ĐẶC ĐIỂM HÌNH THÁI, SINH HỌC CỦA MỘT SỐ MẪU NẤM THUỘC CHI *Beauveria* KÝ SINH TRÊN SÂU HẠI CÀ PHÊ ĐƯỢC PHÂN LẬP TẠI SƠN LA

Bùi Thị Sửu, Vũ Phương Liên, Đoàn Đức Lân
Trường Đại học Tây Bắc

Tóm tắt: *Thí nghiệm được thực hiện tại phòng thí nghiệm Bảo vệ Thực vật, Trường Đại học Tây Bắc nhằm thu thập một số chủng nấm ký sinh côn trùng có triển vọng trên rệp sáp mềm nâu, mọt đục quả cà phê tại Sơn La. Năm mẫu nấm thuộc chi Beauveria đã được phân lập trong năm 2019. Trên môi trường PDA, khuẩn lạc của các mẫu nấm có màu trắng và sau đó chuyển sang màu trắng hơi ửng vàng. Các mẫu nấm có cuống bào tử đính phồng lên ở phía dưới có dạng hình bình với chiều dài không đều nhau, đơn lẻ hoặc thành từng cụm. Bào tử đính mọc trên cành bào tử, có dạng đơn bào trong suốt, không có vách ngăn, hình cầu (2,20 - 2,35 x 2,25 - 2,32 µm) hoặc hình trứng (2,36 - 2,97 x 2,25 - 2,84 µm). Đặc điểm sinh học của 5 mẫu nấm cho thấy: tỷ lệ nảy mầm cao trên 90% sau 24 giờ nuôi cấy. Tốc độ phát triển khuẩn lạc nhanh và cho mật số bào tử cao ở thời điểm 14 - 18 ngày sau khi cấy, trong đó mẫu nấm $Bb_5(MCB_1)$ cho mật số bào tử cao nhất. Môi trường PDA, SDAY thích hợp cho sự sinh trưởng và phát triển của nấm thuộc chi Beauveria.*

Từ khóa: *Beauveria; Nấm ký sinh; Mọt đục quả cà phê; Rệp sáp mềm nâu*

1. Mở đầu

Nấm ký sinh gây bệnh trên côn trùng có nhiều loài, trong đó *Beauveria bassiana* có phổ ký chủ rộng, ký sinh gây chết nhiều loại côn trùng gây hại nông lâm nghiệp được quan tâm nghiên cứu phát triển và ứng dụng nhiều trong bảo vệ thực vật. Nấm *Beauveria bassiana* gây bệnh trên 700 loài côn trùng thuộc bộ cánh đều (Homoptera); bộ cánh cứng (Coleoptera), bộ cánh nửa cứng (Hemiptera); sâu non của bộ cánh vẩy (Lepidoptera) và bộ cánh bằng (Isoptera) (Nguyễn Thị Lộc, 2009; Phạm Thị Thùy, 2004; Gillespie, 1986). Nấm *B. bassiana* đã được nhiều nước trên thế giới như Mỹ, Canada, Anh, Úc, Philippines, Nhật và Trung Quốc sử dụng để phòng trừ nhiều đối tượng sâu hại cây trồng như bọ hung hại mía, bọ hung hại củ cải đường, ruồi hại rễ bắp cải, củ cải,…đạt kết quả tốt, đặc biệt là những loài sâu hại cây rừng như sâu róm thông, bọ cánh cứng hại dừa, châu chấu hại tre, mía, mối đất hại cây ăn quả, sùng hại mía. Ở nước ta, Viện Bảo vệ Thực vật đã có một số nghiên cứu sử dụng nấm này để phòng trừ một số đối tượng sâu hại cây trồng như rầy nâu hại lúa, châu chấu hại ngô, sâu đo xanh hại đay, bọ cánh cứng hại dừa... trong thời gian gần đây bước đầu đã thu được những kết quả nhất định (Phạm Thị Thuỳ, 2004). Kết quả giám định và định loại bằng phương pháp hình thái học kết hợp với giải trình tự gen trên 25 mẫu rệp sáp hại cà phê bị nhiễm nấm đã được giám định bao gồm: *Beauveria bassiana, Metarhizium anisopliae, Cephalosporium lanosoniveum, Cordyceps nutans, Toxicocladosporium sp., Paecilomyces cicadae.* Trong đó, hai chủng *Beauveria bassiana* tại Sơn la được phân lập từ mẫu rệp sáp mềm xanh (BR1); Rệp sáp bột (BR11) (Phạm Văn Nhạ, 2012). Nấm trắng *Beauveria bassiana* đã được ghi nhận gây bệnh trên mọt đục quả cà phê lần đầu tiên ở Brazil ngay từ những năm 1930 ở bang São Paulo và bang Paraná. Loài nấm này có khả năng tấn công giai đoạn trưởng thành của mọt đục quả cà phê. Tỷ lệ chết đạt 83% khi sử dụng nấm trước khi trưởng thành đục vào quả; 62% nếu trưởng thành đã đục vào trong quả cà phê (Samuels et al., 2002). Chính vì vậy việc nghiên cứu nấm ký sinh trên đối tượng sâu hại cà phê (rệp sáp mềm nâu; mọt đục quả) là rất cần thiết. Bài viết này trình bày một số kết quả nghiên cứu đặc điểm hình thái và đặc điểm sinh học của một số mẫu nấm ký sinh côn trùng thuộc chi *Beauveria* thu thập được trên các mẫu mọt đục quả cà phê; rệp sáp mềm nâu trong năm 2019 tại Sơn La.

2. Nội dung

2.1. Vật liệu nghiên cứu

- Các mẫu nấm thuộc chi *Beauveria* thu thập từ xác côn trùng ngoài tự nhiên tại tỉnh Sơn La (huyện Mai Sơn, huyện Thuận Châu, thành phố Sơn La) được phân lập và sử dụng để nghiên cứu.

- Môi trường nuôi cấy: Môi trường PDA (Potato Dextrose Agar) khoai tây 200g, dextrose 20g, agar 20g, nước 1 lít); SDA - Sabouraud dextrose agar (Agar 20g, glucose 20g, peptone 10g, nước lọc 1 lít); SDAY - Sabouraud dextrose agar yeast extract (Agar 20g, Glucose 20g, Peptone 10g, bacto TM yeast Extract 5g, nước lọc 1 lít)

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Thu thập mẫu, phân lập và định danh các mẫu nấm thuộc chi *Beauveria* bằng phương pháp truyền thống dựa trên đặc điểm hình thái.

Thu thập mẫu mọt đục quả cà phê và rệp sáp mềm nâu bị nấm ký sinh đã chết ngoài tự nhiên trên các vườn cà phê tại Sơn La về phòng thí nghiệm và phân lập trên môi trường PDA để dịnh danh đối với các mẫu nấm phân lập theo khóa phân loại của Barneet và Barry (1972). Các chỉ tiêu theo dõi để phục vụ công tác định danh bao gồm: đặc điểm khuẩn lạc, đặc điểm cơ quan sinh sản bào tử, hình dạng bào tử và kích thước bào tử.

2.2.2. Nghiên cứu một số một số đặc điểm sinh học của các mẫu nấm thuộc chi *Beauveria*

a. Xác định thời gian bào tử nảy mầm của các mẫu nấm thuộc chi *Beauveria*

Theo phương pháp của Milner và cs (1991), trải đều 0,1 ml dịch bào tử (10^6 bào tử/ml trong Tween 80 nồng độ 0,05%) trên các lam kính có phủ một lớp môi trường PDA, ủ nấm ở nhiệt độ 27 ± 2^{o}C, 24h tối. Tỷ lệ bào tử nảy mầm (%) đánh giá ở 24h sau nuôi cấy. Quan sát 4 điểm/ phiến kính, 25 bào tử/điểm, tổng số bào tử quan sát là 400 cho mỗi mẫu phân lập.

b. Khả năng hình thành bào tử của các mẫu nấm thuộc chi *Beauveria*

Thí nghiệm được thực hiện theo phương pháp của Houping cà cs (2003). Dùng 0,1 ml dịch bào tử (10^6 bào tử/ml) cấy lên đĩa Petri (đường kính 9cm) chứa môi trường Sabouraud khoáng chất, nhiệt độ 27 ± 2^{o}C trong 10 ngày. Lấy ngẫu nhiên hai khoanh nấm 1 cm^2 có chứa bào tử nấm cho vào 10 ml nước cất thanh trùng có chứa 0,05% Tween 20 để trên máy lắc vortex trong 10 phút để tách bào tử. Số lượng bào tử/ ml được xác định bằng lame đếm hồng cầu Thomas tính theo công thức:

Số bào tử/ml = 5 x a x n x 10^4

Trong đó: a - số bào tử có trong thể tích huyền phù ứng với diện tích 5 ô lớn; n - hệ số pha loãng.

Mật số bào tử/cm2= số bào tử (bt/ml)/diện tích khuẩn lạc

c. Ảnh hưởng của thời gian nuôi cấy đến sự hình thành bào tử của các mẫu nấm thuộc chi *Beauveria*

Thực hiện theo phương pháp của phạm Thị Thùy và cs (1995), nấm kí sinh được nuôi cấy trên môi trường Sabouroud khoáng chất (ký hiệu SDAY) trong các đĩa Petri đường kính 9 cm; nhiệt độ 27 ± 2^{0}C. Phương pháp và chỉ tiêu theo dõi tương tự mục (b). Thời gian theo dõi: 7, 10, 14, 18, 22, 26 và 30 ngày sau khi cấy (NSKC).

d. Ảnh hưởng của nguồn dinh dưỡng đến sự phát triển của các mẫu nấm thuộc chi *Beauveria*

Theo phương pháp của Lamp và cs (2002) trên 3 loại môi trường PDA, SDA và SDAY. Đặt khoanh nấm 1 cm^2 vào giữa đĩa môi trường, nhiệt độ 27 ± 2^{o}C. Năm ngày sau nuôi cấy bắt đầu đo đường kính khuẩn lạc (mm) bằng cách lấy trung bình đường kính trên 2 trục vuông góc của khuẩn lạc. Tốc độ phát triển trung bình (mm/ngày) được xác định vào các thời điểm 5, 9, 15, 30 ngày sau nuôi cấy. Số lượng bào tử/ cm^2: được tính 1 lần ở 15 ngày sau nuôi cấy (phương pháp trình bày ở mục b).

2.2.3. Xử lý số liệu:

Các số liệu đo kích thước bào tử nấm được tính toán theo giá trị TB ± SD, số lượng mẫu là 40 bào

tử với mỗi chủng nấm, độ tin cậy 95%. Các số liều về tỷ lệ nẩy mầm của các mẫu nấm được chuyển đổi sang $\sqrt{x}\sqrt{x}$, Số liệu mật số bào tử của các mẫu nấm ở thời điểm đã được biến đổi $\log(x)\log(x)$ để phân tích thống kê bằng phần mềm R.

3. Kết quả và thảo luận

3.1. Thu thập mẫu, phân lập và định danh các mẫu nấm thuộc chi *Beauveria* dựa trên đặc điểm hình thái.

Kết quả phân lập các mẫu nấm kí sinh và quan sát đặc điểm hình thái cho thấy có 5 mẫu nấm thuộc chi *Beauveria* (Bảng 1).

Bảng 1. Ký hiệu và một số đặc điểm hình thái của các mẫu nấm thuộc chi *Beauveria* (Sơn La, 2019)

Ký hiệu	Nguồn phân lập	Địa điểm thu mẫu	Tơ nấm	Cuống bào tử
$Bb_1(RCB_1)$	*Coccuss hesperidum* Linnaeus	Xã Chiềng Ban	Trắng ngà, mịn	Phân nhánh nhiều ở cuối sợi nấm, bào tử trên đỉnh cuống dính liền
$Bb_2(RCC_1)$	*Coccuss hesperidum* Linnaeus	Xã Chiềng Cọ	Trắng ngà, mịn	Có gốc hình cầu gắn trên cành bào tử so le hoặc bào tử mọc thành chùm
$Bb_3(MCC_1)$	*Stephanoderes hampei* Ferrari	Xã Chiềng Cọ	Trắng ngà, mịn	Phân nhánh nhiều ở cuối sợi nấm, bào tử trên đỉnh cuống dính liền
$Bb_4(MCD_1)$	*Stephanoderes hampei* Ferrari	Xã Chiềng Đen	Trắng ngà, mịn	Phân nhánh nhiều ở cuối sợi nấm, bào tử trên đỉnh cuống dính liền
$Bb_5(MCB_1)$	*Stephanoderes hampei* Ferrari	Xã Chiềng Ban	Trắng ngà, mịn	Có gốc hình cầu gắn trên cành bào tử so le hoặc bào tử mọc thành chùm

Đặc điểm khuẩn lạc: Khi nuôi cấy trên môi trường PDA, khuẩn lạc của 5 mẫu nấm có đặc điểm hầu như không khác biệt. Trong khoảng từ 5 - 7 NSKC các mẫu nấm hình thành sợi nấm dinh dưỡng, khuẩn lạc có màu trắng và chuyển dần sang hơi ửng vàng. Sau 10 ngày nuôi cấy nấm bắt đầu hình thành bào tử tạo thành lớp bột mịn. Ban đầu, tản nấm có màu trắng và chuyển từ từ sang màu vàng rơm ở những ngày tiếp theo xung quanh khoanh nấm theo vòng đồng tâm rồi lan dần ra đến rìa của sợi nấm. Sau khoảng thời gian 15 NSKC một số mẫu nấm bắt đầu xuất hiện giọt dịch màu vàng phân bố thành từng vòng tròn tương ứng với sự sinh trưởng của sợi nấm trên bề mặt khuẩn lạc.

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 những chỉ tiêu cơ bản để phân biệt và định danh nấm bao gồm đặc điểm phát triển của khuẩn lạc, kích thước cơ quan sinh bào tử, hình dạng kích thước của bào tử. Các đặc điểm khuẩn lạc của các mẫu nấm được mô tả ở trên cũng phù hợp với mô tả của Phạm Thị Thùy (2004) và Võ Thị Thu Oanh (2010) về nấm *B. bassiana*.

Đặc điểm cơ quan sinh bào tử, hình dạng bào tử nấm: Quan sát 5 mẫu nấm phân lập được đều có đặc điểm là tế bào sinh bào tử phát triển từ sợi dinh dưỡng mọc thành đám. Cuống bào tử đính phồng lên ở phía dưới có dạng hình bình với chiều dài không đều nhau, đơn lẻ hoặc mọc thành cụm. Bào tử đính mọc trên cuống sinh bào tử, có dạng đơn bào trong suốt, không có vách ngăn, hình cầu hoặc hình trứng. Những đặc điểm này đều phù hợp với đặc điểm của loài *Beauveria bassiana* đã được mô tả bởi các tác giả là Banett và Barry, (1998); Phạm Thị Thùy (2004); Võ Thị Thu Oanh (2010); Huỳnh Hữu Đức (2016).

Kích thước bào tử nấm: Sự khác biệt về mặt kích thước của 5 mẫu nấm thuộc chi *Beauveria*

được thể hiện qua bảng 2 cho thấy hai mẫu nấm $Bb_2(RCC_1)$; $Bb_5(MCB_1)$ có dạng bào tử hình cầu và kích thước gần tương đương nhau (2,20 – 2,35 x 2,25 – 2,32 µm) ba mẫu nấm $Bb_1(RCB_1)$, $Bb_3(MCC_1)$, $Bb_4(MCD_1)$ có hình dạng bào tử hình trứng và có kích thước dao động trong khoảng từ (2,36 x 2,82 µm) đến (2,97 x 2,84 µm), trong đó bào tử có kích thước lớn nhất là mẫu nấm $Bb_4(MCD_1)$

Bảng 2: Hình dạng và kích thước bào tử của các mẫu nấm thuộc chi *Beauveria* (Sơn La, 2019)

T = 27 ± 2⁰ C; 24h tối

STT	Mẫu nấm	Kích thước chiều dài x rộng (µm)	Hình dạng bào tử
1	$Bb_1(RCB_1)$	2,52 ± 0,43 x 2,25 ± 0,49	Hình trứng
2	$Bb_2(RCC_1)$	2,35 ± 0,38 x 2,32 ± 0,34	Hình cầu
3	$Bb_3(MCC_1)$	2,36 ± 0,37 x 2,82 ± 0,45	Hình trứng
4	$Bb_4(MCD_1)$	2,97 ± 0,48 x 2,84 ± 0,58	Hình trứng
5	$Bb_5(MCB_1)$	2,20 ± 0,37 x 2,25 ± 0,36	Hình cầu

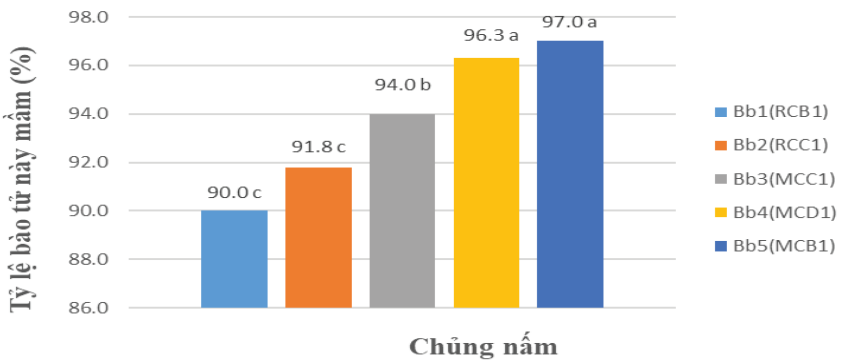
Ghi chú: Kích thước bào tử được tính theo độ lệch chuẩn trung bình (TB ± SD) của 30 bào tử cho mỗi chủng nấm.

Quan sát các đặc điểm hình thái của năm mẫu nấm cho thấy giống với mô tả các loài *B. bassiana* của Nguyễn Thị Lộc (1995), Luangsa – Ard (2006), Võ Thị Thu Oanh (2010), Huỳnh Hữu Đức (2016) là bào tử dạng hình cầu và hình trứng kích thước dao động trong khoảng 1,42 - 3,82 x 1,47 - 3,82 µm. Từ kết quả quan sát các đặc điểm hình thái về màu sắc khuẩn lạc, cơ quan sinh bào tử (cành bào đài), hình dạng và kích thước bào tử của 5 mẫu nấm thu thập được đều thuộc chi *Beauveria*

3.2. Nghiên cứu một số đặc điểm sinh học của các mẫu nấm thuộc chi *Beauveria*

3.2.1. Xác định thời gian bào tử nảy mầm

Thời gian nảy mầm của các mẫu nấm được thể hiện qua (hình 1). Trong khoảng thời gian 24 giờ sau khi cấy (GSKC), tất cả các mẫu nấm thu thập được có tỷ lệ nảy mầm khá cao, dao động từ 90% - 97%, trong đó hai mẫu nấm $Bb_4(MCD_1)$; $Bb_5(MCB_1)$ cho tỷ lệ nảy mầm cao nhất, lần lượt là 96,3%; 97% và có sự khác biệt thống kê so với các mẫu nấm $Bb_1(RCB_1)$; $Bb_2(RCC_1)$; $Bb_3(MCC_1)$. Kết quả nghiên cứu này phù hợp với kết quả nghiên cứu của Võ Thị Thu Oanh (2010), Huỳnh Hữu Đức (2016) bào tử nấm *B. bassiana* nảy mầm trên 90% sau 24 giờ sau khi cấy.



Hình 1: Tỷ lệ bào tử nảy mầm của các mẫu nấm thuộc chi *Beauveria* (Sơn La, năm 2019)

3.2.2. Ảnh hưởng của thời gian nuôi cấy đến sự hình thành bào tử của các mẫu nấm thuộc chi *Beauveria*

Kết quả nghiên cứu cho thấy, các mẫu nấm đều cho mật số bào tử thấp vào thời điểm 7 - 10 ngày sau khi cấy. Mật số bào tử của các mẫu

nấm đạt cao nhất ở thời điểm 14 - 18 ngày sau khi cấy và bắt đầu có hiện tượng giảm mật số từ thời điểm 22 NSKC về sau (bảng 3).

Bảng 3: Mật số bào tử của các mẫu nấm ở các thời điểm sau khi cấy (Sơn La, năm 2019)

T = 27 ± 2°C, RH = 72 ± 8 %

Mẫu nấm	Mật số bào tử (x10^7 bt/cm^2)						
	7	10	14	18	22	26	30
$Bb_1(RCB_1)$	0,64 bc	1,19 c	1,84 c	2,16 c	1,89 c	1,71 c	1,46 c
$Bb_2(RCC_1)$	1,03 ab	1,64 bc	2,50 bc	2,85 bc	2,24 bc	2,12 bc	1,70 bc
$Bb_3(MCC_1)$	1,60 a	2,36 b	3,69 ab	4,29 ab	3,79 b	3,59 ab	2,91 b
$Bb_4(MCD_1)$	1,67 a	2,49 ab	3,85 ab	4,58 ab	4,32 ab	3,68 ab	2,94 b
$Bb_5(MCB_1)$	2.05 a	2,84 a	4,43 a	6,53 a	6,18 a	5,81 a	5,23 a

*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 TUKEY. *: Khác biệt có ý nghĩa mức 5%*

Tại thời điểm 14 – 18 ngày sau khi cấy, mật số bào tử của các mẫu nấm là cao nhất. Trong đó mẫu nấm $Bb_5(MCB_1)$ cho số lượng bào tử cao nhất (4,43 x10^7 bt/cm^2 – 6,53 x 10^7 bt/cm^2) và khác biệt trong thống kê ở mức ý nghĩa 5% so với hai mẫu nấm $Bb_1(RCB_1)$; $Bb_2(RCC_1)$, nhưng không khác biệt có ý nghĩa thống kê so với hai mẫu nấm $Bb_3(MCC_1)$ và $Bb_4(MCD_1)$. Tại thời điểm 22 - 30 ngày sau khi nuôi cấy do nguồn dinh dưỡng trong môi trường nuôi cấy không còn đủ để cung cấp cho nấm phát triển nên mật số bào tử ở tất cả các mẫu nấm đều giảm dần. Kết quả thí nghiệm này phù hợp với nghiên cứu của Phạm Thị Thùy và cộng sự (1995), Võ Thị Thu Oanh (2010) và Huỳnh Hữu Đức (2016).

3.2.3. Ảnh hưởng của nguồn dinh dưỡng đến sự phát triển của các mẫu nấm thuộc chi *Beauveria*

Đường kính khuẩn lạc của các mẫu nấm thuộc chi *Beauveria* phát triển trên ba loại môi trường dinh dưỡng tại thời điểm 5 ngày sau khi cấy được trình bày ở bảng 4 cho thấy ba mẫu nấm thuộc chi *Beauveria* được phân lập có sự tương tác trên ba loại môi trường dinh dưỡng qua phân tích thống kê ở mức ý nghĩa 5%, ngoại trừ hai mẫu nấm $Bb_1(RCB_1)$; $Bb_3(MCC_1)$ thì không có sự tương tác đối với ba loại môi trường dinh dưỡng ở thời điểm 5NSKC. Nhìn chung môi trường SDAY luôn thích hợp cho tất cả các mẫu nấm, ngoại trừ mẫu nấm $Bb_4(MCD_1)$ phát triển mạnh trên môi trường PDA. Trên môi trường SDAY, mẫu nấm $Bb_5(MCB_1)$ có đường kính khuẩn lạc lớn nhất (21,3 mm), khác biệt thống kê so với các mẫu nấm còn lại, hai mẫu nấm $Bb_1(RCB_1)$, $Bb_2(RCC_1)$ có đường kính khuẩn lạc thấp nhất lần lượt là (13,3 mm); (14,1 mm) và khác biệt thống kê so với các mẫu nấm còn lại.

Bảng 4: Đường kính khuẩn lạc của các mẫu nấm ở thời điểm 5 NSKC (Sơn La, 2019)

T = 27 ± 2°C, RH = 72 ± 8 %

Mẫu nấm	Đường kính khuẩn lạc trên các môi trường (mm)			Mức ý nghĩa
	PDA	SDA	**SDAY**	
$Bb_1(RCB_1)$	12,2 cd	12,8 b	13,3 c	**ns**
$Bb_2(RCC_1)$	13,1 c (AB)	12,4 b (B)	14,1 c (A)	**
$Bb_3(MCC_1)$	16,7 b	16,5 a	17,0 b	**ns**
$Bb_4(MCD_1)$	19,2 ab (A)	15,5 a (C)	17,3 b (B)	**
$Bb_5(MCB_1)$	20,7 a (A)	15,6 a (B)	21,3 a (A)	**

*Ghi chú: Trong cùng một cột các số có cùng chữ viết thường theo sau giống nhau thì không khác biệt nhau và trong cùng một hàng các số có cùng chữ viết (hoa) theo sau giống nhau thì không khác biệt nhau qua phép thử TUKEY. * Khác biệt ở mức ý nghĩa 5%., ns: không có khác biệt ở mức ý nghĩa 5%.*

Sự phát triển của các mẫu nấm thuộc chi *Beauveria* trên năm môi trường dinh dưỡng tại thời điểm 9 ngày sau khi cấy được trình bày ở bảng 5 cho thấy, đa số các mẫu nấm tiếp tục cho kết quả tương tác với năm loại trường dinh dưỡng qua phân tích thống kê ở mức ý nghĩa 5%. Môi trường SDAY tiếp tục là môi trường thích hợp cho tất cả các chủng nấm, ngoại trừ hai mẫu nấm $Bb_3(MCC_1)$; $Bb_4(MCD_1)$ phát triển mạnh trên môi trường PDA. Trên môi trường SDAY, mẫu nấm $Bb_5(MCB_1)$ có đường kính khuẩn lạc lớn nhất (34,7 cm), khác biệt thống kê so với các mẫu nấmcòn lại, hai mẫu nấm $Bb_1(RCB_1)$; $Bb_2(RCC_1)$ có đường kính khuẩn lạc thấp nhất lần lượt là (15,3 cm); (18,4 cm) và khác biệt thống kê so với các chủng còn lại.

Bảng 5: Đường kính khuẩn lạc của các mẫu nấm ở thời điểm 9 NSKC (Sơn La, năm 2019)

T = 27 ± 2°C, RH = 72 ± 8 %

Mẫu nấm	Đường kính khuẩn lạc trên các môi trường (mm)			Mức ý nghĩa
	PDA	SDA	**SDAY**	
$Bb_1(RCB_1)$	13,7 c (B)	16,2 cd (A)	15,3 e (AB)	**
$Bb_2(RCC_1)$	15,0 c (B)	14,3 d (B)	18,4 d (A)	**
$Bb_3(MCC_1)$	28,1 bc (A)	24,7 a (B)	25,6c (B)	**
$Bb_4(MCD_1)$	32,5 a (A)	26,1 a (C)	29,8 b (B)	**
$Bb_5(MCB_1)$	30,2 ab (B)	25,8 a (C)	34,7 a (A)	**

*Ghi chú: Trong cùng một cột các số có cùng chữ viết thường theo sau giống nhau thì không khác biệt nhau và trong cùng một hàng các số có cùng chữ viết (hoa) theo sau giống nhau thì không khác biệt nhau qua phép thử TUKEY. * Khác biệt ở mức ý nghĩa 5%.*

Sự phát triển của các mẫu nấm trên ba loại môi trường dinh dưỡng tại thời điểm 15 ngày, 27 ngày sau khi cấy cho thấy tất cả các mẫu nấm tiếp tục có sự tương tác với ba loại môi trường dinh dưỡng. Đa số các mẫu nấm phát triển tốt trên hai loại môi trường SDAY và PDA, ngoại trừ mẫu nấm $Bb_1(RCB_1)$ phát triển trên môi trường SDA tốt hơn hai môi trường còn lại.

Bảng 6: Đường kính khuẩn lạc của các mẫu nấm ở thời điểm 15 NSKC (Sơn La, năm 2019)

T = 27 ± 2°C, RH = 72 ± 8 %

Mẫu nấm	Đường kính khuẩn lạc trên các môi trường (mm)			Mức ý nghĩa
	PDA	SDA	**SDAY**	
$Bb_1(RCB_1)$	16,7 d(B)	25,4 bc (A)	19,6 d (B)	**
$Bb_2(RCC_1)$	17,2 d (AB)	16,2 c (B)	22,5 d (A)	**
$Bb_3(MCC_1)$	36,5 c (A)	27,8 b (B)	29,8 c (B)	**
$Bb_4(MCD_1)$	51,8 a (A)	35,9 ab (C)	44,7 b (B)	**
$Bb_5(MCB_1)$	46,5 b (B)	44,7 a (C)	54,6 a (A)	**

*Ghi chú: Trong cùng một cột các số có cùng chữ viết thường theo sau giống nhau thì không khác biệt nhau và trong cùng một hàng các số có cùng chữ viết (hoa) theo sau giống nhau thì không khác biệt nhau qua phép thử TUKEY. * Khác biệt ở mức ý nghĩa 5%.*

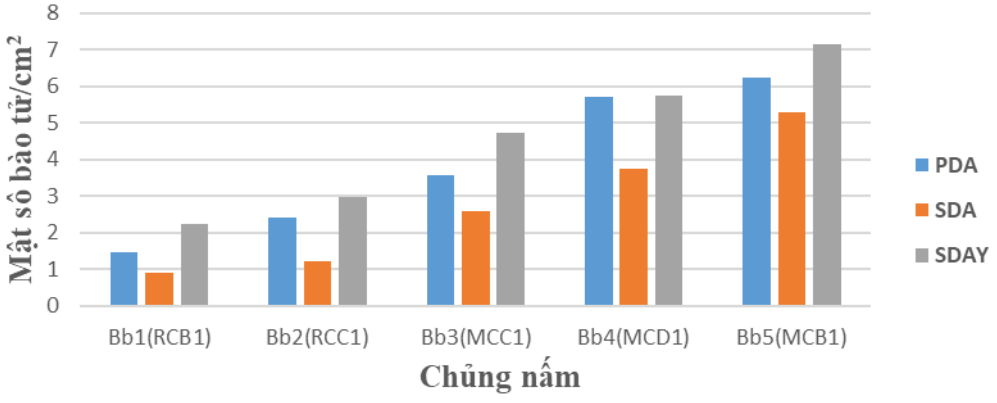
Nhìn chung, kết quả đánh giá ảnh hưởng nguồn dinh dưỡng đến sự phát triển của các mẫu nấm thuộc chi *Beauveria* cho thấy sự phát triển của 5 mẫu nấm trên ba loại môi trường trong 9 ngày đầu khá nhanh, sợi nấm có xu hướng lan theo dạng hình tròn không đều và khuẩn lạc bắt đầu phát triển nhanh hơn từ ngày thứ 15 trở về sau.

Bảng 7: Đường kính khuẩn lạc của các mẫu nấm ở thời điểm 27 NSKC (Sơn La, năm 2019)

T = 27 ± 2°C, RH = 72 ± 8 %

Mẫu nấm	Đường kính khuẩn lạc trên các môi trường (mm)			Mức ý nghĩa
	PDA	SDA	**SDAY**	
$Bb_1(RCB_1)$	26,0 b (C)	62,3 b (A)	44,3 d (B)	**
$Bb_2(RCC_1)$	26,8 b (B)	24,7c (B)	42,2 d (A)	**
$Bb_3(MCC_1)$	70,2 a (A)	58,6 b (B)	66,5 c (A)	**
$Bb_4(MCD_1)$	75,6 a (A)	68,2 a (B)	77,4 b (A)	**
$Bb_5(MCB_1)$	77,7 a (A)	69,8 a (B)	78,9 a (A)	**

*Ghi chú: Trong cùng một cột các số có cùng chữ viết thường theo sau giống nhau thì không khác biệt nhau và trong cùng một hàng các số có cùng chữ viết (hoa) theo sau giống nhau thì không khác biệt nhau qua phép thử TUKEY. * Khác biệt ở mức ý nghĩa 5%.*



Hình 2: Mật số bảo tử của các mẫu nấm trên năm loại môi trường dinh dưỡng tại thời điểm 15 ngày sau khi cấy (Sơn La, năm 2019)

Mật số bào tử của 5 mẫu nấm trên 3 loại môi trường dinh dưỡng tại thời điểm 15 NSKC cho thấy các mẫu nấm đều cho mật số bào tử cao trên hai loại môi trường PDA, SDAY trong đó mẫu nấm $Bb_5(MCB_1)$ có mật số bào tử cao nhất (trên 6 x 10^7 bào tử/cm^2). Các mẫu nấm khi được nuôi cấy trên môi trường SDAY cho mật số bào tử cao hơn so với các môi trường còn lại. Tuy nhiên, tất cả năm mẫu nấm cho mật số bào tử thấp trên môi trường SDA.

3. Kết luận

Đã thu thập được năm mẫu nấm thuộc chi *Beauveria* ký sinh, gây bệnh trên sâu hại cà phê tại Sơn La. Tất cả năm mẫu nấm thuộc chi *Beauveria* thu thập tại Sơn La đều có tỷ lệ nảy mầm cao trên 92% sau 24 giờ nuôi cấy; mật số bào tử cao khi nuôi cấy trên môi trường SDAY ở thời điểm 14 – 18 ngày sau khi cấy, trong đó mẫu nấm $Bb_5(MCB_1)$ cho mật số bào tử cao nhất. Tại thời điểm 15 NSKC, năm mẫu nấm đều cho mật số bào tử cao khi nuôi cấy trên hai loại môi trường PDA, SDAY.

Lời cảm ơn

Những kết quả được trình bày trong bài viết này thuộc đề tài nghiên cứu Khoa học cấp Bộ "***Nghiên cứu sử dụng nấm ký sinh côn trùng trong canh tác cà phê bền vững tại Sơn La"*****,** Mã số: B2019-TTB-02. Trong quá trình triển khai thực hiện, nhóm đề tài nhận được sự quan tâm chỉ đạo và giúp đỡ của Bộ Giáo dục và Đào tạo; Ban giám hiệu Trường Đại học Tây Bắc; Phòng Khoa học Công nghệ và Hợp tác Quốc tế; Phòng Tài chính Kế toán; Ban chủ nhiệm Khoa Nông Lâm; Cán bộ giảng viên Khoa Nông Lâm. Qua đây nhóm thực hiện đề tài xin gửi lời cảm ơn chân thành tới những giúp đỡ quý báu đó!

TÀI LIỆU THAM KHẢO

[1]. Barnett, H. L., and Barry B. H. (1972). Illutrated genera of imperfect fungi. Burgess Publishing company. Minneapolis Minnesota. 250pp

[2]. De Hoog, G. S. (1972). The genera Beauveria, Isaria, Tritirachium,and Acrodonium gen. nov. Centralbureau voor Schimmelcutures, Baarn. Studies in Mycology 1:1-41

[3]. Gillespie, A. T. (1986). Effect of entomopathogensis fungi on the brown planthopper of rice, *Nilaparvatar lugens*. In: Peter R.D. ed. Biotechnology and crop improvement Monograph 34: 364pp.

[4]. Houping, L., S. Magaret, B. Michael, and L. P. Bruce (2003). *Charactezation of Beauveria bassiana and Metarhizium anisopliae isolates of management of tarnished plant bug, Lygus lineolaris* (Hemiptera: Miridae*)*. Journal of Invertebrate Pathology 82: 139-147.

[5] Lawrence, L. (1994). *Manual of techniques in insect pathology*. Chapter 3: Fungi: Hyphomycetes. Marks. G., and Douglas I. Biological Techniques series: 335-341..

[6] Luangsa-Ard, J. J., Kanoksri T., Suchada M., Somsak S. and Nigel, H. J. (2006). Workshop on the Collection Isolation, cultivation and Identification of Insect-Pathogenic Fungi.

[7]. Milner, R.J., R. J. Huppatz, S. C. Swairis (1991). *A new method of assessment of germination of Metarhizium conidia.* Journal of Invertebrate Pathology 57: 121-123

[8]. R.I Samuels, R.C. Pereira and C.A. Gava (2002). *Infection of the Coffee Berry Borer* Hypothenemus hampei *(Coleoptera: Scolytidae) by Brazilian Isolates of the Entomopathogenic Fungi* Beauveria bassiana *and Metarhizium* anisopliae *(Deuteromycotina: Hyphomycetes)*. Biocontrol Science and technology (2002) 12. 631 – 635.

[9]. Huỳnh hữu Đức (2016). *Xác định loài, đặc điểm sinh học và bước đầu đánh giá hiệu quả trừ sùng khoài lang (*Cylas formicarius *Fabricius) trong điều kiện phòng thí nghiệm của các mẫu nấmBeauveria ký sinh trên côn trùng gây hại phân lập tại đồng bằng sông cửu*

long. Tạp chí Khoa học Trường Đại hoc Cần Thơ. Số chuyên đề: Nông nghiệp (Tập 3): 36 -46

[10]. Phạm Văn Nhạ, Hồ Thị Thu Giang, Phạm Thị Vượng, Đồng Thị Thanh, Trần Thị Tuyết, Đặng Thanh Thùy, Phạm Duy Trọng (2012). *Kết quả nghiên cứu một số mẫu nấmký sinh trên rệp sáp hại cà phê tại Tây Nguyên*. Tạp chí Khoa học và phát triển 2012. Tập 10, số 1: 34 - 40

[11] Nguyen Thi Loc (1995). Exploition of Beauveria bassiana as a potential biocontrol agent against leaf-and planthopper in rice. Thesis Docter of Phylosphy. 140pp

[12]. Phạm Thị Thùy, Nguyễn Thị Bắc, Đồng Thanh, Trần Thanh Tháp, Hoàng Công Điền và Nguyễn Đậu Toàn (1995). Nghiên cứu công nghệ sản xuất và ứng dụng chế phẩm nấm *Beauveria* và *Metarhizium* để phòng trừ một số sâu hại cây trồng. Tuyển tập công trình nghiên cứu bảo vệ thực vật. Viện Bảo vệ Thực vật, trang 189-200.

[13]. Phạm Thị Thùy (2004). Công nghệ sinh học trong Bảo vệ Thực vật. NXB Đại học Quốc gia, Hà Nội

[14]. 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.

Morphological and biological characterization of some ntomophathogenic fungal samples belong to *Beauveria* genus on pest coffee in Son La

Bui Thi Suu, Vu Phuong Lien, Doan Duc Lan
Tay Bac University

Astract: *The study was conducted at the laboratory of Plant Protection, Tay Bac University to confirm the collection of some entomophathogenic fungus against soft brown scale, coffee berry borer in Son La. The results showed that five samples of entomophathogenic fungus were identified belong to Beauveria genus. On PDA medium, the colonies of these samples are white and later becoming yellowish white. The base of conidiogenous cells are bulging at the bottom, irregular length, alone or typically arranged in cluster. The spore, which is hyaline one-cells, smooth wall with one-celled spherical (2.20 - 2.35 x 2.25 - 2.32 µm) or ovoid (2.36 - 2.97 x 2.25 - 2.84 µm), grows dense clusters on a conidiogenous cells. The biological characteristics showed that 5 samples revealed a hight germination (over 90%) after 24 hours cultivation. High speed of mycelial growth and hight spore density was record at 14-18 days after inoculation. The PDA, SDAY media were suitable for the growth of Beauveria fungus .*

Keywords: *Beauveria, Coffee berry borer, Entomopathogen, Soft brown scale*

Ngày nhận bài: 18/9/2020; Ngày nhận đăng: 15/11/2020

Liên hệ: Email-buithisuu@utb.edu.vn