

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Tiêu chuẩn Quốc gia**, 2007. TCVN 7606:2007 (ISO 21571:2005). Thực phẩm - Phương pháp phân tích để phát hiện sinh vật biến đổi gen và sản phẩm có nguồn gốc biến đổi gen - Tách chiết axit nucleic. 62 trang.
- Tiêu chuẩn Quốc gia**, 2007. TCVN 7608:2007 (ISO 24276:2007). Thực phẩm - Phương pháp phân tích để phát hiện sinh vật biến đổi gen và sản phẩm có nguồn gốc biến đổi gen - Yêu cầu chung và định nghĩa. 27 trang.
- Tiêu chuẩn Quốc gia**, 2007. TCVN ISO/IEC 17025:2007 (ISO/IEC 17025:2005). Yêu cầu chung về năng lực của phòng thử nghiệm và hiệu chuẩn. 40 trang.
- International Standard**, 2013. ISO21571 Amendment 1:2013. Foodstuffs - Method of analysis for the detection of genetically modified organism and derived products - Nucleic acid extraction. 10 pages.
- Thompson, M., Ellison S.L. and Wood R.**, 2002. Harmonised guidelines for single laboratory validation of method of analysis. *Pure Appl. Chem.* 47, No. 5, 2002, pp.835-855.
- Promega**. Wizard® ADN Clean-Up System. Technical Bulletin No.141. Instructions for Use of Product A7280.

Verification of DNA extraction methods for GMO detection purposes

Luu Minh Cuc

Abstract

This study was carried out to verify four DNA extraction methods, three in accordance with TCVN 7606: 2007 (ISO 21571: 2005) including Phenol/Chloroform, Polyvinyl-pyrrolidone (PVP) and CTAB DNA extraction methods. The fourth method was DNA extraction using Wizard kit clean-up (Promega). A total of 11 samples were extracted, including seed/particle, powder, liquid, feed and food products. Negative control (H₂O) and positive control (maize leaves) were also included. Each sample was extracted twice in each method. The results showed that the method of extracting DNA by phenol/chloroform was not suitable for the above matrix samples while method of extracting DNA by PVP was suitable for seed/particle matrix. The DNA extraction by using CTAB was suitable for pure DNA with a concentration ranging from 40.5 ng/μl to 184.4 ng/μl, the ratio of A260/280 fluorescent gained from 1.68 to 2.27. The method of extraction by using DNA clean-up kit was suitable for pure DNA with concentrations ranging from 75.6 ng/μl to 184.4 ng/μl, the A260/280 index ranging from 1.8 to 2.07. Two DNA extraction methods of using CTAB and DNA clean-up kit were recommended for testing purposes in the GMO laboratories.

Key words: DNA extraction methods, matrix samples, concentration, quality

Ngày nhận bài: 11/8/2017
Ngày phản biện: 16/8/2017

Người phản biện: TS. Khuất Hữu Trung
Ngày duyệt đăng: 10/9/2017

MỘT SỐ ĐẶC ĐIỂM SINH HỌC, SINH TRƯỞNG VÀ PHÁT TRIỂN CỦA CHỦNG NẤM *Paecilomyces cicadae* CÓ TIỀM NĂNG PHÒNG TRỪ VE SẤU HẠI CÀ PHÊ

Trần Văn Huy¹, Lê Văn Trinh¹, Nguyễn Văn Liêm¹,
Nguyễn Thị Nga¹, Hà Thị Thu Thủy¹, Nguyễn Thị Như Quỳnh¹

TÓM TẮT

Nấm *Paecilomyces cicadae* là loài nấm có nhiều tiềm năng ký sinh gây chết ve sấu hại cà phê tại Tây Nguyên. Từ năm 2013 - 2015 đã tiến hành thu thập, phân lập và làm chủng thuần được 5 nguồn nấm *Paecilomyces cicadae* đó là Pae1, Pae2, Pae3, Pae4, Pae5. Trong đó đã tuyển chọn được chủng nấm *Paecilomyces cicadae* Pae1 có hiệu lực cao trong phòng trừ ve sấu hại cà phê, đạt tới 87,8 % trong điều kiện nhà lưới. Đã xác định được đặc điểm hình thái, sinh học cơ bản của chủng nấm Pae1. Nấm phát triển tốt trên môi trường PDA, ở nhiệt độ từ 20 - 25° C và độ pH từ 6,0 - 6,5, với đường kính khuẩn lạc đạt từ 5,10 - 5,75 cm sau 12 ngày nuôi cấy. Đây là cơ sở dữ liệu quan trọng để thiết lập kỹ thuật sản xuất và sử dụng chế phẩm sinh học *Paecilomyces cicadae* để phòng trừ ve sấu hại cà phê ở Tây Nguyên.

Từ khoá: Nấm *Paecilomyces cicadae*, ve sấu, cà phê, hiệu quả, đặc điểm sinh học

¹ Viện Bảo vệ thực vật

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Hiện nay, việc sử dụng nấm ký sinh côn trùng để phòng trừ sâu hại sống trong đất đang được nhiều nước trên thế giới quan tâm, coi đây như một giải pháp có hiệu quả trong hệ thống quản lý sâu hại tổng hợp, đặc biệt ở những vùng nhiệt đới nóng ẩm. Ve sầu hại cà phê thường phát sinh trong các vườn cà phê rậm rạp, giai đoạn trưởng thành thường sống trong tán lá thường xuyên rợp bóng, ấu trùng sống trong khu vực đất có độ ẩm cao, nên rất thuận lợi cho nấm ký sinh. Kết quả nghiên cứu gần đây đã xác định thành phần nấm ký sinh ve sầu hại cà phê tại Tây Nguyên khá đa dạng và phong phú (Đào Thị Lan Hoa và *ctv.*, 2016). Trong số các loài nấm ký sinh phổ biến thì loài nấm *Paecilomyces cicadae* là loài có nhiều tiềm năng ký sinh gây chết trên ve sầu (Trần Văn Huy và *ctv.*, 2015). Nhằm hướng tới phát triển sản xuất chế phẩm sinh học phục vụ phòng chống ve sầu hại cà phê, việc đi sâu nghiên cứu đặc điểm hình thái và sinh học của loài nấm này là cần thiết. Bài báo này trình bày một số kết quả nghiên cứu về đặc điểm hình thái và khả năng phát triển của nấm *Paecilomyces cicadae* trên môi trường nhân tạo.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

- Các chủng nấm *Paecilomyces cicadae* ký sinh ve sầu hại cà phê.
- Ve sầu hại cà phê.
- Các loại môi trường nuôi cấy nấm.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp thu thập phân lập mẫu nấm

Thu thập phân lập chủng nấm *Paecilomyces cicadae* ký sinh trên ve sầu hại cà phê ở một số địa điểm thuộc vùng Tây Nguyên (Đắk Lắk, Đắk Nông, Lâm Đồng). Mẫu thu thập được để ẩm trên đĩa Petri có lót giấy thấm để nấm phát triển và hình thành bào tử. Phân lập các nguồn nấm ký sinh ve sầu trên môi trường PDA. Sau khi nấm phát triển 10 - 12 ngày trên môi trường với các đặc điểm đặc trưng thì tiến hành cấy chuyển và làm thuần theo phương pháp tách đơn bào tử.

2.2.2. Phương pháp tuyển chọn chủng nấm có hiệu lực cao trong phòng trừ ve sầu

Thí nghiệm tuyển chọn chủng nấm *Paecilomyces cicadae* có hiệu lực cao trong phòng trừ ve sầu hại cà phê được tiến hành tại nhà lưới của Trung tâm Đậu

tranh sinh học - Viện Bảo vệ thực vật (Viện BVTV), bằng phương pháp sử dụng dung dịch bào tử nấm *Paecilomyces cicadae* tưới lên chậu vại có các lỗ đục sẵn bên trong có chứa ấu trùng ve sầu. Thí nghiệm được bố trí với 6 công thức tương ứng với 5 chủng nấm lây nhiễm vào ấu trùng ve sầu là Pae1, Pae2, Pae3, Pae4, Pae5 và công thức đối chứng (tưới nước lã). Mỗi công thức 3 lần nhắc lại, mỗi lần nhắc lại lây nhiễm trên 30 cá thể ấu trùng ve sầu tuổi 2. Nồng độ bào tử nấm lây nhiễm là $5,0 \times 10^7$ CfU/ml. Hiệu lực ký sinh gây chết ve sầu của nấm được hiệu chỉnh theo công thức Abbott.

2.2.3. Phương pháp nghiên cứu đặc điểm hình thái của nấm

Nghiên cứu đặc điểm hình thái của nấm *Paecilomyces cicadae* theo phương pháp nuôi cấy nấm trên môi trường PDA trong điều kiện phòng thí nghiệm. Sau 3, 7 và 14 ngày, tiến hành quan sát khuẩn lạc, làm tiêu bản và quan sát dưới kính hiển vi để xác định hình dạng, kích thước của cuống sinh bào tử, bào tử trần, đồng thời so sánh, đối chiếu với các tài liệu có liên quan (Barnett, 1955; Samson *et al.*, 1988; Liang *et al.*, 2005).

2.2.4. Phương pháp xác định môi trường nuôi cấy nấm thích hợp

Tìm hiểu khả năng phát triển của nấm trên môi trường nhân tạo: Nuôi cấy nấm trên 4 loại môi trường, gồm: Saboraud, PDA, SDAY và Czapek-dox trong điều kiện phòng thí nghiệm, sau đó tiến hành theo dõi, đánh giá khả năng phát triển của khuẩn lạc sau 3, 5, 7, 9 và 12 ngày nuôi cấy.

2.2.5. Phương pháp nghiên cứu ảnh hưởng của nhiệt độ đến sự phát triển của nấm

Nghiên cứu ảnh hưởng của nhiệt độ đến sự phát triển của nấm tiến hành theo 6 công thức, nuôi cấy nấm trên môi trường PDA là 6 mức nhiệt độ khác nhau 17, 20, 23, 25, 28, 30 °C. Theo dõi đường kính khuẩn lạc sau 3, 5, 7, 9 và 12 ngày nuôi cấy.

2.2.6. Phương pháp nghiên cứu ảnh hưởng của pH đến sự phát triển của nấm

Nghiên cứu ảnh hưởng của pH môi trường nuôi cấy đến sinh trưởng phát triển của nấm được tiến hành trên môi trường PDA đã được xác định ở các mức pH : 5,5; 6,0; 6,5; 7,0 và 7,5. Nuôi cấy ở điều kiện nhiệt độ thích hợp đã được xác định qua kết quả thí nghiệm trên. Theo dõi đường kính của khuẩn lạc và đếm số lượng bào tử sau: 3, 5, 7, 9 và 12 ngày nuôi cấy trong điều kiện nhiệt độ thích hợp.

2.2.7. Xử lý số liệu

Số liệu được xử lý trên phần mềm Statistix 9.0 và Excel.

2.3. Địa điểm và thời gian nghiên cứu

- Địa điểm nghiên cứu: Thu thập mẫu nấm *Paecilomyces cicadae* tại Đắc Lắc, Đắc Nông, Lâm Đồng. Các thí nghiệm nghiên cứu đặc điểm của nấm tại Phòng thí nghiệm Trung tâm sinh học, Viện Bảo vệ thực vật.

- Thời gian nghiên cứu: Năm 2013 - 2015.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Kết quả phân lập, tuyển chọn chủng nấm *Paecilomyces cicadae* ký sinh trên ve sầu hại cà phê ở Tây Nguyên

Từ các mẫu nấm ký sinh ve sầu thu thập được ở ngoài tự nhiên ở các vườn cà phê tại Đắc Lắc, Đắc Nông và Lâm Đồng, đã phân lập và thu được 5 chủng nấm *Paecilomyces cicadae* ký sinh trên ve sầu, được đặt tên là chủng Pae1, Pae2, Pae3, Pae4, Pae5 (Bảng 1). Các chủng nấm này có các đặc điểm ký sinh đặc trưng trên sâu non ve sầu như: Hệ sợi nấm bao bọc kín cơ thể ấu trùng (sâu non) ve sầu, màu trắng ánh vàng đến nâu nhạt, hình thành quả thể với kích thước từ 3 - 5 cm.

Bảng 1. Kết quả phân lập các chủng nấm *Paecilomyces cicadae* ký sinh trên ve sầu hại cà phê tại Tây Nguyên (2013 - 2015)

Tên chủng	Địa điểm thu thập	Thời gian phân lập	Đặc điểm ký sinh của nấm trên ấu trùng ve sầu
Pae1	Krông Pắc - Đắc Lắc	5/2013	Hệ sợi nấm bọc kín cơ thể sâu non ve sầu, màu trắng ánh vàng đến nâu nhạt, hình thành quả thể dài 3 - 5 cm
Pae2	Krông Pắc - Đắc Lắc	9/2014	Hệ sợi nấm bao bọc kín cơ thể sâu non ve sầu, vàng nhạt, hình thành quả thể dài 3 - 4 cm
Pae3	Di Linh - Lâm Đồng	5/2015	Hệ sợi nấm bao bọc kín cơ thể sâu non ve sầu, màu vàng nhạt, hình thành quả thể dài 2 - 4 cm
Pae4	Đắc Song - Đắc Nông	5/2015	Hệ sợi nấm bao bọc kín cơ thể sâu non ve sầu, màu vàng nhạt, hình thành quả thể dài 1 - 3 cm
Pae5	TP. Buôn Ma Thuột - Đắc Lắc	5/2015	Hệ sợi nấm bao bọc kín cơ thể sâu non ve sầu màu vàng nhạt, hình thành quả thể dài 3 - 5 cm

Đánh giá khả năng ký sinh gây chết ấu trùng ve sầu hại cà phê trong điều kiện nhà lưới của các chủng đã phân lập, kết quả cho thấy cả 5 chủng phân lập đều có khả năng phòng trừ ve sầu, trong đó chủng Pae1 hiệu lực gây chết ấu trùng ve sầu cao nhất, đạt 87,8% sau 15 ngày xử lý. Các chủng Pae2 và Pae3 có

hiệu lực gây chết đạt tương ứng 77,8% và 80,0%, còn chủng Pae4 đạt hiệu lực 73,3 % và thấp nhất là chủng Pae5 với hiệu lực đạt 61,1% (Bảng 2). Kết quả này cho thấy, chủng Pae1 có thể lựa chọn để phát triển chế phẩm sinh học phòng chống ve sầu hại cà phê tại Tây Nguyên.

Bảng 2. Hiệu quả gây chết ấu trùng ve sầu hại cà phê của các chủng nấm *Paecilomyces cicadae* (Nhà lưới Viện BVTV, 2015)

Tên chủng nấm	Nồng độ (Cfu/ml)	Số lượng ấu trùng trước xử lý (con/lần nhắc)	Số lượng ấu trùng sống sau 15 xử lý nấm (con/lần nhắc)	Hiệu quả gây chết ve sầu (%)	T°C TB	H (%) TB
Pae1	$5,0 \times 10^7$	30	3,7	87,8	25,3	67,4
Pae2	$5,0 \times 10^7$	30	6,7	77,8		
Pae3	$5,0 \times 10^7$	30	6,0	80,0		
Pae4	$5,0 \times 10^7$	30	11,7	61,1		
Pae5	$5,0 \times 10^7$	30	8,0	73,3		
Đối chứng	Tưới nước	30	27,6	-		

3.2. Đặc điểm hình thái và điều kiện phát triển của chủng nấm *Paecilomyces cicadae* Pae1 ký sinh ve sầu hại cà phê

Từ kết quả nêu trên, chủng nấm Pae1 đã được lựa chọn để nghiên cứu đặc điểm hình thái, sinh trưởng

và phát triển trong điều kiện phòng thí nghiệm. Các đặc điểm hình thái về khuẩn lạc, hệ sợi nấm, cành sinh bào tử và bào tử nấm sau khi đã phát triển ổn định được trình bày ở bảng 3.

Bảng 3. Đặc điểm hình thái, sinh học của chủng nấm *Paecilomyces cicadae* (Pae1) trên môi trường PDA (Phòng thí nghiệm Viện BVTV, năm 2015)

Ngày nuôi cấy	Khuẩn lạc		Cành bào tử	Bào tử	
	Kích thước (cm)	Hình thái	Đặc điểm	Kích thước (μm)	Hình thái
3	0,9 - 1,0	Tròn, dạng sợi màu trắng mép dạng nhung mảnh, mặt cắt dạng gỗ ghề	Màu xanh, phân nhánh, mang các thể bình tạo thành cụm	3,5 - 4,0 × 1,2 - 2,0	Hình trứng dài, màu xanh, vách mịn, trong suốt
7	2,6 - 2,8	Tròn, mọc theo đường tròn đồng tâm màu trắng, có bột màu trắng	Màu xanh, phân nhiều cụm bào tử trần, thể bình có dạng khuôn bình phình ra ở đáy, phía trên hẹp lại	3,4 - 5,0 × 1,2 - 2,0	Hình trứng dài, màu xanh, vách mịn, trong suốt
14	6,2 - 6,3	Tròn, mọc theo đường tròn đồng tâm, vòng ngoài màu trắng, vòng trong có màu trắng đục, có bột màu vàng nhạt	Màu xanh, phân nhiều cụm bào tử trần, thể bình có dạng khuôn bình phình ra ở đáy, phía trên hẹp lại	3,5 - 6,0 × 1,2 - 2,0	Hình trứng dài, màu xanh, vách mịn, trong suốt

Kết quả cho thấy, sau 3 ngày nuôi cấy nấm đã hình thành bào tử. Khi bào tử phát triển mạnh với số lượng lớn thì khuẩn lạc chuyển sang màu vàng nhạt rồi sang màu vàng nâu. Khuẩn lạc trên môi trường PDA tạo nhiều đường tròn đồng tâm, ban đầu màu trắng dần dần tạo các đường tròn màu vàng nhạt gần tâm và phát triển dần ra ngoài mép. Sau 14 ngày nuôi cấy thì chủng nấm Pae1 có khả năng phát triển khí sinh trên môi trường PDA.

Với điều kiện nhiệt độ 25°C và độ ẩm không khí 61%, kích thước khuẩn lạc thay đổi rõ rệt sau 3, 7

và 14 ngày nuôi cấy. Trong số 4 loại môi trường thử nghiệm thì môi trường PDA thích hợp nhất cho nấm phát triển. Sau 3 ngày nuôi cấy, đường kính khuẩn lạc mới chỉ đạt 1,24 cm nhưng đến 7 và 12 ngày thì đường kính khuẩn lạc đã đạt tương ứng là 3,10cm và 5,28 cm. Tiếp đến là hai loại môi trường Saboraud và môi trường Czapek - Dox với tốc độ phát triển của khuẩn lạc tương đương nhau đạt tương ứng là 3,98 cm và 3,68 cm sau 12 ngày nuôi cấy. Trên môi trường SDAY nấm phát triển kém nhất, chỉ đạt 2,33 cm sau 12 ngày nuôi cấy (Bảng 4).

Bảng 4. Sự phát triển của chủng nấm Pae1 trên các loại môi trường nuôi cấy (Phòng thí nghiệm Viện BVTV, năm 2015)

Môi trường	Đường kính khuẩn lạc sau các ngày nuôi cấy (cm)					T°C TB	H(%) TB
	3 ngày	5 ngày	7 ngày	9 ngày	12 ngày		
Saboraud	0,72	1,84	2,96	3,33	3,98	25,0	61,0
PDA	1,24	2,24	3,10	4,20	5,28		
SDAY	0,44	1,18	2,05	2,13	2,33		
Czapek-Dox	0,70	1,81	2,70	3,28	3,68		

Đánh giá sự phát triển của nấm tại các ngưỡng nhiệt độ khác nhau, kết quả cho thấy chủng nấm Pae1 phát triển tốt trong điều kiện nhiệt độ tương đối thấp từ 20 - 25°C với đường kính khuẩn lạc đạt 5,10- 5,52 cm sau 12 ngày nuôi cấy. Ở các nhiệt độ

17°C và 28°C, tốc độ phát triển của nấm là tương đương nhau với đường kính khuẩn lạc đạt tương ứng 3,5 và 3,8 cm. Nhưng ở nhiệt độ 30°C nấm phát triển chậm, đường kính khuẩn lạc chỉ đạt 1,87 cm sau 12 ngày nuôi cấy (Bảng 5).

Bảng 5. Sự phát triển của chủng nấm Pae1 tại các ngưỡng nhiệt độ nuôi cấy nấm khác nhau
(Phòng thí nghiệm Viện BVTV, năm 2015)

Nhiệt độ (°C)	Môi trường	Đường kính khuẩn lạc sau các ngày nuôi cấy (cm)				
		3 ngày	5 ngày	7 ngày	9 ngày	12 ngày
17	PDA	0,84	1,62	2,47	3,37	3,50
20	PDA	0,82	1,60	2,30	3,76	5,10
23	PDA	1,32	2,74	3,78	4,48	5,52
25	PDA	0,70	1,84	2,96	3,85	5,36
28	PDA	1,28	2,44	3,50	3,80	3,80
30	PDA	0,28	0,58	1,24	1,70	2,07

Kết quả thí nghiệm (Bảng 6) cũng cho thấy, chủng nấm Pae1 phát triển thích hợp nhất trong điều kiện môi trường nuôi cấy có pH là 6,0 và 6,5 với đường kính khuẩn lạc đạt tương ứng đạt 5,10 và 5,57 cm sau 12 ngày nuôi cấy. Với pH môi trường là 7,0 thì

nấm phát triển chậm hơn với đường kính khuẩn lạc đạt 4,15 cm và khi pH môi trường lên đến 7,5 nấm phát triển rất chậm, khuẩn lạc chỉ đạt 2,54 cm sau 12 ngày nuôi cấy.

Bảng 6. Sự phát triển của chủng nấm Pae1 trên môi trường có độ pH khác nhau
(Phòng thí nghiệm Viện BVTV, năm 2015)

Công thức	pH Môi trường	Đường kính khuẩn lạc sau các ngày nuôi cấy trên môi trường PDA (cm)					T°C TB	H % TB
		3 ngày	5 ngày	7 ngày	9 ngày	12 ngày		
I	5,5	0,53	1,21	2,02	3,01	3,41	25,0	61,0
II	6,0	0,12	2,09	3,21	4,15	5,10		
III	6,5	1,35	2,51	3,24	4,31	5,57		
IV	7,0	0,97	1,75	2,81	3,85	4,15		
V	7,5	0,40	0,70	1,35	2,12	2,54		

Như vậy qua các thí nghiệm đánh giá các yếu tố ảnh hưởng đến sự phát triển của nấm cho thấy, chủng nấm *Paecilomyces cicadae* Pae1 phát triển tốt trên môi trường PDA, nhiệt độ tối ưu cho nấm phát triển là 20 - 25°C và pH từ 6,0 - 6,5.

IV. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

4.1. Kết luận

- Đã phân lập và làm thuần được 5 nguồn *Paecilomyces cicadae* (Pae1, Pae2, Pae3, Pae4, Pae5) có tiềm năng ký sinh ve sầu hại cà phê vùng Tây Nguyên và tuyển chọn được chủng nấm *Paecilomyces cicadae* Pae1 có hiệu lực cao trong phòng trừ ve sầu hại cà phê, đạt tới 87,8 % trong điều kiện nhà lưới.

- Đã xác định được đặc điểm hình thái, sinh học *Paecilomyces cicadae* Pae1. Nấm phát triển tốt trên môi trường PDA, ở ngưỡng nhiệt độ từ 20 - 25° C và pH từ 6,0 - 6,5 với đường kính khuẩn lạc có thể đạt từ 5,10 - 5,75 cm sau 12 ngày nuôi cấy.

4.2. Đề nghị

Tiếp tục nghiên cứu phát triển chế phẩm sinh học với chủng nấm *Paecilomyces cicade* Pae1 để phòng

trừ ve sầu hại cà phê tại Tây Nguyên theo hướng an toàn, bền vững.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Trần Văn Huy, Lê Văn Trinh, Nguyễn Văn Liêm, Nguyễn Thị Nga, Hà Thị Thu Thủy, Nguyễn Thị Như Quỳnh, Nguyễn Thị Chúc Quỳnh, 2015. Thành phần nấm ký sinh ve sầu hại cà phê vùng Tây Nguyên và tiềm năng sử dụng chúng trong phòng trừ sinh học. *Tạp chí Bảo vệ thực vật*, số 1/2016, trang 3-6.
- Đào Lan Hoa, Trần Thị Thường, Mai Thị Hạnh, Nguyễn Văn Phương, Nguyễn Văn Nam, Đỗ Thị Kiều An, Trần Thị Huế, 2016. Thành phần nấm ký sinh trên rệp sáp ve sầu gây hại rễ cà phê tại Đắk Lắk. *Tạp chí KH Nông nghiệp Việt Nam* 2016, tập 14, số 5: 682-689.
- Barnett H. L, 1955. *Illustrated Genera of Imperfect Fungi*. Burgess publishing company.
- Liang, Z. Q., Han, Y. F., Chu, H.L. and Liu, A.Y., 2005. Studies on the genus *Paecilomyces* in China. I. *Fungal Diversity*, 20: 83-101.
- Samson, R.A., H.C. Evans, and J.P. Latges, 1988. *Atlas of Entomopathogenic Fungi*. Springer-Verlag, Berlin. Heidelberg, New York. 187pp.

Bio-characteristics and development of potential fungus species *Paecilomyces cicadae* in controlling of *Casidae* damaging coffee

Tran Van Huy, Le Van Trinh, Nguyen Van Liem,
Nguyen Thi Nga, Ha Thi Thu Thuy, Nguyen Thi Nhu Quynh

Abstract

Paecilomyces cicadae is one of potential fungus species parasiting on cicada species damaging coffee in Western Highland of Vietnam. The study on Bio-characteristics and development of *Paecilomyces cicadae* was carried out from 2013 - 2015 and five indigenous strains of *Paecilomyces cicadae* (Pae1, Pae2, Pae3, Pae4, Pae5) were isolated and purified. Among them, Pae1 strain was high potential in controlling of *Cicadas* damaging coffee in Western Highland areas with efficacy of 87.8% in greenhouse conditions. The morphological characteristics of this fungal species were identified. The result also indicated that Pae1 strain developed well with colony diameter of 5.10 - 5.75 cm after 12 days of culturing in suitable PDA media at temperature from 20 to 25°C and at pH 6.0 - 6.5.

Key words: *Paecilomyces cicadae*, Cicada species, coffee, efficacy, bio-characteristic

Ngày nhận bài: 12/8/2017

Người phản biện: TS. Nguyễn Thị Nhung

Ngày phản biện: 16/8/2017

Ngày duyệt đăng: 10/9/2017

PHÂN LẬP VÀ ĐÁNH GIÁ MỘT SỐ ĐẶC ĐIỂM SINH HỌC CHŨNG VI KHUẨN NỘI SINH TỪ RỄ CÂY NGHỆ (*Curcuma longa* L.)

Trần Thị Tuyết¹, Nguyễn Văn Giang¹

TÓM TẮT

Thí nghiệm này được tiến hành với mục đích phân lập, tuyển chọn và đánh giá một số đặc điểm sinh học của chủng vi khuẩn nội sinh từ rễ cây nghệ. 21 chủng vi khuẩn nội sinh từ rễ cây nghệ đã được phân lập. Tất cả các chủng này đều có khả năng sinh tổng hợp siderophore, IAA và hòa tan photphat. Chủng TD2 biểu hiện hoạt tính mạnh nhất nên đã được chọn để khảo sát ảnh hưởng của thời gian nuôi, pH môi trường tới khả năng tổng hợp IAA, ảnh hưởng của các nguồn carbon, nitơ đến khả năng hòa tan photphat. Chủng TD2 tổng hợp IAA mạnh nhất tại ngày nuôi cấy thứ 5 (hàm lượng IAA đạt 76,11 µg/ml) trong môi trường NA với pH thích hợp trong khoảng 6-7. Nguồn carbon và nitơ thích hợp cho chủng này biểu hiện khả năng phân giải photphat là D-sorbitol, pepton và các nguồn nitơ có chứa gốc NH_4^+ và NO_3^- .

Từ khóa: Vi khuẩn nội sinh, tổng hợp IAA, siderophore, hòa tan photphat, cây nghệ

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cây nghệ (*Curcuma longa* L.) thuộc họ Zingiberaceae là cây dược liệu quý, chứa nhiều hợp chất sinh học tiềm năng đã và đang được sử dụng trong ngành y, làm gia vị thực phẩm. Cây nghệ có giá trị dược lý do chứa các hợp chất curcuminoid và sequitepenoid, trong đó curcumin là hợp chất quan trọng nhất thuộc nhóm curcuminoid. Curcumin được sử dụng như chất chống oxy hóa, chống viêm và kháng khuẩn, thậm chí phòng suy tim (Aggarwal and Sung, 2009). Vi khuẩn nội sinh kích thích sinh trưởng của cây chủ thông qua tổng hợp phytohormon như IAA, gibberellins, cytokinins (Liu *et al.*, 2010), hòa tan photphat khó tan trong đất, cố định N_2 từ không khí, tổng hợp các chất kháng khuẩn, vận chuyển sắt và các enzyme thủy phân chống lại các

pathogens (Jalgaonwala and Mahajan, 2011). Ở nước ta cây nghệ được trồng phổ biến vì nó có thể sống trên mọi loại đất kể cả các loại đất kém màu mỡ, canh tác các cây trồng kém hiệu quả. Những nghiên cứu về đặc tính thúc đẩy tăng trưởng thực vật của vi khuẩn nội sinh từ cây nghệ còn hạn chế, vì vậy, nghiên cứu này được tiến hành với mục đích phân lập, tuyển chọn và đánh giá một số đặc điểm của chủng vi khuẩn nội sinh từ rễ cây nghệ để ứng dụng trong sản xuất chế phẩm sinh học kích thích sinh trưởng cây trồng.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Các mẫu rễ cây nghệ dùng để phân lập vi khuẩn nội sinh được thu thập từ vườn nghệ ở xã Hồng

¹ Khoa Công nghệ Sinh học, Học viện Nông nghiệp Việt Nam