

Phương pháp thu thập, xử lý và bảo quản mẫu vật côn trùng ở ngoài thực địa và trong phòng thí nghiệm

The methodologies of collection, preparation and preservation of insect specimens in fields and in laboratories

Bùi Anh Phong^{a,b}, Phan Quốc Toàn^{a,b*}, Ngô Quốc Phú^{a,b}
Bui Anh Phong^{a,b}, Phan Quoc Toan^{a,b*}, Ngo Quoc Phu^{a,b}

^aTrung tâm Côn trùng - Ký sinh trùng, Trường Y - Dược, Đại học Duy Tân, Đà Nẵng, Việt Nam.

^bKhoa Y, Trường Y - Dược, Đại học Duy Tân, Đà Nẵng, Việt Nam

^aCenter for Entomology & Parasitology Research, College of Medicine & Pharmacy, Duy Tan University, 550000, Vietnam.

^bFaculty of Medicine, College of Medicine & Pharmacy, Duy Tan University, 550000, Vietnam

(Ngày nhận bài: 16/12/2020, ngày phản biện xong: 27/12/2020, ngày chấp nhận đăng: 18/02/2021)

Tóm tắt

Nghiên cứu này giới thiệu những phương pháp thu thập, xử lý và bảo quản mẫu vật côn trùng ngoài thực địa cũng như trong phòng thí nghiệm, theo tiêu chuẩn thế giới và được sử dụng phổ biến rộng rãi. Tùy thuộc vào tập tính sinh thái học, môi trường sống, kích thước và đặc điểm cấu tạo của mỗi nhóm côn trùng thì sử dụng các phương pháp khác nhau. Bộ sưu tập mẫu vật côn trùng học trong các bảo tàng và trường đại học là nguồn tài liệu tham khảo có giá trị, rất cần thiết cho những nghiên cứu trong các ngành khoa học khác nhau như phân loại học, hệ thống học, các mối quan hệ tiến hóa, các quá trình tiến hóa, địa sinh vật, sinh thái, biến đổi khí hậu, ô nhiễm môi trường và các vấn đề thực tiễn trong nông nghiệp, y học, văn hóa, nhân học... Bên cạnh đó, các bộ sưu tập mẫu vật cũng góp phần trong hoạt động hợp tác quốc tế, giảng dạy và tham quan triển lãm, cho người dân địa phương.

Từ khóa: Côn trùng; phương pháp; thu thập; xử lý mẫu vật; bảo quản khô; bảo quản lỏng.

Abstract

This study presents the standard methodologies for collecting, preparing and preserving insect specimens in fields and in laboratories. We use different methodologies to collect and preserve insects depending on their ecological behavior, habitat, body size, and morphological characters. Entomological collections in museums and universities are the fundamental reference materials that document the locality's biological diversity and essential for researches in the science of systematics, classification, taxonomy, evolutionary relationships, evolutionary processes, geobiology, ecology, climate change, environmental pollution, agriculture, medicine, culture or anthropology, etc. In addition, the entomological collections are also important in international cooperation, educational activities and conducting exhibition for local people.

Keywords: Insect; methodology; collect; preparation; dried preservation; liquid preservation.

* Corresponding Author: Phan Quoc Toan; Center for Entomology & Parasitology Research, College of Medicine & Pharmacy, Duy Tan University, 550000, Da Nang; Faculty of Medicine, Duy Tan University, Da Nang, 550000, Vietnam.

Email: pqtoan84@gmail.com

1. Giới thiệu

Côn trùng là nhóm động vật không xương sống có số lượng loài đa dạng nhất trên hành tinh (ước tính có khoảng 3 đến 80 triệu loài [3]) và đóng vai trò rất quan trọng trong sinh giới cũng như đối với đời sống con người. Côn trùng học (Entomology) là một lĩnh vực khoa học cực kỳ quan trọng và thiết yếu, nhằm giúp chúng ta hiểu biết đầy đủ hơn về các đặc điểm sinh học, sinh thái học, đặc tính của các loài côn trùng để từ đó có thể ứng dụng vào trong các lĩnh vực đời sống con người.

Để nghiên cứu côn trùng một cách đầy đủ thì cần thiết phải tiến hành thu thập mẫu vật của chúng nhằm phục vụ cho quá trình phân tích, nghiên cứu một cách tỉ mỉ, chi tiết. Mẫu vật nếu không được thu thập, xử lý và bảo quản đúng cách sẽ gây những khó khăn nhất định cho quá trình nghiên cứu sau này và có thể trở nên vô giá trị. Để có được một bộ mẫu vật có chất lượng thì chúng ta cần phải thực hiện thu thập mẫu vật ngoài thực địa và tiến hành xử lý ngay tại chỗ, sau đó mẫu vật sẽ được đưa về phòng thí nghiệm để tiếp tục xử lý và lưu trữ. Tuy nhiên, mỗi nhóm côn trùng có một sinh cảnh sống, tập tính sinh thái học cũng như có kích thước, cấu tạo cơ thể khác nhau, do đó cần thiết phải sử dụng các phương pháp thu thập, xử lý và bảo quản khác nhau.

Một bộ mẫu vật được thu thập, xử lý theo đúng tiêu chuẩn sẽ mang lại những giá trị to lớn về mặt khoa học cũng như thực tiễn. Về mặt khoa học, bộ mẫu vật sẽ là những cơ sở dữ liệu khoa học quan trọng phục vụ nghiên cứu các vấn đề cơ bản của sinh học thuộc các lĩnh vực khác nhau như tiến hóa, địa sinh vật, sinh thái, biến đổi khí hậu, ô nhiễm môi trường và cả các vấn đề thực tiễn trong nông nghiệp, y học, văn hóa, nhân học. Về thực tiễn, bộ mẫu vật là một kho dữ liệu khoa học lớn về các loài sinh vật hiện có trong khu vực và trong nước, giúp các nhà nghiên cứu trong và ngoài nước đến tham

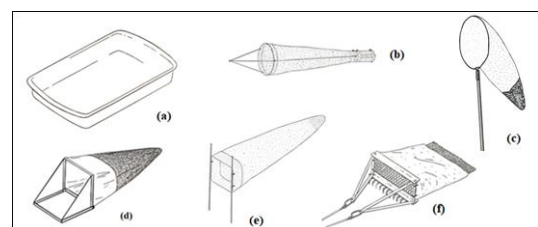
quan, học tập, trao đổi kinh nghiệm. Đồng thời, nó phục vụ tốt cho công việc giảng dạy, đào tạo và tham quan, góp phần nâng cao nhận thức của người dân về các giá trị to lớn của sinh vật nói chung và côn trùng nói riêng đối với đời sống con người.

2. Phương pháp thu thập, xử lý và bảo quản mẫu vật ngoài thực địa

2.1. Nhóm côn trùng thủy sinh (Aquatic insects)

Đối tượng: Là các nhóm côn trùng có đời sống hoàn toàn dưới nước như Nhện nước (Gerridae), nhiều loài thuộc bộ Hai cánh (Diptera), Bộ cánh cứng (Coleoptera)... hoặc những loài côn trùng có giai đoạn ấu trùng sống dưới nước như Chuồn chuồn (Odonata), Muỗi (Culicidae), Cánh rộng (Megaloptera), Hai cánh (Diptera), Cánh nửa (Hemiptera), Cánh lông (Trichoptera), Phù du (Ephemeroptera)...

Phương pháp thu mẫu: Sử dụng các loại lưới để thu mẫu ở hai khu vực nước đứng và nước chảy, bằng cách đặt vợt hoặc lưới ngược dòng chảy rồi dùng chân khuấy nhẹ nền đáy phía trên một lúc để cho côn trùng nước sống bám ở dưới đáy trôi lên, theo dòng chảy di chuyển vào trong lưới. Ở những vị trí có bụi cây thủy sinh và các rễ cây ven bờ suối thì dùng vợt có cán dài sục vào. Đối với những loài sống dưới nền đáy có đá lớn thì nhấc đá lên và dùng panh gắp mẫu một cách nhẹ nhàng.



Hình 1. Một số dụng cụ thu thập côn trùng thủy sinh:

- (a): Khay đựng mẫu; (b): Lưới kéo sinh vật phù du; (c): Vợt lưới cầm tay; (d): Lưới Surber; (e): Lưới trôi; (f): Lưới nạo vét [4].

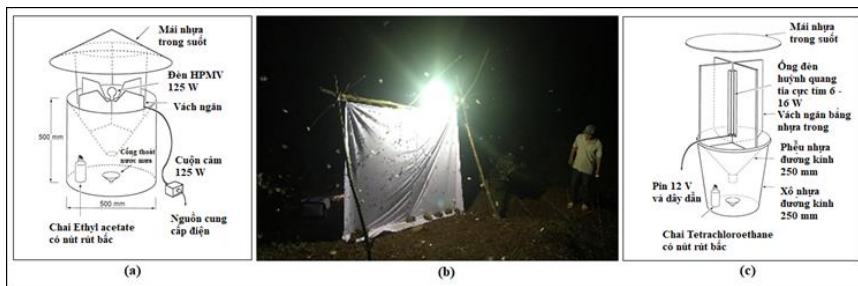
Phương pháp bảo quản: Mẫu vật thu được cho vào lọ nhựa hoặc ống nhựa có chứa sẵn dung dịch cồn ethanol 80% giúp cố định mẫu. Nếu nồng độ

còn quá thấp mẫu dễ bị phân hủy, nhưng với nồng độ quá cao thì sẽ làm mẫu vật bị giòn, cứng và rất dễ bị hỏng. Vì vậy thông thường bảo quản mẫu ở nồng độ khoảng 80% là thích hợp và cũng để bảo quản DNA nhằm phục vụ cho giải trình tự gen sau này [9, 10]. Mỗi hộp, lọ hay túi đựng mẫu đều phải có etiket ghi lại thông tin về địa điểm, thời gian, người thu mẫu.

2.2. Nhóm côn trùng cạn bị dẫn dụ bởi ánh sáng đèn

Đối tượng: Là các nhóm côn trùng hoạt động vào ban đêm bị thu hút bởi ánh sáng như Ngài đêm (Lepidoptera), nhiều loài Bọ cánh cứng (Coleoptera), Cánh thẳng (Orthoptera), Cánh rộng (Megaloptera), Ve sâu (Cicadae), Bọ que (Phasmatodea)...

Phương pháp thu thập: Sử dụng các loại đèn ánh sáng trắng công suất cao (250W - đối với bẫy màn) hoặc các loại đèn có tia cực tím (bẫy nhỏ đặt qua đêm). Chọn vị trí thông thoáng, cao, rộng rãi để ánh sáng có thể chiếu đến được nhiều vị trí ở trong rừng. Ngoài ra có thể sử dụng các loại bẫy đèn (Hình 2) để thu thập. Bắt đầu bẫy đèn vào lúc trời vừa tối cho đến gần sáng. Cần phải thường xuyên theo dõi, ghi chép và tiến hành thu thập mẫu liên tục vì mỗi nhóm sẽ có một khoảng thời gian hoạt động riêng của chúng. Lưu ý phương pháp bẫy đèn bằng bóng đèn trắng có công suất cao sẽ tăng hiệu quả thu mẫu hơn nếu sử dụng vào những ngày có nhiều mây mù và tránh những ngày sáng trăng.



Hình 2. Một số bẫy đèn thường được dùng thu thập côn trùng [8]:

(a): Bẫy bằng đèn LED hoạt động bằng pin; (b): Bẫy bằng đèn ánh sáng trắng công suất cao; (c): Bẫy đèn kiểu Robinson sử dụng đèn huỳnh quang tia cực tím.

Phương pháp bảo quản:

- Ngài đêm: Tiêm một lượng nhỏ dung dịch ethyl acetate vào phần ngực để làm mẫu vật chết ngay lập tức, tránh việc mẫu đập, giã giụa làm rách cánh, sau đó đặt mẫu ở nơi khô thoáng để dung dịch ethyl acetate trong cơ thể mẫu bay hơi hết. Sau khoảng 30 phút thì cho vào túi mẫu rồi ghi đầy đủ thông tin như thời gian thu mẫu, địa điểm, người thu thập... và lưu trữ trong hộp nhựa kín có hạt chống ẩm silicagel.
- Bọ cánh cứng, Cánh thẳng, Cánh nửa và nhiều loài côn trùng có cánh màng, cánh cứng: Cho mẫu vật vào lọ nhựa có chứa sẵn một ít bông đã thấm dung dịch ethyl

acetate để làm chết mẫu vật rồi lấy ra, bảo quản trong lọ kín. Trong trường hợp chuyển đi dài ngày thì có thể cho một ít cồn ethanol (70 - 80%) để tránh mẫu bị thối, hỏng.

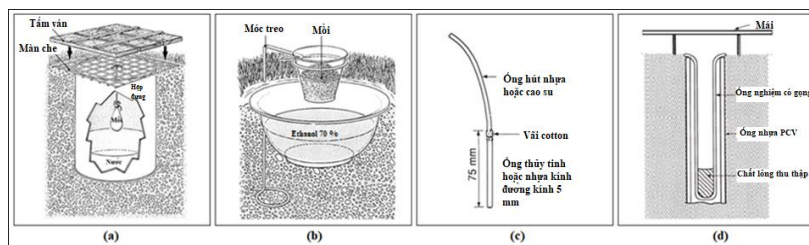
- Đối với các nhóm côn trùng có kích thước nhỏ thì tiến hành tương tự như trên, nhưng sau đó phải lấy ra khoảng 30 phút để ethyl acetate bay hơi hết, sau đó mới bảo quản trong lọ nhựa có chứa sẵn cồn ethanol 80% rồi ghi lại đầy đủ thông tin mẫu vật.

2.3. Nhóm côn trùng cạn sống trong đất, lá mục, thảm thực vật

Đối tượng: Là các nhóm côn trùng sống trong đất, lá mục, thảm thực vật như Kiến

(Hymenoptera), Mối (Isoptera), Gián (Blattodea), Bọ đuôi ngắn nhảy (Archaeognatha), Rận đất (Zoraptera), các loài thuộc bộ Zygentoma, các loài thuộc họ Bọ hung (Scarabaeoidea) và Cánh cộc (Staphylinidae)...

Phương pháp thu thập: Sử dụng các loại bẫy (Hình 3) đặt trong lòng đất, trên mặt đất để thu



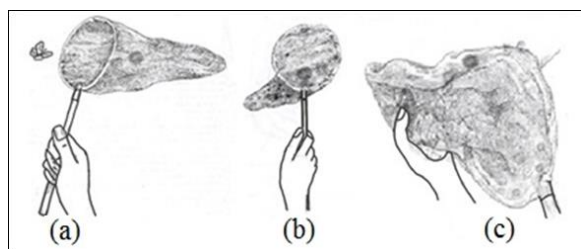
Hình 3. Một số loại bẫy dùng để bắt côn trùng sống trong đất, lá mục, thảm thực vật: (a): Bẫy cốc; (b): Bẫy đĩa có mồi; (c): Ống hút đơn; (d): Bẫy cốc có dung dịch [7, 8].

Phương pháp bảo quản: Đa số các mẫu vật thu được đều có kích thước nhỏ nên bảo quản trong lọ có chứa dung dịch cồn ethanol (70 - 80%) là phương pháp hiệu quả nhất. Trên lọ đựng mẫu ghi đầy đủ thông tin về mẫu vật.

2.4. Nhóm côn trùng cạn có cánh bay ban ngày

Đối tượng: Là tất cả các nhóm côn trùng có cánh bay ban ngày như Chuồn chuồn, Ong, Bọ que, Ve sầu, Bướm và Ngài đêm, Ruồi, Bọ cánh cứng, Châu chấu...

Phương pháp thu thập: Có rất nhiều phương pháp thu thập mẫu vật côn trùng bay ở ngoài



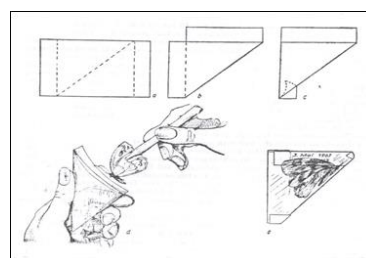
Hình 4. Phương pháp thu mẫu côn trùng bay bằng vợt cầm tay: (a): Hướng miệng vợt về phía con côn trùng đang bay; (b): Động tác khóa vợt; (c) Bóp nhẹ phần ngực (đối với Bướm ngày).

Bên cạnh đó, chúng ta có thể sử dụng thêm một số loại bẫy có sử dụng mồi để tiến hành thu thập các mẫu vật côn trùng bay khác (Hình 6a, b, c). Các loại bẫy này có mồi (trái cây lên men, mồi thối) để dẫn dụ côn trùng hoặc một số loại

hút các nhóm côn trùng cạn sống trong đất, lá mục, thảm thực vật nhờ một số loại mồi có mùi hương đặc trưng dẫn dụ hoặc dùng máy hút đơn để hút các mẫu vật. Với phương pháp sử dụng các loại bẫy này thì chúng ta cần thường xuyên theo dõi hàng ngày để tiến hành thu thập mẫu vật cũng như thay thế mồi mới.

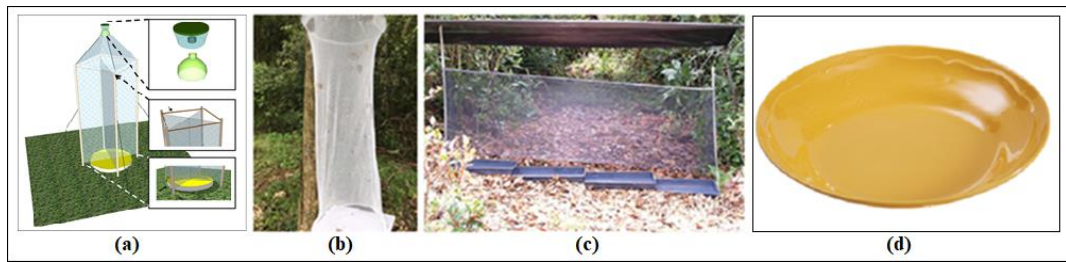
thực địa. Ở đây chúng tôi cung cấp một số phương pháp phổ biến thường được sử dụng:

- **Sử dụng vợt cầm tay:** Đây là phương pháp phổ biến nhất, để bắt những loài côn trùng có kích thước khá lớn. Đầu tiên phải xác định mục tiêu và hướng di chuyển của mục tiêu cần thu. Hướng vợt về phía trước để đón đầu đường bay của mục tiêu. Khi mục tiêu bay lại gần thì tiến hành vợt và khóa vợt (Hình 4). Mẫu vật sau khi được thu thập cho vào các túi giấy hình tam giác không thấm nước (giấy scan) (Hình 5).



Hình 5. Phương pháp gấp túi và đặt mẫu côn trùng.

dung dịch (Bảng 1) mà khiến côn trùng bị chìm vào khi tiếp xúc. Thường sử dụng loại khay màu vàng (Hình 6d) để đựng mồi hoặc dung dịch vì đây là màu sắc hấp dẫn côn trùng nhất [6].



Hình 6. Một số loại bẫy sử dụng môi:
 (a): Bẫy tổng hợp; (b): Bẫy lồng có môi ở dưới; (c): Bẫy đánh chặn màn vải;
 (d): Khay màu vàng đựng môi hoặc dung dịch [1, 6].

Bảng 1. Chất lỏng sử dụng trong các khay thu thập [8]

<p>Một số dung dịch thường được sử dụng trong các loại bẫy:</p> <ul style="list-style-type: none"> - 78% nước + 20% propylene glycol + 1% propylen phenoxytol + 1% acid acetic và được thêm vào một lượng rất nhỏ chất tẩy rửa. - 50% nước + 50% ethylene glycol. - 50% ethanol 80% + 50% ethylene glycol.

- Đối với một số nhóm côn trùng bay nhưng hoạt động mạnh về ban đêm (nhưng ít bị hấp dẫn bởi ánh sáng đèn) và sống chủ yếu trên những cây chủ nhất định của chúng như Bọ que hay Cánh thẳng thì cần tiến hành sử dụng đèn pin quan sát cây chủ vào ban đêm và dùng vợt có cán dài để thu thập mẫu.

Phương pháp bảo quản: Với mỗi nhóm côn trùng bay sẽ có phương pháp xử lý tại thực địa khác nhau:

- Bướm: Tiến hành bóp nhẹ vào phần ngực của mẫu vật (Hình 4c) rồi dùng panh đặt vào túi mẫu. Ghi đầy đủ thông tin và để nơi thoáng mát.
- Chuồn chuồn: Mẫu vật sau khi bắt cho ngay vào túi (tuyệt đối không được bóp ngực), để tự nhiên từ 12 - 24 giờ cho mẫu thải hết phân trong cơ thể ra ngoài và chết hẳn. Sau đó ngâm mẫu vật trong dung dịch acetone từ 8 - 12 giờ rồi vớt ra để nơi khô thoáng cho bay hết acetone, ghi đầy đủ

thông tin và bỏ các túi mẫu vào hộp nhựa kín có hạt chống ẩm silicagel.

- Bọ que: Bỏ mẫu vào lọ độc có chứa ethyl acetate cho chết hẳn, sau đó đặt mẫu vật vào túi mẫu ống giấy dài được ghim kín ở hai đầu rồi ghi đầy đủ thông tin và để vào hộp nhựa kín có hạt chống ẩm silicagel.
- Các nhóm có cơ thể cứng, cánh cứng khác nhau như Ve sấu, Ong, Ruồi, Bọ cánh cứng, Châu chấu, Bọ ngựa: Cho mẫu vật vào lọ độc có chứa sẵn ethyl acetate để giết chết mẫu vật, sau đó lấy ra, cho vào từng túi mẫu hoặc bỏ chung vào một lọ nhựa kín.

3. Phương pháp bảo quản, xử lý và chế tác mẫu vật trong phòng thí nghiệm

3.1. Bảo quản lỏng

Đối với các nhóm côn trùng có kích thước cơ thể rất nhỏ thì thường được bảo quản trong các dung dịch lỏng, chủ yếu là dung dịch cồn ethanol. Tuy nhiên nếu bảo quản trong cồn ethanol quá lâu sẽ khiến mẫu từ từ bị biến chất, trở nên giòn hoặc bị mất màu, rất khó để sử dụng trong nghiên cứu, phân tích lâu dài [9]. Để khắc phục nhược điểm này, có thể sử dụng một số loại dung dịch khác như dung dịch hỗn hợp AGA (alcohol, glycerol và acid acetic) đối với côn trùng nhỏ không cánh như Ve bét (Ixodidae) và có cánh nhỏ như Bọ trĩ (Thysanoptera), dung dịch acid lactic thích hợp với Rệp cây (Aphidoidea) hoặc Rệp vảy (Coccoidea) [1]. Các mẫu vật nếu được bảo quản trong ethanol trong một thời gian dài thì nên lưu giữ trong tủ đông lạnh ở nhiệt độ -20 đến -30°C [9].

Bảng 2. Nơi thu mẫu và phương pháp bảo quản các loại côn trùng có kích thước nhỏ [8]

T T	Nhóm côn trùng	Môi trường sống và cách thu thập	Hình thức bảo quản	Giai đoạn sống
1	Archaeognatha (Bộ đuôi ngắn nhảy)	- Trong thảm lá, dưới vỏ cây, khe đá trên mực nước cao. - Lấy xác lá, vỏ cây vào phễu sàng.	Ethanol 80%.	Tất cả
2	Blattodea (Gián)	- Trong chuồng trại, dưới vỏ cây, trên bụi cây, trong hang, một số cây thân gỗ. - Tìm kiếm vào ban đêm, sử dụng bẫy đèn, sàng lọc, bẫy...	Ghim trực tiếp.	Trưởng thành
			Ethanol 80%.	Chưa trưởng thành
3	Coleoptera (Bộ cánh cứng)	- Chuồng trại, dưới vỏ cây, khúc gỗ, trên bụi cây, trong hang, một số cây thân gỗ. - Sử dụng chum bẫy, sàng lọc, chong đèn, vợt cầm tay.	Ghim trực tiếp.	Trưởng thành
			Ethanol 85 - 90% hoặc tốt hơn là cố định trong dung dịch KAA hoặc Carnoy's.	Chưa trưởng thành
4	Dermaptera (Cánh da)	- Dưới đá, khúc gỗ, vỏ cây, bãi biển và cũng có trong hoa. - Tìm kiếm vào ban đêm, sử dụng phễu Tullgren hoặc dùng ánh sáng.	Bảo quản khô.	Trưởng thành
			Cố định bằng dung dịch Pampel's rồi bảo quản trong ethanol 80%.	Tất cả
5	Diptera (Ruồi)	- Khắp mọi nơi. - Sử dụng bẫy lưới, quét, ống hút, ánh bẫy đèn, mồi nhử, khay vàng...	Ghim.	Trưởng thành
			Cho vào nước nóng rồi bảo quản trong ethanol 80%, ghim gián tiếp hoặc gắn trong viên nang gelatine.	Ấu trùng
6	Embioptera (Bộ chân dẹt)	- Có trong phòng trưng bày lụa, dưới đá, trên địa y, vỏ cây, thảm lá bạch đàn... - Dùng bẫy, quét, nhấc các tảng đá để tìm.	Ghim.	Trưởng thành
			Euparal hoặc trong Ethanol 80%.	Tất cả
7	Ephemeroptera (Phù du)	- Giai đoạn trưởng thành sống cạnh nguồn nước, ấu trùng có trong thảm thực vật dưới nước, bị vùi trong bùn hoặc cát, trú ẩn dưới đá. - Đánh lưới, nạo vét, sàng bùn và cát, nâng đá để tìm. Cá thể trưởng thành sử dụng lưới hoặc tấm che sáng (không phải bẫy đèn), vợt lưới cầm tay.	Hỗn hợp ethanol 80% và glycerol 5%.	Tất cả

T T	Nhóm côn trùng	Môi trường sống và cách thu thập		Hình thức bảo quản	Giai đoạn sống
8	Hemiptera (Cánh nửa)	Bộ xít và Ve, rầy	- Trên cây ký chủ, gần vùng có nguồn nước. - Tiến hành đập và quét rồi dùng phễu Tullgren, dùng bẫy chặn bay, lưới nước, giăng lưới trên cao tìm Ve sậu đặc biệt vào buổi sáng.	Ghim.	Trưởng thành
			Ethanol 80%.	Nhộng	
		Rệp vảy	- Trên cây ký chủ, những vị trí bị tổn thương và lồi ra trên cây, lá cây. - Tìm kiếm trên cây ký chủ và các bộ phận bị tổn thương ở thực vật.	Ethanol 80% hoặc gắn kết trong KOH, Canada balsam.	Tất cả
		Rệp vùng	- Trên cây ký chủ, đặc biệt ở các chồi và lá bị quăn, nhựa cây và các bộ phận dưới lòng đất. - Đập, quét, đặt đĩa vàng, bẫy hút...	Ethanol 80% hoặc gắn kết trong KOH, Canada balsam.	Tất cả
		Rầy phân trắng	- Tìm thấy ở mặt dưới lá của cây ký chủ. - Thu thập toàn bộ các phần bị ảnh hưởng của cây vào túi bom phòng rồi kiểm tra trong phòng thí nghiệm.	Ethanol 80% hoặc qua KOH thành chloral-phenol sau đó nhuộm bằng acid acetic và acid fuchsin rồi gắn kết trong Canada balsam.	Tất cả
		Rệp cây	- Phần lớn trên ngọn của các cây ký chủ thuộc chi Bạch đàn (<i>Eucalyptus</i>), chi Keo (<i>Acacia</i>) và một số loài khác thuộc họ Sim (<i>Myrtaceae</i>), chi <i>Corymbia</i> ... - Thu thập toàn bộ các phần bị ảnh hưởng của cây vào túi bom phòng rồi kiểm tra trong phòng thí nghiệm.	Ghim gián tiếp. Ethanol 80%. Qua KOH rồi Canada balsam.	Trưởng thành Nhộng
9	Hymenoptera (Cánh màng)	Ong	- Hoa và tán lá, thảm thực vật thấp và cỏ, trên thân cây và khúc gỗ bị ngã, làm tổ trong các lỗ trên mặt đất trống hoặc trên các cành cây, các vật nhô ra ở mái che, dưới mái hiên nhà, xung quanh vũng nước đọng ở những nơi khô cạn.	Ghim trực tiếp, các mẫu vật rất nhỏ thì bảo quản bằng Euparal trên lam kính.	Trưởng thành
			Ethanol 80%.	Ấu trùng, nhộng	

T T	Nhóm côn trùng	Môi trường sống và cách thu thập		Hình thức bảo quản	Giai đoạn sống
			- Thu thập bằng vợt cầm tay, bẫy đánh chặn, bẫy lồng, khay màu vàng.		
		Kiến	- Rộng rãi, sống trong tổ, một số loài kiến hoạt động về đêm. - Sử dụng các loại mồi thức ăn, tiến hành đập, xúc ròi lọc trong phễu Tullgren.	Ghim gián tiếp.	Trưởng thành có kích thước lớn
				Ethanol 80%.	Ấu trùng, nhộng
10	Isoptera (Mối)	- Sống theo đàn ở cây sống hoặc chết, trong đất, rác và gỗ khô. - Dùng xẻng để xúc đất, cuốc gò đất, dùng chĩa rùi đục gỗ chết, lưới-bẫy đánh chặn đối với các cá thể bay trưởng thành.		Ethanol 80%.	Tất cả
11	Lepidoptera (Bướm và Ngài)	- Phân bố rộng rãi. - Dùng vợt cầm tay, bẫy mồi, bẫy đèn là hiệu quả nhất.		Ghim trực tiếp.	Trưởng thành
				Cố định trong KAA rồi bảo quản trong ethanol 80%.	Ấu trùng lớn
				Cố định trong nước nóng rồi bảo quản trong ethanol 80%.	Ấu trùng nhỏ
12	Mantodea (Bọ ngựa)	- Cây bụi, thảo mộc hoặc thân cây, một số sống trên mặt đất. - Tìm kiếm, dùng vợt lưới, một số bị thu hút bởi ánh sáng.		Ghim.	Tất cả
13	Mecoptera (Cánh dài)	- Môi trường sống ẩm mát, thường gần nước ngọt, tập trung nhiều ở thảm thực vật thân thảo nhiều lá. - Dùng vợt lưới cầm tay, bẫy đánh chặn, bẫy ánh sáng hoặc các bẫy côn trùng đất.		Ghim trực tiếp, mẫu vật nghiên cứu giải phẫu bảo quản trong Kahle hoặc ethanol 80%.	Trưởng thành
				Cố định trong KAA và bảo quản trong ethanol 80%.	Tất cả
14	Megaloptera (Cánh rộng)	- Giai đoạn ấu trùng sống trong nước ngọt. - Đập lá ven suối, dùng bẫy đèn, vợt lưới, dùng vợt và sàng thu thập ấu trùng dưới đá.		Cố định trong FAA hoặc ethanol 80% và bảo quản trong ethanol 80%.	Tất cả

T T	Nhóm côn trùng	Môi trường sống và cách thu thập	Hình thức bảo quản	Giai đoạn sống
15	Neuroptera (Cánh gân)	- Rải rác trên cây hoặc thảm thực vật thấp, một số sống gần nguồn nước. - Dùng vợt lưới, đập lá, bẫy đèn, tìm kiếm trong cát.	Ghim trực tiếp.	Trưởng thành kích thước lớn
			Cố định trong KAA hoặc Carnoy rồi bảo quản trong ethanol 80%.	Trưởng thành có kích thước nhỏ và ấu trùng
16	Odonata (Chuồn chuồn)	- Giai đoạn ấu trùng sống trong nước ngọt, cá thể trưởng thành thường ở gần vùng nước ngọt. - Dùng vợt lưới để bắt cá thể trưởng thành, đối với ấu trùng thì dùng vợt thủy sinh thu thập.	Ghim trực tiếp.	Trưởng thành
			Ethanol 80%.	Ấu trùng
			Ethanol 80% hoặc gắn thẻ.	Vỏ ấu trùng
17	Orthoptera (Cánh thẳng)	- Cực kỳ phổ biến, tất cả các môi trường sống (trừ biển). - Sử dụng các loại bẫy côn trùng đất, thảm thực vật, chiếu sáng, vợt lưới...	Ghim trực tiếp.	Trưởng thành có kích thước lớn
			Cố định trong Pampel's và bảo quản trong ethanol 80%.	Ấu trùng và cá thể có thân mềm
18	Phasmatodea (Bọ que)	- Trên cây, cây bụi, thảm cỏ. - Tìm kiếm, dùng vợt lưới...	Ghim.	Trưởng thành
			Trứng cố định được giữ khô trong viên nang gelatine gắn với con cái đã được ghim.	Trứng
19	Phthiraptera (Chấy)	- Ký sinh trên chim và động vật có vú. - Kiểm tra vật chủ và môi trường sống của chúng.	Gắn trên lam kính. Gắn kết ở KOH rồi qua Euparal.	Tất cả
20	Plecoptera (Cánh úp)	- Giai đoạn ấu trùng sống hoàn toàn dưới nước, con trưởng thành sống xung quanh khu vực có nguồn nước. - Đối với con trưởng thành dùng vợt lưới, đập thực vật, nhấc các tảng đá lên để thu thập ấu trùng vào ban đêm hoặc sáng sớm.	FAA hoặc ethanol 80%.	Tất cả
21	Psocoptera (Bọ nhện)	- Trong tán lá cây, bụi cây, trên hoặc dưới vỏ cây, trong rác, hàng tường rào, các sản phẩm gia dụng và lưu trữ. - Dùng vợt lưới, đập thực vật, tìm kiếm, sử dụng các loại bẫy, đĩa màu vàng hoặc bẫy ánh sáng...	Ethanol 80% hoặc gắn trong Euparal rồi nhuộm trong acid fuchsin.	Tất cả

T T	Nhóm côn trùng	Môi trường sống và cách thu thập	Hình thức bảo quản	Giai đoạn sống
22	Siphonaptera (Bọ chét)	- Ký sinh trên chim và động vật có vú. - Tìm kiếm và thu thập trên vật chủ ký sinh.	Ethanol 80% hoặc gắn trong KOH rồi nhuộm trong Euparal (nếu cần).	Tất cả
23	Strepsiptera (Cánh vuốt)	- Chủ yếu là ký sinh của Hemiptera (Cánh nửa), Hymenoptera (Cánh màng) và Orthoptera (Cánh thẳng). - Tìm kiếm và thu thập trên vật chủ ký sinh.	Ghim.	Con đực có cánh
			Ethanol 80% hoặc gắn trong Euparal.	Tất cả
24	Thysanoptera (Cánh viền)	- Môi trường sống đa dạng như hoa, chuồng trại, mùn bã, nấm, sạn mặt... - Dùng lưới quét, đập, kiểm tra lá và các lá bị biến dạng, chiết xuất từ hoa.	Gắn trong Canada balsam trên lam kính, mặt lưng hướng lên trên.	Tất cả
25	Thysanura (Ba đuôi)	- Trong các môi trường ẩm ướt, dưới tán lá, vỏ cây, một số sống kết hợp với mối và kiến, một số lại hoạt động ở các khu vực khô cần vào ban ngày. - Vứt xác lá hoặc bóc vỏ cây để vào bát nhựa có mặt nhẵn rồi lọc trong phễu Tullgren.	Ethanol 80%.	Tất cả
26	Trichoptera (Cánh lông)	- Gắn khu vực có nước ngọt và các hồ đá ven biển. - Thu ấu trùng bằng các loại lưới thủy sinh, tìm kiếm dưới đá và khúc gỗ trong nước, sàng chất nền. Cá thể trưởng thành tìm kiếm và thu thập.	Ethanol 80%.	Ấu trùng
			Ethanol 80% hoặc ghim trực tiếp.	Trưởng thành

3.2. Bảo quản khô

Những mẫu vật được chọn phải đảm bảo được xử lý tốt nhất ngay ở hiện trường và không bị hư hỏng các bộ phận. Sau đó, thông qua quá trình xử lý tốt tại phòng thí nghiệm sẽ nâng cao giá trị của mẫu vật và cả bộ sưu tập. Giá trị của chúng đối với việc nghiên cứu cũng phụ thuộc rất nhiều vào quá trình xử lý, bảo quản mẫu vật trước đó.

Quá trình xử lý bảo quản khô mẫu vật tại phòng thí nghiệm cụ thể như sau:

3.2.1. Làm mềm mẫu vật

Các mẫu vật mới được thu thập còn tươi thì cơ thể vẫn còn mềm nên có thể chế tác được ngay. Tuy nhiên phần lớn mẫu côn trùng được thu thập ngoài thực địa và lưu trữ trong phòng

thí nghiệm một thời gian dài mới được đưa ra để chế tác, cho nên mẫu đã bị khô, cơ thể cứng. Vì vậy cần thiết phải làm mềm cơ thể mẫu vật mới có thể chế tác được.

- *Cách 1:* Đặt mẫu vật lên trên một tấm xốp nhẹ rồi đặt vào trong một hộp nhựa lớn có thể chịu được nhiệt độ từ 100°C trở lên. Sau đó rót nước nóng (90 - 96°C) xung quanh rồi đập nắp lại. Tuyệt đối không rót nước trực tiếp vào mẫu vật và không để mẫu vật bị dính nước rồi để từ 12 - 24 giờ (qua đêm). Hơi ẩm bốc lên sẽ làm mềm mẫu vật một cách từ từ. Cần theo dõi để lau, tránh hơi nước ngưng tụ lên nắp rồi nhỏ xuống mẫu.
- *Cách 2:* Lót mẫu bằng một lớp bông gòn trên đĩa rồi thêm một vài giọt phenol tinh

thể của chlorocresol hoặc thymol. Sau đó nhẹ nhàng đặt mẫu vật lên, để qua đêm hoặc có thể đến vài ngày đối với những mẫu vật có kích thước lớn. Mẫu vật được để nơi thoáng mát, tránh ánh nắng trực tiếp và thường xuyên kiểm tra để mẫu vật tránh bị ẩm mốc.

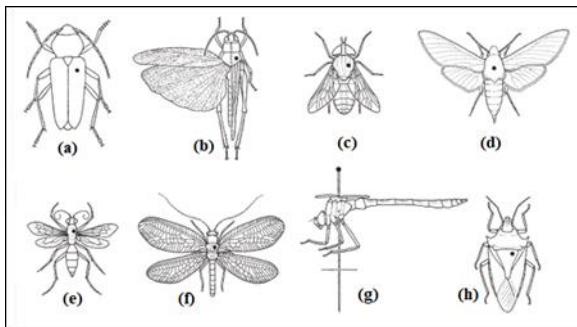
- *Cách 3*: Tiêm dung dịch amoniac 10% hoặc nước nóng vào phần ngực đối với mẫu vật Bướm ngày và Bướm đêm có kích thước lớn [5]. Đây là phương pháp tốn ít thời gian chờ đợi mẫu vật cho tới khi cơ thể trở nên mềm.

Lưu ý: Không để mẫu vật dưới ánh nắng Mặt trời hoặc gần nguồn nhiệt vì nước sẽ ngưng tụ ở mặt dưới của nắp và rơi xuống mẫu vật. Đảm bảo rằng nhãn ghi thông tin của mẫu vật đặt bên trong hộp phải được viết bằng bút chì hoặc bút mực không hoàn tan trong nước.

3.2.2. Ghim mẫu

Dụng cụ:

Kim ghim côn trùng (pins): là loại kim chuyên dụng, bằng thép không gỉ, có chiều dài 38 mm, gồm nhiều kích cỡ khác nhau như size 00, 01, 02, 03... Tùy theo kích thước mẫu mà sử dụng các size kim khác nhau cho phù hợp.



Hình 7. Ghim trực tiếp:

- (a): Bọ cánh cứng; (b): Châu chấu, Dế mèn; (c): Ruồi;
 (d): Ngải; (e): Ong bắp cày; (f): Cánh gân;
 (g): Chuồn chuồn; (h): Bọ, Ve sâu, Rầy [2].

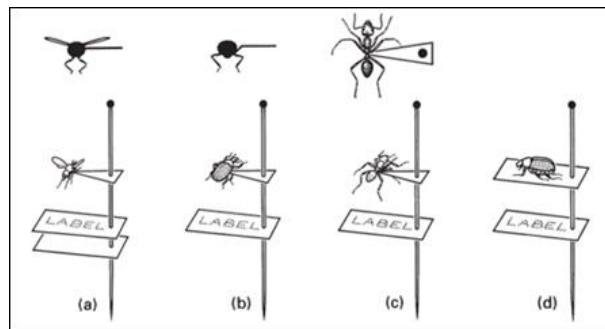
Ghim gián tiếp: Đối với những loại côn trùng có kích thước cực kỳ nhỏ (< 3 mm) thì phải dùng keo để dán mẫu vào một tấm bìa cứng (Hình 8). Keo được sử dụng phải hòa tan trong nước hoặc ethanol để có thể lấy mẫu ra

Bàn trải mẫu: Sử dụng cho các loại côn trùng có cánh, gồm hai loại là bàn trải mẫu có rãnh giữa và bàn trải mẫu không có rãnh.

- Bàn trải mẫu có rãnh giữa: Sử dụng một tấm ván ép hoặc xốp không thấm nước làm nền. Dán hai miếng gỗ mềm (hoặc xốp) có kích thước khác nhau (tùy theo chiều dài sải cánh của đối tượng côn trùng) lên và chừa ra một rãnh có chiều rộng thích hợp. Lưu ý chiều cao của tấm xốp đến nền của bàn trải mẫu không được cao quá so với kim ghim và chiều rộng cần điều chỉnh phù hợp với kích thước cơ thể của côn trùng.
- Bàn trải mẫu không có rãnh: Đối với bàn làm mẫu loại này thì cấu tạo rất đơn giản, chỉ là một tấm gỗ mềm hoặc một tấm xốp để gắn mẫu lên.

Phương pháp ghim mẫu:

Ghim trực tiếp: Đối tượng là các loài côn trùng có kích thước lớn. Vị trí ghim tùy theo từng đối tượng côn trùng khác nhau nhưng phải tuân theo nguyên tắc chung, đó là hơi lệch sang bên phải của đường trục trung tâm của cơ thể để tránh các đặc điểm quan trọng bên trong bề mặt lưng và bụng (Hình 7).

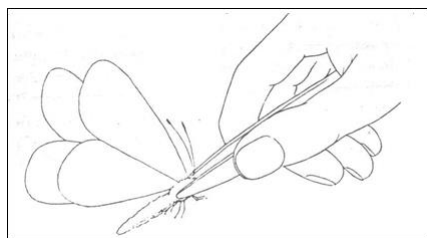


Hình 8. Ghim gián tiếp:

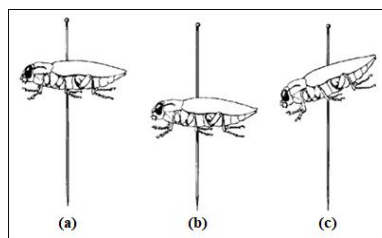
- (a): Ong bắp cày; (b): Mọt; (c): Kiến; (d): Bọ cánh cứng [2].

khỏi tấm bìa khi cần. Lựa chọn tốt nhất là sử dụng shellac, một loại nhựa do Rệp vảy (*Coccoidea*) tạo ra [1].

Nguyên tắc gấp mẫu: Gấp mẫu vật theo chiều dài thân của nó (Hình 10).



Hình 9. Nguyên tắc gắp mẫu vật [7]



Hình 10. Vị trí ghim theo chiều cao: (a): Tốt nhất; (b): Quá thấp; (c): Không tốt [7]

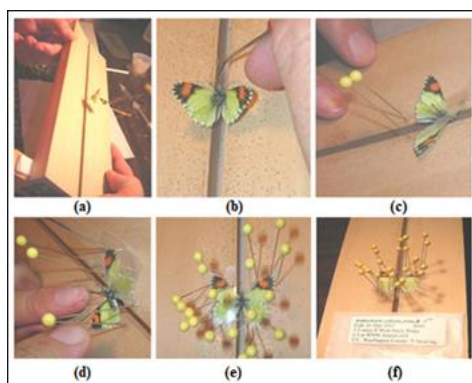
Ghim mẫu: Kim ghim vào mẫu vật phải vuông góc 90° ở cả mặt trước và mặt bên. Vị trí mẫu vật nằm khoảng $2/3$ phía trên so với chiều dài của kim (Hình 10a), không được quá thấp hoặc quá cao so với kim (Hình 10b, c).

3.2.3. Chế tác mẫu

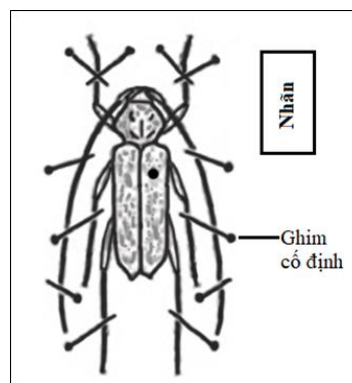
Chế tác mẫu vật trên bàn mẫu có rãnh: Đối tượng là các loại côn trùng cần có cánh đẹp, cần thiết phải dang cánh để thể hiện được màu sắc cánh của chúng như Chuồn chuồn, Bướm và Ngài đêm, Ve sầu, Ong, Bọ ngựa, Bọ que...

Phương pháp: Tiến hành chọn bàn làm mẫu có kích thước phù hợp với mẫu vật. Sau đó tiến hành theo các bước sau:

- **Bước 1:** Ghim giữ mẫu vật ở tư thế thẳng đứng vào giữa rãnh cho đến khi góc cánh ngang bằng với bề mặt của bàn (Hình 11a).
- **Bước 2:** Dùng kim để cố định mẫu vật tại vị trí giữa bụng và ngực, phần đầu và ăng ten để ngăn mẫu vật bị di chuyển khi tiến hành dang cánh (Hình 11b).
- **Bước 3:** Dùng giấy đè lên để hai cánh được dang ra (Hình 11c).
- **Bước 4:** Dùng panh kẹp chỉnh sửa tư thế cánh, sau đó ghim cố định tư thế cánh (Hình 11d, e) [8].
- **Bước 5:** Ghi đầy đủ thông tin về mẫu vật (Hình 11f) [2].



Hình 11. Chế tác mẫu vật Bướm trên bàn mẫu có rãnh: (a): Ghim mẫu vật vào bàn trái mẫu; (b): Chỉnh sửa tư thế; (c): Trải cánh bằng giấy định hình; (d): Chỉnh sửa vị trí cánh; (e): Ghim cố định toàn cơ thể mẫu vật; (f): Gắn nhãn thông tin.



Hình 12. Chế tác mẫu vật Bọ cánh cứng trên bàn trái mẫu không có rãnh

Chế tác mẫu vật trên bàn trái mẫu không có rãnh: Đối tượng là Bọ cánh cứng, bọ que và một số loài côn trùng khác không cần giang cánh.

Phương pháp: Ghim giữ mẫu vật vào bàn trái mẫu, chỉnh sửa tư thế và ghim cố định các bộ phận như các chi, ăng ten, đầu, bụng. Sau đó

tiến hành ghim nhãn với đầy đủ các thông tin về mẫu vật (Hình 12). Lưu ý là tùy theo từng loại Bọ cánh cứng có hình thể khác nhau thì cần có tư thế chân, ăng ten khác nhau cho phù hợp và đẹp nhất.

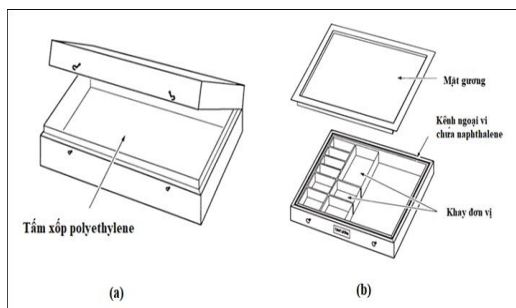
3.2.4. Sấy khô

Các mẫu vật sau khi được xử lý trên bàn trải mẫu thì phải được làm khô càng nhanh càng tốt bằng cách sử dụng phương pháp làm khô tự nhiên hoặc tủ sấy.

- *Làm khô tự nhiên*: Sử dụng các hộp, tủ để chứa mẫu vật trong điều kiện khí hậu khô. Không được phơi trực tiếp mẫu dưới ánh sáng Mặt trời và nhiệt độ không quá 36°C để tránh làm giòn mẫu vật, cánh có thể bị cong và màu sắc bị thay đổi.

- *Làm khô nhân tạo*: Sấy khô bằng tủ sấy ở nhiệt độ từ 36 - 40°C trong khoảng từ 2 đến 3 ngày.

Sau khi hoàn thành việc sấy khô thì tiến hành tháo cẩn thận tất cả các kim gắn. Mẫu vật



Hình 13. Các dụng cụ lưu giữ mẫu vật côn trùng:
(a): Hộp lưu trữ mẫu vật côn trùng;
(b): Ngăn tủ với các khay đơn vị [8].

4. Kết luận

Để có được một bộ mẫu vật hoàn chỉnh có giá trị, đảm bảo được đầy đủ các yếu tố khoa học cần phải nghiên cứu thật kỹ lưỡng các đặc điểm sinh thái, môi trường sống và các đặc điểm cấu tạo của từng nhóm côn trùng để có thể tiến hành thu thập, xử lý và bảo quản một cách tốt nhất. Mẫu thu được trong quá trình nghiên cứu ngoài thực địa dài ngày cần phải có cách bảo quản cho phù hợp để tránh bị phân hủy, hư hỏng. Ngâm mẫu vật tạm thời ngoài thực địa chủ yếu bằng dung dịch cồn ethanol khoảng 80%. Sử dụng dung dịch acid acetate,

sau khi lấy ra sẽ được gắn nhãn ghi đầy đủ tất cả các thông tin.

Lưu giữ, bảo quản mẫu

Bộ sưu tập côn trùng khô gắn trên ghim thường được lưu giữ trong hộp hoặc tủ chứa mẫu vật côn trùng.

Hộp lưu trữ mẫu vật côn trùng có nhiều kích thước, làm bằng gỗ hoặc nhựa, có nắp bằng gương hoặc nhựa trong suốt để có thể quan sát được mẫu bên trong. Mặt dưới của hộp được đặt tấm xốp polyethylene màu trắng dày 10mm để có thể ghim mẫu (Hình 13a) và có chứa naphthalene (long nã) để phòng chống các loại côn trùng và nấm gây hại (Hình 13b) [8]. Mẫu cần được bảo quản trong phòng kín, có máy hút ẩm 24/24h.



Hình 14. Một số hộp mẫu vật côn trùng được xử lý và chế tác tại Trung tâm Nghiên cứu Côn trùng - Ký sinh trùng (Đại học Duy Tân)

acetone để giết và ngâm những mẫu vật có cơ thể cứng, chắc như Bộ cánh cứng, Chuồn chuồn. Mẫu vật khi đưa về phòng thí nghiệm thông qua hai hình thức bảo quản khô và bảo quản lỏng, tùy theo kích thước cơ thể của từng loài côn trùng. Đối với những nhóm côn trùng có kích thước lớn, có cánh, màu sắc cơ thể đẹp cần phải chế tác mẫu vật nhằm lưu giữ được lâu dài. Việc thu thập, xử lý, bảo quản và chế tác mẫu vật côn trùng là những nội dung cực kỳ quan trọng, đòi hỏi sự tỉ mỉ, cẩn thận, chính xác cao để nhằm xây dựng được một bộ mẫu vật có giá trị đối với công việc nghiên cứu và đào tạo.

Tài liệu tham khảo

- [1] Eymann, J., Degreef, J., Häuser, C., Monje, J.C., Samyn, Y. & Vanden, S.D. (2010). Manual on field recording techniques and protocols for All Taxa Biodiversity Inventories (ATBIs). *Abctaxa*, 8(2): 331–653.
- [2] Gullan, P.J. & Cranston, P.S. (2005). *The Insects: An Outline of Entomology*. Blackwell Publishing Ltd., Hoboken, 505 pp.
- [3] Gullan, P.J. & Cranston, P.S. (2010). *The Insects: An Outline of Entomology*. Wiley Blackwell, Chichester, West Sussex, 584 pp.
- [4] Mccafferty, W.P. & Provonsha, A.V. (1983). *Aquatic Entomology: The Fishermen's and Ecologists' Illustrated Guide to Insects and Their Relatives*. Jones and Bartlett Publishers, London, 448 pp.
- [5] Millar, I.M., Uys, V.M. & Urban, R.P. (2000). *Collecting and Preserving Insects and Arachnids. A Manual for Entomology and Arachnology*. Ultra Litho (Pty) Ltd., Johannesburg, South Africa, 105 pp.
- [6] Russo, L., Stehouwer, R., Heberling, J.M. & Shea, K. (2011). The Composite Insect Trap: An Innovative Combination Trap for Biologically Diverse Sampling. *Plos One*, 6 (6): e21079. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0021079>
- [7] Schauff, M.E. (1986). *Collecting and preserving insects and mites: Techniques and tools*. Systematic Entomology Laboratory, USA, 68 pp.
- [8] Upton, M.S. & Mantle, T.L. (2010). *Methods for collecting, preserving, and studying insects and other terrestrial arthropods*. The Australian Entomological Society, Brisbane.
- [9] Walker, A.K., Fitton, M.G., Vane-Wright, R.I. & Carter, D.J. (1999). Insects and other invertebrates, in: Carter, D. & Walker, A. K. (Eds.). *Care and Conservation of Natural History Collections*. Butterworth Heinemann, Oxford, 37–60.
- [10] Marquina, D., Ronquist, F. & Lukasik, P. (2020). The effect of ethanol concentration on the preservation of insects for biodiversity studies. *bioRxiv*: 2020.03.05.978288v1.