



## **PHÂN LẬP VÀ TUYỂN CHỌN MỘT SỐ CHỦNG VI NẤM CÓ KHẢ NĂNG KÍ SINH TIÊU DIỆT ẤU TRÙNG VE SÀU GÂY HẠI CÀ PHÊ**

**Đỗ Thị Thanh Dung\*, Lê Thanh Bình, Đỗ Thị Hồng Thịnh, Võ Đình Quang**

*Chi nhánh Viện Ứng dụng Công nghệ tại TP Hồ Chí Minh*

*Ngày nhận bài: 18-01-2018; ngày nhận bài sửa: 17-3-2018; ngày duyệt đăng: 19-6-2018*

### **TÓM TẮT**

*Nghiên cứu nhằm tuyển chọn một số chủng vi nấm có khả năng kí sinh tiêu diệt ấu trùng ve sấu gây hại trên cây cà phê. Kết quả đã phân lập và làm thuần được 26 chủng vi nấm. Qua sàng lọc đã chọn được 3 chủng TN7N3, CF8N3, TN7N1 thuộc dòng Paecylomyces sp. có khả năng kí sinh ức chế ấu trùng ve sấu gây hại và có tiềm năng ứng dụng làm chế phẩm vi sinh giúp phòng và trị bệnh do ấu trùng ve sấu gây hại trên cây cà phê.*

**Từ khóa:** ấu trùng Ve sấu, bệnh cây cà phê, Paecylomyces sp.

### **ABSTRACT**

#### ***Isolating and selecting some strains of the fungus capable of parasiting and killing cicada larvae on the coffee tree***

*The aim of this study is to select some strains of the fungus that have the ability to parasitic and kill cicada larvae on the coffee tree. As result, a total of 26 strains of fungus were isolated. From these, three strains of TN7N3, CF8N3 and TN7N1 belonging to Paecylomyces sp. were selected due to their high ability to parasitic, kill cicada larvae and with the potential to produce organic products in order to prevent and treat pathogenic caused by cicada larvae on the coffee tree.*

**Keywords:** Cicada larvae, Disease of coffee trees, Paecylomyces sp.

### **1. Mở đầu**

Cà phê là một trong những loại cây công nghiệp có giá trị kinh tế cao, cho sản phẩm xuất khẩu lớn của Việt Nam chỉ sau lúa gạo [1]. Cây cà phê đã thực sự làm thay đổi đời sống của nhiều vùng dân cư, góp phần xóa bỏ tập quán du canh du cư của đồng bào các dân tộc. Trồng cà phê góp phần phủ xanh đồi trọc, cải tạo môi sinh, chống lũ lụt đặc biệt là xói mòn.

Hiện nay, dịch ve sấu đang là một đe dọa đối với sinh hoạt và sản xuất nông nghiệp trên nhiều vùng cả nước bởi tiếng kêu gây ồn tác động đến thần kinh, giảm năng suất lao động và quan trọng hơn là ve sấu hút nhựa cây và làm chết cây trồng, tàn phá mùa màng. Tình hình gây hại của ve sấu trên cà phê có chiều hướng gia tăng sau mỗi năm.

\* Email: [dothithanhdung1990@gmail.com](mailto:dothithanhdung1990@gmail.com)

Tại Việt Nam cho đến thời điểm này, các kết quả nghiên cứu về ve sầu hầu như rất ít được đề cập đến, một số nghiên cứu có đề cập đến sử dụng thuốc hóa học để diệt ấu trùng ve sầu tuy nhiên hiệu quả không cao [2].

Giải pháp dùng thuốc hóa học diệt ve sầu rất tốn kém và ít khả thi vì ấu trùng ve sầu nằm sâu dưới đất và ve sầu trưởng thành có khả năng bay, phát tán rộng kể cả trong khu dân cư. Sử dụng thuốc hóa học không những gây tác hại xấu đến chất lượng nông sản, thiên địch có ích, môi trường mà còn gây tác hại trực tiếp lên sức khỏe con người.

Vì vậy, tìm ra các chế phẩm sinh học diệt ve sầu mà không làm ảnh hưởng đến sức khỏe con người, không gây ảnh hưởng đến khả năng phát triển của cây, không làm ảnh hưởng đến các vi sinh vật đối kháng và côn trùng có ích, không gây ô nhiễm môi trường... hiện đang được coi là biện pháp chiến lược mà nhiều nhà khoa học quan tâm hướng đến để phòng trừ dịch bệnh cho cây trồng. Cũng như nhiều loại côn trùng khác, ve sầu là môi trường dinh dưỡng rất tốt cho một số vi sinh. Một số dòng vi sinh tiềm năng đã được nghiên cứu trên các đối tượng côn trùng khác như *Metarhizium*[3],[4],[5], *Paecilomyces* [6],[7], *Beauveria* [8],[5]... Các vi sinh này có khả năng phát triển rất mạnh và hoàn toàn có khả năng tấn công ức chế côn trùng, ve sầu gây hại. Do đó, nếu phân lập, chọn lọc được những chủng vi sinh phát triển mạnh kí sinh trên côn trùng, ve sầu thì hoàn toàn có thể sử dụng để diệt ve sầu. Mặt khác, khi ve sầu bị nhiễm vi sinh mang về tổ (dưới đất) sẽ lây nhiễm vi sinh cho con khác và ấu trùng ve sầu, giúp diệt ve sầu tận gốc.

Trên tinh thần đó, nghiên cứu tìm ra được một số chủng vi sinh có khả năng tiêu diệt ấu trùng ve sầu để tạo cơ sở cho việc hình thành một chế phẩm sinh học an toàn để tiêu diệt ve sầu bằng con đường sinh học là một hướng đi cần thiết.

## 2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

### 2.1. Vật liệu

- *Đối tượng nghiên cứu*

Các chủng vi nấm được phân lập từ các mẫu côn trùng, sâu bệnh, ve sầu chết có biểu hiện do nấm kí sinh được lấy tại vườn cà phê đang dịch bệnh ve sầu và trong rừng tự nhiên tại Đắk Nông và Đồng Nai

Ấu trùng ve sầu thu thập tại vườn cà phê tại tỉnh Đắk Nông và Đồng Nai

Cây cà phê bị ve sầu gây hại nặng tại các khu vực tỉnh Đắk Nông và Đồng Nai.

- *Môi trường sử dụng nghiên cứu*

Môi trường phân lập vi nấm Potato Glucose Agar (PGA): Khoai tây 200g, Glucose 20g, Agar 20g; Nước 1000ml

Môi trường thử nghiệm chitinase: NaNO<sub>3</sub> 3,5g; K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 1,5g; MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O 0,5g; KCl 0,5g; FeSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O 0,01g; Bột chitin 10g; Agar 20g; Nước 1000ml; pH = 6,5 Khử trùng 1atm/30phút.

**2.2. Phương pháp nghiên cứu****2.2.1. Phương pháp phân lập vi nấm**

Cho mẫu ve sầu hoặc côn trùng nhiễm nấm thu thập được vào 20ml nước cất khử trùng và để lắng trong 30 phút, tốc độ 180 vòng/phút. Pha loãng mẫu ở các nồng độ pha loãng khác nhau:  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$ . Hút 0,5 ml dịch pha loãng ở ba nồng độ trên nhỏ lên đĩa Petri chứa môi trường PGA. Dùng que gạt trải đều dịch trên bề mặt thạch. Đặt đĩa thạch trong tủ  $25^{\circ}\text{C}$ , phân lập vi nấm từ những khuẩn lạc riêng lẻ trên đĩa. Bảo quản các chủng thuần này theo phương pháp thạch nghiêng để khảo sát khả năng kí sinh ức chế ấu trùng ve sầu.

**2.2.2. Khảo sát khả năng phân giải chitin của các chủng vi nấm phân lập được**

Chuẩn bị môi trường cảm ứng tổng hợp enzyme chitinase, hấp khử trùng ở  $121^{\circ}\text{C}$  trong 30 phút. Dùng các đĩa petri vô trùng có kích thước bằng nhau, cho 20ml môi trường từ ống nghiệm vào đĩa, để nguội, sau 1-2 ngày kiểm tra sự tạp nhiễm. Cấy chấm điểm chủng nấm sợi nghiên cứu vào đĩa, có thể chấm một điểm giữa hoặc 3 điểm trên đĩa petri. Ủ ở nhiệt độ phòng ( $28-30^{\circ}\text{C}$ ) trong 2-3 ngày. Cho thuốc thử Lugol vào, để 5 phút rồi đo đường kính vòng phân giải bằng thước đo khuẩn lạc. Nếu  $D - d \geq 25\text{mm}$ : hoạt tính enzyme mạnh  $D - d \geq 20\text{mm}$ : hoạt tính enzyme khá mạnh.  $D - d \geq 15\text{mm}$ : hoạt tính enzyme trung bình.  $D - d \leq 10\text{mm}$ : hoạt tính enzyme yếu. D: Đường kính vòng thủy phân. d: Đường kính khuẩn lạc. Từ đó chọn chủng có hệ enzyme chitinase từ mạnh trở lên để tiếp tục nghiên cứu.

**2.2.3. Khảo sát khả năng kí sinh tiêu diệt ấu trùng ve sầu của các chủng vi nấm phân lập được trong điều kiện phòng thí nghiệm**

Ấu trùng ve sầu sống được cho vào hộp nhựa có môi trường sống thích hợp. Gây nhiễm mỗi chủng vi sinh lựa chọn lên ấu trùng ve sầu sống, ở mật độ  $10^6\text{CFU/ml}$  (5ml). Mỗi chủng vi sinh làm thí nghiệm lặp lại 3 lần. Thí nghiệm đối chứng chỉ xử lí bằng nước cất vô trùng không tiến hành lây nhiễm vi sinh lên ấu trùng ve sầu. Đếm số ve sầu chết và bắt đầu bị kí sinh sau 3, 6, 9 ngày sau khi lây nhiễm.

Tỉ lệ % ấu trùng ve sầu chết bị kí sinh được tính theo công thức:

Tỉ lệ % ấu trùng ve sầu chết bị kí sinh chết =  $B/A * 100$  .

trong đó: A: số ấu trùng ve sầu sống trước xử lí; B: số ấu trùng ve sầu chết và bắt đầu bị kí sinh sau xử lí.

**2.2.4. Khảo sát khả năng kí sinh tiêu diệt ấu trùng ve sầu của các chủng vi nấm lựa chọn ngoài tự nhiên**

Thí nghiệm được thực hiện vào đầu mùa mưa. Đánh giá hiệu lực của của chủng vi sinh đã lựa chọn ngoài đồng ruộng với diện tích thử nghiệm nhỏ (3 cây/1 chủng vi nấm), mỗi cây được tưới khoảng 50 lít nước, tưới đều vào gốc cây (sử dụng bình tưới có vòi hoa sen) với mật độ trung bình của các chủng vi sinh  $10^6\text{CFU/ml}$ , bố trí thí nghiệm theo thể thức hoàn toàn ngẫu nhiên, với 3 lần nhắc theo từng nghiệm thức khác nhau. Thu thập ấu

trùng ve sâu sau 30 ngày tiến hành thí nghiệm ở các nghiệm thức. Với góc cà phê đào sâu 30 cm tại 4 điểm khác nhau, diện tích mỗi điểm khoảng 30x30cm. Hiệu quả kí sinh và tiêu diệt ấu trùng ve sâu được tính theo công thức:

$$\text{Hiệu quả kí sinh và tiêu diệt ấu trùng ve sâu} = B/A * 100$$

A: Tổng số ấu trùng ve sâu thu được sau khi xử lí; B: số ấu trùng ve sâu chết và bị vi nấm kí sinh sau xử lí.

2.2.5. Định danh và xác định đặc tính sinh học các chủng có khả năng kí sinh tiêu diệt ấu trùng ve sâu của các chủng vi nấm lựa chọn

Dựa vào khóa phân loại đến lớp theo Robert A. Samson (1984) để định danh các chủng vi nấm.

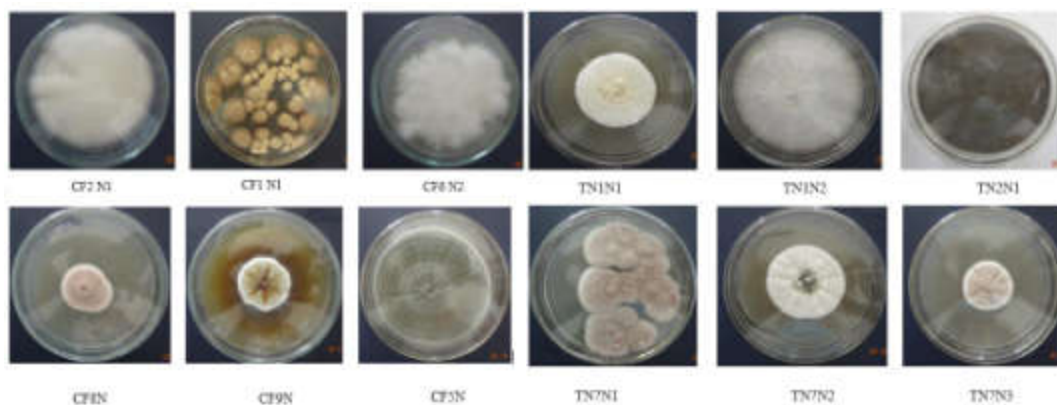
2.2.6. Phương pháp xử lí số liệu

Dùng phần mềm excel để xử lí các số liệu. Các số liệu ghi nhận được xử lí thống kê bằng phương pháp One\_Way ANOVA trên phần mềm Statistical Program Scientific System (SPSS) phiên bản 19.

### 3. Kết quả và thảo luận

#### 3.1. Phân lập các chủng vi nấm

Từ 20 mẫu côn trùng, sâu bệnh, ve sâu chết có biểu hiện do vi nấm kí sinh đã phân lập được 26 chủng vi nấm trên môi trường PGA. Trong 26 chủng vi nấm phân lập được có 17/26 chủng vi nấm được phân lập từ các mẫu lấy tại vườn cà phê (chiếm tỉ lệ 65,38%). Có 9/26 chủng phân lập từ các mẫu lấy tại rừng tự nhiên (chiếm tỉ lệ 34,62%). Như vậy, kết quả cho thấy số lượng các chủng vi nấm được phân lập từ các mẫu đất tại vườn cà phê lớn hơn nhiều so với số lượng các chủng vi nấm được phân lập tại các mẫu lấy từ rừng tự nhiên.



**Hình 1.** Một số chủng vi nấm phân lập được từ các mẫu côn trùng, sâu bệnh, ve sâu được lấy tại các địa điểm vườn cà phê Đắk Nông và Đồng Nai

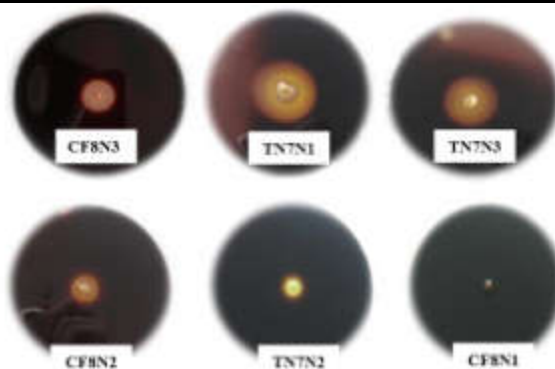
**3.2. Khảo sát khả năng phân giải chitin của các chủng vi nấm phân lập được**

Do ve sầu thuộc họ côn trùng với thành phần chính của lớp vỏ ngoài là chitin, do đó thí nghiệm xác định khả năng phân giải chitin của các chủng vi nấm là cơ sở cho việc tuyển chọn các chủng thử nghiệm trên ve sầu. Việc khảo sát sơ bộ khả năng phân giải chitin của các chủng vi nấm được xác định thông qua đường kính vòng phân giải chitin của các chủng (Bảng 1). Dựa trên kết quả thu được nhận thấy đường kính vòng phân giải chitin ( $\overline{D-d}$ ) của 26 chủng vi nấm giao động từ 0 mm cho đến 31,67 mm, đường kính vòng phân giải ( $\overline{D-d}$ ) lớn nhất là chủng TN7N3 (31,6 mm). Lấy đường kính vòng phân giải ( $\overline{D-d}$ ) các chủng vi nấm có đường kính ( $\overline{D-d}$ )  $\geq 25$  mm làm chủng sinh trưởng mạnh thì thu được 5 chủng vi nấm là TN7N3, CF8N3, TN7N1, TN2N1, CF10N2; trong đó, có 3 chủng vi nấm được phân lập từ các mẫu côn trùng được lấy tại rừng tự nhiên (chiếm tỉ lệ 66,67%), 2 chủng vi nấm được phân lập từ các mẫu côn trùng được lấy tại vườn cà phê (chiếm tỉ lệ 43,33%), thuộc tỉnh Đắk Nông và Đồng Nai. Các chủng này tiếp tục được sử dụng để khảo sát khả năng kí sinh tiêu diệt ấu trùng ve sầu trong điều kiện phòng thí nghiệm.

**Bảng 1.** Đường kính vòng phân giải chitin của các chủng vi nấm phân lập được

STT	Tên chủng	$\overline{D-d}$ mm
1	TN7N3	31,67
2	CF8N3	31,33
3	TN7N1	31,33
4	TN2N1	30,67
5	CF10N2	27,00
6	CF5N1	18,33
7	CF4N1	16,33
8	CF8N4	13,67
9	CF2N1	12,33
10	CF10N1	12,00
11	TN1N2	10,33
12	CF6N2	9,67
13	CF5N2	9,00
14	TN1N1	8,67
15	CF7N1	8,33
16	CF6N3	7,67
17	CF8N2	5,00

18	TN7N2	4,67
19	CF9N1	3,33
20	CF1N1	0,00
21	CF2N2	0,00
22	CF6N1	0,00
23	CF8N1	0,00
24	TN3N1	0,00
25	TN6N1	0,00
26	TN8N1	0,00



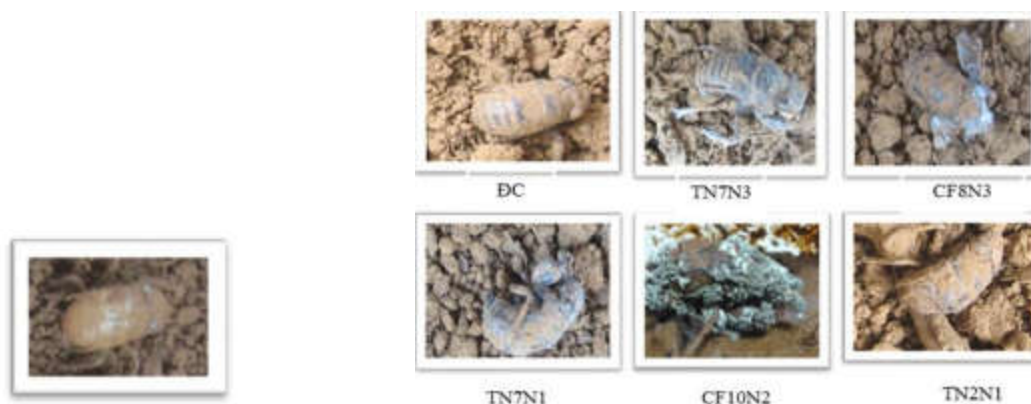
**Hình 2.** Vòng phân giải chitin của một số chủng vi sinh phân lập được trên côn trùng

### 3.3. Khảo sát khả năng kí sinh tiêu diệt ấu trùng ve sầu của các chủng vi nấm phân lập được trong điều kiện phòng thí nghiệm

Đối với ấu trùng ve sầu khi tiến hành đánh giá hiệu quả kí sinh của các chủng vi nấm trong điều kiện phòng thí nghiệm thu được kết quả Bảng 2. Kết quả cho thấy, khả năng kí sinh trên ấu trùng ve sầu của các chủng vi nấm đã lựa chọn có sự khác biệt rõ rệt ở các nghiệm thức và các thời điểm thí nghiệm. Tại thời điểm 3, ngày sau khi phun các chủng nấm, tỉ lệ ấu trùng ve sầu chết bị nấm kí sinh dao động từ 0 đến 6,67% chưa có sự khác biệt ở tất cả các nghiệm thức. Tuy nhiên, đến thời điểm 6 ngày tỉ lệ ấu trùng ve sầu chết bị nấm kí sinh tăng lên rõ rệt tỉ lệ ấu trùng ve sầu chết bị nấm kí sinh dao động từ 0% đến 63,33% và đã có sự khác biệt về mặt thống kê ở các nghiệm thức. Nghiệm thức TN7N3, CF8N3 có tỉ lệ ấu trùng ve sầu chết bị nấm kí sinh tương ứng 63,33%, 60% là cao nhất và khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê so với các chủng còn lại. Tại thời điểm 9 ngày sau khi phun, tỉ lệ ấu trùng ve sầu chết bị nấm kí sinh biến động từ 0 - 100%, hầu hết các nghiệm thức thí nghiệm đều có tỉ lệ ấu trùng ve sầu chết bị nấm kí sinh tăng đều, ngoại trừ nghiệm thức TN2N1 không có hiện tượng bị nấm kí sinh trong thời gian thử nghiệm, các nghiệm thức TN7N3, CF8N3 tiếp tục cho hiệu quả kí sinh tốt nhất đạt 100% và khác biệt rất có ý nghĩa về mặt thống kê so với nghiệm thức còn lại.

**Bảng 2.** Hiệu quả kí sinh của các chủng vi nấm lên ấu trùng ve sấu trong điều kiện phòng thí nghiệm quan sát theo thời gian

NT	Tỉ lệ ấu trùng ve sấu chết bị nấm kí sinh (%)		
	Sau 3 ngày	Sau 6 ngày	Sau 9 ngày
ĐC	0,00 ± 0,00 a	0,00 ± 0,00 a	0,00 ± 0,00 a
TN7N3	<b>6,67 ± 3,33 a</b>	<b>63,33 ± 6,67 c</b>	<b>100 ± 0,00 d</b>
CF8N3	<b>6,67 ± 6,67 a</b>	<b>60,00 ± 5,77 c</b>	<b>100 ± 0,00 d</b>
TN7N1	3,33 ± 3,33 a	36,67 ± 6,67 b	76,67 ± 6,67 c
CF10N2	0,00 ± 0,00 a	23,33 ± 3,33 b	46,67 ± 3,33 b
TN2N1	0,00 ± 0,00 a	0,00 ± 0,00 a	0,00 ± 0,00 a

**Hình 3.** Ấu trùng Ve sấu trước khi phun vi nấm**Hình 4.** Các nghiệm thức ấu trùng ve sấu 9 ngày sau khi phun vi nấm trong điều kiện phòng thí nghiệm

### 3.4. Khảo sát khả năng kí sinh tiêu diệt ấu trùng ve sấu của các chủng vi nấm lựa chọn ngoài tự nhiên

Việc thử nghiệm trực tiếp lên cây cà phê ở diện hẹp ngoài đồng ruộng nhằm đánh giá tốt nhất khả năng kí sinh và tiêu diệt ấu trùng ve sấu của các chủng vi nấm phân lập được (mật độ trung bình  $10^6$ CFU/ml dung dịch), trên mỗi cây cà phê làm thí nghiệm xác định có ấu trùng ve sấu gây hại bằng cách cào lớp mặt hố cà phê. Kết quả thí nghiệm thu được trong Bảng 3.

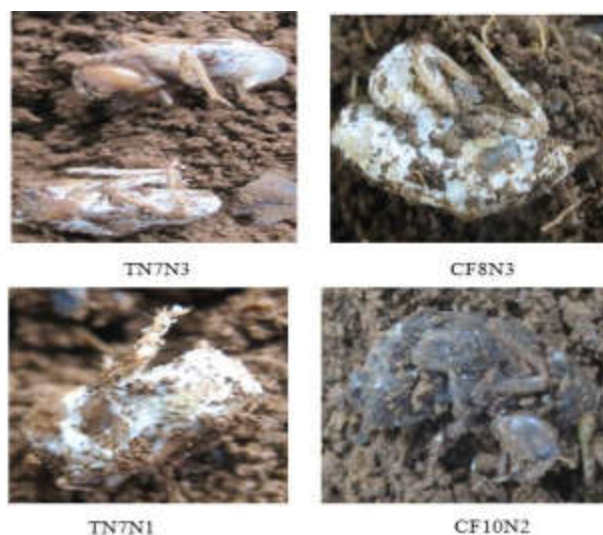
**Bảng 3.** Hiệu quả kí sinh và tiêu diệt ấu trùng ve sấu của của các chủng vi nấm ngoài đồng ruộng sau 30 ngày thí nghiệm (%)

NT	Hiệu quả (%)
NTĐC	0,00 ± 0,00 a
TN7N3	<b>71,67 ± 2,96 c</b>
CF8N3	<b>62,92 ± 7,48 bc</b>
TN7N1	<b>55,63 ± 8,01 b</b>
CF10N2	13,52 ± 4,38 a
TN2N1	0,00 ± 0,00 a

In đậm thể hiện tỉ lệ ấu trùng ve sấu chết bị nấm kí sinh cao

Trong cùng một cột, các giá trị trung bình có kí tự theo sau khác nhau có sự khác biệt về mặt thống kê ( $p < 0,05$ )

Từ Bảng 3 cho thấy, ở thí nghiệm ngoài đồng ruộng các chủng vi nấm có hiệu quả kí sinh làm chết ấu trùng ve sầu sau 30 ngày phun vi nấm. Ở các nghiệm thức đã có sự khác biệt rõ rệt, bên cạnh những chủng nấm không có hiệu quả trong việc tiêu diệt ấu trùng ve sầu đã có những chủng có khả năng tiêu diệt ấu trùng ve sầu tốt. Tỷ lệ ấu trùng ve sầu bị chết và nhiễm nấm giao động từ 0% đến 71,67%, trong đó nghiệm thức xử lí chủng vi sinh TN7N1, CF8N3, TN7N3 cho tỷ lệ ấu trùng ve sầu chết và nhiễm nấm tương ứng 55,63%, 62,95%, 71,67% là cao nhất và có sự khác biệt về mặt thống kê so với các nghiệm thức khác.



**Hình 5.** Ve sầu chết và nhiễm nấm ở các nghiệm thức 30 ngày sau khi phun vi nấm ngoài đồng ruộng

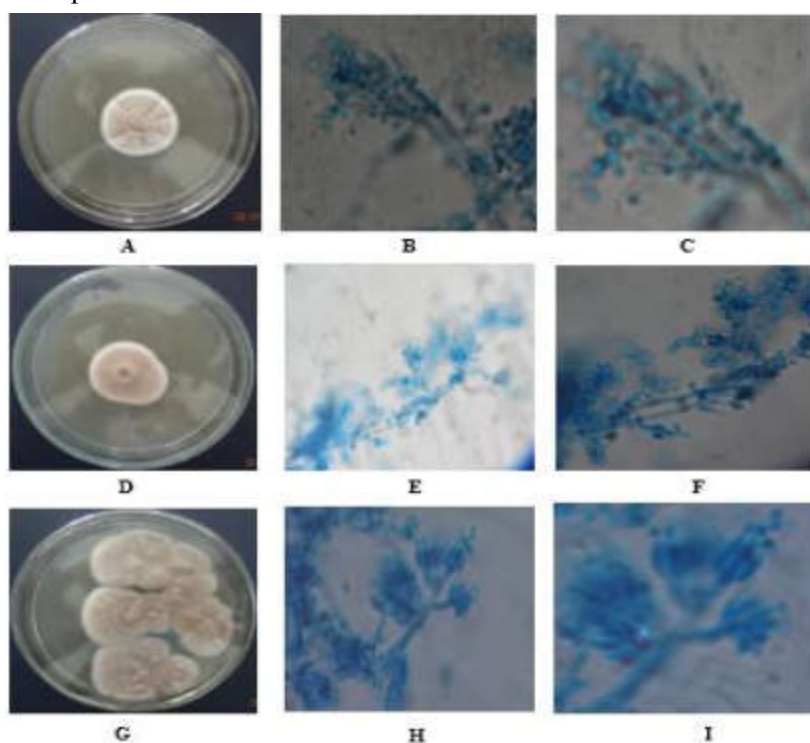
Từ thí nghiệm trong phòng thí nghiệm và thí nghiệm ngoài đồng ruộng cho thấy, khả năng kí sinh và tiêu diệt ấu trùng ve sầu của các chủng vi nấm ở các nghiệm thức trong phòng thí nghiệm chiếm tỷ lệ cao hơn (tối đa 100% sau 9 ngày thử nghiệm) so với khả năng kí sinh và tiêu diệt ấu trùng ve sầu của các chủng vi nấm ở các nghiệm thức thực hiện ngoài đồng ruộng (tối đa 71,67% sau 30 ngày thử nghiệm). Tuy nhiên, 3 chủng vi nấm TN7N1, CF8N3, TN7N3 đều có tỷ lệ tiêu diệt và kí sinh ấu trùng ve sầu lớn nhất và có ý nghĩa về mặt thống kê so với các nghiệm thức khác. Trong đó, có 1/3 chủng được phân lập từ mẫu côn trùng từ rừng tự nhiên và 2/3 chủng được phân lập từ mẫu côn trùng lấy tại vườn cà phê.

### 3.5 Một số đặc điểm sinh học của ba chủng vi nấm tuyển chọn

Chủng TN7N3 mọc sau 1 ngày nuôi cấy trên môi trường PGA, ban đầu có màu trắng, có màu tím nhạt khi phát sinh bào tử; tơ nấm trắng ở rìa khuẩn lạc, dạng bề mặt khuẩn lạc hơi mịn, không có khía; mép khuẩn lạc mỏng, không có giọt tiết; khuẩn lạc không mùi, không tiết sắc tố ra môi trường (Hình 4.A). Đối với chủng CF8N3 khi quan sát đặc điểm khuẩn lạc trên thạch cho thấy ban đầu có màu tím trắng, khi phát sinh bào tử có màu tím; mép khuẩn lạc mỏng, không có giọt tiết; khuẩn lạc tròn, bề mặt khuẩn lạc mịn dạng bột



xốp bông nhẹ, có vòng trong đồng tâm mép viền trắng; khuẩn lạc không mùi, không tiết sắc tố ra môi trường (Hình 4.D). Chủng TN7N1 mọc sau 1 ngày nuôi cấy trên môi trường PGA, ban đầu có màu trắng, có màu tím trắng khi phát sinh bào tử, mép khuẩn lạc mỏng, không có giọt tiết; khuẩn lạc tròn, dạng xốp bông nhẹ, có vòng tròn đồng tâm mép viền trắng, khuẩn lạc không mùi, không tiết sắc tố ra môi trường (Hình 4.F). Sau khi nhuộm để quan sát tơ nấm và bào tử dưới kính hiển vi quang học ở vật kính x40 và x100, cả 3 chủng trên đều có các đặc điểm như sợi nấm có vách ngăn ngang, giá sinh bào tử trần hình thành bó giá. Thể bình rõ rệt, có gốc hình trụ, phần ngọn thon nhỏ đột ngột tạo thành cổ dài, bào tử đính hình thành từ những cụm trên những cuống bào tử đính, bào tử không vách ngăn, hình tròn. Dựa vào đặc điểm của khuẩn lạc, đặc điểm vi học và dựa vào khóa phân loại Robert A. Samson (1984) có thể phân loại các chủng BD1N1, ĐN9N2, ĐN5N1 đều thuộc *Paecylomyces* sp..



**Hình 4.** Khuẩn lạc, tơ nấm, thể bình và bào tử các chủng vi nấm tuyển chọn TN7N3 (A, B, C), CF8N3 (D, E, F), TN7N1 (G, H, I)

#### 4. Kết luận

Đã phân lập và làm thuần được 26 chủng vi nấm từ các mẫu côn trùng và ve sầu nhiễm nấm, trong đó đường kính phân giải chitin của 5 chủng vi nấm TN7N3, CF8N3, TN7N1, CF10N2, TN2N1 là mạnh nhất ( $(\overline{D-d}) \geq 25$  mm) được sử dụng để nghiên cứu khả năng tiêu diệt và kí sinh ấu trùng ve sầu. Từ 5 chủng này đã tuyển chọn được 3 chủng

vi nấm TN7N1, CF8N3, TN7N3 có khả năng tiêu diệt và kí sinh ấu trùng ve sầu mạnh nhất ở cả thí nghiệm trong phòng thí nghiệm và thí nghiệm ngoài đồng ruộng. Đối với thí nghiệm được thực hiện trong phòng thí nghiệm tỉ lệ vi nấm kí sinh ấu trùng ve sầu tại thời điểm 9 ngày ở các chủng TN7N1, CF8N3, TN7N3 tương ứng là 76,67%, 100%, 100%. Ở thí nghiệm bổ sung ngoài đồng ruộng cho thấy kết quả vi nấm kí sinh và làm chết ấu trùng ve sầu sau 30 ngày ở các chủng TN7N1, CF8N3, TN7N3 tương ứng với tỉ lệ 55,63%, 62,92%, 71,67%. Các chủng đều được xác định là *Paecilomyces* sp.

❖ **Tuyên bố về quyền lợi:** Các tác giả xác nhận hoàn toàn không có xung đột về quyền lợi.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Đinh Xuân Thúc, *Bài giảng cây công nghiệp dài ngày*, Trường Đại học Nông lâm Huế, Dự án hợp tác Việt Nam - Hà Lan, 2009.
2. Phạm Thị Vượng; Nguyễn Thị Thùy, “Thành phần ve sầu (Homoptera: Cicadidae) hại cà phê ở Tây Nguyên và một số biện pháp phòng trừ,” *Tạp chí Nông nghiệp & Phát triển nông thôn*, số 1, tr. 22-27, 2010.
3. V. Taborsky, *Small-scale processing of microbial pesticides*, FAO Agric, Service Bull. 96, Food and Agriculture Organization of the United Nations Rome, 1992.
4. M. Shimazu, “*Metarhizium cylindrospora* Chen et Guo (Deutero-mycotina: Hyphomycetes), a causative agent of an epizootic on *Graptopsaltria nigrofusca* Motchulski (Homoptera: Cicadidae),” *Applied Entomology and Zoology*, vol.24, pp. 430±434, 1989.
5. Phạm Thị Thùy, “Nghiên cứu phát triển công nghệ sản xuất chế phẩm nấm *Beauveria* và *Metarhizium* để phòng trừ sâu hại cây trồng nông, lâm nghiệp ở Việt Nam,” *Nông nghiệp & Phát triển nông thôn*, số 12, tr. 18-22, 2009.
6. S. Kiewnick, R.A. Sikora, *Biological control of the root-knot nematode *Meloidogyne incognita* by *Paecilomyces lilacinus* strain 251*, University of Bonn, Institute for Plant Diseases, 2006.
7. Yi-qiu CHAI, Yi-wei JIN, Guan-ju CHEN, You-gao LIU, Xiao-la LI, Gen-e WANG (2007). *Separation of Insecticidal Ingredient of *Paecilomyces cicadae* (Miquel) Samson, Agricultural Sciences in China, Volume 6, Issue 11, Pages 1352-1358*
8. Nguyễn Đức Tiến, Trần Văn Tuấn, Nguyễn Thùy Châu, “Phân lập tuyển chọn nấm *Beauveria bassiana* cho mục đích diệt côn trùng kho bộ cánh cứng (COLEOPTERA),” *Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển nông thôn*, số 5, tr. 414-415, 2002.