

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

ISSN 0866 - 7160

tạp chí
SINH HỌC

Journal of Biology

TẬP 19 - SỐ 3

THÁNG 9-1997

HÀ NỘI

CMV 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

ĐÁI DUY BAN, NGUYỄN TIẾN BÂN, ĐOÀN CẢNH,
PHẠM THỊ TRÂN CHÂU, NGUYỄN LÂN DŨNG, ĐẶNG
HUY HUỲNH, NGUYỄN ĐĂNG KHÔI, NGUYỄN THỊ
LÊ, PHAN KẾ LỘC, NGUYỄN TÀI LƯƠNG, LÊ THỊ
MUỘI, PHAN CỰ NHÂN, HOÀNG ĐỨC NHUẬN,
NGUYỄN HỮU PHỤNG, NGÔ KẾ SƯƠNG, ĐẶNG
NGỌC THANH, LÊ XUÂN TÚ, NGUYỄN VĂN UYÊN

Thư ký tòa soạn : Trần Ngọc Trấn

**DẪN LIỆU MỚI VỀ CÁC LOÀI GIUN LÁ
(PLANAPHERETIMA SENSU SIMS AND EASTON, 1972)
ĐƯỢC PHÁT HIỆN Ở VIỆT NAM VÀ KHÓA ĐỊNH LOẠI CHÚNG**

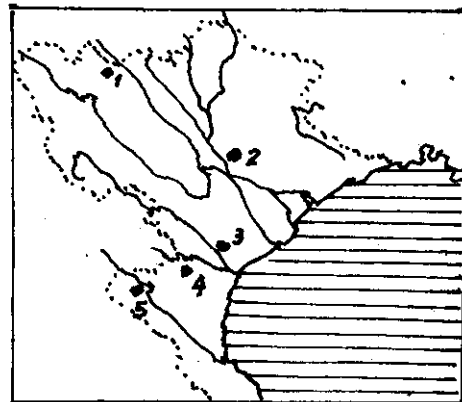
THÁI TRẦN BÁI *

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

Giun lá là một nhóm sinh thái đặc sắc chỉ gặp trong giống *Pheretima*. Chúng sống trong các thảm mục và trên cây, trong các rừng ẩm và là nhóm có nhiều thích nghi hình thái phù hợp với đời sống bò trên cây. Giun lá dùng mùn thực vật làm thức ăn nên có thể gây nuôi với nguồn thức ăn thuận lợi. Michaelsen (1934) đã tách nhóm này thành phân giống *Planapheretima* của giống *Pheretima*, mà sau này Sims và Easton (1972), rồi Easton (1979) nâng lên thành một giống riêng. Ngoài các đặc điểm hình thái chung thích ứng với môi trường sống riêng biệt của nhóm này (có thể dẹp theo hướng lưng bụng, tơ tập trung phía bụng, cơ thể có màu phía lưng...), nhiều đặc điểm hình thái quan trọng khác (hình thái vùng đực, vùng tuyến trên thành ruột và hình thái manh tràng, tình trạng vách đốt) lại chứng tỏ giun lá là một nhóm đa phát sinh. Do đó, trong khi chưa có một hệ thống hợp lý phân nhỏ giống *Pheretima*, chúng tôi coi các loài giun lá như một nhóm sinh thái của giống *Pheretima* Kinberg, 1863.

Giun lá được phát hiện ở nước ta từ năm 1982 với *Pheretima plumatomusculata* Thai, 1982 [6] được mô tả trên một cá thể chưa trưởng thành thu thập ở vườn quốc gia Cúc Phương. Năm 1994, khi nghiên cứu giun đất vùng núi Tây Bắc Việt Nam, Đỗ Văn Nhượng [2] đã phát hiện thêm *Ph. lacertina* Chen, 1946 ở Sa Pa. Kiểm tra tất cả các mẫu vật giun lá đã thu thập được ở nước ta và được lưu giữ tại Trung tâm nghiên cứu động vật đất thuộc Trường đại học Sư phạm,

Đại học Quốc gia Hà Nội, bài mô tả một loài mới cho khoa học, bổ sung 2 loài mới phát hiện ở nước ta và cung cấp thêm các dẫn liệu về hình thái của nhóm loài này. Phần cuối bài là khóa định loại các loài giun lá đã biết ở phần lục địa Châu Á. Các mẫu vật holotip và paratip của loài mới được lưu giữ tại Trung tâm nghiên cứu động vật đất, Trường đại học Sư phạm, Đại học Quốc gia Hà Nội.



Hình 1: Các khu vực tìm thấy giun lá ở Việt Nam.

1- Sa Pa, 2- Tam Đảo, 3- Cúc Phương,
4- Châu Sơn (Nghệ An), 5- Tham Hang, Kỳ Sơn (Nghệ An).

1. PHERETIMA RARUSA THAI sp. nov.

Mẫu vật:

Holotip: 1C, Tham Hang, Mường Lống (Kỳ Sơn, Nghệ An), rừng già, 2I/VI/1986.

* Tác giả cảm ơn các đồng nghiệp Đỗ Văn Nhượng, Trần Minh Khôi (Trường đại học Sư phạm, Đại học Quốc gia Hà Nội) và Huỳnh Thị Kim Hối (Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật) đã bổ sung bộ mẫu.

PAH 97

Paratip: 1C (bị đứt phần sau đai) + 1A, cùng nhân; 1C, Châu Sơn, Nghệ An, rừng già, khe ven đường khai thác gỗ cũ, người thu thập: Trần Minh Khôi.

Mô tả:

l : 75 mm, d : 3,5 - 4 mm, h : 3 mm, s : 92.

Cơ thể dẹt. Lôm phía bụng. Phía lưng màu tím thẫm, mặt bụng màu vàng nhạt. Đế bò (creeping sole) là nếp nhăn chiếm phần lôm phía bụng. Môi kiểu epi hờ. Lỗ lưng từ 9/10. Đai kín đủ. Tơ nhiều, bé, xếp dãn về phía bụng. Số lượng tơ: 65(57)/V, 81(71)/VIII, 27-30/XVIII, 68/XXV; yz: 7ab, zz: 11aa. Lỗ đực nằm sâu trong phần lôm viền bằng các rãnh đồng tâm, có nhú phụ cạnh nhú đực ẩn trong phần lôm (buồng giao phối?). Dọc đường bụng vùng đực có nhú phụ nhỏ ở trước và sau vành tơ: 2 nhú phụ sau vành tơ đốt XVII, 3+2 nhú phụ ở trước và sau vành tơ đốt XVIII và 2 nhú phụ ở trước vành tơ đốt XIX. Tuyến phụ hình nấm có cuống dài nổi rõ trong thềm xoang. Có 3 đôi túi nhận tinh phía lưng ở 5/6/7/8. Cơ quan sinh dục rất phát triển. Túi nhận tinh có ampun hình túi, diverticulum dài bằng hoặc dài hơn túi chính, đổ vào phần ngoài cuống ampun. Buồng tinh là phần phình màu trắng đục ở gần đỉnh diverticulum. Túi tinh hoàn thông nhau phía bụng. Tinh nang rất phát triển chiếm đốt XI-XVI. Tuyến tiền liệt phát triển, xé thùy sâu, cuống tuyến lớn hơn ở phần ngoài. Tuyến trứng phát triển. Không thấy túi trứng. Tim cuối trong đốt XIII. Ruột phình từ XV. Rãnh lưng tiêu giảm. Thành ruột XV-XXVI dày. Mang tràng là phần phình của phần trước thành ruột đốt XXVII tạo thành mấu lồi nằm trên thành ruột đốt XXVI. Có vách 8/9/10. Tất cả các vách đều mỏng. Vi thận hầu cuối ở 6/7. Trong ruột có nhiều mùn.

Nhận xét:

Màu sắc của con non khác con trưởng thành. Trong 3 mẫu gặp ở Tham Hang, con non có sắc tố tím kết thành mạng ở phía lưng. Mẫu holotip trưởng thành có lưng màu tím còn mẫu paratip trưởng thành cùng nhân lại có màu đen ánh. Mẫu paratip trưởng thành ở Châu Sơn có giải sống lưng và các đốm màu tím ở phía lưng. Cá thể này có cả nhú phụ ở vùng nhận tinh. Nhú phụ nhiều,

xếp thành dãy ngang sau vành tơ đốt XVII, XVIII và trước vành tơ đốt VII, VIII. Cá thể này có buồng giao phối bên phải, lộn ra ngoài hình lưỡi. So sánh với các loài đã biết, loài mới gần nhất với *Ph. plumatomusculata* Thai, 1982 (cùng có lỗ nhận tinh phía lưng) tuy khác rõ rệt do có buồng giao phối, có nhú phụ và tuyến phụ hình nấm có cuống dài. So với *Ph. continens* Chen, 1946, loài mới sai khác rõ rệt ở vị trí của lỗ nhận tinh (phía lưng chứ không phải bên bụng), đặc điểm của vùng đực (có buồng giao phối), có tuyến phụ hình nấm có cuống dài, có đai chỉ chiếm 3 đốt và có túi tinh hoàn phía bụng (chứ không phải hình chữ U trong đốt X) (hình 2A,A').

**2. PHERETIMA PLUMATOMUSCULATA
THAI, 1982**

Mẫu vật bổ sung:

3C + 1A, Cúc Phương, rừng âm, trong thảm mục ven suối và trên lá cây, 23/VII/1983, người thu thập: Thái Trần Bái; 3A: Mường Lống (Kỳ Sơn, Nghệ An), rừng âm, 21/V/1986, người thu thập: Trần Minh Khôi; 10C + 5A: Tam Đảo, rừng âm, 21/VI/1995, người thu thập: Đỗ Văn Nhượng.

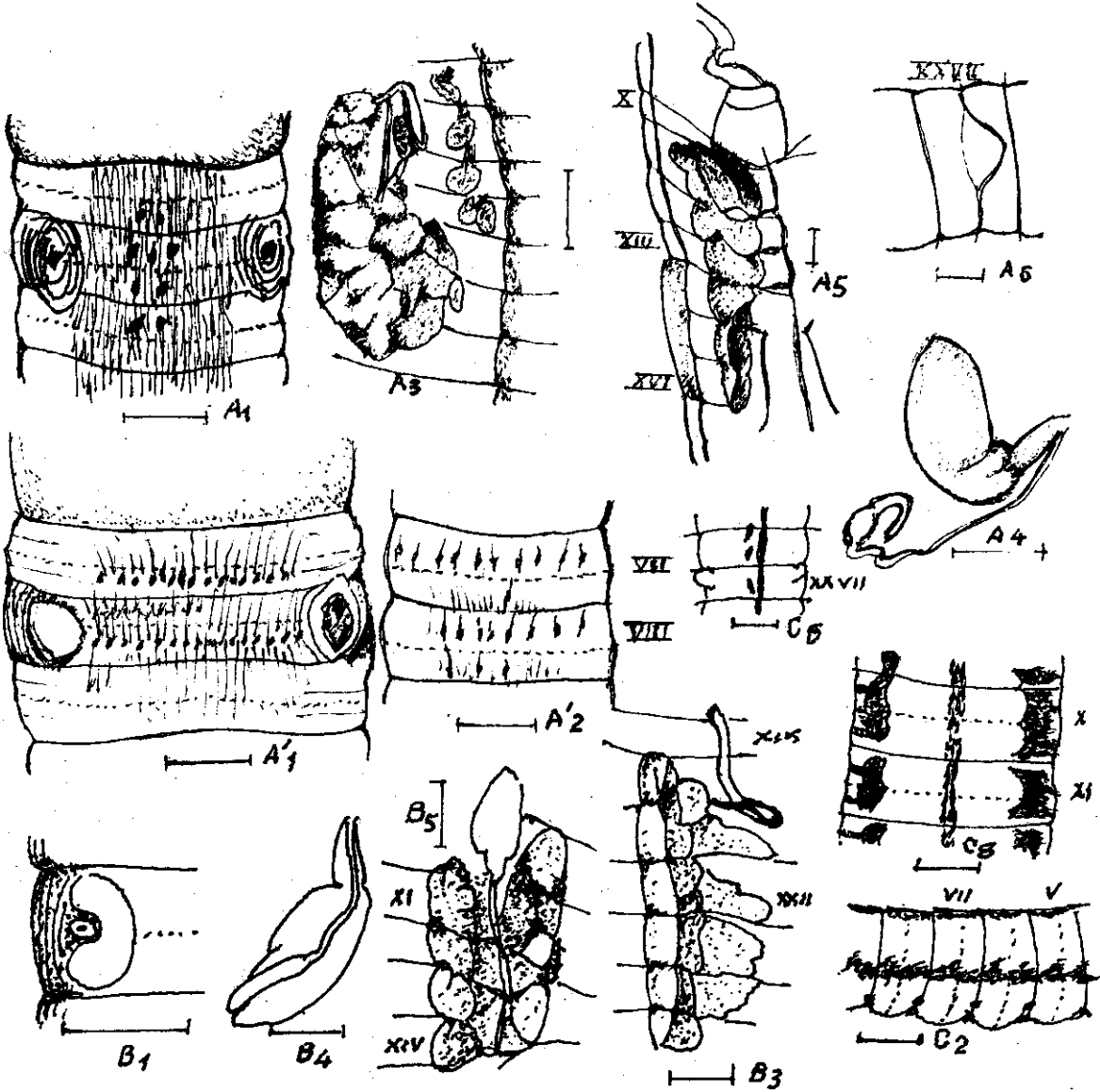
Dẫn liệu bổ sung về hình thái của cá thể trưởng thành:

Ở Cúc Phương và Mường Lống, mẫu trưởng thành có kích thước gần như cá thể chưa có đai là holotip của loài: l : 67 mm, d : 3,5 mm, h : 3 mm, s : 96-109, yz : 4ab, zz : 6aa. Lỗ đực ở giữa nhú đực kẹp giữa phần gỗ cao hình chữ C. Đai chiếm 3 đốt XIV-XVI. Màu sắc của các cá thể trưởng thành có thể thay đổi rất lớn: hoặc rõ đường sống lưng và các đốm tím trên nền trắng đục, hoặc các sắc tố tím rải đều phía lưng làm khó nhận thấy các đốm màu và giải sống lưng vốn có ở con non. Một mẫu trưởng thành khác có màu trung gian, nền tím chưa đủ đậm để che đến mức không nhận biết được giải sống lưng và đốm tím. Cũng có thể loài này có khả năng thay đổi màu tùy theo màu của nền chúng bám. Cá thể trưởng thành có bờ trước của thành ruột đốt XXVII phình thành một đôi túi nhỏ. Tuyến tiền liệt và tinh nang rất phát triển, chiếm nhiều đốt. Túi tinh hoàn phía bụng, thông nhau. Có 2 đôi túi

nhận tinh đổ ra phía lưng gian đốt 5/6/7. Túi nhận tinh to, ampun hình túi và diverticulum đổ vào phần ngoài của cuống ampun, buồng tinh hình cán. Tuyến trứng rõ trên vách 12/13, không có túi trứng. Có vách 8/9/10. Tất cả các vách đều mỏng.

Cá thể trưởng thành gặp ở Tam Đảo có l : 75 mm, d : 4,25 mm, h : 3 mm, s : 110, zz : 10aa,

yz : 4ab. So với mẫu ở Cúc Phương và Mường Lống, các cá thể gặp ở Tam Đảo có các sai khác sau: có 3 đôi túi nhận tinh ở 5/6/7/8. Lỗ nhận tinh ở tương đối xa đường lưng hơn, từ trên nhìn xuống thấy ở rìa lưng; thành ruột đốt XXVII tạo thành hai túi manh tràng tương đối bé hơn các mẫu ở Cúc Phương và Mường Lống (hình 2B).



Hình 2: Hình thái của *Pheretima rarusa* sp. nov. (A và A') và của hai loài giun lá khác gặp ở Việt Nam

A- Holotyp, A'- Paratip từ Châu Sơn. B- *Pheretima plumatomusculata* Thai, cá thể trưởng thành. C- *Pheretima tenebrica* Chen: 1- Vùng đực, nhìn từ bụng; 2- Vùng nhận tinh: A2 nhìn từ bụng, C2 từ bên; 3- Tuyến tiền liệt (ở A3 thấy rõ tuyến phụ); 4- Túi nhận tinh; 5- Túi tinh hoàn và tinh nang; 6- Manh tràng; 8- Hình vẽ phía lưng (số la mã ứng với số đốt, đoạn thẳng ở dưới hoặc ở cạnh mỗi hình ứng với 1 mm).

3. *PHERETIMA TENEBRICA* CHEN, 1946

Mẫu vật:

2A: Tam Đảo, rừng ẩm, đường lên đỉnh tháp truyền hình, 21/VI/1995, người thu thập: Thái Trần Bái; 5A: Tam Đảo, rừng ẩm, trên đường đi đỉnh Rừng Rinh, 20/VI/1995, người thu thập: Đỗ Văn Nhượng.

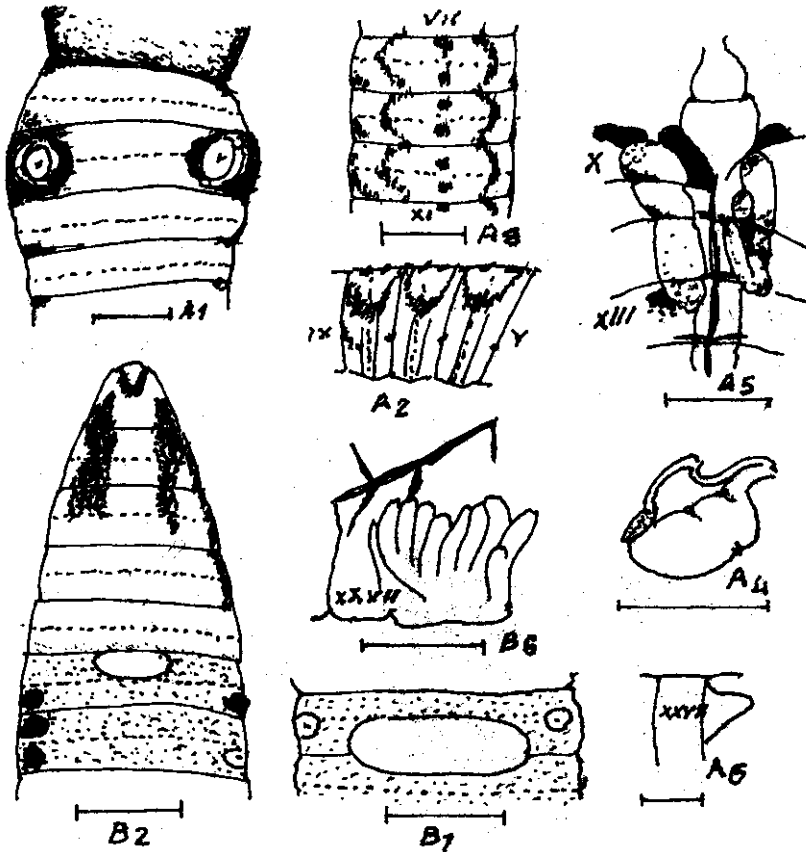
Chỉ mới gặp các cá thể chưa trưởng thành. Chúng thường cuộn tròn với mặt bụng ép vào mặt dưới lá. So với mô tả gốc của Chen [1], các mẫu ở Tam Đảo có các sai khác sau: 1- Cơ thể tương đối lớn hơn. Mẫu holotip là cá thể trưởng thành, theo Chen [1] có l : 52 mm, d : 2,8 mm, s : 82, trong khi các cá thể chưa trưởng thành gặp ở Tam Đảo có l : 90 - 110 mm, d : 4 - 5 mm h : 2 - 3 mm, s : 120 -

124. Cùng với kích thước tương đối lớn hơn, số tơ cũng tương đối nhiều hơn. Số tơ của mẫu holotip là 52/IX, 50/XVII, 52/XXVI, (32)/V, (36)/IX, + 16/XVIII, trong khi số tơ của một mẫu Tam Đảo là 84(40)/V, 74/XIII, 54 + 30/XVIII, 106/XXV. 2- Bờ trước thành ruột đốt XXVII tạo thành mầm của manh tràng là hai túi nhỏ hướng về phía trước (hình 2C).

4. *PHERETIMA LACERTINA* CHEN, 1946

Mẫu vật:

Sa Pa, Ô Quý Hồ, độ cao 1600 m, 11/1/1991: 1C, rừng ẩm, thảm mục; 1A, đồi thông. Sa Pa, km 15, rừng tre nửa với lớp thảm mục dày, 6/3/1993: 1A. Người thu thập: Huỳnh Thị Kim Hồi.



Hình 3: Hình thái của hai loài giun lá *Pheretima lacertina* Chen (A) và *Pheretima arboricola* Gates (B) gặp ở Việt Nam

1- Vùng đực, nhìn mặt bụng. 2- Vùng nhận tinh (A2 nhìn bên, B2 nhìn mặt bụng). 4- Túi nhận tinh. 5- Túi tinh hoàn và tinh nang. 6- Manh tràng. 8- Hình vẽ phía lưng.

So với mô tả gốc của Chen [1], cá thể trưởng thành gặp ở Sa Pa có các sai khác sau: - Cơ thể tương đối bé hơn. Mẫu holotyp có l : 81 mm, d : 4 mm, s : 100, trong khi cá thể gặp ở Sa Pa có l > 30 mm, d : 2,5 - 3 mm và s > 92. Cùng với kích thước tương đối bé hơn, số tơ cũng tương đối ít hơn. Mẫu holotyp có số tơ 75(34)/VI, 81(40)/IX 72/XXV, còn mẫu ở Sa Pa có 65(45)/V, 69(45)/VIII, 22 + 21/XVIII. - Chỉ có 3 đôi túi nhận tinh ở 5/6/7/8. Hai con chưa trưởng thành có sắc tố tím kết thành mạng phía lưng tương tự con non *Ph. rarusa* sp. nov. nhưng có thêm các đốm tím phía bụng (hình 3A).

5. *PHERETIMA ARBORICOLA* GATES, 1936

Mẫu vật:

10A, Tam Đảo, rừng ẩm trên đường di đình Rừng Rình, giun bò trên thân cây, 20/VI/1995. Người thu thập: Đỗ Văn Nhượng.

So với mô tả của Gates [4], các cá thể gặp ở Tam Đảo có các sai khác sau: - Chỉ có 2 lỗ nhận tinh ở sau vành tơ trên đốt VI, VII - Ngoài núu phụ ở trên đốt XVIII, còn có thể có núu phụ cùng dạng ở trước vành tơ đốt VI. - Không thấy vùng tuyến tạo "đế bò" ở sau đai. - Số tơ của các cá thể gặp ở Tam Đảo tương đối nhiều hơn: 66(36)/VI,

66(32)/VII, 59 + 26/XVIII, 90(30)/XIX, 95/XXV, trong khi số tơ theo dẫn liệu của Gates là (21)/VI (23)/VII, 51(22)/VIII, 44/XX (hình 3B).

Như vậy ở Việt Nam, cho đến nay đã gặp 5 loài giun lá, trong đó có 2 loài chỉ mới gặp ở Việt Nam (*Ph. plumatomusculata* và *Ph. rarusa* sp. nov.), 1 loài chung với Myanmar (*Ph. arboricola*) và 2 loài chung với Trung Quốc (*Ph. tenebrica*, *Ph. lacertina*). Năm 1979, khi tu chỉnh nhóm giun lá, Easton E. G. đã xếp 5 loài gặp ở Trung quốc và Myanmar (Mainland of Asia) thành một nhóm riêng (*Planapheretima bambophila* species-group), sai khác với các loài gặp ở quần đảo Indo-Australasian về đặc điểm có phần trước của ruột phân hóa thành vùng tuyến hay thành manh tràng. Trong 5 loài giun lá gặp ở Việt Nam, *Ph. arboricola* phân biệt rõ rệt với 4 loài còn lại do có manh tràng phát triển, cơ thể chỉ hơi dẹt và không có mặt bụng lõm, màu sắc khác kiêu.

Trong khóa định loại các loài giun lá đã gặp ở phần lục địa châu Á, chúng tôi kể cả 2 loài *Ph. acidophila* Chen và *Ph. jaoi* Chen mà Chen đã gặp ở Tứ Xuyên (Trung Quốc), dưới vỏ cây hoặc trong rêu, tuy Easton [3] không coi chúng là giun lá, vì cho rằng không có các thích nghi hình thái đặc trưng cho nhóm này.

KHÓA ĐỊNH LOẠI CÁC LOÀI GIUN LÁ TRONG GIỐNG *PHERETIMA* ĐÃ GẶP Ở PHẦN LỤC ĐỊA CHÂU Á

- 1 - Lỗ nhận tinh ở phía lưng, đai chiếm 3 đốt XIV-XVI 2
 - Lỗ nhận tinh ở bên bụng, đai chiếm 3 hoặc trên 3 đốt 3
- 2 - Lỗ nhận tinh ở 5/6/7 hoặc 5/6/7/8. Núu đực nổi nằm cạnh phần gờ hình chữ C. Không có núu phụ *Ph. plumatomusculata* Thai
 - Lỗ nhận tinh ở 5/6/7/8. Núu đực nằm trong buồng giao phối. Có núu phụ bé ở vùng đực *Ph. rarusa* sp. nov.
- 3 - Lỗ nhận tinh ở trên đốt sau vành tơ đốt VI và VII. Có núu phụ lẻ và lớn sau vành tơ đốt XVIII *Ph. arboricola* Gates (quần thể gặp ở Việt Nam)
 - Lỗ nhận tinh ở gian đốt 4
- 4 - Lỗ nhận tinh bắt đầu từ 4/5. Đai chiếm trên 3 đốt *Ph. continens* (một phần)
 - Lỗ nhận tinh bắt đầu từ 5/6 5
 - Lỗ nhận tinh bắt đầu từ 6/7 8

- Lỗ nhận tinh bắt đầu từ 7/8 *Ph. bambophila* Chen
- 5 - Có nhú phụ lẻ sau vành tơ đốt XVIII. Manh tràng hình lược. Có 4 đôi túi nhận tinh ở 5/6/7/8/9 . . .
 *Ph. arboricola* Gates
 (quần thể gặp ở Myanma)
- Không có nhú phụ. Manh tràng là nhú lồi của thành ruột đốt XXVII. Có 3 - 4 đôi túi nhận tinh . . . 6
- 6 - Có 3 đôi túi nhận tinh ở 5/6/7/8. Đại chiếm trên 3 đốt. Túi tinh hoàn hình chữ U
 *Ph. continens* Chen (một phần)
- Có 3 - 4 đôi túi nhận tinh. Đại chiếm 3 đốt hoặc chỉ vượt quá rãnh gian đốt. Túi tinh hoàn phía
 bụng 7
- 7 - Lưng màu tím hoặc có 3 giải tím. Tất cả các vách đốt đều mỏng *Ph. tenebrica* Chen
- Lưng màu tím hoặc có một giải sống lưng và các giải đường vòng cung ở hai bên. Vách 6/7/8/9
 hơi dày *Ph. lacertina* Chen
- 8 - Không có nhú phụ cạnh nhú đực. Có 2 đôi lỗ nhận tinh ở 6/7/8 *Ph. acidophila* Chen
- Có một nhú phụ cạnh nhú đực. Có 3 đôi lỗ nhận tinh ở 6/7/8/9 *Ph. jaoi* Chen

TÀI LIỆU THAM KHẢO

<p>1. Chen Y., 1946: J. West China Border Res. Soc., 16: 83-141.</p> <p>2. Đỗ Văn Nhượng, 1994: Nhận xét bước đầu về khu hệ giun đất miền Tây Bắc Việt Nam. Thông báo khoa học ĐHSPT Hà Nội I, 68-73.</p> <p>3. Easton E. G., 1979: Bull. Br. Mus. Nat. Hist.</p>	<p>(Zool.), 35(1): 1-126.</p> <p>4. Gates G. E., 1972: Trans. Am Phil. Soc., 62(7): 148-226.</p> <p>5. Sima R. W., Easton E. G., 1972: Biolog. J. Linnean Soc., 4(3): 169-268.</p> <p>6. Thái Trần Bái, 1982: Zool. Jurnal, 61, 6: 817-830 (tiếng Nga).</p>
---	---

NEW DATA ON LEAF-CRAWLERS *PHERETIMA* KINBERG, 1863 IN VIETNAM AND A KEY TO SPECIES OF THIS GROUP FROM THE MAINLAND OF ASIA

THAI TRAN BAI

SUMMARY

Based upon the materials collected in mountainous regions of Vietnam during 1980-1995, 5 species of leaf-crawlers *Pheretima* are noted, in which a new species for science is described and new data of adult *Ph. plumatomusculata* Thai are recorded.

***PHERETIMA RARUSA* THAI sp. nov.**

Type: l : 75 mm, d : 3.5 - 4 mm, h : 3 mm, s : 92.

Body pointed posteriorly, flattened or grooved ventrally. Color deep purplish or dark chestnut dorsally, pale ventrally. Clitellum distinct in XIV-XVI, swollen. First dorsal pore in 9/10. Setae all fine, very numerous and closer ventrally. Their numbers: 65(57)/V, 81(71)/VIII, 27-30/XVIII, 68/XXV, yz : 7ab, zz : 11aa. Spermathecal pores 3 pairs in 5/6/7/8, dorsolateral. Female pore single. Porophores in shallow pouchs of parietal invagination. Genital markings small, oval papillae, ranged in transversal presetal and postsetal lines of XVII-XIX. Seminal vesicles and prostate glands well developed. Testis sacs ventral, communitated. Assessorry glands stalked. Last hearts in XIII. Last nephridial tufts at 6/7. Caeca primary, sac-like projection of intestine in XXVII. All septa present, membranous (Fig. 2A).

**KEY TO THE SPECIES OF LEAF-CRAWLERS *PHERETIMA* FROM
THE MAINLAND OF ASIA**

- 1 - Spermathecal pores dorsal or dorsolateral. Clitellum 3 segments 2
 - Spermathecal pores ventrolateral. Clitellum 3 or more than 3 segments 3
- 2 - Spermathecal pores at 5/6/7 or 5/6/7/8. Porophore superficial near C-shaped elevations. Genital markings lacking *Ph. plumatomusculata* Thai
 - Spermathecal pores at 5/6/7/8. Porophore invaginate. Genital markings present, small oval papillae *Ph. rarus* sp. nov.
- 3 - Spermathecal pores intrasegmental, behind setal rings of VI and VII. A big unpaired oval genital marking present behind setal ring of XVIII *Ph. arboricola* Gates (in Vietnam)
 - Spermathecal pores intersegmental 4
- 4 - First spermathecal pores in furrow 4/5. Clitellum 1/2XIII-XVII *Ph. continens* Chen (part)
 - First spermathecal pores in furrow 5/6 5
 - First spermathecal pores in furrow 6/7 8
 - First spermathecal pores in furrow 7/8 *Ph. bambophila* Chen
- 5 - A big unpaired oval genital marking present behind setal ring of XVIII. Intestinal caeca manicate. 4 pairs of spermathecal pores at 5/6/7/8/9 *Ph. arboricola* Gates (in Burma)
 - Genital marking lacking. Intestinal caeca primary as a simple sac of intestinal wall at XXVII. 3 - 4 pairs of spermathecae 6
- 6 - 3 pairs of spermathecae at 5/6/7/8. Clitellum 1/2XIII-XVII. Testis sac of X vertically, U-shaped *Ph. continens* Chen (part)
 - 3 or 4 pairs of spermathecae. Clitellum XIV-XVI or encroaching onto XIII and XVII. Testis sac ventral 7
- 7 - Colouration violet-grey dorsally or 3 longitudinal violet-grey dorsal stripes on a yellowish-grey background. All anterior septa present and membranous *Ph. tenebrica* Chen
 - Colouration violet-grey dorsally or a dorsomedian beaded line and 2 - 4 dorsolateral zigzag chocolate brown lines on a bluish background. All anterior septa present: 6/7/8/9 thicker, remaining ones membranous *Ph. lacertina* Chen
- 8 - Postclitellar genital markings none. Spermathecal pores at 6/7/8 *Ph. acidophila* Chen
 - Postclitellar genital markings present near porophores. Spermathecal pores at 6/7/8/9 *Ph. jaoi* Chen

Ngày nhận bài: 16-8-1995

DẪN LIỆU MỚI VỀ KHU HỆ ĐỘNG VẬT CHÂN ĐẦU (CEPHALOPODA, MOLLUSCA) Ở BIỂN VIỆT NAM

NGUYỄN XUÂN DỤC

Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật

Lớp chân đầu (*Cephalopoda*) thuộc ngành động vật thân mềm (*Mollusca*), bao gồm các loài mực ống, mực nang và bạch tuộc, là nguồn lợi hải sản quan trọng sau cá và tôm biển. Đối tượng này còn ít được nghiên cứu ở nước ta. Trong các năm trước đây, chúng tôi đã công bố một số kết quả nghiên cứu về thành phần loài và sản lượng khai thác ở biển nước ta, chủ yếu trong phạm vi độ sâu dưới 100 m [1-6]. Năm 1996, trong dịp tham dự hội nghị khoa học quốc tế chuyên đề về động vật chân đầu ở Ôxtrâyliya, chúng tôi có nhận được một tài liệu nghiên cứu về khu hệ động vật chân đầu ở biển Việt Nam của Khromov [8]. Tài liệu này dựa vào kết quả phân tích các mẫu vật thu thập được trong các chuyến khảo sát vịnh Bắc bộ của các tàu "Orlik" và "Pelamida" của Liên Xô, trong các năm 1964-1965

và chuyến khảo sát tháng 9-1984 của tàu "Odyssey" (Liên Xô) tại vùng biển Việt Nam từ vĩ độ 10°20'N đến 16°29'N; độ sâu từ 40 m đến 1300 m.

Bài này dựa vào các tài liệu mới công bố của Khromov (1996), đồng thời kiểm tra, đánh giá, tổng kết lại các tài liệu đã có của chúng tôi, để đưa ra những dẫn liệu mới về khu hệ động vật chân đầu ở biển Việt Nam.

1. THÀNH PHẦN LOÀI

Các kết quả nghiên cứu từ trước đến nay của chúng tôi và các tác giả khác, cho thấy khu hệ động vật chân đầu ở biển Việt Nam bao gồm 69 loài, trong đó lớp phụ *Nautiloidea* chỉ có 1 loài, còn lớp phụ *Coleoidea* có 68 loài thuộc 23 giống, 13 họ, 3 bộ (bảng 1).

Bảng 1

Danh sách các loài động vật chân đầu (*Cephalopoda*) ở biển Việt Nam đã được công bố

Số TT	Tên loài	Vùng phân bố		
		V.1	V.2	V.3
1	Lớp phụ <i>Nautiloidea</i> Agassiz, 1847			
	Họ <i>Nautilidae</i> Blainville, 1825			
	Ốc Anh vũ <i>Nautilus pompilius</i> Linnaeus, 1758	+	+	+
	Lớp phụ <i>Coleoidea</i> Bather, 1888			
	Bộ <i>Sepioidea</i> Naef, 1916			
2	Họ <i>Sepiidae</i> Kefestein, 1886			
	Mực nang mắt cáo <i>Sepia lycidas</i> Gray, 1849	+	+	+
	Mực nang vàng <i>Sepia esculenta</i> Hoyle, 1885	+	+	+
	(= <i>S. elliptica</i> , Hoyle, 1885)			
	Mực nang Ma đô kai <i>S. madokai</i> Adam, 1939	+	+	+
5	Mực lửa <i>S. latimanus</i> Quay et Gaimard, 1832	+	+	+
	(= <i>S. harmeri</i> Robson, 1928)			

Số TT	Tên loài	Vùng phân bố		
		V.1	V.2	V.3
6	Mực nang Kô bi <i>S. kobiensts</i> Hoyle, 1855	+	+	+
7	Mực nang Tô rô sa <i>S. toroda</i> Ormann, 1888			+
8	Mực nang vân hồ <i>S. pharaonis</i> Ehrenber, 1931	+	+	+
9	Mực nang kim <i>S. aculeata</i> Orbigny, 1848	+	+	+
10	Mực nang gai cong <i>S. recuvirostra</i> Steenstrup, 1875**		+	+
11	Mực nang Ô man <i>S. omani</i> Adam et Rees, 1966**		+	+
12	Mực nang Mes tut <i>S. mestus</i> Gray, 1849*		+	+
13	Mực nang bông ngắn <i>S. brevimana</i> Steenstrup, 1875*		+	+
14	Mực nang Ca ri nat <i>Sepia carinata</i> Sasaki, 1920*		+	+
15	Mực nang biển sâu <i>S. cottoni</i> Adam, 1979*		+	+
16	Mực nang biển sâu <i>S. lorigera</i> Wilker, 1910*		+	+
17	Mực nang Việt Nam <i>S. (Dorotosepion) vietnamica</i> Khromov, 1987*		+	+
18	Mực nang Vốt si <i>S. (Rhompotepion) vossi</i> Khromov, 1996*		+	+
19	Mực nang Tun béc <i>Metasepia tulbergi</i> Appellof, 1886	+	+	+
20	Mực nang vây dõm bạc <i>Sepiella inermis</i> (Orbigny, 1848)	+	+	+
21	Mực nang Nhật Bản <i>S. japonica</i> Sasaki, 1929		+	+
22	Mực nang <i>S. weberi</i> Adam, 1939* Họ Sepiolidea Leach, 1817	+	+	
23	Mực sim Bi pa <i>Austrorossia bipapillata</i> (Sasaki, 1920)*	+	+	
24	Mực sim Bi rôt <i>Sepiolo birostrata</i> Sasaki, 1918	+		
25	Mực sim Be ri <i>Eubrymna berryi</i> Sasaki, 1929	+	+	+
26	Mực sim Moóc xây <i>E. morsei</i> (Varril, 1881)		+	+
	Họ Sepiadaridae Naef, 1912			
27	Mực cơm <i>Sepiadatum kochii</i> Steenstrup, 1881	+	+	+
	Bộ Teuthoidea Naef, 1916			
	Bộ phụ Myopsida Orbigny, 1845			
	Họ Loliginidae Steenstrup, 1861			
28	Mực ống Bê ka <i>Loligo beka</i> Sasaki, 1929	+	+	+
29	Mực ống Trung Hoa <i>L. chinensis</i> Gray, 1849	+	+	+
30	Mực ống Ấn Độ <i>L. duvauceli</i> d' Orbigny, 1848	+	+	+
31	Mực ống <i>L. uyii</i> Wakiya et Ishikawa, 1921 (= <i>L. tagoi</i> Sasaki, 1929; <i>L. gotoi</i> Sasaki, 1929)	+	+	+
32	Mực thê <i>L. edulis</i> Hoyle, 1885	+	+	+
33	Mực ống Kô bi <i>L. kobiensts</i> Hoyle, 1885		+	+
34	Mực ống Nhật Bản <i>L. japonica</i> Hoyle, 1885		+	+
35	Mực ống Ô sim <i>L. oshimai</i> Sasaki, 1929		+	+
36	Mực ống At pe ra <i>L. aspera</i> Ormann, 1888		+	+

Số TT	Tên loài	Vùng phân bố		
		V.1	V.2	V.3
37	Mực ống không răng sừng <i>L. vietnamensis</i> Nguyen, 1994	+	+	+
38	Mực ống <i>L. sp. A</i> (theo Tạ Minh Đường, 1992)		+	+
39	Mực ống thân dài <i>L. (Doryteuthis) singhalensis</i> Ortmann, 1891		+	+
40	Mực lá <i>Sepioteuthis lessoniana</i> Lesson, 1830 (= <i>S. kempfi</i> Robson, 1928; <i>S. sp.</i> Robson, 1928)	+	+	+
41	Mực lá Úc <i>S. australis</i> Quay et Gaimard, 1832		+	
42	Mực lá vây hẹp <i>S. loligiformis</i> Ruppel et Leuckat, 1828 Bộ phụ Oegopida Orbigny, 1845 Họ Ommastrephidae Steenstrup, 1857		+	+
43	Mực ống vây ngang <i>Symplectoteuthis oualaniensis</i> (Lesson, 1830)			+
44	Mực ống biển sâu <i>Notodarus sloani</i> (Gray, 1849)*		+	
45	Mực ống Ha Oai <i>N. hawaiiensis</i> (Berry, 1912)*		+	
46	Mực ống đại dương <i>Ornithoteuthis volatilis</i> (Sasaki, 1915)*		+	
47	Mực ống Thái Bình Dương <i>Todarodes pacificus</i> Steenstrup, 1880* Họ Cycloteuthidae Naef, 1923		+	
48	Mực lá vây tròn <i>Cycloteuthis sirventi</i> Joubin, 1919* Họ Chiroteuthidae Gray, 1849		+	
49	Mực ống tua dài <i>Chiroteuthis sp.*</i>		+	
50	Mực ống tua dài <i>Chiroteuthoides sp.*</i> Họ Onychoteuthidae Gray, 1489		+	
51	Mực ống biển sâu <i>Moroteuthis loennbergi</i> Ishikawa et Wakiya, 1914* Họ Histiototeuthidae Verrill, 1881		+	
52	Mực ống phát quang <i>Histiototeuthis miranda</i> (Berry, 1881)* Bộ Octopoda Leach, 1818 Bộ phụ Incirrata Grimpe, 1916 Họ Octopodidae Orbigny, 1845		+	
53	Mực tuộc Ô xen <i>Octopus ocellatus</i> Gray, 1849	+	+	
54	Mực tuộc khuyên bạc <i>O. ovulum</i> (Sasaki, 1917)	+	+	
55	Mực tuộc đốm trắng <i>O. vulgaris</i> Curvier, 1797	+	+	
56	Mực tuộc 4 sọc <i>O. fasciatus</i> Hoyle, 1886	+	+	
57	Mực tuộc tua dài <i>O. variabilis</i> (Sasaki, 1929)	+	+	
58	Mực tuộc Ô sim <i>O. oshimai</i> (Sasaki, 1929)	+	+	
59	Mực tuộc đĩa <i>O. fontanianus</i> Orbigny, 1835	+	+	

Số TT	Tên loài	Vùng phân bố		
		V.1	V.2	V.3
60	Mực tuộc da sần <i>O. dofusi</i> Robson, 1928		+	+
61	Mực tuộc Hác man <i>O. harmandi</i> Rothenbrune	+	+	
62	Mực tuộc dài <i>O. tuberculatus</i> Verrill, 1834		+	
63	Mực tuộc <i>O. sp.</i>	+		
64	Mực tuộc lỗ nhỏ <i>Cistopus indicus</i> (Orbigny, 1840) Họ Argonauthidae Naef, 1912	+	+	
65	Mực tuộc có vỏ <i>Argonauta boettgeri</i> Maltzan, 1881*		+	
66	Mực tuộc có vỏ <i>A. hians</i> Solander, 1786*		+	
67	Mực tuộc tua ngắn <i>Bolitaena microcotyla</i> Steenstrup in Hoyle, 1886*	+	+	
68	Mực tuộc tua ngắn <i>Japetella diaphana</i> Hoyle, 1885 Bộ phụ Cirrata Grimpe, 1916 Họ Opisthoteuthidae Verrill, 1896		+	
69	Mực tuộc màng rộng <i>Opisthoteuthis japonica</i> Taki, 1962*		+	

Ghi chú: + Vùng phân bố: V.1 = vịnh Bắc bộ, V.2 = vùng biển miền Trung;
V.3 = vùng biển Đông, Tây nam bộ

+ Các loài có dấu * do Khromov công bố trong các năm 1987, 1988, 1996;
các loài có dấu ** do Nguyễn Phi Đình xác định tại vùng biển miền Trung và
miền Nam Việt Nam trong năm 1993.

Trong 69 loài trên, có 23 loài do Khromov công bố lần đầu tiên ở vùng biển Việt Nam (chủ yếu ở độ sâu trên 100 m), trong đó có 2 loài mới đối với khoa học.

Sơ với danh sách các loài mực ống và mực nang của chúng tôi công bố trên Tạp chí Sinh học, tháng 12 - 1993, có những thay đổi như sau:

- Loài *Sepia harmeri* Robson, 1928 đã được xem xét lại và thống nhất với quan điểm của Nesis (1828), chỉ là tên đồng vật (synonym) của loài *Sepia latimanus* Quay et Gaimard, 1832.

- Loài *Sepiella maindroni* de Rothenbrune, 1884 được xác định lại tên hợp thức là *Sepiella inermis* (Orbigny, 1848).

- Đã xem xét lại các kết quả phân tích trước đây của chúng tôi đối với 2 loài mực ống *Loligo tagoi* Sasaki, 1929 và *Loligo gotoi* Sasaki, 1929, nhận thấy cả 2 tên này chỉ là tên đồng vật của loài *Loligo*

uyll Wakiya et Ishikawa, 1921.

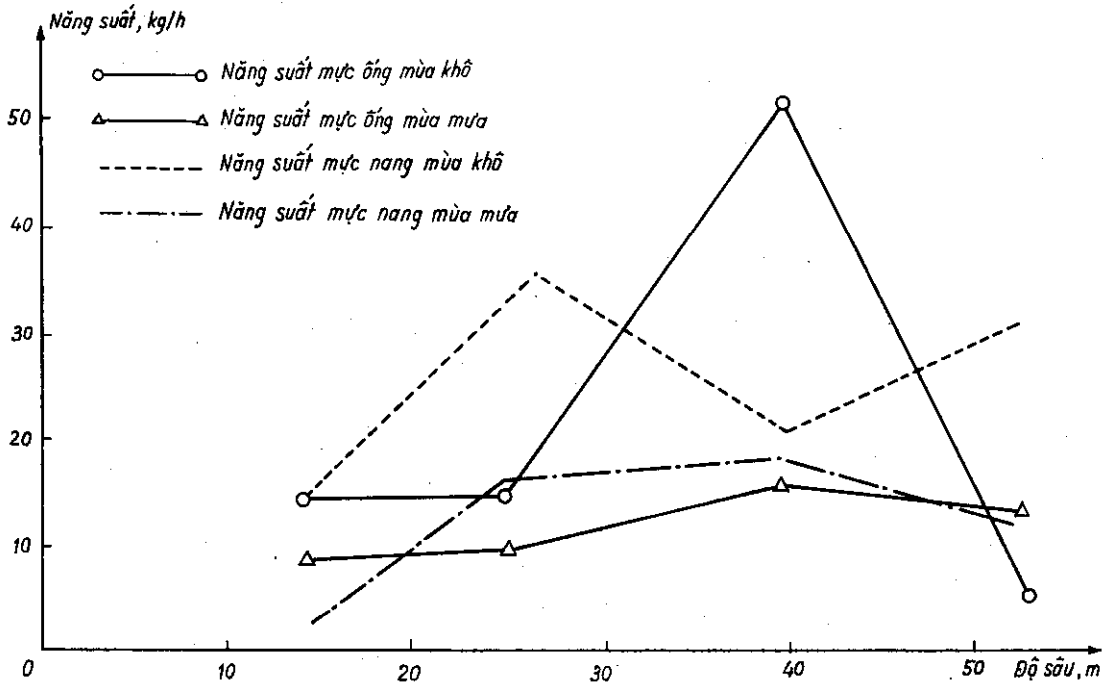
- Loài *Sepia elliptica* Hoyle, 1885 là tên đồng vật của loài *Sepia esculenta* Hoyle, 1885.

2. PHÂN BỐ THEO ĐỘ SÂU

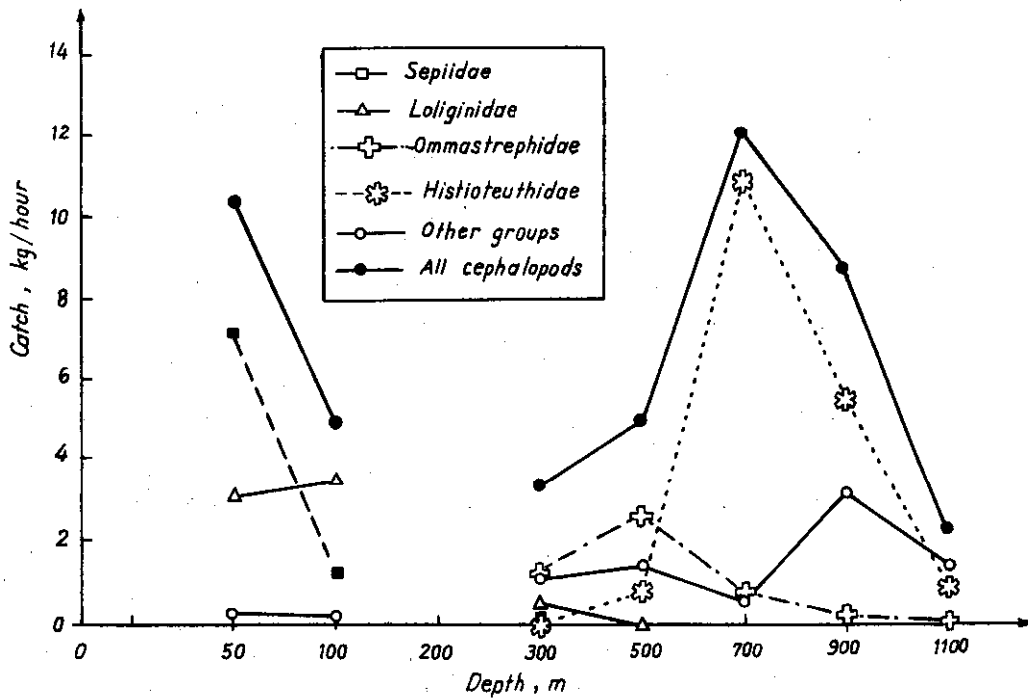
Căn cứ vào các dẫn liệu về sản lượng đánh bắt của các tàu điều tra đã được chúng tôi phân tích ở độ sâu nhỏ hơn 100 m (hình 1) và dẫn liệu của Khromov ở độ sâu từ 50 m đến 100 m và từ 300 m đến 1100 m (hình 2), có thể thấy:

Ở phạm vi độ sâu nhỏ hơn 100 m là vùng phân bố chủ yếu của các loài thuộc 2 họ mực nang *Sepiidae* và mực ống *Loliginidae*. Chúng được coi là nhóm loài biển nông (Neritic species). Ở vùng nước nông dưới 100 m, cũng gặp một số loài thuộc họ *Octopodidae* có kích thước nhỏ.

Theo Khromov [8], ở độ sâu 250 m - 300 m (không có số liệu ở độ sâu từ 120 m đến 250 m),



Hình 1: Phân bố số lượng của mực ống (*Loliginidae*) và mực nang (*Sepiidae*) theo độ sâu ở biển Việt Nam (biểu diễn qua năng suất đánh bắt (kg/h))



Hình 2: Phân bố số lượng các nhóm động vật chân đầu theo độ sâu ở biển Việt Nam (Khromov, 1996)

cũng có gặp các loài *Sepia madokai*, *S. carinata*, *S. cottoni*, *S. lorigera*, *S. vietnamica*, nhưng số lượng chung của mực ống và mực nang ở phạm vi độ sâu này là rất thấp. Số lượng của các loài thuộc các họ *Ommastrephidae*, *Onychoteuthidae*, *Cycloteuthidae* ở độ sâu này cũng rất ít. Ở độ sâu trên 350 m, hoàn toàn không gặp các loài mực ống và mực nang.

Cũng theo Khromov, ở độ sâu từ 300 m đến 500 m là vùng phân bố chủ yếu của các loài thuộc họ *Ommastrephidae*, trong đó ưu thế nhất là các loài của giống *Notodarus*. Các loài *Argonauta* cũng xuất hiện ở độ sâu này nhưng số lượng ít.

Ở độ sâu trên 500 m và dưới 700 m, có thể gặp các loài *Ornithoteuthis volatilis* và *Symplectoteuthis oualantiensis*.

Ở vùng sườn lục địa tới độ sâu 1000 m, gặp các loài *Histioteuthis miranda* và *Cycloteuthis sirventi*. Loài sau có thể phân bố tới độ sâu trên 1000 m. Các loài thuộc hai họ *Octopodidae* và *Bolitaenidae* cũng gặp ở độ sâu tới 1000 m.

Trên đây mới chỉ là những dẫn liệu ban đầu về sự phân bố của động vật chân đầu ở vùng nước sâu thuộc thềm lục địa Việt Nam. Cần thiết phải có những khảo sát đầy đủ hơn cho vùng này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nguyễn Xuân Dục, 1978: Lớp chân đầu (*Cephalopoda*) vịnh Bắc Bộ. Tuyển tập nghiên cứu biển, I (1): 73-88.
2. Nguyễn Xuân Dục, Phan Trọng Ý, 1979: Tạp chí Sinh học, I (1): 21-24.
3. Nguyễn Xuân Dục, Tạ Minh Đường, Lê Đình Thủy, 1983: Tạp chí Sinh học, 5(2): 1-3.
4. Nguyễn Xuân Dục, 1993: Tạp chí Sinh học, 15(4): 1-4.
5. Nguyễn Xuân Dục, 1994: Lớp chân đầu (*Cephalopoda*) biển Việt Nam. Luận án phó tiến sĩ sinh học, 151 trang.
6. Nguyễn Xuân Dục, 1994: Tạp chí Sinh học, 16(4): 13-15.
7. Dong Z. Z., 1991: Biology of the economic species of cephalopods in the world oceans. San Dong Science and Technology Press., Jina, China.
8. Khromov, 1996: *Ruthenica*, 5(2): 139-145.
9. Roper C. F. E., Sweeney M. J., 1984: Cephalopods of the world, FAO species catalogue FIR/S 125, 3: 1-200.
10. Robson G. C., 1928: Cephalopodes des mers de l'Indochine, Inst. ocean. Ind. 30c Note.
11. Sasaki M., 1929: Jour. Fac. Agri. Hokkaido Univ., 20: 1-135.

NEW DATA ON THE CEPHALOPOD FAUNA (*CEPHALOPODA*, *MOLLUSCA*) OF VIETNAM SEA

NGUYEN XUAN DUC

SUMMARY

On the basis of data recently published by Khromov (1996) on the species composition and biomass of Cephalopods in the Vietnam sea at the 100 m - 1300 m depth and data of other authors (the depth down to 100 m), a list of 69 species of Cephalopods belonging to 24 genera, 14 families, 3 orders is presented.

Some data on distribution of Cephalopod biomass according to depths were mentioned also in this paper.

Ngày nhận bài: 20-12-1996

CẤU TRÚC LẬP 3 NUCLEOTIT TRONG HỆ GIEN CỦA LOẠI VIRUT CÔN TRÙNG *HELCOVERPA ZEA* SINGLE NUCLEAR POLYHEDROSIS VIRUS

LÊ THANH HÒA

Viện Công nghệ sinh học

Các loại virut côn trùng (*baculovirus*) thuộc họ *Baculoviridae* đang được nghiên cứu theo hai hướng: phát triển làm thuốc trừ sâu sinh học (biopesticide) và ứng dụng làm vector dẫn truyền và biểu thị gen (cloning and expression vector system). Có trên 600 loại virut gây bệnh cho côn trùng trong đó có *Autographa californica* Multicapsid Nuclear Polyhedrosis Virus (AcMNPV), đang được nghiên cứu và ứng dụng thành công ở Hoa Kỳ và nhiều nước khác, với mục đích nói trên. Cấu trúc toàn bộ hệ gen của AcMNPV đã được công bố, trong đó có trên 150 gen đã xác định [1]. Đó là nguồn tư liệu quý giá cho việc nghiên cứu các loại virut côn trùng khác, trước hết là *Helicoverpa zea* Single Nuclear Polyhedrosis Virus (HzSNPV). HzSNPV là loại virut côn trùng có tầm quan trọng chẳng khác AcMNPV ở Ôxtrâyliá. Đó là loại virut thông dụng dùng để diệt côn trùng gây hại sâu bông thuộc họ *Lepidoptera*.

Sự ổn định của hệ gen là một tiêu chuẩn trong công tác chọn lọc, giữ giống virut côn trùng làm thuốc trừ sâu sinh học và ứng dụng làm vector. Nếu trong hệ gen có cấu trúc lặp (đặc biệt là lập 3 nucleotit), thì vùng đó có thể không an toàn, dễ bị gián đoạn, ảnh hưởng đến cấu trúc và chức năng của gen hoặc vùng kế cận [13]. Trong các chủng HzSNPV, sự biến đổi cấu trúc gen đã được phát hiện, thậm chí ngay trong các tít khác nhau của cùng một chủng. Tuy nhiên đó chỉ là những đánh giá dựa trên bản đồ gen phân lập trên agarose, sau khi cắt bằng các enzym hạn chế, như *Hind*III chẳng hạn [3].

Mục đích của chúng tôi là tìm hiểu xem trong hệ gen của chủng Elkar của HzSNPV, có những cấu trúc gen đặc biệt nào không, chú ý đến cấu trúc lập 3 nucleotit. Trong bài này, chúng tôi giới

thiệu quá trình thiết kế, phân tích vùng gen ổn định, và sự phát hiện được một cấu trúc gen đặc biệt chứa đựng trinucleotit lặp lại nhiều lần, cứ như một số mô típ đặc biệt trong sản phẩm protein của gen này.

I - PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Đối tượng là chủng Ellar của loại virut côn trùng HzSNPV do Trường đại học N Queensland cung cấp. Virut được tiếp truyền cho nhộng sâu bông (*Helicoverpa armigera*), thu hoạch khi nhộng chết, bảo quản ở -70°C , cho đến dùng [3].

ADN của hệ gen HzSNPV được tách chiết làm sạch và cắt bằng các enzym hạn chế *Eco*RI *Hind*III, rồi tái tổ hợp, sử dụng vector là plasmid pBS +/- (Stratagene) [4] làm nguồn cung cấp liệu nghiên cứu. Có hai loại plasmid vector chỉ được sử dụng để dẫn truyền và phân tích là plasmid pBS +/- và plasmid pBSIISK (Stratagene). Khi gài được 1 đoạn ADN ngoại vào plasmid, có thể phân tích trật tự gen khoảng 200 - 500 nucleotit, kể từ điểm bám của primer [5].

Chủng K12 của vi khuẩn *E. coli* (Stratagene) được sử dụng làm tế bào chủ thuần dưỡng, chuyển nạp plasmid tái tổ hợp vào, với 3 loại đã sử dụng nhiều nhất là: *XL-1 Blue*, *DH5 α* và *JM*. Các plasmid bố mẹ được cắt bằng các loại enzym hạn chế khác nhau, thành những đoạn ngắn, sau ghép-nối vào các plasmid, rồi chuyển nạp vào tế bào chủ. Kỹ thuật chuyển nạp (transformation), chọn tái tổ hợp, được thực hiện theo hướng dẫn [11].

Bằng phương pháp chọn lọc kháng sinh chọn lọc khuẩn lạc theo màu sắc (trên nguyên hoạt động của men β - *galactosidasa* với sự có

của các hóa chất IPTG và X-gal), các đoạn ADN dài ngắn khác nhau của virus được chọn ra để thực hiện qui trình phân tích gen. ADN được tách theo kỹ thuật Mini-Preps, qui trình phân tích trật tự gen là sử dụng kỹ thuật Sanger [11].

Có thể dùng máy phân tích ADN tự động (automated sequencer). Số liệu được xử lý dùng chương trình DNA Strider 1.2, MacVector 3.5, AssemblyLIGN. Đối chiếu so sánh với Ngân hàng gen thế giới (GENBANK), qua mạng Internet, bằng hệ thống ANGIS của Ôxtrâyliá (ANGIS, Sydney, <http://morgan.angis.su.oz.au>). Xử lý cấu

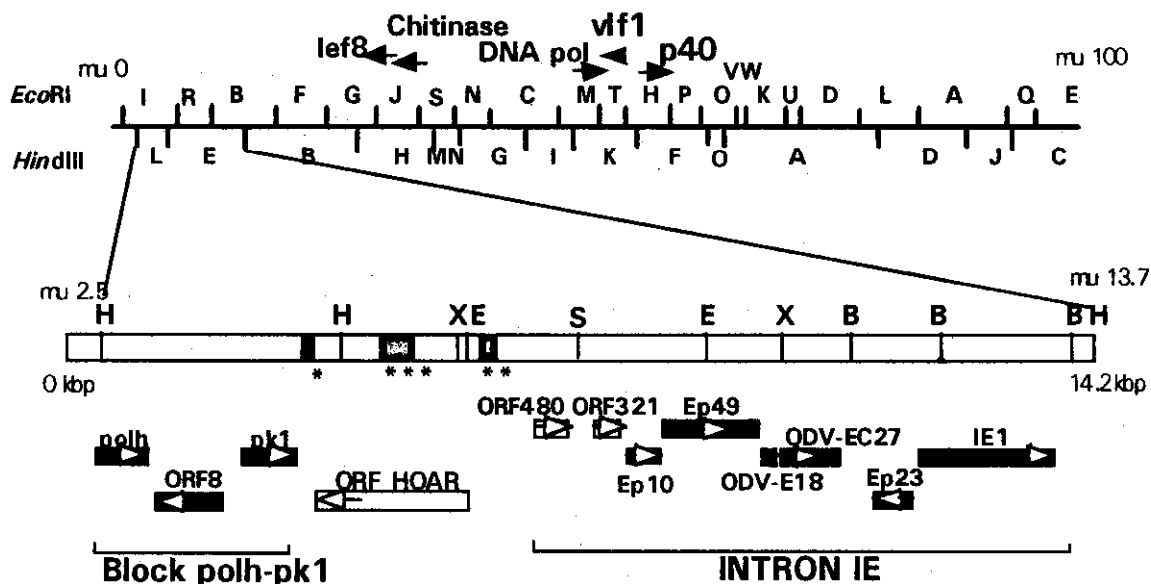
trúc gen, cấu trúc protein so sánh đối chiếu với GENBANK thông qua chương trình FASTA, và BLAST.

II - KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

A. KẾT QUẢ:

1. Phân tích và xử lý trật tự vùng gen *polh-1e1* của HzSNPV:

Chúng tôi đã phân tích xử lý toàn bộ tổng độ dài vùng gen *polh-1e1* bao gồm trên 14.000 nucleotit, nằm gọn trong phân đoạn *HindIII*-L và *HindIII*-E của bản đồ gen của HzSNPV (hình 1).



Hình 1: Toàn bộ bản đồ gen (cắt bằng *EcoRI* và *HindIII*) của chủng Elkar của HzSNPV, và phần phóng đại vùng cần nghiên cứu

Phần trên cùng: Bản đồ gen (100 đơn vị) chứa các phân đoạn, với một số gen đã được xác định như *lef8*, *chitinase*, *DNA pol*, *vif1*, *p40*.

Phần giữa: Phóng đại vùng gen *polh-1e1* đã được phân tích xong, gồm trên 14 nghìn nucleotit, nằm trong phân đoạn *EcoRI*-I, *EcoRI*-R, *HindIII*-L và *Hind*-III-E, từ đơn vị 2.5 đến 13.7. Các chữ cái biểu thị một số vị trí cắt của một số enzym hạn chế tiêu biểu. Những dấu sao: *, **, *** đánh dấu vị trí của các cấu trúc lặp tìm thấy ở sau, trước và trong một cấu trúc gen đặc biệt, được đặt tên là HOAR ORF [7].

Phần dưới cùng: Trừ cấu trúc gen HOAR ORF, các tổ hợp khác trong vùng *polh-1e1* đều được so sánh và xác định có đồng nhất với một số gen của AcMNPV, và được phân vào hai khu hệ: *Block polh-pk1* và *Intron IE*.

Ghi chú: H: *HindIII*; X: *XhoI*; E: *EcoRI*; S: *Sall*; B: *BamHI*.

Dạng cấu trúc bất thường này, mà chủ yếu có cấu thành từ adenin và thymin (A + T), được gọi tắt là cấu trúc lặp (RAT)_n, trong đó ngoài adenin và thymin ra, R có thể là guanin (G) hoặc adenin (A). Do vậy, nên hàm lượng A + T trong HOAR ORF đạt đến 80%, vượt xa hẳn giá trị trung bình về A + T của virut côn trùng nói chung [7]. Trong hệ gen, nếu một vùng giàu A + T, thì rất có thể vùng đó không an toàn, dễ bị gãy và đột biến, và tham gia vào quá trình sắp xếp lại hệ gen.

Một phát hiện mới nữa, xen giữa các cấu trúc lặp (RAT)_n, là sự lặp lại nhiều lần của GTT (mã hóa cho valin). Xem ra GTT có thể làm khung cho chứa đựng các (RAT)_n, và tạo điều kiện cho sự giãn nở của (RAT)_n trong quá trình tiến hóa [7].

3. Dây axit amin của HOAR ORF chứa một mô típ zinc-finger (RING-finger) và một vùng hoạt tính có tính axit mạnh:

Hình 3 giới thiệu toàn bộ dãy axit amin của HOAR ORF, bao gồm 712 đơn vị, là một polypeptit có phân tử lượng lớn, xấp xỉ 90 Kda

(kilodalton). Một phát hiện lý thú và quan trọng là trong cấu trúc của polypeptit này có một dây axit amin gồm 37 đơn vị, từ vị trí 236 đến 272, tạo nên một cấu trúc của protein đặc biệt, gọi là mô típ zinc-finger, đúng hơn là mô típ RING-finger [5, 2, 12]. Zinc-finger là tập hợp nhiều đại diện cấu trúc protein mới được phát hiện gần đây, có vai trò trong sự điều hòa gen [5]. Đó là sự gấp khúc tạo cấu trúc bậc 3 của chuỗi polypeptit chứa cystein và histidin, liên kết với nguyên tố kẽm (Zn). Mô típ zinc-finger tạo điểm bám cho axit nucleic, trong cơ chế tương tác giữa axit nucleic và protein trong quá trình điều hòa gen [2]. Có nhiều loại mô típ zinc-finger khác nhau. Loại được phát hiện trong HOAR ORF, có trật tự công thức: XC₂CX₁₁CX₁HX₂CX₂CX₉CX₂C, (hay là C₃HC₄), trong đó C: cystein, H: histidin, X: bất kỳ axit amin nào. Loại này được gọi là RING-finger [5, 12].

Nằm ngay sau dây mô típ RING-finger, là một chuỗi axit amin gần 200 đơn vị, mang tính axit mạnh, bởi vì dây này có thành phần chủ yếu là axit amin aspartic. Axit amin này được lặp lại nhiều lần,

```

--->HOAR polypeptide
1
MPSTNKRRVVISDSSSSSETAVSVSQLNNHKTLEISENISEQRIYVYLHLSQNKKRLGYVCKTKRFRMSG
71
VTAKCHYVYSNKLFOLDYDHVSTMSCSADLSQEFENFVTLTTKKAAMEKINYYAVQLTAYLNANLSDDNSI
141
YSATQKFINKMRYMNNKEAIVQCLNMYKTCDSASVDDNGISLNLQDIRHQLELLNEYCRPAFVNEHDRLR
211
IEIQTKTKKHADYLKQHKLDNVITKCSYCNIHSTDTLYPOCMHRMCTECSLRSIQINTCMTCKRNKTSSDR
281
NSDGDNSDNSDSEVYDEVVNVNNTNNNDNNSTNDSDDDNNSNCDDATIHNEDTAELNTNTVNDIETNN
351
DASVNNNTNVDDQNNDDDDDDVNDVDNDDDVNDVNDVNTVNSDNQITNTTNDNDTNVDANVCNTNA
421
NVNINANVDTNANVDTNANVDDDDVANSAANDNVQHTVDNDNNVNNVSQTSHDNTINSNQVNNNSKNDND
491
KNSVDDDDISNLSLPVNITNLYRTVIDNHCDNASDNVFPSSNSNNNSNMNEFALQPKQKLSKTSPEQLK
561
ASEVIVSQLNEISQIENEVRNLLEKELSSTTVLPVAMSTEELDSIDKELAKSTNVDKNGKYFEHITVKTE
631
KTSKDANTTDNNDAAPFDIAIKKELFGDDFNTECENPDYINEYHEECVPKQEPVDMSDVECLNLPLSPA
701          712
SSSMTIVTMRLK

```

Hình 3: Toàn bộ trình tự sắp xếp axit amin của protein do HOAR ORF mã hóa.

Polypeptit này gồm 712 axit amin, với một loại mô típ zinc-finger (RING-finger), định vị từ axit amin 236 đến 272 (gạch đôi bên dưới). Vùng hoạt tính có tính axit mạnh do có thành phần axit aspartic (D) và asparagin (N), trải dài trên 200 đơn vị (gạch đơn bên dưới).

chủ yếu là do cấu trúc lặp của bộ mã (RAT)n, như đã giới thiệu ở phần trước. Vùng này đồng thời cũng chứa nhiều sự lặp lại của axit amin asparagin. Do có nhiều axit amin mang tính axit, nên phần giữa polypeptit của HOAR ORF tạo nên vùng hoạt tính có tính axit mạnh (activation domain).

4. Sự bảo tồn trật tự nucleotit xung quanh HOAR ORF trong vùng polh-1e1:

Khi phân tích phần trước (phần promoter khởi động) và phần sau (phần terminator kết thúc) của HOAR ORF, chúng tôi thấy có nhiều cấu trúc đồng nhất với trật tự cấu trúc trong các vùng tương ứng của hệ gen một số virus côn trùng khác như *Orgyia pseudotsugata* Multicapsid Nuclear Polyhedrosis Virus (OpMNPV), *Bombyx mori* Nuclear Polyhedrosis Virus (BmNPV), *Autographa californica* Multicapsid Nuclear Polyhedrosis Virus (AcMNPV) [14].

Hình 4 giới thiệu các loại cấu trúc đó, trong đó có hai loại cần chú ý: đó là dãy nucleotit gồm 158 bazơ ở phần trước, có trật tự bảo tồn trong hệ gen của các loại virus côn trùng nói trên và dãy nucleotit được gọi là cấu trúc thứ cấp định vị ở phần sau của HOAR ORF. Dãy 158 bazơ chứa 2 cấu trúc lặp gồm 25 nucleotit mỗi loại, cũng như dãy nucleotit ở giữa, có cấu trúc đối xứng và được tìm thấy trong tất cả các virus côn trùng (AcMNPV, BmNPV, OpMNPV [14]. Sự đối xứng qua trục của cấu trúc lặp 25 bazơ trong các loại virus côn trùng được biểu thị bằng công thức chung: $AAYTTTTTTCANTRCAAAAAAgTi$, trong đó: Y: C hoặc T (pyrimidin), R: A hoặc G (purin), N: bất kỳ axit amin nào.

Phần sau của HOAR ORF, kề cận với gen *pk-1* (hình 1), cũng có một dãy cấu trúc lặp đặc biệt, đó là phức hợp 60 bazơ, kề liền sau đó là hai chuỗi 26 bazơ có thành phần nucleotit lặp lại gần

A. Cấu trúc lặp 158 bazơ bảo tồn trong các baculovirus (ở phần trước của HOAR ORF)

	1	25 bp repeat	<----- 44 bp ----->	80
AcMNPV		<u>AATTTTTTGC</u> <u>CAATGC</u> <u>CAAAAAAGTT</u> <u>CACTTTTGC</u> <u>CTGACACTCC</u> <u>ATATACAGTACA</u> <u>ATCTCTACA</u> <u>AAATCGTAGACTATTT</u>		
BmNPV		<u>ATTTTTTTGC</u> <u>AATACAAAAAGTT</u> <u>CGCCTATGTTT</u> <u>GACATTAATATACAGTACG</u> <u>AACTCTACA</u> <u>AAATCGTAGACTATTT</u>		
OpMNPV		<u>AACTTTTTTGC</u> <u>ACTGC</u> <u>CAAAAAAC</u> <u>CGCTTTTGC</u> <u>ACGGGCC</u> <u>CATACATAGTACA</u> <u>AACTCTACGTTT</u> <u>CTAGACTATTT</u>		
HzSNPV		<u>GAATTTTTTGC</u> <u>ACTACA</u> <u>AAAAATTC</u> <u>GTGTTAATGACGTC</u> <u>ATCAATATACAGTGG</u> <u>AAAATTT</u> <u>CGAATCGA</u> <u>ATAGACTATTT</u>		
		***** * ***** * *	**** * ** * * *	*****
	81	<----- 37 bp ----->	25 bp repeat	158
AcMNPV		<u>TATTAGAATAGTCTACACTGTACGATACGCTCCCAATATACTACTACACTATCA</u> <u>ACTTTTTTGC</u> <u>ATTACAAAAAGTT</u>		
BmNPV		<u>TATTAGAATAGTCTACACTGTACTATACGCTCTCAATATACTACTACACTATCA</u> <u>ACTTTTTTGC</u> <u>ATTACAAAAAGTT</u>		
OpMNPV		<u>TACATAAATAGTCTACACCGTTGTATACGCTCCAAATACACTACCACACATTG</u> <u>AACCTTTTTTGC</u> <u>ACTCAAAAAAGTA</u>		
HzSNPV		<u>AACCAGAATAGTCTACACTGTACGATATCGTCCCAATATACTACAAAAATAGG</u> <u>TACATTTTTTGC</u> <u>ATCAAAAAAGTG</u>		
		* ***** ** *** ** **** * ** *	** ***** * ***** **	

B. Cấu trúc thứ cấp ở phần cuối HOAR ORF

	60 bp complex dyad		
5'	ATAAAACACAGTTTTTTATCATAATATATTTAATAAAAAAATAATGTTGTTTTTTT	(Tiếp tục ở dưới)	
3'	TATTTTGTGTCAAAAATAGTATTATATATAAATTATTTTTTTTATTACACAAAAAA		
	26 bp repeat	26 bp repeat	
5'	ATTACCATTACAA TTAATTTATAAATATTACAAAAAGTT	TATTTACAATCTATTAAAC TAAATATTATGATATTATAAAGTT	
3'	TAATGGTAATGTT AATTTAATATTTTAATAATGTTTTCAA	ATAAATGTTAGATAATTTG ATTTTAAATACTATAAATATTTCAA	

Hình 4: Các dãy cấu trúc lặp khác nhau tìm thấy ở phần trước và phần sau của cấu trúc gen HOAR ORF

- A. Cấu trúc lặp 158 bazơ, định vị ở phần trước HOAR ORF, bao gồm 2 chuỗi 25 bazơ lặp lại và đối xứng, cũng như có tính chất bảo tồn trong các loại virus côn trùng khác như AcMNPV, BmNPV, và OpMNPV. Dấu sao * ở dòng cuối cùng đánh dấu các nucleotit bảo tồn trong tất cả virus côn trùng.
- B. Cấu trúc thứ cấp lặp lại tìm thấy ở phần cuối HOAR ORF, chứa 1 phức hợp 60 bazơ và 2 chuỗi 26 bazơ lặp lại gần như nguyên bản.

như nhau, nhưng có tính chất đối xứng (hình 3). Đối với AcMNPV, vùng này được chứng minh là có chứa một cấu trúc thứ cấp tương tự, có vai trò trong quá trình nhân lên của virus [1].

Như vậy, phần trước và sau của HOAR ORF đều có các cấu trúc lặp, và đều tìm thấy trong hệ gen của các loại virus côn trùng, có tính chất bảo tồn qua tiến hóa. Riêng HOAR ORF và cấu trúc lặp 3 nucleotit (triplet) ở giữa gen này, không tìm thấy ở bất kỳ sinh vật và vi sinh vật nào khác.

B. THẢO LUẬN:

Sự có mặt của các microsatellit, đó là các cấu trúc lặp số ít (2 - 4 nucleotit) trong HOAR ORF, mà ở đây là sự lặp lại nhiều lần của 3 nucleotit, lại mã hóa cho 1 loại axit amin, chứng tỏ trong quá trình tiến hóa, loại virus HzSNPV này cũng tuân thủ theo những nguyên lý biến đổi gen vốn có giống như cấu trúc của cái gọi là *Opa* trong loại côn trùng *Drosophila* đã được phát hiện trước đây. Cấu trúc lặp *Opa* mã hóa cho một loạt các axit amin glutamin, có histidin nằm xen giữa, là loại hình protein được chứng minh là có vai trò trong xúc tác sự điều hòa gen [6].

Hầu hết các protein có thành phần là các axit amin lặp lại nhiều lần, thông thường là các axit amin có tính axit mạnh, tạo nên vùng hoạt tính điều hòa gen (activation domain). Các protein này, nếu có chứa thêm các mô típ như zinc-finger, đặc biệt là RING-finger, được chứng minh là có vai trò quan trọng trong quá trình hoạt hóa và tham gia xúc tác điều hòa gen (transactivation factors) [9, 12]. Như vậy, HOAR protein rất có thể có vai trò nói trên, là mô đun khởi động và hoạt hóa cho sự biểu thị và điều hòa gen của chính virus hay/hoặc một số gen của vật chủ (côn trùng), trong sự tương tác giữa protein của ký sinh trùng (ở đây là virus) và vật chủ (ở đây là côn trùng) nói chung.

Chúng tôi cũng cho rằng, sự xuất hiện của HOAR ORF trong vùng gen *polh-1e1*, có thể là sự biến đổi cấu trúc để sắp xếp lại hệ gen (genetic rearrangement) vốn xảy ra trong quá trình tiến hóa, hoặc có thể đó là sự gài từ bên ngoài vào của một cấu trúc gen ngoại lai nào đó, có thể từ hệ gen của tế bào chủ côn trùng sau khi

đã có những đột biến nhất định [7]. Dù thế nào chăng nữa, HOAR protein, với thành phần biến đổi gồm nhiều axit amin lặp lại, có thể là phương tiện chi phối cơ chế "đóng-mở" những gen tham gia quá trình phản vệ của virus với tế bào chủ. Quá trình này có thể tạo điều kiện cho virus thích ứng với nhiều loại hình phenotyp của vật chủ. Cấu trúc gen giàu A + T, lại có nhiều bộ mã lặp lại, là điều kiện thuận lợi cho sự giãn nở của cấu trúc nucleotit, đó là sự gài thêm vào (insertion), sự xóa đi (deletion), sự đột biến (mutation) dẫn đến sự giãn nở của gen và vùng kề cận (expansion). Qua đó cho thấy, HOAR ORF là đối tượng của sự dễ dàng đột biến trong quá trình tiến hóa nói chung [7].

Luận thuyết của Moxon và cộng sự (1994) đề xuất về sự cần thiết phân biệt 2 nhóm gen: nhóm gen "giữ nhà" (house-keeping genes) và nhóm gen "đối phó" (contingency genes) trong sự thích ứng độc lực và gây bệnh của vi khuẩn, có thể là sự giải thích có liên quan đến virus nói chung. Gen "giữ nhà" ít bị biến đổi, trong khi gen "đối phó" có tần xuất đột biến nhanh trong cơ chế thích ứng của vi sinh vật với môi trường. Cấu trúc lặp 3 nucleotit (triplet) là nơi tạo điều kiện thuận lợi cho quá trình đó. HOAR ORF có thể là một gen "đối phó", trong cơ chế thích ứng của loại virus côn trùng này với môi trường [7].

Sự bảo tồn của phần khởi động gen của HOAR ORF, cũng như phần sau của gen này chứng tỏ, rất có thể trong sự tiến hóa, các virus côn trùng vẫn có cơ chế bảo vệ những vùng thiết yếu, ít nhất là đối với các loại virus côn trùng HzSNPV, AcMNPV, BmNPV, và OpMNPV [7, 14].

Phát hiện về một cấu trúc gen khác biệt (HOAR ORF), trong 1 loại virus côn trùng thông dụng làm thuốc trừ sâu sinh học như HzSNPV, cho thấy chúng ta cần hết sức chú ý kiểm tra thường xuyên các yếu tố liên quan đến độc lực, phổ tác dụng... trong quá trình sử dụng làm thuốc trừ sâu. Mặt khác, sự phát hiện về cấu trúc lặp triplet cũng khẳng định vai trò của loại hình đặc biệt này trong luận thuyết "giãn nở gen" nói chung, một hiện tượng cơ sở trong y-sinh học đang được quan tâm, chú ý hiện nay.

Lời cảm ơn:

Công trình nghiên cứu được hoàn thành ở Bộ môn Vi sinh vật - Miễn dịch học, Trường đại học Tổng hợp Melbourne, Ôxtrâyliá. Chúng tôi vô cùng cảm ơn PGS-TS David E. Tribe đã tận tình hướng dẫn và giúp đỡ trong quá trình nghiên cứu và phát hiện hiện tượng này.

Chúng tôi cũng cảm ơn Quỹ học bổng của chính phủ Ôxtrâyliá (AusAid) đã tài trợ kinh phí cho quá trình tiến hành công trình nghiên cứu này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Ayres M. D. et al., 1994: *Virology*, 202: 586-605.
2. Berg J. M. and Shi Y., 1996: *Science*, 271: 1081-1085.
3. Corsaro B. G. and Fraser M. J., 1987: *Inter-virology*, 28: 185-198.
4. Cowan P. et al., 1994: *Journal of General Virology*, 75: 3211-3218.
5. Freemont P. S., 1993: *Ann. New York Acad Sci.*, 684: 174-192.
6. Gerber H. et al., 1994: *Science*, 263: 806-811
7. Le T. H. et al., 1997: *Virus Research*, 49: 67-77.
8. Maeda S., 1995: *Current Opinion in Biotechnology*, 6: 313-319.
9. Mitchell P. J. et al., 1989: *Science* 245: 371-378.
10. Moxon E. R. et al., 1994: *Current Biology* 4: 24-33.
11. Sambrook J., Fritsch E. F., and Maniatis T. 1989: *Molecular Cloning: A Laboratory Manual* 2nd ed. Cold Springs Harbor Press, Cold Spring Harbor N. Y.
12. Saurin A. J. et al., 1996: *Trends in Biochemical Science*, 21: 208-214.
13. Richards R. I. and Sutherland G. R., 1994: *Nature Genetics*, 6: 114-116.
14. Theilmann D. A. and Stewart S., 1992: *Virology* 187(1): 84-96.

GENETICALLY VARIABLE TRIPLET REPEATS IN GENOME OF A BACULOVIRUS USED AS BIOPESTICIDE (HzSNPV)

LE THANH HOA

SUMMARY

Nucleotide sequence analysis of the *Helicoverpa zea* S-type nucleopolyhedrovirus (HzSNPV) genomic interval between the *poth* and *te1* genes has revealed an open reading frame (HOAR ORF) that contains a complex A+T rich triplet repeat region (RAT-repeats). HOAR ORF is predicted to encode an acidic aspartic acid, arginine residue rich, 712 aa protein, with a C₃HC₄ (RING-finger) zinc-binding motif. RAT-repeats, distributed over 450 bp, consist of GAT, AAT, and GTT codons, correspond to Asp, Asn and Val residues. A 158-bp conserved block, homologous to the corresponding promoter locus of AcNMPV, BmNPV, and OpNMPV was identified upstream of HOAR ORF. The subregion of the genome in which HOAR ORF is located, is susceptible to rearrangement.

Keywords: baculovirus, *Helicoverpa*, zinc-finger, RING-finger, microsatellite, activation domain.

Ngày nhận bài: 10-1-1997

TUYỂN CHỌN CÁC CHỦNG XẠ KHUẦN STREPTOMYCES CÓ HOẠT TÍNH CAO CHỐNG NẤM GÂY BỆNH THỰC VẬT

LÊ GIA HY, PHẠM KIM DUNG,
BÙI VIỆT HÀ

Viện Công nghệ sinh học

Việt Nam có khí hậu nóng ẩm, rất thuận lợi cho các loại vi sinh vật phát triển. Do vậy, việc nghiên cứu tuyển chọn các chủng vi sinh vật đối kháng có khả năng chống nấm gây bệnh thực vật để sử dụng trong công tác bảo vệ thực vật ở nước ta là cần thiết.

I - PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

– 52 mẫu thu thập từ các vùng đất khác nhau: Trà Mi (Quảng Nam), Cầu Diễn (Hà Nội), Trà Cờ (Quảng Ninh), Châu Giang (Hưng Yên), Xuyên Mộc (Bà Rịa - Vũng Tàu)..., thời gian lấy mẫu từ tháng 1 đến tháng 6 năm 1996.

– Chủng xạ khuẩn *Streptomyces hygroscopicus* 5820 của Phòng Di truyền vi sinh vật [5].

– Vi sinh vật kiểm định: *Bacillus subtilis* ATCC 6633 - vi khuẩn Gram (+), *Esherichia coli* ATCC 15224 - vi khuẩn Gram (-), *Torula utilis* BC 5-Y 2524 - nấm men, *Fusarium oxysporum* VCM 3018 - nấm gây bệnh thối cổ rễ và *Aspergillus niger* VCM 3004 - nấm sợi.

– Môi trường cơ sở lên men kháng sinh: A4, A4-H, A9, A12 [1] và Gauze 1 [3].

– Xác định số lượng xạ khuẩn có trong đất; phân lập và thuần khiết các chủng xạ khuẩn theo [2, 3].

– Xác định hoạt tính kháng sinh theo phương pháp khuếch tán trên thạch:

+ Sơ bộ: Phương pháp cục thạch (Gauze, 1957) [2].

+ Kháng sinh trong dịch nuôi cấy: Phương pháp đục lỗ [3].

+ Kháng sinh tách chiết bằng dung môi: Phương pháp khoan giấy lọc [3]. Lấy 5 ml dịch nuôi cấy lọc qua giấy lọc. Bỏ sung 5 ml butanol vào dịch lọc và hòa sinh khối vào 5 ml axeton, lắc kỹ để CKS chiết rút vào dung môi. Lấy 1 ml dung môi nhỏ vào 10 khoan giấy lọc F8. Để khô tự nhiên và xác định bằng phương pháp cục thạch.

– Phân loại xạ khuẩn theo Shirling và Gottlieb, 1996; xác định màu sắc khuẩn ty khí sinh, khuẩn ty cơ chất... theo bảng màu của Tresner và Bakus, 1963 [10].

– Tách chiết kháng sinh từ dịch lọc bằng butanol và từ sinh khối bằng axeton theo Gusterov, 1970.

– Chọn môi trường lên men thích hợp theo [5, 6].

II - KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

1. Sự phân bố và tính đối kháng của các chủng xạ khuẩn:

Số lượng và sự phân bố xạ khuẩn trong đất (52 mẫu đất lấy ở các vùng khác nhau) được trình bày ở bảng 1. Nhìn chung, số lượng xạ khuẩn trong đất ở nước ta khá phong phú ($1,5.10^4$ đến $5,6.10^8$ xạ khuẩn trong 1 g). Trên cơ sở phân tích trên, chúng tôi đã phân lập và thuần khiết được 398 chủng xạ khuẩn (1 mẫu chỉ tách 1 chủng có màu sắc khuẩn ty khí sinh giống nhau).

Tính đối kháng của các nhóm xạ khuẩn phân lập được với 5 loại vi sinh vật kiểm định tiêu biểu cho các nhóm vi sinh vật khác nhau được trình bày ở bảng 2.

Số lượng và sự phân bố xạ khuẩn trong đất của một số vùng của nước ta

Số TT	Nơi lấy mẫu	Số lượng mẫu đất	Số lượng xạ khuẩn trong 1 g đất	Số chủng đã phân lập
1	Trà Mi (Quảng Nam)	3	$3,1.10^8 - 4,5.10^8$	37
2	Cầu Diễn (Hà Nội)	9	$1,9.10^8 - 3,5.10^8$	45
3	Trà Cồ (Quảng Ninh)	14	$1,5.10^4 - 2,6.10^4$	53
4	Thành phố Vũng Tàu	3	$1,8.10^7 - 3,7.10^7$	25
5	Xuyên Mộc (Bà Rịa - Vũng Tàu)	5	$1,4.10^5 - 2,8.10^5$	53
6	Thành phố Nam Định	3	$1,5.10^8 - 5,6.10^8$	45
7	Châu Giang (Hưng Yên)	7	$1,2.10^7 - 3,7.10^7$	37
8	Tiền An (Bắc Ninh)	8	$2,3.10^7 - 4,6.10^7$	53
	Tổng cộng	52	$1,5.10^4 - 3,7.10^8$	398

Bảng

Sự phân bố và hoạt tính kháng sinh của các nhóm xạ khuẩn đã phân lập

Nhóm xạ khuẩn (theo ISP)	Các chủng ở các nhóm		Các chủng có hoạt tính KS		Tỷ lệ chủng có hoạt tính KS so với tổng số (%)
	Số lượng	%	Số lượng	%	
Trắng (W)	86	21,61	23	22,11	5,68
Xám (Gr)	161	40,45	37	35,57	9,30
Nâu (R)	32	8,04	8	7,69	2,01
Vàng (Y)	43	10,8	15	14,42	3,77
Hồng (V)	44	11,05	18	17,30	4,52
Xanh (Gn)	11	2,76	3	2,88	0,75
Xanh da trời (B)	21	5,27	0	0	0
Tổng số	398	100	104	100	26,13

Kết quả phân tích ở bảng 2 cho thấy số lượng xạ khuẩn nhiều nhất vẫn là nhóm Xám (Gr) và ít nhất vẫn là nhóm Xanh (Gn). Kết quả này giống như các kết quả nghiên cứu trước đây [4, 5]. Khả năng đối kháng của từng nhóm xạ khuẩn so với các kết quả thu được cho thấy tỷ lệ tổng số chủng có hoạt tính kháng sinh thấp hơn, chỉ có 26,13%. Tuy vậy, hoạt tính kháng sinh chống nấm và vi khuẩn Gram (-) cao hơn. Kết quả được trình bày ở bảng 3.

Trong số 38 chủng xạ khuẩn ưa nhiệt (phân lập và nuôi ở 45°C), chỉ có 5 chủng chiếm 13,2% ức chế mỗi loại vi sinh vật kiểm định đã kiểm tra phần lớn chỉ ức chế vi khuẩn. Chỉ có chủng Mx3-2 phân lập từ bề ù rác thải, có khả năng ức chế nấm *F. oxysporum*, song yếu.

Trên cơ sở các kết quả trên, cho ta nhận xét sự phân bố của các loài xạ khuẩn trong đất ở nước ta khá cao và phong phú; tính đối kháng của chúng cũng rất đa dạng và có tỷ lệ tương đối cao.

Bảng 3

Tỷ lệ kháng khuẩn của các chủng đã phân lập so với các vi sinh vật kiểm định khác nhau

Số chủng	<i>B. subtilis</i> VK G(+)	<i>E. coli</i> VK G(-)	<i>T. utilis</i> Năm men	<i>F. oxysporum</i> Năm sợi gây bệnh TV	<i>A. niger</i> Năm sợi
398	105	35	13	68	51
Tỷ lệ chủng có hoạt tính kháng sinh so với tổng số (%)	26,3	8,7	3,39	17,1	13

2. Tuyển chọn các chủng xạ khuẩn sinh kháng sinh chống nấm có hoạt tính cao:

Trên cơ sở các kết quả nghiên cứu trên, chúng tôi đã chọn được 33 chủng có hoạt tính kháng sinh mạnh để tiếp tục tuyển chọn bằng phương pháp lên men chìm dựa trên 5 loại vi sinh vật kiểm định tiêu

biểu cho từng nhóm vi sinh vật. Kết quả phân tích khả năng sinh kháng sinh của các chủng xạ khuẩn trong dịch nuôi cấy, dịch lọc và sinh khối bằng cách chiết bằng dung môi nhằm chọn chủng có hoạt tính mạnh và thuận lợi cho nghiên cứu sản xuất, được trình bày ở bảng 4.

Bảng 4

Hoạt tính kháng sinh của các chủng xạ khuẩn đã chọn khi lên men trên môi trường dịch thể

Vi sinh vật kiểm định	<i>B. subtilis</i>		<i>E. coli</i>		<i>T. utilis</i>		<i>F. oxysporum</i>		<i>A. niger</i>	
	Số lượng	%	Số lượng	%	Số lượng	%	Số lượng	%	Số lượng	%
Dịch lọc	17	51,5	10	30,3	2	6,06	13	39,4	7	21,2
Chiết butanol từ dịch lọc	11	33,3	7	21,1	1	3,03	9	27,3	2	6,06
Chiết axeton từ sinh khối	13	39,4	9	27,3	5	15,15	12	36,4	6	18,2

Từ bảng 4 cho thấy lượng kháng sinh nằm trong và ngoài sinh khối khác nhau ngay cả với cùng một chủng xạ khuẩn đối với các môi trường lên men khác nhau (hình 1). Tỷ lệ các chủng cho hoạt tính kháng sinh đối với các nhóm vi khuẩn kiểm định khác nhau nhìn chung giống nhau. Tỷ lệ các chủng có kháng sinh nằm trong sinh khối cao hơn.

Với mục đích chọn các chủng xạ khuẩn đối kháng với nấm gây bệnh thực vật, đặc biệt là nấm *Fusarium oxysporum* gây bệnh thối cổ rễ, chúng tôi đã chọn được các chủng xạ khuẩn TC 5-4, C 5, TC 3-7, BC 8-6 và BC 8-7 có hoạt tính kháng sinh chống nấm mạnh hơn so với chủng 5820 đang sản

xuất (hình 1) và tiêu biểu cho các nhóm xạ khuẩn khác nhau: Chủng TC 5-4 thuộc nhóm Xám, C 5 - nhóm Hồng, TC 3-7 nhóm Xanh, BC 8-6 - nhóm Trắng và BC - nhóm Vàng.

Trong số 5 chủng lên men trên các môi trường cơ sở lên men kháng sinh từ xạ khuẩn thì chủng TC 5-4 có nhiều ưu điểm hơn cả. Chủng TC 5-4 có hoạt tính kháng sinh chống nấm mạnh cả trong sinh khối và trong dịch lọc. Song, trong các môi trường lên men kháng sinh khác nhau sẽ cho hoạt tính kháng sinh khác nhau và kháng sinh nằm trong sinh khối và ngoài môi trường cũng khác nhau. Kết luận này được trình bày ở bảng 5, 6 và

hình 2. Với chủng TC 5-4, môi trường A4 và A12 cho hoạt tính kháng sinh cao hơn và kháng sinh nằm trong sinh khối cao hơn trong dịch lọc, ngược lại môi trường A4H cho hoạt tính kháng sinh trong dịch lọc cao hơn trong sinh khối. Chính vì vậy, chúng tôi chọn môi trường A4 làm môi trường cơ sở để lựa chọn môi trường lên men tối

ưu cho chủng này. Chủng C5 cho hoạt tính kháng sinh chống nấm mạnh cũng cần được quan tâm nghiên cứu để sản xuất kháng sinh. Chủng này cho kháng sinh chống nấm mạnh chỉ trên môi trường A4 và kháng sinh chỉ nằm trong sinh khối (bảng 5 và hình 3). Điều này sẽ rất thuận lợi cho việc tách chiết và tinh chế chất kháng sinh này.



Hình 1: Hoạt tính kháng nấm *F. oxysporum* của chủng xạ khuẩn TC 5-4 và chủng *S. hygroscopicus* 5820 (phương pháp cục thạch)



Hình 2: Hoạt tính kháng nấm của chủng xạ khuẩn TC 5-4 lên men trên các môi trường khác nhau

**Hoạt tính kháng sinh của các chủng xạ khuẩn đã chọn trên các môi trường lên men khác nhau
(vi sinh vật kiểm định: *F. oxysporum*)**

Chủng xạ khuẩn	Môi trường	pH	Sinh khối (g/lit)	Đường kính vòng vô khuẩn (d, mm)	
				Dịch lọc (chiết bằng butanol)	Sinh khối (chiết bằng axeton)
TC 5-4	A4	8,5	13,28	32	36
	A4H	8	16,70	28	12
	A9	4	9,30	18	+
	A12	5	18,84	21	35
	Gauze 1	6	7,38	23	30
C5	A4	8,5	10,62	0	35
	A4H	9	17,71	(12)	0
	A9	5	14,65	±	(11)
	A12	7	18,07	±	±
	Gauze 1	6	7,58	±	±
BC 8-6	A4	8	13,68	0	±
	A4H	8	22,00	0	15
	A9	4	5,59	(11)	0
	A12	7	24,86	0	0
	Gauze 1	7,5	13,28	0	0
TC 3-7	A4	8,5	11,37	0	0
	A4H	8,5	12,23	14	12
	A9	5,0	8,12	0	0
	A12	8,0	18,43	14	12
	Gauze 1	7,5	11,56	0	0
BC 8-7	A4	8,0	12,34	0	0
	A4H	8,5	13,47	0	0
	A9	6,5	7,89	0	0
	A12	7,5	19,45	±	0
	Gauze 1	7,0	11,34	0	0

Ghi chú: ± - ức chế không rõ ràng.

3. Điều kiện lên men và tách chiết kháng sinh của chủng TC 5-4:

Như trình bày ở bảng 4, môi trường A4 là môi trường cơ sở thích hợp cho lên men sản xuất kháng sinh đối với chủng TC 5-4. Chủng TC 5-4 phát triển

và cho hoạt tính kháng sinh cao nhất ở nhiệt độ 28°C - 38°C, thời gian tích lũy kháng sinh cao nhất ở 120 giờ - 144 giờ. Trên các môi trường lên men khác nhau, chủng này được khẳng định bằng kết quả trình bày ở bảng 6.

CKS của chủng TC 5-4 tương đối bền với nhiệt độ. Đề dịch chiết kháng sinh ở nhiệt độ 80°C, trong 60 phút, hoạt tính kháng sinh hầu như không giảm, nếu để 12 giờ, hoạt tính giảm đáng kể (dưới 40%). Hoạt tính không còn nếu đun dịch kháng sinh ở

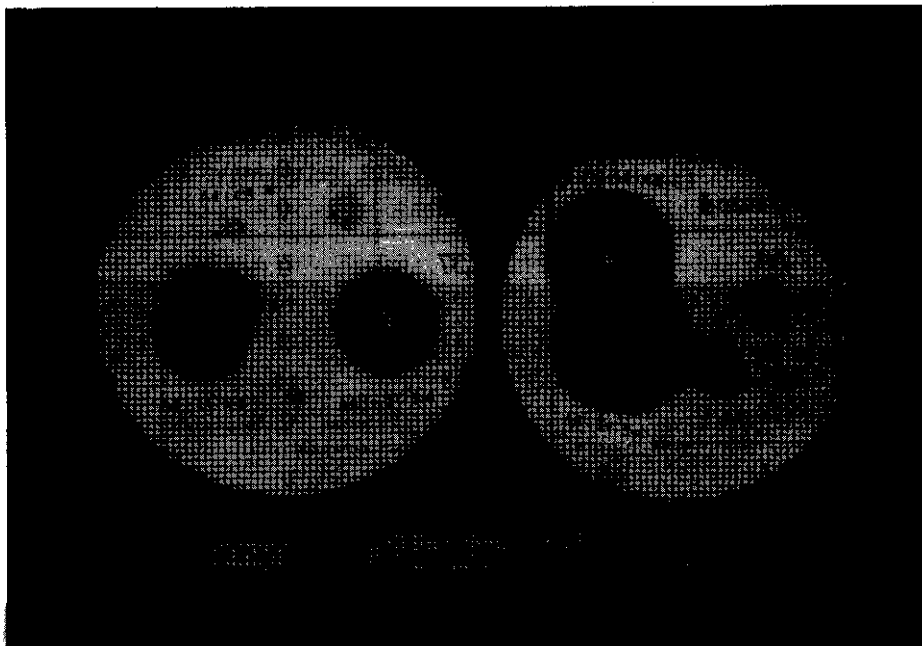
100°C sau 30 phút.

CKS này có hoạt lực mạnh nhất ở pH 6 đến 7,5; ở pH cao hơn 8, hoạt tính kháng khuẩn yếu đi. Tăng pH lên trên 10, hoạt tính kháng sinh hầu như không còn.

Bảng

**Khả năng sinh kháng sinh của chủng TC 5-4 trên các môi trường khác nhau
(vi sinh vật kiểm định: *F. oxysporum*)**

Môi trường	Nồng độ pha loãng					
	1/10	1/20	1/40	1/80	1/160	1/320
A4	32	29	25	24	20	18
A4H	25	18	+	0	0	0
A9	+	0	0	0	0	0
A12	27	24	20	12	+	0
Gauze 1	26	22	16	+	0	0



**Hình 3: Hoạt tính kháng sinh trong sinh khối và dịch lọc của các chủng xạ khuẩn TC 5-4 và C5
(lên men trên môi trường A4)**

CKS tách chiết bằng dung môi theo phương pháp đã trình bày trong [4, 5]. CKS nhận được ở dạng bột có màu vàng nhạt, dễ tan trong nước và trong các dung môi butanol, cồn, axeton,

etylaxetat và dimetylformamid. Nồng độ ức chế tối thiểu của CKS này, nếu hòa tan trong nước sẽ có hoạt tính kháng khuẩn cao hơn hòa tan trong cồn (bảng 7).

Bảng 7

Nồng độ ức chế tối thiểu của CKS TC 5-4 đối với
Fusarium oxysporum

STT	Dung môi hòa tan	MIC ($\mu\text{g/ml}$)
1	Cồn 70°	6,4
2	Nước	1,5

III - KẾT LUẬN

1. Đã đánh giá sự phân bố của các nhóm xạ khuẩn trong các mẫu đất của các khu vực sinh thái khác nhau và phân lập được 398 chủng xạ khuẩn.

2. Nghiên cứu tính đối kháng của từng nhóm xạ khuẩn và tuyển chọn được 33 chủng xạ khuẩn có hoạt tính chống nấm mạnh, trong đó chủng TC 5-4 có hoạt tính chống nấm mạnh nhất.

3. Đã lựa chọn được môi trường và điều kiện nuôi cấy thích hợp cho chủng TC 5-4, phương pháp tách chiết và xác định tính chất kháng nấm của CKS do chủng TC 5-4 sản sinh.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Betina V., 1975: Methods in Enzymology, VXLIII: 100-123.
2. Egorov N. C., 1970: Osnovni uchenia anti-biotikakh, Izd. Vursaia skola, Moskova.
3. Gusterov G., 1970: Praktikum po Mikrobiologia, Izd. Nauka i izkustvo, Sofia.
4. Trương Thanh Giản và ctv. 1995: Báo cáo tổng kết đề tài KC 08-14.
5. Lê Gia Hy và cộng sự, 1992: Tạp chí Sinh học, 14 (4) [CD]: 11-12.
6. Lê Gia Hy và cộng sự, 1995: Tạp chí Sinh học, 17 (2): 33-39.
7. Ômura S., 1986: Microbiol. Review, 50 (3): 259-279.
8. Ômura S., 1992: J. Industrial Microbiology, 10: 135-156.
9. Pablovich D. Ia, E. A Tricle, 1972: Microorganizmur - producentur biologitzekkh aktiv-nurkh vestvestv. Izd. Znanija, Riga: 101-108.
10. Shirling E. B., D. Gottlieb, 1996: Intern. J. Syst. Bacteriol., 16: 313-340.

THE SCREENING OF *STREPTOMYCES* STRAINS PRODUCING ANTIBIOTICS AGAINST PHYTOPATHOGENIC FUNGI

LE GIA HY *et al.*

SUMMARY

On the distribution of *Streptomyces* groups in 52 soil samples, collected from different areas in Vietnam, we have isolated and purified 398 *Streptomyces* strains. The antagonism of isolated strains were determined by tests: *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Esherichia coli* ATCC 15224, *Torula utilis* BCS - Y 2524, *Fusarium oxysporum* VCM 3018 and *Aspergillus niger* VCM 3004.

Strain TC 5-4, chosen from 33 anti-fungal *Streptomyces* strains, has the most activity inhibiting *F. oxysporum* causing root blight in Vietnam. The suitable fermentation media and cultivated conditions such as isolation and purification procedures of its antibiotics, were studied. MIC of antibiotic isolated from strain TC 5-4 to *F. oxysporum* VCM 3018 is 1.5 $\mu\text{g/ml}$.

Ngày nhận bài: 6-11-1996

NHÂN GIỐNG VÔ TÍNH CÂY ĐÌNH LĂNG POLYSCIAS FRUTICOSA (L.) HARMS BẰNG TẠO PHÔI SOMA

NGUYỄN NGỌC DUNG, NGUYỄN VĂN UYÊN

Viện Sinh học nhiệt đới

Đình Lăng *Polyscias fruticosa* (L.) Harms (*Araliaceae*) là cây thuốc đã được đưa vào được diền Việt Nam, có tác dụng "bổ ngũ tạng, tiêu thực, lợi sữa" [1]. Nhiều tác giả đã nghiên cứu khá sâu về tác dụng dược lý của cây đình lăng. Nhưng việc sử dụng dược liệu này chưa được rộng rãi do chưa chú ý đến các khâu trồng trọt và chế biến nó.

Để góp phần đẩy mạnh việc tạo nguồn dược liệu này có được một lượng giống lớn để trồng trong thời gian ngắn, đồng thời đảm bảo sự đồng nhất về sinh trưởng phát triển, tích lũy hoạt chất, thì chỉ có thể thực hiện được bằng con đường nuôi cấy in vitro [4].

I - PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Mẫu nuôi cấy là chồi đình hay chồi bên còn non của cây đình lăng *Polyscias fruticosa* (L.) Harms.

Môi trường căn bản để nuôi cấy là Murashige-Skoog (1962) và N. N. Dung (1984) [5] có bổ sung vitamin Morel, nước dừa 10%, saccharose 30 g/l và các hoocmon sinh trưởng.

Điều kiện nuôi cấy ở nhiệt độ $26^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$, cường độ chiếu sáng 2000 - 3000 lux, thời gian chiếu sáng 10 giờ một ngày. Tiếp đó, cây tái sinh in vitro được rút ra khỏi bình, rửa sạch hết thạch rồi cấy vào bầu đất có kích thước 8 cm x 15 cm và chứa 0,5 kg hỗn hợp đất, trấu, tro theo tỷ lệ 4 : 3 : 3.

Đất và trấu được xử lý vô trùng trước đó.

Sơ bộ thăm dò định tính hoạt chất saponin của cây đình lăng tái sinh bằng phản ứng màu Liberman-Burchard, sắc ký lớp mỏng và định lượng saponin theo phương pháp cân.

II - KẾT QUẢ VÀ NHẬN XÉT

1. Ảnh hưởng của các tổ hợp hoocmon khác nhau đến sự phát triển hình thái của cây đình lăng nuôi cấy trên môi trường sấm (N. N. Dung, 1994):

Từ kết quả thực nghiệm, rút ra:

- Với tổ hợp Kin 0.5 ppm + IAA 1 ppm các callus sơ cấp hình thành.

- Với tổ hợp Kin 0.5 ppm + IAA 1 ppm + GA₃ 0,5 ppm các callus phân hóa tạo phôi.

- Với tổ hợp BA 1 ppm + IBA 0,5 ppm, tỷ lệ tạo chồi là tốt nhất (87%).

- Với tổ hợp BA 0,1 ppm + IBA 1 ppm, tỷ lệ tạo rễ tốt nhất (75%) (bảng 1).

Bảng 1

Số TT	Tổ hợp hoocmon (ppm)	Tỷ lệ tạo chồi (%)	Tỷ lệ tạo rễ (%)
1	BA0,2	0	0
2	BA 0,2 + IAA 0,2	0	0
3	BA 0,2 + IBA 0,2	0	0
4	BA 0,2 + NAA 0,2	9	0
5	BA 0,5 + IAA 0,5	6	10
6	BA 0,5 + IBA 0,5	0	0
7	BA 0,5 + NAA 0,5	0	0
8	BA 1 + IAA 0,5	26	0
9	BA 1 + IBA 0,5	87	0
10	BA 3 + NAA 0,5	61	0
11	BA 0,1 + NAA 2	0	53
12	BA 0,1 + NAA 2	0	71
13	BA 0,1 + IBA 1	0	75

2. Sự phát triển của chồi đỉnh lã trong nuôi cấy in vitro:

Chồi được cắt các đốt riêng, cấy trên môi trường Murashige-Skoog với tổ hợp hoocmon BA 1 ppm + IBA 0,5 ppm, sau 15 - 20 ngày, chồi mới phát triển. Để phát triển rễ, chuyển chồi sang môi trường có chứa BA 0,1 ppm và IBA 1 ppm.

Chồi nuôi cấy sau 30 ngày, có 6 cặp lá, chiều dài chồi 3 - 5 cm (bảng 2).

Bảng 2

Sự phát triển của chồi đỉnh lã

Số ngày nuôi cấy	Chiều cao cây (cm)	Số cặp lá	Số đốt
0	0,1 - 0,5	2	1
10	0,5 - 1	2	1
20	1 - 3	4	2
30	3 - 5	6	3

Cây đỉnh lã lấy ra khỏi bình, được rửa sạch ươm vào bầu đất. Các bầu đặt trong khay nhựa, có phủ nylon và dùng máy phun sương để luôn đảm bảo độ ẩm, điều này đặc biệt cần thiết, nhất là trong những ngày đầu khi mới rút ra khỏi bình.

3. Sơ bộ phân tích hóa học rễ cây đỉnh lã tái sinh in-vitro:

Rễ đỉnh lã được sấy khô đến trọng lượng không đổi, độ ẩm xác định theo phương pháp sấy khô của Dược điển Việt Nam là 5%.

a. Định tính saponin:

- Phản ứng tạo bọt: Dung dịch chiết của bột đỉnh lã tái sinh in vitro pha loãng với nước cất. lắc và quan sát hiện tượng tạo bọt. Trong môi trường axit, bọt bền hơn môi trường kiềm. Từ kết quả đó, sơ bộ nhận xét bột rễ cây đỉnh lã tái sinh có chứa saponin triterpen [3].

- Phản ứng màu Liberman-Burchard: Bột đỉnh lã tái sinh đã loại tạp, chiết hồi lưu với cồn 80%. Để bay hơi cồn, cạn thu được hòa tan trong metanol nóng, thêm ete để lạnh, lọc lấy tủa, hòa tan tủa lại trong metanol để thực hiện phản ứng Liberman-Burchard có màu đỏ và chấm lên bản mỏng silicagel G, chạy với hệ dung môi butanol - axit axetic - nước, theo tỷ lệ 4 : 1 : 1. Sắc ký đồ phát hiện nhờ hơi i ốt, trên sắc ký đồ thể hiện 3 vết có R_f: 0,36, 0,44, 0,82. Dựa vào kết quả thu được, sơ bộ nhận xét rễ cây đỉnh lã tái sinh in vitro có chứa hoạt tính chất saponin.



Ảnh 1: Cây đỉnh lã *Polyscias fruticosa* (L.) Harms tái sinh in vitro bằng tạo phôi soma



Ảnh 2: Cây đinh lăng tái sinh trồng ra đất sau tám tháng

b. Định lượng saponin toàn phần tiến hành theo phương pháp cân:

Bột rễ đinh lăng cây mô được loại chất béo, rồi chiết với cồn 80%. Để bốc hơi cồn, lắc với butanol, bốc hơi butanol thêm ê te lạnh, lọc cặn thu được đem sấy đến trọng lượng không đổi, cân và tính tỷ lệ phần trăm saponin theo bột dược liệu khô. Theo kết quả định lượng, hàm lượng saponin toàn phần của bột rễ cây đinh lăng tái sinh bằng 0,32%.

III - KẾT LUẬN

Cây đinh lăng tái sinh được tạo thành bằng tạo phôi soma. Kết quả thực nghiệm với tổ hợp hooomon BA 1 ppm + IBA 0,5 ppm, cho tỷ lệ tạo chồi cao phát triển từ phôi soma, trên môi trường N. N. Dung (1994) (87%).

Để tạo cây hoàn chỉnh, cấy chồi sang môi trường có tổ hợp hooomon BA 0,1 ppm + IBA 1 ppm, cho tỷ lệ tạ rễ tốt nhất (75%).

Cây đinh lăng tái sinh hoàn chỉnh được ươm ra bầu đất, tỷ lệ cây sống đạt cao.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Dược điển Việt Nam, tập II.
2. Ngô Ứng Long và các cộng sự, 1986: Tóm tắt công trình nghiên cứu về tác dụng dược lý của đinh lăng (Báo cáo khoa học của Học viện Quân y).
3. Nguyễn Văn Đán, Nguyễn Việt Tựu, 1995 Những phương pháp nghiên cứu hóa học cây thuốc. NXB Y học.
4. Nguyễn Văn Uyên và cộng sự, 1993: Nuôi cấy mô thực vật phục vụ công tác giống và cây trồng NXB Nông nghiệp.
5. Nguyễn Ngọc Dung, 1995: Nhân giống nhân ngọc linh (*Panax vietnamensis*) bằng con đường công nghệ sinh học và kinh nghiệm trồng nhân sâm ở Khai Thành - Triều Tiên. NXB Nông nghiệp.
6. Viện Dược liệu, 1993: Tài nguyên cây thuốc Việt nam. NXB Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội.
7. Võ Xuân Minh và cộng sự, 1991: Tạp chí Dược học, số 3.

(X em tiếp trang 34)

KẾT QUẢ NUÔI CẤY TÚI PHẦN CỦA CÂY LÚA

BÙI BÁ BÌNH, NGUYỄN DUY BÀY,
TRẦN NGỌC THẠCH

Viện Lúa đồng bằng sông Cửu Long

Túi phần của lúa khi được nuôi cấy *in vitro*, sẽ cho ra các cây lúa đơn bội và các mức bội thể khác, đặc biệt là các cây lưỡng bội (đơn bội kép). Vì vậy, nếu dùng các cây F1 để nuôi cấy túi phần, thì có thể thu ngay các dòng thuần, tức rút ngắn thời gian tạo một giống lúa mới chỉ còn 2 thế hệ, thay vì 6 - 8 thế hệ như trong lai thông thường. Ngoài ra, các dòng thuần này có khả năng phối hợp được các ưu điểm của lúa lai F1 [1].

Với triển vọng của kỹ thuật nuôi cấy túi phần trong hỗ trợ công tác chọn tạo giống lúa, nghiên cứu này được thực hiện nhằm xác định hiệu quả nuôi cấy trên cây lúa lai thuộc tổ hợp *japonica* × *indica*, và sau cùng, đóng góp trực tiếp cho công tác chọn tạo giống lúa.

I - PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Túi phần của cây lúa lai của tổ hợp Norin 12/OM987-1 (*japonica* × *indica*) được dùng để nuôi cấy. Lúa được trồng trong vụ hè thu và vụ thu đông 1995 tại Viện Lúa Ô Môn. Bông lúa non trước trổ được lấy và xử lý lạnh ở 10°C trong 10 ngày. Phần ở giai đoạn đơn nhân cuối được cấy trên môi trường N6 theo các nghiệm thức khác nhau, được trình bày ở bảng 1. Vật liệu được giữ trong tối ở 25°C.

Mô sẹo được cấy chuyển sang môi trường MS được bổ sung BAP 1 mg/l + kinetin 1 mg/l + NAA 0,5 mg/l để tái sinh cây. Vật liệu được giữ trong 12 giờ chiếu sáng và ở 25°C. Cây tái sinh được chuyển sang dung dịch dinh dưỡng Yoshida [5] trong 1 tháng, trước khi được cấy vào đất.

Bảng 1

Các nghiệm thức môi trường nuôi cấy tạo mô sẹo từ túi phần của lúa (tổ hợp lai Norin 12/OM987-1)

Nghiệm thức*	Auxin (mg/l)		Cytokinin (mg/l)	
	2,4-D	NAA	BAP	Kinetin
T1	2,0	-	-	-
T2	0,5	2,0	-	0,5
T3	0,5	2,0	-	-
T4	0,5	1,0	0,5	-

* Môi trường N6 cơ bản

Các chỉ tiêu theo dõi như sau:

Tạo mô sẹo

- Số túi phần cấy.
- Ngày mô sẹo bắt đầu xuất hiện.
- Số túi phần tạo mô sẹo và tỷ lệ tính trên tổng số túi phần được cấy.

Tái sinh cây

- Số mô sẹo cấy vào môi trường tái sinh.
- Số mô sẹo cho ra cây xanh và tỷ lệ tính trên tổng số mô sẹo được cấy.
- Số trung bình cây xanh / mô sẹo.

Các số liệu trên được lấy riêng cho mỗi nghiệm thức của môi trường tạo mô sẹo.

Hiệu quả nuôi cấy

Được tính là tỷ lệ % số mô sẹo cho cây xanh / số túi phần cấy.

Cây lúa tái sinh

- Định nghĩa dòng và dòng phụ: Một dòng gồm một hoặc nhiều cây phát triển từ một túi phần. Các

cây từ một túi phần sẽ là các dòng phụ của dòng đó.

- Độ hữu thụ của hạt lúa ở các dòng phụ được ghi nhận, khi tỷ lệ hạt chắc cao hơn 70%, dòng đó được xem là hữu thụ.

Xử lý colchicin trên các dòng bất thụ

Các dòng phụ được nhân vô tính, một nửa số cây được trồng vào đất, một nửa được giữ bằng nhân vô tính định kỳ. Khi dòng trồng được quan sát là bất thụ, các cây của dòng đó giữ lại trong phòng được xử lý colchicin ở nồng độ 0,05% trong 10 giờ hoặc 0,1% trong 5 giờ. Cây cao 15 cm được ngâm trong dung dịch colchicin có thêm 2% v/v dimethylsulfoxid. Rễ được cắt khoảng 3 cm từ gốc thân. Cây xử lý sau đó được trồng vào đất.

II - KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Hiệu quả tạo ra mô sẹo từ túi phần của cây lúa lai của tổ hợp Norin 12/OM987-1 được trình bày ở bảng 2. Phối hợp chất kích thích sinh trưởng bổ sung vào môi trường N6 ảnh hưởng đến hiệu quả thành lập mô sẹo. Mô sẹo không thành lập ở nghiệm thức chỉ bổ sung 2,4-D (2 mg/l). Phối hợp 2,4-D 0,5 mg/l + NAA 2,0 mg/l và 2,4-D 0,5 mg/l + NAA 2,0 mg/l + kinetin 0,5 mg/l cho lần lượt 3,15% và 3,18% số túi phần thành lập mô sẹo. Phối hợp 2,4-D 0,5 mg/l + NAA 1,0 mg/l + BAP 0,5 mg/l cho hiệu quả thành lập mô sẹo cao nhất với 23,34%. Các nghiệm thức không cho sự khác biệt về thời gian mô sẹo xuất hiện, khoảng biến động từ 22 đến 26 ngày.

Môi trường tạo mô sẹo được thấy có ảnh hưởng đến giai đoạn sau tạo cây xanh. Mô sẹo thu

từ nghiệm thức T2 và T3 không cho ra cây xar trong môi trường tái sinh (bảng 3), trong k 13,5% mô sẹo từ môi trường T4 cho ra cây xar trong môi trường tái sinh. Trung bình mô sẹo ch cây xanh với số lượng 14 cây / mô sẹo.

Nghiên cứu trước đây của Guiderdoni và CT [3] trong nuôi cấy túi phần của 5 tổ hợp lai F1 giữa *japonica* × *indica* đạt tỷ lệ túi phần cho mô sẹo biến động từ 4,0% đến 29,6% (trung bình 18,7%) và hiệu quả nuôi cấy biến thiên từ 0,13% đến 1,97%. Ở Trung Quốc, là nước mà kỹ thuật nuôi cấy túi phần ở lúa được áp dụng khá phổ biến, hiệu quả nuôi cấy được ghi nhận là 10% đối với lúa *japonica* và 3% đối với lúa *indica* [4]. Trong nghiên cứu này ở nghiệm thức T4, tỷ lệ túi phần cho mô sẹo là 23,34% và hiệu quả nuôi cấy 3,1% (29 mô sẹo ch cây xanh / 921 túi phần) là một kết quả khá quan trọng với nuôi cấy túi phần của *japonica* × *indica*.

Hiệu quả cao của nghiệm thức T4 có thể do việc dùng 2,4-D ở nồng độ thấp có kết hợp với NAA và cytokinins, phù hợp với các báo cáo trước đây của Chen [2].

Kết quả nuôi cấy túi phần đã thu được 29 dòng phát triển từ các túi phần riêng biệt và 164 dòng phụ (bảng 4). Các dòng phụ từ một dòng (một túi phần) không luôn luôn giống nhau, thí dụ trong đó có một số dòng hữu thụ, một số dòng bất thụ. Trong 16 dòng phụ, có 48 dòng (29,27%) hữu thụ. Các dòng hữu thụ có các đặc tính hình thái giống như cây lúa bình thường, có thể là các dòng đơn bội đã được lưỡng bội hóa tự nhiên trong quá trình nuôi cấy mô (đơn bội kép).

Bảng 2

Kết quả tạo mô sẹo từ nuôi cấy túi phần của lúa

Nghiệm thức*	Số túi phần cấy	Thời gian xuất hiện mô sẹo (ngày)	Túi phần tạo mô sẹo	
			Số lượng	% túi phần cấy
T1	535	-	-	-
T2	674	22	21	3,15
T3	630	26	20	3,18
T4	921	25	214	23,34

* Môi trường N6 cơ bản

Xử lý colchicin ở các cây con (bất thụ) có thể giúp biến các cây này trở nên hữu thụ (bảng 5). Tỷ lệ số dòng phụ bất thụ trở nên hữu thụ là 26,67%

khi xử lý ở nồng độ 0,05% trong 10 giờ và 17,07% khi xử lý ở 0,1 trong 5 giờ. Phương pháp này giúp tăng số dòng hữu thụ trong nuôi cấy túi phấn.

Bảng 3

Kết quả tái sinh cây từ nuôi cấy túi phấn của lúa

Nghiệm thức (môi trường tạo mô sẹo)*	Số mô sẹo cấy	Số mô sẹo cho cây xanh		Số chồi xanh/ mô sẹo
		Số mô sẹo	% Số mô sẹo	
T1	—	—	—	—
T2	21	—	—	—
T3	20	—	—	—
T4	214	29	13,5	14

(*) Môi trường tạo mô sẹo = MS cơ bản + BAP 1 mg/l, kinetin 1 mg/l + NAA 0,5 mg/l

Bảng 4

Độ hữu thụ của hạt của cây tái sinh từ nuôi cấy túi phấn (tổ hợp lai Norin 12/OM987-1)

Số dòng	Số dòng phụ	Dòng phụ hữu thụ	
		Số lượng	% số dòng phụ
29	164	48	29,27

Bảng 5

Ảnh hưởng của xử lý trên các dòng bất thụ (lép) từ nuôi cấy túi phấn của lúa

Nghiệm thức colchicin	Số dòng bất thụ	Dòng hữu thụ thu được	
		Số dòng	Tỷ lệ (%)
0,05% trong 10 giờ	30	8	26,67
0,1% trong 5 giờ	47	7	17,07

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Ba Bong B., Swaminathan M. S., 1995: Theor. Appl. Genet. 90: 253-257.

2. Chen Ying, 1996: Anther and pollen culture of rice. In: Hu Han, Yuan Hongyuan (eds.) Haploids of higher plant in vitro, p. 3-258. China Academic Publishers, Beijing.

3. Guiderdoni E. et al., 1992: Euphytica, 62: 219-224.

4. Zhang Z., 1989. Report of the progress on rice biotechnology at SAAS in 1989. Shanghai Academy of Agricultural Sciences.

5. Yoshida S. et al., 1976: Laboratory manual for physiological studies of rice. 3rd ed, IRRI, Philippines.

RESULTS OF RICE ANTHOR CULTURE

BUI BA BONG *et al.*

SUMMARY

The experiment was to study the efficiency of anther culture applied to F1 plants of the cross Noi 12/OM987-1 (*japonica* × *indica*). Four media of basic N6 supplemented by four hormone combinations were used for callus induction. The results showed that the combination of 2,4-D 0.5 mg/l + NAA 1 mg/l + BAP 0.5 mg/l gave the highest frequency of callusing anther (23.34%). This combination subsequently led to a high anther culture response of 3.1% (29 calli forming green plants/921 anthers plated) on MS medium supplemented BAP 1 mg/l + Kinetin 1 mg/l + NAA 0.5 mg/l. The treatment colchicine (0.05% for 10 hrs) to young plants of sterile regenerated subclones helped in converting them to fertile ones at a frequency of 26.67%.

Ngày nhận bài: 20-11-1996

NHÂN GIỐNG VÔ TÍNH CÂY ĐÌNH LĂNG POLYSCIAS FRUTICOSA (L.) HARMS TẠO PHÔI SÔMA

(Tiếp theo trang 30)

REGENERATION THROUGH SOMATIC EMBRYOGENESIS IN TISSUE CULTURE OF POLYSCIAS FRUTICOSA (L.) HARMS

NGUYEN NGOC DUNG, NGUYEN VAN UYEN

SUMMARY

The regeneration through somatic embryogenesis can be used for the micropropagation of *Polyscias fruticosa* (L.) Harms.

High percentage (87%) of embryoid formation occurs in the medium N. N. Dung (1984) [5] supplemented with BA 1 ppm and IBA 0.5 ppm.

Shoots rooted in MS medium, with BA 0.1 ppm and BA 1 ppm (75%).

Ngày nhận bài: 20-1-1997

GONADOTROPIN RELEASING HORMON VÀ CÁC CHẤT KHÁNG DOPAMIN

NGUYỄN TƯỜNG ANH

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

Sau khi xác định được công thức cấu tạo của phân tử GnRH (Gonadotropin releasing hormon) của động vật có vú, còn gọi là LH/FSH releasing hormon [Harper et al., 1979] và nhất là sau khi biết rằng chất này hầu như không có tính đặc hiệu theo loài, có khả năng kích thích tuyến yên của cá in vitro tiết ra kích dục tố [Breton et al., 1972] và người ta có thể gây rụng trứng trên cá bằng LH-RH [Hirose, Ishida, 1974; Symposium..., 1975] thì những nghiên cứu xác định cấu tạo của GnRH tự nhiên ở cá và sử dụng các loại chất tổng hợp, có cấu tạo tương tự của GnRH trong việc kích thích sinh sản, đã diễn ra trong nhiều phòng thí nghiệm cũng như các cơ sở có làm sinh sản nhân tạo các loài cá. Đặc biệt ở Trung Quốc, người ta đã thử các GnRH và các chất tương tự là GnRH-a trên hầu hết các loài cá nuôi [Symposium..., 1975; Cooperative Team..., 1977; Fukien - Kiang-su..., 1977].

Tuy nhiên, những liều đơn độc GnRH và GnRH-a có khả năng kích thích rụng trứng ở các loài cá thí nghiệm đều khá cao hoặc đòi hỏi một phương pháp tiêm phức tạp, khó áp dụng [Hirose và Ishida, 1974; Symposium..., 1975].

Những nghiên cứu sau đó sâu hơn về cơ chế điều hòa sự phóng thích kích dục tố từ tuyến yên của các loại GnRH và GnRH-a, đã cho phép tìm ra cách tiếp cận thích hợp vấn đề ứng dụng các GnRH-a tổng hợp để kích thích sự chín và rụng trứng ở rất nhiều loài cá nuôi.

1. Yếu tố ức chế sự phóng thích kích dục tố (GRIF-Gonadotropin Release Inhibitory Factor):

Peter et al. (1978) cho biết, ở những cá vàng cái thành thục, sự gây chấn thương bằng dòng điện có tần số vô tuyến ở phía sát bụng của vùng

dưới đồi (ventrobasal hypothalamus), phá hủy các nhân bên hình nụ trong trong gốc tuyến yên, đã làm tăng kích dục tố (KDT), huyết thanh và gây rụng trứng. Từ đó, người ta giả định về sự tồn tại của yếu tố ức chế phóng thích KDT (GRIF) và khi phong tỏa được GRIF thì gây ra một đợt phóng thích KDT kéo dài. Sau đó, Peter và Paulencu (1980) đã lập được bản đồ những tổn thương não làm tăng mức KDT trong huyết thanh. Những vị trí của GRIF rất gần với các tế bào tiết ra GnRH [6] và cùng nằm ở gốc tuyến yên, ngay phía trên của nó.

Dẫn chứng bổ sung chứng minh sự tồn tại của GRIF là những thí nghiệm về ghép phần xa gốc tuyến yên (pars distalis - PD), nghĩa là phần tiết ra KDT. Người ta đã ghép PD của cá vàng cho những con cá vàng khác tương đương về kích thước, giới tính và mức độ thành thục, ở những vị trí rất khác nhau trong não bộ và ngoài não bộ. Được ghép ở đâu ngoài não bộ thì PD cũng phóng thích KDT một cách tự phát. Nói cách khác, khi tuyến yên đứt liên hệ với não bộ, được cấy vào đâu cũng tiết ra KDT. Điều đó nói lên rằng, trong não bộ cá vàng, có yếu tố ức chế tiết KDT - GRIF [6]. Yếu tố này không vượt qua rào cản của não bộ để vào máu và đến các mô khác được, chú ý đây là rào cản 1 chiều não - hệ tuần hoàn chứ không phải cả ngược lại. Các tác giả trên còn cho biết sự tiết KDT bị ức chế trong mọi giai đoạn thành thục nhưng não thùy của những cá ở những giai đoạn thành thục cuối tận đến khi sinh sản, thì có tiềm năng tiết KDT tự phát lớn nhất. Những cá cái đang thoái hóa có tiềm năng tiết KDT thấp nhất.

Cũng vẫn các tác giả trên cho biết, khi phá hủy vùng GRIF, thì các tế bào tuyến yên có biểu hiện

hoạt động mạnh mẽ cả về tổng hợp, cả về phóng thích chất protein. Điều giả định ở đây là GRIF không những ức chế sự tiết KDT mà còn ức chế cả sự tổng hợp ra KDT nữa.

2. Dopamin và các catecholamin khác trong điều hòa thần kinh nội tiết sự phóng thích KDT ở cá:

Sau những công trình của các tác giả khác về vai trò của các catecholamin trên động vật có vú, Crim (1981) thông báo có một số catecholamin ức chế sự tiết KDT từ tuyến yên in vitro của cá hồi mống. Riêng dopamin thì không những ức chế sự tiết tự phát KDT mà còn làm giảm phản ứng với LH-RH. Còn Chang et al. (1983) lần đầu tiên chứng minh sự tham gia của các chất này trong điều hòa thần kinh nội tiết đối với sự tiết ra KDT ở cá vàng. Trong thí nghiệm của họ, các chất 6-hydroxydopamin, reserpin, α -methyl - p-tyrosin hoặc DOPA (hai chất sau là thuốc phong tỏa sự tổng hợp L-DOPA và dopamin) đều làm tăng hàm lượng KDT trong huyết thanh. Mặt khác, diethyl-dithiocarbamat là chất ức chế sự chuyển hóa dopamin (DA) thành norepinephrin (NE - còn gọi là noradrenalin theo tiếng la tinh) thì không làm thay đổi nồng độ kích dục tố trong máu. Những điều quan sát được này gợi ý là có thể DA ức chế sự tiết KDT ở cá vàng, và điều này đã được khẳng định sau đó. Việc tiêm vào xoang bụng cá vàng DA và chất cùng chức năng là apomorphin làm giảm, còn các chất đối kháng của DA là pimozid và metoclopramid thì đã làm tăng nồng độ KDT trong huyết thanh [Chang and Peter, 1983 a b; Chang et al., 1984 b; Sokolowska et al., 1984]. DA ức chế sự tiết tự phát KDT từ tuyến yên cá vàng đã được chứng minh in vitro và in vivo [Chang et al., 1994 b]. Riêng ở cá trê phi thì DA ức chế sự tiết KDT do GnRH kích thích chứ không phải ức chế sự tiết KDT tự phát. De Leeuw et al. (1986) đã kết luận như thế qua thí nghiệm một hệ truyền dịch dùng tế bào tuyến yên. DA ngoại sinh cũng làm giảm hiệu quả gia tăng nồng độ KDT huyết thanh do việc gây thương tổn cho vùng GRIF của cá vàng [Chang and Peter, 1983 a] cũng như do tiêm GnRH-a [Chang and Peter, 1993 a; Chang et al., 1984 a]. Việc tiêm

các chất đối kháng của DA như pimozid hoặc metoclopramin tăng cường hiệu quả làm tăng KI huyết thanh bởi GnRH-a [Sokolowska et al., 1983 b; Peter et al., 1985].

Bằng phương pháp hóa tế bào miễn dịch, K et al. (1984) đã chứng minh có một nhóm tế bào thần kinh trong hốc vùng trước đồi thị (preoptic recess) tiết ra DA vào tuyến yên. Vị trí tiết và di chuyển của DA này trùng với nguồn gốc GRIF mà Peter và Paulencu (1980) đã nêu. Như vậy, DA là GRIF cá vàng.

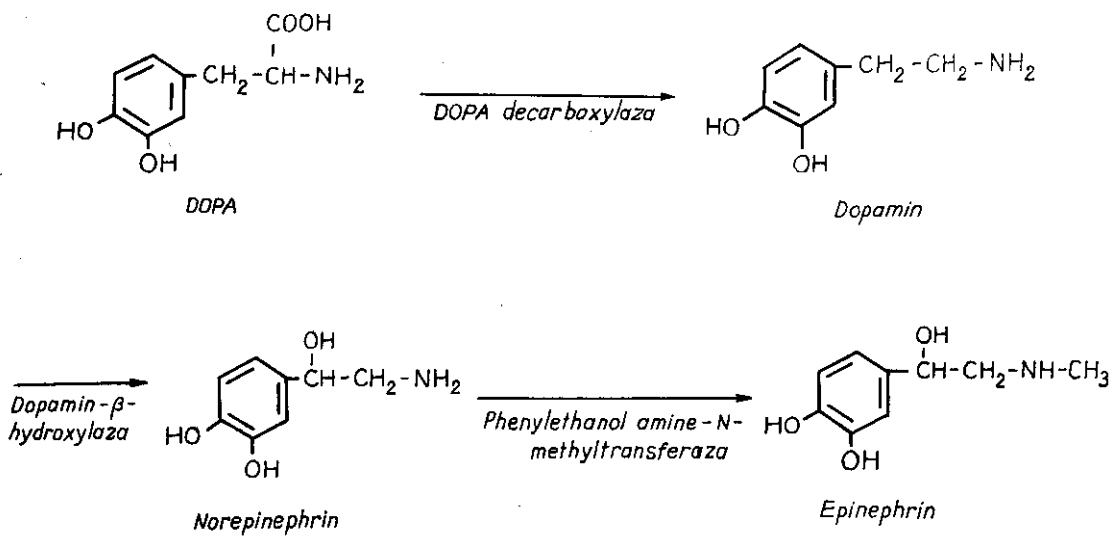
Vai trò GRIF của DA đối với các loài cá khác được chứng minh một cách gián tiếp. Các chất đối kháng của DA đã tăng cường hiệu quả gây tiết KDT của các loại GnRH-a. Đó là các chất pimozid hoặc reserpin trên cá chạch Trung Quốc [Lin et al., 1985, 1986], cá chép [Billard et al., 1984], cá vền [Lin et al., 1986], cá trê phi [De Leeuw et al., 1984], cá chình [Dufour et al., 1984], cá ép [Chang, 1983], cá hồi Salmo [Billard et al., 1985], cá hồi Onchorhynchus [Van Der Kraak, 1984].

Một điều thú vị là pimozid đơn độc có thể có tác dụng như một liều sơ bộ KDT, nghĩa là gây sự vận động của túi mắt và sự thành thực hoàn toàn của noãn bào cá Stizostedion vitreum [Pankhurst et al., 1985 qua Peter et al., 1986].

Một nhận xét được rút ra từ các công trình trên đây là vai trò và tầm quan trọng của DA như một GRIF, cũng như các chất đối kháng của nó ở những loài cá khác nhau thuộc các nhóm chủng loại phát sinh khác nhau, là rất khác nhau.

Một điều rất lý thú là norepinephrin (NE) cũng là một catecholamin như DA và rất gần với DA, nhưng có tác dụng trái với DA. DA ức chế sự tiết KDT thì NE kích thích quá trình này [6]. DA ức chế sự tiết ra GnRH in vitro từ mô trước vùng dưới đồi thị (preoptic anterior hypothalamic slice) còn NE thì có tác dụng ngược lại [Yu and Peter, 1992]. Như vậy, DA ức chế sự tiết ra KDT và GnRH còn NE thì kích thích các quá trình này.

Điều đáng được chú ý ở đây là DA chính là chất tiền thân của NE [Frieden, Lipner, 1971] (hình 1).



Hình 1: Sơ đồ các bước chuyển hóa catecholamin trong phần tủy tuyến trên thận của động vật có xương sống. Riêng enzym phenylethanolamin-N-methyltransferaza chỉ có ở động vật có vú [Fireden, Lipner, 1971]

Sự hiện diện của cả DA và NE trong não bộ của cá có thể được giải thích bằng nguồn gốc chung của phần tủy tuyến trên thượng thận và hệ thần kinh: chúng đều đã biệt hóa từ rãnh thần kinh của phôi.

Vấn đề tất yếu được đặt ra ở đây là, phải chăng sự chuyển DA thành NE chính là cơ chế then chốt cho cá từ tình trạng thành thực chuyển sang tình trạng sinh sản tự nhiên và cái then chốt ấy là enzym dopamin-β-hydroxylaza. Đáng tiếc là chưa thấy có công trình thực nghiệm nào giải đáp vấn đề này.

Cho đến nay, có thể nói có hai yếu tố kiểm soát sự tiết KDT từ tuyến yên. Đó là GnRH (một peptid) và GRIF (dopamin). Đó cũng chính là những yếu tố thần kinh nội tiết từ não bộ, kiểm soát sự chín và rụng trứng ở cá. Vai trò tương đối của hai yếu tố này thay đổi theo loài. Chẳng hạn GnRH đơn độc ở liều thấp (5 - 10 mcg/kg) và có khi (300 - 1500 mcg/kg) có thể kích thích sinh sản các loại cá mè, trắm [Symposium..., 1975, Khoa học Trung Quốc..., 1976]. Hoặc Lin et al. (1988) cho thấy GnRH-a hoặc sGnRH-a đơn độc, với những liều thích hợp, có thể đạt tỷ lệ rụng trứng là 100% ở cá chạch. Trong khi đó, pimozid hoặc domperidon, những chất đối kháng dopamin, được coi là mạnh nhất, nếu dùng đơn độc ở các liều 5 và 10 mg/kg đã không gây rụng trứng mặc dù có làm tăng KDT

huyết thanh ở cá chạch. Ngược lại, đối với cá chép thì các GnRH-a mạnh nhất, nếu dùng đơn độc cũng không gây rụng trứng. Còn domperidon ở liều 1 mg/kg và 10 mg/kg đã gây rụng trứng cho 1 trong 8 cá chép được tiêm [Lin et al., 1988].

Ấn tượng chung của các kết quả thí nghiệm về vai trò của các GnRH và các chất kháng dopamin, là đối với sự phóng thích KDT từ tuyến yên, tuy GnRH thường có ảnh hưởng lớn hơn DA, để kích thích sự chín và rụng trứng ở cá, việc sử dụng hỗn hợp hai loại hợp chất nói trên bao giờ cũng tốt hơn là sử dụng một loại đơn độc, dù ở liều nhỏ hay lớn.

3. Các loại GnRH đã biết và vấn đề sử dụng hỗn hợp GnRH-a với các hợp chất đối kháng của dopamin:

Các GnRH tự nhiên là những decapeptid (gồm 10 amino axit), còn các chất tương tự của chúng (GnRH) được tổng hợp nhờ công nghệ gen có hoạt tính sinh học cao, là những nonapeptid (9 amino axit) (bảng 1).

Trong bảng 1, có trên 5 GnRH có trong tự nhiên, nhưng tất cả chúng hầu như không có tính đặc hiệu về phản ứng miễn dịch [Sherwood et al., 1989].

Cấu tạo của các loại GnRH thường gặp

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Tài liệu
mGnRH-n	pGlu	His	Trp	Ser	Tyr	Gly	Leu	Arg	Pto	Gly-NH ₂	(1)
mGnRH-a	1	2	3	4	5	DAla	7	8	Pro-NEt	-	(1)
Buserlin	1	2	3	4	5	DSer(But)	7	8	Pro-NEt	-	(4)
sGnRH-n	1	2	3	4	5	6	Trp	Leu	9	10	(1)
sGnRH-a	1	2	3	4	5	DArg	Trp	Leu	Pro-NEt	-	(1)
lGnRH-n	1	2	Tyr	4	Leu	Glu	Trp	Lys	9	10	(2)
cGnRH I n	1	2	3	4	5	6	7	Gln	9	10	(3)
cGnRH II n	1	2	3	4	His	6	Trp	Tyr	9	10	(1)
cGnRH II a	1	2	3	4	His	DArg	Trp	Tyr	9	10	(3)

Ghi chú: m: của động vật có vú; s: của cá hồi Salmon; l: của cá mút đá; c: của gà; n: chỉ GnRH có trong tự nhiên; a: chất tương tự - tổng hợp nhân tạo; NEt: ethylamide NHC₂H₅.

Các chữ số Ả Rập chỉ các amino axit giống với các vị trí tương ứng trên GnRH của động vật có vú (mGnRH-n).

(1): Ngamvongchon et al., 1992; (2): Sherwood et al., 1986; (3): Peter et al., 1987; (4): Chang et al., 1989.

Trong một nghiên cứu gần đây [5], người ta thấy hai loài cá trê vàng và cá trê trắng có các loại GnRH giống nhau. Và như vậy, các loài GnRH này cũng giống các GnRH ở trê phi [9]. Trong đó, một loại là GnRH I, là một GnRH mới và ưa nước hơn các loại GnRH thường gặp; loại thứ 2 giống với cGnRH II của gà [5].

Cá rô phi *Tilapia sparmanii* có cGnRH I của gà [King an Millar, 1985].

Ba chất GnRH tổng hợp nhân tạo mạnh nhất là:

- 1) mGnRH-a [D-Ala des Gly¹⁰ LH-RH (1-9) enthylamid].
- 2) Buserelin [D-Ser (But)⁶ des Gly¹⁰ LH-RH (1-9) ethylamid].
- 3) sGnRH-a [(D.Arg⁶, Pro⁹ - N-ethylamide) sGnRH hoặc là (D. Arg⁶, Trp⁷, Leu⁸, Pro⁹ NEt) LH-RH (Peter et al., 1988)]. Tất cả chúng là nonapeptid, nghĩa là chỉ gồm có 9 amino axit.

mGnRH-a mạnh gấp 35 lần đến 50 lần mGnRH-n [Coy et al., 1974; Fujino et al., 1974]. Theo hiệu quả gây chín (GVBD) trên cá hồi *O. kisutch*, mGnRH-a ít nhất mạnh gấp 50 lần

LH-RH [Van Der Kraak et al., 1983].

Còn Buserelin (đúng ra đó là tên thương mại của một hãng ở Đức) trong cơ thể bị phân hủy 27 lần chậm hơn LH-RH [Clayton and Shakespear, 1978]. Riêng sGnRH-a còn mạnh hơn cả LH-RH-a trên cá vàng, trên cá chạch thì sGnRH-a đơn độc mạnh gấp 10 lần LH-RH-a [3] và một liều chỉ gồm 1 mcg/kg trong hỗn hợp với domperidon hoặc pimozid (5 mg/kg) đã gây rụng trứng rất tốt cho cá chạch [7]. Điều này thật có cơ sở về mặt tính đặc hiệu vì đại đa số các loài cá có sGnRH [8]. Trên một số loài cá nước ngọt Trung Quốc, người ta khuyến cáo dùng hỗn hợp domperidon với sGnRH-a, do có hoạt tính cao, có thể dùng ở liều thấp [7]. Ovaprim là một chế phẩm thương mại của hãng Syndel Laboratories Ltd. Canada [2, 4]. Theo các tác giả này, Ovaprim có thành phần 20 mcg sGnRH-a và 10 mg domperidon trong khoảng 1 ml propylen glycol, liều cho cá cái Torkhudree là 0,8 ml/kg. Tuy nhiên, cần làm rõ thêm chủng loại GnRH-a; Goudie et al. (1992) cho biết trong ovaprim, thay vì sGnRH-a, là mGnRH-a (D-Ala⁶, Pro⁹ Net LH-RH).

Chúng tôi cho rằng số liệu của Nandeesh et al. [4] và Kramer et al. [2] đúng vì sGnRH-a mạnh hơn mGnRH-a (LH-RH-a), hơn nữa ở Canada hiện nay có những nhà nghiên cứu hàng đầu thế giới về GnRH trên cá. Tuy nhiên, ở Trung Quốc hiện nay, hỗn hợp LH-RH-a với domperidon hoặc pimozid được dùng khá phổ biến [7]. Do có cùng biên giới với Trung Quốc, nghề nuôi cá ở miền Bắc nước ta cũng đã dùng hỗn hợp này trong vài năm trở lại đây. Một trong những nguyên nhân khả dĩ của điều này là ở Trung Quốc đã có chế phẩm thương mại LH-RH-a (D-Ala, Pro⁹ NEt) [KHTQ, 1976].

LH-RH-a từ Trung Quốc lưu hành rộng rãi ở nước ta và khá rẻ so với các chất kích thích đẻ truyền thống. Trong khi đó, chúng tôi không có thông tin về sGnRH-a của Trung Quốc.

Ở Trung Quốc, phương pháp dùng LH-RH-a hoặc sGnRH-a trong hỗn hợp với các chất đối kháng của dopamin là pimozid (PIM) hoặc domperidon (DOM), trong kích thích sinh sản cá nuôi, được gọi là phương pháp Linpe. Trong một nghiên cứu có tính tổng kết, người ta đã có một số nhận xét thiết thực. Chẳng hạn, đối với cá chép, cá vàng, cá chạch, thì DOM mạnh hơn PIM và khi dùng với LH-RH-a trên cá chép, DOM mạnh ít nhất gấp 10 lần PIM [3]. Họ cũng thấy sGnRH-a

mạnh hơn LH-RH-a trên cá chép, cá vàng, cá chạch [7]. Trong khi đó, trên cá trôi và cá trắm đen, thì reserpin là một chất kháng dopamin tốt (tài liệu vừa dẫn).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Chang J. P. et al., 1989: Gen. Comp. Endocrinol. 76: 2-11.
2. Kramer C. R. et al., 1993: J. Fish. Biol. 2(42): 185-195.
3. Lin H. R. et al., 1988: Gen. Comp. Endocrinol., 69: 31-40.
4. Nandeesh M. C. et al., 1993: J. Aqua. Trop., 8: 55-60.
5. Ngamvongchon S. et al., 1992: Gen. Comp. Endocrinol., 87: 266-274.
6. Peter R. et al., 1986: Recent Progress in hormone research, 42: 513-548.
7. Peter R. E. et al., 1988: Aquaculture, 74: 1-10.
8. Peter R. E. et al., 1987. Gen. Comp. Endocrinol., 65: 385-393.
9. Sherwood N. M. et al., 1989: Gen. Comp. Endocrinol., 75: 427-436.
10. Sherwood N. M. et al., 1986: J. Biol. Chem. 261: 4812-4819.

GONADOTROPIN RELEASE REGULATING FACTORS IN FISH

NGUYEN TUONG ANH

SUMMARY

After mammalian gonadotropin releasing hormone (mGnRH), the GnRH of salmon, lamprey and chicken have been established. Several analogous GnRH were produced as well. For fish maturation, the most active are mGnRH-a and sGnRH-a. They both consist of nine aminoacids (nonapeptides). They are more active than their natural originals.

Beside GnRH, several catecholamines play a certain role in the regulation of gonadotropin (GtH) secretion in teleosts. They are mainly gonadotropin release inhibitory factors (GRIF), among which dopamine acts directly at the level of the gonadotrophs to inhibit GnRH-stimulated GtH release in teleosts. The dopamine antagonist administration increases spontaneous secretion of GtH and the secretion stimulated by GnRH. The role of norepinephrine-one of the dopamine antagonists and dopamine derivatives at same time was discussed.

In fish oocyte maturation stimulation, the injection of the combination of GnRH and dopamine antagonist (namely the sGnRH and domperidone) is highly effective.

Ngày nhận bài: 10-9-1995

ẢNH HƯỞNG CỦA DỊCH CHIẾT TỪ VỎ CÂY MẮM (*AVICENNIA MARINA*) LÊN KHẢ NĂNG SINH SẢN CỦA CHUỘT

CAO VĂN SUNG, ĐẶNG THỊ AN,
PHẠM ĐỨC TIẾN, NGUYỄN MINH TÂM

Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật

ĐỒ KHẮC HIẾU

Viện Công nghệ sinh học

NGUYỄN CÔNG TẢO

Trung tâm Vệ sinh dịch tễ Hà Nội

Đã có nhiều thông tin đề cập đến tiềm năng sinh sản rất lớn của chuột và khả năng gây hại của chúng trong nông nghiệp và sức khỏe con người [3, 4, 8, 11, 12]. Các biện pháp phòng trừ chuột bằng cơ học, hóa học và vi sinh vật trên cơ sở nghiên cứu tập tính, phân bố không gian, nơi ở và một số đặc tính sinh thái khác của chúng đã được áp dụng [2, 3, 8, 13].

Tuy nhiên, hiệu quả diệt chuột bằng những biện pháp này bị hạn chế, số lượng chuột sau thời gian diệt phục hồi và gây hại ở mức như cũ, đôi khi phát triển thành những nạn chuột.

Bài này đề cập đến phương pháp phòng trừ chuột bằng chế phẩm vỏ cây mắm mọc tự nhiên ở vùng cửa sông ven biển, có ảnh hưởng trực tiếp đến tiềm năng sinh sản của chuột thông qua gây mất chu kỳ động dục hoặc tẩy phối, với mục đích khống chế quá trình phục hồi số lượng và khả năng gây hại của chúng. Phương pháp này được đề xuất và thực hiện trên cơ sở nghiên cứu sinh học, sinh thái và biện pháp phòng trừ một số loài chuột trong các năm 1992-1995.

I - PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Đối tượng thí nghiệm:

- Chuột nhắt trắng đồng thuần (*Mus musculus*): 72 cá thể được mua ở Viện Vệ sinh dịch tễ Hà Nội, trọng lượng mỗi con từ 24 - 28 g và đã thành thực sinh dục vào 10 - 11 tuần tuổi.

- Chuột nhà (*Rattus flavipectus*): 60 cá thể được thu thập bằng bẫy lồng ở Hà Nội, trọng lượng mỗi con từ 140 - 175 g và đã thành thực sinh dục (trên 3 tháng tuổi).

- Chuột cống (*R. norvegicus*): 42 cá thể được thu thập bằng bẫy lồng ở Hà Nội, trọng lượng mỗi con từ 165 - 200 g và thành thực sinh dục (trên 3 tháng tuổi).

Tất cả chuột đều ở trạng thái sức khỏe bình thường. Tổng số 174 cá thể chuột được chia thành các lô như sau: 6 lô chuột nhắt (2 lô đối chứng và 4 lô thí nghiệm), 3 lô chuột nhà và 3 lô chuột cống, trong đó có 1 lô đối chứng.

Chuột nhắt được nuôi theo chế độ ăn chuẩn, 7 g thức ăn tổng hợp / con / ngày. Thức ăn của chuột nhà và chuột cống là thóc nếp 40 - 70 g / con / ngày. Nước uống của chuột tự do. Sau khi chia lô, chuột được nuôi bình thường khoảng 1 tuần.

2. Phương pháp:

Dịch chiết được lấy từ vỏ cây mắm (*A. marina*) mọc phổ biến ở vùng cửa sông ven biển Hải Phòng và Quảng Ninh. Chiết xuất hoạt chất từ vỏ cây bằng cồn hoặc sắc bằng nước, sau đó khử cồn, cô đặc bằng hút chân không lấy 2,5 ml hoạt chất từ 10 g vỏ cây tươi để trộn vào thức ăn hoặc cho chuột uống. Đây là liều thích hợp cho một cá thể chuột để có hiệu quả vô sinh mà không gây ngộ độc hoặc phản ứng phụ khác [7].

Thực nghiệm được tiến hành theo hai phương

pháp: dịch chiết được trộn với thức ăn của chuột và chuột được uống dịch chiết trực tiếp.

a. Dịch chiết được trộn với thức ăn:

Lô chuẩn (3 lô): Đối với chuột nhắt, mỗi khẩu phần ăn (7 g) được tẩm 2,5 ml nước cất. Chuột nhà và chuột cống được nuôi bình thường bằng thức nếp với nước uống tự do.

Lô thí nghiệm 1 (3 lô): Mỗi khẩu phần thức ăn được tẩm 2,5 ml (chuột nhắt) và 3 ml dịch sắc vô trùng (chuột nhà và chuột cống).

Lô thí nghiệm 2 (3 lô): Mỗi khẩu phần thức ăn được tẩm 2,5 ml (chuột nhắt) và 3 ml dịch sắc vô khô (chuột nhà và chuột cống).

b. Chuột được uống dịch chiết (chỉ tiến hành với chuột nhắt):

Lô chuẩn: chuột uống 0,2 ml nước cất / con / ngày.

Lô thí nghiệm 1: chuột uống 0,2 ml dịch sắc vô trùng / con / ngày.

Lô thí nghiệm 2: chuột uống 0,2 ml dịch sắc vô khô / con / ngày.

Dịch màng nhầy âm đạo của mỗi cá thể chuột được lấy ra 1 lần / ngày (chuột nhắt) và 10 ngày / lần (chuột nhà và chuột cống) để xác định trạng thái sinh dục. Trạng thái sinh dục của chuột được chia thành 4 dạng:

P và O - trước động dục và động dục trong ừng và được gọi là trạng thái động dục.

D và M - sau động dục và yên tĩnh tương ứng và được gọi là trạng thái yên tĩnh.

Trong 8 ngày đầu (chuột nhắt) và 10 ngày đầu thí nghiệm (chuột nhà và chuột cống), chuột được nuôi theo chế độ như trên. Từ ngày thứ 9 đến 69 (chuột nhắt) và từ ngày thứ 11 đến 90 (chuột nhà và chuột cống), tất cả chuột đều được nuôi bình thường với thức ăn không tẩm dung dịch chiết. Ghép đôi được tiến hành theo tỷ lệ 3 cái / 1 đực (chuột nhắt) và 2 cái / 1 đực (chuột nhà và chuột cống).

Sau khi thí nghiệm kết thúc, tất cả các cá thể chuột đều được xác định các thông số, trọng lượng cơ thể, trạng thái buồng trứng, ống dẫn trứng, phôi và tử cung.

II - KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Các hoocmon của tuyến yên được sản sinh ra, kích thích quá trình rụng trứng ở chuột. Khi rụng trứng, nang chứa trứng phát triển thành thể vàng. Thể vàng liên tục sản sinh ra hoocmon progesteron để duy trì tử cung phát triển trong thời gian đầu mang phôi của chuột. Trong thời gian này, nếu thể vàng bị tiêu hủy thì tử cung suy thoái và phôi thai [1, 5, 6, 9]. Hợp chất steroid ức chế rụng trứng và làm biến đổi không bình thường màng tử cung, ống dẫn trứng và âm đạo, dẫn đến tế bào trứng không làm tổ ở thành tử cung. Steroid có khả năng liên kết với chất tiếp nhận vận chuyển progesteron của tế bào tử cung không thể phù hợp cho việc đón nhận và nuôi dưỡng phôi [1, 10].

Hợp chất steroid được xác định với hàm lượng cao trong dịch chiết từ vỏ cây mấm (*A. marina*) và tồn tại dưới dạng saponin (bảng 1).

Bảng 1

Hàm lượng saponin trong các môi trường chiết khác nhau

Môi trường chiết	Hàm lượng (%)
Nước cất	6,70
Cồn 70°	7,37
N-butanol:	
Sau nước cất	2,80
Sau cồn 70°	3,45

Dẫn liệu ở bảng 1 chỉ ra rằng hàm lượng saponin của vỏ cây mấm được tách chiết trong môi trường cồn 70° cao hơn trong môi trường nước cất và hàm lượng chất này được chiết trong N-butanol cồn chiết cũng cao hơn từ dịch nước cất chiết. Dẫn liệu cũng cho thấy saponin có thể tách chiết dễ dàng trong môi trường nước và có giá thành hạ hơn. Bởi vậy, dịch chiết trong môi trường nước được sử dụng trong quá trình thí nghiệm trên cơ thể chuột nhắt, chuột nhà và chuột cống.

Dẫn liệu ở bảng 2 xác định ảnh hưởng của dịch chiết lên sự hoạt động sinh sản của 3 loài chuột. Tất cả các cá thể chuột đều có thời gian ở trạng thái yên tĩnh kéo dài hơn so với chuột không được dùng

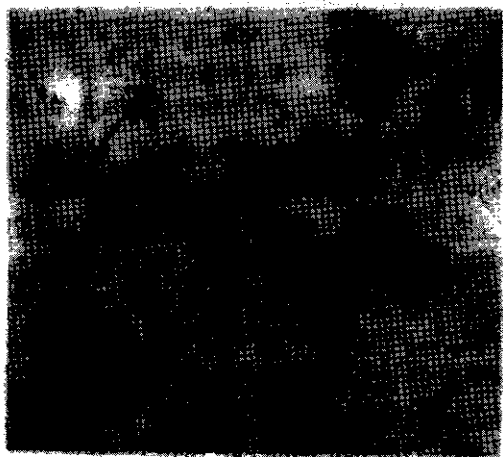
dịch chiết. Trạng thái động dục ở tất cả chuột đều không ở thời kỳ sẵn sàng mang phôi. Rõ ràng, sự rối loạn giữa các giai đoạn trong thời gian hoạt động sinh dục của 3 loài chuột, có liên quan đến hợp chất saponin có trong dịch chiết vỏ cây mấm. Saponin có thể ức chế quá trình sản sinh ra hormone kích thích sự rụng trứng ở chuột. Dưới ảnh hưởng của saponin, thực nghiệm cũng chỉ ra sự thay đổi trạng thái sinh dục ở 2 loài chuột nhà và

chuột cống. Tuy nhiên, sự thay đổi này phụ thuộc vào mỗi loài, có thể liên quan đến đặc điểm sinh học của chúng. Chuột nhà và chuột cống có thể duy trì trạng thái trước động dục (P) vào lần xét nghiệm thứ 4 (40 ngày) với 30% và 17% cá thể ở trạng thái trước động dục tương ứng, sau khi sử dụng dịch chiết. Trạng thái tế bào màng nhầy âm đạo của 2 loài chuột nhà và chuột cống sau khi sử dụng saponin được trình bày ở hình 1.

Bảng 2

Hoạt động sinh dục của 3 loài chuột

Loại dịch chiết (trộn với thức ăn)	Chuột nhắt		Chuột nhà		Chuột cống	
	n	Trạng thái	n	Trạng thái	n	Trạng thái
Dịch sắc tươi:						
2,5 ml	6	D, M	—	—	—	—
3,0 ml	—	—	21	P, M	30	P, M
Dịch sắc khô:						
2,5 ml	6	D, M	—	—	—	—
3,0 ml	—	—	21	P, M	30	P, M



Chuột nhà



Chuột cống

Hình 1. Tế bào âm đạo ở trạng thái M dưới ảnh hưởng của saponin

Sự thay đổi không bình thường của tử cung cũng được xác định ở các cá thể chuột có sử dụng dịch chiết. Dẫn liệu cho thấy 81% số cá thể chuột nhà và 65% chuột cống có biểu hiện tử cung phát

triển lệch. 26% số cá thể chuột nhà và 16% chuột cống xuất hiện khối u hoặc biến đổi không bình thường của màng thành tử cung. Như vậy, saponin cũng có thể liên quan đến sự phát triển không bình

thường của tử cung và tây phôi ở chuột.

Đối với chuột nhắt uống dịch chiết trực tiếp với liều lượng khác nhau, đã gây ra phản ứng ở chuột. Với liều lượng 0,3 ml/ngày, chuột có biểu hiện ngộ độc cấp tính như co giật và thở gấp. Chuột chết nhanh sau khi uống. Với liều lượng thấp hơn, 0,2 ml/ngày, dẫn liệu cũng chỉ ra ảnh hưởng của saponin lên trạng thái hoạt động sinh dục của chuột. 60 ngày sau khi uống, tất cả chuột đều không mang phôi. Tuy nhiên, với hàm lượng này, trọng lượng cơ thể chuột giảm và trạng thái sức khỏe yếu rõ rệt. Chuột chết xuất hiện vào ngày thứ 41 và 60 đối với dịch chiết từ vỏ cây tươi; vào ngày thứ 6 và 100% số cá thể chuột chết vào ngày thứ 23 đối với dịch chiết sắc khô, có thể liên quan đến hàm lượng saponin và một số chất khác trong dịch chiết từ dạng này.

Những kết quả nghiên cứu trên đã chỉ ra hiệu quả của saponin trong dịch chiết từ vỏ cây mắm, liên quan đến khả năng hạn chế mật độ chuột, giảm tác hại của chúng trong nông nghiệp và sức khỏe cộng đồng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Baulieu E. E., 1989: Ru486 as anti-progesterone steroid from receptor to contra-gestation and beyond. Special Communic Jama, Vol. 262, 1808-1814.
2. Cao Văn Sung, 1973: Kinh nghiệm diệt chuột trong kho. Khoa học thường thức, 4.
3. Cao Văn Sung và cộng sự, 1980: Những loài gặm nhấm ở Việt Nam, NXB Khoa học Kỹ thuật, Hà Nội.
4. Đào Văn Tiến và Grokhovskaia I., 1963: Tạp chí Sinh vật địa học, II (2): 40-43.
5. Đỗ Khắc Hiếu, 1994: Thuốc ngăn có thai theo cơ chế tác dụng mới. Kỷ yếu Annual report. 201-206 NXB Khoa học Kỹ thuật, Hà Nội.
6. James H. C. et al., 1988: Recent progress in hormone research, 44: 377-429.
7. Lê Văn Ty và cộng sự, 1995: Sinh thái và phòng chống gặm nhấm ở Việt Nam (II). Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật, Hà Nội.
8. Lê Vũ Khôi và cộng sự, 1979: Chuột và biện pháp phòng trừ. NXB Nông thôn, Hà Nội.
9. Lincol D. W., 1992: Reproduction and Fertility, 45: 175-192.
10. Mondgil U. K., 1985: Molecular mechanism of steroid hormon action. Receptors-Estrogen-Gestagen, 437-505. Walter de Gruyter, Berlin.
11. Nguyễn Minh Tâm và Cao Văn Sung, 1994: Tạp chí Sinh học, 16 (3): 13-17
12. Nguyễn Minh Tâm và Cao Văn Sung, 1995: Tuyển tập các công trình nghiên cứu sinh thái và tài nguyên sinh vật, 495-500. NXB Khoa học Kỹ thuật, Hà Nội.
13. Nguyễn Anh Dũng và cộng sự, 1995: Sinh thái và phòng chống gặm nhấm ở Việt Nam (II). Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật, Hà Nội.

EFFECTS OF EXTRACT FROM *AVICENNIA MARINA* BARK ON RODENT REPRODUCTIVITY

CAO VAN SUNG *et al.*

SUMMARY

The study was carried out in the laboratory with the total of 174 individuals belonging to the white mouse (*Mus musculus*), the yellow-breasted rat (*Rattus flavipectus*) and the norway (*R. norvegicus*). The data pointed out that the studying individuals had the rest period in their reproductive action more than in comparison with the individuals without the extract used. It also indicated that the extract had deleterious effects on the development of uterus, pregnancies and the change of membrane of uterus.

Ngày nhận bài: 10-11-1996

MỘT SỐ ĐẶC ĐIỂM SINH LÝ, SINH HÓA CỦA *SPIRULINA PLATENSIS* TRONG ĐIỀU KIỆN CHỊU MẶN NaCl

DƯƠNG TRỌNG HIỀN, ĐẶNG HOÀNG PHƯỚC HIỀN,
ĐẶNG ĐÌNH KIM

Viện Công nghệ sinh học

Nhiều loài tảo lam (*Cyanobacteria*) phân bố rộng rãi ngoài tự nhiên có khả năng thích nghi với những biến động khá lớn về hàm lượng muối nhờ những yếu tố như cấu trúc tế bào tiền nhân của chúng, khả năng cố định CO₂ bằng quang hợp và khả năng hấp thụ nước nhanh trong điều kiện sẵn nước và mất nước chậm khi bị khô hạn [11].

Cơ chế chống chịu mặn trong cơ thể tảo lam còn ít được nghiên cứu. Tuy vậy, nhiều tác giả đã thiết kế có sự tồn tại hai cơ chế chính sau đây:

1. Tảo lam tích lũy các chất hữu cơ điều hòa thẩm thấu như các axit hữu cơ, các hợp chất nitơ 4 carbon, nhưng chủ yếu là đường có phân tử lượng thấp như sucrose, glucosyl-glycerol, trehalose, glycerol, manitol v. v... [14]. Các chất này hoạt động như những chất thay thế cho nước để duy trì môi trường hydrat của các biopolymer và do đó duy trì được các hoạt động trao đổi chất mà không phải là khôi phục lại áp suất tiềm năng bên trong [10].

2. Cơ chế bơm Na⁺/H⁺, trong đó việc đẩy Na⁺ ra ngoài màng tế bào xảy ra song song với chuyển động theo hướng ngược lại của các proton. Cơ chế này là một quá trình đòi hỏi năng lượng [3, 8].

Tảo lam *Spirulina* là đối tượng đã và đang được nghiên cứu và sản xuất đại trà do những đặc tính ưu việt của chúng so với các loài tảo khác. Nhiều nghiên cứu về sinh lý, sinh hóa của *Spirulina platensis* trong quá trình chịu mặn đã được tiến hành [4, 5, 7, 13]. Trong bài này, chúng tôi trình bày những nghiên cứu bổ sung về ngưỡng chịu mặn, hàm lượng protein, thành phần sắc tố và thành phần axit béo của *Spirulina platensis* nuôi trồng trong các nồng độ NaCl khác nhau.

I - PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Đối tượng nghiên cứu là tảo lam đa bào *Spirulina platensis* Gom (Geitl.) được nhập nội từ 1972 và được giữ giống tại Phòng Công nghệ tảo, Viện Công nghệ sinh học.

Tảo được nuôi trong bình tam giác chứa môi trường Zarrouk với hàm lượng NaCl khác nhau (0,1 - 0,2 - 0,4 - 0,8 và 1 M) dưới ánh sáng đèn thủy ngân có cường độ 100 $\mu\text{E}/\text{m}^2.\text{s}$ với chế độ sáng tối là 12/12 ở nhiệt độ trong phòng (25 - 30°C). Trong tất cả các thí nghiệm, môi trường Zarrouk chứa 0,02 M NaCl được coi là môi trường đối chứng, môi trường được khuấy sục bằng không khí thường. Mật độ quang học của mẫu được xác định trên máy quang phổ Novaspec II (Pharmacia biotech) ở bước sóng 430 nm. Mật độ quang học ban đầu của tảo là 0,46 OD. Trong quá trình thí nghiệm, lượng nước bốc hơi trên bình được bổ sung bằng nước cất.

Hàm lượng sắc tố của tảo xác định bằng phương pháp quang phổ trên máy quang phổ tử ngoại khả kiến.

Hàm lượng protein tổng số xác định bằng phương pháp Kjeldal.

Thành phần axit béo xác định bằng phương pháp sắc ký khí trên máy Girdel Chromatographie serie 300 với axit chuẩn C₁₇. Trong tất cả các thao tác phân tích, mẫu tảo được rửa bằng nước cất rồi nghiền siêu âm để phá tế bào trong vòng 1 phút 30 giây.

II - KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Các kết quả nghiên cứu tìm ngưỡng chịu mặn của

Sinh trưởng của tảo *Spirulina platensis* ở các nồng độ NaCl khác nhau tính theo mật độ quang học OD

Số TT	Công thức thí nghiệm	Thời gian thí nghiệm (ngày)								
		0	1	2	3	4	5	7	8	10
1	Đối chứng (Zarrouk)	0,46	0,53	0,65	0,76	1,02	1,21	1,36	1,47	1,77
2	0,1 M NaCl	0,46	0,53	0,66	0,81	1,03	1,26	1,49	1,52	1,88
3	0,2 M NaCl	0,46	0,53	0,58	0,74	1,01	1,15	1,36	1,45	1,75
4	0,4 M NaCl	0,46	0,52	0,56	0,67	0,88	1,02	1,16	1,28	1,52
5	0,8 M NaCl	0,46	0,47	0,50	0,57	0,85	1,00	1,13	1,22	1,40
6	1,0 M NaCl	0,46	0,45	0,42	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,41

Trong điều kiện phòng thí nghiệm, các tế bào *Spirulina platensis* có thể thích nghi và phát triển khi nồng độ muối trong môi trường đạt tới 0,8 M NaCl (tương đương 47 g/l). Ở nồng độ muối cao hơn (1 M NaCl), tảo bị vàng dần và chết. Tuy nhiên, cần nhận thấy rằng khả năng sống sót của *Spirulina* ở nồng độ muối cao còn phụ thuộc khá lớn vào những yếu tố ngoại cảnh khác. Ở nhiệt độ tương đối thấp (20°C) và ánh sáng yếu (3000 lux), khả năng sống sót và thích nghi của *Spirulina* lớn hơn. Nhiều tác giả khác cũng nhận thấy cường độ ánh sáng, thời gian chiếu sáng, nhiệt độ sinh

trưởng và cả tuổi của vi tảo có ảnh hưởng lớn đến khả năng chịu muối của các cơ thể này [6]. Các vi tảo khác nhau có khả năng thích nghi với những nồng độ muối khác nhau. Chẳng hạn, ở nồng độ 0,4 M NaCl, sinh trưởng của *Nostoc muscorum* đã hoàn toàn bị ức chế và các tế bào mất khả năng thích nghi [2], trong khi nhiều loài *Dunaliella* có thể sống sót ở 4 M NaCl [6].

Các kết quả thí nghiệm theo dõi hàm lượng sắc tố quang hợp của *Spirulina platensis* sinh trưởng trong môi trường có nồng độ muối khác nhau được trình bày ở bảng 2.

Bảng 2

Ảnh hưởng của NaCl lên hàm lượng sắc tố (mg/g TLK) của *Spirulina platensis* sau 8 ngày nuôi trồng

Số TT	Công thức	Phycocyanin	Chlorophyll a	Carotenoid
1	Đối chứng (Zarrouk)	96,25 ± 0,63	14,21 ± 0,17	4,72 ± 0,01
2	0,1 M NaCl	103,38 ± 0,49	13,87 ± 0,03	4,70 ± 0,01
3	0,2 M NaCl	104,39 ± 0,46	14,44 ± 0,01	4,80 ± 0,02
4	0,4 M NaCl	85,19 ± 0,44	13,87 ± 0,03	4,77 ± 0,04
5	0,8 M NaCl	86,12 ± 1,55	14,77 ± 0,08	4,85 ± 0,11
6	1,0 M NaCl	66,55 ± 0,81	11,15 ± 0,07	4,20 ± 0,34

Ảnh hưởng của NaCl lên hàm lượng protein tổng số của *Spirulina platensis* sau 8 ngày nuôi trồng

Số TT	Công thức thí nghiệm	Hàm lượng protein tổng số (% TLK)
1	Môi trường Zarrouk (ĐC)	71,51 ± 0,61
2	Môi trường chứa 0,1 M NaCl	72,26 ± 0,36
3	Môi trường chứa 0,2 M NaCl	70,64 ± 0,36
4	Môi trường chứa 0,4 M NaCl	70,20 ± 0,20
5	Môi trường chứa 0,8 M NaCl	68,24 ± 0,25
6	Môi trường chứa 1,0 M NaCl	67,24 ± 0,25

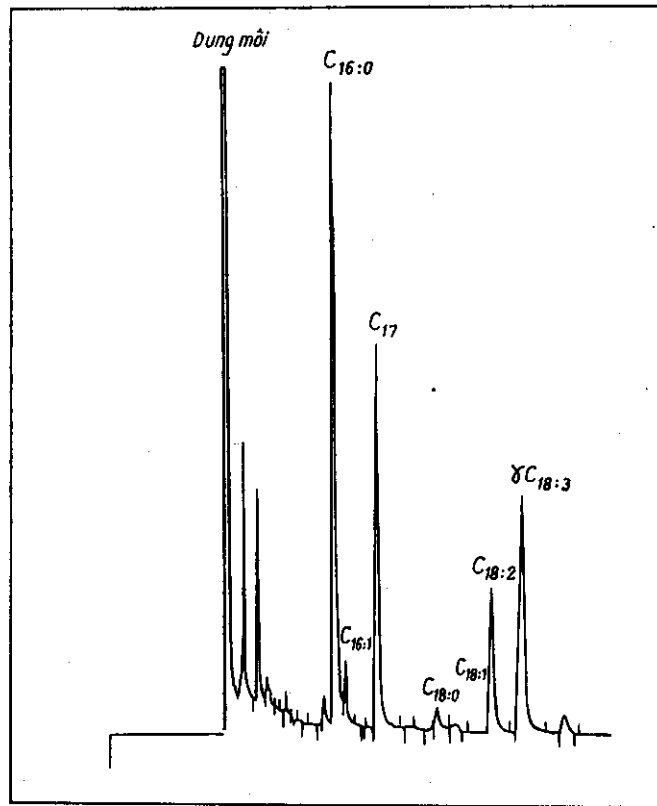
Các số liệu của bảng 2 cho thấy hàm lượng chlorophyll a và carotenoit của tế bào có xu hướng tăng chút ít theo chiều tăng nồng độ muối trong môi trường sau 8 ngày nuôi cấy, trong khi hàm lượng phycocyanin - sắc tố lam có bản chất protein, lại có xu hướng giảm đi ở những nồng độ muối cao.

Hàm lượng protein tổng số sau 8 ngày thí nghiệm được trình bày ở bảng 3. Các số liệu cho thấy hàm lượng protein tổng số của tế bào *Spirulina platensis* trong quá trình chịu mặn cũng bị giảm đi. Điều đó chứng tỏ NaCl, với các nồng độ khác nhau, có ảnh hưởng đến trao đổi protein ở tảo này.

Trên cơ sở xác định được ngưỡng NaCl đối với sinh trưởng của tảo, các thí nghiệm tiếp theo được bố trí ở những nồng độ muối tương đương nguồn nước lợ (20 g/l) và nước biển (35 g/l) nhằm đóng góp một phần lí luận vào việc khai thác và ứng dụng những nguồn nước này để nuôi trồng đại trà *Spirulina*.

Như đã thông báo trước đây [4], cường độ quang hợp của tế bào *Spirulina platensis* nuôi trồng trong các môi trường có nồng độ tương đương nồng độ muối của nước lợ và nước biển không tăng trong 2 ngày đầu mà chỉ tăng trong những ngày tiếp theo. Vonshak [13] trong thí nghiệm tương tự với *Spirulina platensis*, đã nhận thấy nồng độ muối càng cao thì pha tiềm sinh của tảo càng dài. Theo tác giả, nguyên nhân làm ức chế quang hợp và hô hấp của tảo trong giai đoạn này là do Na^+ trong tế bào tăng nhanh, do tăng nhanh và tăng tạm thời tính thấm của màng và có thể do phycobillisom bị tách khỏi thylacoit.

Kết quả nghiên cứu thành phần axit béo của *Spirulina platensis* ở các nồng độ muối khác nhau trình bày ở hình 1 và bảng 4. Sắc ký đồ các axit béo của *Spirulina platensis* (hình 1) cho thấy có mặt



Hình 1. Sắc ký đồ của axit béo trong sinh khối của tảo *Spirulina platensis*

$C_{16:0}$, $C_{16:1}$, $C_{18:0}$, $C_{18:1}$, $C_{18:2}$, $\gamma C_{18:3}$... Có thể nhận thấy $C_{16:0}$ chiếm tỷ lệ luôn luôn cao trong mọi công thức (40 - 50% tổng lượng axit béo). Điều này phù hợp với các nghiên cứu trước đây [9, 15].

Hàm lượng axit béo (% tổng lượng axit béo) của *Spirulina platensis* nuôi trong các nồng độ NaCl khác nhau

Thời gian thí nghiệm	Axit béo	Nồng độ NaCl (g/l) trong môi trường		
		1 (ĐC)	20	35
2 giờ	C _{16:0}	47,7%	40,2%	44,9%
	C _{16:1}	3,7	8,2	3,3
	C _{16:2}	6,4	5,6	5,7
	C _{18:0}	1,1	1,8	1,7
	C _{18:1}	1,8	5,6	6,4
	C _{18:2}	15,3	14,7	14,8
	γ-C _{18:3}	23,9	23,8	23,3
2 ngày	C _{16:0}	40,5%	42,8%	40,8%
	C _{16:1}	3,1	2,8	1,4
	C _{16:2}	4,7	4,1	3,9
	C _{18:0}	1,2	3,5	1,2
	C _{18:1}	11,7	10,3	15,0
	C _{18:2}	15,6	15,6	14,0
	γ-C _{18:3}	23,3	21,0	20,7
6 ngày	C _{16:0}	45,5%	44,2%	44,8%
	C _{16:1}	3,8	3,4	3,7
	C _{16:2}	4,4	4,8	4,2
	C _{18:0}	0,1	0,1	0,1
	C _{18:1}	8,2	11,1	13,4
	C _{18:2}	15,5	15,8	15,6
	γ-C _{18:3}	22,4	20,6	18,1
9 ngày	C _{16:0}	46,2%	46,8%	45,4%
	C _{16:1}	—	—	—
	C _{16:2}	7,9	5,8	6,7
	C _{18:0}	2,4	2,2	2,1
	C _{18:1}	4,9	8,1	12,3
	C _{18:2}	15,7	15,5	13,9
	γ-C _{18:3}	22,8	21,5	19,5
16 ngày	C _{16:0}	42,7%	40,8%	44,7%
	C _{16:1}	2,9	7,4	—
	C _{16:2}	6,2	6,8	4,9
	C _{18:0}	2,9	2,8	—
	C _{18:1}	8,7	11,3	19,3
	C _{18:2}	15,0	15,9	13,2
	γ-C _{18:3}	21,7	22,3	17,8

Tỷ lệ các axit béo không bão hòa / axit béo bão hòa là ít thay đổi theo thời gian thí nghiệm và theo nồng độ muối NaCl khác nhau (tỷ lệ này luôn lớn hơn 1). Trong khi đó, tỷ lệ này lại thay đổi phụ thuộc nhiệt độ. Chẳng hạn, Tomaselli và cộng sự [12] nhận thấy tỷ lệ này giảm đi khi nhiệt độ tăng từ 35 đến 45°C.

Khác với các loài thực vật khác, nơi axit α -linolenic (C_{18:3}(9,12,15)) chiếm tới 60 - 70% tổng lượng axit béo và không có axit γ -linolenic (C_{18:3}(6,9,12)) [1], ở tảo *Spirulina* không có axit α -linolenic mà chỉ có axit γ -linolenic. Axit béo này trong cơ thể người chuyển hóa sang axit arachidonic rồi sang prostaglandin E₂, có vai trò rất quan trọng trong điều chỉnh huyết áp và làm hạ cholesterol trong máu. Watanabe và cộng sự [15], khi nghiên cứu các loài tảo lam, nhận thấy trong 20 loài, chỉ có vi tảo thuộc *Spirulina* và *Arthrospira* là có axit γ -linolenic. Hàm lượng này giảm xuống theo thời gian nuôi trồng và khi tăng hàm lượng NaCl trong môi trường. Yuan-Kun Lee và cộng sự [16], khi nghiên cứu tác động của NaCl lên thành phần axit béo của *Porphyridium cruentum*, nhận thấy ở nồng độ muối cao (1,5 M NaCl), axit béo linoleic C_{18:2} và arachidonic tăng lên và chiếm tới 78,1% tổng lượng axit béo.

III - KẾT LUẬN

1. Tảo lam *Spirulina platensis* có thể chịu đựng được ngưỡng nồng độ NaCl tới 0,8 M (tương đương 47 g/l), ở điều kiện bình thường trong phòng thí nghiệm. Ở nhiệt độ và ánh sáng tương đối thấp (20°C, 3000 lux), *Spirulina platensis* có thể sống sót và thích nghi với nồng độ 1 M NaCl (58,5 g/l).

2. Hàm lượng chlorophyll và carotenoid có khuynh hướng tăng chút ít trong khi hàm lượng phycocyanin lại giảm đi đáng kể, khi tăng nồng độ muối trong môi trường. Hàm lượng protein tổng số của tế bào *Spirulina platensis* cũng giảm dần khi nồng độ NaCl tăng.

3. *Spirulina platensis* có chứa các axit béo C_{16:0}, C_{16:1}, C_{18:0}, C_{18:1}, C_{18:2}, γ -C_{18:3}, trong đó C_{16:0} chiếm tỷ lệ cao (tới 40 - 50%) trong mọi

công thức thí nghiệm. Axit γ -linolenic, một ưu thế lớn của *Spirulina platensis*, có hàm lượng khá cao (tới 20 - 23% tổng số axit béo).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Betram J. et al., 1974: J. Sci. Fd. Agric., 25: 759-763
2. Blumwald. E., Tel-Or E., 1982: Arch. Microbiol., 132: 168-172.
3. Blumwald E. et al., 1984: Biochem. Biophys. Res. Commun., 122: 452-459.
4. Đặng Đình Kim và cộng sự, 1994: Tạp chí Sinh học, 16 (3): 72-76.
5. Đặng Xuyên Như và cộng sự, 1994: Tạp chí Sinh học, 16 (3): 65-71.
6. Flowers T. J. et al., 1977: Ann. Rev. Plant Physiol., 28: 89-121.
7. Gabbay-Azaria R., Tel-Or E., 1991: Bioresource Technology, 38: 215-220.
8. Krulwich T. A., 1986: J. Membr. Biol., 89: 113-125.
9. Nichols B. W., 1973: Lipid composition and metabolism, in "The Biology of blue-green algae", 7: 144.
10. Schobert B., 1980: Biochem. Physiol. Pflanzen, 175: 91-103.
11. Stewart W. D., 1980: A. Rev. Microbiol., 34: 497-536.
12. Tomaselli L. et al., 1987: Effects of temperature on growth and biochemical composition in *Spirulina platensis* St. M2. In "Algal Biotechnology" Eds. Stadler and Mollion J. Elsevier Applied Science.
13. Vonshak A. et al., 1988: J. Arch. Microbiol., 150: 417-420.
14. Warr S. R. et al., 1984: J. Marine Biol., 79: 21-26.
15. Watanabe A., Yamamoto Y., 1979: Proceedings of the Symposium on Taxonomy and Biology of Blue-Green Algae: 556-565.
16. Yuan-Kun Lee et al., 1989: J. Applied Phycology, 1: 19-23.

(Xem tiếp trang 63)

PHỔ THỨC ĂN VÀ HÀM LƯỢNG PROTEIN TRONG CÁC LOẠI THỨC ĂN THƯỜNG DÙNG CỦA DÂN CƯ Ở MỘT SỐ ĐỊA PHƯƠNG MIỀN NÚI PHÍA BẮC VIỆT NAM

TẠ THỊ LY LUÂN

*Trường đại học Sư phạm
Đại học Thái Nguyên*

Trong 50 năm qua, cùng với tiến trình tăng dân số của thế giới, dân số ở các tỉnh miền núi phía Bắc nước ta cũng tăng dần từ 9 - 15 người / km² lên 70 - 97 người / km² [6]. Rừng xanh bị triệt phá, đất rừng bị suy thoái đã làm cạn kiệt nguồn thức ăn sẵn có trong thiên nhiên như (trám, măng, nấm hương, rau bở khai, rau ngót rừng, các loại thịt thú rừng v.v...). Phổ thức ăn bị thu hẹp ảnh hưởng xấu tới chất lượng thức ăn. Thiếu protein, khoáng, vitamin làm cho cơ thể suy yếu, sinh bệnh. Nhiều căn bệnh như bệnh thiếu máu suy dinh dưỡng, bướu cổ, có nguyên nhân do thiếu protein và chất khoáng [1, 2, 5].

Trong những năm 1991-1996, chúng tôi đã tiến hành điều tra các loại thức ăn và hàm lượng protein của chúng, của dân cư ở một số địa phương thuộc miền núi phía Bắc nước ta nhằm cung cấp thông tin về tình hình dinh dưỡng của các dân tộc thiểu số sống ở vùng núi phía Bắc nước ta, với mục đích đóng góp cơ sở khoa học cho việc phát triển cây trồng, vật nuôi hợp lý, góp phần làm phong phú nền thức ăn và làm tài liệu tham khảo để cân đối dinh dưỡng cho người miền núi.

I - PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

- Khảo sát 9 điểm dân cư thuộc 3 huyện miền núi phía Bắc là Bạch Thông (Bắc Cạn), Hàm Yên (Tuyên Quang), Sa Pa (Lao Cai) và 3 điểm dân cư ở đồng bằng thuộc huyện Ân Thi (Hưng Yên). Các khu vực được khảo sát để thu mẫu có độ cao địa hình và tập quán dinh dưỡng khác nhau.

- Quan sát, phỏng vấn nhân dân về các loại thức ăn được sử dụng.

- Thời gian thu mẫu: tháng 8, 12 năm 1995; tháng 4, 6 năm 1996.

- Thu 121 mẫu, mỗi mẫu thu 3 lần ở 3 địa điểm cách xa nhau 5 - 10 km. Xử lý mẫu bằng phương pháp sấy khô trong tủ sấy tại phòng thí nghiệm khoa Sinh Trường ĐHSP Việt Bắc, nhiệt độ sấy 80°C, thời gian sấy 42 giờ. Cân kiểm tra mỗi loại 1 g mẫu trên cân phân tích; sau 6 giờ cân lại 2 lần, nếu kết quả trùng hợp tức là mẫu đã khô ổn định. Đóng gói, dán nhãn, bảo quản chống ẩm.

- Phân tích bằng phương pháp Kejl Dahl tạo phòng Hóa phân tích, Viện Hóa học (Trung tâm KHTN và CNQG).

II - KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

1. Phổ thức ăn:

Kết quả nghiên cứu cho thấy phổ thức ăn thu hẹp dần theo độ cao địa hình cư trú. Dân cư vùng đồng bằng Ân Thi (Hưng Yên) có phổ thức ăn rộng nhất trong bốn vùng nghiên cứu, gồm 46 loại, thức ăn gặp tần xuất sử dụng cao; không phụ thuộc mùa vụ có 19 loại, thức ăn vụ xuân-hè có 16 loại, vụ thu-đông có 11 loại (bảng 4). Dân cư vùng Nam Bạch Thông thuộc vùng thấp của miền núi phía Bắc ở độ cao hơn 600 m, có phổ thức ăn gồm 33 loại, ít hơn phổ thức ăn vùng Ân Thi 13 loại (bảng 1). Dân cư vùng Hàm Yên (Tuyên Quang) ở độ cao > 800 m, có phổ thức ăn hẹp hơn phổ thức ăn vùng Bạch Thông, gồm 25 loại (bảng 2). Còn phổ thức ăn hẹp nhất, có 17 loại, là của dân cư vùng Sa Pa (Lao Cai) ở độ cao > 1400 m (bảng 3). Giá trị dinh dưỡng của thức ăn phụ thuộc vào phổ thức ăn; phổ thức ăn hẹp sẽ hạn chế sự phối hợp thể loại trong khẩu

phần ăn, hạn chế sự ngon miệng và hạn chế khả năng hấp thu các chất dinh dưỡng vào cơ thể.

Bảng 1

Phổ thức ăn và hàm lượng protein của thức ăn vùng Nam Bạch Thông (Bắc Cạn)

Xuân - Hè		Thu - Đông		Cả năm	
Loại mẫu	Protein %	Loại mẫu	Protein %	Loại mẫu	Protein %
Bầu	1,65	Bắp cải	1,36	Gạo nếp	12,2
Bí xanh	1,72	Bí đỏ	2,61	Gạo tẻ	9,60
Cải hoa	1,40	Cải bẹ	1,25	Ngô tẻ hạt vàng	7,90
Măng vầu	1,00	Cải thìa	1,20	Sắn	0,82
Măng nứa	1,50	Măng chua	1,10	Khoai lang	1,20
Muróp	2,30	Củ cải	2,20	Lạc	25,6
Rau bí	8,60	Su hào	2,80	Vừng	20,6
Rau muống	7,60	Trám xanh	4,50	Đỗ xanh	28,6
Rau ngót rùng	11,50			Đỗ đen	23,1
				Đu đủ xanh	2,10
				Thịt gà ri	62,0
				Thịt lợn Đb	59,0
				Cá trắm cỏ	60,1
				Ốc vặn	49,5
				Trứng vịt	43,0

Bảng 2

Phổ thức ăn và hàm lượng protein của thức ăn vùng Hàm Yên (Tuyên Quang)

Xuân - Hè		Thu - Đông		Cả năm	
Loại mẫu	Protein %	Loại mẫu	Protein %	Loại mẫu	Protein %
Bầu	1,60	Bí đỏ	2,50	Gạo nếp	12,00
Cải hoa	1,30	Cải bắp	1,23	Gạo tẻ BT	9,50
Măng vầu	0,90	Cải bẹ	1,15	Ngô tẻ tr.áng	6,80
Măng nứa	1,40	Củ cải	2,20	Sắn	0,67
Muróp	2,30	Su hào	2,60	Đỗ xanh	25,7
Rau bí	7,80	Trám xanh	4,50	Đỗ tương	32,1
Rau muống	7,20			Thịt gà ri	61,2
Rau ngót rùng	11,00			Thịt lợn Đb	59,0
				Cá trắm cỏ	58,0
				Cá rô phi	48,5
				Ốc vặn	42,5

Phổ thực ăn và hàm lượng protein của thức ăn vùng Sapa (Lao cai)

Xuân - Hè		Thu - Đông		Cả năm	
Loại mẫu	Protein %	Loại mẫu	Protein %	Loại mẫu	Protein %
Măng sặt	1,20	Bí đỏ	2,60	Gạo tẻ nướng	10,50
Rau cải mèo	1,45	Củ cải	2,25	Ngô hạt đỏ	6,70
Rau bồ công anh	1,15	Cải bắp	1,45	Sắn	0,70
Rau bí	7,50	Susu	3,20	Đỗ tương	34,40
Rau dại	1,70	Su hào	2,60	Đỗ mèo vằn	22,60
				Thịt gà ri	61,00
				Thịt lợn mèo	58,20

Bảng 4

Phổ thực ăn và hàm lượng protein của thức ăn vùng Ân Thi (Hưng Yên)

Xuân - Hè		Thu - Đông		Cả năm	
Loại mẫu	Protein %	Loại mẫu	Protein %	Loại mẫu	Protein %
Bầu	0,75	Bắp cải	3,60	Gạo nếp cái	14,50
Bí xanh	0,85	Cải sen	3,10	Gạo tẻ C71	13,60
Cà bát	1,62	Cải thìa	3,50	Ngô lai P11	8,40
Cà tím	1,40	Cải cúc	2,50	Khoai tây	4,05
Đỗ cô ve	13,50	Cần ta	3,30	Đỗ xanh	31,20
Cà pháo	1,20	Hành tây	4,80	Lạc	27,50
Mướp	3,30	Hành ta	3,30	Dọc mùng	0,80
Rau bí	9,80	Rau mùi	3,60	Đậu phụ	18,50
Rau muống	8,50	Hoa lơ	3,80	Chuối xanh	3,40
Rau ngót	12,50			Đu đủ xanh	2,50
Rau đay	2,50			Thịt gà ta	63,30
Rau mồng tơi	3,50			Thịt lợn Đb	59,60
Rau dền	4,20			Tôm	72,50
Đỗ đen	24,30			Cá trắm cỏ	64,20
Khoai lang	2,25			Ốc vặn	37,90
Bí đỏ	3,70			Trứng vịt	41,00
				Cua	38,00
				Cá chép	66,20
				Cá rô phi	57,00

2. Hàm lượng protein:

Các loại thức ăn ở miền núi có hàm lượng protein thấp hơn thức ăn ở đồng bằng, phần lớn do đất trồng có hàm lượng đạm thấp và kỹ thuật canh tác lạc hậu [3, 5]. Về lương thực: người miền núi dùng gạo, ngô, sắn đan xen, gạo miền núi có hàm lượng protein thấp hơn gạo đồng bằng từ 0,1% đến 3%. Ngô có hàm lượng protein thấp hơn ở đồng bằng từ 0,5% đến 1,7%. Sắn chiếm khoảng 30% tổng số lương thực của người miền núi có hàm lượng protein chỉ xấp xỉ 1%. Trong các loại rau xanh phổ biến thì rau bí, rau ngót rừng có hàm lượng protein cao nhưng rau ngót rừng hiện nay có chiều hướng khan hiếm, được coi như món ăn đặc sản vừa bổ vừa giải nhiệt. Các loại thức ăn củ, quả có hàm lượng protein thấp, từ 0,6% đến 4,5%. Hàm lượng protein trong đậu xanh trồng ở miền núi thấp hơn trong đậu xanh trồng ở đồng bằng từ 2,9% đến 5,5%. Các thức ăn nguồn gốc động vật nuôi ở miền núi có hàm lượng protein thấp hơn ở đồng bằng từ 2,1% đến 2,3%, ví dụ thịt gà ri miền núi có 61 - 61,2% protein còn thịt gà ri đồng bằng 63,3%. Hàm lượng protein trong thịt động vật ở miền núi thấp do phụ thuộc vào giống, vào kỹ thuật chăn nuôi lạc hậu (chăn thả tự do, chưa áp dụng tiến bộ kỹ thuật về thức ăn bổ sung protein).

III - KẾT LUẬN

Phổ thức ăn của dân cư miền núi thu hẹp dần theo độ cao địa hình cư trú. Phổ thức ăn của dân

cư đồng bằng có nhiều chủng loại hơn phổ thức ăn của dân cư miền núi, từ 13 đến 28 loại.

So sánh hàm lượng protein trong thức ăn cùng loại, thì thức ăn ở đồng bằng giàu protein hơn thức ăn ở miền núi, từ 1,5% đến 5,5%.

Trên cơ sở các kết quả nhận được, chúng tôi đề nghị ngoài việc đưa các giống cây trồng, vật nuôi mới vào địa bàn miền núi, cần quan tâm phát triển những loại cây trồng giàu protein vốn đã thích nghi với địa bàn miền núi như ngô hạt vàng, trám, rau ngót rừng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Đặng Trần Duệ, Lê Mỹ, 1993: Thực hành phòng chống bệnh bướu cổ và bệnh đần độn. NXB Y học, Hà Nội.
2. Vi Văn Đò và cộng sự, 1995: Góp phần nghiên cứu bệnh thiếu máu của dân tộc ít người miền Bắc Việt Nam. Kỳ yếu công trình nghiên cứu khoa học, VI. NXB Y học, Hà Nội.
3. Galtan E., 1990: Goitrogens in food and water, USA, Vol. 10.
4. Từ Giấy, Hà Huy Khôi, 1976: Những vấn đề hóa sinh dinh dưỡng thực hành. NXB Y học, Hà Nội.
5. FAO/WHO, 1996: Protein requirements. Serie of technical reports. Geneva.
6. Lê Trọng Túc, 1997: Tạp chí Giáo dục và Thời đại, 2.

INVESTIGATION OF DAILY FOODS AND THEIR PROTEIN CONTENT OF MOUNTAINEERS IN SOME MOUNTAINOUS REGIONS OF NORTH VIETNAM

TA THI LY LUAN

SUMMARY

Our investigation carried on normal types of the daily food, which were collected from three mountain regions and the fourth one was in plain. The results showed that the mountaineers have narrow range of foods and these foods have a low protein content.

Ngày nhận bài: 12-11-1996

ĐÁNH GIÁ MỘT SỐ DÒNG ĐỘT BIẾN TỪ HAI GIỐNG ĐẬU TƯƠNG ĐH₄ VÀ CÚC VÀNG Ở THỂ HỆ M₄

CHU HOÀNG MẬU, NÔNG THỊ MAN

Trường đại học Sư phạm -

Đại học Thái Nguyên

ĐÀO VIỆT BẮC, LÊ TRẦN BÌNH

Viện Công nghệ sinh học

Áp dụng phương pháp đột biến thực nghiệm trong tạo giống đậu tương đã được nhiều nhà khoa học quan tâm [1, 2, 3, 4, 5]. Bằng phương pháp gây đột biến, có thể cải tạo được một số tính trạng hình thái, kinh tế của các giống đậu tương đã trồng nhiều năm ở địa phương và tạo ra những dòng đột biến có triển vọng. Chọn lọc và bồi dưỡng các dòng đột biến qua nhiều thế hệ, nhằm tạo ra các dòng có năng suất ổn định, thích nghi với điều kiện sinh thái ở địa phương.

Nghiên cứu các dòng đậu tương đột biến ở thể hệ M₄ được tiến hành theo nhiều chỉ tiêu khác nhau.

I - PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. 20 dòng đột biến được chọn lọc ở thể hệ M₃ từ hai giống đậu tương ĐH₄ và Cúc vàng.

2. Nghiên cứu các tính trạng số lượng theo phương pháp thống kê xác định các giá trị \bar{x} , S², m \bar{x} , Cv.

3. Phân tích hàm lượng lipit tổng số theo phương pháp Soxhlet, phân tích hàm lượng protein tổng số theo phương pháp Keldal.

II - KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

1. Phân tích một số tính trạng số lượng của cá dòng đậu tương đột biến ở thể hệ M₄:

1.1. *Tính trạng chiều cao của cây:*

Tính trạng chiều cao của cây là một chỉ tiêu quan trọng, liên quan đến quá trình trao đổi chất

và khả năng quang hợp của cây, là tiền đề để tạo năng suất. Tính trạng chiều cao cây có thể có mối liên quan đến số đốt / cây. Bảng 1 cho thấy các dòng Cúc đột biến có chiều cao từ 25,26 cm đến 37,31 cm. Trong các dòng Cúc đột biến, thấy xuất hiện một số dòng có chiều cao trung bình hơn đối chứng từ 5,94 cm đến 10,61 cm, đó là các dòng CZ-2, CC-7, CC-9, CX-9, CX-12, CX-14, Co5-2, và C73B-2, cũng có dòng mà chiều cao trung bình thấp hơn đối chứng (CA-7).

Đối với các dòng ĐH₄ có chiều cao trung bình từ 35,56 cm đến 49,50 cm, dòng ĐK-1 thấp hơn đối chứng 3,65 cm; còn ba dòng ĐK-3, Đo75-1, ĐR-9 có chiều cao trung bình hơn đối chứng từ 2,99 cm đến 9,29 cm, cao nhất là dòng Đo75-1 (49,50 cm).

1.2. *Tính trạng số cành hữu hiệu / cây:*

Khả năng phân cành của cây đậu tương liên quan đến năng suất của cây. Số cành hữu hiệu càng nhiều thì số lượng lá / cây cũng nhiều và diện tích lá lớn thì khả năng quang hợp của cây càng lớn. Đặc biệt, số cành mang quả liên quan trực tiếp đến năng suất của cây đậu tương. Bảng 1 cho thấy số cành hữu hiệu / cây của các dòng Cúc ít có sự biến đổi so với đối chứng, tuy nhiên dòng CX-12 có số cành hữu hiệu nhiều hơn đối chứng 2,9 (cành); còn ở các dòng ĐH₄, khả năng phân cành ít và kém hơn các dòng Cúc. Điều này cho thấy khả năng phân cành của cây chủ yếu do genotyp của giống quy định.

1.3. *Tính trạng số quả chắc / cây:*

Tính trạng số quả chắc / cây là một trong các

Một số tính trạng số lượng của các dòng đậu tương đột biến ở M_4 ($t = 0,05$)

Số TT	Các dòng	Chiều cao cây (cm)	Số cành hữu hiệu	Số quả chắc / cây	Trọng lượng hạt / cây (g)	Trọng lượng 1000 hạt (g)
1	Cúc đối chứng	26,70	5,09	26,81	4,62	86,20
2	CA-1	26,77	5,00	28,49	5,16	90,50
3	CA-3	26,75	5,08	30,81	5,87	89,63
4	CA-5	28,78	0,06	54,71	7,86	89,61
5	CA-7	25,26	4,42	29,77	5,76	87,50
6	CZ-2	32,64	5,00	35,29	6,32	87,61
7	CC-1	28,39	5,72	42,55	7,30	88,33
8	CC-7	33,44	5,77	36,55	6,03	100,34
9	CC-9	35,28	5,85	38,85	5,91	100,70
10	CC-10	27,90	5,00	34,00	4,98	85,21
11	CC-11	28,90	5,09	37,72	6,50	85,23
12	CX-9	30,16	6,10	56,66	10,88	89,93
13	CX-12	34,00	7,99	60,00	11,20	101,7
14	CX-14	34,16	6,09	49,36	8,87	97,32
15	Co5-1	28,50	4,71	28,92	4,63	78,77
16	Co5-2	37,31	6,76	46,50	7,87	93,70
17	C73B-2	32,07	4,70	34,14	5,04	86,63
18	DH ₄ đối chứng	40,21	4,78	21,51	10,94	184,79
19	ĐK-1	36,56	3,79	23,33	8,44	189,65
20	ĐK-3	43,20	4,32	26,50	9,64	188,06
21	Do75-1	49,50	3,66	25,44	10,04	198,63
22	ĐR-9	45,00	3,50	27,20	11,75	200,51

yếu tố cấu thành năng suất của cây. Các dòng Cúc đột biến có số quả chắc / cây trung bình từ 29,49 đến 60,00 (quả), cao hơn đối chứng 1,68 - 33,19 (quả). Trong các dòng nghiên cứu, xuất hiện dòng CX-12 có số quả chắc / cây cao nhất (60,00 quả), sau đến dòng CX-9 (56,66 quả), dòng CX-14 (49,36 quả), CA-5 (45,71 quả). Dòng có số quả chắc / cây thấp nhất là CA-1 (28,49 quả), chỉ cao hơn đối chứng 1,69 quả. Số quả chắc / cây trong các dòng cúc nghiên cứu có sự biến động nhiều và tập trung trong khoảng 30 - 40 quả.

So với ở M_3 , số quả chắc / cây của các dòng Cúc ở M_4 có biến động cao hơn hay thấp hơn

dòng gốc ở M_3 . Đối với các dòng DH₄, có số quả chắc / cây cao hơn dòng gốc ở M_3 . Sự biến động về số quả chắc / cây ở M_4 so với M_3 có thể khẳng định rằng sự biểu hiện của tính trạng số quả chắc / cây không những phụ thuộc vào sự tương tác của các gen trong genotyp mà còn phụ thuộc vào sự tương tác giữa genotyp với điều kiện môi trường.

1.4. Tính trạng trọng lượng hạt / cây:

Tính trạng trọng lượng hạt / cây cũng là yếu tố cấu thành năng suất của cây, cùng với tính trạng số quả chắc / cây là những chỉ số trong chọn giống đậu tương. Bảng 1 cho thấy các dòng cúc nghiên cứu đều có trọng lượng hạt trung bình / cây cao hơn đối

chứng từ 0,01 - 6,58 g. Trong số các dòng cúc nghiên cứu, có thể phân ra làm ba nhóm: nhóm có trọng lượng hạt / cây từ 4,56 g đến 5,91 g có 7 dòng, nhóm có trọng lượng hạt / cây từ 6,03 g đến 6,50 g có 3 dòng và nhóm có trọng lượng hạt / cây 7,30 g - 11,20 g có 6 dòng. Trong đó, dòng có trọng lượng hạt trung bình / cây thấp nhất là Co5-1 (4,63 g), cao nhất là dòng CX-12 (11,20 g). Những dòng có trọng lượng hạt / cây vượt xa đối chứng là CX-14, CX-12, CX-9. Đối với các dòng ĐH4, dòng ĐK-1, ĐK3, có trọng lượng hạt / cây thấp hơn đối chứng; dòng Do75-1 có trọng lượng hạt/cây cao hơn đối chứng 0,81 g.

Nếu so sánh với dòng gốc ở M₃, thì các dòng cúc đột biến ở M₄ đều có trọng lượng hạt / cây cao hơn dòng gốc, chứng tỏ tính trạng trọng lượng hạt / cây ngoài việc phụ thuộc vào genotyp, còn chịu ảnh hưởng rất lớn của điều kiện môi trường.

1.5. Trọng lượng 1000 hạt:

Bảng 1 cho thấy các dòng cúc có trọng lượng 1000 hạt giao động từ 87 g đến 101 g, cao nhất là

dòng CX-12 (101,7 g). Tuy nhiên, có hai dòng có trọng lượng hạt thấp hơn đối chứng là CC-10 (85,21 g) và CC-11 (85,23 g). Các dòng ĐH4 đều có trọng lượng 1000 hạt cao hơn đối chứng, cao nhất là Do75-1 (198,63 g) và ĐR-9 (200,51 g); ĐH4 đối chứng đạt 184,79 g; so sánh các dòng ĐH4 ở M₄ với các dòng gốc ở M₃ thì sự chênh lệch trọng lượng 1000 hạt không đáng kể.

2. Hàm lượng protein và lipit tổng số của các dòng đậu tương ở thế hệ M₄:

Năng suất và phẩm chất hạt đậu tương là một trong những chỉ tiêu quan trọng để đánh giá phẩm chất của giống. Hàm lượng protein tổng số và lipit tổng số là hai chỉ tiêu sinh hóa góp phần đánh giá phẩm chất của các dòng đậu tương đã chọn lọc. Kết quả định lượng protein và lipit tổng số được trình bày ở bảng 2. Về hàm lượng protein tổng số, bảng 2 cho thấy đại đa số các dòng cúc ở M₄ đều có hàm lượng cao hơn đối chứng, riêng dòng CZ-2 có hàm lượng protein tổng số đạt 32,90%, thấp hơn đối chứng 0,38%.

Bảng 2

Hàm lượng protein và lipit tổng số của một số dòng đậu tương đột biến ở thế hệ M₄

Các dòng	Công thức chiếu xạ	Hàm lượng protein (%)	Hàm lượng lipit (%)
Cúc	Đối chứng	33,18	16,60
CA-1	4 Kr	36,94	16,33
CA-10	4 Kr	33,46	16,66
CZ-2	8 Kr	32,90	14,60
CC-1	12 Kr	38,01	14,33
CC-9	12 Kr	38,11	13,61
CX-14	16 Kr	38,40	13,35
ĐH4	Đối chứng	34,42	19,30
ĐK-1	Đối chứng khô	36,70	19,50
ĐK-9	8 Kr	37,80	18,90

Các dòng cúc ở M₄ có hàm lượng protein tổng số dao động từ 32,90 đến 38,40. Đối với các dòng ĐH4, có hàm lượng protein cao hơn đối chứng không đáng kể. Về hàm lượng lipit tổng số, bảng 2 cho thấy các dòng cúc có hàm lượng lipit thấp hơn đối chứng 0,27 - 3,25%, riêng dòng CA-10 cao hơn

đối chứng 0,06%; dòng có hàm lượng lipit thấp nhất là CX-14 (13,35%); các dòng ĐH4 so với đối chứng không có sự chênh lệch lớn lắm. So sánh với các dòng gốc ở M₃, các dòng cúc đột biến ở M₄ có hàm lượng protein tăng lên 0,08 - 0,6% (dòng gốc ở M₃ đạt 32,86%) còn hàm lượng lipit tổng số lại

giảm 4,37 - 4,7% (dòng gốc ở M₃ đạt 21,03%). Các dòng ĐH₄ ở M₄ cũng có hiện tượng tương tự như vậy. Hàm lượng protein ở các dòng ĐH₄ ở M₄ tăng 0,69 - 1,74% (dòng gốc ở M₃ là 36,04%), hàm lượng lipit giảm xuống ở ĐK-9 là 0,6%. Phân tích chỉ tiêu sinh hóa của các dòng đậu tương đột biến ở M₄, có thể nhận xét hàm lượng protein tổng số và lipit tổng số có mối tương quan nghịch, điều này phù hợp với các nghiên cứu của nhiều tác giả [5].

3. Một số dòng đậu tương đột biến có triển vọng ở thế hệ M₄:

Nghiên cứu các dòng đậu tương ở M₄, căn cứ vào các chỉ tiêu hình thái, kinh tế quan trọng và chỉ tiêu sinh hóa, chúng tôi đã chọn lọc được một số dòng có triển vọng như CX-12, CX-9, CX-14, CC-1, CC-7, CC-9, CA-5, ĐK-9, Đo75-1, ĐK3. Những dòng đã chọn lọc cần được tiếp tục theo dõi, bồi dưỡng ở các thế hệ sau.

III - KẾT LUẬN

1. Các tính trạng số lượng của các dòng đậu tương đột biến ở thế hệ M₄ phụ thuộc vào yếu tố genotyp của giống, của dòng và điều kiện ngoại cảnh, do vậy cần tạo điều kiện thuận lợi nhất để cho genotyp phát huy đầy đủ khả năng phản ứng của nó trước ngoại cảnh; cho nên cần tiếp tục

chọn lọc và bồi dưỡng các thế hệ sau.

2. Hàm lượng protein và lipit của các dòng đậu tương đột biến thu được có tương quan nghịch. Hàm lượng protein và lipit phụ thuộc vào genotyp của giống, dòng và cũng chịu ảnh hưởng của điều kiện môi trường.

3. Đã phân lập được 10 dòng thuộc hai giống đậu tương Cúc và ĐH₄, có nhiều tính trạng kinh tế quý để tiếp tục chọn lọc ở các thế hệ sau.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Boreico, 1970: Tạp chí Di truyền 6, số 10, M. U. Khoa học (tiếng Nga).

2. Enken V. B. và Chekurov V. M., 1968: Hoạt tính tác nhân đột biến của NEU ở đậu tương. M. "Khoa học" (tiếng Nga).

3. Trần Long, 1980: Tuyển tập các công trình nghiên cứu khoa học và kỹ thuật nông nghiệp: 94-97. NXB Nông nghiệp.

4. Trần Đình Long, 1991: Những nghiên cứu mới về chọn tạo giống đậu đỗ, trong "Tiến bộ kỹ thuật trồng lạc đỗ".

5. Nông Thị Man, 1979: Ảnh hưởng của tia gamma và chất hóa học gây đột biến lên quá trình đột biến ở đậu tương Glycine max (L.) Merr. Đại học Tổng hợp Voroniev (tiếng Nga).

ASSESSMENT OF SOME MUTANT LINES SELECTED FROM ĐH₄ AND CUC VANG SOYBEAN CULTIVARS IN M₄ GENERATION

CHU HOANG MAU *et al.*

SUMMARY

The quantitative characters and biochemical characteristics of some soybean mutant lines in M₄ generation have been studied. They depend on genotype of cultivars and effects of environment. 10 promising mutagenous lines with useful traits have been selected.

Ngày nhận bài: 10-5-1996

ĐẶC ĐIỂM VÀ THỜI GIAN BIẾN THÁI CỦA ẾCH ĐỒNG (*RANA RUGULOSA* WIEGMANN, 1835) TRONG ĐIỀU KIỆN NUÔI

TRẦN KIÊN, NGUYỄN KIM TIẾN

Trường đại học Sư phạm

Đại học Quốc gia Hà Nội

Ếch đồng là loài được dùng làm thực phẩm. Từ năm 1990 trở lại đây, phong trào nuôi ếch đồng đã phát triển ở nhiều tỉnh miền Bắc nước ta (ngoại thành Hà Nội, Vĩnh Phú, Thái Bình, Hải Hưng...) và đã thu được những kết quả bước đầu. Tuy nhiên việc nghiên cứu về sự phát triển của ếch đồng còn rất ít.

Nghiên cứu của chúng tôi tìm hiểu về đặc điểm của sự biến thái của ếch đồng trong điều kiện nuôi, nhằm đáp ứng một phần cho cơ sở khoa học của quy trình nuôi ếch đồng ở miền Bắc Việt Nam.

I - PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Nghiên cứu được thực hiện tại cơ sở nuôi ếch đồng của gia đình ông Lại Văn Chuy ở thôn Vân Trì, xã Vân Nội, Đông Anh, Hà Nội, từ tháng 2 đến tháng 9 năm 1996, đã theo dõi được 13 đợt phát triển nòng nọc của 350 ếch cái và 200 ếch đực nuôi trong vườn từ năm 1992. Vườn có diện tích 63 m² (9 m × 7 m), ở đó có ao diện tích 24,9 m² (5,8 m × 4,3 m) có thả bèo cái, bèo tây chiếm 1/3 diện tích mặt nước. Vườn có trồng cây hồng xiêm, bưởi, chuối, dứa, khoai nước, khoai lang, có một cống có cửa đóng mở được với kích thước 20 cm × 25 cm nối với vườn nuôi ếch sinh sản có diện tích 35 m² (7 m × 5 m), trong đó có một rãnh nước 5 m² (5 m × 1 m); đất còn lại trồng táo, mận.

Trứng ếch được thu ngay sau khi ếch đẻ vào tối ngày 19/4/1996 với số lượng 350 quả. Trứng thụ tinh được ương trong các chậu nhựa có đường kính 35 cm, chứa nước lấy trong rãnh ếch đẻ có độ pH 6,5 - 6,7; trong chậu có thả thêm bèo cái và bèo tấm. Nước được thay 2 lần trong 1

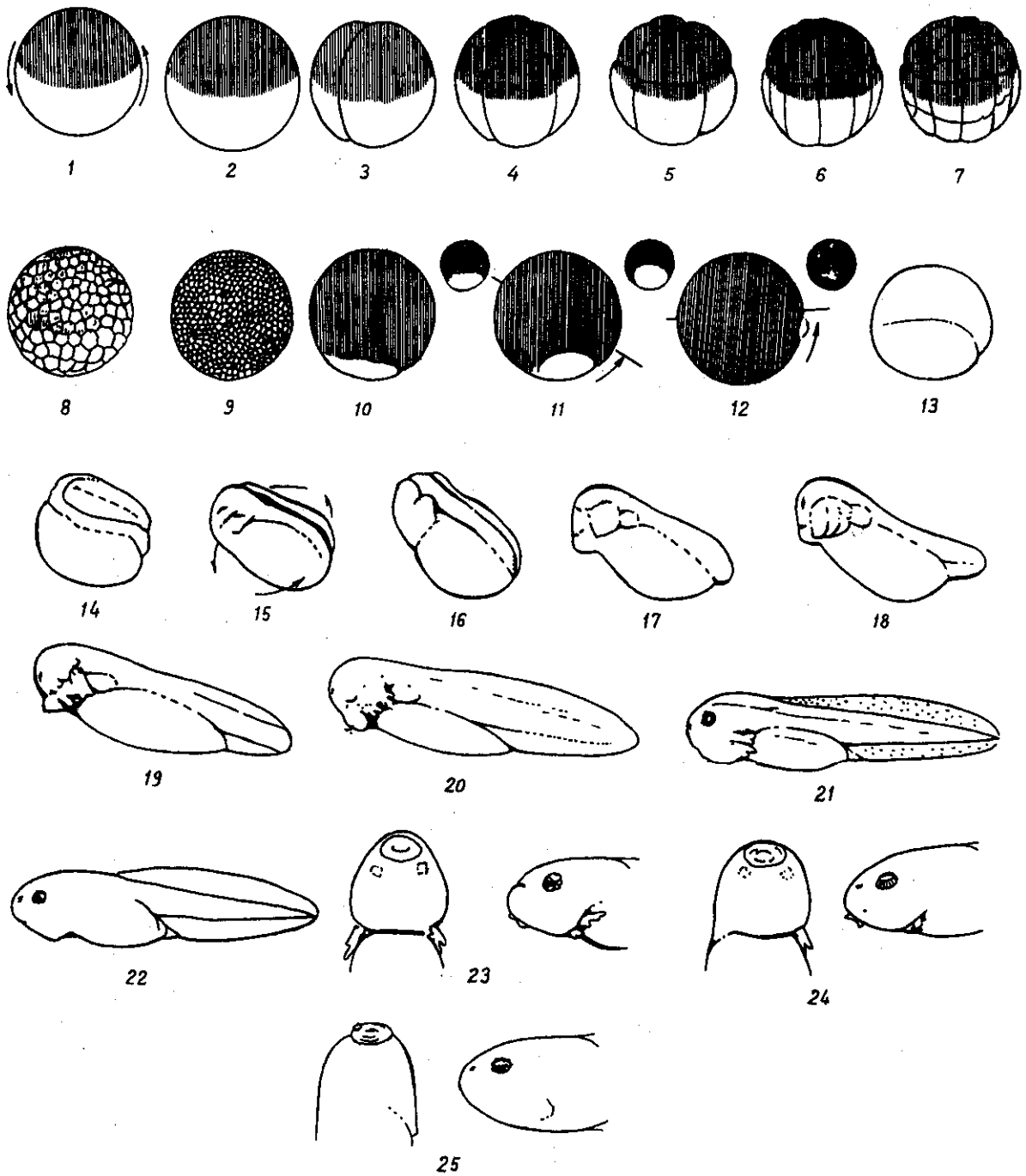
tuần. Thức ăn gồm cám tinh, giun đất băm nhỏ, giun hồng; ngày cho ăn 2 lần: 6 giờ và 16 giờ. Thực nghiệm được tiến hành với 2 lô trong những điều kiện như nhau, mỗi lô gồm 50 quả trứng. Lô I đặt trong nhà có nhiệt độ nước 21 - 27°C, trung bình 25,5°C; nhiệt độ không khí 20,5 - 32,5°C, trung bình 26,5°C. Lô II đặt ngoài sân có nhiệt độ nước 20 - 36,5°C, trung bình 27,5°C; nhiệt độ không khí 20 - 37,5°C, trung bình 28,3°C.

Kết quả thu được được so sánh với sự phát triển của phôi và ấu trùng trong ao nuôi của cơ sở nuôi, mẫu vật cứ 2 ngày thu 1 lần và được định hình trong formol 5%.

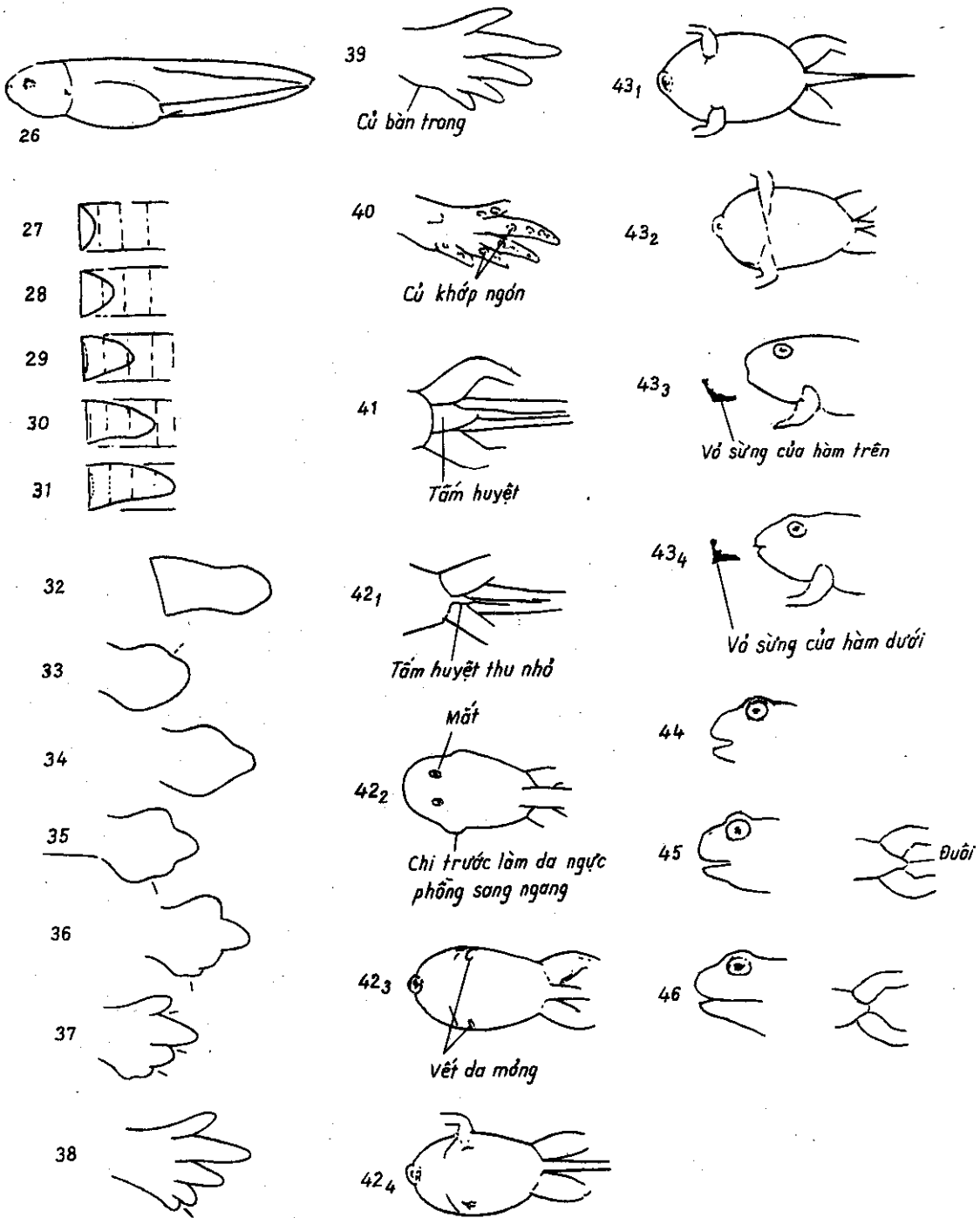
II - KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Các giai đoạn phát triển của ếch đồng ở miền Bắc Việt Nam dựa vào bảng xác định các giai đoạn phát triển phôi và ấu trùng ở ếch nhái không đuôi của K. L. Gosner (1960). Thời gian, đặc điểm hình thái và tập tính của các giai đoạn phát triển phôi và ấu trùng của ếch đồng ở miền Bắc Việt Nam được trình bày ở bảng 1, hình 1 và hình 2; ở đây có bổ sung thêm vào hai giai đoạn 42 và 43 các giai đoạn phụ, song vẫn giữ đủ 46 giai đoạn của K. L. Gosner để tiện cho việc so sánh.

Hình 1 (ở trang sau): Các giai đoạn phát triển phôi của ếch đồng (*R. rugulosa*) có dựa vào K. L. Gosner (1960). Giai đoạn 1-25: các giai đoạn phát triển phôi. Giai đoạn 17: mầm đuôi xuất hiện. Giai đoạn 18: phôi trả lời kích thích bằng co thắt cơ. Giai đoạn 19: tim đập, ấu trùng ra ngoài. Giai đoạn 20: tuần hoàn ở mang. Giai đoạn 21: màng kính trong suốt. Giai đoạn 23-25: sự phát triển nắp mang.



Hình 1: Các giai đoạn phát triển phôi của ếch đồng (*R. rugulosa*)



Hình 2: Các giai đoạn phát triển ấu trùng của ếch đồng (*R. rugulosa*) có dựa vào K. L. Gosner (1960)

Chú thích hình 2: Giai đoạn 27-31: tỷ lệ giữa chiều dài mầm chi sau (l) và đường kính (d) của nó. Giai đoạn 32-40: sự phân hóa các ngón của chi sau. Giai đoạn 41-46, trong đó 41-42: sự thu nhỏ của tấm huyệt; 42-42₃: sự hình thành vết nâu trên thành da ngực - nơi xuất hiện chi trước; 43-46: mô sừng bọc hàm rụng và sự phát triển kéo dài của miệng về phía sau, đuôi teo hoàn toàn.

Bảng 1

Tóm tắt sự phát triển phôi và ấu trùng của ếch đồng nuôi tại Đông Anh

Giai đoạn	Tuổi (giờ, ngày)		Miêu tả đặc điểm
	Lô I	Lô II	
1	0+ giờ	0+ giờ	Trứng thụ tinh, đường kính 1,5 - 1,8 mm.
2	1 $\frac{1}{2}$ +	1 $\frac{1}{2}$ +	Liềm xám.
3	2+	2+	Phôi có 2 tế bào.
4	2 $\frac{1}{4}$ +	2 $\frac{1}{4}$ +	Phôi có 4 tế bào.
5	2 $\frac{1}{2}$ +	2 $\frac{1}{2}$ +	Phôi có 8 tế bào.
6	3+	3+	Phôi có 16 tế bào.
7	3 $\frac{1}{2}$ +	3 $\frac{1}{2}$ +	Phôi có 32 tế bào.
8	-	-	Giữa phôi nang.
9	-	-	Cuối phôi nang.
10	-	-	Đầu phôi vị.
11	-	-	Giữa phôi vị.
12	-	-	Cuối phôi vị.
13	9+	9+	Tấm thần kinh xuất hiện.
14	-	-	Phôi kéo dài, hai mép thần kinh nhô cao tạo thành rãnh thần kinh.
15	-	-	Phôi xoay 180 độ.
16	10+	10+	Hai mép thần kinh hợp lại thành ống thần kinh; phôi hình thành 2 phần: đầu và thân.
17	14+	13+	Mầm đuôi xuất hiện, tấm mang được hình thành, giác bám xuất hiện.
18	22+	18+	Mầm đuôi dài hơn, tấm mang phân thành nếp mang, phôi có phản ứng co cơ.
19	31+	26+	Mang ngoài được hình thành, tim đập rõ, đuôi dài có vây đuôi, ấu trùng đã ra ngoài vỏ trứng; chiều dài thân (L) ấu trùng ở cả 2 lô: 3,8 mm.
20	37+	30+	Mang ngoài hoàn chỉnh thấy rõ sự tuần hoàn ở mang, ấu trùng nằm dưới đáy chậu hoặc bám vào vỏ trứng; L = 3,8-3,9 mm.
21	40+	35+	Giác mạc trong suốt, vây đuôi có chấm đen, giác bám đã hoàn chỉnh, ấu trùng bơi lội yếu.

22	40+	35+	Vây đuôi trong suốt, miệng ở mặt dưới đầu ấu trùng bơi lội tự do và bắt đầu dinh dưỡng.
23	-	-	Hai giác bám sau miệng mờ đi, miệng chuyển về phía trước.
24	3-4+ ngày	2-3+ ngày	Nếp da mang phải phát triển che hoàn toàn các lá mang phải, lỗ thở mang phải hình thành.
25	4-5+	3-4+	Nếp da mang trái che các lá mang trái, lỗ thở mang trái hình thành, miệng ở đầu mõm, L ở 2 lỗ: 4,1 mm.
26	9-11+	8-9+	Lỗ mang phải đóng, ấu trùng dinh dưỡng tốt, L ở lỗ I: 6,5 - 8,6 mm, ở lỗ II 8 - 11,5 mm.
27	15-18+	12-14+	Hai mầm cơ chi sau xuất hiện ở phía trước lỗ huyết, L ở lỗ I = 7,0 - 11,0 mm, ở lỗ II 9,0 - 13,0 mm.
28	-	-	Mầm cơ chi sau có chiều dài (l) nhỏ hơn một nửa đường kính (d) của nó.
29	-	-	Mầm chi sau có $l = 1 d$.
30	-	-	Mầm chi sau có $l \geq 1\frac{1}{2} d$.
31	20-22+	16-18+	Mầm chi sau có $l = 2 d$.
32	23-26+	18-20+	Mầm chi sau đã phân hóa thành bàn và ngón.
33	-	-	Ngón 5 được phân hóa.
34	-	-	Ngón 4 được phân hóa.
35	-	-	Ngón 3 được phân hóa.
36	-	-	Ngón 2 được phân hóa.
37	-	-	Ngón 1 được phân hóa, các ngón hình thành rõ.
38	-	-	Có sự phân hóa rõ rệt về chiều dài của các ngón chi sau.
39	32-36+	23-26+	Xuất hiện củ bàn trong của chi sau.
40	35-40+	28-33+	Chi sau hoàn chỉnh với sự xuất hiện của hệ mạch, chi sau bắt đầu hoạt động giúp ấu trùng bơi và bò dưới đáy; các củ lồi của khớp đốt ngón xuất hiện rõ. L ở lỗ I = 12,5 - 15,5 mm, L ở lỗ II = 14,0 - 19,5 mm.
41	-	-	Tấm huyết ở dưới còn lớn.
42 ₁	38-42+	29-35+	Tấm huyết ở đuôi nhỏ đi.
42 ₂	-	-	Chi trước nằm dưới da ngực cử động làm da ngực ở bên phồng, nhìn rõ ở phía lưng.
42 ₃	39-43+	31-37+	Ở chỗ da ngực phồng xuất hiện vết màu nâu, da mỏng, nhìn rõ ở mặt bụng; L ở lỗ I = 12,5 - 16,0 mm, L ở lỗ II = 14,5 - 21,0 mm.
42 ₄	-	-	Thông thường chi trái chọc thủng vết da bên trái kề trên ra trước, ấu trùng ngừng ăn.
43 ₁	45-48+	34-40+	Hai chi trước ra ngoài, vây đuôi hẹp đi, mút đuôi có màu nâu thẫm.

43 ₂	46-50 +	37-41 +	Chỗ da ngực rách do sự xuất hiện của hai chi trước nay đã liền lại, cơ ngực phát triển, vây đuôi tiêu biến, đuôi thu ngắn lại.
43 ₃	48-54	39-42 +	Vỏ sừng hàm dưới rụng, đuôi ngắn hơn, ấu trùng dùng chi trước bám vào cánh bèo, đầu nhô lên khỏi mặt nước.
43 ₄	48-52 +	39-43 +	Vỏ sừng hàm trên rụng, ờ mắt trên đầu nhỏ cao, ấu trùng thường trèo lên cánh bèo.
44	49-53 +	40-44 +	Miệng kéo dài ra đến phía trước mắt, ờ mắt nhỏ lên cao thêm, đuôi tiếp tục thu ngắn.
45	50-55 +	41-46 +	Miệng kéo dài đến đường trung tâm của mắt, ờ mắt nhỏ cao, đuôi tiếp tục thu ngắn.
46	52-58	2-47 +	Đuôi tiêu biến hoàn toàn, lỗ huyết chuyển dịch lên phía lưng, miệng kéo dài ra phía sau đường trung tâm mắt. Ấu trùng đã biến đổi thành ếch con: L ở lô I: 14,0 - 17 mm, L ở lô II: 15,0 - 22,5 mm.

Ghi chú: Lô I đặt trong phòng thí nghiệm, với nhiệt độ nước 21 - 27°C.

Lô II đặt ngoài trời, với nhiệt độ nước 20 - 36°C.

Nhận xét

1. Bảng xác định các giai đoạn phát triển phôi và ấu trùng ở ếch nhái không đuôi của K. L. Gosner (1960) phù hợp với sự biến-thái của ếch đồng (*Rana rugulosa*) ở miền Bắc Việt Nam nhiều hơn so với bảng xác định các giai đoạn phát triển phôi và ấu trùng ở ếch nhái không đuôi của Cherentiep (1950), bảng này quá đơn giản.

2. Ở giai đoạn 42, 43, cần bổ sung các giai đoạn phụ, vì các giai đoạn này có ý nghĩa quan trọng trong chăn nuôi, các giai đoạn này chỉ ra sự cần thiết phải thay đổi chế độ dinh dưỡng do ấu trùng ngừng ăn và đồng thời là thời điểm tập cho ếch đồng ăn mồi tĩnh.

3. So sánh sự phát triển của ấu trùng nuôi ở 2 lô với chế độ nhiệt và ánh sáng khác nhau, thấy rõ ưu điểm của lô II (đề ngoài trời) so với lô I (đề trong phòng). Thời gian biến thái của lô II (42 - 47 ngày, trung bình 43 ngày) ngắn hơn so với lô I (52 - 58 ngày, trung bình 51 ngày); sự tăng trưởng về chiều dài thân ở lô II (15,0 - 22,5 mm, trung bình 19,0 mm) cao hơn so với lô I (14,0 - 17,0 mm, trung bình 15,3 mm).

4. So với ấu trùng cùng lứa nuôi ở ao của cơ sở nuôi thì thời gian biến thái của lô II dài hơn từ

2 - 3 ngày, kích thước trung bình của cơ thể cũng nhỏ hơn.

III - KẾT LUẬN

1. Các giai đoạn của quá trình biến thái của ếch đồng (*Rana rugulosa*) ở miền Bắc Việt Nam về cơ bản khớp với bảng phát triển phôi và ấu trùng của ếch nhái không đuôi của Gosner (1960), tuy nhiên sự bổ sung một số giai đoạn phụ: 42₂, 42₃, 42₄, 43₂, 43₃, 43₄ là cần thiết, đặc biệt trong điều kiện nuôi.

2. Nhiệt độ và ánh sáng có ảnh hưởng rõ rệt đến thời gian biến thái và sự tăng trưởng của cơ thể theo chiều dài thân. Ở nhiệt độ 27,5°C (lô II ở ngoài trời), thời gian biến thái trung bình là 43 ngày, chiều dài thân trung bình là 19,3 mm; ở nhiệt độ 25,5°C (lô I ở trong phòng), thời gian biến thái là 51 ngày, chiều dài thân là 15 mm.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Gosner K. L., 1960: Herpetologica, Vol. 16: 183-190.

2. Terentev P. V., 1950: Liazuska. Sovetskaya Nauka, Moskva: 59-66.

**FEATURES AND TIME IN THE DEVELOPMENT OF THE FROG
(*RANA RUGULOSA* WIEGMANN, 1825) ON THE BREEDING CONDITIONS**

TRAN KIEN, NGUYEN KIM TIEN

SUMMARY

Observations on the habits of the development of *Rana rugulosa* in laboratory and outdoor. The staging of the development is based on K. L. Gosner (1960). The proposed table should prove adequate for staging developmental series of *Rana rugulosa* in North Vietnam. Development of talpodes of this frog in two cases indicates that under outdoor natural conditions, development is more rapid (42 - 47 days) compared with 52 - 58 days under laboratory's conditions and body size bigger than that in laboratory. Stages No = 42 and 43 should be made in more details.

Ngày nhận bài: 16-10-1996

**MỘT SỐ ĐẶC ĐIỂM SINH LÝ, SINH HÓA CỦA *SPIRULINA PLATENSIS* TRONG
ĐIỀU KIỆN CHỊU MẶN NaCl**

(Tiếp theo trang 48)

**SOME PHYSIO-BIOCHEMICAL CHARACTERISTICS OF *SPIRULINA PLATENSIS*
(*CYANOBACTERIA*) IN RELATION WITH THE SALINITY**

DUONG TRONG HIEN *et al.*

SUMMARY

Evaluation of tolerance of *Spirulina platensis* cells to the salinity has been shown in this paper. In laboratory conditions, 0.8 M NaCl concentration has proved to be the highest limit for the microalga while it could adapt to 1 M NaCl concentration in slightly low temperature and light intensity.

Chlorophyll, carotenoid, phycocyanin, total protein and fatty acid contents of the *Spirulina* cells cultured in mediums containing different NaCl concentrations also were presented.

Ngày nhận bài: 5-11-1996

Thẻ lệ viết và gửi bài

1. Tạp chí Sinh học đăng các kết quả điều tra cơ bản và công trình nghiên cứu, giới thiệu phương pháp điều tra nghiên cứu mới, phê bình và giới thiệu sách mới, đưa tin hội nghị thuộc ngành Sinh học.

2. Bài viết được đánh máy rõ ràng, đầu bài được dịch ra tiếng Anh. Các chuyên đề nghiên cứu không quá 6.000 chữ; bài giới thiệu những nghiên cứu nhỏ hoặc thông báo kết quả về những cuộc điều tra khảo sát ngắn hạn không quá 3.000 chữ; giới thiệu, phân tích sách mới, đưa tin hội nghị không quá 500 chữ. Các chuyên đề nghiên cứu có phần tóm tắt bằng tiếng Anh; phần tóm tắt cần cung cấp lượng thông tin cần thiết để qua đó người đọc có thể hiểu được nội dung chính của bài báo.

3. Dùng thuật ngữ khoa học và đơn vị đo lường hợp pháp do Ủy ban Khoa học và Kỹ thuật Nhà nước đã ban hành. Khi dùng những từ mới, cần ghi trong ngoặc đơn thuật ngữ tương ứng bằng chữ nước ngoài.

4. Các hình vẽ và ảnh rõ ràng, nên vẽ hình và dùng ảnh có chiều ngang bằng 7 cm hoặc 14 cm. Hình vẽ và ảnh phải có chú thích và để đúng vị trí trong bài.

5. Công thức trong bài viết chân phương, đúng tỷ lệ.

6. Tài liệu dẫn ghi theo thứ tự sau: Họ tên tác giả, năm xuất bản, tên báo hoặc sách, tập, số, từ trang đến trang, nhà xuất bản. Các tài liệu thuộc hệ chữ La tinh ghi nguyên văn, thuộc hệ chữ Slavơ chuyển sang chữ La tinh, thuộc hệ chữ tượng hình dịch ra tiếng Việt.

7. Bài ghi rõ họ tên, nơi làm việc.

8. Thư và bài gửi về địa chỉ: Tạp chí Sinh học, 70 Trần Hưng Đạo, Hà Nội.

9. Tạp chí không đăng những bài không theo đúng thể thức trên. Bài không đăng không trả lại bản thảo.

CONTENTS

		<i>Page</i>
1	THAI TRAN BAI : New data on leaf-crawlers <i>Pheretima</i> Kinberg, 1863 in Vietnam and a key to species of this group from the mainland of Asia.	1 - 7
2	NGUYEN XUAN DUC : New data on the cephalopod fauna (<i>Cephalopoda</i> , <i>Mollusca</i>) of Vietnam sea.	8 - 13
3	LE THANH HOA : Genetically variable triplet repeats in genome of a baculovirus used as biopesticide (HzSNPV).	14-20
4	LE GIA HY <i>et al.</i> : The screening of <i>Streptomyces</i> strains producing antibiotics against phytopathogenic fungi.	21-27
5	NGUYEN NGOC DUNG : Regeneration through somatic embryogenesis in tissue culture of <i>Polyscias fruticosa</i> (L.) Harms	28-30
6	BUI BA BONG <i>et al.</i> : Results of rice anther culture.	31-34
7	NGUYEN TUONG ANH : Gonadotropin release regulating factors in fish.	35-39
8	CAO VAN SUNG <i>et al.</i> : Effects of extract from <i>A vicennia marina</i> Bark on rodent reproductivity.	40-43
9	DUONG TRONG HIEN <i>et al.</i> : Some physio-biochemical characteristics of <i>Spirulina platensis</i> (<i>Cyanobacteria</i>) in relation with the salinity.	44-48
10	TA THI LY LUAN : Invesgation of daily foods and their protein content of mountaineers in some mountainous regions of North Vietnam.	49-52
11	CHU HOANG MAU <i>et al.</i> : Assessment of some mutant lines selected from DH ₄ and Cuc vang soybean cultivars in m ₄ generation.	53-56
12	TRAN KIEN, NGUYEN KIM TIEN : Features and time in the development of the frog (<i>Rana rugulosa</i> Wiegmann, 1825) on the breeding conditions.	57-63

TRUNG TÂM KHOA HỌC TỰ NHIÊN VÀ CÔNG NGHỆ QUỐC GIA
TẠP CHÍ SINH HỌC
TẬP 19 - SỐ 3
9 - 1997

MỤC LỤC

		<i>Trang</i>
1	THÁI TRẦN BÁI : Dẫn liệu mới về các loài giun lá (<i>Planapheretima sensu Sims and Easton, 1972</i>) được phát hiện ở Việt Nam và khóa định loại chúng.	1 - 7
2	NGUYỄN XUÂN DỤC : Dẫn liệu mới về khu hệ động vật chân đầu (<i>Cephalopoda, Mollusca</i>) ở biển Việt Nam.	8 - 13
3	LÊ THANH HÒA : Cấu trúc lặp 3 nucleotit trong hệ gen của loại virut côn trùng <i>Helicoverpa zea single nuclear polyhedrosis virus</i> .	14-20
④	LÊ GIA HY, và cộng sự : Tuyển chọn các chủng xạ khuẩn streptomycetes có hoạt tính cao chống nấm gây bệnh thực vật.	21-27
5	NGUYỄN NGỌC DUNG, NGUYỄN VĂN UYÊN : Nhân giống vô tính cây đinh lăng <i>Polyscias fruticosa</i> (L.) Harms bằng tạo phôi soma.	28-30
6	BÙI BÁ BÔNG và cộng sự : Kết quả nuôi cấy túi phấn của cây lúa.	31-34
7	NGUYỄN TƯỜNG ANH : Gonadotropin releasing hormon và các chất kháng dopamin.	35-38
8	CAO VĂN SUNG và cộng sự : Ảnh hưởng của dịch chiết từ vỏ cây mãm (<i>Avicennia marina</i>) lên khả năng sinh sản của chuột.	40-43
9	DƯƠNG TRỌNG HIỀN, và cộng sự : Một số đặc điểm sinh lý, sinh hóa của <i>Spirulina platensis</i> trong điều kiện chịu mặn NaCl.	44-48
10	TẠ THỊ LY LUÂN : Phở thức ăn và hàm lượng protein trong các loại thức ăn thường dùng của dân cư ở một số địa phương miền núi phía Bắc Việt Nam.	49-52
11	CHU HOÀNG MẬU, và cộng sự : Đánh giá một số dòng đột biến từ hai giống đậu tương DH ₄ và cúc vàng ở thế hệ M ₄ .	53-56
12	TRẦN KIÊN, NGUYỄN KIM TIẾN : Đặc điểm và thời gian biến thái của ếch đồng (<i>Rana rugulosa</i> Wiegmann, 1835) trong điều kiện nuôi.	57-63