

ĐẶC ĐIỂM HÌNH THÁI VÀ PHÂN TỬ CỦA MỘT SỐ QUẦN THỂ MỐI *ODONTOTERMES HAINANENSIS* GÂY HẠI ĐÊ SÔNG Ở VIỆT NAM

Ngô Trường Sơn¹, Phan Kế Long², Tạ Huy Thịnh², Nguyễn Tân Vương³

TÓM TẮT

Odontotermes hainanensis là loài mối được xác định là đối tượng gây hại nghiêm trọng cho đê sông Hồng. Khi mở rộng phạm vi nghiên cứu ra các đoạn đê, tuyến đê khác ở miền Bắc, chúng tôi thu được những mẫu vật có những đặc điểm hình thái cơ bản giống như loài *Odontotermes hainanensis*, chỉ sai khác duy nhất ở đặc điểm vị trí rộng nhất của đầu và độ cong của cằm (posmentum). Theo tài liệu phân loại của Trung Quốc, các mẫu mối có đặc điểm khác biệt này là loài mối *Odontotermes pyrycep*. Có quan niệm cho rằng mối hại đê sông ở Việt Nam chủ yếu là *Odontotermes pyrycep*, chứ không phải *Odontotermes hainanensis*. Sau khi đã định loại chúng bằng phương pháp truyền thống là đo, so sánh các chi tiêu hình thái, chúng tôi đã sử dụng phương pháp Cluster analysis (NCSS 2007) để xây dựng mối quan hệ về hình thái giữa 42 quần thể mối nghiên cứu, kết quả cho thấy sự sai khác của chúng là không rõ ràng. Sử dụng phương pháp phân tích sinh học phân tử để giải mã gen của các mẫu nghiên cứu thuộc các quần thể khác nhau, so sánh kết quả giải mã gen với Ngân hàng gen thế giới (Genbank) cho thấy, chúng đều chung một loài là *Odontotermes hainanensis*.

Từ khoá: Mối hại đê, định loại mối, hình thái học, sinh học phân tử mối, gen mối, *Odontotermes hainanensis*, *Odontotermes pyrycep*

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Mối là nhóm côn trùng xã hội, phổ biến ở các nước nhiệt đới và có ý nghĩa kinh tế rất lớn. Chúng phá hoại nhà cửa, kho tàng, công trình di tích lịch sử văn hoá, đê đập và cây trồng. Ở Việt Nam đã xác định được hơn 110 loài [1]. *Odontotermes hainanensis* Light, 1924 là loài mối gây hại nguy hiểm cho đê, đập, nhất là các hệ thống đê ở miền Bắc nước ta. Loài này phân bố từ Đông Á đến Đông Nam Á và được phát hiện ở Việt Nam lần đầu vào năm 1927. Cho tới nay đã xác định chúng có mặt ở miền Bắc, miền Trung và Tây Nguyên [1,5].

Ở Việt Nam hiện nay, phân loại mối bằng đặc điểm hình thái bên ngoài là phương pháp được sử dụng rộng rãi nhất. Tuy nhiên, trên thực tế một loài mối thường có nhiều dạng biến dị hình thái ngay trong một quần thể hoặc giữa các quần thể khác nhau. Mặt khác, có thể có những loài mối khác nhau nhưng hình thái bên ngoài lại khá giống nhau. Đây là nguyên nhân gây khó khăn và nhầm lẫn trong định loại mối, từ đó dẫn tới hiệu quả phòng chống mối không cao.

Trong quá trình thu thập mối ở trên đê hệ thống sông Hồng, sông Thái Bình, sông Mã, ngoài những

mẫu vật mối đã được xác định là loài *Odontotermes hainanensis* theo như mô tả gốc, chúng tôi phát hiện có những mẫu vật có những đặc điểm hình thái cơ bản giống như loài *Odontotermes hainanensis*, chỉ sai khác duy nhất ở đặc điểm vị trí rộng nhất của đầu và độ dày của cằm (posmentum). Đầu của *Odontotermes hainanensis* theo mô tả gốc có hình oval, rộng nhất ở khoảng giữa, cằm cong mạnh. Còn đầu của các mẫu vừa phát hiện có hình quả lê, rộng nhất ở khoảng 2/3 của đầu, cằm cong ít hơn. Theo tài liệu phân loại mối của Hoàng Phúc Sinh và nnk [2] thì ở Trung Quốc, các mẫu vật mối thuộc giống *Odontotermes* có những đặc điểm hình thái như vậy được xác định là loài *Odontotermes pyryceps* Fan, 1985.

Có thể còn có những dạng đầu khác là trung gian của hai dạng đầu trên. Tuy nhiên, trong bài báo này, chúng tôi trình bày các đặc điểm hình thái phân loại cơ bản của một số quần thể mối vẫn thường được coi là *Odontotermes hainanensis* thu được ở trên các hệ thống đê miền Bắc Việt Nam, bao gồm 2 dạng hình thái đầu trên. Đồng thời sử dụng phương pháp sinh học phân tử nhằm xác định rõ đối tượng tại khu vực nghiên cứu là loài mối nào, từ đó lựa chọn phương pháp xử lý hiệu quả.

II. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Thu mẫu mối

Mẫu mối được thu trên các hệ thống đê sông Hồng, sông Thái Bình, sông Mã (gồm sông Chu,

¹ Vụ Bộ Nông nghiệp - PTNT; ² Viện Công nghệ Sinh học, Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam; ³ Trung tâm phòng trừ mối và sinh vật có hại

sông Mã và sông Lạch Trường) vào tháng 4 năm các năm: 2006, 2007, 2008 tại các vị trí có tổ mối. Mẫu mối được thu theo phương pháp định lượng, mỗi mẫu có 10 cá thể mỗi lĩnh được thu trong cùng 1 tổ, đựng trong lọ nhựa có cồn 70 độ, ghi nhãn.

2. Nghiên cứu hình thái học

a. Phương pháp đo và các số đo

Mẫu mối được đo theo hướng dẫn của Roonwal (1969) [6]. Các đặc điểm hình thái phân loại thể hiện bằng những số đo hình thái được sử dụng cho giống mối *Odontotermes* theo Ahmad (1958) [4]; Hoàng Phúc Sinh và nnk (2000) [2]; Nguyễn Đức Khâm và nnk (2007) [1]. Tổng số có 11 số đo hình thái được sử dụng.

Các mẫu mối *Odontotermes hainanensis*, có đầu hình oval được giả định gọi là L1. Các mẫu mối giống với *Odontotermes hainanensis*, có đầu hình quả lê được giả định gọi là L2. Mẫu mối trên đê của mỗi sông được thu ở 3 vùng khác nhau: Trung du, đồng bằng và ven biển. Tổng cộng có 42 mẫu mối thuộc L1 và L2 được đo 11 chỉ tiêu hình thái và phân tích quan hệ về hình thái.

b. Phân tích quan hệ về hình thái

Trên cơ sở 11 đặc điểm phân loại về hình thái, chúng tôi sử dụng phương pháp Cluster analysis (NCSS 2007) để xây dựng mối quan hệ về hình thái giữa các quần thể mối của Việt Nam. Mỗi quần thể được đo 10 cá thể và sử dụng giá trị trung bình trong phân tích này.

3. Nghiên cứu sinh học phân tử

a. *Gen nghiên cứu*: Một phần gen COI của hệ gen ty thể được chọn để nghiên cứu, vì nhiều tác giả đã chứng minh gen này có tỷ lệ tiến hóa thích hợp cho nghiên cứu quan hệ ở bậc giống, loài và quần thể nên phù hợp với mục đích và nội dung nghiên cứu này [3].

Cặp mỗi tổng hợp đoạn COI bao gồm: mỗi xuôi (forward primer), 5'ATT GCA CAT GCC GGA GCA TC 3'; mỗi ngược (revert primer), 5'GCT GAT GTG AAG TAG GCT CGT GT 3' được thiết kế dựa trên trình tự gen đích đã được công bố trong Ngân hàng gen quốc tế (Genbank).

b. *Tách DNA tổng số*: DNA tổng số được tách từ 1 cá thể mối. Cá thể mối sau khi để cho bay hết cồn được chuyển vào 180µl buffer ATL cùng với 20µl *Proteinase K*, ủ ở nhiệt độ 55°C trong 1h. Sau đó thêm 200µl ethanol (96 – 100%), chuyển toàn bộ dịch

mẫu sang cột DNeasy Mini Spin đặt trong ống thu dịch ly tâm và ly tâm ở 8000 vòng/phút trong 2 phút. Bổ sung lần lượt 500 µl buffer AW1 và AW2 vào cột ly tâm, ly tâm lần lượt ở 8000 vòng/phút trong 2 phút và 14.000 vòng/phút trong 3 phút để rửa DNA. Cuối cùng DNA tổng số được thu bằng 200 µl buffer AE, ly tâm 8000 vòng/phút trong 2 phút. DNA tổng số được bảo quản ở -20°C.

c. *Phản ứng PCR*: 10µl DNA tổng số với 15 µl hỗn hợp phản ứng PCR gồm 12.5µl 2x Tag PCR Mastermix, 1µl (20pmol) cho từng loại môi và 9,5 µl nước cất 2 lần. Chu trình phản ứng PCR theo các bước: biến tính 96°C trong 3 phút, 30 chu kỳ của 96°C trong 45 giây, 58°C trong 45 giây và 72°C trong 45 giây và tiếp tục ở 72°C trong 3 phút. Sau khi phản ứng kết thúc, điện di 5 µl sản phẩm PCR trên agarose gel 1% để kiểm tra, phần còn lại bảo quản ở -20°C.

d. *Tinh sạch DNA và giải mã*: Các sản phẩm PCR được tinh sạch bằng QIAquick Gel Extraction Kit (GmbH Qiagen, Hilden, Germany). Giải mã các đoạn DNA bằng BigDye Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction Kit (PE Applied Biosystem, USA) và đọc trình tự trên máy ABI PRISM 310 Genetic Analyzer (PE Applied Biosystem, USA).

So sánh trình tự nucleotid và xây dựng cây phát sinh chủng loại: Kết quả giải mã vùng COI loài *Odontotermes hainanensis* của Việt Nam được so sánh bằng phần mềm ClustalX 1.81 với các loài cùng giống: *O. badius* (AY818073), *O. billitoni* (AY127744), *O. formosanus* (AY553149), *O. hainaensis* (EU253857), *O. javanicus* (AY127741), *O. latericiusdka* (AY127714), *O. minutus* (AY127738), *O. nilensis* (AY127717), *O. oblongatus* (AY127739), *O. sarawakensis* (AY127743), *O. silvicolus* (AY127710), *O. transvaalensis* (AY818076), và loài khác giống *Coptotermes sjostedti* (AY127720) [3] thu thập từ Genbank. Xây dựng cây phát sinh chủng loại bằng phương pháp Maximum Parsimony trên phần mềm PAUP 4.0 [7].

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

1. Đặc điểm hình thái học

Các dẫn liệu về số đo hình thái được thể hiện ở bảng 1. Đây là tập hợp của 11 số đo hình thái thường được sử dụng để phân biệt các loài mối khác nhau.

Tập hợp và phân tích các dẫn liệu về đặc điểm hình thái đã được công bố của loài *Odontotermes hainanensis* ở Việt Nam, cũng như của loài *Odontotermes pyriceps* ở Trung Quốc cho thấy sự sai

khác về hình thái giữa các mẫu là vị trí rộng nhất của đầu và độ cong của cằm (posmentum). Đầu của loài *Odontotermes hainanensis* ở Việt Nam rộng nhất ở khoảng giữa, cằm cong mạnh, còn đầu của loài *Odontotermes pyriceps* ở Trung Quốc rộng nhất ở khoảng 2/3 đầu, cằm cong ít hơn. Đây cũng là đặc

điểm khác biệt để đầu của loài *Odontotermes hainanensis* ở Việt Nam có hình oval, đầu của loài *Odontotermes pyriceps* ở Trung Quốc có hình quả lê. Các số đo hình thái khác của 2 loài này hoặc là trùng nhau hoặc có sự sai khác không nhiều (bảng 1).

Bảng 1. Bảng số đo hình thái các mẫu mối (mm)

TT	Các chỉ số (mm)	Kích thước theo khoá		Kích thước mẫu NC	
		O. hai (VN)	O. py (TQ)	L1	L2
1	Chiều dài đầu tới gốc hàm	1,1-1,2	1,16-1,34	1,1-1,45	1,1-1,35
2	Chiều rộng đầu tại gốc hàm	0,65-0,7	0,61-0,68	0,65-0,85	0,6-0,75
3	Chiều rộng cực đại của đầu sau gốc râu	0,9-0,95		0,9-1,15	0,95-1,1
4	Chiều rộng cực đại của đầu	1,0-1,15	1,09-1,2	1,0-1,35	1,05-1,25
5	Chiều dài của hàm trái	0,75-0,8	0,78-0,88	0,7-0,85	0,75-0,85
6	Chiều dài từ răng tới đỉnh hàm	0,2-0,25	0,22-0,28	0,2-0,25	0,2-0,25
7	Chiều dài của cằm	0,6-0,7	0,59-0,7	0,5-0,7	0,55-0,65
8	Chiều rộng cực đại của cằm	0,45-0,55	0,5-0,57	0,5-0,6	0,5-0,55
9	Chiều rộng cực tiểu của cằm	0,3-0,35		0,35-0,45	0,3-0,38
10	Chiều dài của tấm lưng ngực trước	0,5-0,55	0,55-0,63	0,5-0,65	0,5-0,6
11	Chiều rộng của tấm lưng ngực trước	0,8-0,85	0,8-0,93	0,7-1,1	0,75-1,03

Ghi chú: O. hai (VN) : Loài mối *Odontotermes hainanensis* trong Động vật chí Việt Nam; O. py (TQ): Loài mối *Odontotermes pyriceps* trong Động vật chí Trung Quốc; L1: Loài mối thu trên đê, được xác định là *Odontotermes hainanensis*; L2: Loài mối thu trên đê, cơ bản giống với L1, sai khác ở hình dạng đầu và cằm (theo Động vật chí Trung Quốc, qua hình thái có thể được định loại là *Odontotermes pyriceps*)

Từ các dẫn liệu ở bảng 1 cho thấy, với tập hợp các số đo hình thái thường sử dụng, khó phân biệt được loài *Odontotermes hainanensis* ở Việt Nam với loài *Odontotermes pyriceps* ở Trung Quốc.

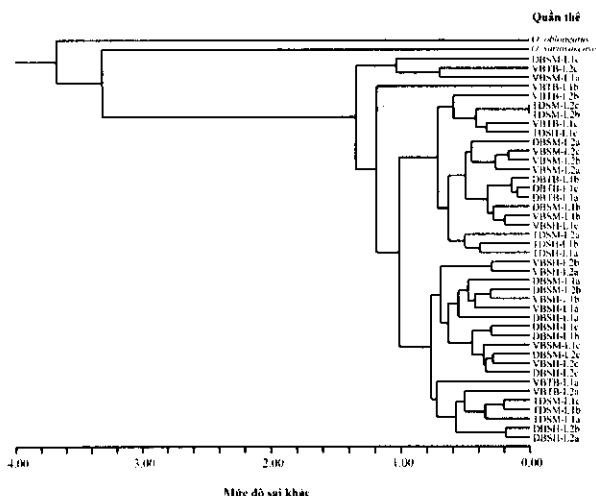
Kết quả đo các chỉ số hình thái trên các mẫu vật thuộc 2 loài giả định L1 và L2 trên các hệ thống đê miền Bắc Việt Nam cho thấy, trong cùng một hệ thống đê sông, hầu hết các số đo hình thái của các mẫu mối thu được ở các vùng khác nhau là có dao động, nhưng không sai khác nhau nhiều. So sánh các số đo hình thái của các quần thể mối ở các hệ thống đê sông khác nhau cũng cho thấy tất cả các mẫu mối không có sự khác biệt nhiều về giá trị số đo. Hiện tượng này thấy cả ở các mẫu mối thuộc 2 nhóm L1 và L2.

Sự khác biệt về hình thái duy nhất quan sát được chính là vị trí rộng nhất của đầu và độ dày của cằm. Đây là đặc điểm tạo ra 2 loài giả định L1 và L2 của chúng tôi. Đầu L1 có vị trí rộng nhất ở khoảng giữa, cằm có độ cong lớn (giống với *Odontotermes hainanensis* ở Trung Quốc và Việt Nam). Đầu L2 có vị trí rộng nhất ở khoảng 2/3 về phía sau đầu, cằm cong ít hơn (giống với *Odontotermes pyriceps* ở Trung Quốc). Để tiếp tục xử lý vấn đề này chúng tôi tập hợp

tất cả các số đo hình thái, của tất cả các quần thể mối nghiên cứu, phân tích hệ thống theo nhóm tương đồng hình thái, kết quả biểu diễn bằng Dendrogram (hình 1).

Kết quả biểu thị ở hình 1 cho thấy dựa trên tập hợp 11 số đo hình thái phân loại thường dùng, sự sai khác về hình thái giữa các quần thể của loài giả định L1, L2 với quần thể loài *Odontotermes sarawakensis* và *Odontotermes oblongatus* là rất rõ ràng. Tuy nhiên, các quần thể của loài giả định L1 và các quần thể của loài giả định L2 là không phân biệt rõ ràng. Nói cách khác, với những đặc điểm hình thái thể hiện qua các số đo hình thái đã sử dụng thì các quần thể L1 và các quần thể L2 chỉ là các dạng hình thái khác nhau của cùng một loài với đặc điểm biến đổi của vị trí rộng nhất của đầu và độ cong của cằm.

Mặt khác, qua hình 1 chúng ta cũng nhận thấy sự dao động của đặc điểm hình thái mối *Odontotermes* có liên quan tới môi trường sống của chúng; thể hiện ở các khu vực thu mẫu mối: trung du, đồng bằng hoặc ven biển. Các quần thể mối (kể cả L1 và L2) ở trên đê thuộc khu vực đồng bằng có sự dao động về hình thái cao hơn so với điều kiện trung du hoặc ven biển.



Hình 1. Mối quan hệ về hình thái giữa các quần thể mối *Odontotermes* hại đê sông ở Việt Nam trên cơ sở của 11 đặc điểm hình thái chủ yếu trong phân loại mối.

Chú thích: TD: Trung du; DB: Đông bằng; VB: Ven biển; SH: Sông Hồng; TB: Sông Thái Bình; SM: Sông Mã; L1, L2: Loài giả định L1, L2; a, b, c: Thứ tự các mẫu

Một hạn chế trong việc phân loại mối bằng hình thái là ở chỗ mẫu vật sử dụng để phân tích là mối lính, một đẳng cấp mối không giới tính. Điều này có

nghĩa là cấu trúc phân phụ sinh dục của con đực hoặc con cái, một đặc điểm hình thái quan trọng trong phân loại côn trùng đã không có mặt để sử dụng. Điều này dẫn tới sự xác định không chắc chắn vị trí phân loại của một loài, đặc biệt khi chỉ dựa trên một vài đặc điểm hình thái khác biệt riêng lẻ như trường hợp dựa trên đặc điểm vị trí rộng nhất của đầu, độ cong cằm của mối.

Nhằm khẳng định nhận xét rút ra từ phân tích nhóm tương đồng hình thái, cần phải tiến hành phân tích và đối chiếu trình tự gen đích của các quần thể của L1 và L2.

2. Đặc trưng phân tử

Dựa trên kết quả nghiên cứu về hình thái, chúng tôi đã lựa chọn 06 quần thể đại diện cho từng sông và khá cách xa về mặt địa lý: DBSH-L1a, DBSH-L2c, VBTB-L1a, VBTBb-L2b, TDSM-L1b và TDSM-L2a trong nghiên cứu sinh học phân tử. Chiều dài đoạn gen COI của các quần thể nghiên cứu là 465bp, gần như đồng nhất và hầu như không sai khác gì với trình tự đoạn COI của loài *O. hainanensis* EU253857 đã công bố trên Genbank (hình 2).

	*	20	*	40	*	60	
DBSHa-L1	:	GCCATCTTCTCTTTCCACCTAGCAGGAGTATCCTCCATCCTAGGGGCAGTAAACTTCATC	:	60			
DBSHc-L2	:	:	60			
VBTBa-L1	:	:	60			
VBTBb-L2	:	:	60			
TDSMb-L1	:	:	60			
TDSMa-L2	:	:	60			
EU253857	:	:	60			
	*	80	*	100	*	120	
DBSHa-L1	:	TCAACAACACTATCAACATAAAGCCAAAAGTATGAAACCAGAACGAATyCCCCATATTGTA	:	120			
DBSHc-L2	:	:	120			
VBTBa-L1	:	:	120			
VBTBb-L2	:	:	120			
TDSMb-L1	:	:	120			
TDSMa-L2	:	:	120			
EU253857	:	:	120			
	*	140	*	160	*	180	
DBSHa-L1	:	TGATCAGTAGCCATCACAGCCCTACTACTCTTACTATCACTGCCAGTACTAGCAGGAGCA	:	180			
DBSHc-L2	:	:	180			
VBTBa-L1	:	:	180			
VBTBb-L2	:	:	180			
TDSMb-L1	:	:	180			
TDSMa-L2	:	:	180			
EU253857	:	:	180			
	*	200	*	220	*	240	
DBSHa-L1	:	ATCACAATAyTACTAACyGACCGAAACCTAAAyACATCCTTCTTyGACCCAGCAGGAGGG	:	240			
DBSHc-L2	:	:	240			
VBTBa-L1	:	:	240			
VBTBb-L2	:	:	240			
TDSMb-L1	:	:	240			
TDSMa-L2	:	:	240			
EU253857	:	:	240			

IV. KẾT LUẬN

Các mẫu vật mới trên hệ thống đê sông Hồng, sông Thái Bình và sông Mã, được xác định từ trước tới nay là loài *Odontotermes hainanensis* với hai loại hình cấu trúc đầu hình oval, cằm cong mạnh và hình quả lê, cằm cong ít hơn có tập hợp các số đo hình thái cơ bản giống nhau.

Kiểm tra đối chiếu trình tự gen cho thấy các quần thể mới ở khu vực nghiên cứu với hai loại hình cấu trúc đầu và cằm như trên vẫn nằm trong một loài là *Odontotermes hainanensis*.

Các quần thể mới *Odontotermes hainanensis* trên hệ thống đê sông Hồng, sông Thái Bình và sông Mã có hiện tượng dị hình về cấu trúc đầu và cằm. Hình thái của đầu dao động từ hình oval tới hình quả lê, cằm cong mạnh đến cong vừa.

V. TÀI LIỆU THAM KHẢO

(1) Aanen, D.K., Eggleton, P., Rouland-Lefèvre, C., Guldberg-Frøslev, T., Rosendahl, S. and Boomsma, J.J. (2002). The evolution of fungus-

growing termites and their mutualistic fungal symbionts. *Evolution*, vol. 99, pp. 14887-14892.

(2) Ahmad, M., (1958). Key to the Indomalayan termite. *Biologia*, vol. 4, pp. 33 - 198.

(3) Bathelier, J., (1927). Contribution a L'etude systématique et biologique des termite de L'Indonechine - Foun. Colono. Fran. 1 (4), 1927.

(4) Hoàng Phúc Sinh và nnk, (2000). Động vật chí Trung quốc, tập 17, Côn trùng - Mối. Nhà xuất bản Khoa học Trung Quốc. Tài liệu dịch, trang 558 - 590.

(5) Nguyễn Đức Khâm và nnk (2007). Động vật chí Việt Nam, tập 15, Bộ Cánh đều - Mối. Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật, 298 trang.

(6) Roonwal, M. L., (1969). Measurement of termites (Isoptera) for taxonomic purpose. *J. Zool. Soc. India*. 21 (1), pp. 9-66.

(7) Swofford, D.L. (1998) PAUP* Phylogenetic analysis using parsimony. Version 4. Sinauer, Sunderland, MA. 128 pp.

MORPHOLOGICAL AND MOLECULAR CHARACTERISTIC OF SOME TERMITE COMMUNITIES *ODONTOTERMES HAINANENSIS* LIGHT, 1924 DAMAGING VIETNAMESE DYKES

Ngo Truong Son, Phan Ke Long, Ta Huy Thinh, Nguyen Tan Vuong

Summary

By using external mophology identification methods, it found that the species of termite, named *Odontotermes hainanensis*, is the most distributed on the dykes system in the North of Vietnam. While there are a number of collected specimens that is basically similar to it, but there are still different in shapes of their heads and posmentum. In order to confirm the sameness or none as well as their exact names, we used the method of cluste analysis and bio-molecular analysis. In spite of some variabilities in the head and posmentum shapes, they still come from only one species, is *Odontotermes hainanensis*. This is an important results for science and practice, in term of developing effective and efficient control measures.

Keywords: *Termite damaged dike, termite classification, termite molecular, gentermite, Odontotermes hainanensis, Odontotermes pyriceps.*

Người phân biện: GS.TSKH. Vũ Quang Côn