

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

ISSN 0866-7160

tạp chí
SINH HỌC

Journal of Biology

TẬP 23 - SỐ 1

THÁNG 3-2001

HÀ NỘI 36

CV 27

HỌ RUỒI XÁM (DIPTERA: SARCOPHAGIDAE) Ở VIỆT NAM

TA HUY THỊNH

Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật

Họ Ruồi xám Sarcophagidae thuộc liên họ NHặng Calliphoridae. Ruồi xám có kích thước từ trung bình tới lớn, cơ thể màu xám tro với 3 sọc dọc màu đen trên lưng ngực. Ruồi xám đẻ ra ấu trùng và ấu trùng thường phát triển trong phân người, phân động vật hoặc xác súc vật. Một số loài ký sinh trong cơ thể động vật và gây bệnh nhiễm giòi ở người.

Cho tới nay, mới có 19 loài ruồi xám được ghi nhận có ở Việt Nam (Lopes et al., 1997; Thịnh, 1988; Fan, 1992). Công trình này công bố danh lục 40 loài, bổ sung cho khu hệ Việt Nam 21 loài. Thống kê của Lopes et al. (1997) cho biết ở vùng Đông Phương có 190 loài, nhưng sau đó nhiều loài mới cho khoa học được công bố và nhiều loài được phát hiện thêm, tới thời điểm hiện nay có khoảng 300 loài. Ở Ấn Độ, cho tới năm 1940 định loại được 59 loài; Ở Népan, cho tới năm 1994 có 40 loài; Ở Thái Lan, cho tới năm 1979 xác định được 48 loài (Senior-White, Aubertin and Smart, 1940; Tumrasvin and Kano, 1979; Kano and Shinonaga, 1994).

Họ Ruồi xám có 4 phân họ. 40 loài đã xác định được ở Việt Nam thuộc 2 phân họ Miltogramminae và Sarcophaginae. Vật mẫu nghiên cứu được lưu giữ ở Bảo tàng Khoa học Tự nhiên Tokyo, Nhật Bản; Viện Động vật học, Viện HLKH Bungari; Bảo tàng Bishop, Honolulu, Haoai và Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật. Hệ thống phân loại của Kano và Shinonaga (1994) được sử dụng.

PHÂN HỌ MILTOGRAMMINAE

Tộc Amobiini

Giống *Amobia* Robineau-Desvoidy, 1830

1*. *Amobia auriceps* (Baranov)

Pachyophthalmus auriceps Baranov, 1935, Vet. Arch. Zagreb, 5: 558.

Sphixapata pelopiei Rondani, 1859.

Pachyophthalmus alienus Dodge, 1955.

Amobia auriceps: Kano, Thịnh and Kurahashi (1999).

Phân bố: Trong nước: Sơn La.

Thế giới: Xri Lanca, Đài Loan, Philippin, Malaixia, Ôxtrâyliá, Niu Ghinê, Ha Oai và Châu Âu.

2. *Amobia quatei* Kurahashi

Amobia quatei Kurahashi, 1974, Pacif. Insect., 16(1): 8.

Phân bố: Trong nước: Lâm Đồng

Thế giới: Chưa phát hiện được ở nơi nào khác.

Tộc Miltogrammini

Giống *Miltogramma* Meigen, 1830

3. *Miltogramma augustifrons* (Townsend)

Eumiltogramma augustifrons Townsend, 1933; J. N. Y. Ent. Soc., 40: 443.

Miltogramma augustifrons: Kano, Thịnh and Kurahashi (1999).

Phân bố: Trong nước: Ninh Bình, Thanh Hóa.

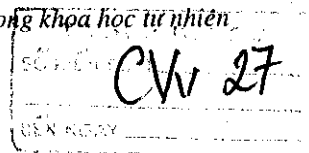
Thế giới: Ấn Độ, Lào, Thái Lan, Đài Loan, Trung Quốc, Nhật Bản, Papua Niu Ghinê

4. *Miltogramma iberica* Villeneuve

Miltogramma iberica Villeneuve, 1913, Bull. Mus. Hist. Nat. Paris: 508.

Phân bố: Trong nước: Lai Châu, Sơn La, Ninh Bình, Thanh Hóa, Nghệ An.

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



Thế giới: Ấn Độ, Đài Loan, Trung Quốc, Malaixia, Papua Niu Ghinê và Châu Âu.

Tộc Metopiini

Giống *Heteropteria* Rondani, 1859

5*. *Heteropteria multipunctata* Rondani

Heteropteria multipunctata Rondani, 1859, Proc. Dipt. Ital., 2:211.

Phân bố: Trong nước: Vĩnh Phúc, Ninh Bình, Thanh Hóa, Nghệ An.

Thế giới: Phân bố rộng ở Châu Á, Châu Âu, Châu Phi.

Giống *Metopia* Meigen, 1803

6. *Metopia nudibasis* (Malloch)

Opsidiopsia nudibasis Malloch, 1930, Proc. Linn. Soc. N. S. W., 4:439.

Metopia nudibasis: Kano, Thinh and Kurahashi (1999).

Phân bố: Trong nước: Lào Cai, Lai Châu, Nghệ An.

Thế giới: Ấn Độ, Xri Lanca, Lào, Trung Quốc, Nhật Bản, Philippin, Malaixia, Ôxtrâyliá và Châu Phi, Châu Âu.

7*. *Metopia sauteri* (Townsend)

Chaetanicia sauteri Townsend, 1932; N. Y. Ent. Soc., 40: 445.

Metopia sauteri: Kano, Thinh and Kurahashi (1999).

Phân bố: Trong nước: Lào Cai, Lai Châu, Sơn La, Ninh Bình.

Thế giới: Ấn Độ, Nê Pan, Lào, Đài Loan, Trung Quốc, Nhật Bản.

8. *Metopia tsernoave* Rohdendorf

Metopia tsernoave Rohdendorf, 1955, Bull. Brist. Mus. Nat. Hist., 6: 368.

Phân bố: Trong nước: Lai Châu, Sơn La, Hòa Bình.

Thế giới: Ấn Độ, Lào, Thái Lan, Trung Quốc và Châu Âu.

9*. *Metopia yunnanica* Chao et Zhang

Metopia yunnanica Chao et Zhang, 1988, Act. Ent. Sinica: 282.

Phân bố: Lào Cai, Lai Châu.

Thế giới: Trung Quốc, Thái Lan.

PHÂN HO SARCOPHAGINAE

Tộc Protodexiini

Giống *Blaesoxipha* Loew, 1861

10*. *Blaesoxipha rufipes* (Macquart)

Agria rufipes Macquart, 1839, Dipt. Exot.: 113.

Blaesoxipha rufipes: Kano, Thinh and Kurahashi (1999).

Phân bố: Trong nước: Lào Cai, Lai Châu, Sơn La, Hà Giang, Nghệ An.

Thế giới: Ấn Độ, Pakistan, Xri Lanca, Lào, Thái Lan, Philippin, Malaixia, Indonexia, Ôxtrâyliá và Châu Phi, Châu Âu.

Tộc Sarcophagini

Giống *Sarcorohdendorfia* Baranov, 1938

11*. *Sarcorohdendorfia antilope* (Bottcher)

Sarcophaga antilope Bottcher, 1913, Ann. Hist. Nat. Mus. Nat. Hung., 11: 374.

Sarcorohdendorfia antilope: Kano, Thinh and Kurahashi (1999).

Phân bố: Trong nước: Lào Cai, Lai Châu, Sơn La.

Thế giới: Ấn Độ, Nêpan, Đài Loan, Trung Quốc, Philippin, Malaixia, Xingapor, Indonexia, Papua Niu Ghinê, Ôxtrâyliá, Nhật Bản, Triều Tiên, Nga.

12*. *Sarcorohdendorfia inextricata* (Walker)

Sarcophaga inextricata Walker, 186, J. Proc. Linn. Soc. Lond. Zool., 4: 132.

Sarcorohdendorfia inextricata: Kano, Thinh and Kurahashi (1999).

Phân bố: Trong nước: Lai Châu, Sơn La, Ninh Bình, Hòa Bình, Nghệ An.

Thế giới: Trung Quốc, Thái Lan, Malaixia, Indonexia.

Giống *Lioproctia* Enderlein, 1928

13*. *Lioproctia beelsoni* (Senior-White)

Sarcophaga beelsoni Senior-White, 1924, Rec. Ind. Mus., 26(3): 243.

Lioproctia beelsoni: Kano, Thinh and Kurahashi (1999).

Phân bố: Trong nước: Nghệ An.

Thế giới: Ấn Độ, Nêpan, Mianma, Thái Lan, Trung Quốc, Nhật Bản.

14. *Lioproctia pattoni* (Senior-White)

Sarcophaga pattoni Senior-White, 1924, Rec. Ind. Mus., 26(3): 242.

Burmanomyia pattoni: Thinh (1988).

Lioproctia pattoni: Kano, Thinh and Kurahashi (1999).

Phân bố: Trong nước: Hòa Bình, Hà Tây, Vĩnh Phúc, Thái Bình, Thanh Hóa, Nghệ An, Gia Lai, Kon Tum, Đắk Lắk, Lâm Đồng.

Thế giới: Ấn Độ, Nêpan, Đài Loan, Thái Lan, Indônêxia, Philippin, Malaixia, Xingapo, Trung Quốc.

Giống *Phallosphaera* Rohdendorf, 1938

15*. *Phallosphaera gravelyi* (Senior-White)

Sarcophaga gravelyi Senior-White, 1924, Rec. Ind. Mus., 26(3): 229.

Phallosphaera gravelyi: Kano, Thinh and Kurahashi (1999).

Phân bố: Trong nước: Lào Cai, Lai Châu, Sơn La, Vĩnh Phúc.

Thế giới: Ấn Độ, Nêpan, Thái Lan, Đài Loan, Trung Quốc, Triều Tiên, Nhật Bản.

Giống *Fengia* Rohdendorf, 1964

16*. *Fengia ostindicae* (Senior-White)

Sarcophaga ostindicae Senior-White, 1924, Rec. Ind. Mus., 26(3): 233.

Fengia ostindicae: Kano, Thinh and Kurahashi (1999).

Phân bố: Trong nước: Lào Cai, Lai Châu, Sơn La, Vĩnh Phúc.

Thế giới: Ấn Độ, Đài Loan, Thái Lan, Trung Quốc.

Giống *Sarcophaga* Rohdendorf, 1937

17*. *Sarcophaga membranocorporis* Sugiyama

Sarcophaga membranocorporis Sugiyama, 1987, Jap. Sanit. Zool., 38: 73.

Pterosarcophaga membranocorporis: Kano, Thinh and Kurahashi (1999).

Phân bố: Trong nước: Ninh Bình.

Thế giới: Đài Loan.

Giống *Kalshovenella* Baranov, 1941

18*. *Kalshovenella flavibasis* Baranov

Kalshovenella flavibasis Baranov, 1941, Vet. Arch. Zagreb, 11: 403.

Pierretia otiophalla Fan et Chen, 1982.

Phân bố: Trong nước: Ninh Bình.

Thế giới: Trung Quốc, Indônêxia.

Giống *Boettcherisca* Rohdendorf, 1937

19*. *Boettcherisca nathani* Lopes

Boettcherisca nathani Lopes, 1961, Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 59(1): 79.

Phân bố: Trong nước: Lào Cai, Lai Châu, Sơn La, Hòa Bình, Vĩnh Phúc, Hà Tây, Ninh Bình, Thanh Hóa, Nghệ An.

Thế giới: Ấn Độ, Pakistan, Nêpan, Trung Quốc, Thái Lan, Philippin, Malaixia, Indônêxia.

20. *Boettcherisca peregrina* (Robineau-Desvoidy)

Myophora peregrina Robineau-Desvoidy, 1930, Mem. Pres. Acad. Sci. Inst. Fr., 2(2): 356.

Boettcherisca peregrina: Thinh (1988); Kano, Thinh and Kurahashi (1999).

Phân bố: Trong nước: Lào Cai, Lai Châu, Sơn La, Hòa Bình, Hà Giang, Bắc Giang, Bắc Ninh, Vĩnh Phúc, Hà Tây, Ninh Bình, Yên Bái, Thanh Hóa, Nghệ An, Thái Bình, Gia Lai, Kon Tum, Đắk Lắk, Lâm Đồng.

Thế giới: Ấn Độ, Nêpan, Butan, Mianma, Trung Quốc, Nhật Bản, Triều Tiên, Thái Lan, Philippin, Malaixia, Indônêxia, Ôxtrâyliá.

Giống *Hosarcophaga* Shinonaga et Tumrassvin, 1979

21*. *Hosarcophaga seratta* (Ho)

Sarcophaga seratta Ho, 1938, Ann. Trop. Med. Parasit., 32(2): 120.

Hosarcophaga seratta: Kano, Thinh and Kurahashi (1999).

Phân bố: Trong nước: Ninh Bình.

Thế giới: Đài Loan, Thái Lan, Indônêxia.

Giống *Bercaea* Robineau - Desvoidy, 1862

22*. *Bercaea africa* (Wiedemann)

Musca africa Wiedemann, 1824, Auss. Zwei. Insect.: 49.

Bercaea africa: Kano, Thinh and Kurahashi (1999).

Phân bố: Trong nước: Lào Cai.

Thế giới: Phân bố rộng ở Châu Âu, Châu Úc, Châu Phi và Châu Áu.

Giống *Seniorwhitea* Rohdendorf, 1937

23. *Seniorwhitea orientaloides* (Senior-White)

Sarcophaga orientaloides Senior-White, 1924, Rec. Ind. Mus., 26(3): 244.

Sarcophora bramerii Boettcher, 1912.

Sarcophora sinica Rohdendorf, 1930.

Seniorwhitea orientaloides: Thinh (1988).

Phân bố: Trong nước: Gia Lai, Kon Tum, Đắc Lắc, Lâm Đồng, Đồng Nai, Bình Phước, Tiền Giang.

Thế giới: Ấn Độ, Nêpan, Xri Lanca, Mianma, Trung Quốc, Lào, Malaixia, Thái Lan, Xingapore, Ha Oai.

24. *Seniorwhitea princeps* (Wiedemann)

Sarcophaga princeps Wiedemann, 1930, Auss. Zwei. Insect.: 359.

Seniorwhitea princeps: Kano, Thinh and Kurahashi (1999).

Phân bố: Trong nước: Lào Cai, Lai Châu, Sơn La, Vĩnh Phúc, Hà Tây, Nghệ An.

Thế giới: Ấn Độ, Nêpan, Butan, Xri Lanca, Mianma, Đài Loan, Trung Quốc, Lào, Malaixia, Thái Lan, Xingapore, Indônêxia.

Giống *Harpagophalla* Rohdendorf, 1937

25*. *Harpagophalla kempii* (Senior-White)

Sarcophaga kempii Senior-White, 1924, Rec. In. Mus., 26(3): 247.

Sarcophaga sera Rohdendorf, 1930.

Harpagophalla kempii: Kano, Thinh and Kurahashi (1999).

Phân bố: Trong nước: Ninh Bình, Nghệ An.

Thế giới: Ấn Độ, Nêpan, Xri Lanca, Mianma, Trung Quốc, Lào, Malaixia, Thái Lan, Xingapore, Indônêxia, Philippin, Papua Ni Ghinê.

Giống *Parasarcophaga* Johnson and Tieg, 1921

26. *Parasarcophaga albiceps* (Meigen)

Sarcophaga albiceps Meigen, 1826, Syst Europ. Zwei. Insect., 5: 22.

Parasarcophaga albiceps: Thinh (1988).

Phân bố: Trong nước: Lào Cai, Lai Châu, Sơn La, Hòa Bình, Hà Giang, Quảng Ninh, Thanh Hóa, Nghệ An, Gia Lai, Kon Tum, Đắc Lắc, Lâm Đồng, Đồng Nai, Bình Phước.

Thế giới: Ấn Độ, Pakistan, Nêpan, Mianma, Đài Loan, Trung Quốc, Nhật Bản, Triều Tiên, Thái Lan, Philippin, Malaixia, Indônêxia, Xingapore, Nga.

27*. *Parasarcophaga aratrix* (Pandelle)

Sarcophaga aratrix Pandelle, 1896: 191.

Parasarcophaga aratrix: Kano, Thinh and Kurahashi (1999).

Phân bố: Trong nước: Vĩnh Phúc.

Thế giới: Phân bố rộng ở vùng Cổ Bắc.

28. *Parasarcophaga brevicornis* (Ho)

Sarcophaga brevicornis Ho, 1934: 23.

Parasarcophaga brevicornis: Thinh (1988); Kano, Thinh and Kurahashi (1999).

Phân bố: Trong nước: Lào Cai, Sơn La, Nghệ An, Gia Lai, Đắc Lắc, Lâm Đồng, Tp. Hồ Chí Minh.

Thế giới: Nhật Bản, Trung Quốc, Ấn Độ, Nêpan, Pakistan, Myanma, Thái Lan, Philippin, Malaixia, Xingapo, Indônêxia, Triều Tiên, Nga.

29*. *Parasarcophaga doleschali* (Johnson and Tiges)

Sarcophaga doleschali Johnson and Tieg, 1921, Proc. R. Soc., 33(4): 73.

Sarcophaga javana Macquart, 1851.

Parasarcophaga doleschali: Lopes et al. (1977).

Phân bố: Trong nước: Lào Cai, Lai Châu, Sơn La, Vĩnh Phúc, Nghệ An.

Thế giới: Ấn Độ, Nêpan, Trung Quốc, Malaixia, Indônêxia.

30. *Parasarcophaga hirtipes* (Wiedemann)

Sarcophaga hirtipes Wiedemann, 1983, Auss. Zwei. Insect., 2: 361.

Parasarcophaga hirtipes: Thịnh (1988).

Phân bố: Trong nước: Gia Lai, Đắc Lắc, Lâm Đồng.

Thế giới: Ấn Độ, Nêpan, Trung Quốc, Nhật Bản, Ai Cập và Châu Âu.

31*. *Parasarcophaga iwuensis* (Ho)

Sarcophaga iwuensis Ho, 1934, Bull. Fan. Mem. Inst. Biol., 5: 34.

Parasarcophaga iwuensis: Fan (1992).

Phân bố: Trong nước: Lào Cai, Ninh Bình, Nghệ An.

Thế giới: Pakistan, Nêpan, Butan, Trung Quốc, Đài Loan, Thái Lan.

32*. *Parasarcophaga khasiensis* (Senior-White)

Sarcophaga khasiensis Senior-White, 1924, Rec. Ind. Mus., 26(3): 246.

Parasarcophaga khasiensis: Kano, Thinh and Kurahashi (1999).

Phân bố: Trong nước: Lào Cai, Lai Châu.

Thế giới: Ấn Độ, Nêpan, Butan, Trung Quốc, Thái Lan.

33. *Parasarcophaga knabi* (Parker)

Sarcophaga knabi Parker, 1917, Proc. US. Nat., Mus., 54: 66.

Parasarcophaga knabi: Thịnh (1988).

Phân bố: Trong nước: Gia Lai, Đắc Lắc, Lâm Đồng.

Thế giới: Ấn Độ, Nêpan, Xrilanca, Mianma, Trung Quốc, Malaixia, Philippin, Indônêxia, Niu Ghinê, Ôxtrâylia.

34. *Parasarcophaga misera* (Walker)

Sarcophaga misera Walker, 1849, List. Dipt. Brit. Mus., 4: 849.

Sarcophaga dux Thomson, 1868.

Parasarcophaga misera: Thịnh (1988).

Phân bố: Trong nước: Lào Cai, Lai Châu, Sơn La, Hòa Bình, Hà Giang, Tuyên Quang, Bắc Quảng Trị, Gia Lai, KonTum, Đắc Lắc, Lâm Đồng, Tiền Giang.

Thế giới: Phân bố rộng ở Châu Á và Châu Úc.

35. *Parasarcophaga orchidea* (Boettcher)

Sarcophaga orchidea Boettcher, 1913, Ann. Hist. Nat. Mus. Nat. Hung., 11: 375.

Parasarcophaga orchidea: Thịnh (1988).

Phân bố: Trong nước: Gia Lai, Kon Tum, Lâm Đồng, Bình Phước.

Thế giới: Ấn Độ, Nêpan, Xrilanca, Mianma, Trung Quốc, Đài Loan, Thái Lan, Philippin, Indônêxia, Nhật Bản, Niu Ghinê, Ôxtrâylia.

36*. *Parasarcophaga ruficornis* (Fabricius)

Musca ruficornis Fabricius, 1794, Fab. Ent. Syst.: 314.

Parasarcophaga exuberans: Thịnh (1988).

Parasarcophaga ruficornis: Lopes (1958).

Phân bố: Trong nước: Gia Lai, Đắc Lắc.

Thế giới: Ấn Độ, Xrilanca, Trung Quốc, Thái Lan, Philippin, Indônêxia, Malaixia, Nhật Bản, Ha Oai, Madagasca và Nam Mỹ.

37. *Parasarcophaga scopariiformis* Senior-White

Parasarcophaga scopariiformis Senior-White, 1927, Spolia Zeylan, 14: 82.

Phân bố: Trong nước: Gia Lai, Lâm Đồng

Thế giới: Xri Lanca, Lào, Trung Quốc.

38. *Parasarcophaga taenionata* (Wiedemann)

Sarcophaga taenionata Wiedemann, 1830, Auss. Zwei. Insect., 2: 361.

Parasarcophaga taenionata: Kano, Thinh and Kurahashi (1999).

Phân bố: Trong nước: Lào Cai, Lai Châu, Sơn La, Hòa Bình, Hà Giang, Tuyên Quang, Thái Nguyên, Bắc Ninh, Hà Tây, Vĩnh Phúc, Ninh Bình, Thanh Hóa, Nghệ An.

Thế giới: Phân bố rộng ở Châu Á, Châu Úc.

39. *Parasarcophaga yunnanensis* Fan

Parasarcophaga yunnanensis Fan, 1965, Key comm. flies China: 276.

Phân bố: Trong nước: Sơn La, Hà Tây, Ninh Bình, Nghệ An, Gia Lai, Đắk Lắk, Lâm Đồng.

Thế giới: Trung Quốc, Pakistan, Nêpan, Thái Lan.

Giống *Sinonipponia* Rohdendorf, 1965

40 *Sinonipponia hainanensis* Ho

Sinonipponia hainanensis Ho, 1936, Bull. Fan. Mem. Inst. Biol., 6: 210.

Phân bố: Trong nước: Quảng Ninh, Thái Bình, Thanh Hóa, Quảng Trị, Gia Lai.

Thế giới: Trung Quốc.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Fan Zide, 1992: Key to comon flies of

China: 210-690, Second Edit., Beijing.

2. Kano R., S. Shinonaga, 1994: Jpn. J. Sanit. Zool, 45: 253-275.
3. Kano R., S. Shinonaga, 1983: Jpn. J. Sanit. Zool, 34: 43-48.
4. Kano R., T. H. Thinh, H. Kurahashi, 1999: Bull. Nat. Sci. Mus., 25(2): 129-141.
5. Kurahashi H., 1974: Pacif. Insects, 16(1): 57-60.
6. Lopes S., R. Kano, S. Shinonaga, H. Kurahashi, 1977: A catalog of Diptera of the Oriental region, Fam. Sarcophagidae: 357-383, Univ. Pres. Hawaii, Honolulu.
7. Senior White R., D. Aubertin, J. Smart, 1940: The fauna of Bristish India, Subfan. Sarcophaginae: 208-281, London.
8. Sugiyama E., 1988: Jap. J. Sanit. Zool., 40: 113-124.
9. Tạ Huy Thịnh, 1988: Tạp chí Sinh học, 10(3+4): 10-16.
10. Tumrasvin W., R. Kano, 1979: Bull. Tokyo Med. Dent. Univ., 26(2): 149-179.

FLESH FLIES (DIPTERA: SARCOPHAGIDAE) FROM VIETNAM

TA HUY THINH

SUMMARY

The family *Sarcophagidae* from Vietnam is revised. A catalog of 40 flesh fly species is given, of which 21 species are newly recorded in Vietnam: *Amobia auriceps*, *Metopia sauteri*, *Metopia yunnanica*, *Blaesoxipha rufipes*, *Sarcorohdendorfia antilope*, *Sarcorohdendorfia inextricata*, *Lioproctia beelsoni*, *Phallosphaera gravelyi*, *Fengia ostindicae*, *Sarcophaga membranocorporis*, *Kalshovenella flavibasis*, *Boettcherisea nathani*, *Hosarcophaga seratta*, *Bercaea africa*, *Harpagophalla kempfi*, *Parasarcophaga aratrix*, *P. doleschali*, *P. iwuensis*, *P. khasiensis* and *P. ruficornis*.

Ngày nhận bài: 12-10-2000

BỐN LOÀI TUYẾN TRÙNG THỰC VẬT KÝ SINH MANG TRUYỀN VIRUT THUỘC HAI HỌ DIPHTEROPHORIDAE (MICOLETZKI, 1922) THORNE, 1935 VÀ LONGIDORIDAE THORNE, 1935 Ở VIỆT NAM

NGUYỄN NGỌC CHÂU, NGUYỄN VŨ THANH

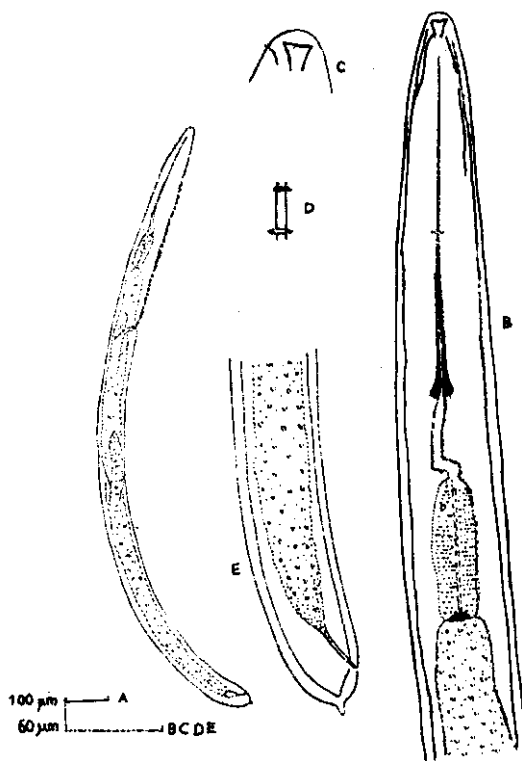
Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật

Các loài tuyến trùng ký sinh mang truyền virus gây bệnh cho thực vật thuộc 3 họ là Longidoridae Thorne, 1935 (Bộ Dorylaimida Pearse, 1941), Trichodoridae (Thorne, 1935) Clark, 1961 và Diphterophidae (Micoletzki, 1922) Thorne, 1935 (Bộ Triplonchida Cobb, 1920) được xếp vào nhóm tuyến trùng ký sinh gây hại quan trọng đối với cây trồng. Tuy nhiên, nhóm tuyến trùng này còn rất ít được nghiên cứu ở nước ta do phân bố ở các tầng đất sâu nên việc thu mẫu, phân lập chúng thường khó khăn hơn. Mặt khác, việc định loại nhóm này cũng gặp nhiều khó khăn do chưa được nghiên cứu phân loại đầy đủ trên quy mô toàn thế giới. Hiện tại ở nước ta mới công bố chính thức 9 loài thuộc nhóm ký sinh gây hại này [8].

Bốn loài truyền thống được phân lập từ đất quanh rễ của một số cây trồng ở các tỉnh phía Bắc và miền Trung Việt Nam. Trong số này, loài *Diphterophora perplexans* là một trong những dạng rất hiếm gặp, ngay cả đối với khu hệ thế giới, ở khu vực Đông Nam Á và lần đầu tiên được phát hiện ở Việt Nam.

Mẫu vật được thu thập theo phương pháp Cobb, 1918 với sự cải tiến của Nguyễn Ngọc Châu và Nguyễn Vũ Thanh, 1993. Các tiêu bản cố định và được lưu giữ tại Phòng Tuyến trùng học, Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật (DPN-IEBR), đường Hoàng Quốc Việt, Hà Nội.

mm; a = 20-21; b = 4,7-4,8; c = 21-23; c' = 1,4-1,5; V = 53,3-57%; stylet = 17-18 μ m.



Hình 1. *Xiphinema brasiliense*. Con cái: A. Toàn bộ cơ thể; B. Phần trước cơ thể với kim hút và thực quản; C. Vùng đầu và amphid; D. Vòng dẫn kim hút; E. Phần sau cơ thể (Theo Nguyễn Ngọc Châu & Nguyễn Vũ Thanh, 2001)

DIPHTEROPHORA PERPLEXANS (COBB, 1913) DE CONINCK 1931 (Hình 1, A-D)

Mẫu vật phân lập từ đất quanh rễ cam Sapa, Lao Cai. Số đo: Con cái (n = 3); L = 0,54-0,58

Mô tả: Con cái: Cơ thể có kích thước trung bình, hơi cong về phía bụng khi xử lý nhiệt. Vỏ cutin mỏng, nhẵn. Vùng đầu tròn, các môi dạng nhú. Amphid lớn có dạng ovan, chiều rộng của nó bằng 1/2 chiều rộng đầu. Ở mặt lưng của kim hút leo rộng tạo thành dạng vòm và có 2 cấu trúc dạng que dày. Phần trước của thực quản hẹp; phần sau loe rộng tạo thành dạng điều hình chóp dài. Có 2 buồng trứng trải dài cân đối về hai phía củ vulva. Đuôi hình chóp cong lồi về phía lưng, chóp đuôi tròn không cân đối; chiều dài đuôi bằng khoảng 1,5 chiều rộng cơ thể tại hậu môn.

Con đực: spicule có cấu tạo đơn giản, hơi cong về phía bụng, hẹp lại dạng chóp ở phía trước, tận cùng tù.

Cây chủ: Ký sinh ở các cây cam, chanh (*Citrus* sp.) ở Mỹ, dâu tây (*Fragaria vulgaris*) ở Ba Lan, bông (*Gosypium* sp.) ở Tadgixtan. Ở ta gặp ở cam (*Citrus aurantium*), hồng quả (*Diospyros* sp.), mạn (*Armenica vulgaris*).

Nơi phát hiện: Lao Cai (Sapa), Thanh Hóa (Tĩnh Gia).

XIPHINEMA BRASILIENSE LORDELLO & DA COSTA, 1961
(Hình 1. A - H)

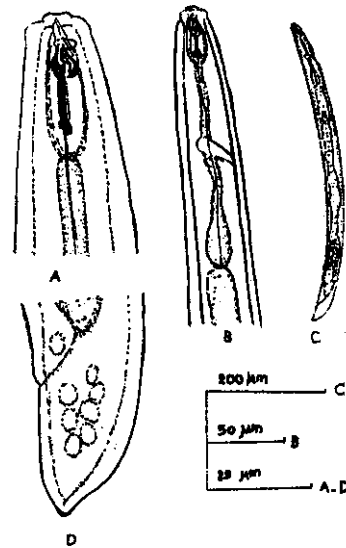
Mẫu phân được phân lập từ đất quanh rễ quê Trà My. Số đo: Con cái (n = 12); L = 1,748 (1576-1930) mm; a = 28,6 (25,5-36,1); b = 4,5 (4,0-5,3); c = 60,1 (52-71,3); c' = 0,80 (0,65-09); V = 35,8 (30,9-373%); odontostyle = 133,7 (103,3-154,8) μ m; odontophore = 74,8 (69,4-81,8) μ m; stylet = 199,8-233,1 μ m.

Mô tả: Con cái: Cơ thể hơi uốn cong về phía bụng và thon dần về hai phía đầu và đuôi từ giữa cơ thể. Đầu có hình bán cầu, với chiều rộng của đầu bằng 1/3 chiều rộng cơ thể tại vùng thực quản và hầu như không phân biệt với đường viền cơ thể. Vòng dẫn bao xung quanh stylet ở vị trí khoảng 1/5 chiều dài của odontostyle. Phần trước thực quản dài và thường hơi gấp khúc ở nơi tiếp giáp với điều sau. Phần sau thực quản được cơ hóa và có dạng điều hình trụ với chiều dài bằng 1,6 lần chiều rộng cơ thể tại vùng thực quản. Vulva vuông góc hoặc lệch một góc so với thân và thường nằm ở vị trí cách đầu khoảng hơn 1/3 chiều dài cơ thể; vagina nằm ngang, có

chiều dài nhỏ hoặc bằng 1/2 chiều rộng cơ thể tại vulva. Hệ sinh dục với 1 buồng trứng trải dài về phía sau, phần sau buồng trứng được gấp khúc ngược lại. Đuôi hình trụ tròn, cân đối phần cuối đuôi có hình núp vú với 1 mẫu lồi ở giữa mút đuôi.

Cây chủ: Trong đất quanh rễ cây quế (*Cinnamomum cassia*).

Nơi phát hiện: Quảng Nam (Trà My).



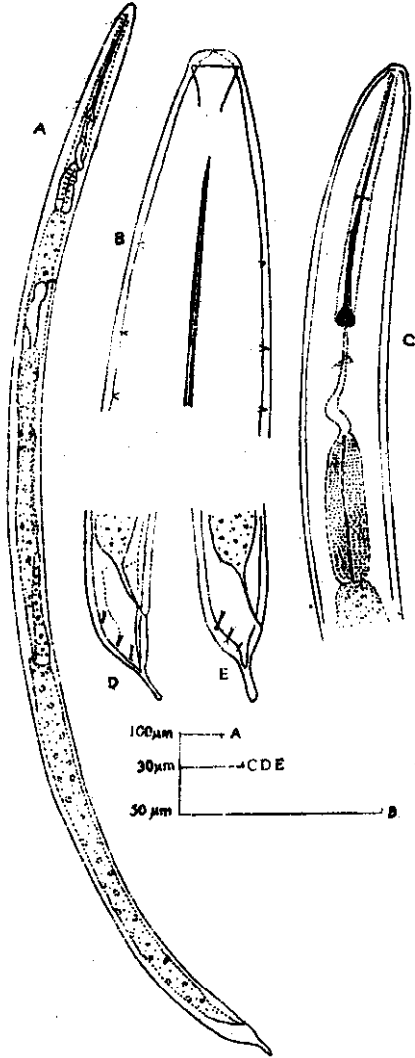
Hình 1. *Dipterophora perplexans*. Con cái: A. Phần đầu và cấu tạo kim hút; B. Phần trước cơ thể và thực quản; C. Toàn bộ cơ thể; D. Phần đuôi (Theo Nguyễn Ngọc Châu & Nguyễn Vũ Thanh, 2001)

XIPHINEMA RADICICOLA GOODEY, 1936
(Hình 3. A-E)

Mẫu vật từ Hà Tĩnh, Việt Nam. Số đo: Con cái (n = 6); L = 2183-2396 mm; a = 43,2-51,6; b = 5,5-6,5; c = 41,9-48,0; c' = 1,5-1,8; V = 27,2-29%; odontostyle = 105-108,6 μ m; odontophore = 58,7-65,8 μ m; stylet = 163,7-173,5 μ m.

Mô tả: Con cái: Vùng đầu hơi phân biệt với đường viền của cơ thể; chiều rộng của đầu bằng hoặc nhỏ hơn 1/4 chiều rộng cơ thể tại vùng thực quản. Phần gốc của odontostyle có cấu tạo hình xiên điển hình; odontophore loe rộng về phía sau và tạo thành 3 núp rộng ở gốc. Vòng dẫn kim hút nằm ở phần sau của khoảng 1/3 chiều dài của odontostyle. Van thực quản-ru

det. Hệ sinh dục kiểu mono-opisthodelphic với một buồng trứng nằm về phía sau vulva; phần cuối của noãn bào gấp khúc ngược lại; cơ quan "Z" không có trong tử cung. Vulva nằm ở phía trước, cách đầu một khoảng cách nhỏ hơn 1/3 chiều dài cơ thể. Đuôi hình chóp lồi, phần kéo dài của tận cùng đuôi có mấu đuôi hình ngón tay. Trên đuôi có 2 nhú đuôi.



Hình 3. *Xiphinema radicicola*. Con cái: A. Toàn bộ cơ thể; B. Vùng đầu và amphid; C. Phần trước cơ thể với kim hút và thực quản; D, E. Vùng đuôi (Theo Nguyễn Ngọc Châu & Nguyễn Vũ Thanh, 2001)

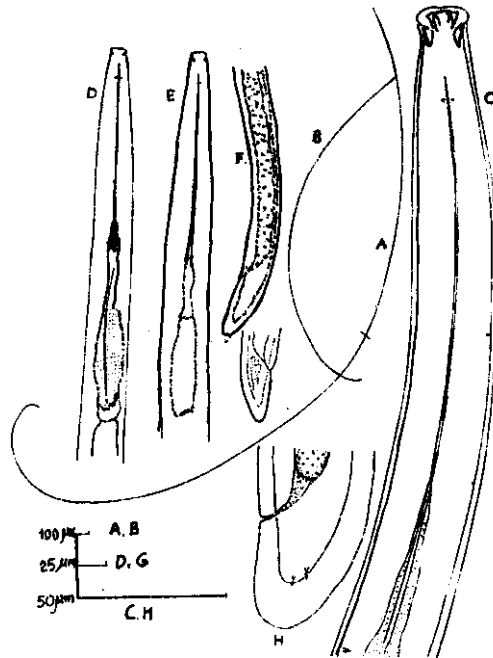
Con đực: Về đặc điểm chung giống như con cái ngoại trừ các đặc điểm giới tính. Cũng như ở

hầu hết các loài của giống con đực rất hiếm trong các quần thể của loài. Ở Việt Nam mới gặp 1 cá thể ở quần thể ký sinh ở lúa nương Hòa Bình.

Cây chủ: Đất quanh rễ chè (*Camellia sinensis*), cam (*Citrus aurantium*), đậu tương (*Glycine soja*), bạch đàn (*Eucaliptus* sp.), lúa nương (*Oryza* sp.), phi lao (*Sequoia sempervirens*), chuối (*Musaparadisiaca* var. *sapientum*).

Nơi phát hiện: Phú Thọ (Phú Hộ, Võ Miên), Hải Phòng (Mỹ Đức), Thái Bình (Kiến Xương), Hòa Bình (Cao Phong, Đà Bắc), Thanh Hóa (Thống Nhất), Nghệ An (Quỳnh Châu), Hà Tĩnh (Nghị Lộc). Trên thế giới loài này được phát hiện ở Thái Lan, Ấn Độ, Xri Lanka, Ô xtrâyliá.

PARALONGIDORUS (SIDDIQIA) CITRI
(SIDDIQI, 1959) HUNT, 1993
(Hình 4)



Hình 4. *Paralongidorus (Siddiqia) citri*. Con cái: A. Hình dạng chung; C. Phần trước cơ thể với kim hút; H. Phần đuôi. Ấu trùng: B. Hình dạng chung; D. Phần trước cơ thể; E, F: Phần sau và đuôi (Theo Nguyễn Ngọc Châu & Nguyễn Vũ Thanh, 2001)

Mẫu vật từ Hà Tĩnh. Số đo: Con cái (n = 10); L = 7,37-7,5 mm; a = 134-152; b = 137-

145; c=164-235; V =46-50%; stylet = 126-154 μ m.

Mô tả: Con cái: Kích thước cơ thể lớn và rất dài, hình sợi dây. Khi cố định tuyến trùng thường cong về phía bụng thậm chí có thể xoắn lại nhiều vòng. Đầu nhô cao, phình rộng và phân biệt rất rõ với đường viền của cơ thể. Amphid hình bàn đạp, lỗ amphid hình khe, có chiều dài bằng khoảng 2/3 chiều rộng của vùng môi. Odontostyle mảnh và dài, có gốc đơn giản; odontophore có phân gốc hơi loe rộng nhưng không tạo thành dạng nấm gốc như ở *Xiphinema*. Van thực quản-ruột dạng chóp tù. Hệ sinh dục cái kiểu amphididelphic, với 2 buồng trứng đối xứng và phát triển như nhau. Đuôi ngắn, hình bán cầu, chiều dài của đuôi bằng hoặc nhỏ hơn chiều rộng của cơ thể tại hậu môn.

Con đực: không thấy.

Cây chủ: Trong đất quanh rễ bông (*Morus alba*), mía đường (*Saccharum officinarum*) và vừng (*Sesamum indicum*).

Nơi phát hiện: Thái Bình, Vĩnh Phú, Hà Tĩnh, Nghệ An.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Cohn, E. and Sher, S. A., 1972: A contribution to the taxonomy of the genus *Xiphinema* Cobb, 1913, J. Nematology 4: 36-65.
2. Eroshenko A. S., Nguyen N. C., Nguyen V. T. and Doan C., 1985: Parasitic Phytonematode of North Vietnam. USSR Acad. Sci. Leningrad: 128pp (in Russian).
3. Hunt D. J., 1993: Aphelenchida Longidoridae and Trichodoridae: Thei Systematics and Bionomics. CABI International, UK: 352 pp.
4. Hutsebaut M., Hyens J. and Coomans A. 1998: The genus *Xiphinema* in Southern Africa. XVIII. A study of the *Z. zulu* and *X. mampara* species complex (Nematoda Dorylaimida). *Nematologica* 34: 373-400.
5. Ivanova I. S., 1977: Kornevye nematody-virusonositeli podotrojada Diphtherophorina Izdatel'stvo "Nauka", Leningrad: 93p (in Russian).
6. Lordello L. G. E., 1995: *Xiphinema brasiliense* nova especie de nematode de Brasil, parasita de *Solanum tuberosum* L. *Bragantia* 11: 87-90.
7. Siddiqi M. R., 1959: Studies on *Xiphinema* sp. (Nematoda: Dorylaimoidea) from Aligrah (North India), with comments on the genus *Longidorus* Micoletzky, 1992. *Proc. Helminth. Soc. Wash.* 26: 151-163.
8. Nguyễn Ngọc Châu và Nguyễn Vũ Thanh, 2000: Tuyến trùng ký sinh thực vật ở Việt Nam. NXB Khoa học và Kỹ thuật Hà Nội, 403 trang.

FOUR VIRUS VECTOR NEMATODE SPECIES OF THE FAMILIES DIPHTEROPHORIDAE (MICOLETZKI, 1922) THORNE, 1935 AND LONGIDORIDAE THORNE, 1935 FROM VIETNAM

NGUYEN NGOC CHAU, NGUYEN VU THANH

SUMMARY

Four species of Diptherophoridae and Longidoridae as first records for Vietnam, namely: *Diptherophora perplexans*, *Xiphinema brasiliense*, *Xiphinema radiccicola* and *Paralongidorus (Siddiqi) citri* were found in rhizosphere of crops and wild plants in Northern and Central regions of Vietnam.

The measurements and redescriptions with some comments of these species are presented.

They are considered as very rare virus-vector nematodes species in the world.

Ngày nhận bài: 6-3-2000

MỘT SỐ ĐẶC ĐIỂM HÌNH THÁI CỦA LOÀI *RAILLIETIELLA ORIENTALIS* (HETT, 1915) SAMBON, 1922 (PENTASTOMIDA)

ĐẶNG TẮT THẾ

Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật

Raillietiella orientalis là loài Chân khớp ký sinh thuộc lớp Pentastomida lần đầu tiên được phát hiện và mô tả ở Việt Nam (Đặng Tất Thế, 1999). Đây là loài ký sinh nguy hiểm cho nhiều loài rắn, chúng có khả năng gây dịch và làm chết hàng loạt rắn nuôi nhốt tập trung. Vì vậy, nghiên cứu kỹ về mặt hình thái loài ký sinh quan trọng này để tạo cơ sở khoa học cho việc chẩn đoán và phòng chống chúng là rất cần thiết, góp phần phát triển nghề nhân nuôi và bảo tồn một số loài bò sát ở nước ta.

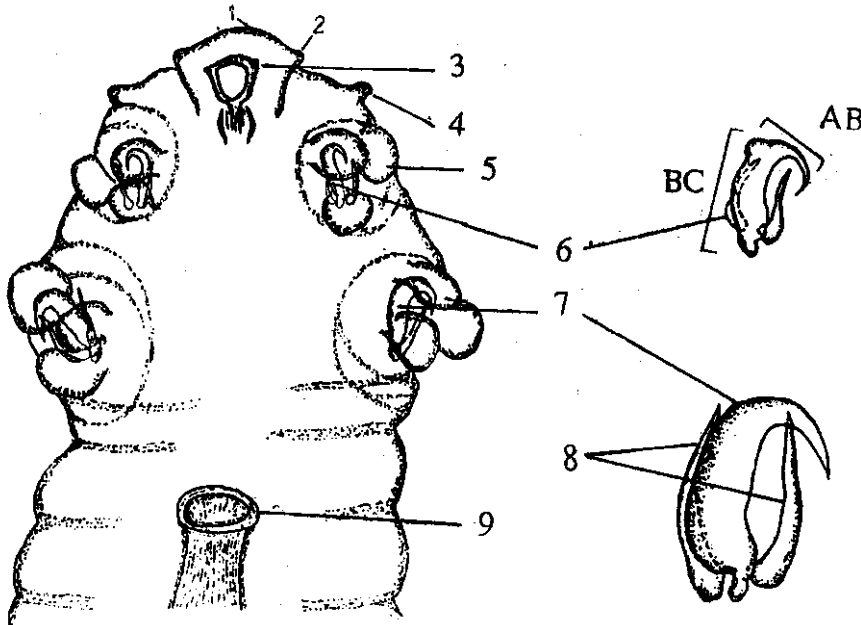
Mẫu vật được thu thập qua mổ khám vật chủ ở nhiều tỉnh phía Bắc, định hình trong cồn 70%. Dùng phương pháp gầy nhiễm nhân tạo để thu và xác định tuổi mẫu vật. Làm trong mẫu vật bằng hỗn hợp glyxerin-axit axetic. Quan sát, đo, vẽ qua kính hiển vi quang học. Dưới đây mô tả hình thái các giai đoạn phát triển của *R.*

orientalis:

Cá thể trưởng thành:

Con cái: Cơ thể hình giun, tiết diện gần tròn hơi dẹt ở mặt bụng. Vỏ cơ thể nhẵn, phân đốt ngoài tạo các lần hơi gồ lên, các đốt phía trước ngắn và đều, các đốt phía sau dài hơn, cuối cơ thể có 2 cánh đuôi nhỏ. Cơ thể có từ 36 đến 48 (TB: 41) đốt, xác định chính xác số đốt là khá khó khăn, tùy chất lượng tiêu bản. Kích thước cơ thể từ 30-78 × 1,6-2,5 mm.

Phần đầu ngực có dạng tam giác (hình 1) mang vòi, đôi móc trước và đôi móc sau. Vòi ở đỉnh mút trước cơ thể, ngắn và có dạng gần như hình thang phía trên hơi tròn, đôi nhú vòi hướng lên ở 2 bên đỉnh vòi. Có một đôi nhú lưng lớn, nằm ở giữa vòi và móc trước.



Hình 1. Phần đầu ngực cá thể cái: 1. Vòi; 2. Nhú vòi; 3. Miệng; 4. Nhú lưng; 5. Thùy móc; 6. Móc trước; 7. Móc sau; 8. Mấu chân bên; 9. Lỗ sinh dục

Miệng và tổ hợp miệng nằm ở phần vôi, bao gồm một số cấu trúc kitin hóa nằm trong một phễu miệng gắn tròn. Lỗ miệng là một cái khung kitin hình chuông ngược, dưới đáy có một mấu lớn với một số gai hướng về phía sau. Kích thước lỗ miệng từ 0,225-0,280 × 0,200-250 mm (TB: 0,244 × 0,216 mm). Có một đôi gai kitin lớn, hình lưỡi hái có răng ở mặt trong, nằm ở hai bên phía dưới phần mấu, dài từ 0,155 - 0,185 mm (TB: 0,167 mm).

Hai đôi móc nằm trong những hố lõm bán nguyệt, móc trước nhỏ hơn móc sau. Xung quanh mỗi móc có 3 thùy móc nằm ở phía trên và 2 bên bao phủ lấy móc. Mỗi móc bám kèm theo hai mấu chân bên (lobeparapodia) bụng và mấu chân bên lưng có dạng dấu phẩy ngược, nằm ở 2 bên sườn móc. Móc hình lưỡi hái, gồm phần lưỡi móc (blade) và phần chân móc (shank). Kích thước (mm) móc và mấu chân bên như sau:

Móc trước: Lưỡi móc (AB) từ 0,195 - 0,252 (TB: 0,218)

Chân móc (BC) từ 0,360-410 (TB: 0,381)

Mấu chân bên 0,270-0,315 (TB: 0,293)

Móc sau: Lưỡi móc (AB) từ 0,260-0,305 (TB: 0,281)

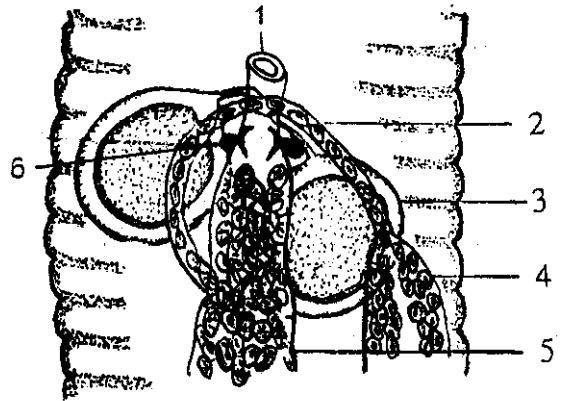
Chân móc: (BC) 0,470-0,515 (TB: 0,487)

Mấu chân bên dài từ 0,350-0,415 (TB: 0,369)

Sau miệng là một đoạn trước hầu ngắn, nhỏ, nối với hầu có kích thước rộng hơn. Ruột nằm ở mặt bụng cơ thể, to và gập như thẳng, phần ruột trước ngắn và phình rộng ngay sau hầu, thu nhỏ lại ở ngang gốc gai giao phối, rồi lại phình rộng và chạy suốt đến tận hậu môn ở mút sau cơ thể, giữa gốc hai cánh đuôi.

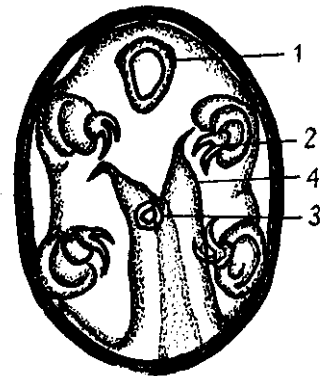
Lỗ sinh dục hình ovan nằm ở cuối vòng đốt thứ hai. Âm đạo ngắn, giữa âm đạo và tử cung có hai thanh kitin hình bán nguyệt úp vào nhau (hình 2) như cái van tử cung. Buồng trứng hình ống dẹt nằm ở đỉnh lưng, bắt đầu từ ngang phần sau túi nhận tinh kéo dài đến gần cuối cơ thể. Ống dẫn trứng dài và nhỏ, chỉ chứa được một hàng trứng, bắt đầu từ đốt 6-7 phần trước cơ thể, chạy vòng cung xuống phía dưới, qua phần âm đạo và nối vào tử cung ở mặt bụng. Tử cung nằm ở mặt lưng, rất lớn và chạy dài đến gần cuối của cơ thể, ở các cá thể lớn, tử cung chiếm tới ba phần tư khoang cơ thể. Túi nhận tinh

(seminal receptacle) có kích thước biến đổi lớn trung bình 1,20-0,61 mm.



Hình 2. Cấu tạo phần trước của hệ sinh dục cái:

1. Lỗ sinh dục; 2. Ống dẫn trứng; 3. Túi nhận tinh; 4. Buồng trứng; 5. Tử cung; 6. Van tử cung



Hình 3. Trứng chín: 1. Miệng; 2. Vuốt; 3. Lỗ sinh dục; 4. Cánh đuôi

Trứng trong tử cung có dạng ovan và luôn tồn tại đồng thời 3 dạng trứng: trứng phát triển thành thực (trứng chín), trứng đang phát triển và trứng chưa phát triển (trứng non). Trứng chín (hình 3) chứa phôi đã phát triển thành ấu trùng hoàn chỉnh có miệng, chân, phần đuôi và lỗ sinh dục. Kích thước trứng chín lớn nhất và khá đều nhau từ 0,095-0,115 × 0,073-0,087 mm (TB: 0,108 × 0,083 mm), vỏ rất dày, nhẵn, màu vàng sáng. Trứng đang phát triển có kích thước thay đổi tùy theo sự phát triển của chúng. Trứng non có vỏ mỏng, kích thước nhỏ hơn trứng chín nhiều (TB: 0,063 × 0,047 mm).

Con đực: Cơ thể con đực nhỏ hơn con cái nhiều, thường cong về phía bụng, phần trước to và thuôn nhỏ dần về phía sau, vỏ cơ thể có nhiều đốm trắng. Cơ thể có từ 35 đến 42 đốt rất rõ, ngắn và khá đều nhau. Kích thước cơ thể từ 5-23×1,2-1,9 mm.

Cấu tạo vùng đầu ngực tương tự con cái, nhưng kích thước các cơ quan nhỏ hơn. Kích thước lỗ miệng từ 0,13-0,16 mm (TB: 0,143 mm). Chiều dài đôi gai kitin dưới miệng từ 0,105-0,115 mm (TB: 0,113 mm). Kích thước (mm) móc và máu chân bên như sau:

- Móc trước: Lưỡi móc (AB) từ 0,105-0,140 (TB: 0,118)

Chân móc (BC) từ 0,185-0,225 (TB: 0,205)

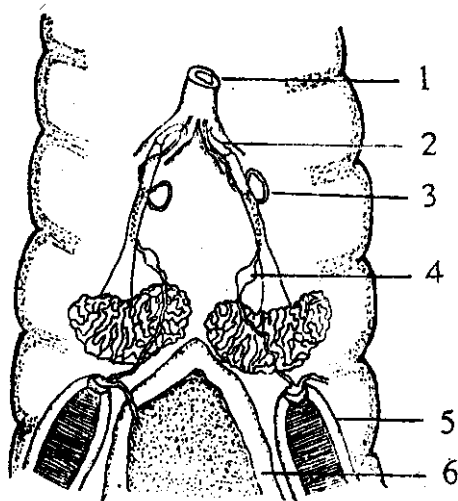
Máu chân bên dài từ 0,145-0,172 (TB: 0,163)

- Móc sau: Lưỡi móc (AB) từ 0,125-0,162 (TB: 0,147)

Chân móc (BC) từ 0,245-0,272 (TB: 0,261)

Máu chân bên dài từ 0,182-0,221 (TB: 0,204)

Lỗ sinh dục gần tròn, hơi nhô lên hoặc lồi hẳn ra ở vòng đốt thứ nhất. Tinh hoàn đơn lớn, hình ống nằm ở mặt lưng, bắt đầu từ ngay sau túi chứa tinh kéo dài đến gần cuối cơ thể. Tiếp đến là túi chứa tinh rất to, hình ovan, màu trắng nằm giữa tinh hoàn và gai giao phối, dài bằng khoảng 1/4 chiều dài cơ thể. Có hai túi phóng tinh hình trụ, nằm ở hai bên phía trước túi chứa tinh, sau gai giao phối, kích thước từ 0,490-0,790 × 0,195-0,290 mm (TB: 0,729×0,239 mm). Đầu trên túi phóng tinh có 2 ống dẫn tinh chạy khúc khuỷu đến tận lỗ sinh dục, phần giữa phình ra tạo thành một các bóng phóng tinh nhỏ, phần trước áp sát vào phần trên của thân gai giao phối. Gai giao phối có dạng hình nấm ngược, gồm phần đế và phần thân. Phần đế ở dưới phình rất to, hình hạt đậu các rãnh chạy ngoằn ngoèo, kích thước chiều ngang từ 0,390-0,475 mm (TB: 0,443 mm). Phần thân mảnh nằm phía trên, đầu tận cùng ở gần lỗ sinh dục hơi cong (hình 4), chiều dài từ 0,750-0,980 mm (TB: 0,858 mm). Gai giao phối được sử dụng để mở môi lỗ sinh dục con cái khi giao phối.



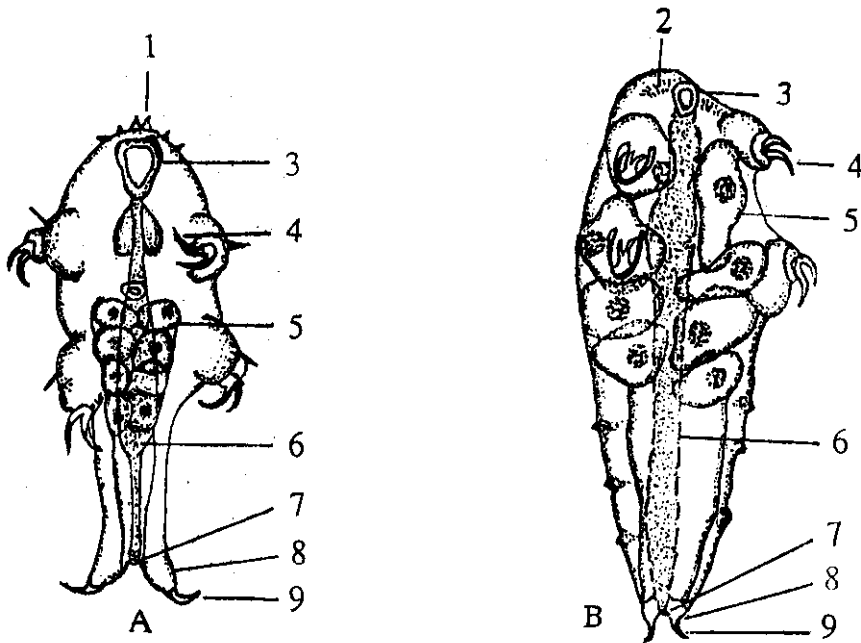
Hình 4. Cấu tạo phần trước cơ quan sinh dục đực: 1. Lỗ sinh dục; 2. Gai giao phối; 3. Ống dẫn tinh; 4. Bóng phóng tinh; 5. Túi phóng tinh; 6. Túi chứa tinh

Ấu trùng và cá thể non: Ấu trùng mới nở từ trứng chín (hình 5A) được gọi là ấu trùng tuổi một (primary larva), kích thước cơ thể từ 0,185 × 0,232 - 0,081 × 0,113 mm (TB: 0,209 × 0,102 mm). Ấu trùng tuổi một có phần đầu ngực rất lớn, chiếm khoảng 2/3 kích thước cơ thể. Phần thân rất ngắn, thuôn nhỏ dần về phía sau và không phân đốt. Hai cánh đuôi to, tận cùng có gai dài trung bình 0,0125 mm. Trên đỉnh phần đầu có một kim xâm nhập (penetration stylet) lớn, chẻ đôi ở giữa và có 2 đôi gai bên nhỏ nằm ở hai bên. Có một đôi gai lưng bên nằm sau 2 đôi gai bên. Lỗ miệng hình ovan khá lớn, kích thước trung bình 0,027 × 0,017 mm. Tiếp sau miệng là thực quản ngắn, chiều dài trung bình 0,035 mm, có một vòng thần kinh bao quanh thực quản. Ruột giữa bắt đầu từ ngang chân trước kéo dài đến quá chân sau. Ruột sau ngắn và nhỏ hơn ruột trước nhiều, nằm trong phần thân. Đôi chân trước và chân sau nhô ra khá dài, chia thành 2 đốt và tận cùng là 2 cái vuốt (claw) dài gần như nhau. Chiều dài trung bình của vuốt trên bằng 0,0087 mm và của vuốt dưới là 0,0135 mm. Phía sau mỗi chân có một gai lưng bên to và dài. Lỗ sinh dục gần tròn, nằm ở giữa phần đầu ngực. Có 8 tế bào mầm xếp thành đôi ngay phía sau lỗ sinh dục.

Ấu trùng cảm nhiễm 30 ngày tuổi ký sinh ở cóc (*Bufo melanostictus*) có kích thước cơ thể

trung bình $0,506 \times 0,293$ mm. Cấu tạo cơ thể có những biến đổi so với ấu trùng tuổi một như: Chân, vuốt bắt đầu lổm vào cơ thể và phân hóa để tạo thành móc và mấu chân bên, các tế bào mầm chuyển lên phần đầu ngực, phình to và biến dạng. Đặc biệt, 2 bên phía miệng có từ 18-24 gai xâm nhập (penetration spine), đây là đặc

điểm của ấu trùng cảm nhiễm (infective larvae, *R. orientalis* và cũng là đặc điểm định loại ấu trùng của các loài trong nhóm ký sinh này. Ấu trùng cảm nhiễm 45 ngày tuổi (hình 5B), có kích thước cơ thể trung bình $1,06 \times 0,52$ mm, nhìn chung cấu tạo gần giống ấu trùng 30 ngày tuổi trừ phần thân dài hơn và đã có một vài ngấn đốt.



Hình 5. A. Ấu trùng tuổi một; B. Ấu trùng 45 ngày tuổi: 1. Kim xâm nhập; 2. Gai xâm nhập; 3. Miệng; 4. Vuốt; 5. Tế bào mầm; 6. Ruột; 7. Hậu môn; 8. Cánh đuôi; 9. Gai đuôi.

Sau khi mất gai xâm nhập và tế bào mầm, ấu trùng cảm nhiễm sẽ trở thành cá thể non. Hình dạng và cấu tạo vùng đầu ngực con non tương tự như ở con trưởng thành, nhưng kích thước móc và miệng nhỏ hơn nhiều. Số lượng đốt của con non thay đổi theo kích thước cơ thể của chúng, nhưng sớm ổn định khi đạt kích thước từ 2-3 mm với con đực và 4-5 mm với con cái.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. J. H. Ali, J. Riley and J. T. Self, 1982: A revision of the taxonomy of *Raillietiella boulengeri* (Vaney and Sambon, 1910) Sambon, 1910 *R. orientalis* (Hett, 1915) Sambon, 1922 and *R. agoi* Tatanguui and Masilungan, 1956 (Pentastomida: Cephalobaenida). *Systematic Parasitology* 4: 285-301.
2. J. H. Ali, J. Riley and J. T. Self, 1985: A review of the taxonomy and systematics of the pentastome genus *Raillietiella* Sambon 1910 with a description of a new species. *Systematic Parasitology* 7: 111-123.
3. Đặng Tất Thế, 1999: Loài chân khớp *Raillietiella orientalis* (Hett, 1915) Sambon 1922 (lớp Pentastomida) ký sinh ở rắn Việt Nam. *Tạp chí Sinh học*, tập 21, số 2B: 150-152.
4. Đặng Tất Thế, 1999: Hình thái, sinh thái sinh học loài *Raillietiella orientalis* (Hett, 1915) Sambon 1922 (Pentastomida) ký sinh ở rắn. Luận văn thạc sĩ.
5. A. Fain, 1961: Les Pentastomides de L'Afrique Centrale. *Musee Royal de l'Afrique Centrale. Sciences Zoologique* No.92: 9-115.

(Xem tiếp trang 31)

DẪN LIỆU BƯỚC ĐẦU VỀ THÀNH PHẦN LOÀI VÀ SỰ PHÂN BỐ CỦA PHÂN HỘ BỘ XÍT ASOPINAE (PENTATOMIDAE-HETEROPTERA) Ở VIỆT NAM

ĐẶNG ĐỨC KHƯƠNG, TRƯƠNG XUÂN LAM

Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật

Ngay từ đầu thế kỷ XX, các loài bộ xít thuộc phân họ Asopinae (Pentatomidae) đã được biết đến như là các loài thiên địch, chúng ăn thịt nhiều loài sâu hại (Distant, 1902). Ngày nay, một số loài thuộc phân họ đã được nghiên cứu kỹ về hình thái, sinh học, sinh thái và được xếp vào loại thiên địch quan trọng hạn chế về số lượng các loài sâu hại (Thiên địch côn trùng đồ phả, khoa học xuất bản xã Trung Quốc, 1978; Quảng Tây côn trùng kinh tế, 1988; Danh lục các loài sâu hại lúa và thiên địch của chúng ở Việt Nam, Phạm Văn Lâm, 1997...).

Ở nước ta, các loài thuộc phân họ Asopinae đã được đề cập đến nhưng mới ở mức độ danh sách loài và chủ yếu ở các tỉnh miền Bắc nước ta (kết quả điều tra côn trùng 1967-1968, Viện Bảo vệ thực vật, 1977; kết quả điều tra cơ bản động vật miền Bắc Việt Nam, Nhà xuất bản KHKT, 1981). Gần đây, Phạm Văn Lâm, 1997 cũng đã đưa ra 3 loài thuộc phân họ của họ Asopinae trong danh sách các loài thiên địch của sâu hại lúa.

Nhằm góp phần nghiên cứu các loài côn trùng có ích, nhận biết và lợi dụng chúng trong công việc phòng chống sâu hại bảo vệ cây trồng, bảo vệ môi trường; với các mẫu vật và tài liệu thu được, chúng tôi xác định và mô tả 9 loài bộ xít thuộc phân họ Asopinae ở Việt Nam.

PHÂN HỘ ASOPINAE (AMYOT & SERVILLE), 1843

Asopinae (Amyot & Serville), 1843, Hist. nat. Hem., pp xix, 77 (Asopides)

Synonym: Amytotinae Schoutenden, 1906;

Wytzman. Gen. Ins. 52: 2

Amyotinae Leston, 1953. Ent. Gaz. 4: 19.

Arminae Bergroth, 1908. Mem. Soc. ent. belg. 15: 180.

Tahitocorinae (Yang), 1935. Ann. Mag. Nat. Hit (10) 16: 180 (Tahitocoridae).

Đặc điểm: Các loài thuộc phân họ này đều có râu đầu 5 đốt, đốt thứ nhất rất ngắn, không chia tới đỉnh đầu. Vòi dài, vượt quá hoặc ít nhất cũng tới giữa đốt gốc chân giữa. Đốt thứ nhất phồng to. Đốt ống chân trước thường có một gai nhỏ ở mặt trong, thông thường gai tù hoặc đôi khi không rõ.

Phân họ này phân bố rộng ở vùng Phương Đông (Oriental). Ở Việt Nam, mới phát hiện được 6 giống, 9 loài.

Khóa định các loại giống thuộc phân họ Asopinae

- 1(6). Mặt trong đốt đùi chân trước có một cái gai nhô ra.
- 2(5). Góc đốt bụng giáp ngực ở giữa đốt gốc chân sau có một gai nhọn nhô ra (Hình 1a).
- 3(4). Đốt ống chân trước bẹt rộng ra hai bên (H.1b). Góc tám mai lưng lồi lên, đỉnh hơi lõm vào ở giữa..... *Cazian Amy. & Serr.*
- 4(3). Đốt ống chân trước chỉ bạnh ra ở mặt ngoài hoặc không bạnh ra. Tám mai lưng gốc không nổi gồ lên, đỉnh lưng tròn (hình.2, 3, 4)..... *Cantheconidae Schout.*
- 5(2). Góc đốt bụng giáp ngực ở giữa, đốt gốc chân sau không có gai nhô lên (hình 6a)*Picromerus Amy. & Serr.*
- 6(1). Mặt trong đốt đùi chân trước không có gai nhô ra.
- 7(8). Góc bên tám lưng ngực trước ít nhiều có

- gai nhỏ ra. Đầu dài, chiều dài dài hơn chiều rộng (hình 5)..... *Andrallus* Bergr.
- 8(7). Góc bên tấm lưng ngực trước lượn tròn. Đầu ngắn, chiều dài ngắn hơn chiều rộng.
- 9(10). Đốt thứ hai của râu đầu dài hơn hai lần đốt thứ ba (hình 8)..... *Amyotea* Ellenr.
- 10(9). Đốt thứ hai của râu dài chỉ hơi dài hơn đốt thứ ba chứ không gấp hai lần đốt thứ ba (hình 9)..... *Zicrona* Amy. & Serv.

I. GIỐNG CAZIRA AMY. & SERV.
Cazira Amy. Serv. Hem. p.78 (1843);
 Dall. Lit. Hem. i, p.76
 (1958); Stal, Ham. Afr. i. p.62 (1844)

Loài chuẩn: *Cariza verrucosa* (Westw.)

Theo tài liệu của Viện Bảo vệ thực vật, 1977 công bố thì ở nước ta giống này có tới 3 loài, riêng chúng tôi mới thu được 1 loài là *Cariza verrucosa* (Westw.).

1. *Cariza verrucosa* (Westw) (hình 1a, b)

Synonym: *Asopus verrucifer* Burm. Hand. II.p.380 (1835)

Phân bố: Hòa Bình, Lào Cai, Yên Bái, Thanh Hóa, Gia Lai.

Thế giới: Ấn Độ, Myanma, Trung Quốc

II. GIỐNG CANTHECONIDEA SCHOUT
Cantheconidae Amy. Serv. Hem. p.81 (1843)

Loài chuẩn: *Cantheconidea discolor* Palis

Giống này ở nước ta có 3 loài.

Khóa định loại các loài thuộc giống
Cantheconidea

- 1(4). Đốt ống chân trước phía ngoài bẹt rộng ra, mặt trong không có gai.
- 2(3). Góc bên tấm lưng ngực trước có 2 gai rõ ràng, gai phía trên dài hơn gai phía dưới dưới nhiều (hình 2).....
*Cantheconidea furcellata* (Wolff.)
- 3(2). Góc bên tấm lưng ngực trước có hai gai liền nhau tạo thành 2 đỉnh và 2 gai dài gần bằng nhau (hình 3).....
 *Cantheconidea concinna* (Walker).

- 4(1). Đốt ống chân trước phía ngoài không bẹt rộng ra, mặt trong có 1 gai nhỏ ở gần giữa đốt (hình 4).....
 *Cantheconidea* sp.

2. *Cantheconidea furcellata* (Wolff.) (hình 2)

Synonym: *Asopus armiger* Herr-Schaff Wanz. Ins. vii. 113-119 (1844).

Phân bố: Việt Nam: Lạng Sơn, Lai Châu Sơn La, Hòa Bình, Hà Tây, Hà Nội, Hà Bắc, Gia Lai-Kon Tum, Đắk Lắk.

Thế giới: Ấn Độ, Srilanka, Trung Quốc Nhật Bản.

3. *Cantheconidea concinna* (Walker) (hình 3)

Phân bố: Việt Nam: Sơn La, Hòa Bình.

Thế giới: Trung Quốc

4. *Cantheconidea* sp. (hình 4)

Mô tả: Thân thể dài từ 13-15 mm, rộng giữa hai góc bên tấm lưng ngực trước 9 mm. Mặt lưng thân thể: đầu và tấm lưng trước có màu nâu sẫm, có các điểm khác màu đen, góc bên tấm lưng ngực trước màu đen. Râu đầu màu nâu nhạt, nửa đỉnh các đốt màu nâu sẫm. Độ dài cá đốt 2, 3, 4, 5 gần bằng nhau. Chính giữa tất giữa đầu có một vạch dọc màu trắng đục. Phía trước tấm lưng ngực trước có 8-10 điểm nh màu trắng đục. Tấm mai lưng và tấm cứng cán trước có màu nâu, đỉnh mai lưng và các vân ba trên tấm cứng cánh trước màu vàng rơm. Tár màng cánh trước màu đen đục, phần góc ngoài cuối cánh có màu hơi trong. Mép bên giao nha có màu xen kẽ các khoang hơi nhạt màu hơi Mặt dưới thân và chân có màu nâu nhạt hoặc vàng nhạt. Đốt ống chân trước không bẹt rộng ra, mặt trong đốt ống có một mấu hình gai khoảng 2/5 tính từ đỉnh đốt lên. Đỉnh các đốt ống, bàn màu đen. Vòi màu nâu, đốt cuối cùng màu đen, đạt tới đỉnh gai góc đốt bụng giáp ngực. Mặt bụng ngực dày đặc các điểm khác màu nâu sẫm hoặc đen. Mặt bụng phía bụng các điểm khác sẫm màu thưa hơn.

Phân bố: Việt Nam: Yên Thủy - Hòa Bình

(Loài này gần giống với loài *Cantheconidea humeralis* Dist. nhưng đốt ống chân trước lại có gai ở mặt trong, so với loài *Cantheconidea furcellata* ngoài khác biệt về đốt ống chân trước thì gai góc bên tấm lưng ngực trước, g

sau chỉ hơi nhỏ lồi lên chứ không thành gai rõ ràng).

III. GIỐNG *PICROMERUS* AMY & SERV.

Picromerus Amy & Serv., 1843. Hem. p.84

Synonym: *Cimex*, subg *Cimex* Stal, Ofc. Vet. Ak. Forh. 1867, p.497

Loài chuẩn: *Picromerus bindens* Linn.

Giống này ở nước ta có 2 loài.

Khóa định loại các loài thuộc giống

Picromerus

1(2). Thân thể hoàn toàn màu nâu đen, râu đầu sẫm màu, nửa đỉnh đốt 4 và 5 màu đen (hình 6)..... *Picromerus griceus* (Dallas).

2(1). Thân thể màu nâu vàng, có một vạch chính giữa đỉnh đầu chạy tới mép sau tám lưng ngực trước màu vàng, râu đầu vàng nhạt, nửa đỉnh đốt 4,5 màu nâu sẫm (hình 7)*Picromerus lewisi* Scott.

5. *Picromerus griceus* (Dallas) (hình 6)

Synonym: *Picromerus obtusus* Walk. Cat. Het.i.p.133 (1867).

Picromerus nigrivitta Walk. loc. cit.

Phân bố: Việt Nam: Lạng Sơn, Sơn La, Yên Bái, Hòa Bình.

Thế giới: Ấn Độ, Myanma, Trung Quốc.

6. *Picromerus lewisi* Scott (hình 7)

Phân bố: Việt Nam: Sơn La, Lai Châu, Bắc Cạn, Tuyên Quang, Hà Giang, Hòa Bình.

Thế giới: Trung Quốc.

IV. GIỐNG *ANDRALLUS* BERGROTH

Andrallus Bergroth, 1906. Ann. Soc. Ent.

Belg. xlix, p.370

Synonym: *Audinetia* Ellenr. Nat. Tijdschr. Nederl. Ind. xxiv, p.136 (1862).

Audinetia Stal, Ofv. Vie-Ak. Forh. 1867, p.496.

Loài chuẩn: *Andrallus spinidens* Fabr.

Giống này ở nước ta có 1 loài.

7. *Andrallus spinidens* (Fabr) (hình 5)

Synonym: *Asopus geometricus* Burm. Handb. ii, p.380 (1835).

Pentatoma aliena Westn. in Hope Cat. Hem. i, p.40 (1837).

Audinetia aculeata Ellenr. Nat. Tijdschr. Nederl. Ind. xxiv. p.137 (1820).

Phân bố: Việt Nam: Sơn La, Hòa Bình, Hà Tây, Hà Nội, Hà Bắc, Bắc Cạn, Thái Nguyên, Cao Bằng, Lai Châu, Lào Cai, Lạng Sơn, Quảng Ninh, Ninh Bình, Tuyên Quang, Phú Thọ, Thái Bình, Nghệ An, Gia Lai, Đắk Lắk, Sông Bé.

Thế giới: Ấn Độ, Trung Quốc Fiji.

V. GIỐNG *AMYOTEA* ELLENR

Amyotea Ellenr, 1862. Nat. Tijdschr. Nederl.

Ind. xxiv, p. 137

Synonym: *Asopus* Burm. Nov. Act. Acad. Leop. XVI, Suppl. 202 (1834).

Loài chuẩn: *Amyotea malabaricus* (Fabr.)

Giống này ở nước ta gặp 1 loài.

8. *Amyotea malabaricus* (Fabr.) (hình 8)

Synonym: *Asopus malabaricus* Fabr. Syst. Ent. p.718 (1775).

Cimex mactans Fabr. Spec. Ins. ii, p. 366 (1781).

Lygaeus argus Fabr. Syst. Rhyng. p.217 (1803).

Amyotea dystecoidea Ellens. Nat. Tijdschr. Nederl. Ind. xxiv. p.137-138 (1862).

Phân bố: Việt Nam: Lạng Sơn, Lai Châu, Nghĩa Lộ.

Thế giới: Ấn Độ, Trung Quốc, Nhật Bản, Philippin.

VI. GIỐNG *ZICRONA* AMY. & SERV.

Zicrona Amy. & Serv., 1843. Hem. p. 86

Loài chuẩn: *Zicrona caerulea* (Linn.)

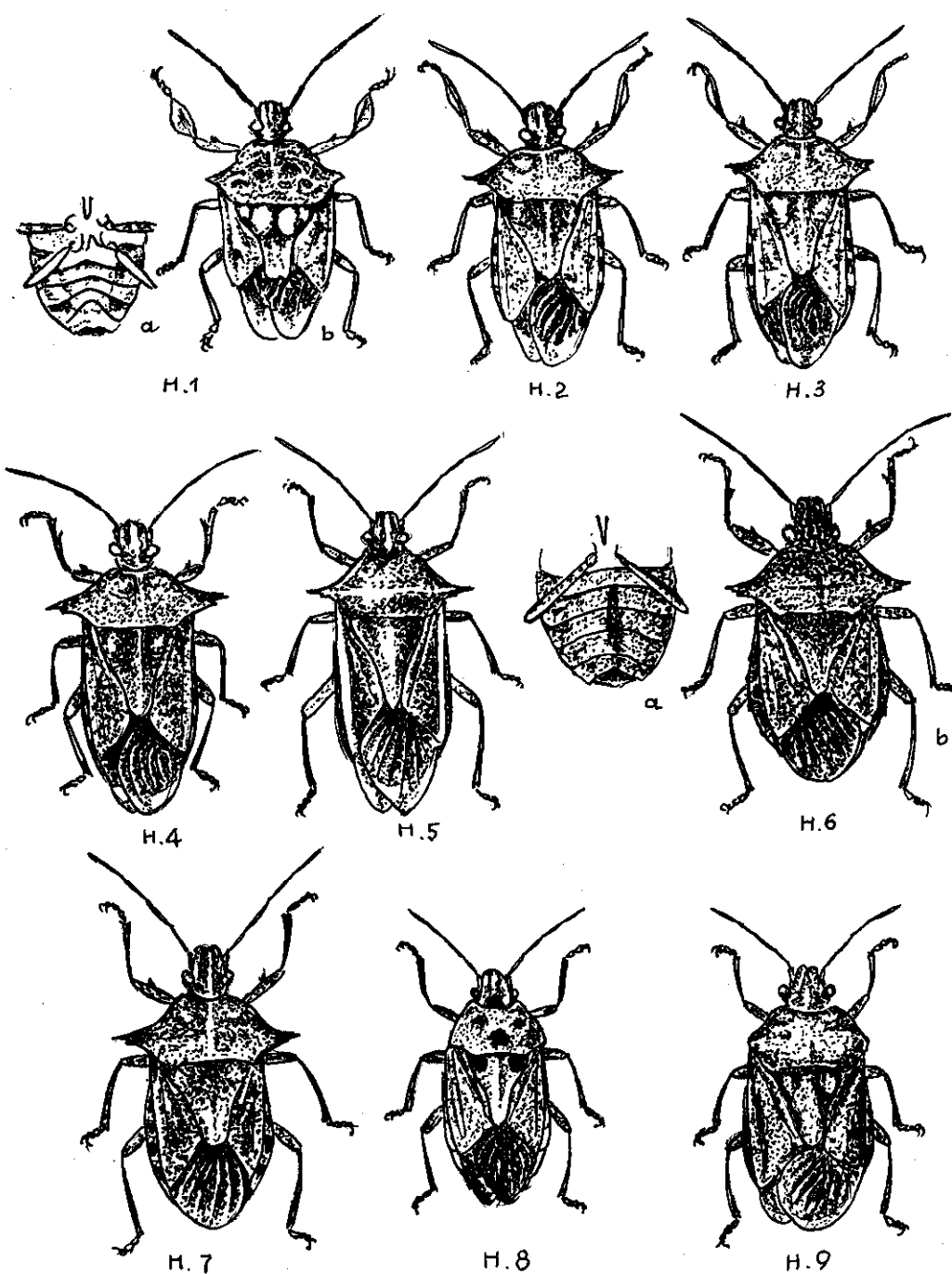
Giống này ở nước ta có 1 loài.

9. *Zicrona caerulea* (Linn.) (hình 9)

Synonym: *Pentatoma concinna* Violacea & Wesn. in Hope Cat. i. p. 39 (1837)

Zicrona illustris Amy. & Serv. Hem. p.87 (1843).

Phân bố: Việt Nam: Bắc Cạn, Thái Nguyên, Cao Bằng, Hà Giang, Tuyên Quang, Hòa Bình,



Hình 1. *Cariza verrucosa* (Westw)

Hình 2. *Cantheconidea furcellata* (Wolff)

Hình 3. *Cantheconidea concinna* (Walker)

Hình 4. *Cantheconide* sp.

Hình 5. *Andrallus spinidens* (Fabr.)

Hình 6. *Picromerus griceus* (Dallas)

Hình 7. *Picromerus lewisi* Scott

Hình 8. *Amyotea malabiricus* (Fabr)

Hình 9. *Zicrona caerulea* (Linn.)

Hà Tây, Lào Cai, Yên Bái, Hà Nội, Thái Bình, Phúc Yên, Phú Thọ, Hà Nam, Ninh Bình, Thanh Hóa, Gia Lai, Kon Tum, Đắk Lắk.

Thế giới: Ấn Độ, Trung Quốc, Myanma, Nhật Bản.

Trong đó 9 loài thuộc 9 giống của phân họ Asopinae mà chúng tôi đã thu thập được ở Việt Nam, có tới 6 loài thuộc 5 giống có phân bố rộng. Riêng loài *Cantheconidea* sp. đã mô tả ở trên chỉ thu được ở xã Bảo Hiệu huyện Yên Thủy tỉnh Hòa Bình là công bố bước đầu, cần được nghiên cứu bổ sung thêm.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Distant W. L., 1902: The fauna of British India. Vol.I, p.243-256.
2. Distant W. L., 1907: The fauna of British India. Vol.IV, p.446-454.
3. Distant W. L., 1918: The fauna of British India. Vol.VII, p.146-147.
4. Li Yongxi cùng tác giả, 1988: Quảng Tây kinh tế côn trùng đồ phả. Nhà xuất bản Khoa học nông nghiệp: 45-48.
5. Phạm Văn Lâm, 1997: Danh lục các loài sâu hại lúa và thiên địch của chúng ở Việt Nam. Nhà xuất bản Nông nghiệp: 33-45.
6. Khoa học xuất bản xã, 1978: Thiên địch côn trùng đồ phả. NXB Khoa học Bắc Kinh, Trung Quốc: 235-238.
7. Ủy ban Khoa học Nhà nước, 1981: Kết quả điều tra cơ bản động vật miền Bắc Việt Nam. NXB Khoa học và Kỹ thuật: 99-112.
8. Viện Bảo vệ thực vật, 1977: Kết quả điều tra côn trùng 1967-1968: NXB NT: 111-125.

SPECIES OF THE SUBFAMILY ASOPINAE (PENTATOMIDAE-HETEROPTERA) IN VIETNAM

DANG DUC KHUONG, TRUONG XUAN LAM

SUMMARY

This paper presents 9 bug species belonging to the subfamily *Asopinae* (Amy. & Serv.) collected in Vietnam. Keys to genera and species are given. Among them, *Canthecondidea* sp. is recorded for the first time in Vietnam. The following part is the diagnosis of *Canthecondidea* sp. (Fig. 4): Length 13-15 mm, width between lateral angles of pronotum-9 mm, dark brown dorsally and ochraceous ventrally. Very similar to *C. humeralis* Dist. in form and coloration, but anterior tibia distinctly spined on inner margin.

Ngày nhận bài: 26-12-2000

MỘT SỐ ĐẶC ĐIỂM PHÂN LOẠI CỦA MỘT SỐ CHỦNG VI KHUẨN GRAM DƯƠNG THƯỜNG GẶP VÀ ẢNH HƯỞNG CỦA CHÚNG ĐẾN CHẤT LƯỢNG CỦA NHIÊN LIỆU MÁY BAY JET A1

ĐẶNG PHƯƠNG NGA, LẠI THÚY HIỀN

Viện Công nghệ sinh học

Trước đây đã có một số công trình nghiên cứu về sự phát triển của vi khuẩn gây ra những ảnh hưởng nghiêm trọng đến chất lượng của nhiên liệu máy bay [7, 8]. Bên cạnh những vi khuẩn có khả năng phân hủy, làm hỏng nhiên liệu, còn hay gặp những vi khuẩn Gram dương có thể sử dụng các sản phẩm trung gian của quá trình oxi hóa nhiên liệu làm nguồn cơ chất để phát triển. Trong bài này chúng tôi sẽ đưa ra kết quả phân loại một số vi khuẩn Gram dương thường gặp và ảnh hưởng của chúng đến chất lượng của nhiên liệu máy bay jet A1 ở Việt Nam.

I. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

- Các chủng vi khuẩn gram dương được phân lập từ các mẫu nhiên liệu máy bay jet A1 ở kho Nội Bài, Hà Nội.

- Các môi trường nuôi cấy: môi trường MPA, môi trường sinh bào ở [11] và môi trường khoáng Gost [9023-74].

- Các chủng vi khuẩn được nghiên cứu hình thái tế bào dưới kính hiển vi điện tử Jem 1010, xác định khả năng sinh bào tử [11], nhuộm bào tử (Shaffer và Fulton).

- Phân loại vi khuẩn *Bacillus* theo kit chuẩn API 50CHB.

- Đánh giá khả năng phân hủy nhiên liệu và đầu thô dựa trên kết quả đếm số lượng vi khuẩn trước và sau khi nuôi, cân trọng lượng và sắc ký khí nhiên liệu, nhờ sử dụng cột mao quản CP5 xử lý theo Pros Nelson 87.

- Đánh giá khả năng sử dụng các sản phẩm trung gian của quá trình oxi hóa nhiên liệu d trên kết quả đếm số lượng vi khuẩn và phân tích dịch nuôi cấy bằng phương pháp quang phổ hồng ngoại trên máy Impact 410.

II. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

I. Phân loại các chủng vi khuẩn:

- Hình thái khuẩn lạc và tế bào của chủng khuẩn được trình bày ở bảng 1.

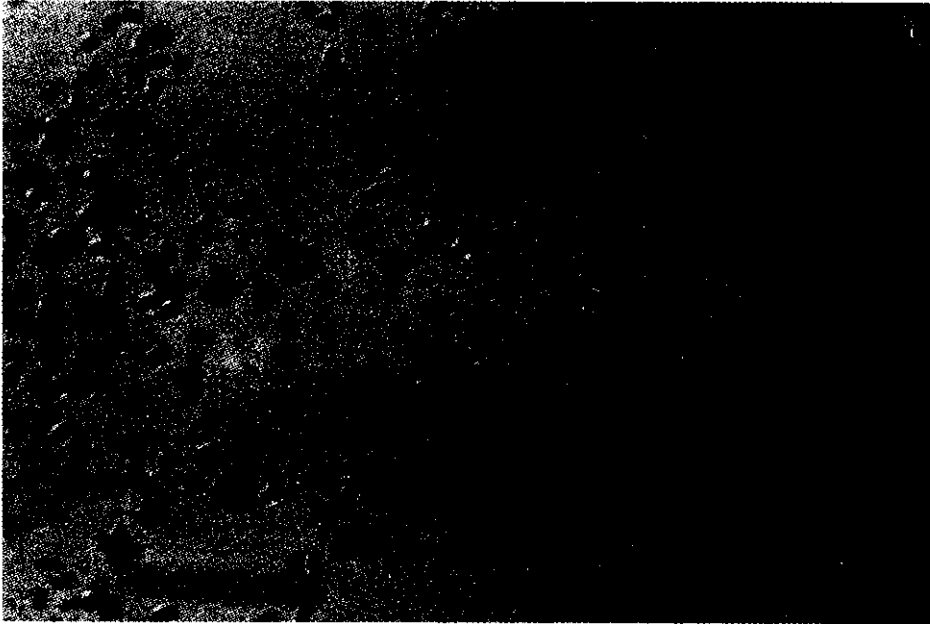
Trong đó hai chủng BC3 và MB10 có điểm hình thái khuẩn lạc và tế bào hoàn to khác. Các chủng MB8, MB9 và MB11 đều có bào hình ovan và có chu mao.

- Các chủng vi khuẩn được tiến hành s nhiệt để xác định khả năng sinh bào tử. Kết q cho thấy chỉ có các chủng: MB8, MB9 và MB là sống sót và có khả năng tạo bào tử. Các chủ này được nuôi cấy trên môi trường sinh bào nhuộm bào tử và quan sát dưới kính hiển quang học và kính hiển vi điện tử (hình 1, 2). Bào tử các chủng vi khuẩn này đều có hình ovan.

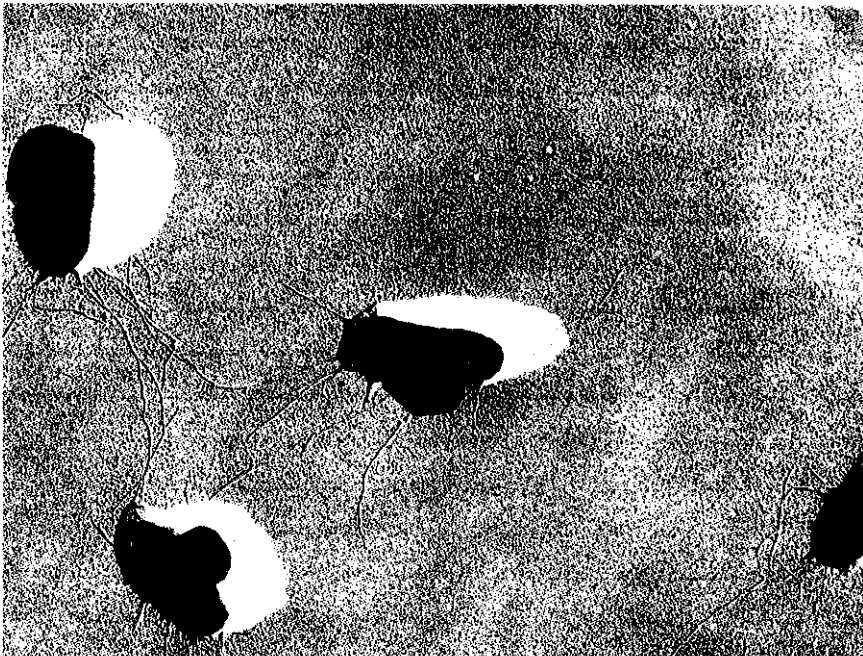
- Kết quả phân loại các chủng vi khuẩn sinh bào tử nhờ kit chuẩn A PI 50 CHB được trình bày ở bảng 2.

Đối chiếu các kết quả thu được với đặc điểm của các chủng khuẩn có thể xếp các chủng n vào chi *Bacillus*. Chủng MB9 có các đặc điểm phù hợp để xếp vào loài *Bacillus circulans*, chủng MB11 có thể được xếp vào loài *Bacillus coagulans*.

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



Hình 1. Tế bào và bào tử chủng MB11 ($\times 1500$)
(Tế bào vi khuẩn màu đỏ, bào tử màu xanh)



Hình 2. Ảnh hiển vi điện tử tế bào và bào tử chủng MB11 ($\times 16.000$)

Bảng

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

STT	Ký hiệu chủng	Gram	Hình thái khuẩn lạc (Kích thước, màu sắc, hình dáng)	Hình thái tế bào (Kích thước, hình dáng)
1	BC3	+	1-2 mm, vàng đục, bóng lồi, mép gọn	1,1×0,67 μm, ovan ngắn, tiên mao ở hai cực
2	MB8	+	6-7 mm, trắng ngà, đục, mép răng cưa	1,7 ×0,9 μm, ovan, chu mao
3	MB9	+	2-3 mm, trắng đục, đục, mép gọn	1,75×0,65 μm, ovan dài, chu mao
4	MB10	+	< 1 mm, trắng ngà, bóng, lồi, mép gọn	1,75×0,75 μm, ovan tròn, kết đám, không có tiên mao
5	MB11	+	3 mm, vàng đục, bóng, đục, mép gọn	1,2×0,55 μm, ovan, chu mao

Bảng 2

Khả năng lên men trên các nguồn cacbon khác nhau của các chủng vi khuẩn (phép thử API 50 CHB)

STT	Cơ chất	Chủng vi khuẩn		
		MB8	MB9	MB11
1	2	3	4	5
0	Đối chứng	-	-	-
1	Glyxerol	+	+	+
2	Erythritol	-	-	-
3	D-A rabinosa	-	-	-
4	L- A rabinosa	-	+	+
5	Riboza	+	+	+
6	D-Xyloza	-	+	-
7	L-Xyloza	-	-	-
8	Adonitol	-	-	-
9	β-metyl-D-glucozit	-	-	-
10	Galactoza	+	+	+
11	Glucoza	+	+	+
12	Fructoza	+	+	+
13	Manoza	+	+	+
14	Sorboza	-	-	-

1	2	3	4	5
15	Rhamnoza	-	-	-
16	Dulxitol	-	-	-
17	Inozitol	+	+	+
18	Mannitol	+	+	+
19	Sorbitol	-	+	-
20	α -metyl-D-manozit	-	-	-
21	α -metyl-D-glucozit	+	+	+
22	N-axetyl-glucozamin	+	+	+
23	Amygdalin	+	+	+
24	Arbutin	-	+	+
25	E sculin	-	+	+
26	Salixin	+	+	+
27	Xelobioza	+	+	+
28	Mantoza	+	+	+
29	Lactoza	+	+	+
30	Melibioza	+	+	+
31	Saccaroza	+	+	+
32	Trehaloza	+	+	+
33	Inulin	-	-	-
34	Melezitoza	+	-	+
35	Rafinoza	+	+	+
36	Tinh bột	+	+	+
37	Glycogen	+	+	+
38	Xylitol	-	+	-
39	Gentiobioza	-	+	+
40	D-turanoza	+	+	+
41	D-lyxoza	-	-	-
42	D-Tagatoza	-	-	-
43	D-fucoza	-	-	-
44	L-fucoza	-	-	-
45	D-A rabitol	-	-	-
46	L-A rabitol	-	-	-
47	Gluconat	+	-	+
48	2-ketogluconat	-	-	+
49	5-ketogluconat	+	-	-

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

Sau 10 ngày nuôi với các loại dầu, các chủng vi khuẩn BC3, MB8, MB9, MB10 và MB11 không phát triển, biểu hiện ở số lượng vi khuẩn không tăng lên so với trước khi nuôi (bảng 3).

Bảng

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

STT	Chủng vi khuẩn	Số lượng vi khuẩn nuôi với jet A1		Số lượng vi khuẩn nuôi với dầu DO		Số lượng vi khuẩn nuôi với dầu thô	
		Ban đầu	Sau thí nghiệm	Ban đầu	Sau thí nghiệm	Ban đầu	Sau thí nghiệm
1	BC3	$1,0 \times 10^7$	$5,0 \times 10^6$	$1,0 \times 10^7$	$1,0 \times 10^7$	$1,0 \times 10^7$	$7,0 \times 10^6$
2	MB8	$2,0 \times 10^6$	$1,0 \times 10^6$	$2,0 \times 10^6$	$1,0 \times 10^6$	$2,0 \times 10^6$	$1,0 \times 10^6$
3	MB9	$1,0 \times 10^5$	$1,0 \times 10^5$	$1,0 \times 10^5$	$1,0 \times 10^5$	$1,0 \times 10^5$	$1,0 \times 10^4$
4	MB10	$3,0 \times 10^5$	$1,0 \times 10^5$	$3,0 \times 10^5$	$1,0 \times 10^5$	$3,0 \times 10^5$	$1,0 \times 10^5$
5	MB11	$1,0 \times 10^7$	$6,0 \times 10^6$	$1,0 \times 10^7$	$5,0 \times 10^6$	$1,0 \times 10^7$	$7,0 \times 10^6$

Như vậy các chủng vi khuẩn này không có khả năng phân hủy nhiên liệu jet A1, như chúng vẫn tồn tại được trong nhiên liệu như thế nào ?

3. Khả năng sử dụng các sản phẩm trao đổi chất của quá trình oxy hóa nhiên liệu ở các chủng không phân hủy nhiên liệu:

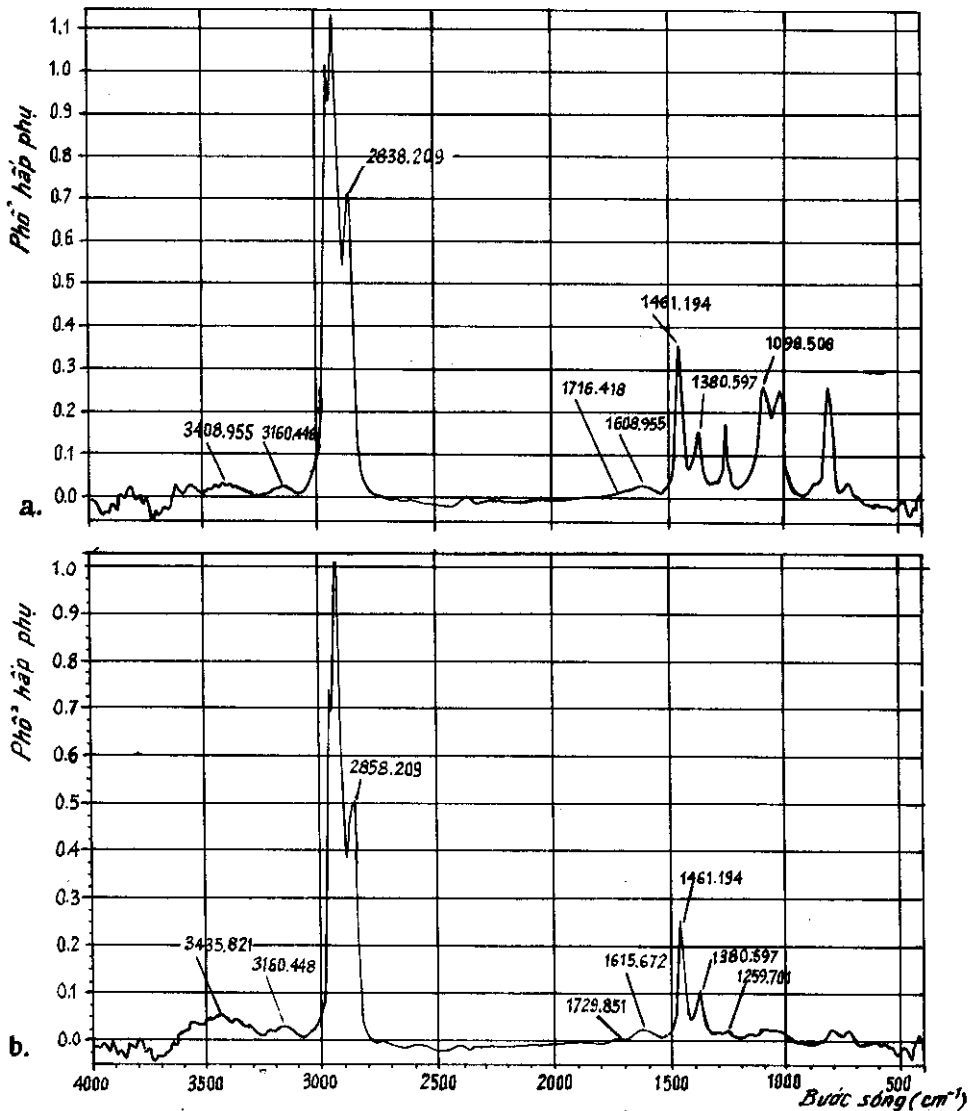
Sau khi nuôi các chủng vi khuẩn trên với dịch nuôi cấy jet A1 đã bị vi khuẩn phân hủy, đư khử trùng, thì thấy: số lượng các chủng BC3, MB8, MB9 tăng lên, rõ nhất là chủng MB9 tăng 1 lần (bảng 4).

Bảng 4

Số lượng vi khuẩn trước và sau khi nuôi với dịch nuôi cấy jet A1 đã vô trùng

STT	Chủng vi khuẩn	Số lượng vi khuẩn lúc ban đầu (tế bào/ml)	Số lượng vi khuẩn sau thí nghiệm (tế bào/ml)
1	BC3	$2,4 \times 10^7$	$1,2 \times 10^{10}$
2	MB8	$1,0 \times 10^5$	$4,0 \times 10^6$
3	MB9	$1,0 \times 10^5$	$1,0 \times 10^{10}$
4	MB10	$8,0 \times 10^4$	$6,0 \times 10^4$
5	MB11	$1,0 \times 10^7$	$2,0 \times 10^6$

Kết quả nghiên cứu chứng tỏ các chủng vi khuẩn trên đã sử dụng các sản phẩm trung gian của quá trình oxy hóa jet A1 để sinh trưởng và phát triển. Kết quả phân tích dịch nuôi cấy chủ MB9 đã chứng minh thêm cho điều này. Ở bước sóng từ 500-1500 mm đã có một số thành phần phân hủy so với đối chứng (hình 3).



Hình 3. Khả năng sử dụng các sản phẩm trung gian của quá trình phân hủy jet A1 ở chủng MB9. a. Đối chứng; b. Chủng MB9

III. KẾT LUẬN

Các chủng Gram dương thường gặp trong nhiên liệu máy bay jet A1 phần lớn thuộc chi *Bacillus*: *B. circulans* và *B. coagulans*. Các chủng này tuy không có khả năng phân hủy nhiên liệu, dầu DO cũng như dầu thô nhưng lại có khả năng sử dụng các sản phẩm trung gian do các chủng phân hủy nhiên liệu sinh ra.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Aelion M. C., Bradley M. P., 1991: Aerobic biodegradation potential of subsurface microorganisms from a jet fuel-contaminated aquifer. *Appl. Environ. Microbiol.*, 57, 1: 57-63.
2. Arnold J. B., 1984: Effects of microbial growth and its by products on coalescing/filtration of hydrocarbon fuel and oil. *Filtr. and separ.*, 21, 2: 108-111.
3. Atlas R. M., Bartha R., 1987: *Microbial Ecology: Fundamentals, Applications*. The Benjamin/Cummings publishing Co: 413-416.
4. Becker P. M., Dott W., 1995: Functional Analysis of communities of aerobic heterotrophic bacteria from hydrocarbon-contaminated sites. *Microb. Ecol.*, 30: 285-

- 296.
5. **Christopher A. B., Colin R.**, 1984: The physiology of hydrocarbon-utilizing microorganisms. Proceedings 1984 National Center for Genetic Engineering and Biotechnology: 11-77.
 6. **IATA Guidance material for aviation turbine fuels**, April 1987: Canada Appl. Environ. Microbiol., 64, 1: 359-362.
 7. **Lại Thúy Hiền, Đặng Cẩm Hà, Lý Kim Bằng**, 1989: Vi sinh vật trong nhiên liệu TC1 ở Việt Nam. Tạp chí Sinh học, 10(1): 5-9.
 8. **Lại Thúy Hiền, Đặng Cẩm Hà, Lý Kim Bằng**, 1989: Vi sinh vật trong xăng, diesel và dầu nhớt ở Việt Nam. Tạp chí Sinh học, 11(3): 4-6.
 9. **Leahy J. G., Colwell R. R.**, 1990: Microbial degradation of hydrocarbons in the environment. Microbiol. Reviews, 54, 3: 305-315.
 10. **Murray G. E. R., Holt G. J.**, 19: Bergey's manual of Systema Bacteriology. Williams and Wiki Baltimore, London, 1.
 11. **Murray G. E. R., Holt G. J.**, 19: Bergey's manual of Systema Bacteriology. Williams and Wiki Baltimore, London, 2.
 12. **Tiêu chuẩn kỹ thuật nhiên liệu, dầu bôi trơn, chất lỏng chuyên dùng**. Nhà xuất bản Quân đội nhân dân, 1989: 5-7.
 13. **Tiwari K. C.**, 1977: Microbiological growth in aviation turbine fuel. Indian. Exp. Biol., 15, 7: 597-581.
 14. **Tortora J. G., Berdell R.**, 19: Microbiology. The Benjamin/Cummings Publishing Co.: 250-293.
 15. Turbine fuel, aviation kerosene type, jet. Defense Standard, 8th May, 1996.

TAXONOMIC CHARACTERISTICS OF SOME ACQUAINTED POSITIVE GRAM BACTERIA STRAINS AND THEIR EFFECTS ON THE QUALITY OF JET A1 FUEL

DANG PHUONG NGA, LAI THUY HIEN

SUMMARY

The development of microorganisms generally and bacteria particularly caused many serious effects on airplane fuel. Beside the fuel-degrading bacteria, some acquainted positive Gram bacteria strains were capable of utilizing the metabolites of the fuel oxidation as sources of the nutrient source. Most of them belong to the genus *Bacillus*.

Ngày nhận bài: 10-12-2

PHÂN LẬP VÀ TUYỂN CHỌN CÁC CHỦNG VI KHUẨN CÓ KHẢ NĂNG PHÂN GIẢI KERATIN DÙNG ĐỂ CHUYỂN HÓA SINH HỌC LÔNG GIA CẦM

NGUYỄN ĐÌNH QUYẾN, TRẦN THỊ LAN PHƯƠNG

Trường Đại học Khoa học tự nhiên - ĐHQG Hà Nội

Cơ chế phân giải keratin ở vi khuẩn đã được nghiên cứu chi tiết ở *Streptomyces fradiae* (Noval & Kickerson, 1959). Các tác giả nhận thấy có sự tích lũy của các hợp chất sunfuhydryl (có thể là các peptit chứa cystein) trong môi trường và nêu lên giả thuyết về sự biến tính của cơ chất chính là do sự khử trực tiếp nhờ các enzym trên bề mặt khuẩn ti thể. Kunert và Stransky (1988) lặp lại thí nghiệm trên cũng ở *S. fradiae* và khẳng định sự tạo thành các hợp chất sunfuhydryl trong quá trình phân giải keratin, không phát hiện thấy sunphit, còn sunphat gặp với lượng rất nhỏ.

Ngoài xạ khuẩn một số loài *Bacillus* cũng có khả năng phân giải keratin chẳng hạn len (Molyneaux, 1959). Đặc biệt Williams và ctv (1990) đã phân lập được *B. licheniformis* thể hiện hoạt tính phân giải lông vũ (lông gia cầm) và keratinaza từ vi khuẩn này đã được Xiang Lin và ctv (1992) tinh chế và xác định đặc tính.

Lông vũ là phế liệu của các xí nghiệp chế biến gia cầm, sản ra với số lượng lớn và là keratin khá tinh khiết. Trong tự nhiên lông vũ bị phân giải bởi nhiều vi sinh vật có hoạt tính keratinaza. Vì vậy có thể sử dụng chúng để chuyển hóa các loại lông vũ thành thức ăn bổ sung cho chăn nuôi.

I. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

- Phân lập xạ khuẩn và *Bacillus* có hoạt tính phân giải keratin:

Cho vào các ống nghiệm đựng nước cất vô trùng mỗi ống 0,5 g đất (lấy từ một số địa điểm khác nhau) và 0,1 g lông gà (đã được rửa sạch, hong khô ở 37°C và xử lý trong cồn 24 giờ để loại bỏ mỡ). Lắc nhẹ ống rồi giữ ở nhiệt độ phòng (25-30°C) 5 ngày và lọc. Dịch lọc từ mỗi ống được cấy gạt trên thạch đĩa chứa môi trường

thạch-glucoza-cao nấm men (Larpen, 1985) dùng phân lập xạ khuẩn, mặt khác được xử lý trước 80°C/15 phút rồi cấy gạt trên thạch đĩa nhưng chứa môi trường Lin và ctv (1992) dùng phân lập *Bacillus* phân giải keratin.

Giữ các đĩa ở nhiệt độ phòng. Sau 5 ngày, cấy truyền các khuẩn lạc xạ khuẩn và *Bacillus* xuất hiện sang ống thạch nghiêng chứa các môi trường tương ứng nói trên.

- Hoạt tính caseinaza của dịch nuôi cấy xạ khuẩn và *Bacillus* được xác định theo Bryan và ctv (1986).

- Hoạt tính keratinaza của xạ khuẩn và của *Bacillus* được xác định theo phương pháp Mukhopadhyay và Chandra (1989) ở bước sóng 280 nm với máy quang phổ Shimadza UV-VIS (Nhật Bản).

- Khả năng phân giải lông gà được xác định bằng cách theo dõi thời gian dịch nuôi vi khuẩn làm rụng hoàn toàn các lông con trên một chiếc lông gà nguyên vẹn ở 37°C hoặc bằng cách làm giảm trọng lượng bột lông gà do dịch nuôi vi khuẩn sau thời gian nhất định ở 37°C.

- Hoạt tính phân giải bột kitin khô (Yabuki và ctv, 1986) được xác định theo phương pháp thạch đĩa (Williams, 1983).

- Xác định hoạt tính kháng nấm của xạ khuẩn và *Bacillus*.

+ Hoạt tính kháng *Penicillium* sp. (phân lập từ vỏ quả quýt) được xác định bằng phương pháp đĩa giấy tẩm dịch nuôi cấy *Bacillus* đặt vào giữa đĩa thạch và đĩa cấy gạt *Penicillium* sp. vào kích thước vòng vô khuẩn (Oduro và ctv, 1976).

Hoạt tính kháng *Penicillium* sp. của *Bacillus* nhờ chất bay hơi được xác định theo Gupta và Tandon (1977).



Hình 1. Khả năng làm rụng lông gà của chủng *Bacillus* sp.7

II. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Phân lập xạ khuẩn và *Bacillus*:

Từ một số mẫu đất, qua phương pháp làm giàu (bổ sung lông gà vào dịch đất), chúng tôi đã phân lập được 12 chủng xạ khuẩn và 15 chủng *Bacillus*. Các chủng xạ khuẩn chủ yếu có cuống sinh bào tử thẳng, một phần có cuống sinh bào tử lượn sóng, phần lớn có khuẩn lạc

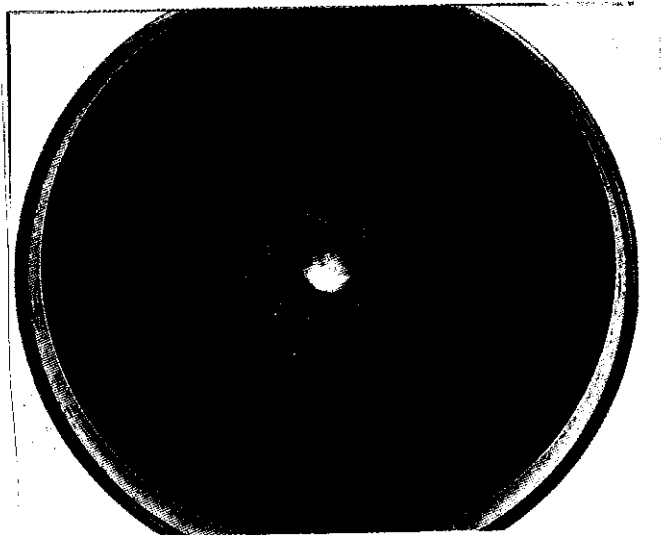
màu xám, phần nhỏ có khuẩn lạc màu trắng. Các chủng này được ký hiệu là XK1, XK2....

Các chủng vi khuẩn đều có bào tử, do đều thuộc giống *Bacillus* và được ký hiệu là B2....

Để xác định và tuyển chọn các chủng hoạt tính phân giải keratin trước hết chúng tôi tuyển chọn các chủng có hoạt tính casein. Các chủng xạ khuẩn và *Bacillus* được nuôi trên các bình nón (dung tích 250 ml) chứa 10 g gạo và 10 ml nước máy đã khử trùng. Sau nuôi 5 ngày ở nhiệt độ phòng enzym thô từ chúng được chiết bằng 9 thể tích nước. Dùng phương pháp thạch đĩa (Williams, 1983) nhận thấy:

- Cả 12 chủng xạ khuẩn đều có khả năng phân giải casein trong đó 5 chủng (XK2, XK5, XK6 và XK7) cho kích thước vòng phân giải cơ chất lớn nhất ($R-r = 0,85$ cm) và 2 chủng (XK1 và XK4) cho kích thước vòng phân giải cơ chất nhỏ nhất ($R-r < 0,5$ cm).

Trong số 15 chủng *Bacillus* chủng B15 hiện hoạt tính lớn nhất ($R-r = 0,95$ cm), tiếp theo là 2 chủng B2 và B7 ($R-r = 0,8$ cm); B14 ($R-r = 0,7$ cm) và B4 ($R-r = 0,65$ cm) 3 chủng B8, B10 và B12 có hoạt tính yếu ($R-r$ lần lượt là 0,45 cm, 0,35 cm, 0,20 cm). Các chủng B1, B3, B5, B6, B9, B11, B13 không có khả năng phân giải casein (bảng 1).



Hình 2. Khả năng phân giải keratin của chủng *Bacillus* sp.7



Hình 3. Khả năng kháng *Penicillium* sp. của chủng *Bacillus* sp.7

Hoạt tính phân giải casein của 15 chủng *Bacillus*

Chủng <i>Bacillus</i>	Hoạt tính Cazeinaza, R-r (cm)
1	0
2	0,85
3	0
4	0,65
5	0
6	0
7	0,85
8	0,45
9	0
10	0
11	0,35
12	0,20
13	0
14	0,70
15	0,95

Hoạt tính phân giải lông gà của các chủng xạ khuẩn

Bảng 1

và *Bacillus* được đánh giá theo khả năng làm rụng các sợi lông nhỏ trên một chiếc lông gà lớn. Chọn những chiếc lông có kích thước tương tự trên cùng một con gà, ngâm trong cồn để loại bỏ lipid rồi hong khô. Cho vào mỗi ống nghiệm một chiếc lông nói trên sau đó dùng pipet nhỏ vào mỗi ống 20 ml dịch enzym thô (vừa đủ ngập lông) và giữ các ống ở 30°C. Theo dõi sự rụng của các sợi lông con. Kết quả cho thấy:

- Với các chủng xạ khuẩn số 2, 3, 5, 6, 7 (có hoạt tính casein cao nhất) bắt đầu có hiện tượng rụng lông từ ngày thứ tư và sau 15 ngày toàn bộ các sợi lông con đều rụng hết (chỉ còn lại lông ống).

Như vậy khả năng làm rụng lông trùng với hoạt tính phân giải casein.

Dùng phương pháp xác định nitơ theo Sorensen cũng nhận thấy kết quả tương tự: lượng nitơ (mg/20 ml dịch enzym thô) lần lượt là 31,64; 30,8; 29,4; 31,8; 30,8.

Với các chủng *Bacillus* số 2, 4, 7, 14 và 15 (cho hoạt tính caseinaza cao) trái lại, chỉ 2 chủng số 7 và 15 cho hoạt tính làm rụng lông rõ rệt:

+ Chủng B7 gây đứt lông từ ngày thứ ba đến ngày thứ 13 tất cả các lông con đều rụng hết.

+ Chủng B15 gây đứt lông từ ngày thứ tư nhưng sau 14 ngày số lông con trên lông ống mới rụng khoảng 50%.

- Như vậy ở đây cũng không có sự trùng hợp giữa hoạt tính phân giải casein và hoạt tính phân giải keratin.

Dùng phương pháp đo sự giảm trọng lượng cơ chất do xử lý enzym nhận thấy 2 chủng B7 và B15 đã hòa tan 14,4% lông gà sau khi ủ 5 ngày ở 37°C. Đáng chú ý trong thời gian này lông gà bị chuyển thành dạng dịch nhớt tương tự như nhận xét của Nakanishi và Yamamoto (1974).

Dùng phương pháp đo OD ở bước sóng 280 nm với chủng B7 nhận thấy hoạt tính keratinaza ở chủng này trong điều kiện thí nghiệm là 8,3 đơn vị (so với 5,4 đơn vị đối với *Streptomyces fradiae* theo Mukhopadhyay và Chandra, 1989).

Một số hoạt tính khác.

Dùng phương pháp thạch đĩa với cơ chất là bột kitin thô nhận thấy cả 2 chủng B7 và B15 đều thể hiện hoạt tính kitinaza rõ rệt nhưng chủng B15 cho hoạt tính lớn hơn ($R-r = 0,6$ cm) chủng B7 ($R-r = 0,25$ cm).

- Chủng B7 cũng có hoạt tính kháng *Penicillium* sp. rõ rệt.

III. KẾT LUẬN

1. Từ một số mẫu đất chúng tôi đã phân lập được 2 chủng xạ khuẩn và 15 chủng *Bacillus*, trong đó 7 chủng xạ khuẩn và 15 chủng *Bacillus* có hoạt tính phân giải casein rõ rệt.

2. 5 trong số 7 chủng xạ khuẩn có khả năng phân giải lông gà mạnh mẽ. 2 chủng *Bacillus* (B7 và B15) cũng thể hiện hoạt tính tương tự.

3. Chủng B7 cũng có hoạt tính phân giải kitin và kháng nấm. Vì vậy, có thể nghiên cứu tiếp chủng này không chỉ dùng chuyển hóa sinh học lông gia cầm mà còn dùng như tác nhân sinh học trong bảo quản quả.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bryan D., Gibbon M. and Mann J. I 1986: J. Sci. Food. Agric., 37: 515-522.
2. Gupta R. C. and Tandon R. N., 197: Trans. Br. Mycol. Soc., 68: 438-439.
3. Kunert J., 1976: Z. Allg Mikrobiol, 16: 9 105.
4. Kunert J. and Stranský Z., 1988: Ar Microbiol, 150: 600-601.
5. Larpent J. P., 1985: Manuel pratique Microbiologie, Hermann Paris.
6. Lin X., Lee C. G., Casale E. S. and Shih C. H., 1992: Appl. Environ. Microbiol., 58: 3271-75.
7. Mylyneaux G. S., 1959: Aust. J. Biol. Sci 12: 274-278.
8. Mukhopadhyay R. P. and Chandra A. 1989: Ind. J. Microbiol, 8: 312-318.
9. Nakanishi T. and Yamamoto T., 1977: Agr. Biol. Chem., 38: 2391-97.
10. Noval J. and Nickerson W. J., 1959: Bacteriol. 77: 251-263.
11. Oduro K. A., Munnecke D. E., Sims J. and Keen N. T., 1976: Trans. Br. Myc Soc., 66: 195-199.
12. Williams A. G., 1983: FEMS Microb Lett. 20: 253-58.
13. Williams C. M., Richter C. S., Macken J. M., and Shih J. C. H., 1990: Appl Environ. Microbiol. 56: 1509-15.
14. Yabuki M., Mizushina K., Amatatsu Ando A., Fujii, T. Shimada M. Yamashita M., 1986: J. Gen. Appl Microbiol., 32: 25-38.

ISOLATION AND SCREENING OF BACTERIA STRAINS CAPABLE OF DEGRADING KERATIN FOR THE BIOTRANSFORMATION OF THE FEATHERS

NGUYEN DINH QUYEN, TRAN THI LAN HUONG

SUMMARY

For the purpose of the biotransformation of feathers into the additive animal feed and the lightening environmental pollution, the isolation and the screening of bacteria strains capable of degrading keratin were conducted.

From several soil samples, 12 *Streptomyces* and 15 *Bacillus* strains were isolated, among them, 7 former and 5 later ones showed clearly the casein-degrading activity. In addition, 5 out of 7 *Streptomyces* and 2 among 5 *Bacillus* strains exhibited markedly the feather-decomposing activity. One *Bacillus* isolate, namely by B7 strain, displayed also the chitin-splitting and antifungal activities. This isolate, therefore, may be studied further for the bioconversion of the feather and, as a biocontrol agent, for the fruit preservation as well.

Ngày nhận bài: 12-10-200

(Tiếp theo trang 14)

MORPHOLOGICAL CHARACTERISTICS OF *RAILLIETIELLA ORIENTALIS* (HETT, 1915) SAMBON, 1922 (PENTASTOMIDA)

DANG TAT THE

SUMMARY

Morphological characteristics of eggs, primary larvae, infective larvae and adult of *Raillietiella orientalis* are described on the specimens collected from Cobra (*Naja naja*) in Vietnam.

Ngày nhận bài: 28-12-2000

NHỮNG BIẾN ĐỔI PHÂN TỬ Ở CÁC ĐỒNG LÚA KHÁNG DỊCH NẤM GÂY BỆNH ĐẠO ÔN PYRICULARIA ORYZAE

PHAN THỊ BÀY, LÊ THỊ MUỘI, NGUYỄN ĐỨC THÀI
Viện Công nghệ sinh học

Ngày nay với sự phát triển mạnh mẽ của công nghệ sinh học đã có nhiều kỹ thuật mới hiện đại phục vụ trong nghiên cứu di truyền và phát triển các giống lúa [3, 6]. Nhiều bản đồ phân tử ở lúa đã được thiết lập nhờ các dấu phân tử RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism), RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA), SSR (Simple Sequence Repeats), STS (Sequence Tagged Sites) [1, 2, 7, 8, 10, 11]. Một số kết quả đã xác định sự có mặt của một số gen quan tâm và các đoạn ADN liên kết với các đặc điểm mong muốn cũng đã được thông báo [5].

Việc sử dụng các dấu phân tử STS (đoạn các vị trí liên kết) để xác định gen kháng đạo ôn pi-2(t) trong một quần thể phân ly ở lúa đã được Hittalmani và CS, 1995 công bố [4]. Tương tự bằng phân tích các dấu phân tử STS từ 2 môi OP F6A và OP H18A đã giúp các nhà nghiên cứu xác định sự có mặt của gen kháng đạo ôn pi-10 ở giống lúa Tongil tại Viện Nghiên cứu lúa quốc tế (IRRI) [12]. Với kết quả phân tích bằng các môi ngẫu nhiên (RAPD) ở quần thể đơn bội kép, Naqvi và CS, 1995 đã định vị được gen pi-2h nằm trên nhiễm sắc thể số 8 [9]. v.v..

Trong bài này chúng tôi công bố những kết quả ứng dụng các dấu phân tử STS và RAPD khi nghiên cứu phân tử các đồng lúa kháng dịch nấm (DN) gây bệnh đạo ôn đã được công bố trước đây [13, 14].

I. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Sử dụng 2 giống lúa nguyên chủng là CR203 nhiễm đạo ôn nặng (đối chứng nhiễm-ĐC2), và C101A51 giống mang gen kháng đạo ôn Pi-2(t) (đối chứng kháng-ĐC3). Các đồng lúa mới chọn lọc gồm: hai đồng chọn từ mô sẹo giống lúa CR203 xử lý 40% dịch nấm (BR41,

BR77), năm đồng chọn từ mô sẹo lúa CR203 lý 50% dịch nấm BR3, BR12, BR16, BR BR30. Một đồng cây tái sinh từ mô sẹo CR203 qua nuôi cấy in vitro nhưng không xử lý nấm cũng được sử dụng như một chứng (ĐC1).

Cây tái sinh từ mô sẹo trồng ra vườn nghiệm là cây R₀, cây từ hạt của cây R₀ là cây từ hạt R₁ là R₂ v.v..

Các môi cho phản ứng PCR bao gồm: 2 RAPD (OPB1-GTTTCGCTCC; OPB5-TGC CCTTC) mua của hãng Operon, Mỹ. Các STS bao gồm: Môi RG64A liên kết với kháng đạo ôn Pi-2(t), môi OPF6A và OPH18A liên kết với gen kháng đạo ôn P. Trình tự của các môi như sau:

RG64A 431
5'-GTTGTTGAGCTCTTCCAATG CCTGTT
RG64A 432
5'-CTGCAGTGCAATGTACGGCCAGG
OPF6A F
5'-GGGAATTCGGTITTTACAACCACCC
OPF6A F
5'-GGGAATTCGGATCTCCGGGGGTA
OPH18A F
5'-GAATCGGCCAAGTCATATTAGTC
OPH18A R
5'-GAATCGGCCAACATCGACTACGT

Các cặp môi STS được tổng hợp bởi Keystone Labs (Mỹ), trình tự của các môi thiết kế dựa vào trình tự đầu cuối của cả phân tử tương ứng (Hittalmani và CS, Naqvi và CS, 1995).

Tách ADN genôm từ các đồng/giới theo phương pháp dùng CTAB của S

Maroof và CS (1984) có cải tiến. Kiểm tra nồng độ ADN bằng máy quang phổ Hp8452A-Diode array UV-visible Spectrophotometer ở bước sóng 260 nm và 280 nm. Kiểm tra chất lượng ADN bằng máy điện di trên gel agarose 1%, trong 60 phút, 80 V; bản gel được nhuộm với ethidium bromide (EtBr) 0,1%; soi gien trên Mini-Transilluminator (Bio-Rad) và chụp ảnh bằng máy Image Master® VDS (Pharmacia Biotech). Phản ứng PCR của ADN genôm lúa với các môi đặc trưng được thực hiện trên máy PCR PTC 100 (MJ. Research Inc., Mỹ).

- Hỗn hợp phản ứng PCR (RAPD): Hỗn hợp phản ứng (20 µl) chứa trong ống Eppendorf (0,5 ml) bao gồm: nước vô trùng 12,6 µl; dung dịch đệm 10X PCR 2 µl; dNTP (5 mM) 0,8 µl; MgCl₂ (50 mM) 0,6 µl; môi (Primer) 1 µl; Taq polymerase 0,5 µl; ADN mẫu 2,5 µl (0,02 µg/µl).

- Chương trình chạy PCR cho môi RAPD. 1) 94°C 3 phút; 2) 94°C 1 phút; 3) 35°C 1 phút; 4) 72°C 2 phút; 5) 35 chu kỳ (2+3+4+); 6) 72°C 7 phút.

- Hỗn hợp phản ứng PCR cho các môi STS: Hỗn hợp phản ứng (25 µl) chứa trong ống Eppendorf (0,5 ml) bao gồm: nước vô trùng 17,4 µl; dung dịch đệm 10 X PCR 2,5 µl; dNTP (5 mM) 0,6 µl; MgCl₂ (50 mM) 0,5 µl; môi (Primer) 1 µl; Taq polymerase 0,5 µl; ADN mẫu 2,5 µl (0,02 µg/µl).

- Chương trình chạy PCR cho các môi STS: 1) 94°C 4 phút; 2) 94°C 1 phút; 3) 58°C 1 phút 30 giây; 4) 72°C 2 phút; 5) 40 chu kỳ (2+3+4); 6) 72°C 5 phút.

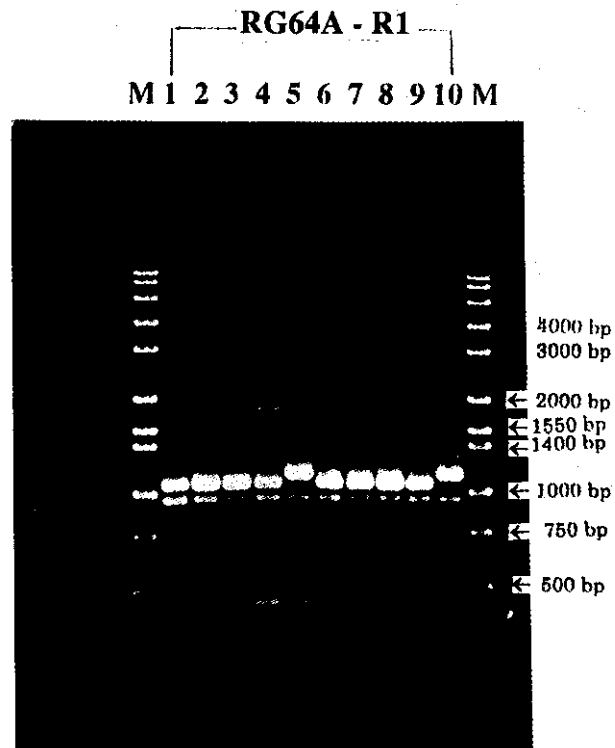
- Điện di và đọc kết quả PCR: Sản phẩm PCR được kiểm tra bằng phương pháp điện di trên gel agarose 1%. Mẫu ADN (sản phẩm PCR) được trộn đều với đệm nạp mẫu 3X trước khi nạp mẫu vào giếng. Thời gian điện di khoảng 2 giờ ở điện thế 80 V. Nhuộm ADN bằng EtBr, trong thời gian 30

phút. Rửa gel bằng nước cất trong 30 phút. Sau đó bản gel được quan sát và chụp ảnh dưới đèn tử ngoại.

II. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

1. Kết quả phản ứng PCR của ADN genôm các dòng cây R₁ với cặp môi RG64A:

Điện di đồ sản phẩm PCR của ADN genôm các dòng cây thế hệ R₁ với cặp môi RG64A (ảnh 1) cho thấy có sự đa hình tương đối cao ở các dòng lúa mới chọn lọc. Có thể phân các dòng lúa nghiên cứu thành 5 nhóm dựa vào vị trí và số lượng các băng có điện di đồ như sau:



Ảnh 1. Điện di đồ sản phẩm PCR của ADN genôm lúa thế hệ R₁ với cặp môi RG64A

Chú thích (ảnh 1, 2, 4, 5)

- Dòng cây tái sinh từ mô nuôi cấy in vitro không xử lý dịch nấm: số 1 (ĐC1)
- Hai dòng chọn từ mô xử lý 40% dịch nấm: số 2 = BR41 số 3 = BR77
- Năm dòng chọn từ mô xử lý 50% dịch nấm số 4 = BR3 số 5 = BR12 số 6 = BR16 số 7 = BR18 số 8 = BR30
- Giống lúa CR203 nguyên chủng số 9 (ĐC2)
- Cây lúa C101 A51 mang gien kháng Pt-2(t)-số 10 (ĐC3)
- M-Market (thang chuẩn)

Dòng BR3 có 4 băng: 1800, 1.100, 900 và 450 bp, giống như CR203 nguyên chủng (ĐC2) và dòng từ mô không xử lý dịch nấm (ĐC1) nhưng khác với C101A51 (ĐC3) và khác với các dòng khác có xử lý DN.

Dòng BR41 chọn từ mô sẹo xử lý 40% dịch nấm, có ba băng: 1.100 900 và 450 bp giống như dòng BR77, nhưng khác với dòng không qua xử lý DN (ĐC1), khác với hai cây kháng/nhiễm (ĐC3 và ĐC2) và khác với các dòng khác có xử lý dịch nấm.

Ba dòng BR16, BR18, BR30 giống nhau có hai băng là 1100 và 900 bp, nhưng khác với hai cây kháng và nhiễm, khác với dòng không qua xử lý DN, và khác với các dòng khác có dòng xử lý DN.

Dòng BR 12 có 3 băng là 1200, 900 và 450 bp, khác với dòng không qua xử lý DN, khác với hai cây kháng và nhiễm, và khác với tất cả các dòng còn lại. Còn giống C101A51 giống mang gen kháng Pi-2(t) có 2 băng là 1200 và 900 bp, khác biệt với cây nhiễm CR203, và khác với các dòng mới chọn lọc. C101A51 có 2 băng 1200 và 900 giống BR12.

Kết quả nhận được trên đây đã cho thấy điện di đồ sản phẩm PCR của ADN genôm lúa thể hệ R₁ có sự khác nhau tương đối lớn giữa các dòng, xét ở mức độ từng băng riêng biệt thì có dòng BR12 có 2 băng 1200 và 900 bp giống với cây kháng C101A51, đặc biệt băng 1200 bp là băng đặc thù cho gen Pi-2(t).

Dòng qua nuôi cấy in vitro nhưng không qua xử lý dịch nấm (ĐC1), và dòng qua xử lý 50% DN (BR3) có các băng tương tự cây nhiễm CR203.

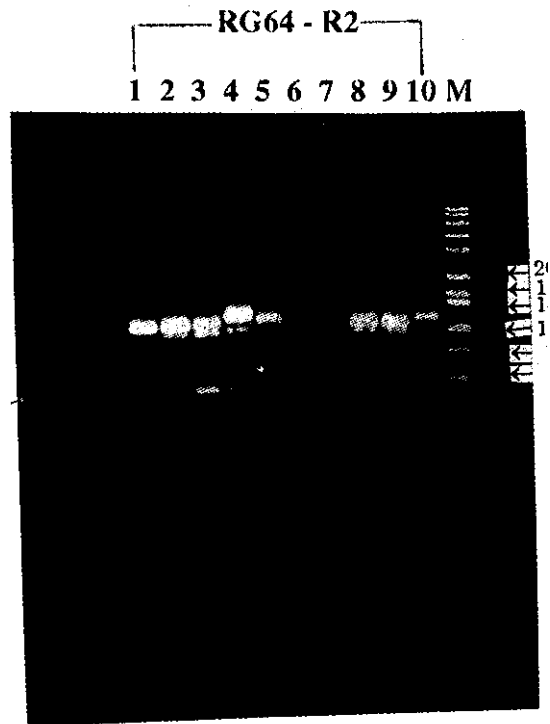
Bảy dòng khác qua xử lý DN có sự sai khác ở các phân đoạn ADN so với cây nhiễm CR203, và giữa chúng cũng có sự khác nhau.

Những kết quả nhận được trên đây chứng tỏ rằng các dòng mô sẹo lúa sau

khí xử lý dịch nấm có những biến đổi lớn về cấu trúc phân tử ADN.

2. Kết quả phản ứng PCR của ADN genôm lúa th R₂ với cặp mồi RG64A:

Điện di đồ sản phẩm PCR của ADN genôm lúa th R₂ với cặp mồi RG64A (ảnh 2) cho thấy ba dòng có : DN (BR41, BR77, BR30) có các băng 1100, 1000 và bp giống như ĐC1 và ĐC2.



Ảnh 2. Điện di đồ sản phẩm PCR của ADN genôm lúa thể hệ R₂ với cặp mồi RG-64A

Dòng BR3 có 3 băng là 1300 bp, 1000 và 450 bp với các dòng khác, và khác với hai cây kháng/nhiễm (ĐC3 và ĐC2).

Hai dòng BR12 và BR16 giống nhau có 1 băng là 1200 bp giống với cây kháng C101A51, nl dòng BR16 băng mờ, có thể do lượng copy nhỏ dòng BR12.

Như vậy ở thể hệ R₂ có hai dòng qua xử lý dịch (BR12 và BR16) có các băng giống với cây C101A51 (ĐC3).

Dòng không qua xử lý dịch nấm (ĐC1) giống r nhiễm CR203 (ĐC2).

Riêng dòng BR3-dòng xử lý 50% dịch nấm, có các băng khác với tất cả các dòng khác và khác với hai cây kháng/nhiễm (ĐC3 và ĐC2).

3. Kết quả phản ứng PCR của ADN genôm lúa thể hệ R₃ và R₄ với cặp môi RG64A:

Điện di đồ sản phẩm PCR R của ADN genôm lúa thể hệ R₃ và R₄ với cặp môi RG64A (ảnh 3) cho thấy số băng ADN cho sự đa hình giữa các dòng lúa là rất ít. Kết quả chỉ có dòng BR12 ở cả hai thế hệ R₃ và R₄ đều cho một băng là 1200 bp giống với cây kháng C101A51 (ĐC3). Vì mỗi RG64A liên kết với gen kháng đạo ôn Pi-2(t), nên có thể dòng BR12 có gen kháng đạo ôn Pi-2(t), có thể kết luận chính xác về vấn đề này cần có những nghiên cứu tiếp theo như tách dòng gen, hoặc lập bản đồ liên kết phân tử của đoạn ADN này với tính kháng đạo ôn.

Các dòng còn lại có 1 băng 1100 bp giống với cây nhiễm CR203. Điều đó cho thấy các dòng lúa đã ổn định di truyền ở thế hệ R₃ và R₄. Kết quả này tương tự với kết quả nhận được ở các thí nghiệm kiểm tra tính kháng đạo ôn trong nhà kính [13, 14].

Đến thế hệ R₄ khi các dòng lúa đã ổn định về di truyền và các chỉ tiêu nông sinh học, chúng tôi đã sử dụng thêm một số cặp môi như OPB1, OPB5, OPF6A, OPH18A để kiểm tra thêm mức độ ổn định về phân tử ở các dòng lúa mới chọn lọc, đồng thời kiểm tra phân tử ở các dòng lúa này có liên quan với gen kháng Pi-10 hay không.

4. Kết quả điện di đồ sản phẩm PCR của ADN genôm lúa thể hệ R₄ với 2 môi OPB1 và OPB5:

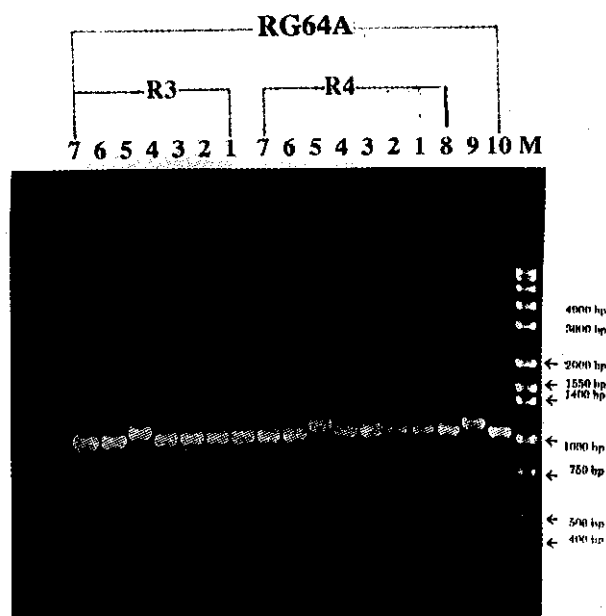
Ở đây chúng tôi chọn 4 dòng điển hình (BR41, BR77, BR12 và BR16), kết quả với môi OPB1 (ảnh 4) nhận được 2 đến 10 băng, đặc biệt có dòng BR12 có 2 băng là 1000 và 500 bp giống với cây kháng C101A51 (ĐC3).

Dòng không qua xử lý DN (ĐC1) có các băng giống như cây nhiễm CR203 (ĐC2).

Các dòng còn lại khác với cả hai cây kháng/nhiễm (C101A51 và CR203).

Với môi OPB5 (ảnh 4) nhận được sự đa hình ít hơn OPB1 nhưng điều lý thú là ở môi OPB5 cũng cho thấy dòng (BR12) có một băng duy nhất 900 bp giống như cây kháng C101A51 (ĐC3). Kết quả này góp phần khẳng định về kết quả nhận được khi sử dụng môi GR64A với ADN dòng lúa BR12 ở thế hệ R₃ và R₄.

Dòng không xử lý dịch nấm (ĐC1) giống như cây nhiễm CR203 (ĐC2), và giống với 3 dòng BR41, BR77, BR16.



Ảnh 3. Điện di đồ sản phẩm PCR của ADN genôm lúa thể hệ R₃, R₄ với cặp môi RG-64A

Chú thích (ảnh 3)

- Dòng cây tái sinh từ mô nuôi cấy in vitro không xử lý dịch nấm: số 1 (ĐC1)
- Hai dòng chọn từ mô xử lý 40% dịch nấm: số 2 = BR41
số 3 = BR77
- Năm dòng chọn từ mô xử lý 50% dịch nấm
số 4 = BR3 số 5 = BR12
số 6 = BR16 số 7 = BR18 số 8 = BR30
- Giống lúa CR203 nguyên chủng số 10 (ĐC3)
- Cây lúa C101 A51 mang gen kháng Pi-2(t)-số 9 (ĐC2)
- M-Market (thang chuẩn)

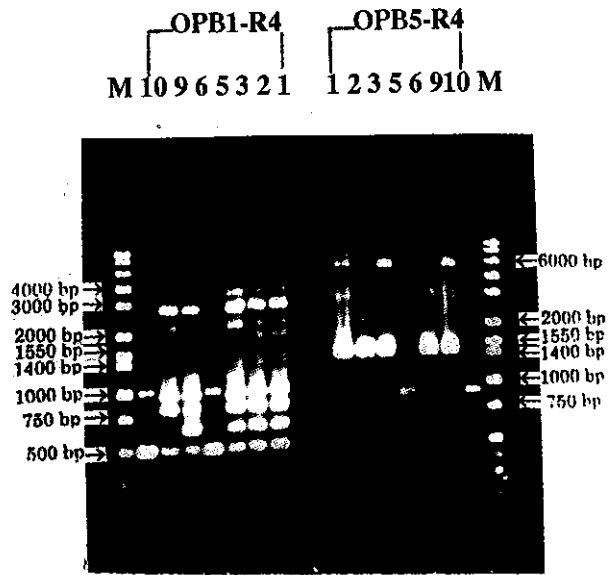
5. Kết quả điện di đồ sản phẩm PCR của ADN genôm lúa thế hệ R₄ với 2 cặp mồi OPF6A và OPH18A:

Điện di đồ sản phẩm PCR của ADN genôm lúa thế hệ R₄ với mồi OPF6A và OPH18A (ảnh 5) mỗi mồi chỉ có một băng nhìn thấy rõ và không cho sự đa hình giữa các dòng/giống lúa thí nghiệm. Đây là sự giống nhau về độ dài các băng có trên điện di đồ, nhưng có thể các băng này có sự khác nhau về trình tự nucleotit. Để phân biệt sự khác nhau giữa các băng này có thể phải sử dụng các kỹ thuật cắt hạn chế bằng enzym giới hạn, và kỹ thuật xác định trình tự của các đoạn băng trên.

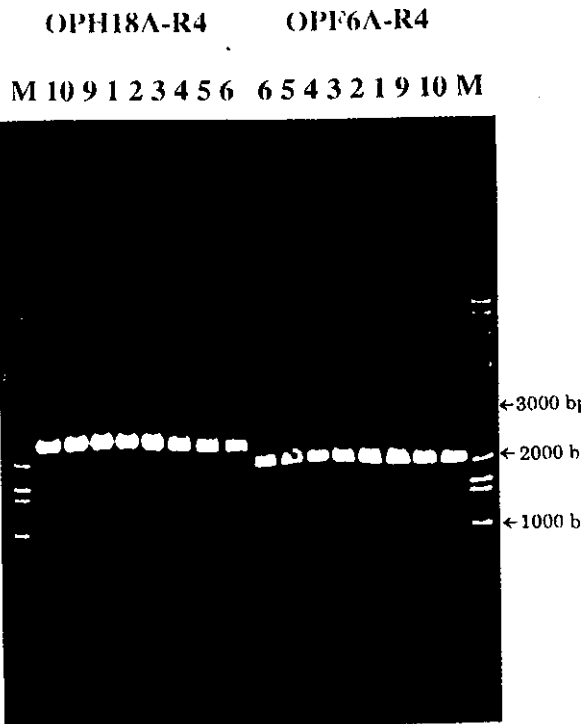
Các kết quả nhận được từ các điện di đồ sản phẩm PCR của ADN genôm lúa thế hệ R₁, R₂, R₃, R₄ với các mồi STS và RAPD đã cho thấy sự đa hình phân tử ở các dòng lúa lớn nhất ở thế hệ R₁, đến thế hệ R₂ các băng cho sự đa hình ít hơn thế hệ R₁, và ổn định dần ở thế hệ R₃ và R₄. Sự biến động về phân tử trên đây của các dòng lúa mới chọn lọc ở các thế hệ cũng tương tự như sự biến đổi một số đặc điểm hình thái và mức độ kháng bệnh đạo ôn ở các dòng lúa này trong công bố trước đây [13, 14].

Các dòng lúa mới chọn lọc BR1, BR18, BR30, BR77, BR41, BR12 đã được triển khai ra sản xuất ở một số vùng thường xảy ra dịch bệnh như Hà Tây, Bắc Giang, Thái Bình, Yên Bái, Hà Nội, kết quả cho thấy chúng không bị nhiễm bệnh đạo ôn trên đồng ruộng, hạt chín đều, năng suất cao hơn hoặc bằng CR203 nguyên chủng. Các dòng lúa trên cũng đã được kiểm tra tính kháng bệnh đạo ôn bằng các thí nghiệm lây nhiễm nhân tạo trong nhà kính, kết quả có 5 dòng BR16, BR18, BR30, BR77, BR41 đạt tỉ lệ cây kháng cao (trên 50% cây kháng trên tổng số các cây lây nhiễm), đặc biệt có dòng BR12 là dòng có 100% cây kháng với nấm bệnh lây nhiễm *P. oryzae* và được đánh giá là dòng kháng bệnh đạo ôn ở

mức quần thể, các kết quả trên đã được công bố [13, 14]



Ảnh 4. Điện di đồ sản phẩm PCR của ADN genôm lúa thế hệ R₄ với mồi OPB1 và OPB5



Ảnh 5. Điện di đồ sản phẩm PCR của ADN genôm lúa thế hệ R₄ với mồi OPH18A, OPF6A

III. KẾT LUẬN

Từ các kết quả nhận được trên đây, và một số kết quả đã công bố [13, 14], chúng tôi có một số nhận xét và kết luận như sau:

1. Dòng cây tái sinh từ mô sẹo qua nuôi cấy in vitro của giống lúa CR203 nhưng không qua xử lý dịch nấm không có sự biến đổi về phân tử so với cây nhiễm bệnh đạo ôn CR203 nguyên chủng.

2. Các dòng lúa tái sinh từ mô sẹo nuôi cấy in vitro của giống lúa CR203 có xử lý với dịch nấm gây bệnh đạo ôn có những biến đổi về phân tử ADN.

3. Di truyền phân tử ở các dòng lúa tái sinh từ mô kháng dịch nấm tương đối ổn định ở thế hệ R_1 và R_4 . Những biến đổi và ổn định về phân tử tương tự với những biến đổi và ổn định về hình thái và khả năng kháng bệnh đạo ôn ở các cây lúa tái sinh từ mô xử lý dịch nấm trong các thế hệ R_1 , R_2 , R_3 , R_4 . Sự ổn định được thể hiện ở mức độ như sau: $R_1 < R_2 < R_3 < R_4$.

5. Kết quả phân tích phân tử của các dòng lúa đã cho thấy có dòng BR12 mang băng 1200 bp, băng ADN liên kết với gen kháng đạo ôn Pi-2(t) và đã duy trì qua 4 thế hệ. Để khẳng định chắc chắn dòng BR12 mang gen kháng đạo ôn Pi-2(t), cần có những nghiên cứu tiếp theo.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Chen D. H., Delavitra M., Inukai T., Mackill D. J., Ronald R. C., Nelson R. J.**, 1999: Molecular mapping of the blast resistance gene, Pi-44(t), in a line derived from a durably resistant rice cultivar. *Theor Appl. Genet.* Vol. 98: 1046-1053.
2. **Chen X., Temnykh, S. Xu, Y. Cho, Y. G. McCouch S. R.**, 1997: Development of a microsatellite fram work map providing genome-wide coverage in vitro rice (*Oryza sativa*. L.) *Theor Appl. Genet.* Vol. 95: 553-567.
3. **Henry T. Nguyen**, 1998: Application of Molecular Markers to rice improvement. In the First National Meeting of Rice Biotechnology Network in Hue 5-6/5/1998. Abstract.
4. **Hittalmani S., Foolab M. R., New T., Rodriguez R. L., Huang N.**, 1995: Development of a PCR-based marker to identified rice blast resistance gene, Pi-2(t), in a segregating population. *Theor Appl. Genet.* Vol. 91: 9-14.
5. **Inoue T., Zhong H. S., Miyao A., Ashikaw I., Monna L., Fuluoka S., Miadera N., Nagamura Y., Kurata N., Sasaki T., Minobe Y.**: Sequence-tagged sites (STSs) as standard landmarks in the rice genome. *Theor. Appl. Genet.* Vol. 89: 728-734.
6. **Mackill D. J., and Bonman J. M.**, 1992: Inheritance of blast resistance in near-isogenic lines of rice. *Phytopathology* 82: 746-749.
7. **Mackill D., Zhang Z., Redona E., Colowit P.**, 1996: Level of polymorphism and genetic mapping of AFLP markers in rice. *Genome.* Vol. 39: 969-977.
8. **McCouch S. R., Chen X., Xu Y., Cho Y. G., Hoang N., Ishu T., Lair M.**, 1997: Microsatellite marker development, mapping and application in rice genetics and breeding. *Plant Mol Biol.* Vol.35: 89-99.
9. **Naqvi N. I., Bonman M., Mackill D. J., Nelson R. J., Chattoo B.B.**, 1995: Identification of RAPD markers linked to a major blast resistance gene in rice. *Mol. Breed.* Vol. :341-348.
10. **Tragoonrung S., Kanazin V., Hayes P. M., and Blake T. K.**, 1992: Sequence-tagged-site facilitated PCR for barley genome mapping. *Theor. Appl. Genet.* Vol. 84: 1002-1008.
11. **Wang G. L., Mackill D. J., Bonman J. M., McCouch S. R., Champoux M. C., and Nelson R. J.**, 1994: RFLP mapping of genes conferring complete and partial resistance to blast in a durably resistant rice cultivar. *Genetics*, 136: 1421-1434.
12. **Zhu L., Chen Y., Ling Z., Xu Y., Xu J.**, 1993: Identification of molecular markers

- linked to a blast resistance gene in rice in: You CB, Chen ZL Agric Biotechnol. China Science and Technology Press, Beijing, China. P: 213.
13. **Phan Thị Bẩy, Lê Thị Muội, Nguyễn Đức Thành**, 1997: Kết quả kiểm tra tính kháng đạo ôn ở một số dòng lúa tái sinh từ các mô
- kháng dịch nấm *P. oryzae*. Kỷ yếu Viện CNSH 1998: 253-258.
14. **Phan Thị Bẩy, Lê Thị Muội, Nguyễn Đức Thành**, 1999: Sự biến động một số đặc điểm nông sinh học và khả năng kháng bệnh đạo ôn của các dòng lúa chọn lọc từ mô kháng dịch nấm đạo ôn. Hội nghị CNS toàn quốc tháng 12 năm 1999: 827-836.

MOLECULAR VARIATIONS OF LINES RESISTED TO RICE BLAST FUNGI

PHAN THI BAY, et al

SUMMARY

In an attempt to produce rice cultivars resisted to blast disease, we have applied the method of in vit treatment of the tissue and the cells from CR203 cultivar with culture filtrate of *P.oryzae*. The results on t selection of culluscs resisted to *P. oryzae* fungal filtrate, and the results on the test for blast resistance and t variation in agro-biological traits in R₁, R₂, R₃ and R₄ plants have been reported in previous papers (Bay et 1999; Bay et al., 2000).

In this paper, the results on molecular variations of previous obtained rice lines are presented. Molecu analyses of rice lines were performed by PCR amplificatioin technique using STS-specific primers (RG6⁺ linked to pi-2(r) gene, OPF6A and OPH18A linked to Pi-10(t) gene) and RAPD primers (OPB1 and OPB PCR products were run on 1% agarose gel to detect genetic polymorphisms in rice lines.

The obtained results in this study showed that moleculaer variations in R₁, R₂ rice lines were very hi and were stablized in R₃, R₄. Finally, one selected line showed the same DNA patterns as C101A51 (resist: cultivar), especially, the same DNA patters in this line and C101A51 obtained using STS primer RG6⁺ linked to Pi-2(t) indicated that this line and C101A51 obtained using STS primer GR64A linked to Pi-2 indicated that this line may contain Pi-2(t) gene for blast resistance.

Ngày nhận bài: 22-11-20

NHÂN GIỐNG CÂY TRÀ MY (*CAMELLIA JAPONICA* L.) BẰNG PHƯƠNG PHÁP GIÂM CÀNH

NGUYỄN HOÀNG LỘC, NGÔ ANH

Trường đại học Khoa học - Đại học Huế

ĐOÀN NHÂN ÁI, VƯƠNG QUANG MẪN, ĐẶNG QUANG BÀNG

*Trung tâm nghiên cứu và phát triển cây ăn quả
Thừa Thiên-Huế*

Camellia (họ Theaceae) là một chi thực vật phong phú có khoảng hơn 200 loài và dưới loài tập trung chủ yếu ở Trung Quốc. Việt Nam cũng có khá nhiều loài thuộc chi này như: *C. oleifera*, *C. baviensis*, *C. vietnamensis* [2], *C. japonica*,... trong đó Trà my (*Camellia japonica*) là một loại cây hoa cảnh đẹp, có các giống phổ biến là hoa đỏ, hoa hồng và hoa trắng,.... Phương thức nhân giống cây Trà my chủ yếu là giâm cành, tuy nhiên thời gian tạo rễ của cành giâm chậm và tỷ lệ sống khá thấp. Ngoài phương pháp giâm cành, người ta còn nhân giống bằng hạt, ghép hoặc nuôi cấy mô nhưng các kết quả theo hướng này đang còn hạn chế [1, 4].

Sử dụng các chất điều hòa sinh trưởng thực vật thuộc nhóm auxin kết hợp với một số các ion khoáng để xử lý cành giâm là một trong những biện pháp nâng cao hiệu quả nhân giống được sử dụng phổ biến trong sản xuất nông-lâm nghiệp và nghề làm vườn. Áp dụng phương pháp này, Trà my có thể nhanh chóng tạo được nguồn cây giống phong phú cung cấp cho thị trường hoa cảnh.

I. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Sử dụng một số loại cành giâm khác nhau của cây Trà my hoa màu hồng khỏe mạnh, không bị bệnh, đã ra hoa từ 2-3 lần [1, 3]:

- Cành mang búp lá (leaf-bud) hóa gỗ chưa hoàn toàn (semi-hardwood) và hóa gỗ hoàn toàn (hardwood), kích thước dài khoảng 2 cm.

- Cành giâm mang chồi ngọn (shoot-tip) không tạo vết thương và có tạo vết thương ở gốc, kích thước dài 5-7 cm, có từ 2-3 lá.

- Cành giâm không mang chồi ngọn thuộc loại hardwood, kích thước dài 5-7 cm, có từ 2-3 lá.

Thời gian tiến hành thí nghiệm giâm cành vào tháng 9/1998 (Huế). Thời điểm cắt cành vào khoảng 6-7 giờ sáng. Dùng dao lam cắt bằng ở 2 đầu cành giâm. Tiến hành giâm bằng cách cắm nghiêng vào chậu một góc từ 30-45° ngay sau khi cắt cành và xử lý chất kích thích sinh trưởng.

- Môi trường giâm trong chậu: Bao gồm phân chuồng hoại dày khoảng 2 cm ở dưới cùng, tiếp đến là lớp cát sạch dày khoảng 15 cm ở giữa, trên cùng là một lớp mỏng tro trấu [5].

- Thành phần dung dịch xử lý: Dung dịch khoáng (Fe^{2+} , Mn^{2+} , B^{3+} , Mo^{6+} , Cu^{2+} , Zn^{2+}) được bổ sung IBA (indole-3-butyric acid) từ 1000 đến 7000 ppm, pH dung dịch bằng 7 [1, 5, 6]. Bổ sung thuốc VIBEN-C®50BTN 1,5‰ để trừ bệnh cho cành giâm.

- Xử lý và giâm: Các cành giâm sau khi cắt được xử lý nhanh 5 giây trong dung dịch xử lý. Cắm nghiêng cành giâm vào chậu, mật độ 7 cành/chậu (đường kính chậu 25 cm). Các chậu giâm được đặt trong nhà lưới có mái che bằng plastic (tôn sáng).

- Chế độ chăm sóc: Dùng hệ thống tưới phun sương và tưới bằng phương pháp tưới

thấm, đảm bảo độ ẩm đất cao trong 10 ngày đầu [5]. Phun qua lá thuốc VIBEN-C®50BTN 1,5‰ cho cành giâm ngay sau khi giâm và định kỳ 15 ngày/lần. Cành giâm sau khi ra ngôi sẽ được tiếp tục phun thuốc trừ bệnh và bón thêm phân qua lá định kỳ 30 ngày/lần.

Xác định thời gian tạo rễ, chiều dài rễ, số lượng rễ và tỷ lệ giâm tạo rễ; chiều cao cây con sau khi một thời gian ra ngôi.

Mỗi công thức thí nghiệm tiến hành trên 15 mẫu với 3 lần lặp lại. Số liệu thí nghiệm được xử lý bằng phương pháp thống kê sinh học theo

chương trình STATGRAPHICS.

II. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

1. Thí nghiệm giâm cành leaf-bud:

Nhúng vào cành giâm loại semi-hardwood trong dung dịch xử lý có chứa IBA ở các nồng độ 2000, 3000, 4000 và 5000 ppm hoặc loại hardwood trong dung dịch xử lý có chứa IBA các nồng độ 3000, 4000, 5000, 6000 và 7000 ppm. Kết quả sau 4 tháng chăm sóc và theo dõi trình bày ở bảng 1 và 2.

Bảng

Thí nghiệm cành giâm leaf-bud (semi-hardwood) có xử lý IBA

Nồng độ IBA (ppm)	Thời gian tạo rễ (tuần)	Tỷ lệ cành giâm tạo rễ (%±SE)	Số rễ/cành giâm (M±SE)	Chiều dài rễ (cm) (M±SE)
5000	5-6	100±0,00	4,83±1,74 ns	6,82±0,63 ns
4000	5-6	93±6,67	4,33±1,48 ns	6,68±0,43 ns
3000	3-4	100±0,00	6,00±0,87 *	5,87±0,42 ns
2000	3-4	100±0,00	7,17±0,33***	6,30±0,60 ns
ĐC	9-10	87±6,67	3,67±0,44	7,94±1,16

M: trung bình cộng. SE: độ sai chuẩn. ĐC: đối chứng không xử lý IBA.

ns: sai khác không có nghĩa. *: sai khác có ý nghĩa ở $p < 0,05$.

***: sai khác có ý nghĩa ở $p < 0,001$ (so với đối chứng)

Bảng

Thí nghiệm cành giâm leaf-bud (hardwood) có xử lý IBA

Nồng độ IBA (ppm)	Thời gian tạo rễ (tuần)	Tỷ lệ cành giâm tạo rễ (%±SE)	Số rễ/cành giâm (M±SE)	Chiều dài rễ (cm) (M±SE)
7000	8-9	100±0,00	5,80±0,20 ***	7,50±0,26ns
6000	6-7	100±0,00	5,60±0,23 ***	8,12±0,17 *
5000	6-7	100±0,00	6,07±0,13 ***	8,49±0,06 **
4000	5-6	100±0,00	6,33±0,07 ***	9,06±0,60 *
3000	3-4	100±0,00	6,53±0,13 ***	8,13±0,23 *
ĐC	11-12	87±6,67	3,90±0,15	6,60±0,46

***: sai khác có ý nghĩa ở $p < 0,001$ (so với đối chứng)

Các số liệu ở bảng 1 cho thấy xử lý IBA ở nồng độ 2000 và 3000 ppm cho thời gian tạo rễ nhanh và số lượng rễ trên một cành cao hơn cả. Thời gian tạo rễ nhanh thường giúp

giảm sớm thích ứng với môi trường. Số lượng rễ và tỷ lệ cành giâm tạo rễ ở các công thức đối chứng thấp hơn so với các công thức có xử lý IBA.

Thông thường, trong nhân giống vô tính bằng giâm cành, người ta hay sử dụng các loại cành giâm có mang chồi ngọn hoặc không, ít khi sử dụng loại leaf-bud. Ứng dụng kỹ thuật leaf-bud thành công trên cây Trà my rất có ý nghĩa trong việc sử dụng được số lượng mẫu phong phú trên một cây mẹ (stock plant).

2. Thí nghiệm giâm cành shoot-tip:

Nhúng các cành giâm không tạo vết thương và có tạo vết thương ở gốc trong dung dịch xử lý

có chứa IBA ở các nồng độ 1000, 2000, 3000 và 4000 ppm. Kết quả sau 4 tháng chăm sóc và theo dõi trình bày ở bảng 3 và 4.

Kết quả ở bảng cho thấy xử lý IBA ở nồng độ 1000 và 2000 ppm, tương ứng cho thời gian tạo rễ tương đối sớm (5-6 và 4-5 tuần), số rễ trên cành giâm nhiều (14,53 và 12,33) và tỷ lệ cành giâm tạo rễ cũng khá cao (87 và 100%). Trong khi đó, kết quả ở bảng 4 có sự khác biệt mặc dù cùng một loại cành nhưng nếu tạo vết thương ở gốc thì chúng lại cảm ứng mạnh với IBA ở nồng độ 2000-3000 ppm; thời gian tạo rễ và số rễ tương ứng là 6-7/5-6 tuần và 12,00/17,73 rễ; tỷ lệ cành giâm tạo rễ là 100/93%.

Bảng 3

Thí nghiệm cành giâm shoot-tip không tạo vết thương có xử lý IBA

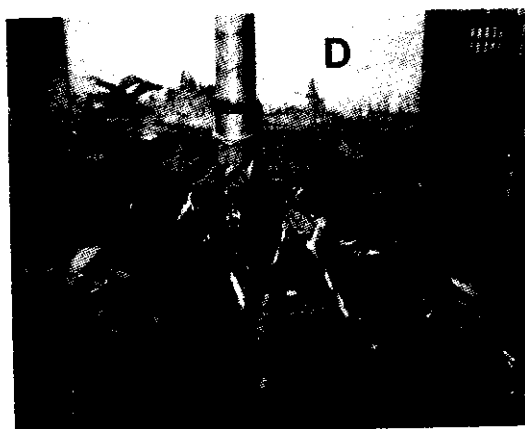
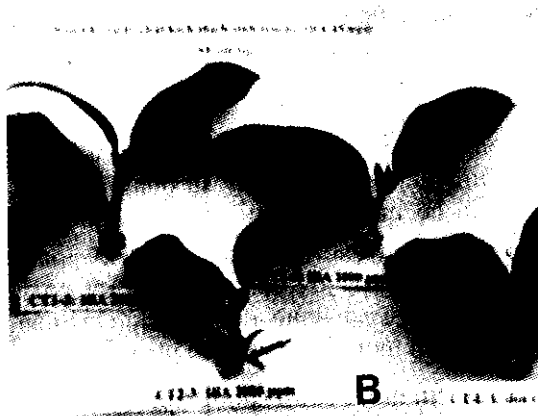
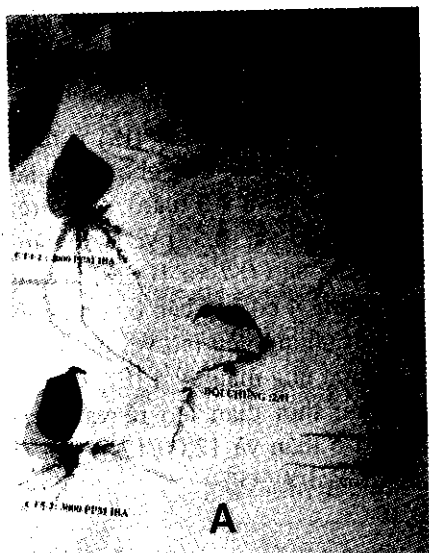
Nồng độ IBA (ppm)	Thời gian tạo rễ (tuần)	Tỷ lệ cành giâm tạo rễ (%±SE)	Số rễ/cành giâm (M±SE)	Chiều dài rễ (cm) (M±SE)
4000	6-7	87±4,67	8,33±3,34 ns	6,19±1,12 ns
3000	5-6	100±0,00	12,00±1,26 ***	6,25±0,69 ns
2000	4-5	100±0,00	12,33±0,68 ***	4,45±0,20 ***
1000	5-6	87±6,21	14,53±2,56 ***	7,46±0,01
ĐC	9-10	80±11,55	4,90±0,10	7,46±0,01

Bảng 4

Thí nghiệm cành giâm shoot-tip có tạo vết thương kết hợp xử lý IBA

Nồng độ IBA (ppm)	Thời gian tạo rễ (tuần)	Tỷ lệ cành giâm tạo rễ (%±SE)	Số rễ/cành giâm (M±SE)	Chiều dài rễ (cm) (M±SE)
4000	6-7	93±4,34	10,46±0,91 ***	6,47±0,43 *
3000	5-6	93±4,86	11,73±0,91 ***	4,78±0,38 ***
2000	4-5	100±0,00	12,00±1,35 ***	5,10±1,13 *
1000	5-6	93±6,12	9,67±1,26 ***	6,46±0,59 ns
ĐC	9-10	80±11,55	4,90±0,10	7,46±0,01

Nhìn chung, các cành giâm loại leaf-bud cảm ứng với IBA nhanh hơn nhưng càng về sau thì IBA lại tác dụng hiệu quả hơn trên các cành giâm loại shoot-tip, biểu hiện rõ ở số lượng rễ nhiều và đa số rễ có đường kính lớn hơn. Tuy nhiên, tỷ lệ tạo rễ của cành giâm shoot-tip thấp hơn cả hai loại leaf-bud. Công thức ĐC có số rễ và tỷ lệ cành giâm tạo rễ thấp, thời gian tạo rễ chậm hơn nhiều so với các công thức có xử lý IBA.



Hình 1. A: Cảnh giâm leaf-bud có xử lý IBA và đối chứng. B: Cảnh giâm shoot-tip có xử lý IBA và đối chứng. C: Cảnh giâm không mang chồi ngọn có xử lý IBA và đối chứng. D: Cây Trà my cảnh 1 năm tuổi. E: Cây Trà my giâm cảnh 2 năm tuổi

3. Thí nghiệm giảm cành không mang chồi ngọn hóa gỗ hoàn toàn:

Nhúng cành giâm trong dung dịch xử lý có chứa IBA ở các nồng độ 4000, 5000, 6000 và 7000 ppm. Kết quả sau 4 tháng theo dõi trình bày ở bảng 5. Công thức xử lý IBA nồng độ 5000 ppm cho kết quả số lượng và chiều dài rễ lớn hơn cả. So với các loại mẫu khác, nồng độ IBA thích hợp để cho cành giâm không có chồi ngọn tạo rễ là cao hơn và ở công thức này thời gian xuất hiện rễ cũng chậm. Tuy nhiên, tỷ lệ cành giâm tạo rễ ở tất cả các công thức xử lý IBA đều là 100%.

Kết quả về giâm cành Trà my khá phong phú, tùy thuộc vào các giống khác nhau, mùa trong năm, cũng như phương pháp xử lý người ta thu được tỷ lệ cành giâm tạo rễ dao động từ 13-73%, 90% và thậm chí cả 100%. Chẳng hạn, Hiệp hội Trà my Mỹ (American Camellia Society) gợi ý mùa giâm cành thích hợp cho Trà my có thể là tháng 5, 9 và cả tháng 11, nồng độ IBA dùng từ 3000-5000 ppm, cần tạo vết thương cho cành giâm, thành phần môi trường giâm bao gồm cát và than bùn hoặc than bùn và đá perlite,

dùng màng che hoặc lều. Thí nghiệm ở bang Alabama (Mỹ) vào đầu tháng 11 trên 25 giống khác nhau, có bóc vỏ cành giâm, giâm trong cát và đặt trong nhà ẩm cho kết quả 90% cành giâm tạo rễ vào mùa xuân. Ở Boston (Mỹ), người ta giâm cành vào tháng 11, tạo vết thương, dùng IBA dạng bột talc bổ sung thêm thiram, đất giâm là than bùn và đá perlite, đặt trong lều, kết quả 100% cành giâm tạo rễ. Một thí nghiệm khác trên 128 giống Trà my cho thấy nồng độ IBA từ 3000-8000 ppm là thích hợp nhất, cây mẹ còn non có khả năng tạo rễ tốt hơn. Tuy nhiên, các chất sinh trưởng thực vật có thể làm chậm sự phá ngủ của chồi trên cành giâm [1].

Khi tiến hành xử lý ở nồng độ IBA từ 1000-7000 ppm cho 5 loại mẫu vật của giống Trà my hoa hồng, chúng tôi thu được kết quả: tỷ lệ cành giâm tạo rễ 87-100%, thời gian ra rễ 3-9 tuần, số rễ trung bình 4,3-14,5. Đối chứng không xử lý IBA hoặc xử lý chậm bằng 2,4-D 15 ppm trong 8 giờ đều cho hiệu quả thấp hơn, thí nghiệm giâm cành 2 giống Trà my màu đỏ và màu trắng cũng cho kết quả tương tự như giống màu hồng (số liệu không trình bày).

Bảng 5

Thí nghiệm giâm không mang chồi ngọn (hardwood) có xử lý IBA

Nồng độ IBA (ppm)	Thời gian tạo rễ (tuần)	Tỷ lệ cành giâm tạo rễ (%±SE)	Số rễ/cành giâm (M±SE)	Chiều dài rễ (cm) (M±SE)
7000	7-8	100±0,00	7,25±0,64 ***	6,72±1,02 ns
6000	6-7	100±0,00	8,41±1,18 **	6,28±0,54 *
5000	6-7	100±0,00	11,24±0,55 ***	9,84±0,30 ***
4000	7-8	100±0,00	7,12±0,93 *	5,75±0,47 ***
ĐC	9-10	80±11,55	4,90±0,10	7,46±0,01

4. Theo dõi sinh trưởng của cành giâm:

Các cành giâm sau 4 tháng sinh trưởng trên môi trường giâm đã được ra ngôi để tiếp tục theo dõi sức sống của chúng. Kết quả sau 8 tháng chăm sóc cho thấy (số liệu không trình bày chi tiết):

- Cành giâm leaf-bud thuộc 2 loại hardwood và semi-hardwood có tốc độ sinh trưởng gần tương đương nhau, chiều cao trung bình của cây

non khoảng 18,59 cm; tỷ lệ cây non sống sót khoảng 81% (đối chứng tương ứng là 13,25 cm và 36%).

- Cành giâm shoot-tip có tạo vết thương và không tạo vết thương cũng có tốc độ sinh trưởng tương đương nhau, chiều cao trình bình của cây con khoảng 20,22 cm; tỷ lệ cây con sống sót khoảng 89% (đối chứng tương ứng là 14,88 cm và 41%).

- Cành giâm không mang chồi ngọn hóa gỗ hoàn toàn có chiều cao trung bình của cây non khoảng 16,13 cm; tỷ lệ cây con sống sót khoảng 61% (đối chứng tương ứng là 14,88 cm và 41%).

III. KẾT LUẬN

- Cành giâm leaf-bud loại hóa gỗ chưa hoàn toàn thích hợp với nồng độ IBA 2000 ppm; tạo rễ sau 3-4 tuần; số rễ trung bình trên một cành giâm 7,17; chiều dài rễ trung bình 6,30 cm; tỷ lệ cành giâm tạo rễ 100%. Cành giâm leaf-bud loại hóa gỗ hoàn toàn thích hợp với nồng độ IBA 3000 ppm; tạo rễ sau 3-4 tuần; số rễ trung bình 6,53; chiều dài rễ trung bình 8,13 cm; tỷ lệ cành giâm tạo rễ 100%.

- Cành giâm loại shoot-tip không tạo vết thương thích hợp với nồng độ IBA 1000-2000 ppm; tạo rễ sau 4-6 tuần; số rễ trung bình 12,33-14,53; chiều dài rễ trung bình 4,45-5,20 cm; tỷ lệ cành giâm tạo rễ 87-100%. Cành giâm loại shoot-tip có tạo vết thương thích hợp với nồng độ IBA 2000-3000 ppm; tạo rễ sau 5-7 tuần; số rễ trung bình 11,73-12,00; chiều dài rễ trung bình 4,78-5,10 cm; tỷ lệ cành giâm tạo rễ 93-100%.

- Sau 8 tháng ra ngôi, chiều cao trung bình và tỷ lệ cây non sống sót tương ứng là 18,59 cm

và 81% (cành leaf-bud); 20,22 cm và 89% (cành shoot-tip); 16,13 cm và 61% (cành giâm không mang chồi ngọn).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Dirr MA. and Heuser CWd Jr.**, 1987: T reference manual of wood plant propagation: from seed to tissue culture. Varsity Press, Inc USA: 21-29, 99.
2. **Ngô Quang Đê, Trần Ngọc Hải**, 1996: Phát hiện loại Trà my có hương thơm (*Camellia baviensis* De & Hai). TC H. cảnh 6: 12-13.
3. **Hartmann HT, Kester DE and Davies Jr.**, 1990: Plant propagation: Principles and practices, 5th Ed Prentice-Hall, Englewood Cliffs, NJ, USA: 165-299.
4. **Janeiro LV, Vietez AM and Ballester** 1996: Cryopreservation of some embryonic axes of *Camellia japonica* Plant Cell Reports 15: 699-703.
5. **Võ Đại Thanh Lâm**, 1998: Chất kích thích tạo rễ và điều kiện giâm cành tối ưu. Hoa cảnh, 6: 15-16.
6. **Nguyễn Văn Uyển**, 1989: Các chất kích thích trong nông nghiệp. NXB Tp. Hồ Minh: 50-63.

CUTTING PROPAGATION OF *CAMELLIA JAPONICA* L.

NGUYEN HOANG LOC, et al

SUMMARY

Our results shown that leaf-bud cuttings (semi-hardwood) were treated by 2000 ppm IBA rooted 100% in 3-4 weeks later. Whereas, leaf-bud cuttings (hardwood) strongly induced with 3000 ppm IBA, 100% rooted in 3-4 weeks.

Stem cuttings with shoot-tip achieved 87 to 100% rooting in 4-6 weeks at 1000-2000 ppm IBA. cuttings with harmed shoot-tip rooted with 2000-3000 ppm IBA in 5-7 weeks with 93-100% success. cuttings without shoot-tip had success with 5000 ppm IBA, 100% rooting in 6-7 weeks.

After 8 months of transplanting, propagated plants size up to 18.59 cm in high with 81% survival (leaf bud) or 22.22 cm with 89% (stem cuttings with shoot-tip) or 16.13 cm with 61% (stem cuttings without shoot tip), respectively.

Ngày nhận bài: 16-01-2001

PHÂN TÍCH TRÌNH TỰ CỦA ĐOẠN ĐIỀU KHIỂN CỦA GIEN TỔNG HỢP ĐƯỜNG (RSUC1-PROMOTER) TỪ GIỐNG LÚA C71

LÊ THỊ THU HIỀN, LÊ TRẦN BÌNH,
ĐINH DUY KHÁNG, NÔNG VĂN HẢI

Viện Công nghệ sinh học

Cho đến nay, số lượng các gen có giá trị được sử dụng để chuyển vào cây trồng ngày một tăng. Tuy nhiên, các gen này chủ yếu được điều khiển bởi các promoter không đặc hiệu như CaMV 35S-promoter, actin promoter, ubiquitin promoter... dẫn đến sản phẩm của gen được biểu hiện ở khắp các mô, cơ quan và ở mọi giai đoạn của quá trình sinh trưởng phát triển của cây. Vì vậy, hiện nay bên cạnh việc phân lập các gen có giá trị, vấn đề tìm kiếm các đoạn promoter đặc hiệu cũng như những nghiên cứu về điều khiển hoạt động của gen thông qua các đoạn promoter này đang là mục tiêu nghiên cứu của nhiều phòng thí nghiệm trên thế giới [1]. Ở nước ta, những vấn đề này cũng đang bắt đầu được tiếp cận nghiên cứu.

Gen tổng hợp đường là một trong những gen quan trọng tham gia vào mọi hoạt động sống của tế bào. Ở cây lúa, hiện nay người ta đã tìm được 3 gen *Rsuc1*, *Rsuc2*, *Rsuc3* cùng có chức năng tổng hợp đường [3, 8, 9]. Nghiên cứu của Huang và cs [3] về mức độ biểu hiện của các gen này trong các mô như: rễ, chồi, mô sẹo, hạt cho thấy gen *Rsuc2* có tính đặc hiệu mô không cao, gen *Rsuc3* đặc hiệu cao ở hạt, chỉ có *Rsuc1* đặc hiệu phloem, rễ, mầm. Gần đây, promoter của gen tổng hợp đường ở cây lúa được quan tâm đặc biệt trong các nghiên cứu chuyển gen. Năm 1998, Rao và cs [5] đã sử dụng promoter này để điều khiển quá trình biểu hiện gen GNA (gen mã hóa lectin ở đây hoa điểm tuyết) trong cây lúa cho hiệu quả diệt côn trùng rất cao.

Nhằm mục đích sử dụng promoter của gen tổng hợp đường vào việc thiết kế các vectơ mang gen kháng sâu đục thân, kháng côn trùng hút nhựa thân lúa như rầy nâu, rầy xanh... để chuyển vào các giống lúa Việt Nam, chúng tôi

đã tiến hành nhân đoạn promoter này ở 2 giống lúa C71, CR203. Chúng tôi đã hoàn thành nghiên cứu tách dòng phân tử và đọc trình tự của đoạn promoter này từ giống lúa C71.

I. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Hạt của 2 giống lúa C71 và CR203 (vụ xuân 1998) được lưu giữ tại Phòng Công nghệ Tế bào thực vật, Viện Công nghệ sinh học. Các plasmid pUC118 (Takara, Nhật Bản) và pBluescript KS(-) (Stratagene, Mỹ) được dùng để tạo dòng. Cặp mồi (primer) để nhân *Rsuc1*-promoter do chúng tôi thiết kế được đặt tổng hợp tại Hãng Genset (Singapore Biotech Pte, Ltd.).

ADN tổng số được tách chiết từ mầm lúa theo phương pháp của Becker và cs [2]. Nồng độ và độ sạch của ADN được xác định bằng điện di và phổ hấp thụ trên máy quang phổ (Hewlett Parkard, Mỹ).

Phản ứng dây chuyền polymerase (PCR), tạo dòng phân tử ADN được tiến hành theo Sambrook và cs [6]. Chu trình nhiệt của PCR bao gồm: 95°C: 30", (95°C: 1', 54°C: 1', 72°C: 1'20"), lặp lại 35 chu kỳ: 72°C: 8', giữ ở 4°C.

Trình tự ADN được xác định theo phương pháp của Sanger và cs [7] trên máy phân tích trình tự ADN tự động ALF Express (Amersham Pharmacia Biotech).

II. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

1. Thiết kế cặp primer đặc hiệu cho *Rsuc1*-promoter của cây lúa:

Nhằm mục đích phân lập đoạn *Rsuc1*-promoter từ các giống lúa Việt Nam, chúng tôi đã thiết kế cặp mồi đặc hiệu để nhân promoter của gen *Rsuc1* này. Kích thước của gen *Rsuc1*

là 8167 bp, trong đó kích thước của đoạn promoter tương đối lớn, chiếm khoảng 3 kb [8]. Tuy nhiên, các vùng trình tự đặc biệt cần thiết cho chức năng của chúng thường nằm ở gần với vùng khởi đầu phiên mã. Vùng nằm xa vị trí khởi đầu phiên mã (về phía đầu 5' của promoter) thường chứa 1 vài đoạn tăng cường (enhancers) [4]. Do vậy, trên cơ sở trình tự của gen *Rsucl* đã được công bố chúng tôi thiết kế cặp primer đặc hiệu để nhận đoạn promoter kích thước khoảng 2 kb nằm gần vùng khởi đầu phiên mã. Trong đó, primer 1 (SUC-S) kích thước 31 bp, primer 2 (SUC-B) kích thước 34 bp với trình tự như sau:

SUC-S:

5'-GGAGCTCGGTCTGGTAATCAAATCACCC-3'

SUC-B:

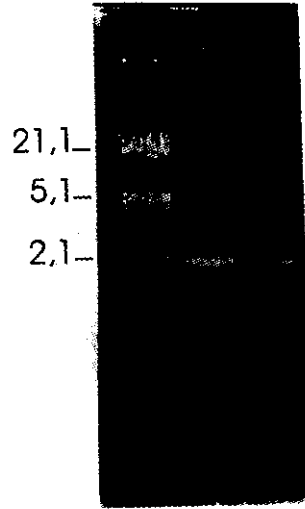
5'-CCATGGATCCCATGACTCAATTCAGGAAGTGC-3'

2. Phân lập *Rsucl*-promoter từ ADN tổng số của 2 giống lúa C71, CR203:

Chúng tôi tiến hành PCR từ ADN tổng số của 2 giống lúa C71, CR203 sử dụng cặp mỗi SUC-S, SUC-B. Trước đó ADN tổng số được tách chiết và kiểm tra độ sạch bằng phổ hấp thụ tử ngoại và điện di trên gel agarose 0,8%. Kết quả cho thấy ADN chiết được từ 2 giống lúa C71, CR203 đều sạch ($A_{260/280}$ từ 1,67-1,91), không bị phân hủy, không lẫn RNA và có thể sử dụng để nhận *Rsucl*-promoter. Kết quả điện di cho thấy ở 2 giống lúa C71, CR203 sản phẩm PCR là 1 băng chính có kích thước tương ứng với 2 vạch 2, 01 kb trên thang ADN chuẩn (hình 1).

Trên cơ sở trình tự *Rsucl*-promoter đã được công bố, chúng tôi đã kiểm tra bản đồ enzym giới hạn. Kết quả cho thấy sản phẩm PCR có 1 điểm nhận biết của *EcoRI*, 2 điểm nhận biết của *PstI*, 1 điểm nhận biết của *HindIII*. Sau đó, chúng tôi đã sử dụng cả 3 enzym này để cắt sản phẩm PCR thu được từ giống lúa C71. Các enzym giới hạn *EcoRI* và *PstI* đã cho kết quả phù hợp với tính toán lý thuyết, còn *HindIII* không cắt sản phẩm PCR. Chúng tôi dự đoán là có sự khác biệt về trình tự nucleotit giữa *Rsucl*-promoter đã được công bố với C71S-promoter ở vùng nhận biết của enzym này. Qua kết quả này chúng tôi sơ bộ kết luận là đã nhận được *Rsucl*-promoter từ giống lúa C71, và đặt tên gọi là C71S-promoter.

kb M 71 203



Hình 1. Sản phẩm PCR của *Rsucl*-promoter từ 2 giống lúa C71, CR203

Cột 1 (M): ADN λ /*HindIII* + *EcoRI*; Cột 2: *Rsucl* promoter từ giống lúa C71 (C71S-*Rsucl*-promoter); Cột 3: *Rsucl*-promoter từ giống lúa CR203 (CR203-*Rsucl* promoter)

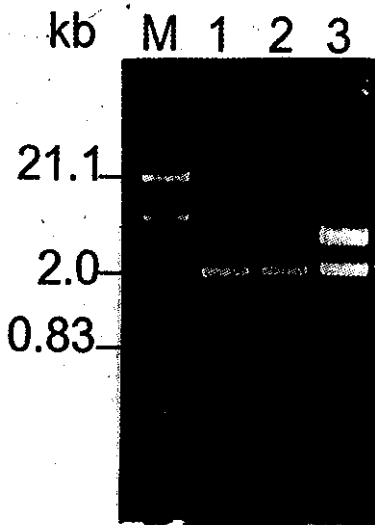
3. Tách dòng *Rsucl*-promoter từ giống 1 C71:

Sản phẩm PCR thu được từ giống lúa C71 được gắn trực tiếp vào vectơ pUC118 (trước đã mở vòng bằng *HincII*) và biến nạp vào *E. coli* chủng DH5 α . Vectơ pUC118 có 1 điểm cắt của *BamHI* nằm bên trái vị trí nhận biết *HincII*. Trong trình tự của SUC-B chúng tôi có thiết kế thêm 1 điểm cắt của enzym này. Nếu như sản phẩm PCR được gắn xuôi chiều thì khi xử lý bằng *BamHI* sẽ xuất hiện 1 băng kích thước bằng C71-S (cột 2, hình 2). Kết quả điện di cho thấy vectơ tái tổ hợp này có mang đoạn ADN kích thước phân tử tương đương với sản phẩm PCR (cột 3, hình 2).

Để kiểm tra sơ bộ cấu trúc của pUC118-C71S, chúng tôi đã tiến hành phân tích bản đồ enzym giới hạn của vectơ này. Vectơ pUC118 có 1 điểm cắt của *EcoRI* nằm bên trái vị trí nhận biết của *HincII* (nơi sản phẩm PCR được gắn vào). Trong promoter cũng có 1 điểm cắt của enzym này. Tùy thuộc vào chiều gắn

C71-S vào vectơ, sản phẩm cắt sẽ là 2 băng có kích thước khoảng 0,65 kb, 4,5 kb (trường hợp 1), hoặc là 1,3 kb, 3,85 kb (trường hợp 2 - khi C71-S gắn theo chiều ngược lại). Kết quả nhận được cho thấy *EcoRI* cắt thành plasmid thành 2 băng đúng với trường hợp 1. Khi xử lý vectơ tái tổ hợp bằng *PstI* và *PvuII* cũng cho kết quả tương tự với tính toán lý thuyết (cả 2 enzym này đều cắt vectơ thành 3 đoạn có kích thước khác nhau).

Trên cơ sở những phân tích này chúng tôi khẳng định đã tách dòng được *Rsucl*-promoter từ giống lúa C71. Chúng tôi đã tiến hành tách chiết và tinh chế một lượng lớn vectơ này để chuẩn bị đọc trình tự nucleotit và tạo các dòng phụ.



Hình 2. Tách dòng *Rsucl*-promoter từ giống lúa C71

M: ADN λ /*HindIII* + *EcoRI*; 1: Sản phẩm PCR từ giống C71 (C71S); 2: Sản phẩm PCR của C71S cắt bằng *BamHI*; 3: pUC118-C71S cắt bằng *BamHI*

4. Tạo dòng phụ:

Kích thước của đoạn C71S-promoter khá

dài. Vì vậy, để xác định được toàn bộ trình tự của promoter này chúng tôi phải tiến hành tạo các dòng phụ. Để thu nhận các đoạn cắt từ C71S-*Rsucl* promoter, vectơ pUC117-C71S được xử lý bằng *PstI*. Như đã trình bày, *PstI* cắt pUC118-C71S thành 3 đoạn kích thước khoảng 0,85 kb, 0,95 kb, 3,35 kb. Chúng tôi đã sử dụng enzym này để tạo 2 đoạn ngắn (khoảng 0,85 kb và 0,95 kb), sau đó gắn vào vectơ pBluescript KS(-) để xác định trình tự. Các dòng mang plasmid tái tổ hợp ký hiệu pBS-P1 \rightarrow pBS-P10 (chứa đoạn khoảng 0,95 kb), pBS-P11 \rightarrow pBS-P20 (chứa đoạn khoảng 0,85 kb). Ngoài ra, chúng tôi cũng xử lý pUC118-C71S bằng *EcoRI* để loại bỏ đoạn có phân tử lượng khoảng 0,65 kb, sau đó gắn lại bằng T4 DNA ligase. Kết quả đã tạo thêm được các dòng phụ pBS-E1 \rightarrow pBS-E5 (chứa đoạn khoảng 1,3 kb). Chúng tôi đã tiến hành đọc trình tự từ 2 đầu của các dòng chính và dòng phụ này.

Kết quả đọc trình tự của các dòng ban đầu cũng như các dòng phụ đều được xử lý qua chương trình P/CGENE và so sánh với trình tự của *Rsucl*-promoter đã công bố. Kết quả chúng tôi đã phát hiện thấy một điểm đáng chú ý là đoạn promoter của gen tổng hợp đường ở giống lúa C71 Việt Nam (C71S-promoter) có thêm 1 đoạn dài 13 nucleotit (đoạn in đậm trên hình 4). Ngoài ra, trên toàn bộ chiều dài gần 2 kb còn có 14 vị trí nucleotit khác nhau giữa 2 trình tự này. So sánh trình tự *Rsucl*-promoter đã công bố tại các ngân hàng EMBL/Genbank/DDBJ được trình bày trên hình 3.

Để nghiên cứu sự điều khiển biểu hiện gen của C71 *Rsucl*-promoter, chúng tôi đang tiến hành thiết kế vectơ mang gen kháng côn trùng, trong đó có gen độc tố từ *Bacillus thuringiensis*, gen mã hóa chất kìm hãm alpha-amylase từ đậu cove..., để phục vụ cho các nghiên cứu chuyển gen vào cây lúa.

SUC01 - ATCTGATGGTGGTCTGGTAATCAAATCACAGATCCTGAAATCCACCAAATCAAACCGTGAGATTTTGCAGAG -75
 HSUC71- ATCTGATGGTGGTCTGGTAATCAAATCACCGGATCCTGAAATCCACCAAATCAAACCGTGAGATTTTGCAGAG -75

SUC01 - GCAAAACAAGAAAAGCATCTGCTTTATTTCTCTCTTGCTTTCTTTTCATCCCCAACCCAGTCTTTTTTCTTCTGT -150
 HSUC71- ACAAACAAGAAAAGCATCTGCTTTATTTCCCTCTTGCTTTCTTTTCATCCCCAACCCAGTCTTTTTTCTTCTGT -150

SUC01 - TTATTTGTAGAAGTCTACCACCTGCAGTCTATTATTCTACAGAGAAAAGATTGAAGCTTTTTTCTCCAAGCT -225
 HSUC71- TTATTTGTAGAAGTCTACCACCTGCAGTCTATTATTCTACAGAGAAAAGATTGAACCTTTTTTCTCCAAGCT -225

SUC01 - GACAATGGTGCCGGCATATGCTAATAGGATACTCCCTTCGTCTAG-----GAAAAACCAACCCACT -287
 HSUC71- GACAATGGTGCCGGCATATGCTAATAGGATACTCCCTTCGTCTAGTCCCTTCGTCTAGGAAAAACCAACCCACT -300

SUC01 - ACAATTTGAATATATATTTATTTCAGATTTGTTATGCTTCCTACTCCTTCTCAGGTATGGTGAGATATTCATAG -362
 HSUC71- ACAATTTGAATATATATTTATTTCAGATTTGTTATGCTTCCTACTCCTTCTCAGTTATGGTGAGATATTCATAG -375

SUC01 - TATAATGAATTTGGACATATATTTGTCCAAATTCATCGCATTATGAAATGCTCGTTCGATCTATGTTGTTATAT -437
 HSUC71- TATAATGACTTTGACATATATTTGCCAAATTCATCGCATTATGAAATGCTCGTTCGATCTAGGTTGTTATAT -450

SUC01 - TAT-AGACGGAGATAGTAGATTCGGTTATTTTTGGACAGAGAAAAGTACTCGCCTGTGCTAGTGACATGATTAGTG -511
 HSUC71- TATGAGACGGAGAGATAGATTCGGTTATTTTTGGACAGAGAAAAGTACTCGCCTGTGCTAGTGACATGATTAGTG -525

SUC01 - ACACCATCAGATTAATAAACATATGTTTTGATTAATAAAATGGGAATTTGGGGGAGCAATAATTTGGGGTTA -586
 HSUC71- ACACCATCAGATTAATAAACATATGTTTTGATTAATAAAATGGGAATTTGGGGGAGCAATAATTTGGGGTTA -600

SUC01 - TCCATTGCTGTTTCATCATGTCAGCTGAAAGGCCCTACCACTAAACCAATATCTGTAATTTTACCACCTATCA -661
 HSUC71- TCCATTGCTGTTTCATCATGTCAGCTGAAAGGCCCTACCACTAAACCAATATCTGTAATTTTACCACCTATCA -675

SUC01 - GAATTCAGAGCACTGGGGTTTTGCAACTATTTATTGGTCTTCTGGATCTCGGAGAAACCCCTCCATTGCTTTGCT -736
 HSUC71- GAATTCAGAGCACTGGGGTTTTGCAACTATTTATTGGTCTTCTGGATCTCGGAGAAACCCCTCCATTGCTTTGCT -750

SUC01 - CGTCTCTGACCACCATTGGGTATGTTGCTTCCATTGCCAAACTGTCCCTTTTACCCATAGGCTGATTGATCTTG -811
 HSUC71- CGTCTCTGACCACCATTGGGTATGTTGCTTCCATTGCCAAACTGTCCCTTTTACCCATAGGCTGATTGATCTTG -825

SUC01 - GCTGTGTGATTTTTGCTTGGGTTTTTGAGCTGATTGAGCGGCGCTGCAGCCTTTGATCGTGGTCTTGGCTCG -886
 HSUC71- GCTGTGTGATTTTTGCTTGGGTTTTTGAGCTGATTGAGCGGCGCTGCAGCCTTTGATCGTGGTCTTGGCTCG -900

SUC01 - CCCATTTCTTGGCATTCTTTGGTGGGTCGTCAGCTGAATCTGCAGGAGTTTTTGCTGACATGTTCTTGGGTTA -961
 HSUC71- CCCATTTCTTGGCATTCTTTGGTGGGTCGTCAGCTGAATCTGCAGGAGTTTTTGCTGACATGTTCTTGGGTTA -975

SUC01 - CTGCTTTCCGGTAAATCTGAACCAAGAGGGGGTTTTCTGCTGCAGTTTAGTGGGTTTACTATGAGCGGATTCGGGG -1036
 HSUC71- CTGCTTTCCGGTAAATCTGAACCAAGAGGGGGTTTTCTGCTGCAGTTTAGTGGGTTTACTATGAGCGGATTCGGGG -1050

SUC01 - TTTTCGAGGAAAACCGGCAAAAAACCTCAAATCCTCGACCTTTAGTTTTGCTGCCACGTTGCTCCGCCCCATTGCA -1111
 HSUC71- TTTTCGAGGAAAACCGGCAAAAAACCTCAAATCCTCGACCTTTAGTTTTGCTGCCACGTTGCTCCGCCCCATTGCA -1125

SUC01 - GAGTTCTTTTTGCCCCAAATTTTTTTTACTTGGTGCAGTAAGAATCGCGCCTCAGTGATTTTCTCGACTCGTA -1186
 HSUC71- GAGTTCTTTTTGCCCCAAATTTTTTTTACTTGGTGCAGTAAGAATCGCGCCTCAGTGATTTTCTCGACTCGTA -1200

SUC01 - GTCCGGT GATACTGTGTCTTGCTTATCACTTGTCTGCTTAATCTTTTTTGCTTCTCTGAGGAATGTCTTGGTGCC -1261
 |||
 HSUC71- GTCCGGT GATACTGTGTCTTGCTTATCACTTGTCTGCTTAATCTTTTTTGCTTCTCTGAGGAATGTCTTGGTGCC -1275

SUC01 - TGTCGGTGGATGGCGAACCAAAAATGAAGGGTTTTTTTTTTTTTGAAGTGAAGAAAATCTTTGGGTTTTTGGTTGG -1336
 |||
 HSUC71- TGTCGGTGGATGGCGAACCAAAAATGAAGGGTTTTTTTTTTTTTGAAGTGAAGAAAATCTTTGGGTTTTTGGTTGG -1350

SUC01 - ATTCTTTCATGGAGTCGGACCTTCCGTATTCTTCTCTTTGATCTCCCCGTTGCGGATTTCATAATATCCGGAACC -1411
 |||
 HSUC71- ATTCTTTCATGGAGTCGGACCTTCCGTATTCTTCTCTTTGATCTCCCCGTTGCGGATTTCATAATATCCGGAACC -1425

SUC01 - TTCATGTTGGCTCTGCTTAATCTGTAGCCAAATCTTCATATCTCCAGGGATCTTTCGCTCTGTCTATCGGATTT -1486
 |||
 HSUC71- TTCATGTTGGCTCTGCTTAATCTGTAGCCAAATCTTCATATCTCCAGGGATCTTTCGCTCTGTCTATCGGATTT -1500

SUC01 - AGGAATTAGGATCTAACTGGTGCTAACTAAAGGGTAATTTGGAACCATCCATTATAATTTGCAAAGTTTGAG -1561
 |||
 HSUC71- AGGAATTAGGATCTAACTGGTGCTAACTAAAGGGTAATTTGGAACCATCCATTATAATTTGCAAAGTTTGAG -1575

SUC01 - GATATGCCATCGGTATCTCAATGATACTTACTAAAACCCAACAAATCCATTTGATAAAGCTGGTTCTTTTATCCC -1636
 |||
 HSUC71- GATATGCCATCGGTATCTCAATGATACTTACTAAAACCCAACAAATCCATTTGATAAAGCTGGTTCTTTTATCCC -1650

SUC01 - TTTGAAAACATTGTGAGATATATTGGTTTTCAGGTTGATTTATTTTGAATCAGTACTCGCACTCTGCTTCGTAAC -1711
 |||
 HSUC71- TTTGAAAACATTGTGAGATATATTGGTTTTCAGGTTGATTTATTTTGAATCAGTACTCGCACTCTGCTTCGTAAC -1725

SUC01 - CATAGATGCTTTTTCAGTTGTGTAGATGAAACAGCTGTTTTTAGTTATGTTTTGATCTTCCAATGCTTTTGTGTGAT -1786
 |||
 HSUC71- CATAGATGCTTTTTCAGTTGTGTAGATGAAACAGCTGTTTTTAGTTATGTTTTGATCTTCCAATGCTTTTGTGTGAT -1800

SUC01 - GTTATTAGTGTGATTTAGCATGGCTTTCCTGTTTCAGAGATAGTCTTGCAATGCTTAGTGATGGCTGTTGACTAA -1861
 |||
 HSUC71- GTTATTAGTGTGATTTAGCATGGCTTTCCTGTTTCAGAGATAGTCTTGCAATGCTTAGTGATGGCTGTTGACTAA -1875

SUC01 - TTATTCTGTGCAAGTGAGTGGTTTTGGTACGTGTTGCTAAGTGTAACCTTTCTTTGCAGTTCCTGAAATTGAGT -1936
 |||
 HSUC71- TTATTCTGTGCAAGTGAGTGGTTTTGGTACGTGTTGCTAAGTGTAACCTTTCTTTGCAGTTCCTGAAATTGAGT -1950

SUC01 - CATG -1940
 |||
 HSUC71- CATG -1954

Hình 3. So sánh trình tự nucleotit giữa R_{suc1}-promoter (suc01) và C71S-promoter (Hsuc71)

KẾT LUẬN

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Sử dụng phản ứng dây chuyền polymerase (PCR), chúng tôi đã nhân được đoạn promoter của gen tổng hợp đường (R_{suc1}-promoter) ở 2 giống lúa Việt Nam là C71, CR203 với các kích thước phân tử dài khoảng 2 kb.

2. Đã tách dòng phân tử và đọc trình tự nucleotit của toàn bộ đoạn promoter này ở giống lúa C71 (C71S-R_{suc1} promoter). Kết quả so sánh trình tự cho thấy C71S-R_{suc1} promoter có thêm 1 đoạn dài 13 nucleotit so với trình tự đã được công bố trên thế giới. Ngoài ra, C71S-R_{suc1} promoter còn có sự khác biệt ở 14 vị trí nucleotit.

3. Trình tự C71S-R_{suc1} promoter đã được đăng ký tại các Ngân hàng gen quốc tế EMBL/Genbank/DBJ ngày 3/7/2000 với mã số AJ401233.

1. Lê Trần Bình, 1999: Báo cáo khoa học (Proceedings). Hội nghị Công nghệ sinh học toàn quốc, Hà Nội: 71-75.
2. Becker C., Shutov A. D., Nong Van Hai, Senyuk VI., Jung R., Horstman C., Fischer J., Nielsen NC., Muntz K., 1995: Eur. J. Biochem., 228: 456-462.
3. Huang JM., Chen JT., Yu WP., Shyr LF., Wang AY., Sung HY., Lee PD., Su J. C., 1996: Biosci. Biotechnol. Biochem., 60: 233-239.
4. Lewin B., 1997: Genes VI, Oxford University Press, Oxford-NewYork-Tokyo.
5. Rao K. V., Rathore K. S., Hodges T. K., Fu X., Stoger E., Sudhakar D., Christous

- P., Bharathi M., Bown D. P., Powell K. S., Spence J., Gatehouse A. M., Gatehouse J. A., 1998: *Plant J.*, 15: 469-477.
6. Sambrook J., Fritsch EF., Maniatis T., 1989: *Molecular Cloning: A laboratory manual*. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor.
7. Sanger F., Nicklen S., Coulson AR., 1975: *Proc. Natl. Acad. Sci.U.S.A.*, 74: 5462-5467.
8. Wang MB., Boulter D., Gatehouse JA 1992: *Plant Mol. Biol.* 19: 881-885.
9. Yu WP., Wang AY., Yuang RH., Sun HY., Su JC., 1992: *Plant Mol. Biol.* 19: 139-142.

SEQUENCE ANALYSIS OF SUCROSE SYNTHASE PROMOTER (RSUC1-PROMOTER) FROM C71 RICE CULTIVAR

LE THỊ THU HIEN, *et al.*

SUMMARY

A promoter region of sucrose synthase gene (*Rsuc1*) was amplified by polymerase chain reaction (PCR) using total genomic DNA isolated from the seedlings of Vietnamese rice cultivars C71 and CR203. The ~ 2 kb PCR product of C71 cultivar was inserted into pUC118 vector. The positive clone was confirmed by restriction analyses with *EcoRI*, *PstI* and *PvuII*. The restriction fragments obtained by the *PstI* digestion were subcloned into pBluescript KS(-). The original clone and the subclones were completely sequenced by an ALF Express automated DNA sequencer. A 13 nucleotide long insertion and 14 base substitutions were observed in C71 *Rsuc1* promoter as compared to that of known *Rsuc1*. The nucleotide sequence of the C71-*Rsuc1* promoter has been deposited in the EMBL/Genbank/DDBJ Databases under the Accession Number AJ401233.

Ngày nhận bài: 12-11-20

(Tiếp theo trang 59)

SOME BIOLOGICAL CHARACTERIS OF METARHIZIUM MA6. AND BEAUVERIA BB98 FUNGI STRAINS ISOLATED FROM VARIOUS SAMPLES AND THEIR ANTI-TERMITE ABILITY OF

TA KIM CHINH, *et al.*

SUMMARY

As basic biological characters of Ma.6 and Bb.98 fungi strains, we come to conclude that these Ma.6 and Bb.98 strains to the *Metarhizium* and *Beauveria* genera belong to respectively. This conclusion is a basis to determine species of these two fungi genera.

Ngày nhận bài: 26-11-2

SỰ CÓ MẶT CỦA VI KHUẨN *HELICOBACTER PYLORI* MANG *cagA*⁺ STATUS TRONG CÁC SINH THIẾT DẠ DÀY CỦA NGƯỜI VIỆT NAM

TRẦN CÔNG TƯỚC, TRẦN QUỲNH HOA,
NGUYỄN THỊ HỒNG HẠNH

Viện Công nghệ sinh học

NGUYỄN VĂN PHÙNG

Trường Đại học Y khoa Hà Nội

BÙI PHƯƠNG THUẬN

Trường Đại học Khoa học tự nhiên - ĐHQG Hà Nội

Các nghiên cứu khoa học cho thấy vi khuẩn *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) là nguyên nhân chính gây viêm loét dạ dày, tá tràng ở người [1, 2, 3, 4, 8, 9].

Genom *H. pylori* có thể chứa *cag*, một locus di truyền có kích thước khoảng 30 kb. Cho đến nay, nguồn gốc của locus này còn chưa được biết rõ. Trong khi các chủng loại I chứa *cag* có thể gây ra nhiều triệu chứng bệnh lý như: kích thích tế bào tiết interleukin-8, làm thay đổi bề mặt tế bào, hoạt hóa yếu tố AP-1 và hoạt hóa các gen tiềm ung thư *c-fos* và *c-jun* thì các chủng loại II (không chứa gen *cag*) không có các đặc tính nói trên [5]. 60-70% các vi khuẩn *H. pylori* được phân lập từ người bệnh mang *cag island*. Trong các trường hợp ung thư, 100% các vi khuẩn trong quần thể *cagA*⁺ [4, 11].

Các phương pháp chẩn đoán nhiễm *H. pylori* được chia làm hai nhóm chính:

- Nhóm các phương pháp chẩn đoán yêu cầu nội soi: phương pháp soi tìm hình thể trực tiếp từ mảnh sinh thiết trên lam kính, phát hiện *H. pylori* trong tiêu bản giải phẫu bệnh lý, thử nghiệm urea, nuôi cấy.

- Nhóm các phương pháp chẩn đoán không yêu cầu nội soi: phương pháp sử dụng đồng vị phóng xạ (¹³C, ¹⁴C), PCR, phương pháp chẩn đoán miễn dịch.

Do việc nuôi cấy *H. pylori* cực kỳ khó khăn [6, 7, 10] và các chủng *H. pylori* mang tính đặc thù từng địa phương nên việc tìm ra một

phương pháp chẩn đoán *H. pylori* đơn giản và rẻ tiền là việc cần thiết, đặc biệt đối với Việt Nam. Trong bài báo này, chúng tôi bước đầu thông báo việc phân lập và xác định các chủng *H. pylori* mang *cagA*⁺ từ người Việt Nam nhằm phục vụ mục đích trên. Các phương pháp nuôi cấy vi khuẩn trên môi trường chọn lọc, phương pháp xác định hình thái vi khuẩn bằng kính hiển vi điện tử cũng như lai phân tích Southern được sử dụng trong nghiên cứu này.

I. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Nội soi dạ dày, tá tràng được thực hiện bằng máy nội soi ống mềm 2T-10 (Olympus-Nhật Bản) tại Viện Trung ương quân đội 108.

Qua nội soi đánh giá tình trạng viêm dạ dày - tá tràng biểu hiện bằng sự biến đổi của niêm mạc và giãn các mạch máu dưới niêm mạc. Phát hiện ổ loét ở tá tràng và tiến hành sinh thiết 3 mảnh ở niêm mạc xung quanh ổ loét. Hai mảnh sinh thiết dùng làm chẩn đoán vi sinh vật được đặt trong môi trường vận chuyển (theo Seeliger H. P. J và Schroter G., 1990):

Dung dịch A: NaCl: 8,66 g; KH₂PO₄: 0,14 g; NaHPO₄.2H₂O: 1,6 g, pH: 7,3 pha trong nước cất.

Dung dịch B: Glucose 1,5%.

Trộn 75 ml dung dịch A với 25 ml dung dịch B, sau đó đóng ống, bảo quản trong tủ lạnh và có thể dùng trong vòng 1 tháng.

Mảnh còn lại dùng để phết lên tiêu bản nhuộm Gram trực tiếp và làm thử nghiệm urea.

Tất cả các thao tác về vi sinh vật đều được tiến hành trong điều kiện vô trùng tuyệt đối. Mảnh sinh thiết được lấy bằng que cấy và trải trên mặt thạch columbia chứa 7% máu ngựa và các chất phụ gia, pH 7,0-8,0 hoặc môi trường đặc trưng cho *H. pylori* (hãng ACTT). Đĩa nuôi cấy sau đó được đặt ngay vào trong bình Jar có túi tạo điều kiện vi hiếu khí của hãng BBL (Becton Dickinson Microbiology System, Cockeysville). Tất cả được đặt vào tủ ấm 37°C. Theo dõi khuẩn lạc sau 2-5 ngày. Sau khi khuẩn lạc nhỏ đường kính 0,5-1 mm xuất hiện, dùng que cấy gạt nhẹ các khuẩn lạc lên trên lam kính dùng để chụp vi khuẩn dưới kính hiển vi điện tử quét nhuộm tiêu bản Gram và làm thử nghiệm urease. Phần còn lại được bảo quản trong dung dịch glycerin ở -80°C dùng cho các thí nghiệm sau này.

Song song với nuôi cấy vi khuẩn, mảnh sinh thiết thứ hai được nhuộm theo phương pháp Gram. Các vi khuẩn cong hoặc xoắn nhẹ nằm trên lớp màng nhầy của niêm mạc dạ dày được quan sát dưới kính hiển vi.

Để thử nghiệm trực tiếp hoạt tính men urease từ mảnh sinh thiết, qua đó phát hiện gián tiếp sự có mặt của *H. pylori*, mảnh sinh thiết được cho vào ống môi trường chứa ure có chất chỉ thị, để ở 37°C theo dõi trong vòng 24 giờ. Hoạt động của *H. pylori* sau 15 phút làm môi trường đổi màu da cam sang màu hồng tím trong các thử nghiệm dương tính.

Các nghiên cứu về hình thái của vi khuẩn được tiến hành với:

- Kính hiển vi thường

- Kính hiển vi điện tử quét (SEM) (được thực hiện tại phòng thí nghiệm kính hiển vi điện tử - Viện Kỹ thuật nhiệt đới, Trung tâm KHTN và CNQG).

Xác định các vi khuẩn mang cagA⁺ status:

Các vi khuẩn *H. pylori* được nuôi trên môi trường Brucella có bổ sung một vài hoạt chất ở 37°C để lấy sinh khối. Chúng được phát hiện có mang quần đảo bệnh lý (pathogenicity island) cagA bằng phương pháp lai Southern với mẫu dò mang trình tự đặc trưng cho gen cagA. Màng lai được áp vào đĩa có các khuẩn lạc *H. pylori*. Sau đó ADN vi khuẩn trong các khuẩn lạc trên màng lai được biến tính bằng dung dịch

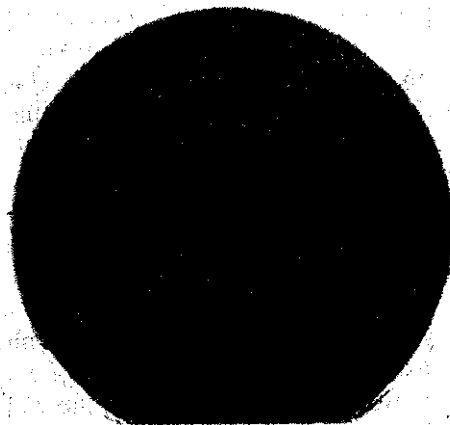
NaOH 0,4 M. Các phản ứng đánh dấu không đồng vị phóng xạ cũng như quá trình lai và phát hiện các khuẩn lạc dương tính được tiến hành theo chỉ dẫn của Kit ECL (Amersham Pharmacia Biotech).

Trình tự của mẫu thử dùng trong lai Southern:

5'-AGAGATCCAAAACAAAGTGGATTT
CATGGAATTTCTTGCACAAAACAACG
TAAATTAGACAACCTGGAGCGAG-3'

II. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Nuôi cấy *H. pylori*: Sinh thiết lấy bằng phương pháp nội soi được bảo quản trong dung dịch vận chuyển cho đến khi nuôi cấy. Các khuẩn lạc xuất hiện trong vòng 2-4 ngày trên môi trường đặc trưng cho *H. pylori* có bổ sung các chất phụ gia trong điều kiện vi hiếu khí, pH 7,0-8,0, nhiệt độ 37°C hoặc trên môi trường ACTT và Columbia (hình 1).



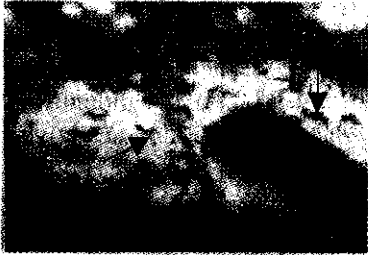
Hình 1. Ảnh chụp các khuẩn lạc trên môi trường đặc trưng cho *H. pylori*

Thử nghiệm urease:

Kết quả cho thấy sau 15 phút (đối với môi trường thử nghiệm urease từ khuẩn lạc) và 2 giờ (đối với môi trường thử nghiệm urease từ mảnh sinh thiết) môi trường chuyển từ màu da cam sang màu hồng tím, chứng tỏ độ pH của môi trường đã tăng do NH₃ (môi trường kiềm). Các vi khuẩn như vậy, đã tiết urease. Có khả năng chúng là *Helicobacter pylori*.

Kết quả nhuộm Gram và chụp kính hiển vi điện tử:

Kết quả nhuộm Gram và chụp ảnh kính hiển vi điện tử quét (hình 2, 3) cho thấy do các vi khuẩn được phân lập là vi khuẩn Gram âm, hình xoắn cong có đường kính 0,1 - 0,3 μm dài từ 1,5 đến 5 μm . Đó là kích thước và hình dạng đặc trưng cho vi khuẩn *H. pylori*.



Hình 2. Vi khuẩn được nhuộm Gram trực tiếp từ mảnh sinh thiết (vi khuẩn được chỉ bằng mũi tên)



Hình 3. Vi khuẩn *Helicobacter pylori* được phân lập (Ảnh chụp kính hiển vi điện tử quét với độ phóng đại 10000 lần).

Kết quả lai phân tích Southern: Lai phân tích Southern cho phép xác định các vi khuẩn *H. pylori* được phân lập từ bệnh nhân Việt Nam mang gen *cagA*⁺. Các vi khuẩn được phân lập trên môi trường đặc trưng cho *H. pylori*. Kết luận nói trên được khẳng định bởi phân tích lai Southern với mẫu thử oligonucleotide đặc trưng cho gen *cagA*⁺. Các khuẩn lạc được chuyển vào màng Nylon và lai qua đêm ở 42°C. Khoảng 60% các khuẩn lạc cho tín hiệu dương tính với mẫu thử, chứng tỏ chúng thực sự là *Helicobacter pylori*, loại I (hình 4). Phần còn lại, có thể là các vi khuẩn *H. pylori* loại II mang

gen *cagA*⁻ status. Những thử nghiệm lai Southern tiếp theo oligonucleotide đặc trưng cho gen urease sẽ khẳng định dự đoán nói trên.



Hình 4. Các khuẩn lạc được phân lập cho kết quả dương tính với mẫu thử oligonucleotide đặc trưng cho gen *cagA*⁺ của *H. pylori*. Trên ảnh, tín hiệu lai từ hai trong số các khuẩn lạc được phóng to và chụp ảnh (chỉ bằng mũi tên).

III. KẾT LUẬN

Các test nhuộm tế bào, test urease, việc sử dụng các môi trường chọn lọc cho *H. pylori*, ảnh chụp hiển vi điện tử quét và lai phân tích Southern khẳng định các vi khuẩn được phân lập từ các vết loét dạ dày và tá tràng là *H. pylori*. Ngoài ra, các nghiên cứu còn cho thấy:

- *H. pylori* phát triển tốt trên môi trường thạch máu như môi trường Columbia agar, Brucella ở nhiệt độ từ 35°C-37°C, pH 7,0-8,0. Các yếu tố kích thích tăng trưởng như Isovitalex, Fcs, Vitox giúp cho *H. pylori* phát triển tốt hơn.

- Các phương pháp như nuôi cấy vi khuẩn, nhuộm Gram trực tiếp từ mảnh sinh thiết, và các thử nghiệm urea trực tiếp từ mảnh sinh thiết hoặc từ khuẩn lạc là những phương pháp có hiệu quả trong chẩn đoán cũng như đánh giá sự có mặt của vi khuẩn *H. pylori*.

- Chụp ảnh kính hiển vi điện tử quét (SEM) cho thấy *H. pylori* là loại vi khuẩn hình xoắn cong đường kính 0,1-0,3 μm dài từ 1,5 đến 5 μm .

Helicobacter pylori là loại vi khuẩn mang

đặc thù đối với dân Việt Nam. Hơn nữa, do cho một gien tương đối linh động nên các quasi-species *H. pylori* không hoàn toàn giống nhau. Điều đó đã gây rất nhiều khó khăn cho công tác chẩn đoán bệnh. Theo giáo sư Keith Henley (Trường đại học tổng hợp Michigan-Hoa Kỳ), ở Việt Nam, chỉ có khoảng 65% trường nhiễm *H. pylori* được phát hiện bằng các kit nhập từ nước ngoài. Do vậy, việc nghiên cứu các chủng *H. pylori* của Việt Nam là việc làm cần thiết. Những nghiên cứu sắp tới của chúng tôi sẽ nhằm vào mục đích trên.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Anthony G., Catto S., 1996: Gut flora and mucosal function. Asia pacific J Clin Nutr. 5 Luigina C & Nerion A(1994): 36-39.

2. Handt LK., Fox JO., Deuhist FE et al., 1994: Helicobacter pylori isolated from the domestics cat: public health implication. Infect. Immu. 62: 2367-2374.

3. Irene V. W., 1996: H. pylori and Arcobacter Species: Risks for Foods and Beverages. Journal of food Protection, Vol.59(10): 1127-1132.

4. John L. T., Antonello C., 1994: Unravelling the pathogenic role of H. pylori in

peptic ulcer: potential new therapies and vaccines. Tibtech. 12: 420-4269.

5. Kenji Y. and Yokota H., 1994: Heat Shock Protein Produced by H. pylori. Micro. Immunol. 38(5): 403-405.

6. Luigina C. and Nerino A., 1994: Coccoid H. pylori not culturable in vitro reverst in Mice. Micro. Immunol. 38(11): 843-850.

7. Luigina C. and Nerino A. H., 1994: Helicobacter polori: A Fickle Germ. Micro. Immunol. 38(1): 843-850.

8. Marshall BJ., 1993: Unidentified curved bacilli on gastric epithelium in active chronic gastritis. Lancet: 1273-1275.

9. Marshall BJ. and Wrren JR., 1984: Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastric and peptic ulceration. Lancet: 1311-1315.

10. Muhammad G. M. and Mikio K., 1994: Growth medium containing cyclodextrin and low concentration of horse serum of cultivation of H. pylori. Micro. Immunol. 38(11): 897-990.

11. Richard A., 1999: Genomic-sequence comparision of two unrelated isolates of humar gastric parthogen Helicobacter pylori. Nature 397: 176-180.

THE PRESENCE OF *HELICOBACTER PYLORI* TYPE I (cagA+ STATUS) IN THE GASTRIC BIOPSIES OF VIETNAMESE PATIENTS

TRAN CONG TUOC, et al.

SUMMARY

The duodenal and gastric ulcers caused by *Helicobacter pylori* are the disease popular in Vietnam an many regions over the world. However, the *H. pylori* strains are characteristics for each race. Therefore, it necessary to isolated and the classify them from Vietnamese patients.

In this paper, we reported the first steps to isolate and identified *H. pylori* strains from the Vietnamese patients suffering duodenal and stomachal ulcers. The biopsies taken from gastric ulcers were tested f urease and histological study. The bacteria were cultured on medium specific for *H. pylori* und microaerobic conditions (90%N₂, 5%O₂, and 5%CO₂). The bacteria appear as tiny colonies after 3-5 days (the medium supplemented with growth factors such as Isovitalex, Fcs, Vitox. The temperature appropria for bacteria to grow is 35-37°C. Scanning ELectronic Microscope (SEM) revealed that these isolated bacter are spirally shaped with 0.1-0.3 μ and 1.5-5 μm in length. The were identified as *Helicobacter pylori* type (cagA + status) by an oligonucleotide specific fo cagA gene in Southern blot analysis.

Ngày nhận bài: 26-5-20

MỘT SỐ ĐẶC ĐIỂM SINH HỌC CỦA HAI CHỦNG VI NẤM *METARHIZIUM* Ma.6 VÀ *BEAUVERIA* Bb.98 PHÂN LẬP TỪ NHỮNG NGUỒN MẪU KHÁC NHAU VÀ HIỆU LỰC DIỆT MỐI (*COPTOTERMES*) CỦA CHÚNG

TA KIM CHÍNH, NGUYỄN HỒNG HÀ, HÀ THI QUYẾN,
HOA THỊ MINH TỬ

Viện Công nghệ sinh học

Hai chi *Metarhizium* và *Beauveria* trong lớp nấm Bất toàn (Deuteromycetes) [1] đã được xác định là những vi nấm có khả năng diệt khá nhiều loài côn trùng gây hại [11, 12, 13]. Sự phân bố của hai chi này được Domsch và cộng sự, 1981 [2] mô tả và nêu rõ chúng ký sinh trên côn trùng và hoại sinh trong đất. Một số tác giả đã nhận định rằng hai chi vi nấm này dù phân lập từ các mẫu có nguồn gốc địa lý khác nhau (vị trí nơi thu mẫu) hay giá thể mẫu (cơ thể côn trùng, đất) khác nhau thì chúng đều có hiệu lực diệt côn trùng [2, 10].

Với mục đích hàng năm bổ sung các chủng vi nấm quý hiếm vào Bộ sưu tập giống vi sinh vật ở Việt Nam, chúng tôi đã phân lập và tuyển chọn được hai chủng *Metarhizium* Ma6 và *Beuveria* Bb98 từ đất trồng cây thuốc và từ Bộ xít hại cây vải thiều.

I. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Chủng Ma6 phân lập từ đất trồng cây thuốc Tam thất ở Đại Từ, Thái Nguyên.

Chủng Bb98 phân lập từ bộ xít hại cây vải thiều ở Đông Triều, Quảng Ninh.

Chủng *Metarhizium anisopliae* Ma. và *Beauveria bassiana* Bb. là hai chủng chuẩn để so sánh, nhận từ Bộ sưu tập vi nấm của Phòng Các chất có hoạt tính sinh học từ vi sinh vật thuộc Trung tâm Khoa học Tự nhiên và Công nghệ Quốc gia.

Các môi trường phân lập và nuôi cấy để theo dõi hình thái nấm, các đặc điểm sinh lý, sinh

hóa là các môi trường thông dụng [5].

Sử dụng môi trường gốc Sabouraud có bổ sung 2% cơ chất khitin (bột vỏ mai cua bể) để xác định vòng phân giải khitin của vi nấm [7].

Cá thể mối *Coptotermes* để thử hiệu lực diệt côn trùng của vi nấm [4].

Nuôi cấy vi nấm trên lam theo Duncan [5].

Mô tả các đặc điểm hình thái: khuẩn lạc, bào tử trần (BTT), giá BTT, hệ sợi nấm và các đặc điểm phân loại khác theo Domsch và cộng sự, 1980 [8], Bùi Xuân Đồng, 1967 [6].

Nuôi cấy vi nấm trong môi trường dịch thể ở 120 vòng/phút trong 72 giờ để theo dõi các đặc điểm sinh lý, sinh hóa... theo Jenking và cộng sự, 1993 [9]; Klespies và Zimmermann, 1992 [11]; Rombach, 1989 [14].

Xác định khả năng hình thành enzym ngoại bào (khitin) bằng phương pháp đo vòng phóng xạ ($D = (R-r)$ mm) trên môi trường thạch [7].

Xác định hiệu lực mối theo Milner và cộng sự, 1997 [12]; Tạ Kim Chính, Nguyễn Đức Khâm, 1995 [3].

II. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

1. Đặc điểm hình thái học của hai chủng vi nấm:

Nuôi cấy Ma6 và Bb98 trên môi trường thạch nghiêng, thạch đĩa và trên lam kính, sau từ 3 đến 7 ngày theo dõi, quan sát bằng mắt thường và trên kính hiển vi quang học, chúng tôi có được kết quả ở bảng 1.

* Tham gia nghiên cứu còn có Vũ Thị Nhung, Phạm Minh Hương, Lê Thị Minh Thành, Trịnh Thu Hà

Đặc điểm hình thái học của Ma.6 và Bb.98

TT	Nguồn gốc mẫu	Ký hiệu vi nấm	Các đặc điểm						Tên khoa học		
			Cấu tạo hệ sợi	Màu sắc, kiểu phát triển của khuẩn lạc	Giá bào tử trần	Bào tử trần				Cấu tạo tế bào sinh BTT	
						Típ	Hình dạng	Kích thước			Màu sắc
1	Đất trồng cây thuốc (Tam thất) ở Đại Từ, Thái Nguyên	Ma.6	Sợi to, thẳng, phân nhánh thưa, có vách ngang	Mọc chậm. Bề mặt mịn như nhung màu xanh tươi, tạo vòng phóng xạ có giọt tiết vàng trong suốt. Mặt sau vàng sáng nhạt	Trong suốt, màu nhạt, ngắn nhưng nhiều nhánh	Euconi di tạo trong hoặc ở miệng, thể bình	Trụ, đứng dài, tụ thành khối dạng cột	BTT loại lớn, chiều bình 295 mm, rộng 128 mm, không có vách ngăn	Tối sẫm, ướt, tạo thành khối, lúc non xanh nhạt, già xanh xám	Phân hóa thành các dạng hình thái đặc biệt, thể bình	Chi <i>Metarhizium</i> ký sinh trên một số côn trùng và hoại sinh trong đất, có hiệu quả diệt mối cao
2	Bọ xít hai cây vôi ở Đông Triều, Quảng Ninh	Bb.98	Trắng mịn, sợi nhỏ, hơi cong, phân nhánh ít	Trắng, mặt có dạng bột mịn, có giọt tiết trắng, trong suốt. Mặt sau trắng nhạt	Là các nhánh sợi nhỏ không phân nhánh, tụ lại thành cụm ở góc	Procon idi, hợp trục	Trứng hoặc elip, đơn độc trên ngọn của giá BTT	BTT loại nhỏ, có kích thước trung bình 0,95 x 0,85 mm, không có vách ngăn	Trong suốt, lúc già vàng nhạt	Phân ngọn của giá BTT có răng cưa nhỏ, hình zic-zac	Chi <i>Beauveria</i> ký sinh trên một số côn trùng và hoại sinh trong đất. Có hiệu lực diệt mối

Từ kết quả ở bảng 1 và đối chiếu với khóa phân loại theo hình thái của Barnet và Hunter, chúng tôi nhận thấy hai chủng Ma.6 và Bb.98 có nhiều đặc điểm trùng với hai chi vi nấm *Metarhizium* và *Beauveria* thuộc phân nhóm *Eulophomycetes*.

Ngoài những đặc điểm về hình thái học, các đặc điểm nuôi cấy và sinh lý, sinh hóa khác cũng là những tiêu chuẩn rất quan trọng để phân loại Ma.6 và Bb.98 đến loài.

2. Các đặc điểm nuôi cấy, sinh lý, sinh hóa của Ma.6 và Bb.98:

1. Đặc điểm nuôi cấy:

Khả năng nảy mầm của BTT để tạo thành hệ sợi rồi lại hình thành BTT của vi nấm khi nuôi cấy chúng ở những môi trường khác nhau trong điều kiện (nhiệt độ, pH và thời gian...) khác nhau là chỉ tiêu về sinh trưởng, phát triển của vi nấm đó. Kết quả này được trình bày ở các bảng 2.

Bảng 2

Khả năng nảy mầm và hình thành BTT của Ma.6 và Bb.98 khi nuôi cấy trên môi trường khác nhau (pH 6,5; nhiệt độ 25°C)

Thời gian (ngày)	Khả năng nảy mầm và hình thành khuẩn lạc					
	Chủng Ma.6/môi trường			Chủng Bb.98/môi trường		
	S	DOX	CZ	S	DOX	CZ
1	-	-	-	-	-	-
2	-	-	-	-	-	-
3	+	+	++	-	+	++
4	+	++	++	+	+	++
5	+	++	++++	+	+	++
6	++	+++	++++	+	++	+++
7	++	++++	tạo đám	++	++	+++
8	++	++++	tạo đám	+++	+++	+++
9	+++	tạo đám	tạo đám	+++	+++	tạo đám
10	+++	tạo đám	tạo đám	tạo đám	tạo đám	tạo đám

Ghi chú: (-) chưa có kết quả; (++) kết quả tốt; (+) mới có kết quả (+++) kết quả rất tốt

S: môi trường Sabouraud; DOX: môi trường DOX; CZ: môi trường Czaqek

Bảng 3

Khả năng tạo sinh khối của Ma6 và Bb98 sau 7 ngày nuôi cấy trong môi trường có pH khác nhau (môi trường Sabouraud; 28°C)

pH	Trọng lượng sinh khối khô (mg/100 ml)			
	Ma	Ma.6	Bb	Bb.98
4,0	-	-	-	-
4,5	-	-	-	-
5,0	109,0	100,0	180,0	160,0
5,5	130,0	135,0	240,0	210,0
6,0	170,0	176,0	450,0	378,0
6,5	375,0	385,0	477,0	465,0
7,0	175,0	168,0	177,5	156,0
7,5	52,0	75,0	51,0	56,0

Kết quả ở bảng 2 và bảng 3 cho thấy rằng các vi nấm Ma.6 và Bb.98 sinh trưởng rất tốt trên môi trường giàu dinh dưỡng (môi trường Sabouraud - S) và phát triển rất mạnh trên môi trường nghèo (môi trường CZapek và DOX cải tiến). Cũng như các chủng chuẩn, Ma.6 và Bb.98 sinh trưởng tốt nhất trong môi trường có pH từ 6,0 đến 6,5 (bảng 3). Còn về thời gian thì sau từ 3 đến 5 ngày bào tử của chúng mới nảy mầm và phát triển mạnh nhất từ 8 đến 10 ngày. Các kết quả trên phù hợp với mô tả của Domsch và cộng sự, 1980 [8] đã xếp *Metarhizium* và *Beauveria* vào chi vi nấm có khuẩn lạc mọc chậm, chúng khác với các chi như *Aspergillus* và *Penicillium* là những vi nấm mọc rất nhanh (chỉ sau từ 1 đến 2 ngày khuẩn lạc đã rất rõ và BTT đã ở mức phát triển rất mạnh (++++) [6].

2. Một số đặc điểm sinh hóa của Ma.6 và Bb.98:

Bảng 4

Khả năng sử dụng nguồn cacbon khác nhau của Ma.6 và Bb.98

STT	Chủng nấm Nguồn cacbon	Trọng lượng sinh khối khô (mg/100 ml)			
		Ma	Ma.6	Bb	Bb.98
1	Galacto	133	135	130	135
2	Manitol	1125	1129	1115	1025
3	D-melibio	321	310	310	260
4	Melibio	81	85	75	65
5	D(+)-selo	581	578	490	485
6	Malto	125	130	110	160
7	Saccaro	90	85	105	130
8	Gluco	385	365	420	367

Hai chủng Ma.6 và Bb.98 có khả năng sử dụng nguồn thức ăn cacbon rất khác nhau. So sánh khả năng đồng hóa hydrat cacbon của Ma.6 và Bb.98 với hai chủng chuẩn Ma và Bb (bảng 4) ta nhận thấy chúng đều phát triển mạnh nhất trong môi trường có chứa đường manitol. Với các loại đường còn lại chúng đều phát triển kém hơn, thậm chí phát triển quá yếu ở môi trường có đường melibio. Kết quả này phù hợp với tính chất sinh lý của vi nấm nói chung [6].

Ma.6 và Bb.98 cũng có khả năng sinh enzyme ngoại bào (kitinaza) Bb (bảng 5). Đây là một trong những enzyme quan trọng tham gia vào quá trình phân hủy các cơ chất hữu cơ trong cơ thể côn trùng và dẫn tới tiêu diệt chúng. Khả năng sinh kitinaza của Ma6 cao hơn hẳn so với các chủng khác.

Bảng 5

Khả năng sinh enzyme ngoại bào (chitinase) của Ma.6 và Bb.98 khi nuôi cấy trên môi trường S bổ sung 2% cơ chất kitin (vỏ tôm)

STT	Chủng nấm	Vòng phân giải (D = R-r) mm					Trung bình (mm)
		Số đĩa					
		1	2	3	4	5	
1	Ma.6	13,00	13,55	14,50	13,55	13,66	13,50
2	Ma	12,55	12,68	12,66	12,60	12,61	12,66
3	Bb.98	12,05	13,10	13,01	12,56	11,65	13,10
4	Bb	12,00	12,05	12,06	12,08	12,10	12,06

3. Xác định hiệu lực diệt côn trùng của Ma.6 và Bb.98:

Bảng 6

Tỷ lệ (%) cá mồi chết sau thời gian lây nhiễm Ma.6 và Bb.96

STT	Ngày Vi nấm	Tỷ lệ (%) cá thể mồi chết					Ghi chú
		3	5	7	9	11	
1	Ma	13,10	39,15	58,20	69,10	82,00	
2	Ma.6	25,00	87,66	100,00	-	-	
3	Bb	15,35	48,29	76,00	100,00	-	
4	Bb.98	11,80	19,05	28,00	54,10	66,00	

Để xác định chủng vi nấm có khả năng diệt côn trùng chỉ có thể chứng minh bằng tỷ lệ chết của côn trùng khi bị lây nhiễm vi nấm đó. Kết quả bảng 6 đã cho ta nhận định về Ma.6 và Bb.98 là hai chủng vi nấm có khả năng diệt được loại mối (*Coptotermes*) không kém gì hai chủng chuẩn Ma và Bb.

III. KẾT LUẬN

1. Từ những kết quả nghiên cứu về hình thái học và những đặc điểm sinh lý, sinh hóa của Ma.6 và Bb.98, chúng tôi đã xác định hai chủng vi nấm trên thuộc hai chi *Metarhizium* và *Beauveria* thuộc lớp nấm Bất toàn (*Deuteromycetes*).

2. Hai chủng Ma.6 và Bb.98 là vi nấm có khả năng diệt mối không kém gì so với hai chủng nấm (Ma và Bb), trong đó chủng Ma.6 có hiệu lực cao nhất (sau 7 ngày, tỷ lệ mồi chết đạt 100%).

3. Với các đặc điểm sinh học cơ bản được xác định cũng như hiệu lực diệt mối khá cao và so sánh với chủng chuẩn, chúng tôi đã chọn Ma.6 là chủng sử dụng trong qui trình sản xuất chế phẩm vi nấm diệt mối.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Bùi Xuân Đông, 1984: Nhóm nấm Hyphomycetes ở Việt Nam, NXB Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội: 66-142.
- Butt T. M., Ibrahim L., Clark S. J., Becke T. A., 1995: *Mycologica, Research*, 99(8): 945-950.
- Tạ Kim Chính, Nguyễn Đức Khâm, 1995: *Tạp chí Sinh học*, 17(4): 17-22.
- Tạ Kim Chính, 1995: Luận án PTS Khoa học - Sinh học.
- Nguyễn Lân Dũng và cộng sự, 1972: Một số phương pháp nghiên cứu vi sinh vật học tập I, NXB Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội: 359.
- Nguyễn Lân Dũng và cộng sự, 1982: Vi nấm, NXB Khoa học và Kỹ thuật: 111-112.
- Nguyễn Lân Dũng và cộng sự, 1982: Một số phương pháp nghiên cứu vi sinh vật học tập III, NXB Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội: 111-112.
- Domsch K. H., Gams W., Traute-Heidi Anderson, 1980: *Compendium of soil fungi*. Vol1: 136-140; 412-418.
- Jenking và cộng sự, 1993: *Mycological Research*%
- Jackson M. A., McGuire M. R., Lacey L. A., Wraight S. P., 1997: *Mycological Research*: 101(1) USA.
- Keespies R. G., Zimmermann G., 1992: *Biocontrol Science and Technology*, Vol 2(2): 127-135.
- Milner R. J., Staples J. A., 1997: *Journal of Invertebrate pathology*, 69(1): 64-69.
- Pereira R. M., Stimac J. L., Wood L. A., 1994: *Journal of Economic Entomology*, 87(3): 623-630.
- Rom M. C., 1989: *Entomophaga*, Vol. 34(1): 45-52.

(Xem tiếp trang 50)

TN BƯỚC ĐẦU NGHIÊN CỨU PHƯƠNG PHÁP BẢO QUẢN RAU CẢI XANH VÀ XÀ LÁCH TRỒNG BẰNG BIỆN PHÁP THỦY CANH

LÊ TIẾN DŨNG, NGUYỄN KIM VŨ

Viện Công nghệ sau thu hoạch

VŨ VĂN VŨ

Trường đại học Khoa học tự nhiên -

Đại học Quốc gia Hà Nội

Đối tượng bảo quản là rau sạch được trồng bằng biện pháp thủy canh nên các yếu tố sinh vật hại không còn đáng lo ngại nữa. Vấn đề cần quan tâm trong bảo quản rau sạch chính là kim hàm sự hóa già của chúng và những tổn hao do hô hấp gây ra.

Xuất phát từ những điều kiện này chúng tôi đã chọn hướng bảo quản rau sạch theo phương pháp khí quyển điều biến. Đây là phương pháp đang được nghiên cứu và áp dụng trên thế giới trên các loại rau, quả nhiệt đới [2, 3, 5, 7, 8].

I. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Đối tượng nghiên cứu là cây Xà lách (*Lactuca sativa*), cây Rau cải (*Brassica juncea* L.).

Rau sau khi thu hoạch được cắt bỏ rễ, đưa vào bảo quản và làm thí nghiệm trong vòng 24 giờ, độ ẩm bề mặt của rau ở mức 9-10% (trên bề mặt lá).

- Xác định hàm lượng sắc tố trong lá xanh theo Holden mô tả [1, 4].

- Xử lý số liệu bằng phương pháp thống kê [6].

Toàn bộ số liệu được tính toán và xử lý bằng phần mềm EXCEL. Tham khảo phương pháp tính ở cuốn "Statistical Methods in Biology" [6].

Cường độ hô hấp được xác định theo phương pháp của Vnhiiz (ВНИИЗ) có cải tiến phần thiết bị cho phù hợp với việc đo cường độ hô hấp của rau. Cường độ hô hấp tính trên 100 g rau tươi như sau:

$$\text{mgCO}_2/100 \text{ g rau tươi/giờ} = \frac{4,4 \cdot (V_C - V_{\text{HCl}}) \times 100}{(t \cdot m)},$$

Trong đó:

V_C là số ml HCl 0,1 N dùng để trung hòa hết 20 ml Ba(OH)₂ ban đầu,

V_{HCl} là số ml HCl 0,1 N dùng để trung hòa hết 20 ml Ba(OH)₂ sau khi đã phản ứng với CO₂ trong không khí đi ra khỏi buồng hấp.

t là thời gian đo (giờ).

m khối lượng rau (gam).

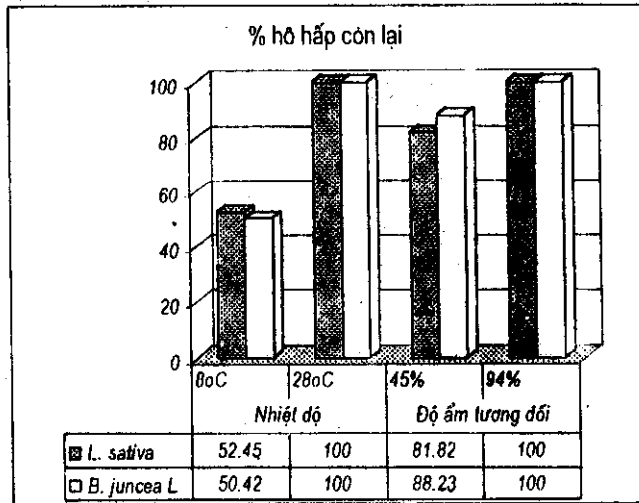
II. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

1. Ảnh hưởng của nhiệt độ và độ ẩm tương đối lên hô hấp của rau:

Đo cường độ hô hấp của hai loại rau trên các nhiệt độ 8°C, 28°C và độ ẩm tương đối 45% 94%. Kết quả được trình bày trên hình 1. Kết quả này đã cho thấy, trong hai yếu tố nghiên cứu thì yếu tố nhiệt độ có ảnh hưởng đến hô hấp của rau nhiều hơn so với độ ẩm tương đối.

2. Ảnh hưởng của quá trình bao kín:

Bao kín (trong buồng hô hấp thủy tinh) khối lượng rau không đổi trong một thể tích nhất định và xác định lượng CO₂ tạo thành tại các thời điểm 0, 0,5, 1, 1,5, 12, 21 giờ. Kết quả thí nghiệm được trình bày trên hình 2 đã cho thấy hô hấp của cải canh và xà lách giảm theo thời gian bao kín. Sau 24 giờ bao kín hô hấp còn lại tương ứng là 22 đối với cải canh và 28,5% đối với xà lách

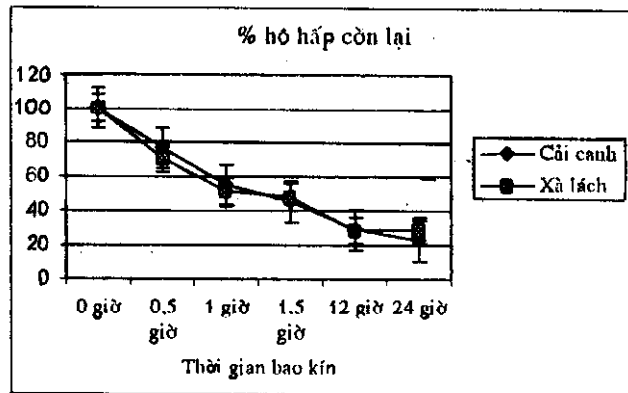


Hình 1. Ảnh hưởng của nhiệt độ (và độ ẩm tương đối) lên hô hấp của rau

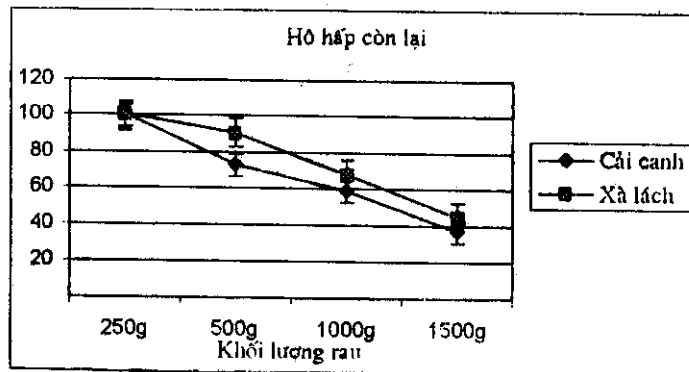
Sử dụng hàm Correl của phần mềm Excel chúng tôi đã tính được mức tương quan giữa hai đại lượng này là -0,83 ở cải canh và -0,81 ở xà lách. Dấu trừ ở đây cho biết mối tương quan tỷ lệ nghịch.

3. Ảnh hưởng của khối lượng rau bao kín:

Xác định lượng CO₂ tạo thành trong cùng một thể tích bao gói khí bao kín (trong buồng hô hấp bằng thủy tinh) các khối lượng rau khác nhau (250, 500, 1000, 1500 gam) trong một khoảng thời gian như nhau (01 giờ) đã thu được kết quả được trình bày ở hình 3. Qua hình 3 có thể thấy rằng, hô hấp của rau chịu ảnh hưởng rất nhiều bởi thể tích bao gói chúng. Độ tương quan giữa hai đại lượng này của cải canh và xà lách tương ứng là -0,97 và -0,999 (xác định bằng hàm Correl của Excel).



Hình 2. Ảnh hưởng của quá trình bao kín



Hình 3. Ảnh hưởng của thể tích bao kín lên hô hấp của cải canh

4. Bảo quản thử nghiệm:

Etylen là một trong những chất xúc tiến cho quá trình già hóa diễn ra nhanh hơn, chất này được tổng hợp trong quá trình bảo quản rau. Việc hô hiệu hóa tác dụng của chất này là một trong những biện pháp ngăn chặn sự hóa già.

Chất hấp thụ etylen được điều chế bằng cách đưa $KMnO_4$ lên chất mang có bề mặt riêng lớn (zeolit), nhằm phát huy tối đa hiệu quả của hoạt chất (trong khuôn khổ bài báo này chúng tôi sẽ không đưa chi tiết về phần này).

Từ kết quả của các phần 1, 2, 3 hình thức bảo quản thử nghiệm như sau: rau được đóng kín trong các túi LDPE, PP, trong mỗi túi có đặt các gói hấp thụ etylen. Từ kết quả ở phần 3.3 chúng tôi chọn tỷ lệ khối lượng rau/thể tích bao gói là 0,5 kg/2,0 lít.

Các gói rau được sắp xếp vào trong hộp cactông và đặt vào tủ lạnh có chế độ nhiệt là 4-8°C. Hộp cactông ở đây có tác dụng để cho rau tiếp xúc với nhiệt độ thấp một cách từ từ nhằm hạn chế những rủi ro do choáng lạnh gây ra.

5. Kết quả sau hai tuần bảo quản theo phương pháp trên:

Sau 14 ngày bảo quản chất lượng cảm quan của hai loại rau như sau:

Rau cải xanh đã xuất hiện một vài dấu hiệu úa vàng, tuy nhiên không có dấu hiệu thối hỏng. Ở những bao không đặt gói hấp thụ etylen rau úa nhiều hơn so với loại có đặt túi hấp thụ etylen. Rau được bao gói bằng bao bì LDPE (dày 50 μm) có màu sắc và độ tươi cao hơn so với rau được bao gói bằng bao bì PP (dày 25 μm).

Xà lách bao gói trong cả hai loại bao bì vẫn chưa có dấu hiệu già úa, rau vẫn xanh và tươi nguyên như ban đầu. Tuy nhiên loại không được đặt túi hấp thụ etylen rau vẫn kém tươi hơn so với loại rau có đặt túi hấp thụ etylen.

Để kiểm chứng cho kết quả cảm quan chúng tôi đã tiến hành xác định hàm lượng các sắc tố trong lá rau, kết quả thu được chúng tôi trình bày trên bảng 1.

Bảng 1

Kết quả phân tích sắc tố của rau Cải canh và Xà lách sau 14 ngày bảo quản

Loại rau	Cải canh				Xà lách			
	PP		LDPE		PP		LDPE	
Loại bao bì	Chla	Chlb	Chla	Chlb	Chla	Chlb	Chla	Chlb
Sắc tố (mg/g)								
Không R	0,731	0,301	0,776	0,378	0,408	0,115	0,439	0,142
Có R	0,729	0,520	0,775	0,568	0,470	0,143	0,536	0,166

R: Chất hấp thụ etylen

Kết quả trên bảng 1 cho thấy, việc có hoặc không có chất hấp thụ etylen trong công thức bảo quản đã không ảnh hưởng lên hàm lượng chlorophyll a của rau cải canh. Tuy nhiên chất hấp thụ etylen lại có ảnh hưởng rõ rệt lên hàm lượng chlorophyll b ở lá rau cải canh. Trên bảng còn cho thấy hàm lượng sắc tố ở rau cải canh bao gói bằng bao bì LDPE (dày 50 μm) cao hơn hàm lượng sắc tố của cải canh bao gói

bằng bao bì PP (dày μm). Có lẽ đây chính là nguyên nhân rau cải canh bao gói trong bao bì PP úa hơn.

Đối với rau xà lách kết quả cho thấy khá rõ ràng rằng, chất hấp thụ etylen có khả năng ngăn chặn sự phá hủy Chla và Chlb. Xà lách bao gói trong bao bì LDPE có hàm lượng sắc tố cao hơn so với xà lách bao gói bằng bao bì PP.

III. KẾT LUẬN

1. Nhiệt độ (4-8°C), độ ẩm tương đối (45%), khối lượng rau bao kín là các yếu tố có khả năng làm giảm hô hấp của rau cải canh (*B. juncea* L.) và xà lách (*L. sativa*).

2. Phương án bảo quản bằng bao bì LDPE dày 50 µm, PP dày 25 µm, ở nhiệt độ 4-8°C, kết hợp với chất hấp thụ etylen tự điều chế đã chứng tỏ được là có khả năng giữ cải canh và xà lách trong hai tuần, trong khi đó đối chứng chỉ để được 2 ngày.

3. Sau hai tuần bảo quản thấy rằng, bao bì LDPE dày 50 µm kết hợp với chất hấp thụ etylen có khả năng giữ rau xanh hơn, tươi hơn so với các công thức còn lại (hàm lượng sắc tố xanh cao hơn so với đối chứng).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Andrew P., Medlicott et al.**, 1992: Measurement of colour changes in ripening bananas and mangoes by instrumental, chemical, and visual assessments. *Tropical Agriculture* (Trinidad), Vol. 69 (No.2): 165-172.
2. **Ben Yehoshua**, 1991: New development in applying individual seal packaging for improved handling of fruits and vegetables. In the Proceedings of International Citrus Symposium, Guangzhou, China, November, 1990. Beijing, International Academic Press: 757-771.
3. **Geeson J. D.**, 1989: Modified Atmosphere Packaging of Fruits and Vegetables. *Acta Horticulture*, 258: 143-150.
4. **Holden M.**, 1976: Chlorophylls, in *Chemistry and Biochemistry of Plant Pigments*. Vol. 2 (Ed. By Goodwin, T. W.), London, Academic Press: 1-37.
5. **Karder et al.**, 1989: Modified Atmosphere Packaging of Fruits and Vegetables. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* (28): 1-30.
6. **Norman T. J., Bailey** (Editor), 1997: *Statistical methods in biology*. Cambridge University Press.
7. **Shirazi A. and Cameron A. C.**, 1992: Controlling relative humidity in modified atmosphere packages of tomato fruit. *HortScience* (27): 336-339.
8. **Vincent E. Rubatzky, Mas Yamaguchi** (Ed.), 1997: *World Vegetables-Principle, Production, and Nutritive values*. Chapman & Hall, New York.

INITIAL STUDIES ON THE PRESERVATION OF *LACTUCA SATIVA* AND *BRASSICA JUNCEA* L. OBTAINED BY HYDROPONICS

LE TIEN DUNG, et al.

SUMMARY

The influence of various factors on the respiration rate of the two vegetables has been investigated. The temperature, the relative humidity and the amount of packed vegetables have shown to have great effect on the respiration rate of these two vegetables. The respiration rate of the vegetables also reduced gradually during the airtight process.

Polyethylene (50 µm thickness) and polypropylene (25 µm thickness) bags with the ethylene absorbent have shown to be able to preserve two vegetables at 48°C for two weeks.

Ngày nhận bài: 20-12-2000

Thể lệ viết và gửi bài

1. Tạp chí Sinh học đăng các kết quả điều tra cơ bản và các 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 6000 chữ; bài giới thiệu những nghiên cứu nhỏ hoặc thông báo kết quả về những cuộc điều tra khảo sát ngắn hạn không quá 3000 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 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 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, số điện thoại.
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.

NATIONAL CENTRE FOR NATURAL SCIENCE AND TECHNOLOGY OF VIETNAM
 JOURNAL OF BIOLOGY
 VOLUME 23 - NUMBER 2
 6 - 2001

CONTENTS

	<i>Pages</i>
1. TA HUY THINH : Flesh flies (Diptera: Sarcophagidae) from Vietnam.	1-6
2. NGUYEN NGOC CHAU, NGUYEN VU THANH : Four virus vector nematode species of the families diphterophoridae (Micoletzki, 1922) Thorne, 1935 and Longidoridae Thorne, 1935 from Vietnam.	7-11
3. DANG TAT THE : Morphological characteristics of <i>Raillietiella orientalis</i> (Hett, 1915) Sambon, 1922 (Pentastomida).	12-14
4. DANG DUC KHUONG, TRUONG XUAN LAM : Species of the subfamily asopinae (Pentatomidae-Heteroptera) in Vietnam.	15-19
5. DANG PHUONG NGA, LAI THUY HIEN : Taxonomic characteristics of some acquainted positive gram bacteria strains and their effects on the quality of Jet A1 fuel.	20-26
6. NGUYEN DINH QUYEN, TRAN THI LAN PHUONG : Isolation and screening of bacteria strains capable of degrading keratin for the biotransformation of the feathers.	27-31
7. PHAN THI BAY, et al. : Molecular variations of lines resisted to rice blast fungi.	32-38
8. NGUYEN HOANG LOC, et al. : Cutting Propagation of <i>Camellia japonica</i> L..	39-44
9. LE THI THU HIEN, et al. : Sequence analysis of sucrose synthase promoter (RSUC1-PROMOTER) from C71 rice cultivar.	45-50
10. TRAN CONG TUOC, et al. : The presence of <i>Helicobacter pylori</i> Type I (cagA ⁺ Status) in the gastric biopsies of Vietnamese patients.	51-54
11. TA KIM CHINH, et al. : Some biological characteris of <i>Metarhizium</i> Ma.6 and <i>Beauveria</i> Bb.98 fungi strains isolated from various samples and their anti-termite ability.	55-59
12. LE TIEN DUNG, et al. : Intitial studies of the preservation of <i>Lactuca sativa</i> and <i>Brassica juncea</i> L. obtained by hydroponics.	60-63

MỤC LỤC

		<i>Trang</i>
1. TẠ HUY THỊNH	: Họ Ruồi xám (Diptera: Sarcophagidae) ở Việt Nam.	1-6
2. NGUYỄN NGỌC CHÂU, NGUYỄN VŨ THANH	: Bốn loài tuyến trùng thực vật ký sinh mang truyền virut thuộc hai họ Diphterophoridae (Micoletzki, 1922) Thorne, 1935 và Longidoridae Thorne, 1935 ở Việt Nam.	7-11
3. ĐẶNG TẤT THẾ	: Một số đặc điểm hình thái của loài <i>Raillietiella orientalis</i> (Hett, 1915) Sambon, 1922 (Pentastomida).	12-14
4. ĐẶNG ĐỨC KHƯƠNG, TRƯƠNG XUÂN LAM	: Dẫn liệu bước đầu về thành phần loài và sự phân bố của phân họ bộ xít Asopinae (Pentatomidae-Heteroptera) Việt Nam.	15-19
5. ĐẶNG PHƯƠNG ANH, LAI THÚY HIỀN	: Một số đặc điểm phân loại của một số chủng vi khuẩn gram dương thường gặp và ảnh hưởng của chúng đến chất lượng của nhiên liệu máy bay Jet A1.	20-26
6. NGUYỄN ĐÌNH QUYẾN, TRẦN THỊ LAN PHƯƠNG	: Phân lập và tuyển chọn các chủng vi khuẩn có khả năng phân giải keratin dùng để chuyển hóa sinh học lông gia cầm.	27-31
7. PHAN THỊ BẢY và cộng sự	: Những biến đổi phân tử ở các dòng lúa kháng dịch nấm gây bệnh đạo ôn <i>Pyricularia oryzae</i> .	32-38
8. NGUYỄN HOÀNG LỘC và cộng sự	: Nhân giống cây Trà my (<i>Camellia japonica</i> L.) bằng phương pháp giâm cành.	39-44
9. LÊ THỊ THU HIỀN và cộng sự	: Phân tích trình tự của đoạn điều khiển của gen tổng hợp đường RSUC1-PROMOTER) từ giống lúa C71.	45-50
10. TRẦN CÔNG TƯỚC và cộng sự	: Sự có mặt của vi khuẩn <i>Helicobacter pylori</i> mang cagA ⁺ Status trong các sinh thiết dạ dày của người Việt Nam.	51-54
11. TẠ KIM CHÍNH và cộng sự	: Một số đặc điểm sinh học của hai chủng vi nấm <i>Metarhizium</i> Ma.6 và <i>Beauveria</i> Bb.98 phân lập từ những nguồn mẫu khác nhau và hiệu lực diệt mối (<i>Coptotermes</i>) của chúng.	55-59
12. LÊ TIẾN DŨNG và cộng sự	: Bước đầu nghiên cứu phương pháp bảo quản rau Cải xanh và Xà lách trồng bằng biện pháp thủy canh.	60-63