

## XỬ LÝ TÌNH HUỐNG KHI THỰC HIỆN TIÊU BẢN HIỂN VI TẠM THỜI QUAN SÁT ĐỘT BIẾN SỐ LƯỢNG NHIỄM SẮC THỂ Ở THỰC VẬT

Lê Minh Đức - Trường Đại học Sài Gòn

Phan Đức Duy, Trường Đại học Sư phạm - Đại học Huế

Ngày nhận bài: 15/01/2018; ngày sửa chữa: 18/01/2018; ngày duyệt đăng: 22/01/2018.

**Abstract:** The process of making temporary microscopic samples for observing the number mutation of chromosomes in plants (Lesson 10 - Advanced Biology 12) has caused many difficult situations to teachers and students. This paper studied commonly seen situations and proposed ways of handling which made the process simple and easy to implement with aim to minimize time and cost but still produce good samples meeting the requirements of the lesson.

**Keywords:** Microscopic sample, chromosome, laboratory practice, biology 12, situation handling.

### 1. Mở đầu

Trong chương trình Sinh học 12 nâng cao, các bài thực hành phân Di truyền có nội dung “Thực hành quan sát các dạng đột biến số lượng nhiễm sắc thể (NST) trên tiêu bản cố định hay tiêu bản tạm thời”. Thực tế hiện nay, khi thực hiện nội dung này theo quy trình sách giáo khoa, xuất hiện nhiều tình huống trong quá trình chuẩn bị mẫu vật, pha chế sử dụng hóa chất, thao tác thực hiện, mất nhiều thời gian khi làm tiêu bản... Các tình huống này gây nhiều khó khăn cho giáo viên (GV), hầu hết họ không tìm được biện pháp xử lý thích hợp. Vì vậy, GV thường ít dạy nội dung thực hành này, làm giảm sự hứng khởi của học sinh (HS) khi học kiến thức di truyền học. Do vậy, nghiên cứu này được thực hiện với mục tiêu tìm hiểu các tình huống xuất hiện trong quá trình thực hiện tiêu bản, nghiên cứu các biện pháp xử lý một cách khoa học, hiệu quả (dễ thực hiện, giảm chi phí, giảm thời gian, an toàn), nhưng vẫn đảm bảo mục tiêu dạy học.

Để tiến hành xử lý tình huống khi thực hiện tiêu bản hiển vi tạm thời quan sát đột biến số lượng NST ở thực vật, chúng tôi đã thực hiện: - Khảo sát, phỏng vấn GV phổ thông và các chuyên gia để thu thập nguồn tình huống liên quan đến thí nghiệm; - Nghiên cứu, đề xuất các phương án xử lý, lựa chọn và thực nghiệm các phương án đã chọn; - Lựa chọn quy trình có trong sách giáo khoa làm quy trình chuẩn. Tiến hành cải tiến các bước thực hiện, các công đoạn được thực hiện liên tiếp nhau. Mỗi bước đều bố trí nghiệm thức lặp lại 3 lần. Tiến hành so sánh và đánh giá kết quả; - Biện pháp xử lý tình huống và quy trình cải tiến theo hướng: Đơn giản, dễ thực hiện, an toàn, giảm chi phí, tiết kiệm thời gian, tỉ lệ thành công cao. Tiêu bản hiển vi tạm thời đạt yêu cầu cho dạy học cần đảm bảo các tiêu chí sau: Tế bào dàn đều, NST bắt màu đậm, tế bào chất bắt màu nhạt, có ít nhất 3 tế bào có bộ NST trải đều, quan sát rõ hình thái và số lượng NST [3], [5].

### 2. Nội dung, kết quả nghiên cứu

#### 2.1. Những khó khăn của giáo viên trong khi thực hiện tiêu bản hiển vi tạm thời quan sát đột biến số lượng nhiễm sắc thể

Qua phỏng vấn và điều tra bằng phiếu ở 55 GV môn Sinh học cấp trung học phổ thông trên địa bàn TP. Hồ Chí Minh và Tỉnh Đồng Tháp cho thấy:

- Đa số GV đều cho thấy sự cần thiết phải dạy bài thực hành này bằng cách cho học sinh quan sát đột biến số lượng NST trên tiêu bản cố định (52/55).

- Chỉ có 2/55 GV có thực hiện thí nghiệm thực hành tiêu bản hiển vi đột biến số lượng NST. Những khó khăn gặp phải của các GV như sau:

Không chuẩn bị được mẫu vật: Khoai sọ tam bội, ráy tứ bội (53/55),

Thiếu các hoá chất cần thiết như hướng dẫn của sách giáo khoa (50/55),

Trong 1 tiết học không đủ thời gian để thực hiện thí nghiệm thực hành làm và qua sát tiêu bản đột biến số lượng NST (55/55).

Kết quả này cho thấy cần thiết phải nghiên cứu đổi mới bài thí nghiệm thực hành quan sát tiêu bản hiển vi tạm thời đột biến số lượng NST trong chương trình **Sinh học 12**.

#### 2.2. Các tình huống, biện pháp xử lý khi thực hiện tiêu bản hiển vi đột biến số lượng nhiễm sắc thể ở thực vật

##### 2.2.1. Tình huống, biện pháp xử lý trong khâu chuẩn bị mẫu

Theo quy trình sách giáo khoa, cần trồng khoai môn, khoai sọ hoặc ráy trên cát ẩm để thu hoạch đầu rễ, làm mẫu vật cho quá trình thực hiện tiêu bản. Thực tế khi trồng các loài trên, số lượng đầu rễ thu được rất ít, thời gian trồng từ 5-7 ngày, tốn nhiều chi phí, nhiều củ sau khi trồng không mọc rễ. Bên cạnh đó, việc tìm kiếm và chuẩn bị mẫu khoai môn, khoai sọ tam bội (3n), ráy tứ bội (4n) gây nhiều trở ngại cho công tác chuẩn bị mẫu vật vì các mẫu này không có sẵn trên thị trường [1].

**Biện pháp xử lí:** Thay thế các đối tượng trên bằng hành tím ( $2n=16$ ). Trước khi trồng, nên bóc lớp vỏ lụa bên ngoài, ngâm củ hành trong nước khoảng 2-4 giờ, đem trồng trong cát hoặc đất ẩm. Sau 1-2 ngày xuất hiện nhiều rễ dài từ 1-2cm.

Sử dụng mẫu rễ hành tím ngâm colchicine 0,03% khoảng 24 giờ thay thế cho mẫu khoai môn, khoai sọ tam bội ( $3n$ ), ráy tứ bội ( $4n$ ).

**Cơ sở khoa học:** Hành tím có bộ nhiễm sắc thể tương đối dài, số lượng ít ( $2n=16$ ) thuận lợi cho quá trình quan sát trên tiêu bản. Dễ tìm kiếm, dễ trồng, giá thành rẻ, cho nhiều đầu rễ khi trồng (khoảng 10-30 rễ/củ).

Bóc lớp vỏ lụa và ngâm hành trong nước giúp tăng độ ẩm, kích thích các tế bào phân chia.

### 2.2.2. Tình huống trong khâu lựa chọn mẫu vật, pha chế, sử dụng hóa chất

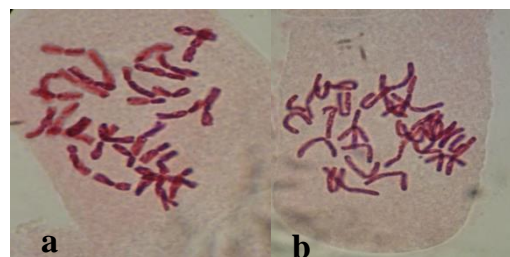
Việc tìm kiếm và chuẩn bị mẫu khoai môn, khoai sọ tam bội ( $3n$ ), ráy tứ bội ( $4n$ ) gây nhiều trở ngại cho GV và người học vì hầu như không có trên thị trường.

Một phương pháp khác thường được sử dụng để quan sát bộ NST lưỡng bội hoặc tự đa bội đó là việc sử dụng colchicine từ 0,02% - 0,05% để ngâm mẫu từ 1 giờ 30 phút đến 3 giờ; hoặc ngâm đầu rễ trong colchicine trong 24 giờ để quan sát hiện tượng đa bội hoá ( $4n$ ) của tế bào. GV thường không chuẩn bị được mẫu theo phương pháp này vì colchicine là hóa chất đắt tiền, ít phổ biến [1], [6],[7],[8].

**Biện pháp xử lí:** Sử dụng colchicine có sẵn trong 1 loại thuốc trị bệnh gout hiện nay trên thị trường, với nồng độ 1mg/viên (sản phẩm của công ty Stada-VN J.V.Co., Ltd - sản xuất tại Việt Nam), có giá thành rẻ, tương đối an toàn và phổ biến; cách pha như sau: lấy 3 viên nghiền nát, cho nước cất đến 100ml, hòa tan, lọc với giấy lọc và bảo quản nơi thoáng mát, thu được dung dịch colchicine 0,03%.

**Bảng 1. Tỷ lệ tế bào tứ bội hóa ( $4n$ ) trong 1 tiêu bản khi sử dụng 2 loại colchicine**

Hóa chất	Nồng độ colchicine		
	0,01%	0,02%	0,03%
Colchicine tinh khiết (Ấn Độ)	16,20±3,23	27,00±4,52	38,60±4,37
Colchicine trong thuốc (1mg/viên)	14,20±3,57	23,00±3,52	36,10±3,95



**Hình 1. Tế bào rễ hành tím ( $4n = 32$ ) khi xử lí với colchicine tinh khiết (a) và viên thuốc chứa colchicine (b) trong 24 giờ (X1.000)**

**Cơ sở khoa học:** Trong mỗi viên thuốc nén trị bệnh gout chứa 1mg colchicine nguyên chất và tá dược vừa đủ, nếu đem nghiền, pha loãng với nước, lọc kĩ để loại bỏ tạp chất, sẽ thu được dung dịch colchicine có tác dụng tương tự như colchicine tinh khiết.

### 2.2.3. Tình huống trong thao tác thực hiện tiêu bản

Theo quy trình sách giáo khoa, đun cách thủy rễ trong dung dịch thuốc nhuộm orcein acetic 4-5% tới khi mẫu rễ mềm; lấy 1-2 mẫu chóp rễ dài 2-3mm đưa lên phiến kính; nhỏ thêm 1 giọt thuốc nhuộm orcein acetic 4-5% lên mẫu; đặt lá kính lên mẫu sau đó đặt miếng giấy lọc lên trên rồi ấn nhẹ cho nhiễm sắc thể bung đều [1].

Trong thao tác đun cách thủy mẫu rễ, xuất hiện tình huống mẫu thường xuyên bị hư, do nhiệt độ cao hoặc thời gian đun quá lâu khiến thí nghiệm không thành công.

**Biện pháp xử lí:** Xử lí tình huống trên bằng việc ngâm rễ trong HCl 2N khoảng 5 phút thay cho thao tác đun cách thủy. Ngâm HCl giúp mẫu rễ mềm vừa phải, tế bào đàn đều và NST trải đều trên phiến kính khi tiến hành thao tác ép, tỉ lệ thành công cao.

**Bảng 2. Ảnh hưởng của nồng độ HCl trong việc làm mềm rễ**

Thang nồng độ HCl (Thời gian ngâm 5 phút)	Mô tả
HCl 1N	Mẫu rễ còn cứng, khi ép các tế bào chưa dàn đều, khó quan sát các kì của nguyên phân
HCl 1,5N	Mẫu rễ tương đối mềm, phải dùng lực ép mạnh nhưng các tế bào vẫn chưa dàn đều thành 1 lớp
HCl 2N	Mẫu rễ mềm hoàn toàn, dễ dàn đều tế bào thành 1 lớp

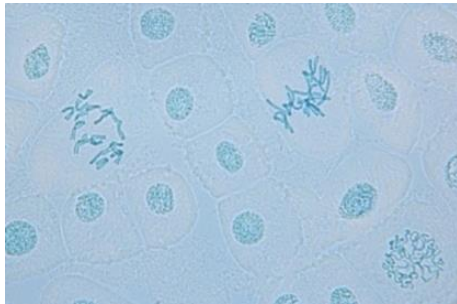
**Cơ sở khoa học:** Việc sử dụng HCl ngâm mẫu rễ với nồng độ và thời gian thích hợp giúp thủy phân vách tế bào, tạo điều kiện thuận lợi cho thao tác ép mẫu, dàn đều tế bào trên lam kính.

2.2.4. *Tình huống trong việc sử dụng hóa chất nhuộm*

Hóa chất nhuộm được sách giáo khoa đề xuất gồm orcein acetic 4-5% hoặc carmine acetic 4-5%. Các loại hóa chất nhuộm này có giá thành cao, khó pha chế, ít phổ biến. Chưa có nhiều nghiên cứu trong việc tìm kiếm thuốc nhuộm thay thế phù hợp hơn. Vì vậy, GV thường gặp khó khăn trong công đoạn này, ảnh hưởng đến kết quả bài dạy [1].

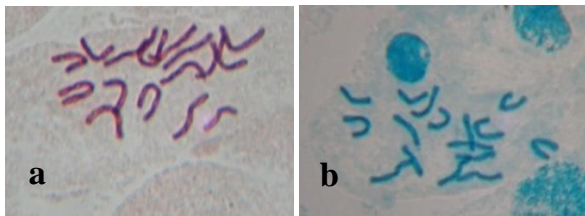
*Biện pháp xử lí:* Đề tài đã nghiên cứu đề xuất thay thế các loại thuốc nhuộm trên bằng xanh methylene, là loại thuốc nhuộm rất phổ biến, giá thành rẻ, dễ pha chế và bảo quản. Quá trình chuẩn bị hóa chất nhuộm xanh methylene rất đơn giản: pha xanh methylene 1% trong dung dịch acid acetic 10%; đem lọc qua giấy lọc và bảo quản trong lọ màu nơi thoáng mát [2], [3], [6].

Kết quả thực nghiệm cho thấy, nhuộm nhiễm sắc thể tế bào rễ hành tím bằng xanh methylene 1% trong 3 phút, rửa mẫu trong acid acetic 5% trong vài giây, lên kính bằng một giọt acid acetic 5%. Quan sát tiêu bản trên kính hiển vi ở độ phóng đại 400 lần, nhiễm sắc thể bắt màu xanh đậm và có độ tương phản cao với tế bào chất (xem hình 2).



Hình 2. Tiêu bản bộ NST ở hành tím ( $2n=16$ ) nhuộm bằng xanh methylene 1% (X400)

*Cơ sở khoa học:* Xanh methylene thường được sử dụng để nhuộm nhân tế bào. Phân tử này sẽ thâm qua màng tế bào, bị gài xoắn, tương tác với ADN, giúp NST hiện màu khi quan sát trên kính hiển vi.

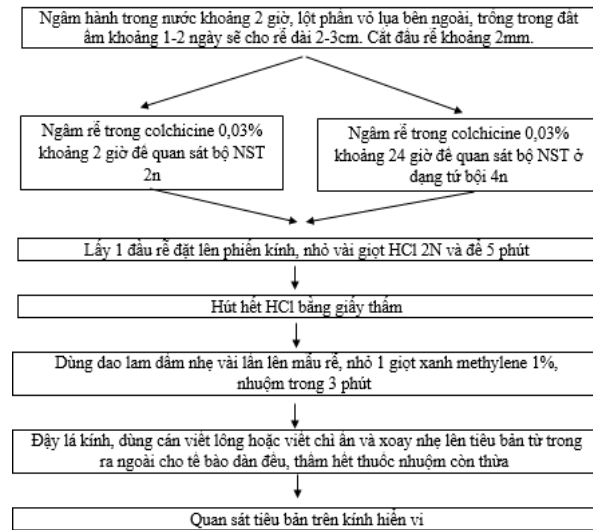


Hình 3. Tiêu bản bộ NST của hành tím nhuộm orcein acetic 2% (a) và nhuộm xanh methylene 1% (b) (X400)

2.3. *Quy trình thực hiện tiêu bản hiển vi tạm thời quan sát đột biến số lượng nhiễm sắc thể ở thực vật sau cải tiến*

Qua việc nghiên cứu các biện pháp xử lí tình huống thực tế trong quá trình thực hiện tiêu bản, quy trình sau

cải tiến (hình 4) được đề xuất nhằm hệ thống lại các bước thực hiện, gia tăng tỉ lệ thành công [2], [3], [4], [5].



Hình 4. Sơ đồ quy trình thực hiện tiêu bản hiển vi để quan sát đột biến số lượng NST ở hành tím đã cải tiến

Trong quá trình nghiên cứu và vận dụng các biện pháp xử lí tình huống, kết quả thực nghiệm cho thấy, quy trình sau cải tiến có tỉ lệ tiêu bản đạt yêu cầu cao hơn (bảng 3), thời gian chuẩn bị và thực hiện tiêu bản được rút ngắn, các thao tác thực hiện đơn giản hơn, tiết kiệm chi phí.

Bảng 3. So sánh quy trình chuẩn (sách giáo khoa) và quy trình sau cải tiến

Nội dung	Quy trình chuẩn (sách giáo khoa)	Quy trình cải tiến
Thời gian pha hóa chất nhuộm	26 giờ	1 giờ
Thời gian thực hiện tiêu bản	10 phút	10 phút
Hóa chất sử dụng (cho khoảng 30 mẫu rễ)	10 ml orcein acetic 4% 50ml dung dịch carnoy (3 phần cồn 90 độ: 1 phần acid acetic đặc) 50ml cồn 70 độ 100ml acid acetic 45% Colchicine tinh khiết (giá thành cao, khó tìm)	2 ml xanh methylene 1% 2 ml HCl 2N 120 ml acid acetic 5% Colchicine trong viên thuốc trị gout (giá thành rẻ, dễ tìm)

Chất lượng tiêu bản	Chất lượng tiêu bản không đồng đều. Tế bào dễ bị biến dạng khi đun quá nóng, khó quan sát số lượng và hình thái NST	Chất lượng tiêu bản đồng đều. Bộ NST dần đều trong tế bào, có thể quan sát hình thái, số lượng NST ở dạng 2n hoặc 4n
Kinh phí thực hiện	Lớn	Nhỏ

### 3. Kết luận

Đề tài đã nghiên cứu các tình huống thực tiễn xuất hiện trong quá trình thực hiện tiêu bản hiển vi tạm thời quan sát đột biến NST ở thực vật, đề xuất các biện pháp xử lý tình huống hiệu quả, dựa trên cơ sở khoa học. Việc hệ thống lại các tình huống trong thí nghiệm sẽ là tài liệu tham khảo hữu ích cho GV phổ thông khi dạy học thực hành thí nghiệm, góp phần tạo động lực cho việc triển khai có kết quả các bài thực hành trong chương trình Sinh học cấp Trung học phổ thông. Đề tài nghiên cứu thành công quy trình cải tiến với các tiêu chí: đơn giản, dễ thực hiện, tiết kiệm chi phí, thời gian thực hiện sẽ giúp GV, HS chủ động hơn trong các tiết thực hành thí nghiệm. Góp phần đổi mới và nâng cao chất lượng dạy học bộ môn Sinh học.

#### Tài liệu tham khảo

- [1] Bộ GD-ĐT (2008). *Sinh học 12 (nâng cao)*. NXB Giáo dục.
- [2] Darlington, C. D. - L. F. La Cour (1942). *The Handling of chromosomes*. Allen and Unwin, London.
- [3] Lê Minh Đức - Đặng Thị Ngọc Thanh (2013). *Thực hiện tiêu bản hiển vi bộ nhiễm sắc thể của Châu chấu (*Oxya chinensis*) nhằm nâng cao chất lượng dạy học các bài thực hành Di truyền học - chương trình Sinh học Phổ thông*. Tạp chí Giáo dục, số 350, tr 48-50.
- [4] Phan Thị Hoan - Trần Thị Thanh Hương - Hoàng Thị Ngọc Lan - Trần Đức Phần - Nguyễn Văn Rục - Nguyễn Thị Trang - Lương Thị Lan Anh (2006). *Thực tập di truyền y học*. NXB Y học.
- [5] Huỳnh Thị Ngọc Nhân - Kiều Ngọc Ân - Mai Thị Tuyết (2004). *Thực tập di truyền cơ sở*. NXB Đại học Quốc gia TP. Hồ Chí Minh.
- [6] Ostergren, G. and W. K. Heneen (1962). *A squash technique for chromosome morphological studies*. Institute of Genetics, University of Lund, Sweden.
- [7] Đào Như Phú (1998). *Thí nghiệm thực hành Sinh học ở trường phổ thông trung học*. NXB Giáo dục.
- [8] Phạm Thị Minh Phương - Yosuke Tashiro (2010). *Study on diversity and chromosome numbers of edible allium crops in Viet Nam*. Ha Noi university of Agriculture.

### KĨ NĂNG CẢM THỤ VĂN HỌC...

(Tiếp theo trang 21)

Việc xây dựng hình tượng của nhà thơ vô cùng độc đáo, trái với logic thông thường của đời sống và văn chương. Trong đời sống, non - núi thường mang đặc điểm bền vững, cao lớn, hùng vĩ, cứng cỏi; nước mang đặc điểm mềm mại, nhẹ nhàng. Đi vào văn học, non thường biểu tượng cho người đàn ông, nước biểu tượng cho người phụ nữ như trong câu ca dao: *Công cha như núi Thái Sơn/Nghĩa mẹ như nước trong nguồn chảy ra*.

Như thế, nếu chú ý nắm bắt, phân tích được bản chất của hình tượng nghệ thuật do nhà văn sáng tạo, sẽ có cơ hội để hiểu sâu ý đồ của tác giả, mở rộng so sánh để rút ra những nét sáng tạo riêng, tương đồng hay khác biệt với các tác giả, hình tượng nghệ thuật khác. Phân tích hình tượng nghệ thuật phải nhận thức được cái riêng độc đáo và cái chung mang tính cộng hưởng của hình tượng. Là sản phẩm của trí tưởng tượng nhà văn, hình tượng nghệ thuật thể hiện rõ nét cá tính tác giả (vùng thâm mĩ, ngôn từ, bút pháp...). Đồng thời hình tượng phải có tính điển hình, khái quát cho một bộ phận, một số đồng trong xã hội. Trong bài *Sang thu*, hình tượng mùa thu mang những nét đặc trưng của cảnh vật: hương ổi chín, heo may se lạnh, dòng sông mùa lũ, cánh chim di cư nhưng vẫn mang nét riêng của ngòi bút Hữu Thỉnh: những tín hiệu mơ hồ của cảnh vật giao mùa, sự liên tưởng đến mùa thu của cuộc đời...

### 3. Kết luận

Nếu có KN cảm thụ văn học tốt cộng với năng lực tích hợp - tích hợp văn học với ngôn ngữ, văn học với văn hóa, văn học với các ngành khoa học khác, văn học với cuộc đời..., chắc chắn giáo viên dạy văn qua môn học *Ngữ văn* sẽ "... giúp học sinh hình thành và phát triển năng lực giao tiếp, năng lực tư duy sáng tạo, năng lực thâm mĩ, năng lực cảm thụ văn học và những phẩm chất tốt đẹp, những quan niệm sống và phép ứng xử nhân văn; giúp học sinh nhận biết được ngôn ngữ là phương tiện giao tiếp quan trọng và phương tiện tư duy của con người, là công cụ để học tốt tất cả các môn học; văn học là loại hình nghệ thuật ngôn từ phản ánh đời sống, xã hội và con người; từ đó có ý thức trau dồi ngôn ngữ, nuôi dưỡng hứng thú đọc sách và khám phá tác phẩm văn học" [3].

#### Tài liệu tham khảo

- [1] Bùi Minh Toán (2014). *Ngôn ngữ với văn chương*. NXB Giáo dục Việt Nam.
- [2] Nguyễn Thanh Hùng (2011). *Kĩ năng đọc hiểu văn*. NXB Đại học Sư phạm.
- [3] Bộ GD-ĐT (2015). *Chương trình giáo dục phổ thông (chương trình tổng thể)*. Tháng 7/2015 (tài liệu lưu hành nội bộ, chưa phổ biến).
- [4] Nguyễn Thanh Hùng (2003). *Hiểu văn dạy văn*. NXB Giáo dục.
- [5] Phạm Thị Thu Hương (2012). *Đọc hiểu và chiến thuật đọc hiểu văn bản trong nhà trường phổ thông*. NXB Đại học Sư phạm.