

ĐỊNH DANH NẤM *Beauveria bassiana* KÝ SINH CÔN TRÙNG GÂY HẠI Ở MỘT SỐ TỈNH ĐỒNG BẰNG SÔNG CỬU LONG BẰNG PHƯƠNG PHÁP POLYMERASE CHAIN REACTION, THỬ HIỆU LỰC CỦA NẤM NÀY VÀ MỘT SỐ THUỐC TRỪ SÂU ĐỐI VỚI SÂU ĂN TẠP (*Spodoptera litura* Fabricius) HẠI RAU¹

Nguyễn Đăng Khoa*, Phạm Thị Kiều Trang*, Huỳnh Tấn Thành*

TÓM TẮT

Thí nghiệm được thực hiện tại phòng thí nghiệm Vi Sinh, Trường Đại học Cửu Long nhằm định danh được chủng nấm *Beauveria bassiana* ký sinh sâu hại cây trồng bằng phương pháp PCR qua thu thập ở một số tỉnh Đồng Bằng Sông Cửu Long, chọn ra được chủng nấm *Beauveria bassiana* và một số loại thuốc trừ sâu (hóa học, sinh học và thảo mộc thực vật) có hiệu quả phòng trừ sâu ăn tạp (*Spodoptera litura* Fabricius). Kết quả đã phân lập được 6 chủng nấm *Beauveria bassiana* ký sinh trên 6 loại côn trùng tại 6 tỉnh An Giang, Đồng Tháp, Vĩnh Long, Cần Thơ, Hậu Giang và Tiền Giang. Trong đó, các chủng nấm được kiểm chứng bằng phương pháp PCR với cặp mồi Bebas spF- Bebas spR. Sản phẩm PCR của 6 chủng nấm Bb - AG, Bb - ĐT, Bb - VL, Bb - CT, Bb - HG, Bb - TG là những băng màu có kích thước 540 bp đã xác định được chúng đều là loài *Beauveria bassiana* Vuill. Qua khảo sát hiệu lực cho thấy chủng nấm Bb - AG hiệu quả cao sau 3 ngày phun thuốc.

Từ khóa: PCR, *Beauveria bassiana*, *Spodoptera litura* Fabricius

ABSTRACT

The study was carried out at the laboratory Microbiology, Mekong University to confirm the identification of *Beauveria bassiana* fungi collected from vegetable crops in some provinces of the Mekong delta using PCR technique, *Beauveria bassiana* isolates were selected and some pesticides (chemical, biological and botanical plants) effective control of pests worm omnivorous (*Spodoptera litura* Fabricius). The result has been isolated 6 *Beauveria bassiana* parasitic on insects in 6 provinces of An Giang, Dong Thap, Vinh Long, Can Tho, Tien Giang and Hau Giang. In particular, the isolates were tested by PCR with primers Bebas spF- Bebas spR. The PCR product of 6 isolates Bb - AG, Bb - ĐT, Bb - VL, Bb - CT, Bb - HG, Bb - TG is the color band size of 540 kp was identified *Beauveria bassiana* Vuill. The survey showed that isolates effect Bb - AG effective 3 days after spraying.

Keywords: PCR, *Beauveria bassiana*, *Spodoptera litura* Fabricius

¹Đề tài này được Trường Đại học Cửu Long hỗ trợ kinh phí nghiên cứu giai đoạn 2013-2014

*Sinh viên ngành Công nghệ Sinh học, Khóa 12, Khoa Khoa học Nông nghiệp, Trường Đại học Cửu Long

1. Đặt vấn đề

Đồng bằng sông Cửu Long được xem là nơi có diện tích trồng rau lớn nhất Việt Nam. Ngoài những yếu tố bất lợi như thời tiết, bệnh hại thì dịch hại là một yếu tố gây hại quan trọng làm ảnh hưởng tới năng suất của hoa màu. Bên cạnh đó, người nông dân chỉ biết phun thuốc hóa học là chính mà chưa quan tâm đến các biện pháp khác như phòng trừ sinh học, dẫn đến mất cân bằng sinh thái, tác động đến môi trường và sức khỏe. Nghiên cứu được thực hiện nhằm định danh chủng nấm *Beauveria bassiana* ký sinh sâu hại cây trồng bằng phương pháp PCR qua thu thập ở một số tỉnh ĐBSCL, và chọn ra được chủng nấm Bb và một số loại thuốc trừ sâu (hóa học, sinh học và thảo mộc thực vật) có hiệu quả phòng trừ sâu ăn tạp (*Spodopera litura* Fabricius) hại rau trong việc giúp nông dân phòng trị đạt hiệu quả tối ưu, duy trì nền nông nghiệp bền vững.

2. Phương pháp nghiên cứu

2.1. Thu thập, phân lập và định danh mẫu sâu hại cây trồng bị nhiễm nấm *Beauveria bassiana* ở một số tỉnh ĐBSCL

Thu thập những mẫu sâu hại: Thu các mẫu sâu hại bị nhiễm nấm tự nhiên trên các sâu hại tại những nơi trồng rau ở 6 tỉnh ĐBSCL.

Phân lập, tách rông và định danh (qua quan sát hình thái bên ngoài): Dùng que cấy lấy một ít bào tử nấm trên thân sâu rồi cấy theo đường zigzag vào đĩa petri chứa môi trường Potato Glucose Agar (PGA). Sau 4-5 ngày chọn những khuẩn lạc có màu sắc đặc trưng của nấm *Beauveria bassiana*, cấy truyền 3-4 lần sang đĩa petri khác để tinh rông. Sau đó tiến hành định danh dựa theo khoá phân loại nấm của Barnett, H. L. và Barry B. Hunter (1998).

2.2. Xác định chủng nấm *Beauveria bassiana* ký sinh trên sâu hại cây trồng bằng phương pháp PCR

2.2.1. Ly trích DNA

Mẫu nấm được nuôi cấy trên môi trường PGA khoảng 4-6 ngày ở nhiệt độ và ánh sáng tự nhiên (nhiệt độ phòng), sau khi *Beauveria bassiana* đã được rông thì tiến hành ly trích DNA theo quy trình ly trích DNA thực vật căn bản của Rogers và Bendich (1988) nhưng có thêm một số bước thay đổi:

- Bật water bath ở 65°C - Cho 3 ml EB vào đĩa chứa nấm, cạo lấy bào tử nấm trên môi trường nuôi cấy cho vào cối (cối và chày đã được khử trùng bằng cồn 70%).

- Cho các viên bi thủy tinh vào vừa phải (20-30 viên), nghiền nấm bằng chày thật kỹ.

- Hút vào hai tube (loại 2 ml), mỗi tube 1 ml + 100 µl SDS 10%. Trộn đều.

- Ủ tube chứa dịch nấm ở 65°C trong 30 phút (5 phút đảo một lần).

- Ly tâm 13000 vòng/phút, trong 10 phút.

- Chuyển 800 µl dịch nổi vào tube mới (cẩn thận không hút phần tủa ở màng dưới), thêm lượng tương đương isopropanol (800 µl).

- Vortex tube chứa dịch nấm trong 1 phút.

- Ủ 10-30 phút trong nước đá.

- Ly tâm 13000 vòng/phút, 10 phút.

- Bỏ phần dịch nổi, hòa tan DNA trong 500 µl TE 1X trộn đều DNA.

- Thêm 500 µl dung dịch đệm CTAB, ủ ở 65°C trong 15 phút (5 phút đảo tube một lần).

- Thêm 1ml chloroform: isoamyl alcohol

(24:1) trộn đều (đảo tube 100 lần), để loại bỏ những thành phần không mong muốn trong mẫu.

- Ly tâm 13000 vòng/phút, 5 phút. Protein sau khi bị biến tính sẽ không hòa tan trong pha nước có chứa acid nucleic, hình thành một màng ngăn giữa DNA và protein sau khi ly tâm.

- Chuyển phần dịch trong phía trên vào tube mới (loại 2,2 ml) thêm 1 ml ethanol 100%, để ở nhiệt độ phòng 15 phút.

- Ly tâm 13000 vòng/phút trong 10 phút để loại bỏ phần nước. Các DNA có trọng lượng phân tử thấp (bị gãy do thao tác hoặc các enzyme nội bào giải phóng ra môi trường khi phá vỡ tế bào) không bị tủa.

- Phần DNA tủa sẽ được rửa để loại bỏ các dấu vết của isopropanol còn dính lại trên mẫu bằng cách cho vào 500 μ l ethanol 70% (2 lần). Mỗi lần rửa sẽ đem ly tâm ở 13.000 vòng/phút trong 5 phút ở nhiệt độ phòng.

- Bỏ hết dịch nổi (cẩn thận không làm tróc tủa DNA), ly tâm chân không trong 20 phút 45°C để loại bỏ ethanol.

- Hòa tan DNA trong 100 μ l nước cất 2 lần.

Kiểm tra độ tinh sạch của DNA bằng cách đo chỉ số OD_{260nm} (bước sóng 260 nm). Nguyên tắc của phương pháp này dựa vào sự

hấp thụ ánh sáng tử ngoại bước sóng 260 nm của các base purine và pyrimidine. Giá trị mật độ quang ở bước sóng 260 nm của các mẫu đo cho phép xác định nồng độ acid nucleotide trong mẫu.

Cách tiến hành:

- Pha loãng 20 với tỉ lệ 5 μ l mẫu DNA + 95 μ l H₂O.

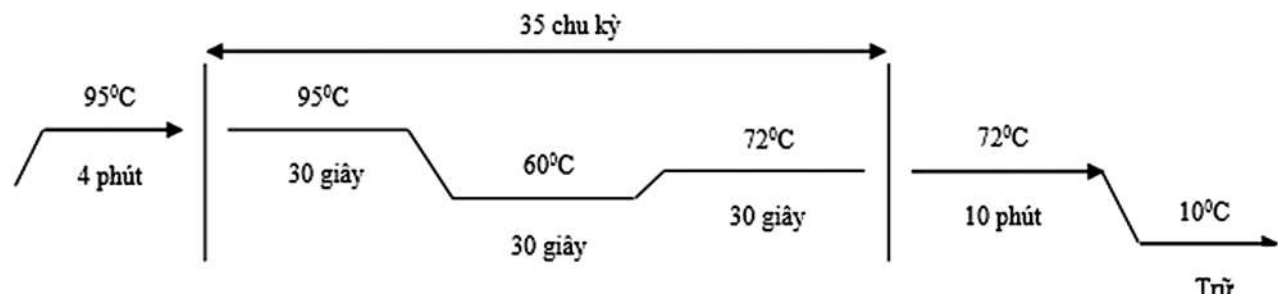
- 1 đơn vị OD = 50 ng/ μ l DNA. Từ đó, tính toán nồng độ DNA có trong mẫu theo công thức: Nồng độ DNA = Chỉ số OD \times 50 \times Độ pha loãng (ng/ μ l).

2.2.2. Phản ứng PCR

Tổng thể tích 01 phản ứng 25 μ l.

Cho vào mỗi tube nhỏ 20 μ l mix + 5 μ l DNA = 25 μ l (trừ mẫu đối chứng âm là 20 μ l mix + 5 μ l nước cất 2 lần). Phản ứng PCR được thực hiện với các thành phần như sau: 50-100ng DNA, 2.5 μ l buffer 10X (Tris 100 mM, KCl 500 mM, pH 9.0, 1% (v/v) Triton X-100), 3 μ l MgCl₂ 25mM, 4 μ l dNTP (0.2 mM mỗi loại), 0.4 μ M của mỗi loại mồi (mồi ngược và mồi xuôi), 0.25 μ l Taq DNA polymerase (5U/ μ l), 0.25 μ l BSA (0.1%). Thêm nước cất vô trùng cho đủ thể tích 25 μ l.

Cho vào máy PCR và tinh chỉnh thời gian, nhiệt độ.



Hình 1. Chu trình nhiệt phản ứng PCR của nấm *Beauveria bassiana*

Chu trình nhiệt của nấm *Beauveria bassiana* là 60⁰ vì theo Fernandes và Robert (2008), nấm trắng *Beauveria bassiana* cần nhiệt độ thấp hơn để gắn các cầu nối lại với chu kỳ đủ dài để chuẩn bị cho bước kéo dài chuỗi DNA.

2.2.3. Điện di gel chứa sản phẩm phản ứng PCR

Các sản phẩm DNA của nấm sau khi đã khuếch đại bằng phản ứng PCR sẽ tiếp tục được phân tích bằng điện di trên gel agarose 1,5% với TBE 1 X buffer có nhuộm với Ethidium bromide (0,8 µl). Sau khi điện di trên gel agarose, các mẫu DNA của nấm *Beauveria bassiana* được quan sát kết quả dưới tia UV (bước sóng 260 nm) để xác định chất lượng của DNA, cũng như để phát hiện loài nấm muốn định danh. Sử dụng thang chuẩn Generuler 100 bp ladder (của hãng Fermentas) với cặp mỗi đặc hiệu để ước lượng kích thước của băng DNA nấm trên hình gel chụp được.

Bước 1: Chuẩn bị gel agarose 1,5%

Bước 2: Chạy điện di trên gel agarose

Load 10 µl thang chuẩn vào giếng thứ nhất, load 10 µl *Beauveria bassiana* chuẩn đã trộn 2 µl loading buffer vào hai giếng tiếp theo, load vào mỗi giếng 10 µl dung dịch sản phẩm PCR đã được trộn 2 µl loading buffer, sau cùng

là 10 µl bi nước. Đặt khuôn gel vào bể điện di TBE buffer 1X cho ngập giếng. Bật nguồn điện cho thiết bị chạy ở 100V trong khoảng 70-80 phút. Quan sát khi thấy chất chỉ thị màu di chuyển đến gần cuối gel (cách 1-2cm), tắt nguồn điện, lấy khuôn gel ra khỏi thiết bị điện di, chụp hình gel.

Bước 3: Chụp hình gel đã chạy điện di và lưu hình ảnh vào máy tính

2.3. Thử hiệu lực của chủng nấm *Beauveria bassiana* và một số thuốc trừ sâu đối với sâu ăn tạp hại rau trong điều kiện in vitro

Bố trí thí nghiệm:

Thí nghiệm được tiến hành theo thể thức hoàn toàn ngẫu nhiên với 11 nghiệm thức (6 nghiệm thức là các chủng nấm *Bb* của 6 mẫu sâu hại được thu thập, 1 nghiệm thức thuốc thảo mộc, 2 thuốc sinh học, 1 thuốc hóa học và 1 nghiệm thức đối chứng) và 5 lần lặp lại.

Cách thực hiện:

Thí nghiệm được tiến hành trong phòng thí nghiệm, cho 10 ấu trùng sâu ăn tạp tuổi 2-3 vào hộp nhựa có lót giấy thấm ở dưới đáy hộp và lá cải làm thức ăn cho sâu, bông gòn quấn vào cuộn lá cải để tạo ẩm độ và giữ cho lá cải được tươi, để cho sâu ổn định sau đó tiến hành phun thuốc.

Bảng 1. Các nghiệm thức tham gia thí nghiệm trong điều kiện phòng thí nghiệm

Tên thuốc	Hoạt chất	Nồng độ sử dụng
VITAKO 40WG	Chlorantraniliprole + Thiamethoxam	93,75 mg/500ml nước
REASGANT 3.6EC	Emamectin Benzoate	0,25ml/500ml nước
ANGUN 5WG	Abamectin	312,5 mg/500ml nước
TAKARE 2 EC	Karanjin	1ml/500ml nước
Đối chứng (nước cất)		

Chỉ tiêu theo dõi: ghi nhận mật số sâu sống sót sau 6, 12, 24, 48, 72 và 96 giờ sau khi phun thuốc.

Độ hữu hiệu của nấm được tính theo công thức Abbott.

$$E(\%) = \frac{C-t}{C} * 100$$

E: độ hữu hiệu (%)

C: % sâu còn sống ở NT đối chứng

t: % sâu còn sống ở NT phun nấm/thuốc

3. Kết quả và thảo luận

3.1. Thu thập, phân lập và định danh mẫu sâu hại cây trồng bị nhiễm nấm *Beauveria bassiana* ở một số tỉnh ĐBSCL

Ở ngoài đồng, khi thu sáu mẫu sâu nói trên với triệu chứng cơ thể có phủ một lớp nấm màu trắng nhạt, vào thời gian đầu (1-3 ngày) sau khi nấm *Beauveria bassiana* tấn công thì sợi nấm chưa thể hiện rõ màu sắc đặc trưng mà chỉ biểu hiện sợi nấm màu trắng sữa hơi đục hoặc trắng và rất dễ nhầm với nấm xanh *Metarhizium*

anisopliae hay nấm tím *Paecilomyces* sp. Sau (3-5 ngày) khi nấm tấn công vào cơ thể côn trùng các sợi nấm sinh ra rất nhiều và bao phủ cơ thể côn trùng, lúc này nấm *Beauveria bassiana* có màu trắng nhạt, sợi nấm mịn, đặc trưng hơn (Hình 2). Kết quả quan sát này phù hợp với mô tả của Phạm Thị Thùy (1999), nấm *Beauveria bassiana* là loại nấm có màu trắng nhạt đến ngà, sợi nấm rất mịn nên được gọi là nấm bạch cương (chết cứng có màu trắng rất mịn). Đề tài tiếp tục phân lập, tách ròng và định danh nấm *Beauveria bassiana* trên môi trường PGA.

Bảng 2. Sáu chủng nấm *Beauveria bassiana* thu thập được tại một số tỉnh Đồng bằng sông Cửu Long

Stt	Ký hiệu	Sâu hại	Cây trồng	Nơi thu thập
1	Bb - AG	Sâu ăn tạp (<i>Spodoptera litura</i>)	Cải xà lách	Chợ Mới, An Giang.
2	Bb - ĐT	Sâu ăn lá (<i>Diaphania indica</i>)	Rau muống	Tháp Mười, Đồng Tháp.
3	Bb - VL	Rầy xanh hai chấm (<i>Amrasca biguttula</i>)	Đậu bắp	Long Hồ, Vĩnh Long.
4	Bb - CT	Cào cào (<i>Oxya</i> spp)	Cây bắp	Quận Bình Thủy, Tp. Cần Thơ.
5	Bb - HG	Sâu xanh da láng (<i>Spodoptera exigua</i>)	Bầu, bí, dưa	Châu Thành, Hậu Giang.
6	Bb - TG	Bọ xít nhần (<i>Tessaratomia papilosa</i>)	Nhãn da bò	Cái Bè, Tiền Giang.

Ghi chú: Bb: *Beauveria bassiana*, AG: An Giang, ĐT: Đồng Tháp; VL: Vĩnh Long; CT: Cần Thơ; HG: Hậu Giang; TG: Tiền Giang.

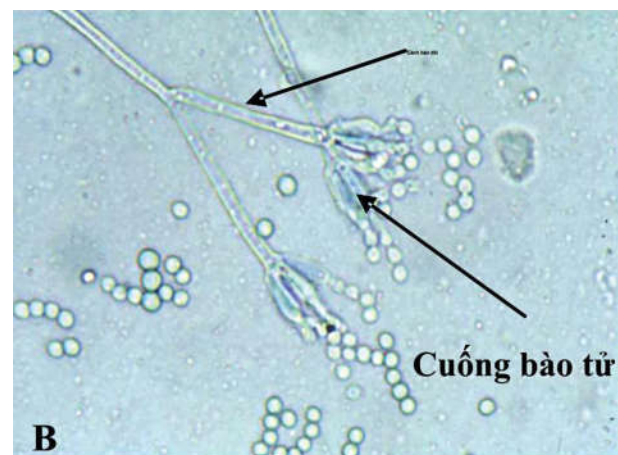
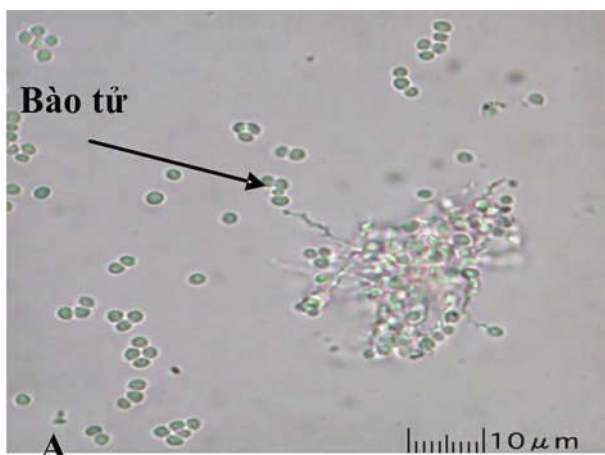
Trên môi trường PGA mặt trên đĩa nấm *Beauveria bassiana* xuất hiện các vòng màu trắng vào một ngày sau khi cấy (NSKC), chuyển sang trắng nhạt (2 NSKC) đến trắng ngà (3 NSKC) và sợi nấm mịn trên nền vàng (màu đặc trưng của nấm *Beauveria bassiana*) từ 4-6 NSKC. Kết quả này tương tự với kết quả quan sát của Lê Hữu Phước (2009), bào tử nấm *Beauveria bassiana* sau khi cấy có màu trắng trong về sau chuyển sang màu trắng nhạt đến ngà, sợi nấm mịn trên nền vàng.

Quan sát khuẩn lạc và bào tử nấm *Beauveria bassiana* dưới kính hiển vi vật kính

40X chúng tôi ghi nhận đặc điểm và kích thước của sáu chủng nấm tương đối giống nhau, bào tử nấm có dạng hình cầu, trụ hay Elip, tơ nấm có màu trắng ngà và mịn, mặt trên đĩa petri có màu trắng ngà đến vàng nhạt trong khi đó mặt dưới đĩa petri có màu trắng đục. Cuống bào tử quan sát nhận thấy có phân nhánh ở cuối sợi nấm, bào tử trên đỉnh cuống dính liền và bào tử mọc thành chùm. Kết quả phù hợp với mô tả của Sussman (1998), Rombach và *ctv* (1994), Lê Hữu Phước (2009), nấm *B. bassiana* có dạng sợi phân nhánh, đường kính 2-4 μm . Bào tử hình cầu, elip có kích thước 4,2 x 5,9 x 8,0 μm .



Hình 2. Khuẩn lạc nấm *Beauveria bassiana* trên môi trường PGA vào các thời điểm (A) ba ngày sau cấy (NSC), (B) năm NSC của chủng nấm Bb- AG.

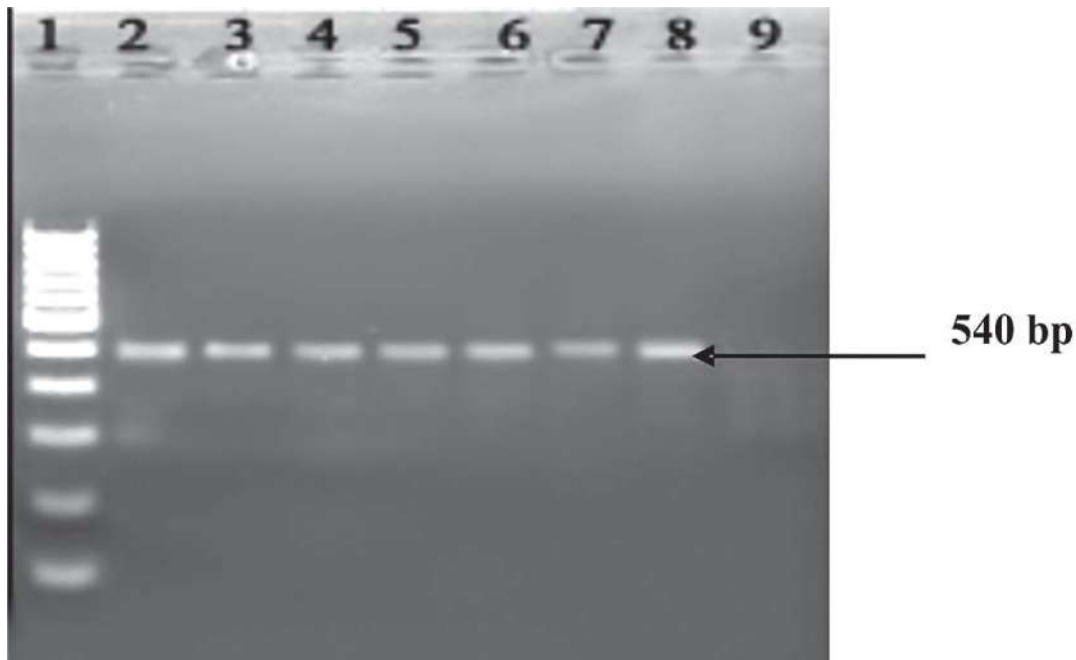


Hình 3. Bào tử (A), cành bào đài và cuống bào tử (B) nấm *Beauveria bassiana*. Hình chụp ở độ phóng đại 40X qua kính hiển vi quang học.

3.2. Xác định chủng nấm *Beauveria bassiana* ký sinh trên sâu hại rau tại một số tỉnh Đồng bằng sông Cửu Long bằng phương pháp PCR

Phản ứng PCR của sáu chủng nấm *Bb*

với hai đoạn mồi chuẩn chuyên biệt là Bebas spF (5' AGT CGT AAC AAG GTC TCC GTT G 3') và Bebas spR (5' GTT CCG GTG CGA GCT GTA TT 3') với 35 chu kỳ nhiệt và được kiểm tra trên agarose gel 1,5%. Kết quả điện di sản phẩm PCR được trình bày ở Hình 4.



Ghi chú: (1) Maker 100 bp; (2) *Bb* - AG; (3) *Bb* - DT; (4) *Bb* - VL; (5) *Bb* - CT; (6) *Bb* - HG; (7) *Bb* - TG; (8) *Bb* chuẩn; (9) nước.

Hình 4. Xác định chủng nấm *Beauveria bassiana* bằng PCR với cặp mồi chuyên biệt *Bebas*- spF và *Bebas* - spR Sản phẩm PCR cho kích thước 540 bp.

Cả 6 chủng nấm *Bb*, *Bb* - AG (giếng số 2), *Bb* - DT (giếng 3), *Bb* - VL (giếng 4), *Bb* - CT (giếng 5), *Bb* - HG (giếng 6) và *Bb* - TG (giếng 7) đều xuất hiện băng ở vị trí 5400 bp tương đương như mẫu nấm *Beauveria bassiana* chuẩn (làm đối chứng dương ở giếng 8). Cặp mồi chuyên biệt *Bebas*- spF và *Bebas* - spR được thiết kế để nhận dạng loài *Beauveria bassiana*, chỉ khuếch đại phân đoạn DNA có kích thước 540 bp ở vùng ITS1 và ITS2 của loài nấm *Beauveria bassiana* mà không cho sản

phẩm PCR với các chủng nấm khác, bên cạnh đó mẫu đối chứng âm với nước cất khử trùng sạch (giếng 9) không tạo sản phẩm khuếch đại, thể hiện tính chất không bị ngoại nhiễm của phản ứng, nâng cao độ tin cậy của kết quả. Do đó có thể kết luận là 6 chủng nấm *Bb* thu thập qua ký sinh trên sâu hại tại 6 tỉnh ĐBSCL cùng là loài *Beauveria bassiana* Vuill, thuộc ngành phụ lớp nấm bất toàn *Deuteromycetes*, bộ *Clavicipitales*.

3.3. Thử hiệu lực của chủng nấm *Beauveria bassiana* và một số thuốc bảo vệ thực vật đối với Sâu ăn tạp (*Spodoptera litura*) hại rau trong điều kiện Invitro

Bảng 3. Độ hữu hiệu (%) của sáu chủng nấm và một số loại thuốc trừ sâu đối với Sâu ăn tạp (*Spodoptera litura*) trong phòng thí nghiệm

Nghiệm thức	6 giờ	Độ hữu hiệu (%) ở các thời điểm sau khi phun thuốc				
		12 giờ	1 ngày	2 ngày	3 ngày	4 ngày
Bb - AG	0 c	0 d	38,63 b	67,67 bc	84,93 ab	100 a
Bb - ĐT	0 c	0 d	25,87 c	46,40 de	60,93 cd	80,83 bc
Bb - VL	0 c	0 d	23,13 c	57,00 cd	72,70 bc	82,90 bc
Bb - CT	0 c	0 d	28,33 c	45,97 ed	57,83 c-e	71,50 cd
Bb - HG	0 c	0 d	26,83 c	36,67 ef	50,33 de	61,17 de
Bb - TG	0 c	0 d	24,57 c	31,33 f	40,33 e	51,33 e
Vitarko 40WG	25,53 a	66,63 a	100 a	100 a	100 a	100 a
Angun 5WG	18,77 b	28,67 b	48,63 b	96,97 a	100 a	100 a
Reasgant 3.6EC	22,33 ab	30,0 b	45,93 b	74,0 b	87,67 ab	90,77 ab
Takara 2EC	0 c	18,0 c	27,67 c	39,0 ef	52,67 de	57,33 e
Nước cất	0 c	0 d	0 d	0 g	0 f	0 f
Mức ý nghĩa	**	**	**	**	**	**
CV(%)	39,66	23,79	16,47	12,83	15,36	2,70

Ghi chú: (**): khác biệt ở mức ý nghĩa 1%. Trong cùng một cột các số trung bình theo sau bởi cùng một chữ thì không khác biệt ý nghĩa qua phép thử Duncan. Số liệu được đổi sang $SQRT(X)$ trước khi phân tích thống kê.

Tóm lại qua thí nghiệm cho thấy chủng nấm *Bb*- AG gây chết cao đối với sâu *S. litura* tương đương về mặt thống kê với nhóm thuốc trừ sâu gốc hóa học, sinh học, tuy nhiên cần thời gian dài hơn, do sâu khi bị nhiễm nấm hoạt động kém, ngừng ăn và sau đó chết từ từ.

4. Kết luận

Đã phân lập và định danh được 6 chủng nấm *Beauveria bassiana* Vuill ký sinh trên 6 loại côn trùng khác nhau hại cây trồng tại 6 tỉnh Đồng bằng sông Cửu Long.

Kiểm tra bằng PCR của 6 chủng nấm này với cặp mồi đặc hiệu, khuếch đại phân đoạn DNA cho sản phẩm PCR có kích thước 540 bp đã xác định được cả 6 chủng nấm này đều là loài *Beauveria bassiana* Vuill, thuộc ngành phụ lớp nấm bất toàn *Deuteromycetes*, bộ *Clavicipitales*.

Khảo nghiệm hiệu lực của 6 chủng nấm *Bb* - AG, *Bb* - ĐT, *Bb* - VL, *Bb* - CT, *Bb* - HG, *Bb* - TG và 4 loại thuốc trừ sâu thảo mộc, sinh học và hóa học đối với sâu *S. litura* trong điều

kiện phòng thí nghiệm cho thấy chủng nấm *Bb* - AG cho hiệu quả cao (trên 84%) sau 3 ngày phun nấm và tương đương về mặt thống kê với nhóm thuốc trừ sâu hóa học Virtako 40WG. Các chủng nấm còn lại hiệu lực thấp hơn (dưới 82%) và giống nhau về mặt thống kê với các nhóm thuốc gốc sinh học, thảo mộc thực vật.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Hamill.R. L *et al.* (1969), "Evaluation of combined effect in dose - response studies by statistical comparison with additive and independent interactions. *J. Pharmacol. Methods* 24, pp. 311-325.
2. Lê Hữu Phước (2009), *Thu thập và định danh ba loại nấm ký sinh côn trùng Metarhizium anisopliae, Beauveria bassiana và Paecilomyces sp. Ở bốn tỉnh đồng bằng sông Cửu Long bằng PCR thử hiệu lực của ba chế phẩm lên một số đối tượng trên rau.* Luận án thạc sĩ chuyên ngành Bảo vệ thực vật, đại học Cần Thơ.
3. Nguyen Thi Loc, Vo Thi Bich Chi, Nguyen Thi Nhan, Nguyen Duc Thanh, Tran Thi Be Hong and Pham Quang Hung (2004), Biocontrol potential of *Metarhizium anisopliae* against coconut beetle, *Brontispa longissima*", *Omon Rice*, Agricultural Publishing House, 12, p. 84-90.
4. Phạm Thị Thùy (1999), *Kết quả ứng dụng nấm Beauveria bassiana để phòng trừ sâu róm thông ở Lâm trường Phù Ban Yên, Sơn La.* Tạp chí Nông Nghiệp và Công Nghệ Thực Phẩm số 3/1999. Trang 119 - 121.
5. Roberls D. W. (1981), "Toxins of entomopathogenic fungi". In: Microbial control of Pests and Plant Diseases 1970 - 1989, *Acadamie Press*, New York, pp. 441-464.
6. Rombach and Agudu (1988), "Variation in the efficacy and viability of Beauveria bassiana in the chinch bug (Hemiptera: Lygacidae) as a result of feeding activity on selected host plants", *Environ. Entomol* 14, pp. 146-148.

Ngày nhận bài: 05/5/2015

Ngày gửi phản biện: 01/7/2015