu chấu; thịt Tôm đồng, cá Mè, cá Mương, cá Trôi, thịt lợn và thức ăn dạng viên



Cá Cóc tiếp cận mồi trong bể nuôi; phôi và nòng nọc mới nở

(do Trung Quốc sản xuất để nuôi cá cảnh). Trừ thịt lợn, còn các loại thức ăn trên chúng đều chấp nhận, chứng tỏ cá Cóc không chỉ ăn động vật sống (mồi động), mà ăn cả mồi tĩnh (thịt một số động vật cất nhỏ và thức ăn tổng hợp). Như vậy khả năng giải quyết nguồn thức ăn cho cá Cóc trong điều kiện nuôi không quá khó khăn.

Để xác định nhu cầu về lượng thức ăn tiêu thụ, chúng tôi cân thức ăn trước khi thả vào bể và sau khi thả 2-3 giờ. Kết quả cho thấy trung bình mỗi cá Cóc mỗi ngày ăn từ 1,4-3,3 g. Trong mùa sinh sản, từ tháng 11 đến tháng 3 năm sau ăn ít hơn từ 1 đến 2,5 g; con cái ăn ít hơn con đực, con đẻ nhiều trứng ăn ít hơn con đẻ ít.

Để tìm hiểu loại mồi ưa thích chúng tôi cho ăn đồng thời 4 loại thức ăn, mỗi loại 20 g ở mỗi lô, thực nghiệm trong 4 tuần, mỗi tuần 2 ngày, mỗi ngày cho ăn một lần vào lúc 8 giờ sáng, sau 4 tuần lại thay bằng loại mồi khác. Kết quả cho thấy loại thức ăn cá Cóc sử dụng từ nhiều đến ít là: giun Đất, tôm Đồng, cá Mương, cá Trôi, giun Hồng, cá Mè hoa, thức ăn tổng hợp dạng viên.

- Lột xác:

Trong điều kiện nuôi từ 28-55 ngày cá Cóc lột xác một lần, các tháng mùa lạnh có số lần lột

xác ít hơn các tháng hè thu. Thời gian lột xác trực tiếp khoảng 10 phút: cá cóc làm rách da ở mắt hàm trên, sau đó bằng các động tác co duỗi liên tục từng phần cơ thể, làm cho lớp da bong dần từ trước ra sau, cá cóc tiến về phía trước, để lại xác lột phía sau, nhiều khi chúng dùng miệng để kéo xác lột ra. Hầu hết xác lột ra nguyên vẹn, rất mỏng, màu trắng trong, nổi lập lờ trong nước và thường bị cá Cóc ăn luôn; một số trường hợp xác lột thành từng mảng, có phần còn bám trên cơ thể. Sau khi lột, màu da bóng và sạch hơn.

- Sinh sản:

Mùa sinh sản của cá cóc từ tháng 12 đến tháng 3 năm sau. Tuy nhiên giữa tháng 10 ở mỗi bên đuôi của con đực xuất hiện một dải màu xanh khác thường, ngày càng rõ và cuối tháng 11 có thêm ánh bạc. Cũng từ tháng 11, bụng con cái to hơn và khối lượng cơ thể tăng nhanh (có lẽ do mang trứng). Tháng 12 có hiện tượng kết đôi, đực cái luôn ở bên nhau với nhiều biểu hiện như ve vãn, kích thích: bò hoặc bơi cùng, ôm nhau và cắn nhẹ nhau, uốn lưng cuốn đuôi nhau, nằm đè lên nhau, lật ngửa, lăn vòng, cọ sát, rung đuôi v.v....

Quả trứng đầu tiên nhìn thấy trong bể ngày 13/1/1997; như vậy so với lứa đẻ 1993 ở viện ST và TNSV thì sớm hơn 44 ngày, so với lứa 1994 ở vườn thú Hà Nội thì muộn hơn 21 ngày. Khi đẻ, cá Cóc dùng chân ôm lấy những cành rong, ngón chân xò rộng, thân và đuôi cong hình cung, phần sau thân lắc ngang như rạn đẻ. Trứng ra từng quả dính vào các vật thể trong nước như cành và lá rong, ống dẫn khí, thành bể.... Mỗi cá thể, một ngày đẻ từ 1 đến 7 trứng. Ban ngày đẻ ít hơn ban đêm, cụ thể từ 25/1 đến 15/3/1997 số trứng đẻ trong khoảng thời gian từ 8-16 giờ là 22 trứng, còn từ 16 giờ đến 8 giờ sáng hôm sau là 103 trứng. Thời gian đẻ kéo dài đến

24/3/1997, ứng với nhiệt độ nước từ 14 đến 22°C và nhiệt độ không khí từ 15 đến 24°C. Thời gian đẻ rộ từ 20/2 đến 13/3. Trong mùa sinh sản mỗi cá thể đẻ trung bình từ 58-79 trứng. Cũng trong thời gian này, cá Cóc ăn ít hoặc không ăn; khối lượng cơ thể tăng không đáng kể, có trường hợp giảm; số lần lột xác ít hơn hẳn so với các tháng trước.

Trứng mới nở có hình cầu hoặc hơi bầu dục, đường kính 4,5-5,5 mm; bên ngoài là khối chất nhầy dính, màu trắng trong; khối cầu bên trong nhìn rõ hai cực: cực dinh dưỡng màu trắng, cực động vật màu sẫm. Vài ngày sau khối cầu bên trong lớn hơn và hơi kéo dài, đã nhìn thấy phôi màu đen thẫm. Sang tuần thứ hai, phôi dài 3,5-4,5 mm, có một đầu to, một đầu nhỏ; phần đầu to có một núm đen ở mắt. Lúc này có thể phân biệt trứng bình thường (có màng nhầy trong, nhìn rõ phôi bên trong) và trứng hồng (có màng nhầy đục mờ, không nhìn thấy phôi), cần loại bỏ những trứng hồng này. Ở tuần thứ ba, phôi dài 4-5 mm, hơi dẹt, cong hình liềm, có hai thất ngang tạo thành 3 phần, phần giữa có màu nhạt hơn 2 phần đầu. Vài ngày sau, vết thất ở đầu nhỏ của phôi mất dần. Tuần thứ 4, phôi cong hình chữ C, thường thì phần cong ở bên trái, đầu và đuôi ở bên phải, có dạng nòng nọc, phân biệt được đầu to, đuôi nhỏ, lưng đen, bụng trắng. Bằng mắt thường thỉnh thoảng thấy phôi cựa quậy, khi dãn mắt đầu chạm vào mắt đuôi. Sang tuần thứ năm, phôi dài 8-10 mm, đã có hình dáng của cá cóc, đầu hơi tròn, thân dẹp bên, đuôi dài hơi nhọn, có mầm móng của mang ngoài và chi trước, phôi ít cử động hơn so với trước đó. Ngày 19/3/1997, từ một quả trứng đặt trên lòng bàn tay, phôi bật mạnh tạo ra một tiếng kêu nhẹ và tách ra khỏi vỏ trứng; sau khi được thả vào đĩa thủy tinh đựng nước sạch, nòng nọc bơi ngay. Như vậy thời gian phát triển của trứng từ 45-50 ngày (so với Rehak, 1981 là 28-48 ngày). Nòng nọc ra khỏi trứng dài 11-13,5 mm; phân biệt rõ các phần: đầu tròn, to hơn hẳn phần thân; 2 mắt nhỏ, vòng ngoài mắt màu sáng. Thân có lưng đen, bụng sáng; ở nơi tiếp giáp với đầu có 3 đôi mang ngoài màu trắng trong, nằm đối xứng hai bên thân; đôi thứ hai dài nhất, đôi thứ 3 ngắn hơn cả, mỗi mang có từ 4-6 nhánh hình răng lược, kích thước không đều.

III. KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

- Có thể nuôi cá Cóc sinh sản trong bể kính với điều kiện bảo đảm mật độ, nhiệt độ, nồng độ ôxi trong nước và thức ăn thích hợp.

- Cá Cóc ăn giun Đất, tôm Đồng, giun Hồng, thịt các loài: cá Mương, cá Trôi, cá Mè hoa cắt nhỏ và thức ăn tổng hợp.

- Trong điều kiện nuôi, cá Cóc đẻ từ tháng 1 đến tháng 3, ứng với nhiệt độ nước 14-22°C, nhiệt độ không khí 15-24°C. Mỗi cá thể cái đẻ trung bình từ 1 đến 7 trứng/ngày, 58-78 trứng cả mùa sinh sản. Trứng phát triển trong thời gian từ 45-50 ngày.

- Cần tiếp tục nuôi nghiên cứu thêm về quá trình phát triển của nòng nọc và cá Cóc con, nhất là nuôi trong điều kiện bán tự nhiên tại các suối, hồ của dãy núi Tam Đảo.

TÀI LIỆU THAM KHẢO CHÍNH

1. Bộ Khoa học, Công nghệ và Môi trường, 1992: Sách Đỏ Việt Nam (Phần động vật). NXB Khoa học và Kỹ thuật.

2. Hồ Thu Cúc và cộng sự, 1995: Sự sinh sản của cá cóc Tam Đảo (*Paramesotriton deloustali*) trong điều kiện nuôi. Tuyển tập các công trình nghiên cứu sinh thái và Tài nguyên sinh vật. NXB Khoa học và Kỹ thuật: 246-251.

3. Đoàn Thị Phương Lý, 1997: Góp phần nghiên cứu một số đặc điểm sinh thái học của cá cóc Tam Đảo (*Paramesotriton deloustali* Bourret R, 1934) trong điều kiện nuôi. Luận văn thạc sĩ ĐHSP Hà Nội, 1997.

4. Lê Nguyên Ngát, 1995: Một số nhận xét về thành phần loài ếch nhái ở rừng Tam Đảo. Sinh học 17-4.14-15.

5. Ivan Rehak, 1981: Tạp chí Ziva của Hội sinh học Tiệp Khắc 6/1981 (tài liệu dịch).

6. Nguyễn Văn Sáng và cộng sự, 1994: Nghiên cứu sinh thái học loài cá cóc Tam Đảo (*Paramesotriton deloustali*) nhằm bảo vệ và phát triển loài đặc hữu của Việt Nam. Báo cáo tổng kết đề tài KT.02.08.

7. Nguyễn Văn Sáng, Hồ Thu Cúc, 1996: Danh lục bò sát, ếch nhái Việt Nam. NXB Khoa học và Kỹ thuật: 179-180.

(Xem tiếp trang 25)

MỘT SỐ ĐẶC ĐIỂM SINH SẢN VÀ PHÁT TRIỂN CỦA CÀ CUỐNG - *LETHOCERUS INDICUS* LEPELETIER et SERVILE, 1775

PHẠM QUỲNH MAI, LÊ XUÂN HUỆ, PHẠM ĐÌNH SẮC

Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật

Cà cuống là một sinh vật gắn liền với nét văn hóa ẩm thực lâu đời của dân tộc Việt Nam. Ở những vùng quê, đồng bằng miền Bắc Việt Nam khi nhắc đến Cà cuống trong ký ức của mỗi người dân dường như còn lưu lại hương vị thơm cay của tinh dầu Cà cuống. Trên phương diện khoa học "cay" ở đây lại là một đặc tính sinh học mang nhiều ý nghĩa của loài Cà cuống này. Theo giáo sư Đỗ Tất Lợi, 1985, nền y học cổ truyền phương Đông đã nghiên cứu và sử dụng chất "cay" của Cà cuống như một loại thuốc. Dùng nó với một lượng nhất định có tác dụng kích thích hệ thần kinh và cơ quan sinh dục của nam giới. Còn khi dùng với liều lượng lớn sẽ gây tác dụng tiêu cực, không có lợi cho sức khỏe.

Cà cuống là côn trùng sống trong nước. Chúng thuộc bộ cánh nửa - Heteroptera. Cơ thể tương đối lớn, sinh sống trong hầu hết các hệ sinh thái thủy vực nước ngọt như hồ, ao, ruộng, mương. Sự tồn tại của Cà cuống trong một thủy vực nào đó có ý nghĩa như một chỉ thị sinh học (Bioindicator).

Thời gian gần đây, quần thể Cà cuống ngoài tự nhiên ngày càng ít dần và có nguy cơ bị tuyệt chủng. Loài này được ghi trong Sách Đỏ Việt Nam (1992). Với mong muốn góp phần bảo vệ và phục hồi loài côn trùng thủy sinh có nhiều ý nghĩa này. Chúng tôi đã tiến hành nghiên cứu Cà cuống ngoài tự nhiên và trong phòng thí nghiệm.

I. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

- Nuôi Cà cuống trưởng thành trong bể xây có thể tích 1 m³. Nuôi Cà cuống con trong bể kính có thể tích 0,024 m³.

- Thức ăn của Cà cuống cá nhỏ, tôm, tép và một số sinh vật thủy sinh còn sống. Bổ sung thức ăn

mỗi tuần 2 lần.

- Nước trong bể là nước mưa, nước giếng. Mỗi tuần thay nước một lần.

- Thường xuyên theo dõi nhiệt độ, độ ẩm phòng nuôi. Quan sát, ghi chép thời gian lột xác của từng cá thể. Xác Cà cuống sau mỗi lần lột được giữ cố định trong cồn 70°.

- Theo dõi sự đẻ trứng và sự phát triển của con non qua các lần lột xác. Đo kích thước sau mỗi lần lột để xác định được mức độ phát triển của từng cá thể (chiều rộng ngực, chiều dài sải cánh và chiều dài cơ thể).

II. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

1. Mùa sinh sản của Cà cuống:

Cà cuống là côn trùng sống trong các hệ sinh thái thủy vực như ao, hồ, ruộng sâu, mương nước. Chúng đậu bám vào cây cỏ, bèo hay các cây thủy sinh khác, đầu chúc xuống dưới nước, nhờ phần ống thở lên trên để hô hấp. Tuy sống dưới nước nhưng Cà cuống có một tập tính sinh học rất đáng chú ý đó là tính hướng quang. Chúng thường bay vào những nơi có ánh sáng như các cột điện. Thời điểm Cà cuống vào đèn cũng thường là thời gian chúng trưởng thành cặp đôi và giao phối.

Trong các thủy vực, Cà cuống thường đẻ trứng thành các ổ lớn. Các ổ trứng này bám quanh thân bèo, thân cây thủy sinh hay các gốc rạ (hình 1).

Các bể thí nghiệm nuôi được xây dựng ngoài trời, chịu ảnh hưởng trực tiếp của thời tiết, nhiệt độ không khí. Đây là kiểu nuôi bán tự nhiên. Trong điều kiện nuôi như vậy chúng tôi nhận thấy: Khi nhiệt độ nước trung bình 25 ± 2°C, nhiệt độ không khí trung bình 30 ± 2°C là nhiệt độ thích hợp để đẻ trứng. Khả

năng sinh sản rất lớn, mỗi ổ trứng có số lượng ít nhất là 40 quả và nhiều nhất gần 200 quả trứng (bảng 1).



Hình 1. Ổ trứng Cà cuống bám trên cây thủy sinh

Bảng 1

Số lượng trứng của mỗi ổ

Ngày tháng	Nhiệt độ không khí (t°C)	Nhiệt độ nước (t°C)	Số ổ trứng	Số lượng trứng (quả)
Năm 1996				
31/7	30	26	1	47
1/8	31	26	2	99 49
3/8	29	25	2	22 192
8/8	28	26	1	143
17/8	29	27	1	165
Năm 1997				
25/7	29	26,5	2	97 103
26/7	29	26,5	1	50
3/8	30	28	2	158
				187
5/8	30	28,5	1	156
6/8	31	29	1	145

Qua kết quả thu được ở bảng 1 cho thấy Cà cuống đẻ trứng vào các ngày trong tháng 7-8 trong năm.

Bảng 2

2. Tỷ lệ nở trứng Cà cuống:

Sau khi đẻ từ 4-7 ngày sẽ nở ra Cà cuống non thiếu trùng chui ra khỏi vỏ trứng và bò dọc theo thân cây xuống nước, cũng từ đó chúng bắt đầu cuộc sống thủy sinh của mình.

Thiếu trùng có màu nâu nhạt, đôi khi ngả sang màu vàng. Hình dạng của chúng giống như cánh bèo hoa dâu.

Tỷ lệ nở của mỗi ổ trứng khá cao. Nhưng nếu tính trên tổng số trứng thu được trong cả mùa sinh sản thì tỷ lệ nở này, chỉ đạt 37,32% (bảng 2).

Kết quả ở bảng 2 cho thấy: có những ổ trứng tỷ lệ nở đạt rất cao từ 80,7 đến 100%. Song cũng có những ổ 100% số trứng không nở. Các ổ trứng không nở do nhiều nguyên nhân khác nhau.

3. Sự phát triển của Cà cuống qua các giai đoạn:

a. Trứng:

Các quả trứng không đứng riêng lẻ mà chúng được kết với nhau thành ổ, nhờ một thứ keo do Cà cuống mẹ tiết ra trong lúc đẻ. Trứng có hình bầu dục, kích thước nhỏ. Chiều dài 3-4 mm, chiều rộng 2-2,5 mm. Trứng mới đẻ có màu vàng sáng, có nhiều sọc màu sẫm chạy dọc về phía hai đầu của vỏ quả trứng. Trứng có màu sẫm dần, sau 4-7 ngày trứng nở thành thiếu trùng.

b. Sự phát triển của thiếu trùng:

Thiếu trùng Cà cuống từ khi nở ra khỏi trứng đến trưởng thành trải qua 5 lần lột xác (bảng 3, 4).

Thiếu trùng tuổi 1 (khi mới nở đến lần lột xác thứ nhất): Cà cuống có kích thước nhỏ, chiều dài cơ thể 8,2-12,1 mm, chiều rộng 3,8-5,1 mm, thời gian phát triển của tuổi này từ 4-7 ngày. Cà cuống tuổi này cơ thể có màu vàng nhạt, điểm các chấm màu nâu (hình 2).

Thiếu trùng tuổi 2 (từ lần lột xác thứ nhất đến lần lột xác thứ hai) chiều dài 12-14,5 mm, chiều rộng 6,3-8,2 mm, thời gian phát triển 5-8 ngày.

Tỷ lệ nở của trứng Cà cuống

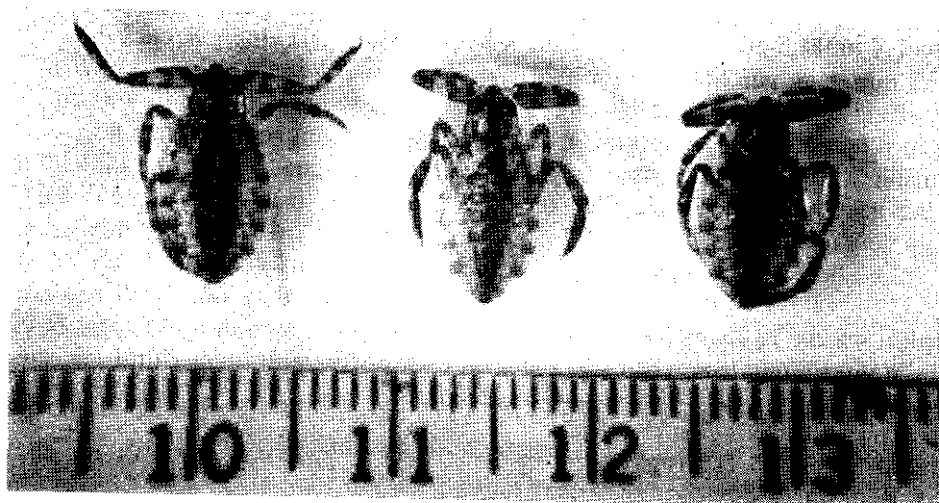
Số lượng trứng (quả)	Số trứng nở (quả)	Tỷ lệ nở (%)
47	0	0
99	0	0
49	49	100
22	0	0
192	154	80,7
143	143	100
165	0	0
97	0	0
103	88	85,4
50	32	64
158	0	0
187	0	0
156	136	87,1
145	0	0
Σ: 1613	602	37,3

Thiếu trùng tuổi 3 (từ lần lột xác thứ hai đến lần lột xác thứ ba) chiều dài cơ thể 14,5-16,7 mm, chiều rộng 15,0-18,0 mm, thời gian phát triển 10-15 ngày. Thiếu trùng tuổi 4 (từ lần lột xác thứ 3 đến lần lột xác thứ 4 chiều dài cơ thể 34,6-37,3 mm, chiều rộng 15,0-18,0 mm, thời gian phát triển 10-15 ngày.

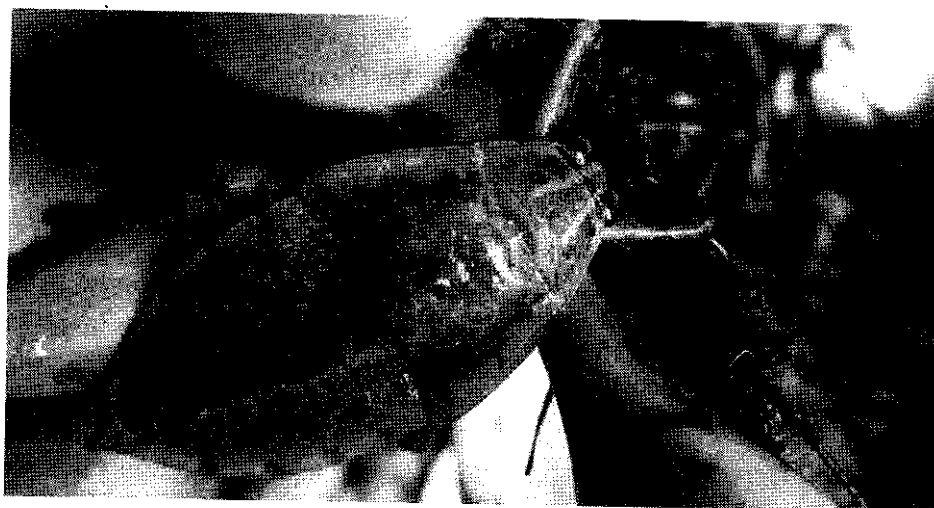
Thiếu trùng tuổi 5 (từ lần lột xác thứ tư đến lần lột xác thứ năm) chiều dài 49,0-51,3 mm, chiều rộng 21,0-23,1 mm. Thiếu trùng ở tuổi này đã xuất hiện mầm cánh (hình 3).

Qua 2 lần lột xác đầu (thiếu trùng tuổi 1, 2, 3) kích thước của thiếu trùng có thay đổi. Tuy nhiên sự thay đổi về kích thước này không nhiều. Tuổi 1 lên tuổi 2 chiều dài tăng 2,4-4,2 mm, chiều rộng tăng 2,5-3,1 mm. Tuổi 2 lên tuổi 3 chiều dài tăng 2,2-2,5 mm, chiều rộng tăng 0,3-0,9 mm.

Từ sau lần lột xác thứ 3 (tuổi 3 sang tuổi 4), kích thước cơ thể Cà cuống tăng trưởng rất nhanh.



Hình 2. Thiếu trùng tuổi 1



Hình 3. Thiếu trùng tuổi 5

Bảng 3

Kích thước ở các tuổi

Tuổi thiếu trùng	Chiều dài (mm)	Chiều rộng (mm)
Tuổi 1	8,2-12,1	3,8-5,1
Tuổi 2	12,0-14,5	6,3-8,2
Tuổi 3	14,5-16,7	7,2-8,5
Tuổi 4	34,6-37,3	15,0-18,0
Tuổi 5	49,0-51,3	21,0-23,1

Sau lần lột xác thứ 4, thiếu trùng Cà cuống đã xuất hiện mầm cánh. Sau lần lột xác thứ năm Cà cuống đã có hai đôi cánh hoàn chỉnh, lúc này Cà cuống trở thành dạng trưởng thành.

nhANH về chiều dài và chiều rộng. Chiều dài của Cà cuống ở tuổi 3 từ 14,5-16,7 sang tuổi 4 đã thành 34,6-37,3 mm, tăng gấp hơn 2 lần. Chiều rộng của thiếu trùng tuổi 4 cũng tăng khoảng 2 lần so với chiều rộng của thiếu trùng tuổi 3, từ 7,2-8,5 mm thành 15,0-18,0 mm. Qua đây có thể thấy, gần đến trưởng thành, sự phát triển của thiếu trùng càng tăng nhanh.

Bảng 4

Thời gian phát triển của Cà cuống trước giai đoạn trưởng thành

Các giai đoạn phát triển (tuổi)	Thời gian phát triển TB (ngày)
Trứng	6,7±0,12
Thiếu trùng tuổi 1	5,23±0,23
Thiếu trùng tuổi 2	5,94±0,49
Thiếu trùng tuổi 3	9,42±1,04
Thiếu trùng tuổi 4	13±1,2
Thiếu trùng tuổi 5	28,5±0,96

Thời gian phát triển của Cà cuống ở giai đoạn trứng, thiếu trùng tuổi 1, thiếu trùng tuổi 2 là ngắn nhất, từ 6 đến 7 ngày. Ở tuổi 3 thiếu trùng phát triển trong vòng 10 đến 12 ngày. Tuổi 4 thiếu trùng phát triển từ 13 đến 15 ngày. Duy nhất có lần phát triển của thiếu trùng từ tuổi 5 lên trưởng thành chiếm nhiều thời gian nhất, 29-31 ngày.

III. KẾT LUẬN

SOME REPRODUCTIVE AND DEVELOPMENT CHARACTERISTICS OF THE BELOSTOMATID *LETHOCERUS INDICUS* LEPELETIER ET SERVILLER

PHAM QUYNH MAI, et al.

SUMMARY

At last of summer to the first time of autumn in July, August is have season of the Belostoma-Larvae of Belostomatid *Lethocerus indicus* Lepeletier et Serville, 1775 go out from eggs with 37,32%. The development from egg to adult period of this species was continuing 60-79 days with 5 times of larval molt. The Belostomatid dimensions were clearly changed after the 4th time and the 5th time of molt. After the 5th time of molt, the Belostomatid had the adult form with two wing pairs.

Ngày nhận bài: 6-1-2000

Cà cuống đẻ trứng theo mùa trong năm. Mùa sinh sản của chúng là cuối mùa hè đến đầu mùa thu, tức là vào khoảng tháng 7-8. Mỗi một ổ trứng có số lượng lớn từ 40-200 quả. Tỷ lệ nở của một ổ trứng có thể cao 80,7-100%. Tuy nhiên tỷ lệ nở của trứng, trong tổng số trứng thu được của một mùa sinh sản chỉ đạt 37,32%. Thời gian phát triển từ trứng đến trưởng thành kéo dài 60-79 ngày và qua 5 lần lột xác. Kích thước Cà cuống thay đổi rõ rệt sau lần lột xác thứ 3 và thứ 4. Sau lần lột xác thứ 5, Cà cuống đã có hai đôi cánh hoàn chỉnh của con trưởng thành.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Đỗ Tất Lợi, 1995: Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam.: 1248-1249.
2. Vũ Quang Mạnh, 1992: Sách Đỏ Việt Nam - Động vật quý hiếm: 386-387.
3. Vũ Quang Mạnh, 1997: Tạp chí thế giới mới số 250: 41-44.
4. Vũ Quang Mạnh, 1997: Tạp chí Lâm nghiệp: 30-32.
5. Nguyễn Công Tiểu, 1928: Notes sur les insectes comestibles au Tonkin-bull, Econ. de l'Indochine 31 e Nouv. Ser. No. 198: 735-744.
6. Distant W. L., 1906: The fauna of British India including Ceylon and Burma. Rhynchota. Vol. III.
7. John C. Morse, Yang lianfang, Tian Lixin, 1994: Aquatic insects of China useful for Monitoring Water quality: 211-248.

TIN HỘI NGHỊ:

HỘI THẢO KHOA HỌC ĐA DẠNG SINH HỌC VƯỜN QUỐC GIA TAM ĐẢO

Ngày 30-11-2000 tại Vườn quốc gia Tam Đảo, Hội Sinh thái học và Hội động vật học phối hợp với Vườn quốc gia Tam Đảo tổ chức Hội thảo khoa học: Đa dạng sinh học Vườn quốc gia Tam Đảo.

Tới dự có các đại biểu của Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật, Viện Điều tra quy hoạch rừng, Hội Lâm nghiệp Việt Nam, Viện Khoa học Công nghiệp, Phân hội các vườn quốc gia, Bảo tàng Lịch sử tự nhiên Quốc gia JICA Hà Lan, chuyên gia tình nguyện Úc, Trường đại học Khoa học tự nhiên-ĐHQG Hà Nội và một số cơ quan quản lý, nghiên cứu khoa học khác.

38 công trình nghiên cứu và thông báo khoa học về Đa dạng sinh học Vườn quốc gia Tam Đảo của các nhà khoa học sinh học trong toàn quốc đã gửi đến tham gia hội thảo.

Tam Đảo là dãy núi cao, chạy dài theo hướng Tây Bắc - Đông Nam, cách Thủ đô Hà Nội 70 km về phía Bắc. Rừng núi Tam Đảo là tài sản quý của quốc gia và có nhiều lợi ích: Bảo vệ môi trường sống, phòng hộ và cung cấp nước tưới cho hàng ngàn ha ruộng ở dưới chân núi, nơi có nhiều cảnh quan đẹp. Núi Tam Đảo là nơi hội tụ và là môi trường sống của nhiều loài động thực vật, đây cũng là hiện trường phục vụ cho công tác nghiên cứu khoa học và thực tập của sinh viên các Trường đại học: Đại học khoa học tự nhiên, Sư phạm, Nông nghiệp, Lâm nghiệp....

Ngày 24-1-1977 theo quyết định 41/TTg do Phó Thủ tướng Nguyễn Duy Trinh ký thành lập 10 khu rừng cấm, trong đó có Tam Đảo. Ngày 6-3-1996 theo quyết định 136/TTg thành lập Vườn quốc gia Tam Đảo trên cơ sở mở rộng khu rừng cấm Tam Đảo từ 19.000 ha thành 36.883 ha.

Nhiệm vụ Vườn Quốc gia Tam Đảo là:

- Bảo vệ nguyên vẹn hệ sinh thái rừng trên núi Tam Đảo.
- Bảo vệ nguồn gen các loài động, thực vật rừng quý hiếm, đặc biệt là các loài động thực vật đặc hữu và cảnh quan thiên nhiên.
- Thực nghiệm công tác nghiên cứu, thực nghiệm khoa học và dịch vụ khoa học, du lịch và nghỉ mát.
- Tham gia tổ chức việc tham quan du lịch và nghỉ mát....

Tại Hội thảo, một số công trình về Đa dạng loài giun đất, Khu hệ động vật, thực vật, kiểm kê tài nguyên cây có ích, Đa dạng sinh học một số nhóm côn trùng, Khu hệ bò sát ếch nhái, cá Cóc Tam Đảo, Thành phần và sự phân bố của mối.... mà các nhà khoa học đã điều tra nghiên cứu tại Vườn quốc gia Tam Đảo được trình bày và thảo luận sôi nổi.

Trần Ngọc Trán

ORDER FORM

Name: _____ Position: _____

Organization: _____

Address: _____

_____ Country: _____

Telephone: _____ Fax: _____ E-mail: _____

Please send me:

Publications	Language	Page numbers	Issues/ year	Price/ issue (US\$)	Order for (issue, year)	Cost (US\$)
☐ Vietnamese Journal of Science and Technology	V	64	6	12.00		
☐ Vietnam Journal of Mathematics (*)	E	96	4	75.00		
☐ Journal of Computer Science and Cybernetics	V-E	64	4	12.00		
☐ Communications in Physics	E	64	4	12.00		
☐ Vietnam Journal of Mechanics	E	64	4	12.00		
☐ Journal of Chemistry	V-E	96	4	12.00		
☐ Journal of Sciences of the Earth	V	64	4	9.00		
☐ Journal of Biology	V	64	4	9.00		
☐ Advances in Natural Sciences	E	128	4	15.00		
All articles have the summary in English V: in Vietnamese; E: in English; V-E: in Vietnamese or/and in English (*) : VJM should be published by Springer-Verlag Singapore				Subtotal:		
				Postage & handling(**) :		
				Total:		

(**) Airmail Postage & Handling per issue

- Asian countries: US\$ 3.50

- Other countries: US\$ 6.05

Surface Mail Postage & Handling per issue

- Asian countries: US\$ 2.00

- Other countries: US\$ 2.85

• Order should be paid only by cheque in US\$

• All orders must be prepaid

I enclosed a cheque made payable to the Bank for Foreign Trade of Vietnam

A/C No.: 001.1.37.0174283 for US\$ _____

Account Number: _____ Valid until _____

Signature _____ Date _____

• All orders should be sent to:

To: Director Mai Ha

Institute for Scientific Information (ISI) - National Centre for Natural Sciences and Technology of Vietnam

Trung tam Thong tin Tu lieu - Trung tam Khoa hoc tu nhien va Cong nghe Quoc gia

Hoang Quoc Viet, Cau Giay, Hanoi, Vietnam

or fax: 84 4 8 352 483; or E-mail: Maiha @ isi.ac.vn

CONTENTS

	<i>Pages</i>
1. NGUYEN TIEN HIEP, et al. : Some new species for the flora of Vietnam collected from the limestone mountains of Caobang province.	1-11
2. NGUYEN VAN HAO, : Two new species of the fish genus of opsariithys from NGUYEN HUU DUC Vietnam.	12-16
3. TRAN THI THANH BINH : Evolutionary development of the septal nephridia in the earthworm genus <i>Pheretima</i> Kinberg, 1867.	17-25
4. NGHIEM NGOC MINH, : Maintenance and stable expression of <i>Solanum nigrum</i> et al. chloroplast genes in the <i>Nicotiana plumbaginifolia</i> transformed plants through R ₁ , R ₂ progenies.	26-30
5. PHAM THI HANG, et al. : Taxonomic characteristics and hydrocarbon-degradation ability of some gram negative bacteria strains isolated from the jet A1 fuel.	31-37
6. NGUYEN BA HUU, : Moderately halophilic bacteria, and the crude oil DANG THI CAM HA biodegradation ability of <i>Marinobacter aqueolei</i> isolated from the Bach Ho oil wells.	38-42
7. VAN THI HANH, et al. : Determination of the antiviral activity of the Superferon product (Interferon α -2b).	43-46
8. NGUYEN VAN MA, : Research on some physiological and biochemical criteria PHAN HONG QUAN of the soybean plants in the artificial dried conditions.	47-52
9. VO THI THU, : Classific characterization of <i>Bacillus thuringiensis</i> NGUYỄN KIM THOA <i>israelensis</i> isolated obtained in Vietnam.	53-58
10. LE NGUYEN NGAT, : Some ecological characteristics of the Tamdao salamander DOAN THI PHUONG LY (<i>Paramesotriton deloustali</i>) in breeding in aquarum.	59-61
11. PHAM QUYNH MAI, et al. : Some reproductive and development characteristics of the belostomatid <i>Lethocerus indicus</i> lepeletier et servilier.	62-66

MỤC LỤC

		Trang
1. NGUYỄN KẾ HIỆP, và cộng sự	: Một số loài thực vật mới cho hệ thực vật Việt Nam phát hiện được ở núi đá vôi tỉnh Cao Bằng.	1-11
2. NGUYỄN VĂN HẢO, NGUYỄN HỮU DỤC	: Giống cá Cháo <i>Opsariichthys</i> ở Việt Nam và mô tả 2 loài mới thuộc giống này.	12-16
3. TRẦN THỊ THANH BÌNH	: Phát triển tiến hóa của vi thân vách của giống giun đất <i>Pheretima</i> Kinberg, 1867.	17-25
4. NGHIÊM NGỌC MINH và cộng sự	: Sự duy trì và biểu hiện ổn định của các gen lục lạp ngoại lai trong cây thuốc lá <i>Nicotiana plumbaginifolia</i> biến nạp qua các thế hệ R_1 , R_2 .	26-30
5. PHẠM THỊ HẰNG và cộng sự	: Đặc điểm phân loại và khả năng phân hủy hidrocarbon của một số chủng vi khuẩn gram âm được phân lập từ nhiên liệu máy bay jet A1.	31-37
6. NGUYỄN BÁ HỮU, ĐẶNG THỊ CẨM HÀ	: Vi khuẩn ưa mặn trung bình và khả năng sử dụng dầu thô của <i>Marinobacter aquaeolei</i> phân lập từ mỏ dầu Bạch Hổ.	38-42
7. VÂN THỊ HẠNH và cộng sự	: Xác định hoạt tính kháng virus của chế phẩm Superferon (Interferon α -2b).	43-46
8. NGUYỄN VĂN MÃ, PHAN HỒNG QUÂN	: Nghiên cứu một số chỉ tiêu sinh lý, sinh hóa của cây đậu tương trong điều kiện gây hạn.	47-52
9. VÕ THỊ THÚ NGUYỄN KIM THOA	: Đặc điểm phân loại của các chủng <i>Bacillus thuringiensis israelensis</i> phân lập ở Việt Nam.	53-58
10. LÊ NGUYỄN NGẬT, ĐOÀN THỊ PHƯƠNG LÝ	: Dân liệu bổ sung về một đặc điểm sinh thái học của cá cóc Tam Đảo - <i>Paramesocotriton deloustali</i> (Bourret, 1934) trong điều kiện nuôi.	59-61
11. PHẠM QUỲNH MAI và cộng sự	: Một số đặc điểm sinh sản và phát triển của Cà Cưỡng - <i>Lethocerus indicus</i> Lepeletier et serville, 1775.	62-66