

## KHẢO SÁT ĐẶC TÍNH SINH HỌC CỦA CÁC CHỦNG NẤM TÍM *PAECILOMYCES JAVANICUS* KÝ SINH RỆP SÁP GIẢ TẠI ĐỒNG BẰNG SÔNG CỬU LONG

Trần Thị Tho<sup>1</sup>, Trần Văn Hai<sup>2</sup> và Trịnh Thị Xuân<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Trạm khuyến nông thành phố Sa Đéc, tỉnh Đồng Tháp

<sup>2</sup> Khoa Nông nghiệp & Sinh học Ứng dụng, Trường Đại học Cần Thơ

### Thông tin chung:

Ngày nhận: 26/9/2014

Ngày chấp nhận: 07/11/2014

### Title:

Studies on biological characteristics of *Paecilomyces javanicus* fungal infection on mealybug in the Mekong Delta

### Từ khóa:

*Paecilomyces javanicus*, môi trường dinh dưỡng, nấm ký sinh côn trùng, rệp sáp giả, thuốc trừ nấm

### Keywords:

*P. javanicus*, medium nutrition, Entomopathogenic fungi, Mealybug, fungicides

### ABSTRACT

The experiment was conducted to aims at: examine the impact of nutritive ingredients on the growth of fungi *Paecilomyces javanicus*; evaluate the sporulation of fungi *P. javanicus*; test the detrimental effect of fungicides to the growth of *P. javanicus*. The result showed that SDAY3 medium was suitable for the growth of *P. javanicus* fungi. After 14 days of inoculation, *P. javanicus* fungi sporulated  $10^8$  conidia  $\times$   $cm^{-2}$ , respectively. In in vitro condition, the five tested fungicides had detrimental effect on the growth of *P. javanicus* at the recommended dose. Of which Hexaconazole resulted the highly adverse impact while Carbendazim shown the slightly adverse effect on the growth of two tested fungi.

### TÓM TẮT

Thí nghiệm được thực hiện nhằm mục đích: nghiên cứu ảnh hưởng của nguồn dinh dưỡng đến sự phát triển của nấm tím *Paecilomyces javanicus*; khả năng hình thành bào tử của các chủng nấm *P. javanicus* và ảnh hưởng của một số loại thuốc trừ nấm đến sự phát triển của nấm này. Kết quả cho thấy môi trường SDAY3 là môi trường thích hợp cho sự sinh trưởng và phát triển của nấm *P. javanicus*. Sau 14 ngày nuôi cấy nấm *P. javanicus* cho mật số bào tử  $10^8/cm^2$ . Trong điều kiện in vitro cho thấy cả năm loại thuốc trừ bệnh đều ảnh hưởng đến sự phát triển của nấm *P. javanicus* ở liều khuyến cáo (ảnh hưởng cao nhất là hoạt chất Hexaconazole và thấp nhất là hoạt chất Mancozeb).

## 1 MỞ ĐẦU

Việc lạm dụng thuốc trừ sâu để diệt côn trùng đã ngày càng làm gia tăng khả năng kháng thuốc, dẫn đến cần gia tăng số lượng và liều lượng của thuốc để đạt được mức độ kiểm soát mong muốn. Đồng thời việc sử dụng thuốc hóa học còn tiêu diệt hệ thiên địch, gây ra nhiều dịch hại mới, cũng như ảnh hưởng đến sức khỏe con người, động vật và môi trường. Từ thực tế đó, các biện pháp quản lý dịch hại theo hướng sinh học ngày càng được phát triển. Đấu tranh sinh học trong đó nấm gây bệnh côn trùng được phát hiện đã dần thay thế cho thuốc

hóa học kiểm soát côn trùng gây hại vì biện pháp này rất an toàn cho cây trồng, động vật và môi trường (Khetan, 2001).

Hiện nay, có hơn 100 chi với hơn 700 loài nấm ký sinh côn trùng khác nhau và nhiều loài trong số đó có tiềm năng lớn trong quản lý dịch hại côn trùng (Roberts, 1989). Trong các loài nấm ký sinh gây bệnh ở côn trùng có nấm *Paecilomyces javanicus* thuộc lớp nấm bất toàn (Deuteromycetes) giống *Paecilomyces* (Phạm Thị Thủy, 2004). Nấm *P. javanicus* có thể ký sinh nhiều loài thuộc bộ cánh cứng (Coleoptera), bộ cánh nửa cứng

(Hemiptera), bộ cánh màng (Hymenoptera), bộ cánh vẩy (Lepidoptera) và bộ 2 cánh (Diptera) (Trần Văn Mão, 2002).

Tại Việt Nam, nghiên cứu ứng dụng nấm này còn rất ít, các cơ sở dữ liệu về đặc tính sinh học vẫn còn rất hạn chế.

## 2 PHƯƠNG TIỆN VÀ PHƯƠNG PHÁP

### 2.1 Phương tiện

– Các mẫu nấm tím *Paecilomyces javanicus* phân lập từ rệp sáp ngoài tự nhiên, tách lọc thu bào tử thuần trên môi trường PDA.

– Hộp nuôi sâu, giấy lót, beaker, bình tam giác, nước cất, giấy thấm, kẹp inox, cọ lông, kéo, keo dán, bút lông, lamme đếm hiệu Thoma, lamme, pipette, cồn 70% để khử trùng dụng cụ, bọc giấy, dụng cụ đo nhiệt độ,...

Kính hiển vi tương phản pha, máy Vortex, lò vi sóng, thiết bị thanh trùng, tủ lạnh, tủ đông, cân điện tử.

### Các loại môi trường sử dụng trong nghiên cứu

Môi trường phân lập ban đầu PDA (Potato Dextrose Agar): 200g khoai tây, 20g dextrose, 20g agar, 1000 ml nước cất.

Môi trường CDA (Czapek – Dox Agar): 30g sucrose, 20g agar và một số vitamin dưỡng chất.

Môi trường SDAY<sub>1</sub> (Sabouraud Dextrose Agar Yeast): 10g pepton, 40g dextrose, 2g yeast extract, 20g agar, 1000 ml nước cất, pH 6,5.

Môi trường SDAY<sub>3</sub> (Sabouraud Dextrose Agar Yeast có thêm khoáng chất): 10g pepton, 40g dextrose, 2g yeast extract, một số chất khoáng, 1000 ml nước cất.

Môi trường SDAY<sub>3</sub> + K (Sabouraud Dextrose Agar Yeast + Chitin): 2g yeast extract, 2g pepton, 20g dextrose, 20g agar, 5g kitin, 1000 ml nước cất, pH 6,5.

### 2.2 Phương pháp

2.2.1 *Phân lập và xác định loài nấm tím Paecilomyces javanicus ký sinh rệp sáp theo phương pháp truyền thống*

Thu mẫu rệp sáp bị nấm tím ký sinh ngoài tự nhiên về phòng thí nghiệm phát triển chế phẩm sinh học (NEDO), Bộ môn Bảo vệ Thực vật, Khoa Nông nghiệp và Sinh học Ứng dụng, Trường Đại học Cần Thơ để phân lập tác nhân. Nấm được nuôi cấy trên môi trường PDA, tạo thuần bằng phương

pháp nuôi cấy đơn bào tử trên môi trường chọn lọc. Định danh nấm theo Barnett and Barry (1972), Lawrence (1994), De Hoog (1972), Luangsa-ard *et al.* (2006)

### Phương pháp và chỉ tiêu theo dõi

– Đặc điểm khuẩn lạc; đặc điểm cơ quan sinh bào tử và hình dạng bào tử; kích thước bào tử: theo phương pháp của Reza *et al.* (2006); tỷ lệ nảy mầm của bào tử: theo phương pháp Milner *et al.* (1991).

2.2.2 *Nghiên cứu ảnh hưởng của nguồn dinh dưỡng đến sự phát triển của các chủng nấm Paecilomyces javanicus*

Thí nghiệm được thực hiện theo phương pháp của Kamp and Bidochka (2002) trên năm loại môi trường PDA, CDA, SDAY<sub>1</sub>, SDAY<sub>3</sub> và SDAY<sub>3</sub> + K với 4 lần lặp lại.

### Phương pháp và chỉ tiêu theo dõi

– Đường kính khuẩn lạc (cm) và số lượng bào tử/cm<sup>2</sup>.

2.2.3 *Ảnh hưởng của một số loại thuốc trừ nấm đến sự phát triển và nảy mầm của nấm Paecilomyces javanicus*

Thí nghiệm được thực hiện theo phương pháp của Rachappa, (2006) và Amutha *et al.* (2010). Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên, 5 lần lặp lại tương ứng với 5 đĩa petri. Các nghiệm thức gồm 5 loại thuốc trừ nấm: Carbendazim (Carzenthai 50SC), Difenoconazole (Score 250 EC), Chlorothalonil (Daconil 75WP), Hexaconazole (Tecil 5SC), Mancozeb (Man 80WP). Nghiệm thức đối chứng không xử lý thuốc.

*Các chỉ tiêu theo dõi:*

– Đường kính khuẩn lạc (cm) và tính phần trăm sự phát triển của sợi nấm bị ức chế so với đối chứng theo công thức:

$$I = [(C-T)/C] * 100$$

Trong đó: I: % khuẩn lạc bị ức chế.

C: đường kính khuẩn lạc được đo ở nghiệm thức đối chứng.

T: đường kính khuẩn lạc được đo ở nghiệm thức xử lý thuốc.

(Theo công thức Abbott (1925) và Viện nghiên cứu cao su Việt Nam (2006))

Ảnh hưởng của thuốc được đánh giá theo bốn cấp độ: cấp 1: không ảnh hưởng (<50 % khuẩn lạc bị ức chế), cấp 2: ảnh hưởng yếu (50 - 79 %), cấp 3: ảnh hưởng vừa (80 - 90 %), cấp 4: ảnh hưởng cao (>90 %) (Hassan, 1989).

– Số lượng bào tử tạo thành/cm<sup>2</sup>: được tính một lần ở thời điểm 15 NSKC, thu bào tử trên các nghiệm thức và xác định mật số bào tử bằng lamme đếm hồng cầu hiệu Thomas dưới kính hiển vi.

– Mật số bào tử/cm<sup>2</sup> = số lượng bào tử (bt/ml)/diện tích khuẩn lạc.

### 3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

#### 3.1 Xác định loài dựa vào phân loại hình thái của các chủng nấm

Kết quả đã thu thập được 7 mẫu nấm ký sinh côn trùng tại Tp. Cần Thơ, tỉnh Vĩnh Long và tỉnh Sóc Trăng được trình bày ở Bảng 1.

**Bảng 1: Các chủng nấm *P. javanicus* đã được phân lập và sử dụng trong thí nghiệm**

STT	Ký hiệu mẫu	Ký chủ (tên thường gọi, tên khoa học, bộ, họ)	Địa điểm thu thập (quận, huyện, tỉnh)
1	Pae3-CT	Rệp sáp giả ( <i>Icerya</i> sp.) (Bộ: Homoptera, Họ: Margarodidae)	Cần Thơ
2	Pae4-CT	Rệp sáp giả ( <i>Icerya</i> sp.) (Bộ: Homoptera, Họ: Margarodidae)	Cần Thơ
3	Pae5-CT	Rệp sáp giả ( <i>Icerya</i> sp.) (Bộ: Homoptera, Họ: Margarodidae)	Cần Thơ
4	Pae6-CT	Rệp sáp giả ( <i>Icerya</i> sp.) (Bộ: Homoptera, Họ: Margarodidae)	Cần Thơ
5	Pae7-VL	Rệp sáp giả ( <i>Icerya</i> sp.) (Bộ: Homoptera, Họ: Margarodidae)	Vĩnh Long
6	Pae8-VL	Rệp sáp giả ( <i>Icerya</i> sp.) (Bộ: Homoptera, Họ: Margarodidae)	Vĩnh Long
7	Pae9-ST	Rệp sáp giả ( <i>Icerya</i> sp.) (Bộ: Homoptera, Họ: Margarodidae)	Sóc Trăng

Qua Bảng 1 cho thấy đã thu được 7 chủng nấm tím ký sinh trên rệp sáp giả. Trên các mẫu nấm thu được cho thấy rệp sáp giả khi nấm ký sinh cơ thể được phủ một lớp như bột màu trắng sau đó chuyển dần sang màu tím.

#### Đặc điểm khuẩn lạc của các chủng nấm

Cả bảy chủng nấm thu được đều phân lập trên môi trường PDA và có đặc điểm như sau: Các chủng nấm có khuẩn lạc mọc dạng bông xốp, lúc đầu có màu trắng ngà, sau đó chuyển dần sang màu kem rồi đến màu tím nhạt (khi bào tử già). Khuẩn lạc mọc tỏa tròn, mép khuẩn lạc trơn nhẵn hoặc có răng cưa. Khuẩn lạc kết chặt tạo thành các cột bào tử dính theo các vòng tròn đồng tâm quanh điểm cấy. Theo kết quả nghiên cứu của một số tác giả

như Barnett và Barry (1972), Lawrence (1994), De Hoog (1972), Luangsa-Ard *et al.* (2006) thì ngoài đặc điểm khuẩn lạc, kích thước cơ quan sinh bào tử, hình dạng và kích thước của bào tử là những chỉ tiêu cơ bản để phân biệt và định danh nấm.

#### Đặc điểm cơ quan sinh bào tử, hình dạng bào tử

Qua quan sát về cơ quan sinh bào tử nhận thấy cuống bào tử đỉnh dạng đơn, chúng phân nhánh dưới các dạng vòng không đều, mỗi vòng gồm 2-3 thể bình. Thể bình của các chủng nấm có phần đáy hình trụ, phía trên thon dần thành một cổ mỏng. Bào tử đỉnh dạng chuỗi đỉnh trên các thể bình.

#### Hình dạng và kích thước bào tử

**Bảng 2: Kích thước và hình dạng bào tử của các chủng nấm *P. javanicus***

T: 29<sup>0</sup>C±2; H: 70%±2

Chủng nấm	Kích thước bào tử (TB ± SD)		Hình dạng bào tử
	Chiều dài (µm)	Chiều rộng(µm)	
Pae3-CT	4,8±0,50	1,9±0,19	Hình ovan
Pae4-CT	5,0±0,52	2,1±0,19	Hình ovan
Pae5-CT	4,3±0,54	1,9±0,18	Hình ovan
Pae6-CT	5,1±0,62	1,9±0,26	Hình ovan
Pae7-VL	4,7±0,60	2,0 ±0,16	Hình ovan
Pae8-VL	4,6±0,55	2,0±0,14	Hình ovan
Pae9-ST	5,2±0,71	2,0±0,16	Hình ovan

Ghi chú: Kích thước bào tử được tính theo độ lệch chuẩn trung bình (TB ± SD) của 40 bào tử cho mỗi chủng nấm

Kích thước bào tử là một trong những chỉ tiêu quan trọng để nhận biết sự khác nhau giữa các loài theo phương pháp phân loại truyền thống.

Bào tử có kích thước lớn nhất là chủng Pae7-VL với 5,2±0,71 µm chiều dài và 2,0±0,16 µm chiều rộng, chủng Pae5-CT có kích thước nhỏ nhất

trung ứng chiều dài 4,3±0,54 µm và chiều rộng 1,9±0,18 µm, bào tử có dạng hình ovan.

#### Thời gian bào tử nảy mầm của các chủng nấm

Qua Bảng 3 cho thấy các chủng nấm có tỷ lệ bào tử nảy mầm nhanh dao động từ 2,3 đến 6,8% sau 8 giờ quan sát.

Sau 20 GSKC, các chủng nấm đều có tỉ lệ nảy mầm rất cao, riêng chủng Pae7-VL có tỷ lệ nảy mầm thấp nhất (84,8%) khác biệt ý nghĩa 1% đối với các chủng nấm còn lại.

**Bảng 3: Tỷ lệ nảy mầm của các chủng nấm qua các giờ quan sát**

T: 29°C±2; H: 70%±2

Chủng nấm	Tỉ lệ (%) bào tử nảy mầm tại các thời điểm sau khi cấy			
	8GSKC	12GSKC	16GSKC	20SKC
Pae3-CT	2,3 <sup>f</sup>	36,8 <sup>d</sup>	91,3 <sup>b</sup>	94,8 <sup>ab</sup>
Pae4-CT	3,8 <sup>de</sup>	53,3 <sup>bc</sup>	90,5 <sup>b</sup>	93,3 <sup>b</sup>
Pae5-CT	6,8 <sup>c</sup>	46,5 <sup>c</sup>	94,0 <sup>ab</sup>	96,5 <sup>ab</sup>
Pae6-CT	3,0 <sup>de</sup>	31,3 <sup>de</sup>	67,5 <sup>c</sup>	93,3 <sup>ab</sup>
Pae7-VL	2,5 <sup>de</sup>	26,3 <sup>e</sup>	63,5 <sup>c</sup>	84,8 <sup>c</sup>
Pae8-VL	6,3 <sup>c</sup>	55,8 <sup>b</sup>	89,8 <sup>b</sup>	94,5 <sup>ab</sup>
Pae9-ST	4,0 <sup>d</sup>	46,8 <sup>c</sup>	90,8 <sup>b</sup>	92,5 <sup>b</sup>
CV (%)	9,8	5,5	5,6	4,6
Mức ý nghĩa	**	**	**	**

Ghi chú: Trong cùng một cột các số trung bình có cùng chữ theo sau giống nhau thì không khác biệt nhau qua phép thử DUNCAN. GSKC: giờ sau khi cấy. \*\*: Khác biệt có ý nghĩa mức 1%

**3.2 Ảnh hưởng của nguồn dinh dưỡng đến sự phát triển của nấm Paecilomyces javanicus**

Tại thời điểm 14 NSKC

Ở thời điểm 14 NSKC, khi xét về tương tác giữa môi trường và chủng nấm thì môi trường PDA lại là môi trường cho chiều dài đường kính khuẩn

lạc cao nhất (4,05 cm) và có khác biệt ý nghĩa 1% với các môi trường còn lại. Tiếp theo là môi trường SDAY3 có đường kính khuẩn lạc 3,88 cm có khác biệt ý nghĩa 1% với môi trường CDA (3,75 cm) và SDAY1 (3,46 cm) nhưng không khác biệt với môi trường SDAY+K (3,83 cm), chủng nấm có đường kính khuẩn lạc đạt cao nhất là Pae5-CT (4,34 cm).

**Bảng 4: Đường kính khuẩn lạc (cm) của các chủng nấm P. javanicus trên năm loại môi trường ở giai đoạn 14 NSKC**

T°C: 28±2; H%: 70±2

Chủng nấm (A)	Môi trường (B)					Trung Bình (A)
	PDA	CDA	SDAY1	SDAY3	SDAY3+K	
Pae3-CT	3,75 <sup>c</sup>	4,11 <sup>ab</sup>	3,48 <sup>a</sup>	4,21 <sup>a</sup>	3,96 <sup>c</sup>	3,90 <sup>c</sup>
Pae4-CT	3,80 <sup>c</sup>	3,71 <sup>d</sup>	3,41 <sup>a</sup>	3,61 <sup>b</sup>	3,85 <sup>a</sup>	3,68 <sup>d</sup>
Pae5-CT	5,31 <sup>a</sup>	4,21 <sup>a</sup>	3,78 <sup>a</sup>	4,21 <sup>a</sup>	4,18 <sup>a</sup>	4,34 <sup>a</sup>
Pae6-CT	3,89 <sup>c</sup>	3,19 <sup>e</sup>	3,66 <sup>a</sup>	3,45 <sup>c</sup>	3,69 <sup>c</sup>	3,58 <sup>e</sup>
Pae7-VL	3,48 <sup>d</sup>	3,10 <sup>e</sup>	2,90 <sup>b</sup>	3,28 <sup>d</sup>	3,09 <sup>d</sup>	3,17 <sup>f</sup>
Pae8-VL	4,24 <sup>b</sup>	3,93 <sup>c</sup>	3,49 <sup>a</sup>	4,13 <sup>a</sup>	4,25 <sup>a</sup>	4,01 <sup>b</sup>
Pae9-ST	3,89 <sup>c</sup>	4,00 <sup>bc</sup>	3,48 <sup>a</sup>	4,28 <sup>a</sup>	3,80 <sup>cd</sup>	3,89 <sup>c</sup>
Trung Bình (B)	4,05 <sup>a</sup>	3,75 <sup>c</sup>	3,46 <sup>d</sup>	3,88 <sup>b</sup>	3,83 <sup>b</sup>	
Mức ý nghĩa	F(A)**		F(B)**		F(AB)**	
CV (%)						4,0

Ghi chú: Các giá trị trung bình trong cùng một cột được theo sau bởi một hay nhiều chữ cái giống nhau thì không khác biệt ý nghĩa thống kê ở mức 1% qua phép thử DUNCAN; \*\* khác biệt ở mức ý nghĩa 1%

Tại thời điểm 32 NSKC, khi xét về tương quan giữa môi trường và chủng nấm cho thấy, tại thời điểm 32 NSKC, môi trường SDAY3 và SDAY3+K là môi trường thích hợp cho nhiều chủng nấm phát triển (đường kính khuẩn lạc trong khoảng 8,40-8,49 cm) và không khác biệt ý nghĩa thống kê với

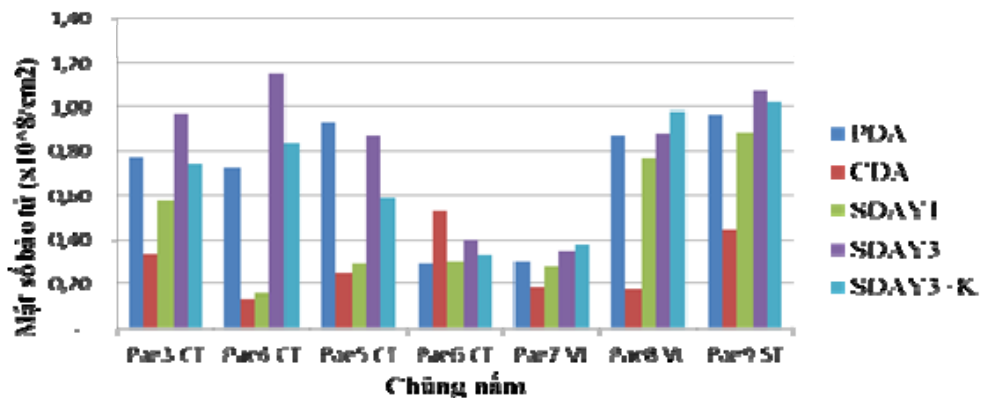
nhau nhưng khác biệt ý nghĩa 1% với các môi trường PDA (7,92 cm), CDA (8,15 cm) và môi trường SDAY1 (6,95 cm). Chủng nấm cho sự phát triển đường kính khuẩn lạc cao nhất là Pae3-CT, Pae5-CT và Pae9-ST lần lượt đạt 8,26; 8,30; 8,22 cm.

**Bảng 5: Đường kính khuẩn lạc (cm) của các chủng nấm *P. javanicus* trên năm loại môi trường ở giai đoạn 32 NSKC**

*T*<sup>0</sup>C: 28±2; *H*%: 70±2

Chủng nấm (A)	Môi trường (B)					Trung Bình (A)
	PDA	CDA	SDAY1	SDAY3	SDAY3+K	
Pae3-CT	7,79 <sup>bc</sup>	8,60 <sup>a</sup>	7,66 <sup>a</sup>	8,58 <sup>b</sup>	8,55 <sup>a</sup>	8,26 <sup>a</sup>
Pae4-CT	7,85 <sup>bc</sup>	8,51 <sup>a</sup>	7,46 <sup>ab</sup>	8,15 <sup>c</sup>	8,41 <sup>ab</sup>	8,10 <sup>b</sup>
Pae5-CT	8,94 <sup>a</sup>	8,66 <sup>a</sup>	6,42 <sup>d</sup>	8,93 <sup>a</sup>	8,46 <sup>ab</sup>	8,30 <sup>a</sup>
Pae6-CT	7,64 <sup>c</sup>	7,04 <sup>b</sup>	7,29 <sup>bc</sup>	8,16 <sup>c</sup>	8,45 <sup>ab</sup>	7,74 <sup>c</sup>
Pae7-VL	7,30 <sup>d</sup>	6,93 <sup>b</sup>	6,26 <sup>d</sup>	7,38 <sup>d</sup>	8,13 <sup>c</sup>	7,22 <sup>d</sup>
Pae8-VL	7,90 <sup>bc</sup>	8,61 <sup>a</sup>	6,44 <sup>d</sup>	8,70 <sup>ab</sup>	8,48 <sup>a</sup>	8,05 <sup>b</sup>
Pae9-ST	8,03 <sup>b</sup>	8,71 <sup>a</sup>	7,11 <sup>c</sup>	8,89 <sup>a</sup>	8,25 <sup>bc</sup>	8,22 <sup>a</sup>
Trung Bình (B)	7,92 <sup>c</sup>	8,15 <sup>b</sup>	6,95 <sup>d</sup>	8,40 <sup>a</sup>	8,49 <sup>a</sup>	
Mức ý nghĩa	F(A)**		F(B)**		F(AB)**	
CV (%)	2,0					

Ghi chú: Các giá trị trung bình trong cùng một cột được theo sau bởi một hay nhiều chữ cái giống nhau thì không khác biệt ý nghĩa thống kê ở mức 1% qua phép thử DUNCAN; \*\* khác biệt ở mức ý nghĩa 1%



**Hình 1: Mật số bào tử của 7 chủng nấm *Paecilomyces javanicus* trên năm loại môi trường dinh dưỡng tại thời điểm 15 ngày sau khi cấy**

Mật số bào tử của 7 chủng *P. javanicus* trên năm loại môi trường dinh dưỡng tại thời điểm 15 NSKC được trình bày ở Hình 1 cho thấy các môi trường PDA, SDAY3 và SDAY3+K đều cho mật số bào tử cao. Trong đó môi trường SDAY3 có nhiều chủng nấm cho mật số cao (0,35-1,15x10<sup>8</sup>/cm<sup>2</sup>). Môi trường cho mật số bào tử cao kế tiếp là SDAY3+K (0,33-1,02x10<sup>8</sup>/cm<sup>2</sup>) và môi trường PDA (0,29-0,97x10<sup>8</sup>/cm<sup>2</sup>). CDA là môi trường cho mật số bào tử thấp nhất (0,13-0,53x10<sup>8</sup>/cm<sup>2</sup>). Chủng Pae6-CT và Pae7-VL cho mật số bào tử thấp trên hầu hết các loại môi trường ngoại trừ môi trường CDA chủng Pae6-CT cho mật số bào tử cao nhất trong các chủng nấm (0,53x10<sup>8</sup> bào tử/cm<sup>2</sup>).

Tóm lại, việc chọn nguồn dinh dưỡng thích hợp để cho nấm phát triển và hình thành bào tử đóng vai trò rất quan trọng trong nghiên cứu sinh học

nhất là đối với việc ứng dụng để quản lý côn trùng gây hại. Môi trường thích hợp sẽ cho nấm phát triển mạnh và sinh bào tử cao. Trong kết quả nghiên cứu này thì môi trường SDAY3, SDAY3+K và PDA là môi trường nuôi cấy nấm *P. javanicus* cho đường kính khuẩn lạc và mật số bào tử cao khoảng từ 0,33 – 1,15 x 10<sup>8</sup> bào tử/cm<sup>2</sup>. Kết quả này phù hợp với nghiên cứu của Boucias và Pendland (1998), các tác giả nhận định rằng chi nấm *Paecilomyces* có thể dễ dàng nuôi cấy trên môi trường Sabouraud dextrose hay potato dextrose.

Ngoài ra, các nghiên cứu được tiến hành trong nước cũng có kết quả tương tự, Phạm Thị Thùy và *ctv.* (1995) đã xác định môi trường Sabouraud bổ sung thêm khoáng chất là môi trường nhân giống nấm côn trùng tốt nhất. Theo Võ Thị Thu Oanh (2010), môi trường có thêm chất kitin là rất cần thiết cho quá trình hình thành bào tử của nấm ký



sinh côn trùng vì đây là môi trường có nguồn đạm rất tốt (cao nấm men và pepton), khi thêm vào 5% chất kitin đã thu được bào tử nhiều.

**3.3 Ảnh hưởng của một số loại thuốc trừ bệnh đối với nấm Paecilomyces javanicus**

Qua kết quả trình bày ở Bảng 6 cho thấy ở thời điểm 10 NSKC, trong năm hoạt chất được thử nghiệm thì có hai hoạt chất Hexaconazole và

Carbendazim ảnh hưởng rất lớn đến sự phát triển của các chủng nấm. Khuẩn lạc bị ức chế 100%, cấp độ ảnh hưởng là cấp 4 (cấp cao nhất). Tiếp theo là hoạt chất Difenoconazole cấp độ ảnh hưởng là cấp 2, đường kính khuẩn lạc bị ức chế 65,8-72,1%. Hai hoạt chất Chlorothalonil và Mancozeb có ảnh hưởng thấp nhất đối với sự phát triển của nấm, khuẩn lạc bị ức chế trong khoảng 12,4-49,2%, cấp độ ảnh hưởng cấp 1 (cấp thấp nhất).

**Bảng 6: Ảnh hưởng của các loại thuốc trừ nấm đến sự phát triển khuẩn lạc nấm P. javanicus ở giai đoạn 10 NSKC**

T<sup>0</sup>C: 29±2; H%: 70±2

Chủng nấm	Môi trường									
	1		2		3		4		5	
	Khuẩn lạc bị ức chế (%)	Cấp độ ảnh hưởng	Khuẩn lạc bị ức chế (%)	Cấp độ ảnh hưởng	Khuẩn lạc bị ức chế (%)	Cấp độ ảnh hưởng	Khuẩn lạc bị ức chế (%)	Cấp độ ảnh hưởng	Khuẩn lạc bị ức chế (%)	Cấp độ ảnh hưởng
Pae3-CT	70,6	2	31,1	1	100	4	100	4	29,0	1
Pae4-CT	65,8	2	46,2	1	100	4	100	4	49,2	1
Pae5-CT	72,1	2	35,4	1	100	4	100	4	42,1	1
Pae6-CT	66,8	2	16,6	1	100	4	100	4	24,7	1
Pae7-VL	67,1	2	21,3	1	100	4	100	4	12,4	1
Pae8-VL	70,1	2	33,2	1	100	4	100	4	35,8	1
Pae9-ST	70,8	2	23,7	1	100	4	100	4	13,5	1

Ghi chú: (1) Difenoconazole; (2) Chlorothalonil; (3) Hexaconazole; (4) Carbendazim; (5) Mancozeb

Cấp 1: không ảnh hưởng (<50% khuẩn lạc bị ức chế), Cấp 2: ảnh hưởng yếu (50 - 79%), Cấp 3: ảnh hưởng vừa (80 - 90%), Cấp 4: ảnh hưởng cao (>90%). (Hassan,1989)

Đến 15NSKC (Bảng 7) cấp độ ảnh hưởng của các hoạt chất thuốc đến sự phát triển của khuẩn lạc không có sự khác biệt so với 10NSKC. Hai hoạt chất Hexaconazole và Carbendazim vẫn có cấp độ ảnh hưởng cao nhất (cấp 4). Tiếp theo hai hoạt chất Chlorothalonil và Mancozeb có ảnh hưởng thấp nhất đối với sự phát triển của nấm (cấp 1), khuẩn

lạc bị ức chế trong khoảng 11,1-47,3% (thấp hơn vào giai đoạn 10NSKC), điều này cho thấy hiệu lực của thuốc đã bắt đầu giảm. Riêng hoạt chất Difenoconazole so với 10NSKC, phần trăm khuẩn lạc bị ức chế cao hơn (66,3-75,1%), có thể nói hiệu lực hoạt chất Difenoconazole chưa giảm sau 15 ngày thí nghiệm.

**Bảng 7: Ảnh hưởng của các loại thuốc trừ bệnh đến sự phát triển khuẩn lạc nấm Paecilomyces javanicus ở giai đoạn 15 NSKC**

T<sup>0</sup>C: 29±2; H%: 70±2

Chủng nấm	Môi trường									
	1		2		3		4		5	
	Khuẩn lạc bị ức chế (%)	Cấp độ ảnh hưởng	Khuẩn lạc bị ức chế (%)	Cấp độ ảnh hưởng	Khuẩn lạc bị ức chế (%)	Cấp độ ảnh hưởng	Khuẩn lạc bị ức chế (%)	Cấp độ ảnh hưởng	Khuẩn lạc bị ức chế (%)	Cấp độ ảnh hưởng
Pae3-CT	71,2	2	27,9	1	100	4	100	4	28,1	1
Pae4-CT	67,6	2	32,9	1	100	4	100	4	47,3	1
Pae5-CT	75,9	2	34,8	1	100	4	100	4	39,3	1
Pae6-CT	73,0	2	17,5	1	100	4	100	4	38,0	1
Pae7-VL	66,3	2	16,8	1	100	4	100	4	17,9	1
Pae8-VL	75,1	2	32,0	1	100	4	100	4	34,0	1
Pae9-ST	73,0	2	20,1	1	100	4	100	4	11,1	1

Ghi chú: (1) Difenoconazole; (2) Chlorothalonil; (3) Hexaconazole; (4) Carbendazim; (5) Mancozeb

Cấp 1: không ảnh hưởng (<50% khuẩn lạc bị ức chế), Cấp 2: ảnh hưởng yếu (50 - 79%), Cấp 3: ảnh hưởng vừa (80 - 90%), Cấp 4: ảnh hưởng cao (>90%). (Hassan,1989)

**Bảng 8: Ảnh hưởng của năm loại thuốc trừ nấm đến khả năng hình thành bào tử của các chủng nấm *P. javanicus* ở thời điểm 15NSKC**

*T<sup>o</sup>C: 29±2; H%: 70±2*

Chủng nấm (A)	Mật số bào tử (x10 <sup>7</sup> ) ở 15NSKC trên môi trường (B)					
	1	2	3	4	5	ĐC
Pae3-CT	0,34 <sup>ab</sup>	4,47 <sup>a</sup>	0,00	0,00	5,32 <sup>ab</sup>	7,58 <sup>b</sup>
Pae4-CT	0,63 <sup>a</sup>	4,60 <sup>a</sup>	0,00	0,00	8,23 <sup>a</sup>	10,26 <sup>a</sup>
Pae5-CT	0,20 <sup>b</sup>	0,50 <sup>d</sup>	0,00	0,00	0,97 <sup>d</sup>	3,18 <sup>c</sup>
Pae6-CT	0,00 <sup>c</sup>	1,05 <sup>c</sup>	0,00	0,00	2,31 <sup>c</sup>	3,97 <sup>de</sup>
Pae7-VL	0,00 <sup>c</sup>	2,40 <sup>b</sup>	0,00	0,00	3,01 <sup>bc</sup>	4,44 <sup>cd</sup>
Pae8-VL	0,37 <sup>a</sup>	3,12 <sup>ab</sup>	0,00	0,00	2,23 <sup>c</sup>	4,49 <sup>cd</sup>
Pae9-ST	0,40 <sup>a</sup>	1,12 <sup>c</sup>	0,00	0,00	2,27 <sup>c</sup>	5,63 <sup>c</sup>
Trung bình (B)	0,28 <sup>d</sup>	2,47 <sup>c</sup>	0,00 <sup>c</sup>	0,00 <sup>c</sup>	3,48 <sup>b</sup>	5,65 <sup>a</sup>
Mức ý nghĩa	F(A)**		F(B)**		F(AB)**	
CV (%)	2,5					

Ghi chú: (1) Difenconazole; (2) Chlorothalonil; (3) Hexaconazole; (4) Carbendazim; (5) Mancozeb

Từ kết quả được trình bày ở Bảng 8, khi xét tương tác giữa môi trường và chủng nấm cho thấy cả năm hoạt chất đều ảnh hưởng đến khả năng hình thành bào tử của các chủng nấm *Paecilomyces javanicus* và có khác biệt ý nghĩa 1% so với đối chứng. Trong đó hai hoạt chất Hexaconazole và Carbendazim ảnh hưởng cao nhất, ức chế hoàn toàn khả năng hình thành bào tử của các chủng nấm. Tiếp theo là hoạt chất Difenconazole, mật số bào tử hình thành thấp trung bình chỉ đạt 0,28 x 10<sup>7</sup> bào tử/cm<sup>2</sup>. Hai hoạt chất Mancozeb và Chlorothalonil là có ảnh hưởng thấp đến khả năng tạo bào tử của các chủng nấm. Trong đó, hoạt chất Mancozeb có ảnh hưởng yếu nhất, mật số bào tử trung bình đạt 3,48x10<sup>7</sup> bào tử/cm<sup>2</sup> và hoạt chất Chlorothalonil mật số bào tử trung bình 2,47x10<sup>7</sup> bào tử/cm<sup>2</sup>.

Tóm lại, sau 15 ngày thử nghiệm cho thấy các thuốc trừ bệnh đều có ảnh hưởng đến sự phát triển của các chủng nấm *P. javanicus*. Trong năm hoạt chất thử nghiệm, hai hoạt chất Hexaconazole và Carbendazim ảnh hưởng cao nhất, ức chế hoàn toàn khả năng phát triển của nấm. Các hoạt chất còn lại mức độ ảnh hưởng thấp hơn. Hoạt chất Mancozeb có ảnh hưởng thấp nhất. Vì vậy, việc sử dụng nấm ký sinh còn trùng phải thận trọng khi có sử dụng thuốc trừ nấm.

**4 KẾT LUẬN**

– Đã thu thập được 7 chủng nấm *P. javanicus* ký sinh trên rệp sáp gây hại vườn cây ăn trái tại Tp. Cần Thơ, tỉnh Vĩnh Long và tỉnh Sóc Trăng.

– Môi trường SDAY3 là môi trường thích hợp cho sự sinh trưởng và phát triển của nấm *P. javanicus*.

- Tại thời điểm 14 ngày sau khi cấy nấm *P. javanicus* cho mật số bào tử 108/cm<sup>2</sup>.
- Hai hoạt chất Hexaconazole và Carbendazim ảnh hưởng cao nhất, ức chế hoàn toàn khả năng phát triển của nấm.

**TÀI LIỆU THAM KHẢO**

1. Amutha, M., J. Gulsar Banu, T. Surulivelu, N. Gopalakrishnan, 2010. Effect of commonly used insecticides on the growth of white Muscardine fungus, *Beauveria bassiana* under laboratory conditions. *Journal of Biopesticides* 3: 143 - 146
2. Barnett H. L. and B. H. Barry, 1972. *Illustrated genera of imperfect fungi*. Burgess Publishing company. Minneapolis Minnesota. 250pp.
3. Boucias d. g. and j. c pendland, 1998. chapter 10: entomopathogenic fungi: fungi imperfecti. in *principles of insect pathology*, pp 312 – 364. springer.
4. De Hoog G. S., 1972. The genera *Beauveria*, *Isaria*, *Tritirachium*, and *Acrodonium* gen. nov. *Centralbureau voor Schimmelcultures, Baarn. Studies in Mycology* 1: 1-41.
5. Fargues J., MC Bon., S. Manguin and Y. Couteaudier., 2002. Genetic variability among *Paecilomyces fumosoroseus* isolates from various geographical and host insect origins based on the rDNA-ITS regions. *Mycol. Res.* 106:pp 1066-1074.
6. Ferron P.,1978. Biological control of insect pests by enthomogenous fungi. *Annual Review of Entomology*, 23: 409-442.

7. Khetan S. K., 2001. Microbial Pest Control, Marcel Dekker, Inc, New York.
8. Lawrence L., 1994. Manual of techniques in insect pathology. Chapter 3: Fungi: Hyphomycetes. Marks. G. and Douglas I. Biological Technnques series: 335-341.
9. Luangsa-ard J. J., N. L. Hywel-Jones, L. Manoch, R. A. Samson, 2005. On the relationships of Paecilomyces sect, Isarioidea species. Vol 109 (5), pp 581 – 589. Publisher. British Mycological Society.
10. Phạm Thị Thùy, 2004. Công nghệ sinh học trong bảo vệ thực vật. NXB Đại học quốc gia Hà Nội. 335 trang.
11. Roberts D. W., 1989. World picture of biological control of insects by fungi. Memorias do Instituto Oswaldo Cruz, 84, 89-100.
12. Steinhaus E. A., 1956. Microbial control—the emergence of an idea. A brief history of insect pathology through the nineteenth century. Hilgardia 26, 107–160.
13. Thomas M. B. and A. F. Read, 2007. Can fungal biopesticides control malaria. Nature Microbiology Reviews 5: 377-383.
14. Trần Văn Mão, 2002. Sử dụng côn trùng và vi sinh vật có ích. Tập II. Sử dụng vi sinh vật có ích. Nhà xuất bản Nông nghiệp, Hà Nội.
15. Trần Văn Mão, 2004. Sử dụng côn trùng và vi sinh vật có ích. Tập II. Sử dụng vi sinh vật có ích. Nhà xuất bản Nông Nghiệp – Hà Nội.
16. Võ Thị Thu Oanh, 2010. Nghiên cứu các đặc tính sinh học và đánh giá độc tính của các mẫu phân lập nấm Beauveria và Metarhizium ký sinh trên trùng gây hại. Luận án tiến sĩ nông nghiệp. Trường Đại học Nông Lâm. Thành phố Hồ Chí Minh.