

NGHIÊN CỨU KIỂU NHÂN CỦA NHÔNG CÁT *LEIOLEPIS REEVESII* REEVESII (GRAY, 1831) Ở THỪA THIÊN - HUẾ

Trần Quốc Dung^{1,2}, Trần Văn Thiện¹, Nguyễn Thị Mai Dung³, Ngô Đắc Chứng²

¹Viện Tài nguyên, Môi trường và Công nghệ Sinh học, Đại học Huế

²Trường Đại học Sư phạm Huế

³Trường Đại học Y Dược Huế

TÓM TẮT

Nhông cát *Leiolepis reevesii reevesii* là loài Thằn lằn thuộc họ Nhông (Agamidae), lớp Bò sát (Reptile). Ở Việt Nam, nhông cát thường được bắt gặp ở những dải cát ven biển. Các mẫu nhông cát *Leiolepis reevesii reevesii* sử dụng để xây dựng kiểu nhân trong nghiên cứu này được thu thập ở xã Thuận An, huyện Phú Vang, tỉnh Thừa Thiên - Huế, nhằm góp phần bổ sung và tích lũy các kiến thức cơ bản về họ Nhông ở Việt Nam. Các đặc điểm về màu sắc và hình thái của các mẫu thu được là phù hợp với sự mô tả trước đây. Các mẫu này còn được mô để xác định giới tính thông qua các tuyến sinh dục. Các tiêu bản nhiễm sắc thể kỳ giữa được tiến hành từ các lympho bào nuôi cấy với phương pháp hiện band G có cải tiến. Kiểu nhân được xác định đối với mỗi mẫu nghiên cứu dựa vào ảnh hiển vi của trên 30 tế bào ở kỳ giữa có các cụm nhiễm sắc thể trải rộng. Đếm số lượng nhiễm sắc thể của các ảnh chụp tiêu bản này. Trong tổng số 36 nhiễm sắc thể lưỡng bội ở kỳ giữa của tế bào được tìm thấy có 12 nhiễm sắc thể lớn và 24 nhiễm sắc thể nhỏ. Các cặp nhiễm sắc thể lớn 1, 2, 3, 4, 5 và 6 đều là các nhiễm sắc thể tâm giữa. Công thức kiểu nhân của *L. reevesii reevesii* là 12 M + 24 m.

Từ khóa: Họ Nhông, kiểu nhân, *Leiolepis reevesii reevesii*, lớp bò sát, nhiễm sắc thể lớn, nhiễm sắc thể nhỏ

MỞ ĐẦU

Nhông cát *Leiolepis reevesii reevesii* là loài Thằn lằn thuộc họ Nhông (Agamidae), lớp Bò sát (Reptile). Ở Việt Nam, nhông cát thường được bắt gặp ở những dải cát ven biển. Từ rất lâu, nhân dân ta đã biết sử dụng nhông để chữa bệnh như hen suyễn, ghê lở và gây yếu ở trẻ em. Một số nơi đem ngâm rượu để uống như tắc kè và rắn. Do thịt nhông thơm ngon nên được sử dụng làm thực phẩm. Mặt khác, khi phân tích thành phần thức ăn tự nhiên của nhông cát thấy có nhiều loài động vật, thực vật khác nhau, trong đó có nhiều côn trùng có hại như cào cào, châu chấu, bọ xít, bướm, ruồi... Do đó, có thể nói về mặt sinh thái, nhông cát có một vai trò nhất định trong việc cân bằng hệ sinh thái vùng cát ven biển (Trần Quốc Dung, 1990; Ngô Đắc Chứng, 1991). Xuất phát từ những lý do nói trên, việc nghiên cứu xây dựng kiểu nhân là có ý nghĩa khoa học và thiết thực nhằm góp phần vào việc bổ sung và tích lũy các kiến thức cơ bản về họ Nhông ở Việt Nam.

VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Leiolepis reevesii reevesii được thu thập ở xã

Thuận An, huyện Phú Vang, tỉnh Thừa Thiên - Huế, nằm trong khoảng 16°30 vĩ độ Bắc và 107°40 kinh độ Đông, cách thành phố Huế 13 km về phía Đông Bắc (Hình 1), bằng cách đặt bẫy ống hoặc đào hang.

Các đặc điểm màu sắc và hình thái của các mẫu nhông cát thu được là phù hợp với sự mô tả của Ngô Đắc Chứng (1991). Các mẫu còn được mô để xác định giới tính thông qua các tuyến sinh dục.

Phương pháp nuôi cấy tế bào máu và làm tiêu bản nhiễm sắc thể được tiến hành theo Barch (1997) và Aranyavalai và đồng tác giả (2004) có cải tiến. Máu của các cá thể *L. reevesii reevesii* được lấy trực tiếp từ tim và nuôi cấy trong môi trường PB-MAX ở 37°C trong 72 h. Trước khi thu hoạch tế bào từ 1 - 2 h, cho vào mẫu nuôi khoảng 30 - 40 μ l concemid (10 mg/ml) và cố định trong dung dịch Carnoy (3 thể tích methanol tuyệt đối: 1 thể tích acetic acid 96%) 2 hoặc 3 lần. Cuối cùng, xử lý nhiễm sắc thể bằng trypsin trước khi nhuộm tiêu bản bằng dung dịch Giemsa (hiện band G). Để xác định chính xác số lượng nhiễm sắc thể, mỗi mẫu chọn tối thiểu 30 tế bào ở kì giữa có các cụm nhiễm sắc thể trải rộng, rõ ràng để đếm số lượng. Kiểu nhân của *L. reevesii reevesii* được xây dựng theo các quy ước quốc tế trên cơ sở phân tích

hình thái, kích thước và số lượng nhiễm sắc thể. Chiều dài tương đối, chỉ số tâm và chỉ số cánh của các nhiễm sắc thể lớn của *L. reevesii reevesii* được tính toán theo Levan và đồng tác giả (1964).

KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Số lượng nhiễm sắc thể và kiểu nhân của nhông cát *L. reevesii reevesii*

Sau khi nhuộm tiêu bản, tiến hành quan sát dưới kính hiển vi, chọn các tế bào có các cụm nhiễm sắc kỳ giữa trải rộng để đếm số lượng nhiễm sắc thể (Hình 3). Kết quả đếm số lượng nhiễm sắc thể kỳ giữa của *L. reevesii reevesii* được trình bày ở bảng 1.

Nhìn vào bảng 1 có thể nhận thấy số lượng nhiễm sắc thể của *L. reevesii reevesii* < 36 chiếm tỉ lệ 9,31% (17/182), bằng 36 chiếm tỷ lệ 89,71% (162/182) và > 36 chiếm tỷ lệ 1,62% (3/182). Kết quả này chứng tỏ số lượng nhiễm sắc thể của *L. reevesii reevesii* là 36. Các trường hợp < 36 hoặc > 36 có thể do những nhiễm sắc thể kích thước nhỏ chồng lên nhau hoặc có sự đứt gãy của nhiễm sắc thể do tác động cơ học trong quá trình làm tiêu bản, nên số lượng của chúng trong tế bào có thể giảm hoặc tăng lên. Mặt khác, khi quan sát tế bào ở kì giữa với tổng số 36 nhiễm sắc thể đều có 12 nhiễm sắc thể có kích thước lớn (macrochromosome) và

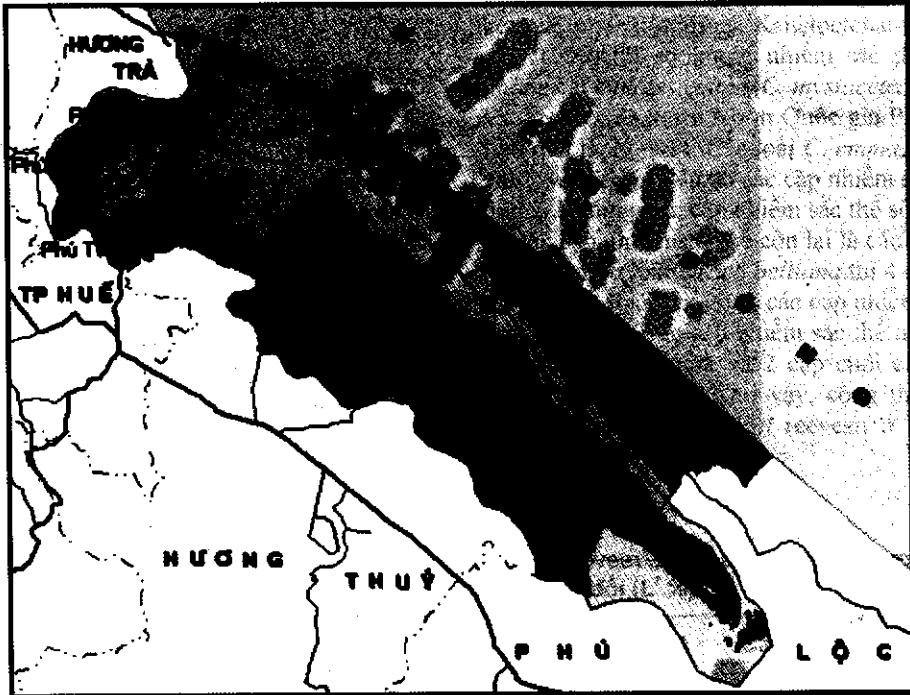
24 nhiễm sắc thể có kích thước nhỏ (microchromosome). Sau khi sắp xếp nhiễm sắc thể theo các quy ước quốc tế, kiểu nhân của *L. reevesii reevesii* được trình bày ở hình 4. Kết quả ở hình 4 cho thấy *L. reevesii reevesii* có bộ nhiễm sắc thể lưỡng bội $2n = 36$, trong đó 12 nhiễm sắc thể có kích thước lớn và 24 nhiễm sắc thể có kích thước nhỏ.

Ở Việt Nam, chưa thấy có công bố nào về kết quả nghiên cứu kiểu nhân của các loài nhông cát. Theo Ngô Đắc Chứng (1991) thì ở Thừa Thiên - Huế hiện có hai loài nhông cát là *L. reevesii reevesii* và *L. guentherpetersi*. Darevsky và Kupriyanova (1993) đã nghiên cứu xác định kiểu nhân của *L. guentherpetersi* ở xã Thủy Phù, huyện Hương Thủy, tỉnh Thừa Thiên - Huế có bộ nhiễm sắc thể tam bội $3n = 54$, bao gồm 18 nhiễm sắc thể kích thước lớn và 36 nhiễm sắc thể kích thước nhỏ.

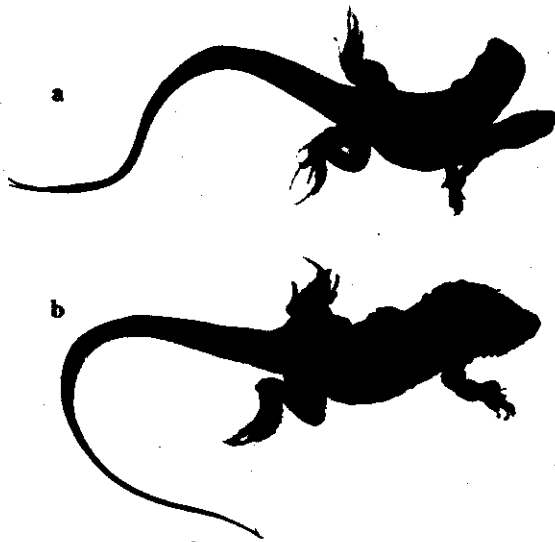
Kết quả so sánh cho thấy, số lượng nhiễm sắc thể của *L. reevesii reevesii* ở Thừa Thiên - Huế giống với số lượng nhiễm sắc thể của *L. belliana* ở Bangkok, Thái Lan, $2n = 36$ với 12 nhiễm sắc thể kích thước lớn và 24 nhiễm sắc thể kích thước nhỏ (Hall, 1970) trong khi *L. boehmei* Darevsky và Kupriyanova, 1993 ở phía Nam Thái Lan có số lượng bộ nhiễm sắc thể ít hơn, $2n = 34$, trong đó bao gồm 12 nhiễm sắc thể kích thước lớn và 22 nhiễm sắc thể kích thước nhỏ (Darevsky, Kupriyanova, 1993).

Bảng 1. Số lượng nhiễm sắc thể của *L. reevesii reevesii*.

Mẫu (Giới tính)	Số tế bào được chọn đếm nhiễm sắc thể	Số lượng nhiễm sắc thể của tế bào					
		< 36		36		> 36	
		Số lượng	Tỷ lệ (%)	Số lượng	Tỷ lệ (%)	Số lượng	Tỷ lệ (%)
1 (đực)	37	5	13,51	31	83,77	1	2,77
2 (cái)	37	3	8,18	34	91,88	0	0,00
3 (đực)	30	4	13,37	25	83,37	1	3,37
4 (cái)	38	2	5,27	35	92,18	1	2,67
5 (đực)	40	3	7,50	37	92,50	0	0,00
Tổng cộng	182	17	9,31	162	89,71	3	1,62



Hình 1. Địa điểm thu mẫu

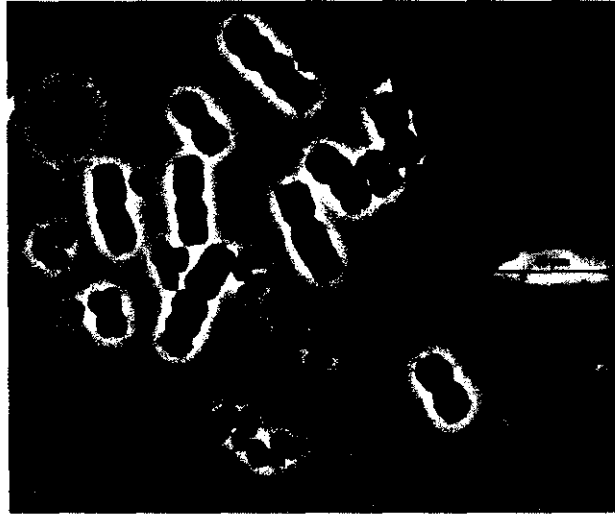


Hình 2. Nhông cát *Leiolepis reevesii reevesii* trưởng thành. a. Con cái; b. Con đực.

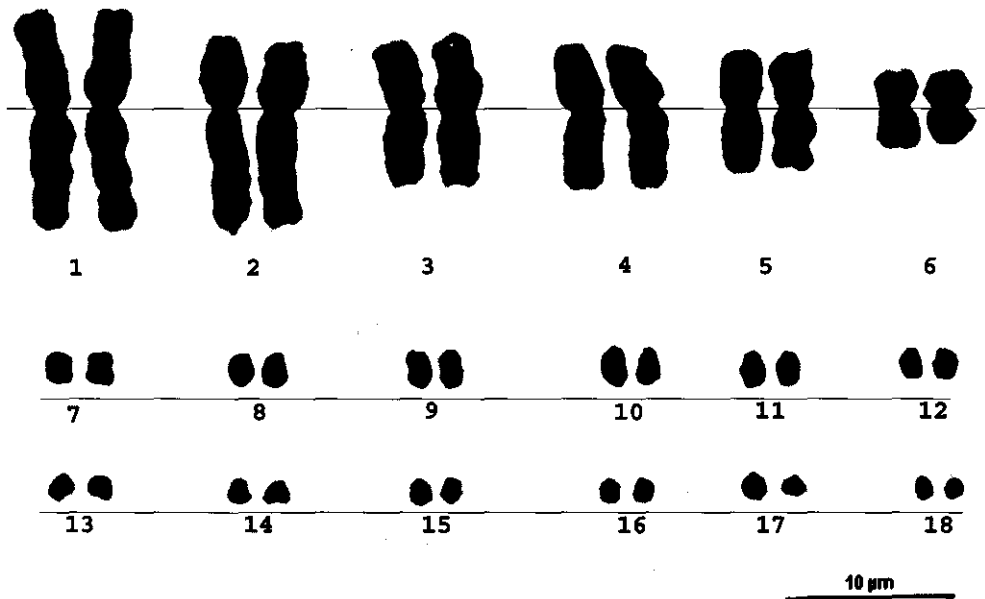
Phân tích kiểu nhân của nhông cát *L. reevesii reevesii*

Mỗi mẫu nghiên cứu, chúng tôi chọn 10 tế bào có cụm NST ở kỳ giữa trải rộng và thẳng để đo kích

thước cánh dài, cánh ngắn và chiều dài toàn bộ NST. Trong nghiên cứu này, chúng tôi chỉ phân tích các chỉ số hình thái của 6 cặp NST có kích thước lớn (NST 1-6). Kết quả tính toán chiều dài tương đối của các cặp NST kích thước lớn được trình bày ở bảng 2.



Hình 3. Nhiễm sắc thể kỳ giữa của *L. reevesii reevesii*.



Hình 4. Kiểu nhân của *L. reevesii reevesii* (Gray, 1831), $2n = 36$ với 12 nhiễm sắc thể lớn và 24 nhiễm sắc thể nhỏ.

Kết quả ở bảng 2 cho thấy chiều dài tương đối của các cặp nhiễm sắc thể biến thiên trong khoảng từ $6,11 \pm 0,21\%$ - $17,00 \pm 0,60\%$; trong đó cặp NST 1 có chiều dài tương đối lớn nhất ($17,00 \pm 0,60\%$) và chiều dài tương đối của cặp NST số 6 là nhỏ nhất ($6,11 \pm 0,21\%$). Nhìn chung, sự chênh lệch về chỉ số chiều dài tương đối giữa các cặp nhiễm sắc thể là khá rõ.

Kết quả tính toán, phân tích chỉ số tâm của các cặp nhiễm sắc thể kích thước lớn của *L. reevesii reevesii* được trình bày ở bảng 3. Qua bảng 3 ta thấy chỉ số tâm I^c của các cặp nhiễm sắc thể 1, 2, 3, 4, 5 và 6 tương ứng lần lượt là $0,46 \pm 0,01$; $0,39 \pm 0,02$; $0,47 \pm 0,01$; $0,46 \pm 0,01$; $0,47 \pm 0,02$ và $0,48 \pm 0,01$. Như vậy, sự chênh lệch về chỉ số tâm giữa các cặp nhiễm sắc thể là không lớn, thậm chí bằng nhau (cặp

NST 1 và NST 4) và gần như bằng nhau (cặp NST 3 và NST 5).

Chỉ số cánh của các cặp nhiễm sắc thể kích thước lớn của *L. reevesii reevesii* được trình bày ở bảng 4.

Số liệu ở bảng 4 cho thấy chỉ số cánh I^b của các cặp nhiễm sắc thể là từ $1,07 \pm 0,04$ - $1,56 \pm 0,11$. Như vậy $1,0 \leq I^b \leq 1,7$. Kết quả này chứng tỏ các cặp nhiễm sắc thể 1, 2, 3, 4, 5, và 6 đều là các nhiễm sắc thể tâm giữa.

Từ các kết quả thu được ta có thể xác định được công thức kiểu nhân của *L. reevesii reevesii* là 12 metacentric macrochromosomes + 24 microchromosomes (12 M + 24 m).

Ở Việt Nam chưa thấy có công bố nào về kết

quả phân tích kiểu nhân của nhông cát. So sánh với kết quả nghiên cứu của Kritetpetcharal và đồng tác giả (1999) thì số lượng nhiễm sắc thể của 4 loài nhông cát *Calotes emma*, *C. mystaceus*, *C. versicolor* và *Draco belliana* ở Vườn Quốc gia Phu Phan, Thái Lan đều là $2n = 34$. Các loài *C. emma*, *C. mystaceus* và *C. versicolor* đều có các cặp nhiễm sắc thể 1, 3, 4, 5 và 6 là tâm giữa, cặp nhiễm sắc thể số 2 là tâm lệch và các cặp nhiễm sắc thể còn lại là các nhiễm sắc thể nhỏ. Riêng ở loài *Draco belliana* thì 4 cặp nhiễm sắc thể 1, 3, 4, 6 là tâm giữa, các cặp nhiễm sắc thể 2 và 5 là tâm lệch. Các cặp nhiễm sắc thể nhỏ hơn 7 - 15 gần như là tâm giữa và 2 cặp cuối cùng 16, 17 là nhiễm sắc thể nhỏ. Như vậy, công thức kiểu nhân của nhông cát *L. reevesii reevesii* ở Thừa Thiên - Huế là khá đơn giản.

Bảng 2. Chiều dài tương đối của các cặp nhiễm sắc thể lớn của *L. reevesii reevesii*.

Mẫu	Chiều dài tương đối (L^r %)					
	Cặp NST 1	Cặp NST 2	Cặp NST 3	Cặp NST 4	Cặp NST 5	Cặp NST 6
1	17,23 ± 0,72	14,46 ± 0,66	12,52 ± 0,36	10,99 ± 0,59	9,26 ± 0,64	6,10 ± 0,54
2	16,85 ± 0,59	14,79 ± 0,59	12,45 ± 0,55	10,92 ± 0,19	8,94 ± 0,51	6,19 ± 0,36
3	17,07 ± 0,96	14,82 ± 0,66	12,41 ± 0,67	11,12 ± 0,51	9,34 ± 0,51	6,16 ± 0,37
4	16,11 ± 0,99	13,84 ± 0,74	11,43 ± 0,71	10,15 ± 0,61	8,44 ± 0,41	5,77 ± 0,40
5	17,72 ± 0,64	15,52 ± 0,91	12,65 ± 0,46	11,65 ± 0,25	9,49 ± 0,27	6,33 ± 0,23
TB	17,00 ± 0,60	14,69 ± 0,62	12,29 ± 0,50	10,97 ± 0,54	9,09 ± 0,42	6,11 ± 0,21

Bảng 3. Chỉ số tâm của các cặp nhiễm sắc thể lớn của *L. reevesii reevesii*.

Mẫu	Chỉ số tâm (I^c)					
	Cặp NST 1	Cặp NST 2	Cặp NST 3	Cặp NST 4	Cặp NST 5	Cặp NST 6
1	0,45 ± 0,01	0,37 ± 0,02	0,44 ± 0,02	0,45 ± 0,01	0,45 ± 0,02	0,50 ± 0,01
2	0,46 ± 0,02	0,39 ± 0,01	0,47 ± 0,02	0,46 ± 0,01	0,47 ± 0,01	0,48 ± 0,01
3	0,46 ± 0,01	0,40 ± 0,01	0,48 ± 0,01	0,47 ± 0,01	0,49 ± 0,01	0,48 ± 0,02
4	0,47 ± 0,02	0,40 ± 0,02	0,47 ± 0,01	0,47 ± 0,01	0,49 ± 0,02	0,48 ± 0,01
5	0,45 ± 0,02	0,40 ± 0,01	0,47 ± 0,01	0,47 ± 0,01	0,47 ± 0,01	0,48 ± 0,01
TB	0,46 ± 0,01	0,39 ± 0,02	0,47 ± 0,01	0,46 ± 0,01	0,47 ± 0,02	0,48 ± 0,01

Bảng 4. Chỉ số cánh của các cặp nhiễm sắc thể lớn của *L. reevesii reevesii*.

Mẫu	Chỉ số cánh (\bar{P})					
	Cặp NST 1	Cặp NST 2	Cặp NST 3	Cặp NST 4	Cặp NST 5	Cặp NST 6
1	1,25 ± 0,05	1,76 ± 0,12	1,27 ± 0,09	1,23 ± 0,05	1,25 ± 0,09	1,00 ± 0,04
2	1,20 ± 0,07	1,56 ± 0,06	1,15 ± 0,08	1,17 ± 0,05	1,12 ± 0,05	1,08 ± 0,07
3	1,16 ± 0,05	1,51 ± 0,06	1,11 ± 0,03	1,14 ± 0,06	1,06 ± 0,04	1,10 ± 0,07
4	1,16 ± 0,08	1,50 ± 0,11	1,11 ± 0,06	1,12 ± 0,06	1,06 ± 0,06	1,07 ± 0,04
5	1,22 ± 0,08	1,50 ± 0,08	1,13 ± 0,06	1,12 ± 0,04	1,12 ± 0,03	1,08 ± 0,03
TB	1,20 ± 0,04	1,56 ± 0,11	1,15 ± 0,07	1,16 ± 0,05	1,12 ± 0,08	1,07 ± 0,04

KẾT LUẬN

Nhông cát *L. reevesii reevesii* ở xã Thuận An, huyện Phú Vang, tỉnh Thừa Thiên - Huế có bộ nhiễm sắc thể lưỡng bội $2n = 36$, trong đó 6 cặp nhiễm sắc thể kích thước lớn (1, 2, 3, 4, 5 và 6) là các nhiễm sắc thể tâm giữa và 12 cặp nhiễm sắc thể còn lại (7 - 18) là các nhiễm sắc thể kích thước nhỏ.

Công thức kiểu nhân của *L. reevesii reevesii* là $12M + 24m$.

Lời cảm ơn: Các tác giả xin chân thành cảm ơn PGS. TS. Nguyễn Hoàng Lộc, PGS. TS. Nguyễn Việt Nhân đã tạo điều kiện thuận lợi giúp đỡ chúng tôi trong quá trình nghiên cứu.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Arangyavalai V, Thirakhupt K, Pariyanonth P, Chulalaksananukul W (2004) Karyotype and unisexuality of *Leiolepis boehmei* Darevsky and Kupriyanova, 1993 (Sauria: Agamidae) from Southern Thailand. *Nat His J Chulalongkorn Univ* 4 (1): 15-19.

Barch MJ (1997) *The AGT Cytogenetics Laboratory Manual*. The Association of Genetic Technology, USA.

Darevsky IS, Kupriyanova LA (1993) Two new all-female lizard species of the genus *Leiolepis* CUVIER,

1829 from Thailand and Vietnam. *Hepertoza* 6(1/3-20).

Hall WP (1970) Three probable cases of parthenogene in lizards (Agamidae, Chamaeleontidae, Gekkonida *Experientia* 26: 1271- 1273.

Kritetpetcharal O, Kritetpetcharal C, Luangpirom Watcharnon P (1999) Karyotype of four Agamic species from the Phu Phan National Park in Thailand *Sci Asia* 25: 185-188.

Ngô Đắc Chứng (1991) Nghiên cứu đặc điểm hình thái và sinh thái của nhông cát *Leiolepis belliana* (Gr: 1827) ở đồng bằng và vùng cát ven biển Thừa Thiên Huế. *Luận án Phó Tiến sĩ Khoa học Sinh học*. Trường Đại học Sư phạm Hà Nội.

Rohilla MS, Rao RJ, Tiwari PK (2006) Use preipheral blood lymphocyte culture in the karyologic analysis of Indian freshwater turtles, *Lissem punctata* and *Geoclemys hamiltoni*. *Curr Sci* 90(11): 1130-1134.

Tô Cao Ly, Dương Thu Hương (2004) Nghiên cứu kỹ nhân, đa dạng kiểu nhân của một số giống lợn: E bạch, Móng cái và con lai F₁ (Đại bạch ♂ X Móng cái ♀) nuôi tại miền Bắc nước ta. *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Sư phạm Hà Nội* 4: 1-4.

Trần Quốc Dung (1990) Bước đầu tìm hiểu một số đặc điểm sinh thái học của nhông cát trong điều kiện nuôi nhốt. *Khóa luận Tốt nghiệp*. Khoa Sinh học, Trường Đại học Sư phạm Huế.

DETERMINATION OF KARYOTYPE OF *LEIOLEPIS REEVESII* REEVESII (GRAY, 1831) IN THUATHIEN - HUE PROVINCE

Tran Quoc Dung^{1,2,*}, Tran Van Thien¹, Nguyen Thi Mai Dung³, Ngo Duc Chung²

¹*Institute of Resource-Environment and Biotechnology, Hue University*

²*Hue University's College of Education*

³*Hue University's College of Medicine*

SUMMARY

Leiolepis reevesii reevesii is the butterfly lizard species belonging to the family Agamidae of Reptile. In Vietnam, the family of Agamidae can be found in some sandy areas near the coast. The karyological study was carried out on the series *L. reevesii reevesii* specimens collected from Thuan An Precincts, Phu Vang District, Thuathien - Hue province to obtain the data that would contribute to the basic knowledge of the Agamidae family in Vietnam. Colour and morphological characters of captured specimens matched the previous description about *L. reevesii reevesii*. These specimens were also identified sexually by gonadal investigation through abdominal dissection. Mitotic chromosomes were prepared by lymphocyte culturing and stained by the modified G banding technique. The karyotype was determined for each specimen on the basis of photographs of over 30 metaphase cells which contain chromosomes enlarged. The chromosomes on those photographs were counted. A total of 36 diploid chromosomes were found, comprising 12 macrochromosomes and 24 microchromosomes. The outcome shows their macrochromosomes of pair number 1, 2, 3, 4, 5 and 6 are metacentric. The formula for karyotype of *L. reevesii reevesii* is 12M + 24 m.

Keywords: *Agamidae, Leiolepis reevesii reevesii, karyotype, macrochromosome, microchromosome, Reptile*

* Author for correspondence: Tel: 84-54-3830208; Fax: 84-54-3830208; E-mail: tranquocdung@dhsphue.edu.com