ĐÁNH GIÁ KHẢ NĂNG GÂY BỆNH CỦA CÁC CHỦNG *Metarhizium anisopliae* ĐỐI VỚI THÀNH TRÙNG BỌ HÀ (*Cylas formicarius*) GÂY HẠI TRÊN CÂY KHOAI LANG

VALUEING THE STRAINS *Metarhizium anisopliae's* ABILITY CAUSING PATHOGEN FOR ADULTS *Cylas formicarius* HARMFUL TO SWEET POTATO

Nguyễn Thị Ánh Nguyệt*, Nguyễn Thị Thùy Dương, TS. Phạm Hữu Nhượng

Trung tâm Công nghệ Sinh học TP. HCM

** Email: anhnguyet07s2@gmail.com; ĐT: 01683 203 381*

TÓM TẮT

Metarhizium anisopliae từ lâu đã được nhiều nước trên thế giới sử dụng như tác nhân sinh học phòng trừ nhiều loại côn trùng. Mục tiêu của đề tài này là tuyển chọn chủng nấm *Metarhizium anisopliae* và khảo sát nồng độ gây bệnh cho thành trùng *Cylas formicarius* trong điều kiện phòng thí nghiệm. Côn trùng được nhúng với nồng độ nấm $1x10^7$ bào tử/ml (bt/ml) để kiểm tra khả năng gây bệnh của tất cả các chủng nấm phân lập được. Sau 12 ngày nhúng, chủng G có độ hữu hiệu đạt 100%, chủng NX có độ hữu hiệu thấp nhất, chỉ đạt 53,33% theo công thức Abbott. Thí nghiệm khảo sát nồng độ gây bệnh của chủng G đối với thành trùng *Cylas formicarius* trong phòng thí nghiệm sử dụng 5 nồng độ $1x10^3$, $1x10^4$, $1x10^5$, $1x10^6$, $1x10^7$ bt/ml. Kết quả cho thấy, đối với nồng độ nấm $1x10^3$ bt/ml có khả năng gây bệnh cho thành trùng *Cylas formicarius* yếu, chỉ đạt 3,33% sau 12 ngày. Trong khi ở nồng độ $1x10^7$ bt/ml có độ hữu hiệu đạt 90% sau 8 ngày và 100% sau 12 ngày. Như vậy, trong điều kiện phòng thí nghiệm chủng G có khả năng gây bệnh cho thành trùng *Cylas formicarius* hiệu quả nhất với nồng độ nấm $1x10^7$ bt/ml.

Từ khóa: *Metarhizium anisopliae*, *Cylas formicarius*.

ABSTRACT

Metarhizium anisopliae has been used as biological agents for controlling many kinds of insects in many countries in the world so far. The aim of study is screening *Metarhizium anisopliae* strain and conidia concentration, able to cause pathogen for adult Cylas formicarius *in vitro*. Adults Cylas formicarius are steeped in the liquid of the concentration of $1x10^7$ conidia/ml to test the pathogenic ability of all the strains isolated. After 12 steeped days, the Corrected (%) of strain G is 100%, the corrected (%) of strain NX is the lowest, only 53.33% following Abbott formula. Five concentrations of $1x10^3$, $1x10^4$, $1x10^5$, $1x10^6$, $1x10^7$ conidia/ml are used for surveying the pathogenic concentration of strain G against the adults Cylas formicarius *in vitro*. The result shows that at the concentration of $1x10^3$ conidia/ml the pathogenic ability against adult Cylas formicarius is weak, only at 3.33% after 12 days. However, at $1x10^7$ conidia/ml, Corrected (%) is 90% after 8 days and 100% after 12 days. In the laboratory condition, the concentration of $1x10^7$ conidia/ml causing pathogen for adult Cylas formicarius is the most effective of all, thus.

Keywords: *Metarhizium anisopliae*, *Cylas formicarius*.

MỞ ĐẦU

Bọ hà (*Cylas formicarius)* là một trong những loài côn trùng gây hại phổ biến cho cây

khoai lang. Thành trùng bọ hà có thể ăn gặm cả phần thân, mầm, lá khoai lang non, đặc biệt là trên củ gây thiệt hại nặng nề về năng suất. Nếu bị tấn công khi còn non, củ sẽ bị lép, không phát triển được, năng suất giảm. Nếu bị tấn công khi củ đã lớn, năng suất không giảm nhiều nhưng mất phẩm chất do phần thịt chung quanh đường đục bị chuyển sang màu tím, có mùi hôi, có vị đắng nên không thể sử dụng được cho cả người và gia súc gây tổn thất rất lớn cho người trồng. Bên cạnh đó, các vết thương do bọ hà gây ra còn tạo điều kiện cho các loài vi sinh vật cơ hội tấn công làm ảnh hưởng phẩm chất nông sản.

Hiện nay, trên thị trường đã có nhiều thuốc hóa học phòng trừ bọ hà. Tuy nhiên, để hướng tới nền sản xuất nông nghiệp xanh, nâng cao tính an toàn thực phẩm cho nông sản và bảo vệ môi trường thì cần tìm ra biện pháp sinh học để phòng trừ bọ hà. Loài nấm ký sinh côn trùng *Metarhizium anisopliae* được biết đến có phổ ký chủ khá rộng, trong đó có các loài bọ cánh cứng. Do đó, đề tài "Đánh giá khả năng gây bệnh của các chủng *Metarhizium anisopliae* đối với thành trùng bọ hà *(Cylas fomicarius)* được thực hiện. Sau đây là một số phương pháp nghiên cứu và kết quả đạt được của đề tài.

VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

Thí nghiệm 1: Tuyển chọn chủng nấm *Metarhizium anisopliae* diệt thành trùng bọ hà hiệu quả trong điều kiện phòng thí nghiệm

Bố trí thí nghiệm:

Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên, gồm 5 nghiệm thức: G, M, B, NX và đối chứng (nước cất thanh trùng). Mỗi nghiệm thức lặp lại 3 lần, mỗi lần lặp lại là 10 cá thể bọ hà trong hộp nhựa có nắp đậy.

Cách thực hiện:

Lựa chọn các cá thể bọ hà khỏe, đồng đều làm thí nghiệm. Nuôi cấy các chủng nấm *Metarhizium anisopliae* được ký hiệu là G, M, B, NX trên đĩa Petri ở 28^0C. Sau 10 ngày, huyền phù bào tử vi nấm bằng nước cất vô trùng. Đếm mật độ bào tử/ml, tạo huyền phù có mật độ $1x10^7$ bào tử/ ml, phân phối 20ml dịch huyền phù cho mỗi lần lặp lại. Nhúng các cá thể bọ hà ứng với từng nghiệm thức trong 30s, chuyển từng cá thể qua hộp có nắp đậy có sẵn củ khoai lang tươi cắt nhỏ. So sánh độ hữu hiệu giữa các nghiệm thức.

Chỉ tiêu theo dõi:

Theo dõi số cá thể bọ hà chết, các lần lấy chỉ tiêu cách nhau 2 ngày, mỗi lần lấy chỉ tiêu phải thay thức ăn mới. Các cá thể chết thu được phải ủ trong điều kiện thích hợp để tính tỷ lệ bọ hà chết do nấm ký sinh. Tính độ hữu hiệu diệt bọ hà của vi nấm theo công thức Abbott. Từ sự khác biệt về độ hữu hiệu giữa các nghiệm thức có thể chọn ra chủng nấm diệt thành trùng bọ hà hiệu quả trong điều kiện phòng thí nghiệm.

Công thức Abbott:

ĐHH (%) = [(C – T) / C] * 100

Trong đó:

C: Tỷ lệ % côn trùng sống ở nghiệm thức đối chứng.

T: Tỷ lệ % côn trùng sống ở nghiệm thức có xử lý nấm.

ĐHH: Độ hữu hiệu (%).

Thí nghiệm 2: Khảo sát nồng độ gây bệnh của chủng G đối với thành trùng *Cylas formicarius* trong phòng thí nghiệm

Sau khi tuyển chọn được chủng nấm *Metarhizium anisopliae* có diệt sùng hiệu quả trong điều kiện phòng thí nghiệm, tiến hành khảo sát nồng độ diệt thành trùng bọ hà phù hợp của chủng này. Phương pháp này tiến hành tương tự như thí nghiệm 1.

Bố trí thí nghiệm:

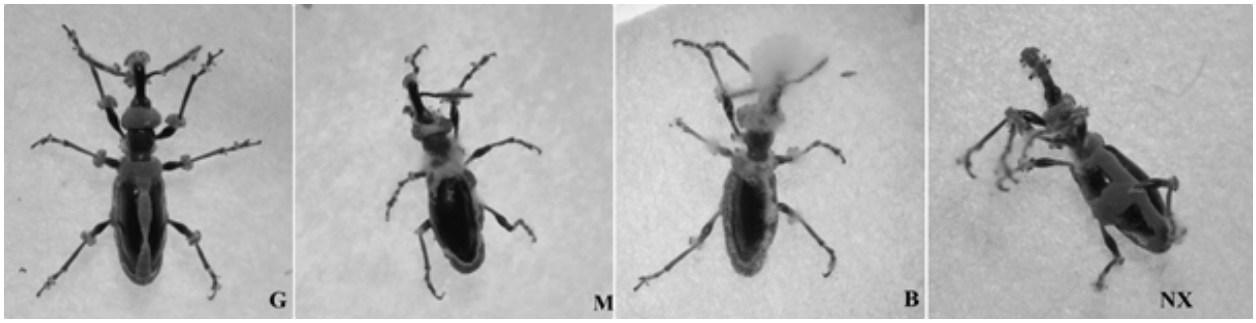
Thí nghiệm gồm 6 nghiệm thức: $1x10^3$, $1x10^4$, $1x10^5$, $1x10^6$, $1x10^7$ bào tử/ml, đối chứng (nước cất thanh trùng). Mỗi nghiệm thức lặp lại 3 lần, mỗi lần lặp lại là 10 cá thể sùng trong hộp nhựa có nắp đậy.

Chỉ tiêu theo dõi:

Tương tự thí nghiệm 1. Từ sự khác biệt về độ hữu hiệu giữa các nồng độ chọn ra nồng độ nấm có khả năng diệt sùng tốt nhất.

KẾT QUẢ VÀ PHƯƠNG PHÁP

Thí nghiệm 1: Tuyển chọn chủng nấm *Metarhizium anisopliae* diệt thành trùng bọ hà hiệu quả trong điều kiện phòng thí nghiệm



Bảng 1. *Hiệu lực diệt thành trùng bọ hà của các chủng Metarhizium anisopliae trong phòng thí nghiệm.*

Đơn vị tính: Độ hữu hiệu (%)

Nghiệm thức	Thời gian (ngày)					
	2	4	6	8	10	12
G	10	23,33	$76,67^{a}$	90^{a}	90^{a}	100^{a}
M	6,67	20	$43,33^{b}$	$66,67^{ab}$	80^{a}	80^{ab}
B	6,67	16.67	$43,33^{b}$	$53,33^{bc}$	$63,33^{ab}$	$66,67^{ab}$
NX	10	33,33	$33,33^{b}$	$33,33^{c}$	$43,33^{b}$	$53,33^{b}$
CV(%)	65,89	22,77	12,77	12,47	14,02	11,05
Mức ý nghĩa	ns	ns	*	*	*	**

Lưu ý:- Số liệu được hiệu chỉnh bằng phương pháp căn bậc 2 $(x+0,5)^{1/2}$ trước khi xử lý ANOVA bằng phần mềm Sas
Ký hiệu :
ns: có nghĩa là không có sự khác biệt về mặt thống kê,
**: Khác biệt có nghĩa thống kê với mức ý nghĩa 0,05%.*
***: Khác biệt có ý nghĩa thống kê với mức ý nghĩa 0,01%.*

Sau 2 ngày xử lý với nấm, thành trùng bọ hà bắt đầu chết, hiệu lực giữa các nghiệm thức không có sự khác biệt đạt từ 6,67-10%. Hiệu lực ở 4 ngày sau chủng nấm vẫn chưa có sự

khác biệt, cao nhất là nghiệm thức NX đạt 33,33%, hiệu lực thấp nhất là nghiệm thức B đạt 16,67%. Tuy nhiên, tại thời điểm 6 ngày sau khi chủng nấm, nghiệm thức G đạt hiệu lực 76,67% cao nhất và khác biệt so với các nghiệm thức còn lại, nghiệm thức M và B đạt hiệu lực 43,33%, nghiệm thức NX lại là nghiệm thức có hiệu lực thấp nhất 33,33% trong 4 nghiệm thức thí nghiệm. Tiếp tục ghi nhận chỉ tiêu theo thời gian, nghiệm thức G vẫn là nghiệm thức đạt hiệu lực cao nhất 90%, kế tiếp là nghiệm thức M đạt 66,7%, nghiệm thức B đạt 53,33%, nghiệm thức thấp nhất là NX đạt 33,33% không tăng sau 8 ngày xử lý. Ở thời điểm 10 ngày sau khi chủng nấm, chủng M tăng hiệu lực diệt thành trùng bọ hà đạt 80%; nghiệm thức B cũng tăng đạt 63,33%, dù hiệu lực của nghiệm thức G không tăng nhưng vẫn là nghiệm thức đạt cao nhất với 90%, các nghiệm thức G, M, B không có sự khác biệt ý nghĩa về mặt thống kê nhưng khác biệt với nghiệm thức G. Thời điểm kết thúc theo dõi các chỉ tiêu là 12 ngày sau xử lý nấm, đối với nghiệm thức G đạt 100%, thứ hai là nghiệm thức M đạt 80%, nghiệm thức B đạt 66,67%, nghiệm thức NX đạt 53,33%.

Kết quả của thí nghiệm này cho thấy, ở điều kiện phòng thí nghiệm chủng G có hiệu lực diệt thành trùng bọ hà cao hơn so với các chủng còn lại trong bộ giống của Trung tâm Công Nghệ Sinh Học TP HCM. Do đó, tiếp tục tiến hành thí nghiệm khảo sát nồng độ gây bệnh cho thành trùng bọ hà của chủng G nhằm tìm ra nồng độ nấm phù hợp phục vụ các thí nghiệm thử hiệu lực ngoài đồng ruộng.

Thí nghiệm 2: Khảo sát nồng độ gây bệnh của chủng G đối với thành trùng *Cylas formicarius* trong phòng thí nghiệm

Bảng 2. *Hiệu lực diệt sùng khoai lang của chủng G ở các nồng độ khác nhau trong phòng thí nghiệm.*

Đơn vị tính: Độ hữu hiệu (%)

Nghiệm thức	Thời gian					
	2	4	6	8	10	12
10^7	10	23,33	76,67^a	90^a	90^a	100^a
10^6	6,67	20	50^b	60^b	76,67^a	76,67^a
10^5	0	3,33	16,67^c	46,67^b	70^a	83,33^a
10^4	3,33	6,67	23,33^c	26,67^c	46,67^b	53,33^b
10^3	0	0	0^d	3,33^d	3,33^c	3,33^c
CV(%)	94,49	73,60	17,48	9,97	10,79	9.93
Mức ý nghĩa	ns	Ns	*	*	*	*

Lưu ý: Số liệu được hiệu chỉnh bằng phương pháp căn bậc 2 $(x+0,5)^{1/2}$ trước khi xử lý ANOVA bằng phần mềm Sas.

Ở thời điểm 2 ngày sau khi chủng nấm, hiệu lực chưa thể hiện rõ, vì *Metarhizium anisoliae* là tác nhân sinh học cần có thời gian xâm nhiễm và ủ bệnh, ghi nhận đối với nồng độ 10^7, 10^6, 10^4 thành trùng sùng khoai lang bắt đầu chết, độ hữu hiệu tương ứng là 10%; 6,67%; 3,33%. Chỉ tiêu ở thời điểm 4 ngày sau khi chủng nấm, hiệu lực đối với nồng độ 10^7 đạt 23,33%, nồng độ 10^6 đạt 20%, nồng độ 10^5 đạt 3,33%, nồng độ 10^4 đạt 6,67%, ở nồng độ xử lý 10^3 chưa gây chết ở thời điểm này. Tiếp tục lấy chỉ tiêu, hiệu lực tăng lên đáng kể ở nồng độ xử lý 10^7 ở thời điểm 6 ngày sau khi chủng nấm đạt 76,67%, có sự khác biệt về mặt thống kê so

với các nồng độ khác, cùng thời điểm này ở nghiệm thức 10^6 hiệu lực cũng đạt 50%, các nồng độ 10^5, 10^4 cũng có khả năng diệt bọ hà nhưng ở mức thấp chỉ đạt 16,67%, 23,33% tương ứng. Sau 8 ngày chủng nấm, ở nghiệm thức 10^7 có độ hữu hiệu đạt 90%, cao hơn các nghiệm thức còn lại và có khác biệt thống kê, trong khi các nghiệm thức khác chỉ đạt độ hữu hiệu ≤ 60%. Từ 10 đến 12 ngày, độ hữu hiệu ở các nghiệm thức tăng không đáng kể, riêng nghiệm thức 10^7 đạt 100% nhưng không khác biệt về mặt thống kê với các nghiệm thức khác.

Dựa vào các kết quả trên ta thấy, hiệu lực diệt thành trùng bọ hà trong điều kiện phòng thí nghiệm càng tăng khi xử lý với nồng độ nấm càng tăng. Trong đó, nghiệm thức 10^7 cho hiệu quả cao hơn và trong thời gian ngắn hơn so với các nghiệm thức còn lại (khác biệt có ý nghĩa thống kê). Do đó, nhóm nghiên cứu quyết định chọn nồng độ phù hợp cho chủng G xử lý thành trùng bọ hà trong điều kiện phòng thí nghiệm là 10^7 bào tử/ml huyền phù.

KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

Kết luận

Trong điều kiện phòng thí nghiệm, hiệu lực diệt thành trùng bọ hà có sự khác biệt giữa các chủng *Metarhizium anisopliae*, trong đó chủng G có hiệu lực cao nhất so với các chủng còn lại. Sau 8 ngày, chủng G có hiệu lực 90%, sau 12 ngày hiệu lực này tăng lên 100%. Kết hợp với khả năng sinh trưởng và tạo bào tử mạnh nhất (kết quả không trình bày trong bài báo này) có thể chọn chủng G làm giống phục vụ sản xuất chế phẩm sinh học phòng trừ côn trùng gây hại.

Khi nồng độ nấm càng tăng thì hiệu quả diệt thành trùng bọ hà càng tăng. Trong điều kiện phòng thí nghiệm thì nồng độ diệt thành trùng bọ hà phù hợp nhất của chủng G là 10^7 bào tử/ml

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Rajesh Anand, Birendra Prasad, Bhupendra Nath Tiwary. 2009. *Relative susceptibility of Spodoptera liturapupae to selected entomopathogenic fungi.* 85–92

M. R. Asi, M. H. Bashir, M. Afzal, K. Zia and M. Akram. 2013. *Potential of entomopathogenic fungi for biocontrol of spodoptera litura fabricius (lepidoptera: noctuidae).* The Journal of Animal & Plant Sciences. 913-918

Capinera J. L. (1998), *Sweetpotato Weevil, Cylas formicarius (Fabricius) (Insecta: Coleoptera: Brentidae (Curculionidae)).* University of Florida.

H. Golshan, M. Saber, F. Majidi-Shilsar, F. Karimi A. A. Ebadi. 2014. *Laboratory Evaluation of Beauveria bassianaIsolates on Red Flour Beetle Tribolium castaneumand Their Characterization by Random Amplified Polymorphic DNA.* Journal of Agricultural Science and Technology, 747-758

Trần Văn Hai. 2004. *Giáo trình hóa bảo vệ thực vật.* Trường đại học Cần Thơ, khoa nông nghiệp, bộ môn bảo vệ thực vật, trang 54 – 55.

Nguyễn Văn Huỳnh, Lê Thị Sen. 2003. *Giáo trình côn trùng gây hại chính ở đồng bằng sông Cửu Long*. Đại học Cần Thơ, khoa Nông nghiệp, bộ môn Bảo vệ thực vật.

Nguyễn Đức Khiêm. 2005. *Giáo trình Côn trùng nông nghiệp* – phần B. Bộ GD & ĐT, Trường đại học Nông Nghiệp I.