

# ĐIỀU TRA THU THẬP NẤM KÝ SINH TRÊN CÁC LOẠI CÔN TRÙNG HẠI CÂY TRỒNG Ở TÂY NGUYÊN, MIỀN ĐÔNG VÀ TÂY NAM BỘ

Trần Thị Vân<sup>1</sup>, Lê Định Đôn<sup>1</sup>, Bùi Cách Tuyên<sup>2</sup>

## TÓM TẮT

Nấm ký sinh con trùng là nhóm nấm đã được nghiên cứu và ứng dụng trong y học, công nghệ sinh học, nông nghiệp ở nhiều nước trên thế giới cũng như ở Việt Nam. Việc nghiên cứu thu thập, phân loại bộ mẫu nấm con trùng bản địa giúp khai thác hiệu quả chức năng chuyên biệt của từng giống, loại trên các đối tượng sâu hại trên cây trồng ở từng vùng. Trong nghiên cứu này đã thu thập được 100 mẫu nấm bản địa trên các loại côn trùng ở 7 tỉnh, thành tại Tây Nguyên, vùng Đông và Tây Nam Bộ. Kết quả định danh bằng hình thái dựa trên hệ thống phân loại mới cho thấy có 13 loài được ghi nhận thuộc 7 chi, bao gồm: *Beauveria*, *Hirsutella*, *Metarhizium*, *Nomuraea*, *Paecilomyces*, *Verticillium*, *Cordyceps*. Một số loài quan trọng trong các chi cũng đã được định danh bằng phân tử, kết quả ghi nhận được loài *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, *Verticillium lecanii* có khả năng khai thác trong đấu tranh sinh học.

**Từ khóa:** *Nấm côn trùng*, *Beauveria*, *Hirsutella*, *Metarhizium*, *Nomuraea*, *Paecilomyces*, *Verticillium*, *Cordyceps*.

## 1. MÔ ĐẦU

“Nấm côn trùng” (entomopathogenic fungi) dùng để chỉ những loài nấm có thể lây nhiễm côn trùng khỏe mạnh, gây hại hoặc tiêu diệt ký chủ của nó (Samson và cộng sự, 1988). Nấm côn trùng là thiên địch phổ biến của các loài chân khớp trên khắp thế giới và được xem như là các đối tượng kiểm soát sinh học (Hajek và Leger, 1994; Shah và Pell, 2003). Nhóm nấm này có sự phân bố rộng, tùy thuộc vào điều kiện môi trường, tình đa dạng của các loài côn trùng và tình trạng của ký chủ (Hajek and Leger, 1994). Ở các nước nhiệt đới có ám độ không khí cao, là điều kiện lý tưởng cho nhiều loài nấm côn trùng phát triển.

Những nấm côn trùng đã được ứng dụng rộng rãi trong đấu tranh sinh học kiểm soát dịch hại phổ biến là *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* và *Verticillium lecanii*. McCoy (1990) đã đưa ra tiêu chí để chọn loài nấm ký sinh côn trùng sử dụng làm thuốc trừ sâu sinh học bao gồm: (1) khả năng gây độc cho ký chủ cao, (2) có tác dụng nhanh, (3) có phổ ký chủ rộng, (4) có tính ổn định trong nuôi cấy và bảo quản, (5) dễ dàng lên men chìm, (6) dễ kiểm soát và phân tích số lượng, (7) an toàn cho con người.

Nấm côn trùng con được ứng dụng trong sản xuất thuốc trị bệnh, các chất có hoạt tính sinh học và các enzym. Cyclosporine là loại thuốc chống thải hồi trong cây ghép cơ quan được sản xuất từ nấm *Tolyphocadium inflatum* (dạng vô tính của *Cordyceps subsessilis*). Các nghiên cứu đã công bố, cordycepin, hoạt chất chính có trong “Đông Trùng, Hạ Thảo” và các chất có hoạt tính sinh học khác cũng được sản xuất từ một số loài nấm côn trùng thuộc chi *Cordyceps* (Hung và cộng sự, 2009).

Trên thế giới đã có trên 750 loài nấm côn trùng được ghi nhận và có rất nhiều loài mới đang và sẽ được công bố. Theo các nghiên cứu, phần lớn số loài nấm côn trùng được ghi nhận ở châu Á, trong đó, Thái Lan có số lượng giống loài phong phú nhất với 321 loài đã được ghi nhận (Hywel-Jones, 2002). Tại Việt Nam, Phạm Thị Thúy (2004) đã nghiên cứu trên nấm xanh và nấm trắng, kết quả khoảng 30 loài côn trùng bị nấm *Beauveria bassiana* kí sinh và trên 40 loài côn trùng bị nấm *Metarhizium anisopliae*, *M. cf flavoride* kí sinh. Nghiên cứu này thực hiện nhằm mục đích thu thập, định danh, phân lập và bảo tồn nguồn nấm ký sinh côn trùng bản địa tại một số tỉnh thành ở Đông Nam Bộ, Tây Nam Bộ và Tây Nguyên tạo nguồn nguyên liệu quý cho các nghiên cứu ứng dụng sau này.

## 2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

### 2.1. Địa điểm và phương pháp thu mẫu

<sup>1</sup> Viện Nghiên cứu Công nghệ sinh học và Môi trường – Trường Đại học Nông Lâm Tp. HCM

<sup>2</sup> Bộ Tài nguyên và Môi trường

Các mẫu nấm được thu thập trên các loại côn trùng như sáu, rầy nâu, ve sáu, nhện, bọ xít, bọ cánh cứng gây hại lúa, rau ăn lá, cây công nghiệp, hoa màu và trong đất tại 7 tỉnh, thành ở Đông Nam bộ, Tây Nam bộ và Tây Nguyên (bảng 1). Mẫu nấm thu thập được bảo quản riêng biệt trong hộp nhựa và đưa về phòng thí nghiệm phân lập. Thời gian thu mẫu trong năm 2012 và 2013. Trong quá trình thu mẫu phải quan sát kỹ trên và dưới mặt lá, trên và trong đất.

### 2.2. Phương pháp phân lập mẫu

Quá trình phân lập được thực hiện tại phòng thí nghiệm của Viện Nghiên cứu CNSH và MT – Trường Đại học Nông Lâm Tp.HCM, ngay sau khi thu mẫu. Mẫu được quan sát trực tiếp dưới kính lúp soi nổi Olympus SZ40. Dùng que cây móc lấy một ít bào tử cây vào lame có chứa thạch (aga) đặt trong đĩa petri vô trùng, sau 24-36 giờ bào tử nảy mầm được quan sát dưới kính hiển vi, từng bào tử đơn không bị nhiễm khuẩn được tách ra và cây chuyển sang đĩa PDA (200 g khoai tây, 20 g đextroza, 15 g aga) có bổ sung 100 mg/L kháng sinh cloramphenicol. Các đĩa này sau đó được bảo quản tại phòng thí nghiệm và quan sát dưới kính hiển vi mỗi ngày cho đến khi thu được mẫu nấm không tạp nhiễm.

### 2.3. Phương pháp định danh bằng hình thái và phân tử

Việc phân loại, định danh bằng hình thái của các mẫu đến mức độ chi hoặc loài dựa trên các đặc điểm về ký chủ, màu sắc, loại bào tử, kích thước, hình dạng bào tử, hình dạng thể bình để xác định theo khóa phân loại nấm (Barnett và Hunter, 1972; Luangsa-ard và cộng sự, 2007).

Một số mẫu nấm côn trùng cũng được định danh loài bằng phương pháp phân tử. Nấm được li trích ADN tổng số theo quy trình của Hegedus (1993b). Sản phẩm li trích ADN tổng số được gửi tới Công ty TNHH Nam Khoa để chạy PCR và giải trình tự các vùng gien chứa trình tự các vùng ITS1, ITS2, 5,8S rADN, một phân trình tự vùng 18S rDNA, và 28S rADN để xác định tên loài nấm và so sánh với trình tự gien của những loài đã được công bố trên GenBank.

Sử dụng phần mềm Chromas V2.4, BioEdit V7.0.9.0 để xử lý trình tự. Phần mềm BLAST (NCBI) để so sánh trình tự với các loài nấm đã được giải trình

tự trên ngân hàng gien, phần mềm Lasergen 7.7.2.1 được sử dụng để lập cây phát hé.

## 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

### 3.1. Thu thập mẫu nấm côn trùng

Mẫu sau khi thu thập, được ghi lại hình ảnh và phân lập tại phòng thí nghiệm. Tổng cộng 100 mẫu nấm đã được thu thập từ 7 tỉnh, thành. Số lượng mẫu thu được tại mỗi tỉnh khác nhau, nhiều nhất là ở Củ Chi và Hóc Môn (Tp.Hồ Chí Minh). Trong nghiên cứu này, số lượng mẫu thu được tại Tp. Hồ Chí Minh nhiều hơn là do thời gian tập trung thu mẫu tại đây nhiều hơn. Tuy nhiên, số lượng mẫu khác nhau tại các vùng thu mẫu không phản ánh về sự đa dạng và phân bố nấm côn trùng tại các khu vực đó cũng như trên từng loại cây trồng. Các mẫu nấm côn trùng thu được phân bố chủ yếu trên hai môi trường sống chính là trong đất và trên lá cây. Tổng số mẫu thu được trong đất là 25 mẫu (tỉ lệ 25%) và trên lá cây là 75 mẫu (tỉ lệ 75%).

Số lượng mẫu phân lập của mỗi chi được thể hiện ở bảng 1 cho thấy các mẫu nấm được phân lập nhiều nhất ở trên ký chủ rầy nâu và ve sáu. Số lượng mẫu phân lập nhiều nhất thuộc chi *Hirsutella*, *Metarhizium*, *Beauveria* và *Verticillium*, trong đó có những loài quan trọng như *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, *Verticillium lecanii*, *Hirsutella citriformis*.

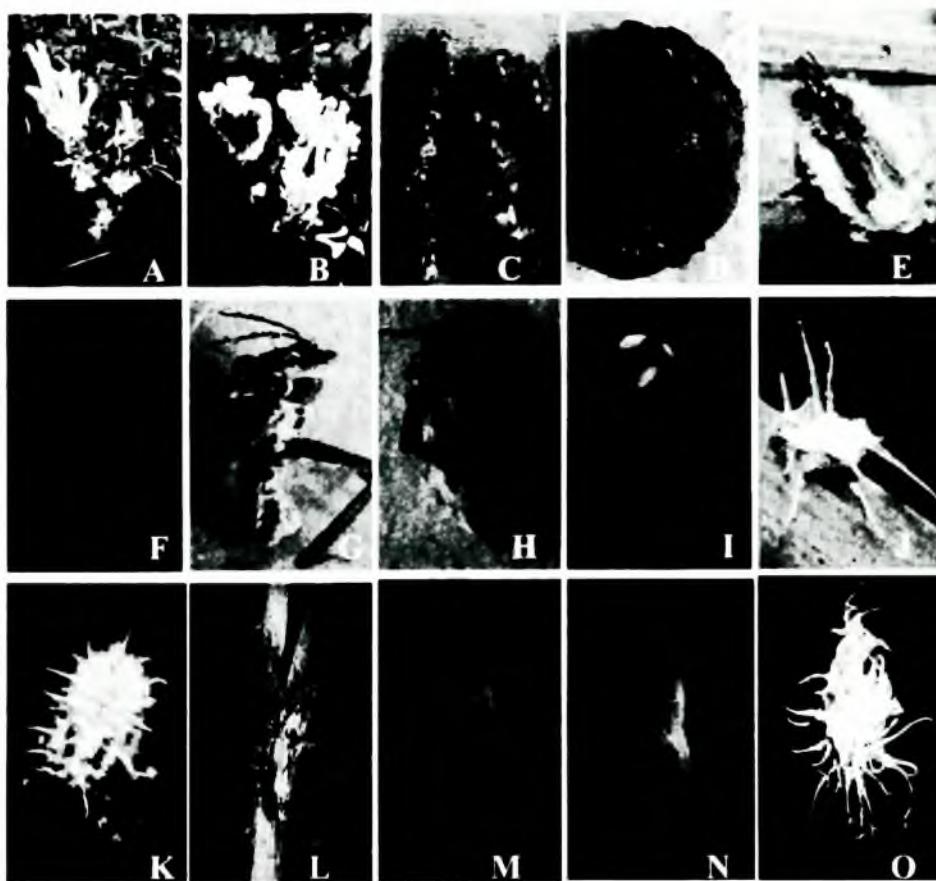
Bộ mẫu nấm côn trùng sau khi phân lập và mô tả hình thái đã được bảo quản trong 10% glycerol trong tủ lạnh sâu ở -80°C. Đây là nguồn giống có giá trị trong quá trình nghiên cứu và ứng dụng trong đấu tranh sinh học sau này.

### 3.2. Kết quả định danh bằng hình thái học

Kết quả mô tả các đặc điểm hình thái của mẫu nấm và so sánh với các tài liệu phân loại cho thấy trong tổng số 100 mẫu thu được, có tất cả 7 chi nấm được ghi nhận bao gồm *Beauveria*, *Cordyceps*, *Hirsutella*, *Metarhizium*, *Nomuraea*, *Paecilomyces*, và *Verticillium*. Tất cả đều thuộc ngành Ascomycota, bộ Hypocreales. Số lượng mẫu thu được ở mỗi chi là khác nhau, trong đó, mẫu *Hirsutella* thu được nhiều nhất với 45 mẫu (chiếm tỉ lệ 45%), kế đến là *Metarhizium* (20%), *Beauveria* 13 mẫu (13%), *Verticillium* (8%), *Nomuraea* (5%), *Cordyceps* (7%), *Paecilomyces* (2%). Đã xác định có 13 loài nấm côn trùng được ghi nhận (bảng 1, hình 1).

Trong nghiên cứu này, mẫu nấm thu thập chỉ ở 7 tinh/thanh nên số loài nấm côn trùng ghi nhận con

giới hạn, mở rộng vùng sinh thái thu mẫu có thể số loài nấm hiện diện sẽ nhiều hơn.



Hình 1. Một số hình ảnh nấm côn trùng ký sinh trên các ký chủ khác nhau

A: *Cordyceps cicadae*; B: *Cordyceps takaomontana*; C-D: *Metarhizium anisopliae*; E: *Metarhizium cf flavoviride*; F-G: *Beauveria bassiana*; H: *Beauveria* sp.; I: *Verticillium* sp.; J-K: *Paecilomyces* sp.; L: *Hirsutella citriformis*; M-N: *Verticillium lecanii*; O: *Hirsutella* sp.

Bảng 1. Các loài nấm côn trùng và ký chủ tương ứng ở vùng Tây Nguyên, Đông và Tây Nam bộ

ST Γ	Tên loài	Ký chủ	Cây trồng	Địa điểm thu mẫu
1	<i>Beauveria bassiana</i>	Cào cào	Lúa	Tiền Giang
2	<i>Beauveria bassiana</i>	Tầm	Đậu tầm	Tân Châu - An Giang
3	<i>Beauveria bassiana</i>	Ve sầu	Cà phê	Lâm Hà - Lâm Đồng
4	<i>Beauveria</i> sp.	Chưa xác định	Cải	Quận 12-Tp.HCM
5	<i>Beauveria</i> sp.	Ve sầu	Cà phê	Đức Trọng-Lâm Đồng
6	<i>Beauveria</i> sp.	Bọ xít	Lúa	Củ Chi-Tp.HCM
7	<i>Cordyceps cicadae</i>	Ve sầu	Đất cà phê	Lâm Hà - Lâm Đồng
8	<i>Cordyceps takaomontana</i>	Ve sầu	Đất cà phê	Lâm Hà - Lâm Đồng
9	<i>Hirsutella</i> sp.	Rầy nâu	Lúa	Hóc Môn - Tp.HCM
10	<i>Hirsutella citriformis</i> Speare	Rầy nâu	Lúa	Hóc Môn - Tp.HCM
11	<i>Paecilomyces</i> sp.	Rầy nâu	Lúa	Củ Chi - Tp.HCM
12	<i>Metarhizium anisopliae</i>	Sâu khoang	Cải bẹ xanh	Quận 12 -Tp.HCM
13	<i>Metarhizium anisopliae</i>	Ấu trùng bọ hung	Đất trồng cỏ	Tp.HCM
14	<i>Metarhizium anisopliae</i>	Rầy nâu	Lúa	Tiền Giang
15	<i>Metarhizium</i> sp.	Ve sầu	Đất cà phê	Đức Trọng-Lâm Đồng

16	<i>Metarhizium</i> sp.	Rầy nâu	Lúa	Bến Tre
17	<i>Metarhizium</i> cf. <i>flavoviride</i>	Rầy nâu	Lúa	Hoc Môn - Tp.HCM
18	<i>Nomuraea rileyi</i>	Sâu	Cây rau	Lâm Hà - Lâm Đồng
19	<i>Verticillium lecanii</i>	Rầy nâu	Lúa	Hoc Môn-Tp.HCM
20	<i>Verticillium</i> sp.	Chưa xác định	Lúa	Củ Chi-Tp.HCM

Số lượng mầm nấm ký sinh côn trùng thu thập trên 9 loại ký chủ có khác nhau, trong đó, rầy nâu và ve sầu là ký chủ thu được nhiều mầm ký sinh nhất. Đặc biệt với rầy nâu hại lúa, có 7 loài nấm ký sinh ghi nhận, gợi ý rằng có thể tạo ra chế phẩm sinh học chứa nhiều loại nấm ký sinh côn trùng để kiểm soát rầy nâu. Kết quả nghiên cứu này chưa phản ánh được sự đa dạng về ký chủ của một số loài nấm côn trùng, tuy nhiên có nhiều loài có phổ ký chủ thuộc nhiều loài côn trùng khác nhau, ví dụ như *Metarhizium* spp., *Beauveria* spp. và *Verticillium* spp. (Inglis và cộng sự, 2001). Các loài thuộc chi *Metarhizium* đã

được tìm thấy trên các ký chủ thuộc bộ Homoptera, Coleoptera, Lepidoptera, Orthoptera (Kwong, 2003).

Trong nghiên cứu này cũng đã ghi nhận được hai loài sinh sản hữu tính (teleomorph) dựa trên phương thức hình thành bào tử. Tất cả các loại vò tinh hình thành bào tử đính (conidia) trong khi các loại hữu tính hình thành bào tử túi, đó là *Cordyceps cicadae* (vò tinh *Isaria cicadae* Miquel) và *Cordyceps takaomontana* (vò tinh *Isaria tenuipes* Peck) thuộc chi *Cordyceps*. Đặc điểm hình thái tàn sợi nấm của các loài thu được trên môi trường dinh dưỡng PDA đã mô tả trong bảng 2.

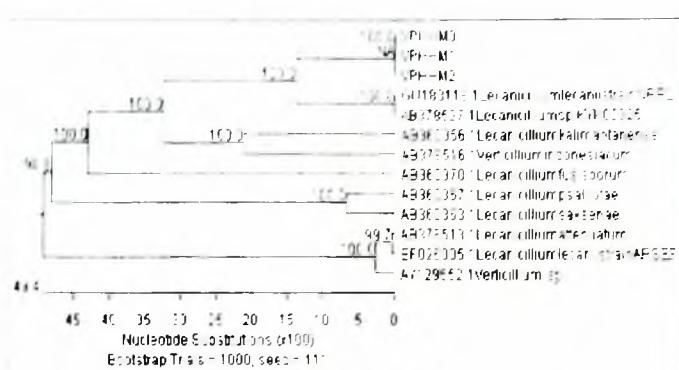
Bảng 2. Đặc điểm hình thái tàn nấm một số loài nấm trên môi trường PDA

Tên loài	Đặc điểm tàn nấm
<i>Beauveria bassiana</i>	Dạng tròn, màu trắng đục, sợi nấm lan đều trên mặt thạch, mọc theo từng vòng đồng tâm, có nhiều lớp bào tử phủ trên bề mặt sợi nấm.
<i>Beauveria</i> sp.	Tàn nấm có dạng tròn, màu trắng, hình thành đường rẽ quạt khá đều và ăn sâu xuống dưới mặt thạch, sợi nấm bện chặt vào mặt thạch.
<i>Verticillium</i> sp.	Dạng tròn, màu trắng, sợi nấm bện chặt vào mặt thạch, ở giữa nhô cao với sợi nấm bông xốp hơn so với toàn bộ bề mặt, hình thành đường rẽ quạt; mặt sau màu vàng nhạt.
<i>Verticillium lecanii</i>	Dạng tròn, màu trắng, đường rẽ quạt không rõ nét, sợi nấm bông xốp, tiết sắc tố vàng nhạt ở vùng giữa tàn; mặt sau màu hơi vàng.
<i>Hirsutella citriformis</i> Speare	Dạng tròn, màu vàng cam ở tâm, sợi nấm ăn sâu vào mặt thạch, mặt dưới có màu cam nhạt.
<i>Metarhizium anisopliae</i>	Dạng tròn, sợi nấm ăn sâu vào mặt thạch, mặt trên có khói bào tử màu xanh nhạt bao phủ.
<i>Cordyceps takaomontana</i>	Dạng tròn, màu trắng đục, sợi nấm mọc lan tạo lớp mỏng trên mặt thạch, có vân tròn, đồng thời xuất hiện đường rẽ quạt không rõ; mặt sau màu trắng, sau 30 ngày nuôi cây sợi nấm phát triển thành dạng như cây nấm có mủ.
<i>Cordyceps cicadae</i>	Dạng tròn, màu trắng đục, có vân tròn; mọc sát mặt thạch, mặt sau đĩa có màu trắng, sau 30 ngày nuôi cây sợi nấm phát triển thành dạng như cây nấm có mủ.

### 3.3. Kết quả định danh một số loài nấm côn trùng bằng phân tử

Với mục đích lựa chọn ra những loài nấm có khả năng ứng dụng cao trong đấu tranh sinh học, một số mẫu phân lập đã được định danh dựa vào đặc điểm hình thái là *Beauveria bassiana*, *Verticillium lecanii* (*Lecanicillium lecanii*), *Metarhizium anisopliae* được kiểm tra bổ sung bằng phương pháp phân tử dựa vào

trình tự vùng ITS1, 5,8S, ITS2 theo Zare và cộng sự (1999). Hình 2 cho thấy mẫu VPHHM1, VPHHM2, VPHHM3 nằm cùng một nhánh và cùng chung một nhánh lớn với mẫu *Lecanicillium lecanii* chủng NRRL và *Lecanicillium* sp. KYK00325. So sánh cho thấy trình tự mẫu VPHHM2, VPHHM3 tương tự như trình tự của mẫu VPHHM1 và tương đồng 95% với *Lecanicillium lecanii* NRRL.



**Hình 2.** Cây phả hệ của mẫu nấm VPHM1, VPHM2, VPHM3 với các mẫu nấm tham khảo trên ngân hàng gien ở vùng gien ITS1, 5,8S, ITS2. Số bên trên mỗi nhánh cây là tỉ lệ (%) lần lặp lại trong 1000 lần của nhánh cây. Nhánh có số lần lặp <50% không được thể hiện trên nhánh.

*Verticillium lecanii* là loại ký sinh côn trùng được tìm thấy ở nhiều nước trên thế giới, đã được sử dụng thành công để kiểm soát các loài rệp (Hall, 1982).

Đặc biệt *V. lecanii* đã được chứng minh là một tác nhân gây bệnh mạnh cho các loài sâu chích hút trong chương trình phong trào tổng hợp (IPM). Ở dạng bột thảm nước (mycotol) gây tử vong cao cho rệp, ruồi trắng trong nhà kính, bọ trĩ hại trên cà chua và các loại cây trồng lâm canh (Wilding, 1981). Thủ thập thành công các mẫu *Verticillium lecanii* ban đầu giúp cho nghiên cứu tạo chế phẩm sinh học để phong trào các loại rệp muỗi (*Aphis* sp.) trên rau lá một trong những tác nhân kho phong trào hiện nay.

Với 2 mẫu nấm thuộc chi *Cordyceps* ký sinh trên ve sầu cũng đã được giải trình tự. Kết quả so sánh cho thấy, mẫu BCID1 có độ tương đồng 99% với loài *Cordyceps takaomontana* (hình 3), mẫu BCID2 có độ tương đồng 97% với *Cordyceps cicadae* (hình 4). Trong đó, loài *C. cicadae* thường ký sinh trên xác những loài côn trùng thuộc bộ Homoptera (Hung và cộng sự, 2009).

Query 1	ACCAAGCAACCCCTGTATCCATCAGTCTCTTGAAATCGGCGCAAGGCAAATATAATGAAT	60
Sbjct 338	ACCAAGCAACCCCTGTATCCATCAGTCTCTTGAAATCGGCGCAAGGCAAATATAATGAAT	397
Query 61	CAAAACTTCAACAACGGATCTCTTGGCATCGATGAAGAACGCGAGGAAATGCG	120
Sbjct 398	CAAAACTTCAACAACGGATCTCTTGGCATCGATGAAGAACGCGAGGAAATGCG	457
Query 121	ATACGTAATGTGAATTGCAGAATTCCGTGAATCATCGAATCTTGAACGCCATTGCC	180
Sbjct 458	ATACGTAATGTGAATTGCAGAATTCCGTGAATCATCGAATCTTGAACGCCATTGCC	517
Query 181	CGCCAGCATTCGGCGGCATGCCCTGTCAGCGTCATTCAACCCCTCGACCTCCCCGG	240
Sbjct 518	CGCCAGCATTCGGCGGCATGCCCTGTCAGCGTCATCTCAACCCCTCGACCTCCCCGG	577
Query 241	GACGTCGGCCTTGGGACCGGCAGCACCCGCCCTGCAATAGAGTGGCGGCCGTC	300
Sbjct 578	GACGTCGGCCTTGGGACCGGCAGCACCCGCCCTGAAATAGAGTGGCGGCCGTC	637
Query 301	CGCGGCACCTCTGCGCAGTACAACCACTCGCACCGGAACCGACGCCCGGTGA	360
Sbjct 638	CGCGGCACCTCTGCGCAGTACAACCACTCGCACCGGAACCGACGCCCGGTGA	697
Query 361	AACCCCCAACCTCTAACGTTGACCTCGATCAGGTAGGACTACCCGCTGAACCTAAC	420
Sbjct 698	AACCCCCAACCTCTAACGTTGACCTCGATCAGGTAGGACTACCCGCTGAACCTAAC	757
Query 421	TATCAATAAGCGGAGGAAAAGAAACCAACAGGGATTGCCCTCGAGTTGTAATTGCAAGGATGCT	480
Sbjct 758	TATCAATAAGCGGAGGAAAAGAAACCAACAGGGATTGCCCTCGAGTTGTAATTGCAAGGATGCT	817
Query 481	GCAACAGCTCAAATTGAAATCTGGCCCTCGGGTCGAGTTGTAATTGCAAGGATGCT	540
Sbjct 818	GCAACAGCTCAAATTGAAATCTGGCCCTCGGGCCGAGTTGTAATTGCAAGGATGCT	877
Query 541	TCGGGCAGGTGCCTCCGAGTTCCCTGGAACGGACGCCATAAGGGTGAGAGCCCGT	600
Sbjct 878	TCGGGCAGGTGCCTCCGAGTTCCCTGGAACGGACGCCACAGGGTGAGAGCCCGT	937
Query 601	CTGGTCGGACACCGAGCCCGTGTGAAGCTCCCTC	634
Sbjct 938	ATGGTCGGACACCGAGCCCGTGTGAAGCTCCCTC	971

**Hình 3.** So sánh độ tương đồng trình tự vùng 18S rARN, ITS1, 5,8S rARN, ITS2, 26S rARN mẫu BCID1 với *Cordyceps takaomontana* ID: IAB044637.11

Query 1	ACGTTAGAATTCCTTGTGAGGGCGCCCTTGATGTTTGTGAAATT
Sbjct 2973	TGGTCAAGAGCTTCCGGGTTCAAGGGGGTTCTTCTTCTTGTGAAATT
Query 61	ACTGCGCAGAGGTCCCCGGGACCCCCCGGCACTGATTTGAGGGGGGGGG
Sbjct 2913	ACTGCGCAGAGGTGGGGGGGACGGGGGGGCACTGATTTGAGGGGGGGGGGG
Query 121	CGGTCCCCAAGGCCGAGGTCCCAGGGGAGCGAGGGTTGAAATGAGGCTGAAAT
Sbjct 2853	CGGTCCCCAAGGCCGAGGTCCCAGGGGAGCGAGGGTTGAAATGAGGCTGAAAT
Query 181	TGCCCCGCAGAATGCTGGGGGGCAATGTGCGTT-AAAGATTCAAT-ATCCACGGAAATT
Sbjct 2793	TGCCCCGCAGAATGCTGGGGGGCAATGTGCGTTCAAAGATTGATGATTCAAGGAATT
Query 239	CTGCATTTACATTAC-TATCCATTTCGGGGC-TTCTTCTTC-ATCCAAAAACCAAGAG
Sbjct 2733	CTGCAATTACACATTACGTATCGCATTTCGCTGCGTTCATCGATGCCAGAACCAAGAG
Query 296	ATCCGTTGTTGAAAGTTTGATTCAATTGTTGCTGCCTGCGGGGATTCAAGAGAGACTGA
Sbjct 2673	ATCCGTTGTTGAAAGTTTGATTCAATTGTTGCTGCCTGCGGGGATTCAAGAGAGACTGA
Query 356	TGGATACAGGGTTGCGTGGCTCCGGGGCCCTGGTCCAGGTGCGGGCCGGCG
Sbjct 2613	TGGATACAGGGTTGCGTGGCTCCGGGGCCCTGGTCCAGGTGCGGGCCGGCG
Query 416	GGCGTCCGGACGCTGGGGGAGTCCCGGAAGCAACGATGGTAGGTTCACAGAAGGGT
Sbjct 2553	GGCGTCCGGACGCTGGGGGAGTCCCGGAAGCAACGATGGTAGGTTCACAGAAGGGT
Query 476	TGGGAGTTGTAAAACTCTGTAATGATCCCTCGCTGGTTACCAACGGAGACCTTGTT
Sbjct 2493	TGGGAGTTGTAAAACTCTGTAATGATCCCTCGCTGGTTACCAACGGAGACCTT-GTT
Query 536	ACGACTTTACTTCCTCTAAATGACCGAGTTGGAGAGCTTCCGGCCCTGGGTGGTAGT
Sbjct 2434	ACGACTTTACTTCCTCTAAATGACCGAGTTGGAGAGCTTCCGGCCCTGGGTGGTAGT
Query 596	TGCCACCTCCCTG 609
Sbjct 2374	TGCCACCTCCCTG 2361

Hình 4. So sánh độ tương đồng trình tự vùng 18S rARN, ITS1, 5.8S rRNA, ITS2, 26S rARN mẫu BCLD2 với *Cordyceps cicadae* ID: AB086631.1

#### 4. KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã thu thập được 100 mẫu nấm côn trùng bản địa tại 7 tỉnh/thành ở Tây Nguyên, vùng Đông và Tây Nam bộ. Bằng phương pháp định danh hình thái đã phân loại được 13 loài thuộc 7 chi nấm côn trùng, gồm: *Beauveria*, *Hirsutella*, *Metarhizium*, *Nomuraea*, *Paecilomyces*, *Verticillium*, *Cordyceps*. Kết quả so sánh trình tự vùng ITS đã xác định *Verticillium lecanii*, *Cordyceps takaomontana*, *Cordyceps cicadae* là những loài hiện diện ở vùng lấy mẫu. Đã ghi nhận ve sầu nhiễm bệnh do các loài nấm thuộc chi *Beauveria*, *Metarhizium* và *Cordyceps*, riêng r้าย nâu là ký chủ của bảy loài nấm ký sinh ngoài đường ruộng. Bộ mẫu nấm phân lập được hiện tại và trong tương lai sẽ là nguồn nguyên liệu quý giá cho những nghiên cứu ứng dụng trong đấu tranh sinh học phòng trừ sâu hại cây trồng và các lĩnh vực nghiên cứu khác.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Barnett, H. L. and B. B. Hunter, 1972. *Illustrated genera of imperfect fungi*. 3rd edition, Burgess Publishing Co., 273 pp.
2. Samson, R. A., H. C. Evans, and J. P. Latgé, 1988. *Atlas of Entomopathogenic Fungi*. Springer-Verlag, Berlin. Heidelberg, New York. 187 pp.
3. Hajek, A. E. and R. J. St. Leger, 1994. Interactions between fungal pathogens and insect hosts. *Annu. Rev. Entomol.* 39:293-322.
4. Shah, P. A. and J. K. Pell, 2003. Entomopathogenic fungi as biological control agents. *Appl. Microbiol. Biotech.* 61: 413-423.
5. McCoy, C. W., 1990. Entomogenous fungi as microbial pesticides. Pp. 139-159. In R. R. Baker, and P. E. Dunn (eds.). *New Directions in Biological Control*. Alan R. Liss, New York.

6. Phạm Thị Thúy, 2004. *Công nghệ sinh học trong bảo vệ thực vật*. Nhà xuất bản ĐHQG Hà Nội, trang 261-264.
7. Hall R. A., 1981. A new insecticide against greenhouse aphids and whitefly: the fungus *Verticillium lecanii*. *Ohio Florists' Assoc. Bull.* 626: 3-4.
8. Hegedus D. D. and G. G. Khachatourians, 1993. Identification of molecular variants in mitochondrial DNAs of members of the genera *Beauveria*, *Verticillium*, *Paecilomyces*, *Tolypocladium*, and *Metarhizium*. *Appl. Env. Microb.* 59:4283-4288.
9. Hung, L. T., S. Keawsompong, V. T. Hanh, S. Sivichai and N. L. Hywel-Jones, 2009. Effect of Temperature on Cordycepin Production in *Cordyceps militaris*. *Thai Journal of Agricultural Science*. 42: 219-225.
10. Hywel-Jones, N. L., 2002. The importance of invertebrate-pathogenic fungi from the tropics. *Trop. Mycol.* 2: 133-144.
11. Luangsa-ard, J. J., Tasanathai, K., Mongkolsamrit, S. and N. L. Hywel-Jones, 2007. *Atlas of Invertebrate-Pathogenic Fungi of Thailand*. Vol. 1. NSTDA publication. Themma Group Co., Ltd. 82 p. ISBN 978-974-229-522-6.
12. Inglis, G. D., M. S. Goettel, T. M. Butt, and H. Strasser, 2001. Used of hyphomycetous fungi for managing insect pests. In: Butt T. M., Jackson C., and Magan N. (eds.). *Fungi as Biocontrol Agents*. CAB International, Wallingford. pp. 23-69.
13. Kwong, T. F. N., 2003. *A study of the distribution and molecular phylogeny of arthropod-pathogenic fungi*. Ph.D Thesis. City University of Hong Kong. 372 pp.
14. Zare R., Kouvelis, Typas and Bridge, 1999. Presence of a 20 bp insertion/deletion in the ITS1 region of *Verticillium lecanii*. *Microbiology* 28: 258 - 262.

## SURVEY SAMPLING ENTOMOPATHOGENIC FUNGI ON INSECT PESTS ON CROPS IN THE TAY NGUYEN, EASTERN AND SOUTHWEST PARTS OF VIET NAM

Tran Thi Van, Le Dinh Don, Bui Cach Tuyen

### Summary

Entomopathogenic fungi which belong to particular fungal group have been interested in research and application in medicines, biotechnology, agriculture in many countries around the world. In particular, many species of this fungal group have been widely used as biological control agents of insect pests. Research collection, classification of insects indigenous cultures to help efficiently exploit specialized functions of individual species of objects on crop pests. One hundred fungal specimens were collected on insects and 13 species belonging to 7 fungal genera have been identified including *Beauveria*, *Hirsutella*, *Metarhizium*, *Nomuraea*, *Paecilomyces*, *Verticillium*, *Cordyceps*. Results recorded *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, *Verticillium lecanii* are capable of used as biological control agents of insect pests on crops.

**Keyword:** *Entomopathogenic*, *Metarhizium*, *Nomuraea*, *Beauveria*, *Paecilomyces*, *Verticillium*, *Hirsutella*, *Cordyceps*.

**Người phản biện: PGS.TS. Lê Lương Tè**

**Ngày nhận bài: 7/4/2014**

**Ngày thông qua phản biện: 7/5/2014**

**Ngày duyệt đăng: 14/5/2014**