



KHẢ NĂNG GÂY BỆNH CỦA NẤM KÝ SINH ĐỐI VỚI THÀNH TRÙNG SÙNG KHOAI LANG, *Cylas formicarius* FABR. (COLEOPTERA: CURCULIONIDAE)

Phạm Kim Sơn, Lê Văn Vàng và Trần Văn Hai

Khoa Nông Nghiệp & Sinh học Ứng dụng, Trường Đại học Cần Thơ

Thông tin chung:

Ngày nhận: 23/11/2015

Ngày chấp nhận: 25/07/2016

Title:

Study on pathogenicity of entomopathogenic fungi on the sweet potato weevil adult, *Cylas formicarius* (Coleoptera: Curculionidae)

Từ khóa:

Beauveria bassiana, *Cylas formicarius*, *Metarhizium anisopliae*, *Paecilomyces sp.*, sùng khoai lang

Keywords:

Beauveria bassiana, *Cylas formicarius*, *Metarhizium anisopliae*, *Paecilomyces sp.*, sweet potato weevil

ABSTRACT

The pathogenicity of *Metarhizium anisopliae*, *Beauveria bassiana* and *Paecilomyces sp.* on the sweet potato weevil adult (SPW), *Cylas formicarius* (Coleoptera: Curculionidae), was investigated under laboratory condition. In laboratory condition, at a density of 10^8 spores/ml, the effectiveness of *M. anisopliae* reached 100% at 7 days after inoculation (DAI), not significantly different to that of *B. bassiana* (97.53%), while the effectiveness of *Paecilomyces sp.* reached only 31.39% at 15 DAI. Among tested densities, the effectiveness of *M. anisopliae* at any density from 10^7 - 10^9 spores/ml was not significantly different to each other from 5 DAI. *M. anisopliae* prepared in fresh powder type gave higher and quicker effectiveness on SPW than that of dry powder; similarly, scattering application showed higher and quicker effectiveness on SPW than that of spraying application.

TÓM TẮT

Khả năng gây bệnh của ba loài nấm ký sinh *Metarhizium anisopliae*, *Beauveria bassiana* và *Paecilomyces sp.* đối với thành trùng sùng khoai lang, *Cylas formicarius* (Coleoptera: Curculionidae), đã được khảo sát trong điều kiện phòng thí nghiệm. Trong điều kiện phòng thí nghiệm, ở mật độ 10^8 bào tử/ml, độ hữu hiệu của nấm xanh *M. anisopliae* đạt 100% ở thời điểm 7 ngày sau khi chủng, không khác biệt ý nghĩa so với độ hữu hiệu của nấm trắng *B. bassiana* (đạt 97,53%), trong khi đó độ hữu hiệu của nấm tím *Paecilomyces sp.* chỉ đạt đến 31,39% ở thời điểm 15 ngày sau khi chủng. Giữa các mật số thử nghiệm, độ hữu hiệu của nấm xanh *M. anisopliae* ở các mật số từ 10^7 - 10^9 bào tử/ml là không khác biệt nhau từ 5 ngày sau khi chủng. Chủng nấm xanh *M. anisopliae* ở dạng nấm tươi cho hiệu quả gây chết thành trùng sùng khoai lang cao và nhanh hơn so với dạng nấm bột khô và tương tự xử lý ở hình thức rải nấm cho hiệu lực gây chết thành trùng sùng khoai lang nhanh hơn so với hình thức phun nấm trên bề mặt giá thể trong hộp nhựa.

Trích dẫn: Phạm Kim Sơn, Lê Văn Vàng và Trần Văn Hai, 2016. Khả năng gây bệnh của nấm ký sinh đối với thành trùng sùng khoai lang, *Cylas formicarius* Fabr. (Coleoptera: curculionidae). Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ. 44b: 31-37.

1 GIỚI THIỆU

Sùng khoai lang (SKL), *Cylas formicarius* Fabr. (Coleoptera: Curculionidae) là đối tượng gây hại nghiêm trọng trên khoai lang ở khắp thế giới và Việt Nam (Chalfant *et al.*, 1990; Nguyễn Đức Khiêm, 2006; Nguyễn Văn Huỳnh và Lê Thị Sen, 2011). Sự gây hại của SKL chủ yếu do ấu trùng tấn công bên trong củ khoai lang nằm dưới mặt đất. Để phòng trị hiệu quả loài gây hại này, nông dân canh tác khoai lang thường áp dụng thuốc trừ sâu hóa học ở liều lượng và số lần áp dụng cao. Điều này gây ảnh hưởng xấu đến môi trường và sức khỏe con người. Nhiều giải pháp phòng trị SKL ít độc hại, ít ảnh hưởng đến môi trường sinh thái đã được nghiên cứu và khuyến cáo ứng dụng gồm áp dụng pheromone giới tính (Heath *et al.*, 1991; Jansson *et al.*, 1991), nấm và tuyến trùng ký sinh côn trùng (Yasuda, 1999; Ekanayake *et al.*, 2001) và phòng trừ dịch hại tổng hợp (Talekar, 1991).

Nấm trắng *Beauveria bassiana* (Bb) được xác định là loài nấm ký sinh ở các giai đoạn thành trùng, ấu trùng và nhộng của SKL (Jansson, 1992), đã được áp dụng để phòng trị hiệu quả đối với SKL (Su, 1991; Jansson, 1992; Yasuda, 1999). Tại Đồng bằng sông Cửu Long (ĐBSCL), trong khi nấm xanh *Metarhizium anisopliae* (Ma) đã được nghiên cứu rộng rãi và thương mại hóa dưới các sản phẩm như Ometa, Metarvina,... thì số lượng nghiên cứu và ứng dụng nấm trắng *Beauveria bassiana* (Bb) và nấm tím *Paecilomyces* sp. (Pae) còn rất hạn chế. Thêm vào đó, mặc dù nấm xanh *M. anisopliae* được ghi nhận hiệu quả trên các loài côn trùng gây hại cây trồng như rầy nâu hại lúa, rầy đầu vàng hại mía và bọ cánh cứng hại dưa, vẫn chưa có nghiên cứu đánh giá về hiệu quả của nấm xanh *M. anisopliae* đối với sùng khoai lang.

Bài báo này trình bày kết quả đánh giá hiệu quả của các chủng nấm ký sinh *Ma*, *Bb* và *Pae* trên SKL trong điều kiện phòng thí nghiệm và nhà lưới như là kết quả bước đầu cho việc xây dựng biện pháp quản lý hiệu quả sự gây hại của sùng khoai lang ở điều kiện ngoài đồng theo hướng sinh học, an toàn và thân thiện với môi trường sinh thái.

2 PHƯƠNG TIỆN VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1 Nguồn nấm ký sinh

Các loài nấm ký sinh côn trùng gồm nấm xanh *Metarhizium anisopliae* (Ma), nấm trắng *Beauveria bassiana* (Bb), nấm tím *Paecilomyces* sp. (Pae) được cung cấp từ Phòng thí nghiệm Phòng trừ sinh học, Bộ môn Bảo vệ Thực vật, Trường Đại học

Cần Thơ. Các chủng nấm ký sinh được nuôi cấy trong đĩa petri trên môi trường PDA để tạo bào tử.

- Dung dịch nấm (DDN): chuẩn bị các dung dịch bào tử nấm xanh, nấm trắng và nấm tím bằng cách cho 10 ml nước cất thanh trùng có 0,05% Tween 20 vào đĩa petri nuôi cấy các chủng nấm ký sinh đang ở giai đoạn tạo nhiều bào tử (khoảng 2 tuần sau khi cấy). Sau đó, dùng đĩa thủy tinh hình chữ L cạo nhẹ nhàng bào tử nấm trên bề mặt đĩa petri, rồi lọc dung dịch bào tử nấm qua lớp vải mịn thanh trùng, đếm mật số bào tử trong dung dịch nấm sau lọc bằng lame đếm hồng cầu (Thoma Hemocytometer, Japan), sau đó điều chỉnh mật số bào tử trong dung dịch nấm bằng cách pha loãng với nước cất thanh trùng có 0,05% Tween 20 về mật số bào tử tương ứng của từng nghiệm thức dùng để xử lý những thành trùng SKL vào các dung dịch bào tử nấm đã chuẩn bị sẵn.

- Dạng nấm tươi (DNT): quy trình tạo ra dạng nấm tươi dùng trong thí nghiệm bằng cách thực hiện theo quy trình sản xuất nấm xanh ở qui mô nông hộ để phòng trừ rầy nâu hại lúa tại ĐBSCL. Đầu tiên gạo được ngâm trong nước máy (tap water) khoảng 1 giờ, vo sạch, loại bỏ tạp chất, chất ráo nước và để khô ráo ở điều kiện phòng thí nghiệm trong 1 giờ. Sau đó, gạo làm sạch được cho vào bọc nylon bóng kiếng (polypropylene) (kích thước 20x30 cm) với trọng lượng là 500 g/bọc và thanh trùng bọc gạo này trong autoclave ở nhiệt độ 121°C trong 30 phút. Sau đó lấy bọc gạo ra và để nguội xuống nhiệt độ phòng, tiến hành đem bọc gạo đã thanh trùng này vào bên trong túi cấy vô trùng và cho vào bọc gạo với 1/6 lượng môi trường của đĩa nấm nguồn (nấm xanh) đã được chuẩn bị trước đó và đang ở giai đoạn tạo nhiều bào tử, sau đó buột miệng bọc lại bằng bông gòn thanh trùng rồi để trong điều kiện tự nhiên của phòng thí nghiệm cho nấm phát triển sản sinh ra nhiều bào tử trên môi trường gạo. Sau khi chủng nấm, gạo trong bọc được xáo trộn cho đều 1 lần/ngày. Kiểm tra mật số bào tử ở thời điểm từ 14 ngày sau khi chủng nấm, nếu mật số bào tử đạt trên 10⁸ bào tử/gam thì dạng nấm tươi được sử dụng làm thí nghiệm. Như vậy, bọc gạo sau khi chủng nấm xanh 14 ngày sản sinh ra bào tử nhiều nhất trên môi trường gạo, có thể sử dụng ngay để làm thí nghiệm gọi là dạng nấm tươi (DNT).

- Nấm bột khô (NBK): là dạng nấm tươi (DNT) được sản xuất ra theo quy trình trên, sau đó các bọc gạo có nhiều bào tử nấm xanh này được đổ ra các khay nhựa trải đều và đem sấy khô ở nhiệt độ 38-40°C trong thời gian 3 ngày, công đoạn tiếp theo là nghiền mịn, đóng gói và bảo quản trong

ngăn mát của tủ lạnh, điều kiện nhiệt độ khoảng 5-10°C, cho đến khi làm thí nghiệm, dạng nấm bột khô (NBK) có mật số bào tử khoảng 10^8 bào tử/g bột chế phẩm.

2.2 Củ khoai lang

Củ khoai lang dùng làm thức ăn cho SKL sử dụng trong thí nghiệm được mua tại các chợ khoai lang ở xã Thuận An, huyện Bình Minh, tỉnh Vĩnh Long. Sau khi đem về phòng thí nghiệm tiến hành rửa sạch củ khoai, kiểm tra và lựa chọn những củ khoai tốt, không bị nhiễm sùng để sử dụng trong các thí nghiệm.

2.3 Nguồn sùng khoai lang

Củ khoai bị nhiễm sùng được thu từ các ruộng khoai lang đã thu hoạch tại huyện Bình Tân, tỉnh Vĩnh Long đem về bảo quản trong các xô nhựa tại phòng thí nghiệm. Củ khoai nhiễm sùng được đặt trong các xô nhựa (kích thước 30 x 40 cm, cao 15 cm). Theo dõi hàng ngày, khi sùng vừa vũ hóa và thoát ra khỏi củ khoai lang thì thu các thành trùng SKL này nuôi chung trong các hộp nhựa lớn (đường kính 14 cm, cao 8 cm). Các hộp nhựa này được cho vào 1 miếng bông gòn thấm ướt, giữ ẩm để trong điều kiện nhiệt độ, ẩm độ và ánh sáng của phòng thí nghiệm và cung cấp khoai lang tươi làm thức ăn cho sùng.

2.4 Khảo sát hiệu lực gây chết của dung dịch nấm *Ma*, *Bb* và *Pae* đối với thành trùng SKL trong điều kiện phòng thí nghiệm

Thí nghiệm được bố trí theo thể thức hoàn toàn ngẫu nhiên với 4 nghiệm thức và 3 lần lặp lại. Mỗi lần lặp lại của 1 nghiệm thức là 30 thành trùng SKL được xử lý với dung dịch nấm ở mật số 10^8 bào tử/ml. Sùng được xử lý bằng cách nhúng vào dung dịch thử nghiệm trong 10 giây, sau đó chuyển vào hộp nhựa (kích thước 23 x 16 x 8 cm) có đặt miếng bông gòn thấm ướt để giữ ẩm và khoai lang tươi làm thức ăn. Nghiệm thức xử lý với dung dịch 0,05% Tween 20 trong nước cất thanh trùng được dùng làm đối chứng.

Cách tiến hành: cho khoảng 50 thành trùng SKL vào đĩa petri có chứa 10 ml dung dịch nấm xanh, nấm trắng, nấm tím tương ứng theo từng nghiệm thức, cho mỗi lần lặp lại, sau khi ngâm 10 giây tiến hành vớt sùng ra và chọn 30 cá thể sùng khỏe bò ra ngoài, tách riêng từng con cho vào 30 hộp nhựa nhỏ (nhốt riêng, tránh lây nhiễm nấm qua lại). Mỗi hộp nhựa nhỏ này gồm 1 mẫu giấy thấm giữ ẩm độ, 1 miếng khoai lang nhỏ làm thức ăn và 1 thành trùng SKL đã chủng nấm. Thực hiện tương

tự đối với các nghiệm thức khác (đối chứng thay thế dung dịch nấm bằng nước cất thanh trùng).

Chỉ tiêu ghi nhận là tỷ lệ sùng chết ở các thời điểm 3, 5, 7, 9, 11, 13 và 15 ngày sau khi chủng nấm (NSKC), trung bình ẩm độ và nhiệt độ trong phòng khi bố trí thí nghiệm.

2.5 Khảo sát hiệu lực gây chết của dung dịch nấm xanh (*Ma*) ở các mật số bào tử khác nhau đối với thành trùng SKL trong điều kiện phòng thí nghiệm

Thí nghiệm được thực hiện với 5 nghiệm thức và 3 lần lặp lại, bố trí theo thể thức hoàn toàn ngẫu nhiên. Mỗi lần lặp lại của 1 nghiệm thức là 30 thành trùng SKL được xử lý với 1 mật số bào tử của dung dịch nấm xanh (*Ma*). Các mật số bào tử của nấm xanh (*Ma*) được thử nghiệm gồm 10^9 , 10^8 , 10^7 và 10^6 bào tử/ml. Cách xử lý được tiến hành tương tự như thí nghiệm khảo sát hiệu lực gây chết của các chủng nấm ký sinh *Ma*, *Bb*, *Pae* đối với thành trùng SKL. Nghiệm thức xử lý với dung dịch 0,05% Tween 20 trong nước cất thanh trùng được dùng làm đối chứng. Chỉ tiêu ghi nhận tỷ lệ sùng chết vào các thời điểm 3, 5, 7, 9, 11, 13 và 15 NSKC, ẩm độ và nhiệt độ phòng trong quá trình thực hiện thí nghiệm, hiệu lực của nấm được tính theo công thức Abbott (1925) và phân tích thống kê bằng chương trình Mstatc và kiểm định Duncan.

2.6 Khảo sát hiệu lực gây chết của hai dạng nấm xanh (*Ma*) qua hai hình thức phun nấm và rải nấm trên giá thể đối với thành trùng SKL trong điều kiện phòng thí nghiệm

Thí nghiệm được bố trí theo thể thức hoàn toàn ngẫu nhiên với 5 nghiệm thức và 3 lần lặp lại. Mỗi lần lặp lại của một nghiệm thức là 30 thành trùng SKL được thả trong 1 hộp nhựa lớn và xử lý nấm xanh (*Ma*) tương ứng từng nghiệm thức trong thí nghiệm.

Cách tiến hành: Sử dụng mụn sơ dừa đem ngâm khoảng 2 giờ và xả bằng nước sạch 3 lần, để cho ráo nước, sau đó cho vào các bọc nilon đem thanh trùng bằng Autoclave ở nhiệt độ 121°C trong 30 phút, lấy ra để nguội, rồi cho vào trong các hộp nhựa (kích thước 15 x 15 x 24 cm) và được nén chặt ở đáy hộp nhựa thành lớp mụn sơ dừa dày 2 cm, nhằm giữ ẩm độ và tạo môi trường gần giống như tự nhiên, bên trên có để một miếng củ khoai lang làm thức ăn cho sùng. Tiến hành xử lý với hai dạng nấm xanh đã chuẩn bị sẵn theo hai hình thức rải và phun nấm trên lớp mụn sơ dừa bên trong hộp nhựa thí nghiệm tương ứng theo từng nghiệm thức. Riêng nghiệm thức đối chứng sử dụng nước cất

thanh trùng để phun lên giá thể mụn sơ dừa. Sau khi xử lý nấm xanh, tiến hành cho vào mỗi hộp nhựa gồm 30 thành trùng SKL khỏe mạnh không bị nhiễm nấm ký sinh thoát ra từ các củ khoai lang bị nhiễm sùng được đặt trong các rỗ nhựa. Sau khi thả sùng, bao phủ miệng hộp nhựa lại bằng lớp vải

mỡng không cho sùng thoát ra ngoài. Các nghiệm thức xử lý trong thí nghiệm và mô tả của nghiệm thức được trình bày trong Bảng 1. Theo dõi và ghi nhận tỷ lệ SKL chết vào các thời điểm 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21 và 24 ngày sau khi xử lý (NSKXL).

Bảng 1: Các nghiệm thức xử lý nấm xanh (Ma) trong thí nghiệm hiệu lực gây chết của hai dạng nấm xanh (Ma) trên giá thể đối với thành trùng SKL trong điều kiện phòng thí nghiệm

Nghiệm thức	Hình thức xử lý nấm	Mật số bào tử	Mô tả chi tiết xử lý nấm trong hộp nhựa
DNT-phun	Phun nấm	10 ⁸ bào tử/ml	Dạng nấm tươi hòa với nước + phun ướt đều lên giá thể mụn sơ dừa trong 20 giây, tương đương 5 ml
DNT-rãi	Rãi nấm	10 ⁸ bào tử/g	Dạng nấm tươi + rãi nấm đều lên giá thể mụn sơ dừa (2 g/hộp)
BNK-phun	Phun nấm	10 ⁸ bào tử/ml	Dạng bột nấm khô hòa với nước + phun ướt đều lên giá thể mụn sơ dừa trong 20 giây, tương đương 5 ml
BNK-rãi	Rãi nấm	10 ⁸ bào tử/g	Dạng bột nấm khô + rãi nấm đều lên giá thể mụn sơ dừa (1 g/hộp)
Đối chứng	Phun nước		Phun nước cất thanh trùng ướt đều lên giá thể mụn sơ dừa trong 20 giây, tương đương 5 ml

2.7 Xử lý số liệu

Số liệu ghi nhận được xử lý bằng phần mềm Excel và thống kê bằng chương trình Mstatc và kiểm định Duncan. Độ hữu hiệu (%) được tính bằng công thức Abbott (1925).

3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1 Hiệu lực của ba chủng nấm ký sinh Ma, Bb, Pae đối với thành trùng SKL trong điều kiện phòng thí nghiệm

Kết quả ở Bảng 2 cho thấy thời điểm từ 5 NSKC thì hiệu lực gây chết đối với thành trùng SKL ở các nghiệm thức xử lý nấm Ma đạt 92,7% khác biệt ý nghĩa so với xử lý nấm Bb đạt 79,4% và nấm Pae đạt 25,3%. Từ 7 NSKC, hiệu lực gây

chết của nấm Ma và Bb đạt tối đa tương đương nhau (100% ở nấm Ma và 97,5% ở nấm Bb) cùng khác biệt ý nghĩa so với nấm Pae đạt 27,2%, nhưng đến 15 NSKC thì hiệu lực của nghiệm thức xử lý nấm Pae tăng lên đạt 31,4%, thấp hơn có ý nghĩa so với hai nghiệm thức xử lý nấm Ma và nấm Bb. Kết quả này cho thấy trong điều kiện phòng thí nghiệm, chủng nấm xanh (Ma) và nấm trắng (Bb) có hiệu lực gây chết thành trùng SKL rất cao, còn chủng nấm tím (Pae) cho hiệu lực gây chết sùng kém nhất. Trong đó, chủng nấm xanh (Ma) có hiệu quả gây chết sùng nhanh hơn so với chủng nấm trắng (Bb), thể hiện ở thời điểm 5 NSKC, chủng nấm xanh (Ma) có hiệu lực gây chết sùng đạt 92,7% cao hơn có ý nghĩa so với chủng nấm trắng (Bb), đạt hiệu lực gây chết sùng là 79,4%.

Bảng 2: Hiệu lực gây chết của ba chủng nấm ký sinh Ma, Bb và Pae ở mật số 10⁸ bào tử/ml đối với thành trùng SKL trong điều kiện phòng thí nghiệm

T: 31,3°C; RH: 67,1%

Nghiệm thức	Độ hữu hiệu (%) vào các ngày sau khi chủng (NSKC)						
	3	5	7	9	11	13	15
Nấm xanh (Ma)	43,4 a	92,7 a	100,0 a	100,0 a	100,0 a	100,0 a	100,0 a
Nấm trắng (Bb)	25,3 b	79,4 b	97,5 a	100,0 a	100,0 a	100,0 a	100,0 a
Nấm tím (Pae)	21,7 b	25,3 c	27,2 b	27,2 b	27,6 b	27,6 b	31,4 b
CV (%)	11,0	7,6	9,6	3,6	3,6	3,6	5,7
Mức ý nghĩa	**	**	**	**	**	**	**

Các số trong cùng một cột có cùng chữ theo sau giống nhau thì không khác biệt thống kê ở mức ý nghĩa 1% qua phép thử Duncan; **: khác biệt thống kê ở mức ý nghĩa 1%

3.2 Hiệu lực gây chết của dung dịch nấm xanh (Ma) ở các mật số bào tử khác nhau đối với thành trùng SKL trong điều kiện phòng thí nghiệm

Kết quả ở Bảng 3 cho thấy các nghiệm thức từ Ma-10⁶ đến Ma-10⁹ tương ứng với các mật số bào tử từ 10⁶-10⁹ bào tử/ml của chủng nấm xanh (Ma)

đều cho hiệu lực gây chết đối với thành trùng SKL cao. Trong đó, độ hữu hiệu ở các mật số từ 10⁷-10⁹ bào tử/ml đều không khác biệt ý nghĩa từ thời điểm 7 NSKC. Ở mật số 10⁶ bào tử/ml, mặc dù độ hữu hiệu trên 50% từ thời điểm 5 NSKC, nhưng hiệu lực gây chết sùng luôn thấp hơn khác biệt có ý nghĩa so với các nghiệm thức có mật số bào tử từ 10⁷-10⁹ bào tử/ml.

Bảng 3: Hiệu lực gây chết của chủng nấm xanh (Ma) ở các mật số bào tử khác nhau đối với thành trùng SKL trong điều kiện phòng thí nghiệm

T: 30,2°C; RH: 75,5%

Nghiệm thức	Độ hữu hiệu (%) vào các ngày sau khi chủng (NSKC)						
	3	5	7	9	11	13	15
Ma-10 ⁹	80,5 a	100,0 a	100,0 a	100,0 a	100,0 a	100,0 a	100,0 a
Ma-10 ⁸	50,6 b	92,5 b	100,0 a	100,0 a	100,0 a	100,0 a	100,0 a
Ma-10 ⁷	36,8 b	93,7 ab	94,8 a	97,3 a	98,7 a	98,7 a	98,7 a
Ma-10 ⁶	23,0 c	53,5 c	78,0 b	85,6 b	86,9 b	88,2 b	88,2 b
CV (%)	9,5	9,7	8,2	7,8	6,7	6,0	6,0
Mức ý nghĩa	**	**	**	**	**	**	**

Các số trong cùng một cột có cùng chữ theo sau giống nhau thì không khác biệt thống kê ở mức ý nghĩa 1% qua phép thử Duncan; **: khác biệt thống kê ở mức ý nghĩa 1%

3.3 Khả năng gây bệnh của hai dạng nấm xanh (Ma) qua cách phun và rải nấm trên giá thể đối với thành trùng SKL trong điều kiện phòng thí nghiệm

Kết quả trình bày ở Bảng 4 cho thấy chủng nấm xanh (Ma) ở dạng nấm tươi (DNT) và dạng nấm bột khô (BNK) trong cả hai hình thức xử lý, phun và rải nấm, đều cho tỷ lệ chết đối với thành trùng SKL cao hơn so với đối chứng từ 3 NSKXL đối với dạng nấm tươi (DNT) khi xử lý bằng hình thức rải nấm (DNT-rải) (đạt 10,7%) và 6 NSKXL đối với dạng nấm bột khô (BNK) khi xử lý bằng hình thức rải nấm (BNK-rải) (đạt 8,4%). Ở thời điểm 6 NSKXL, DNT-rải cho tỷ lệ chết của SKL lên đến 79,1%, còn ở nghiệm thức phun nấm chỉ đạt

49,6%. Trong khi đó, tỷ lệ chết SKL ở nghiệm thức BNK-rải chỉ đạt 8,4% và ở nghiệm thức BNK-phun là 5,8% không khác biệt có ý nghĩa so với đối chứng. Tỷ lệ chết SKL ở các nghiệm thức DNT-rải và DNT-phun đạt trên 98,7% và 87,6% vào 9 NSKXL và đạt tối đa vào 12 NSKXL. Trong khi đó, tỷ lệ chết của SKL ở các nghiệm thức BNK-rải và BNK-phun chỉ đạt 72,4% và 57,1% vào 15 NSKXL và chỉ đạt tối đa vào 24 NSKXL. Kết quả này chứng tỏ chủng nấm xanh (Ma) ở dạng nấm tươi (DNT) cho hiệu lực gây chết đối với SKL cao và nhanh hơn so với dạng nấm bột khô (BNK) và xử lý nấm bằng cách rải nấm trên bề mặt giá thể trong hộp nhựa cho hiệu lực gây chết sùng cao hơn so với việc xử lý bằng cách phun nấm trong giai đoạn đầu sau khi xử lý.

Bảng 4: Khả năng gây bệnh của hai dạng nấm xanh qua hai hình thức rải và phun nấm lên giá thể đối với thành trùng SKL trong điều kiện phòng thí nghiệm

T: 30,4°C; RH: 73,7%

Nghiệm thức	Tỷ lệ (%) sùng chết vào các ngày sau khi xử lý (NSKXL)							
	3	6	9	12	15	18	21	24
DNT-rải	10,7 a	79,1 a	98,7 a	100,0 a	100,0 a	100,0 a	100,0 a	100,0 a
DNT-phun	4,4 ab	49,6 b	87,6 b	97,3 a	100,0 a	100,0 a	100,0 a	100,0 a
BNK-rải	4,9 ab	8,4 c	17,8 c	42,7 b	72,4 b	89,3 b	96,9 b	100,0 a
BNK-phun	2,7 b	5,8 cd	15,8 c	32,4 c	57,1 c	82,7 b	96,2 b	100,0 a
Đối chứng	0,9 b	2,7 d	3,8 d	4,7 d	6,67 d	7,8 c	9,3 c	10,7 b
CV (%)	6,6	5,6	2,7	2,9	6,0	3,47	1,2	0,4
Mức ý nghĩa	**	**	**	**	**	**	**	**

Các số trong cùng một cột có cùng chữ theo sau giống nhau thì không khác biệt thống kê ở mức ý nghĩa 1% qua phép thử Duncan; **: khác biệt thống kê ở mức ý nghĩa 1%

4 THẢO LUẬN

Hiệu lực gây chết thành trùng SKL của các chủng nấm ký sinh *Ma*, *Bb* và *Pae* và sự lây nhiễm nấm xanh *M. anisopliae* trên SKL đã được khảo sát trong điều kiện phòng thí nghiệm và nhà lưới. Trong điều kiện phòng thí nghiệm, ở mật số 10^8 bào tử/ml, chủng nấm xanh (*Ma*) cho hiệu lực gây chết đối với SKL (đạt 92,7%) cao hơn so với chủng nấm trắng (*Bb*) (đạt 79,4%) ở thời điểm 5 NSKC; hiệu lực của hai chủng nấm này đạt tối đa (100% và 97,5% tương ứng) và tương đương nhau kể từ thời điểm 7 NSKC. Trong khi đó, hiệu lực của chủng nấm tím (*Pae*) chỉ đạt đến 31,4% ở thời điểm 15 NSKC (Bảng 2), mặc dù hiệu lực gây chết sùng cao hơn khác biệt có ý nghĩa so với đối chứng. Kết quả này chứng tỏ chủng nấm xanh (*Ma*) và nấm trắng (*Bb*) cho hiệu lực gây chết SKL cao, trong khi đó chủng nấm tím (*Pae*) cho hiệu lực gây chết sùng thấp nhất. Thêm vào đó, chủng nấm xanh (*Ma*) có tác động gây chết sùng nhanh hơn so với chủng nấm trắng (*Bb*). Chủng nấm xanh (*Ma*) và nấm trắng (*Bb*) đã được ghi nhận có hiệu quả gây chết trên nhiều loài côn trùng gây hại thuộc bộ cánh cứng (Zelazny, 1989; Trần Văn Hai và *ctv.*, 2006; Rostás and Hilker, 2002; Nussenbaum and Lecuona, 2012). Trong khi đó, một số loài nấm thuộc chi *Paecilomyces* cho thấy hiệu quả trên sâu tơ và tuyến trùng (Kiewnick and Sikora, 2006; Chai *et al.*, 2007). Mặc dù, kết quả ghi nhận trong điều kiện phòng thí nghiệm cho thấy chủng nấm trắng (*Bb*) có tiềm năng trong phòng trị SKL, nhưng do giới hạn của phạm vi thí nghiệm, những khảo sát tiếp theo chỉ được thực hiện trên chủng nấm xanh (*Ma*). Ở mật số 10^9 bào tử/ml, chủng nấm xanh (*Ma*) đạt độ hữu hiệu cao đối với thành trùng SKL là 80,5% ở thời điểm 3 NSKXL. Tuy nhiên, từ thời điểm 5 NSKXL, độ hữu hiệu ở các mật số từ 10^7 – 10^9 bào tử/ml đạt trên 90% và không khác biệt có ý nghĩa thống kê (Bảng 3).

Hiệu lực gây chết thành trùng SKL của chủng nấm xanh (*Ma*) đã được khảo sát xa hơn trong điều kiện nhà lưới ở hai dạng nấm tươi (DNT) và dạng nấm bột khô (BNK) và hai hình thức xử lý là phun và rải nấm trên bề mặt giá thể trong chậu khoai lang. Trong hai dạng nấm xanh (*Ma*) thì dạng nấm tươi (DNT) cho hiệu lực gây chết sùng cao và nhanh hơn so với dạng bột khô (BNK) và hình thức xử lý bằng cách rải nấm cho hiệu lực gây chết sùng cao hơn so với hình thức xử lý bằng cách phun nấm (Bảng 4). Đối với dạng nấm tươi (DNT) xử lý bằng cách rải nấm, tỷ lệ chết của SKL đạt 79,1% ở 6 NSKXL và 98,7% ở 9 NSKXL. Tuy nhiên, trong

điều kiện phòng thí nghiệm có thể thích hợp cho nấm xanh phát triển và lây lan, cần có thêm những đánh giá để kiểm định độ hữu hiệu của chủng nấm xanh này ở điều kiện ngoài đồng. Dạng nấm tươi (DNT) là dạng chế phẩm được thực hiện theo quy trình sản xuất nấm xanh để phòng trị rầy nâu hại lúa cho nông hộ ở một số tỉnh thuộc ĐBSCL. Như vậy, việc ứng dụng dạng chế phẩm này cho đối tượng SKL có thể sẽ dễ dàng được tiếp nhận và phổ biến. Ưu điểm của dạng nấm tươi (DNT) là dễ sản xuất và áp dụng, tuy nhiên dạng chế phẩm này có thời gian tồn trữ ngắn, sau khi chủng nấm vào bọc gạo thanh trùng khoảng 14 ngày là sử dụng ngay, nếu để tiếp tục thì bào tử nấm sẽ bị thoái hóa và chết dần làm giảm mật số bào tử trong chế phẩm và giảm hiệu lực ký sinh gây chết sùng của chủng nấm này. Thực tế cho thấy khi sản xuất chế phẩm nấm xanh ở qui mô nông hộ trong thời gian dài thì chế phẩm dễ bị lây nhiễm bởi những loài vi sinh vật khác làm ảnh hưởng tới chất lượng của chế phẩm, hoặc không sử dụng được chế phẩm do bị nhiễm nấm lạ. Nghiên cứu kéo dài thời gian tồn trữ của nấm xanh (*Ma*) sẽ giúp hạn chế chi phí sản xuất chế phẩm, đồng thời làm giảm sự lây nhiễm vi sinh vật khác cho chế phẩm. Dạng nấm bột khô (BNK) xử lý bằng cách rải nấm cho tỷ lệ chết đối với SKL đạt 72,4% ở 15 NSKXL (Bảng 4), cho thấy tiềm năng của dạng chế phẩm này trong phòng trị SKL. Dạng nấm bột khô (BNK) được sản xuất từ dạng nấm tươi (DNT) với phương pháp đơn giản là sấy khô dạng nấm tươi (DNT) ở nhiệt độ 38-40°C trong 3 ngày, điều này có thể làm ảnh hưởng đến sức sống của bào tử nấm. Cải tiến phương pháp sản xuất chế phẩm nấm xanh dạng bột khô để gia tăng độ hữu hiệu của nấm xanh và khảo sát ảnh hưởng của thời gian tồn trữ lên hiệu lực của chế phẩm dạng bột khô là cần thiết.

5 KẾT LUẬN

Trong điều kiện phòng thí nghiệm, chủng nấm xanh (*Ma*) cho hiệu lực gây chết đối với thành trùng SKL cao và nhanh hơn so với chủng nấm trắng (*Bb*), trong khi đó chủng nấm tím (*Pae*) cho hiệu lực gây chết đối với SKL thấp nhất; hiệu lực gây chết đối với SKL của chủng nấm xanh (*Ma*) ở các mật số từ 10^6 – 10^9 bào tử/ml là cao tương đương nhau từ 5 NSKC.

Trong điều kiện phòng thí nghiệm, khi xử lý chủng nấm xanh (*Ma*) dưới dạng nấm tươi (DNT) cho hiệu lực gây chết đối với thành trùng SKL cao và nhanh hơn so với dạng bột khô (BNK) và việc xử lý bằng cách rải nấm xanh cho hiệu lực gây chết đối với SKL cao và nhanh hơn so với xử lý

bằng cách phun nấm xanh trên bề mặt giá thể trong hộp nhựa.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Chai, Q., Arndt, J. W., Dong, M., Tepp W. H., and Johnson, E. A., 2006. Structural basis of cell surface receptor recognition by botulium neurotoxin B. *Nature* 444: 1096 - 1100.
- Chalfant, R. B., Jansson, R. K., Seal, D. R., and Shalk, J. M., 1990. Ecology and management of sweet potato insects. *Annual Review of Entomology*, 35: 157-180.
- Ekanayake, H. M. R. K., Abeyinghe A. M. C. P., and Toida Y., 2001. Potential of entomo-pathogenic nematodes as bio-control agents of sweet potato weevil, *Cylas formicarius* (Fabricius) (Coleoptera: Brentidae). *Japanese Journal of Nematology*, 31 (1): 19-25.
- Heath, R. R., Coffelt J. A., Proshold F. I., Jansson R. K., and Sonnet P. E., 1991. Sex pheromone of *Cylas formicarius*: History and implications of chemistry in weevil management. In Jansson R. K. and Raman K. V. (eds.). Sweet Potato Pest Management. *Oxford & IBH Publishing*, New Delhi. pp. 79-67.
- Jansson, R. K., Mason, L. J., and Heath, R. R., 1991. Use of sex pheromone for monitoring and managing *Cylas formicarius*, pp. 97-138. In R.K. Jansson and K.V. Raman (eds.), Sweet potato pest management: a global perspective. Westview Press, Boulder and London, 458 pp.
- Jansson, R. K., 1992. Biological approaches for management of weevils of root and tuber crops: A review. *Florida Entomologist*, 75: 568-584.
- Kiewnick, S., and Sikora, R. A., 2006. Biological control of the root-knot nematode *Meloidogyne incognita* by *Paecilomyces lilacinus* strain 251. *Biological Control*, 38: 179-187.
- Nguyễn Đức Khiêm, 2006. Giáo trình côn trùng học nông nghiệp. Nhà xuất bản Nông Nghiệp. Hà Nội, 268 trang.
- Nguyễn Văn Huỳnh và Lê Thị Sen, 2011. Côn trùng gây hại cây trồng. Nhà xuất bản Nông Nghiệp, 88 – 91.
- Nussenbaum, A. L., and Lecuona, R. E., 2012. Selection of *Beauveria bassiana* sensu lato and *Metarhizium anisopliae* sensu lato isolates as microbial control agents against the boll weevil (*Anthonomus grandis*) in Argentina. *Journal of Invertebrate Pathology*, 110: 1-7.
- Rostás, M., and Hilker, M., 2002. Asymmetric plant-mediated cross-effects between a herbivorous insect and a phytopathogenic fungus. *Agricultural and Forest Entomology*, 4(3): 223-231.
- Su, C. Y., 1991. Field application of *Beauveria bassiana* for control of sweet potato weevil, *Cylas formicarius*. *Chinese Journal Entomology*, 11: 174-178.
- Talekar, N. S., 1991. Integrated control of *Cylas formicarius*. In R. K. Jansson and K. V. Raman (eds.). Sweet Potato Pest Management. *Oxford & IBH Publishing*, New Delhi.
- Trần Văn Hai, Trịnh Thị Xuân và Phạm Kim Sơn, 2006. Tạo sinh khối và thử nghiệm hiệu lực của một số loại nấm ký sinh trên sâu ăn tạp và rầy mềm hại rau cải tại TP. Cần Thơ. *Tạp chí nghiên cứu khoa học Trường Đại học Cần Thơ*.
- Yasuda, K., 1999. Auto-infection system for the sweet potato weevil, *Cylas formicarius* Fabricius (Coleoptera: Curculionidae) with entomopathogenic fungi, *Beauveria bassiana*, using a modified sex pheromone trap in the field. *Applied Entomology and Zoology*, 34: 501-505.
- Zelazny, B., 1989. Biological control of *Oryctes rhinoceros* with *Metarhizium anisopliae*. 7 pp.