

TRƯỜNG ĐẠI HỌC SƯ PHẠM HÀ NỘI



ĐỖ ĐỨC QUẾ

**NGHIÊN CỨU ĐA DẠNG VÀ ĐẶC ĐIỂM SINH HỌC
ỦA NẤM TỬ HỌ XYLARIACEAE Ở MƯỜNG PHẪNG
- ĐIỆN BIÊN VÀ CÚC PHƯƠNG - NINH BÌNH**

Chuyên ngành: Vi sinh vật học

Mã số: 62.42.01.07

LUẬN ÁN TIẾN SĨ SINH HỌC

Người hướng dẫn khoa học: **1. PGS. TS. VƯƠNG TRỌNG HÀO
2. TS. DƯƠNG MINH LAM**

HÀ NỘI - 2014

LỜI CAM ĐOAN

Tôi xin cam đoan đây là công trình nghiên cứu của riêng tôi. Các số liệu, kết quả nêu trong luận án là trung thực và chưa từng được ai công bố trong bất kỳ công trình nào khác.

Tác giả luận án

Đỗ Đức Quế

LỜI CẢM ƠN

Tôi xin chân thành gửi lời cảm ơn sâu sắc đến:

PGS.TS. Vương Trọng Hào người thầy đã dìu dắt tôi những bước đi đầu tiên trong con đường nghiên cứu khoa học, thầy đã luôn động viên chia sẻ những lúc tôi khó khăn nhất trong cuộc sống và tạo những điều kiện tốt nhất để tôi tiến hành những nghiên cứu trong luận án.

TS. Dương Minh Lam người thầy đã truyền đạt cho tôi những kiến thức và kinh nghiệm quý báu về phân loại nấm, thầy luôn chỉ bảo tận tình theo dõi sát tiến độ. Đồng thời thầy cũng tạo điều kiện tốt nhất về cơ sở vật chất và kinh phí cho tôi thực hiện đề tài.

GS.TS. Nguyễn Thành Đạt, GS.TS. Phạm Thị Thùy, GS.TSKH. Trịnh Tam Kiệt, PGS.TS. Đặng Ngọc Quang, TS. Trần Thị Thúy, TS. Phan Duệ Thanh, TS. Đoàn Văn Thước những người thầy đã truyền đạt kiến thức cho tôi về lĩnh vực Vi sinh vật, Nấm học, Hợp chất thiên nhiên. Đồng thời các thầy tham gia góp ý cho tôi từ xây dựng đề cương đến quá trình thực hiện luận án và giúp đỡ tôi hoàn thành các chuyên đề tiến sĩ, cũng như các seminar khoa học ở Bộ môn.

Ths. Tống Thị Mơ, Ths. Trần Hữu Phong, CN. Phạm Thị Hồng Hoa, CN. Phạm Thị Vân đã tạo điều kiện thực nghiệm tốt nhất và hỗ trợ kỹ thuật trong suốt quá trình thực hiện đề tài.

Ban quản lý rừng nguyên sinh Mường Phăng – Điện Biên và vườn quốc gia Cúc Phương - Ninh Bình đã tạo điều kiện thuận lợi cho tôi tiến hành thu mẫu.

Ban lãnh đạo Sở Giáo dục và Đào tạo tỉnh Phú Thọ, Ban Giám hiệu và tập thể giáo viên trường THPT Thạch Kiệt đã tạo mọi điều kiện về kinh phí, thời gian và luôn động viên khích lệ tôi trong quá trình học tập.

Ban Giám Hiệu, Phòng quản lý Sau đại học, Ban chủ nhiệm Khoa Sinh học Trường ĐHSP Hà Nội đã động viên và tạo những điều kiện thuận lợi cho tôi trong suốt quá trình học tập và nghiên cứu.

Quỹ phát triển khoa học và công nghệ quốc gia (Nafosted) đã hỗ trợ đề tài mã số 106.07-2011.57 kinh phí cho tôi thực hiện một phần nội dung trong luận án này.

Đặc biệt, tôi xin chân thành cảm ơn gia đình đã dành tình yêu thương, ủng hộ động viên và tạo mọi điều kiện cho tôi hoàn thành luận án.

Hà Nội, Ngày ... tháng ... năm 2014

NGHIÊN CỨU SINH

Deleted: 20

Deleted: 02

Đỗ Đức Quế

DANH MỤC CÁC KÍ HIỆU, CÁC CHỮ VIẾT TẮT

Kí hiệu	Diễn giải
bp	base pair (cặp bazơ)
Cd	Concentration of dominance (chỉ số mức độ chiếm ưu thế)
cs	cộng sự
CTAB	Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide
DMAP	Dimethylaminopyridine
DMSO	Dimethyl sulfoxide
ĐHSP	Đại học Sư phạm
EDTA	Ethylene Diamine Tetra Acetate
FBS	Fetal Bovine Serum (Huyết thanh thai bò)
GPS	Global Positioning System (hệ thống định vị)
HepG2	Hepatocellular carcinoma (ung thư gan ở người)
HIV	Human immunodeficiency virus (vi rút gây suy giảm miễn dịch ở người)
HPLC	High Performance Liquid Chromatography (Sắc ký lỏng hiệu năng cao)
ITS	Internal transcribed spacer
IU	International unit (đơn vị quốc tế)
Lu	Human lung carcinoma (ung thư phổi ở người)
MCF7	Human breast carcinoma (ung thư vú ở người)
MHA	Mueller-Hinton Agar (môi trường MHA)
MHB	Mueller-Hinton Broth (môi trường MHB)
MTT	Methylthiazolyldiphenyl-tetrazolium bromide
NCBI	National Center for Biotechnology Information
NMR	Nuclear magnetic resonance (cộng hưởng từ hạt nhân)
kb	kilo base

kda	kilo dalton
KB	Human epidermic carcinoma (ung thư biểu mô ở người)
KVNC	Khu vực nghiên cứu
OD	Optical density (mật độ quang)
PCR	Polymerase chain reaction
PDA	Potato dextrose agar (môi trường PDA)
SI	Index of similarity hay Sorensen's Index
STT	Số thứ tự
TAE	Tris acetic acid EDTA buffer (dung dịch đệm TAE)
Taxon	Đơn vị phân loại bao gồm (loài, thứ, loài chưa định tên)
TCA	Trichloroacetic acid
TE	Tris EDTA buffer (dung dịch đệm TE)
TSA	Tryptic Soy Agar (môi trường TSA)
TSB	Tryptic Soy Broth (môi trường TSB)
RNS	Rừng nguyên sinh
VQG	Vườn quốc gia

MỤC LỤC

MỞ ĐẦU	1
1. Lý do chọn đề tài	1
2. Mục đích của đề tài	2
3. Nội dung nghiên cứu	2
4. Đối tượng và phạm vi nghiên cứu	2
5. Ý nghĩa khoa học và thực tiễn của đề tài	3
6. Những đóng góp mới.....	3
Chương 1: TỔNG QUAN TÀI LIỆU	5
1.1. Vị trí nấm túi họ Xylariaceae trong hệ thống phân loại và đặc điểm hình thái của chúng	5
<i>1.1.1. Vị trí họ Xylariaceae trong hệ thống phân loại nấm</i>	5
<i>1.1.2. Đặc điểm hình thái nấm túi họ Xylariaceae</i>	7
1.1.2.1. Chất nền (Stromata)	7
1.1.2.2. Thê quả (Perithecia).....	8
1.1.2.3. Lỗ miệng (Ostioles)	9
1.1.2.4. Túi bào tử (Asci).....	10
1.1.2.5. Bào tử túi (Ascospores).....	12
1.1.2.6. Hình thức sinh sản vô tính (Anamorph).....	14
1.2. Tình hình nghiên cứu nấm túi họ Xylariaceae	15
<i>1.2.1. Trên thế giới</i>	15
1.2.1.1 Hệ thống phân loại	15
1.2.1.2. Đa dạng về thành phần loài.....	21
1.2.1.3. Mối quan hệ di truyền của các chi, loài trong họ Xylariaceae.....	25
1.2.1.4. Các hợp chất hóa học được tách chiết từ nấm túi họ Xylariaceae	28
1.2.1.5. Hoạt tính sinh học từ nấm túi họ Xylariaceae	32
<i>1.2.2. Ở Việt Nam</i>	36
1.3. Đặc điểm khu vực nghiên cứu	41
<i>1.3.1. Rừng nguyên sinh Mùòng Phăng</i>	41
<i>1.3.2. Vườn Quốc gia Cúc Phương</i>	43

Chương 2: ĐỊA ĐIỂM, THỜI GIAN, VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU	45
2.1. Địa điểm, thời gian và vật liệu nghiên cứu	45
2.1.1. Địa điểm và sinh cảnh của KVNC.....	45
2.1.2. Thời gian nghiên cứu	45
2.1.3. Vật liệu nghiên cứu	48
2.1.3.1. Mẫu nghiên cứu	48
2.1.3.2. Các dòng tế bào.....	48
2.1.3.3. Vi sinh vật.....	48
2.1.3.4. Hóa chất.....	48
2.1.3.5. Thiết bị.....	49
2.1.3.6. Môi trường.....	50
2.2. Phương pháp nghiên cứu	50
2.2.1. Phương pháp vi sinh	50
2.2.1.1. Thu thập và xử lý mẫu	50
2.2.1.2. Phương pháp phân lập nấm.....	51
2.2.1.3. Bảo quản các chủng nấm phân lập được	51
2.2.1.4. Phương pháp phân tích đặc điểm hình thái, định loại mẫu.....	52
2.2.1.5. Hoạt tính kháng vi sinh vật kiểm định của các hợp chất hóa học	53
2.2.1.6. Hoạt tính gây độc tế bào của các hợp chất hóa học.....	54
2.2.2. Sinh học phân tử.....	55
2.2.2.1. Tách chiết ADN.....	55
2.2.2.2. Phản ứng PCR.....	56
2.2.2.3. Phân tích trình tự ADN	56
2.2.3. Phương pháp hóa sinh	57
2.2.3.1. Phương pháp tách chiết các chất	57
2.2.3.2. Phương pháp xác định cấu trúc hóa học.....	57
2.2.4. Phương pháp toán học	57
2.2.4.1. Độ phong phú loài	57

2.2.4.2. Chỉ số đa dạng sinh học loài H' (Shannon and Weiner's Index).....	58
2.2.4.3. Chỉ số mức độ chiếm ưu thế hay còn gọi là chỉ số Simpson, (Concentration of Dominance-Cd)	58
2.2.4.4. Chỉ số tương đồng (Index of similarity hay Sorensen's Index- SI.....)	58
Chương 3: KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN	59
3.1. Thành phần loài nấm túi họ Xylariaceae ở KVNC	59
3.1.1. <i>Nhận xét chung về đặc điểm hình thái và cấu trúc hiển vi của nấm túi họ Xylariaceae ở KVNC</i>	59
3.1.1.1. Chất nền.....	59
3.1.1.2. Thể quả	61
3.1.1.3. Lỗ miệng.....	61
3.1.1.4. Túi bào tử và đỉnh túi bào tử	62
3.1.1.5. Bào tử túi	63
3.1.2. <i>Danh lục các loài trong họ Xylariaceae ở KVNC</i>	65
3.1.3. <i>Ghi nhận mới cho khu hệ nấm Việt Nam</i>	70
3.1.4. <i>Trình tự mới cho khoa học</i>	Error! Bookmark not defined.
3.2. Đa dạng sinh học nấm túi họ Xylariaceae ở KVNC	74
3.2.1. <i>Đa dạng về thành phần loài</i>	74
3.2.2. <i>Đa dạng sinh học loài</i>	79
3.2.3. <i>Đa dạng sinh học theo KVNC</i>	81
3.2.4. <i>Đa dạng theo mùa</i>	84
3.2.5. <i>Đa dạng về các yếu tố địa lý của nấm họ Xylariaceae ở KVNC</i>	85
3.2.5.1. Các loài phân bố toàn cầu	86
3.2.5.2. Các loài nhiệt đới	87
3.2.5.3. Các loài ôn đới	89
3.2.6. <i>Phương thức sống của nấm túi họ Xylariaceae ở KVNC</i>	90
3.3. Mối quan hệ di truyền của các loài nấm túi họ Xylariaceae ở KVNC	91
3.3.1. <i>Mối quan hệ di truyền giữa các taxon trong họ Xylariaceae ở KVNC</i>	91
3.3.2. <i>Mối quan hệ di truyền của các taxon trong chi Annulohypoxyton</i>	95

Deleted: 71

3.3.3. Mối quan hệ di truyền của các taxon trong chi <i>Biscogniauxia</i>	98
3.3.4. Mối quan hệ di truyền của các taxon thuộc chi <i>Daldinia</i>	100
3.3.5. Mối quan hệ di truyền của các taxon thuộc chi <i>Hypoxylon</i>	102
3.3.6. Mối quan hệ di truyền của các taxon trong chi <i>Kretzschmaria</i>	105
3.3.7. Mối quan hệ di truyền của các taxon trong chi <i>Nemania</i>	107
3.3.8. Mối quan hệ di truyền của các taxon trong chi <i>Rosellinia</i>	109
3.3.9. Mối quan hệ di truyền của các taxon trong chi <i>Xylaria</i>	110
3.4. Cấu trúc hóa học và hoạt tính sinh học của các hợp chất được tách từ thể quả ở một số loài nấm túi họ Xylariaceae	115
3.4.1. Cấu trúc hóa học của các hợp chất thu được từ thể quả nấm túi họ Xylariaceae.....	115
3.4.1.1. Loài <i>Biscogniauxia philippinensis</i>	115
3.4.1.2. Loài <i>Daldinia concentrica</i>	116
3.4.1.3. Loài <i>Xylaria atrosphaerica</i>	116
3.4.1.4. Loài <i>Xylaria schweinitzii</i>	117
3.4.2. Hoạt tính sinh học của các chất hóa học tách từ thể quả.....	118
3.4.2.1. Hoạt tính gây độc tế bào.....	118
3.4.2.2. Hoạt tính kháng khuẩn.....	119
KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ	121
DANH MỤC CÁC CÔNG TRÌNH LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN ÁN	123
TÀI LIỆU THAM KHẢO	124
PHỤ LỤC	1 PL