

EFFECTS OF NUTRITIONAL AND ENVIRONMENTAL FACTORS ON PROPAGATING *Nomuraea rileyi*

Hoang Thi Le Thuong^{1*}, Pham Thi Lan²

¹Tan Trao University, ²Tay Bac University

ARTICLE INFO	ABSTRACT
Received: 19/5/2023	<i>Nomuraea rileyi</i> is a white moth parasitic fungus with potential for biopesticide production. To select a local strain of <i>Nomuraea rileyi</i> , samples of white caterpillars infected with fungi in vegetable gardens in the wards of Tuyen Quang city in the winter season of 2022 were collected. Colony size and spore count of <i>Nomuraea rileyi</i> strains isolated on samples, studied on five culture media: Potato, glucose, agar - PDA; Sabouraud, maltose, agar and yeast - SMAY; SMAY plus rice extract - SMAYR; Maltose, agar, yeast extract with potato juice - MAYP. Media with potato extract and yeast had high growth rate in most of the experiments, on PDA, SMAY medium gave the lowest results in isolates. Semi-total SMAYP medium was optimal for the growth of selected isolates. The strain <i>Nomuraea rileyi</i> 6 with large colony size and high spore density was selected. <i>Nomuraea rileyi</i> 6 strain cultured on SMAYP medium at a temperature of 22°C to 26°C and pH from 4.5 to 5.0 for the highest colony size and spore count. In those culture conditions, <i>Nomuraea rileyi</i> 6 met the criteria to be included in the research and production of biological insecticides.
Revised: 17/7/2023	
Published: 17/7/2023	
KEYWORDS	
Nutrition	
Temperature	
<i>Nomuraea rileyi</i>	
pH	
Biopesticide production	

ẢNH HƯỞNG CỦA CÁC YẾU TỐ DINH DƯỠNG VÀ MÔI TRƯỜNG ĐẾN NHÂN GIỐNG *Nomuraea rileyi*

Hoàng Thị Lê Thương^{1*}, Phạm Thị Lan²

¹Trường Đại học Tân Trào, ²Trường Đại học Tây Bắc

THÔNG TIN BÀI BÁO	TÓM TẮT
Ngày nhận bài: 19/5/2023	<i>Nomuraea rileyi</i> là loại nấm kí sinh trên sâu xanh bướm trắng có tiềm năng trong sản xuất thuốc trừ sâu sinh học. Nhằm tuyển chọn được chủng <i>Nomuraea rileyi</i> tại địa phương, các mẫu sâu xanh bướm trắng nhiễm nấm tại các vườn rau trên địa bàn các phường thuộc thành phố Tuyên Quang vụ đông năm 2022 được thu thập. Kích thước của khuẩn lạc và số lượng bào tử của các chủng <i>Nomuraea rileyi</i> phân lập trên các mẫu, được nghiên cứu trên năm môi trường nuôi cấy: Khoai tây, glucose, agar - PDA; Sabouraud, maltose, agar và men - SMAY; Chiết xuất từ gạo SMAY plus - SMAYR; Maltose, agar, cao men với nước chiết xuất khoai tây - MAYP. Các môi trường với chiết xuất khoai tây và nấm men có tốc độ tăng trưởng cao trong hầu hết các thí nghiệm, trên môi trường PDA, SMAY cho kết quả thấp nhất ở các chủng phân lập. Môi trường bán tổng SMAYP tối ưu cho sự phát triển của các chủng phân lập được lựa chọn. Chủng <i>Nomuraea rileyi</i> 6 có kích thước khuẩn lạc lớn và mật độ bào tử cao được tuyển chọn. Chủng <i>Nomuraea rileyi</i> 6 nuôi cấy trên môi trường SMAYP ở nhiệt độ từ 22°C đến 26°C và pH từ 4,5 đến 5,0 cho kích thước khuẩn lạc và số lượng bào tử cao, đạt tiêu chí để đưa vào nghiên cứu sản xuất chế phẩm trừ sâu sinh học.
Ngày hoàn thiện: 17/7/2023	
Ngày đăng: 17/7/2023	
TỪ KHÓA	
Dinh dưỡng	
Nhiệt độ	
<i>Nomuraea rileyi</i>	
pH	
Thuốc trừ sâu sinh học	

DOI: <https://doi.org/10.34238/tnu-jst.7981>

* Corresponding author. Email: hoangthilethuong@gmail.com

1. Giới thiệu

Tuyên Quang có diện tích trồng rau lớn, tuy nhiên khí hậu cũng thích hợp nhiều loại sâu phát triển mạnh, ảnh hưởng đến năng suất, thẩm mỹ, chất lượng và giá trị kinh tế. Sâu xanh bướm trắng là loại sâu hại phổ biến trên nhiều loại rau, đặc biệt là trên bắp cải, su hào, cải xanh... và các loại rau thuộc họ tập tữ khác. Sâu xanh bướm trắng là loài côn trùng có vòng đời phức tạp, tốc độ gây hại nhanh ở thời kì sâu chủ yếu trên lá rau.

Có rất nhiều loại hóa chất diệt côn trùng được sử dụng để kiểm soát loài côn trùng này. Các loại thuốc trừ sâu được sử dụng phổ biến nhất là Abamectin, Matrine, Chlorfluzuron, Emamectin benzoate [1]. Việc tiêu thụ rau phun các loại thuốc trừ sâu này tiềm ẩn nguy cơ gây ung thư và nhiễm độc thần kinh do dư lượng thuốc trừ sâu tích lũy sinh học. Ngoài ra, việc tiếp tục sử dụng các hóa chất này gây ra sự xáo trộn tác động của các thiên địch, khả năng kháng thuốc của sâu bệnh, rủi ro sức khỏe cho người lao động trực tiếp phun các sản phẩm trên đồng ruộng và gây ô nhiễm môi trường [2].

Nomuraea rileyi là một loại nấm gây bệnh côn trùng có tiềm năng lớn để kiểm soát *S. frugiperda* và các loài gây hại về đêm khác [3]. Kiểm soát sinh học đối với sâu xanh bướm trắng bao gồm việc sử dụng thiên địch và mầm bệnh, chẳng hạn như *Bacillus thuringiensis* (Bt), được phun lên cây trồng dưới dạng thuốc trừ sâu sinh học trong một thời gian dài, cùng với các yếu tố địa lý và khí hậu, đã dẫn đến sự phát triển tính kháng thuốc trừ sâu ở các quần thể khác nhau [4]. Việc sử dụng thuốc trừ sâu sinh học *Nomuraea rileyi* ngày càng tăng, nhưng vẫn có những hạn chế. Công nghệ sản xuất thuốc trừ sâu sinh học chủ yếu vì mục đích sản xuất nấm hàng loạt, môi trường đơn giản với chi phí ít nên hiệu quả diệt sâu thấp [3]. Các nghiên cứu sản xuất hàng loạt nấm côn trùng dựa trên công nghệ tối tân như gây đột biến, chuyển gen, công nghệ nano... chưa được sử dụng rộng rãi [5]. Hơn nữa, tất cả các thuốc trừ sâu từ nấm đều có tỷ lệ sâu chết chậm, hiệu quả thực địa phụ thuộc điều kiện khí hậu địa phương, hiệu suất kém, thời hạn sử dụng ngắn, liều lượng khuyến cáo cao, giá thành cao [6]. Nguyên nhân là các hóa chất nông nghiệp không tương thích với nấm gây bệnh côn trùng [7], tính ổn định trong điều kiện bảo quản, kiểu gen, nhiệt độ, độ ẩm và bao bì [8]-[10] có thể ảnh hưởng tiêu cực đến khả năng tồn tại của vi sinh vật kiểm soát sinh học, làm giảm hiệu quả của chúng trong điều kiện đồng ruộng. Việc tuyển chọn các chủng giống địa phương hoạt lực cao vừa bổ sung cho sự đa dạng của bộ sưu tập giống thiên địch, lại có ý nghĩa to lớn trong công tác diệt trừ sâu hại [5].

Khảo sát sơ bộ trên các vườn rau trồng tại thành phố Tuyên Quang chúng tôi đã thu được các mẫu sâu xanh bướm trắng có nấm *Nomuraea rileyi* ký sinh gây chết. Các dòng phân lập tại địa phương có nhiều lợi thế hơn so với các phân lập ngoại lai vì chúng có khả năng tương thích sinh thái với các loài dịch hại. Điều này làm tăng tác dụng của tác nhân nấm *Nomuraea rileyi* đối với mục tiêu là sâu hại. Hiện chưa có công bố khoa học nào đề cập đến các chủng nấm này của địa phương. Bài báo này mô tả phương pháp phân lập tuyển chọn và thiết lập môi trường dinh dưỡng, nhiệt độ, pH thích hợp để nhân giống đặt tiền đề để sản xuất chế phẩm phòng trừ sâu từ *Nomuraea rileyi* nâng cao năng suất, chất lượng rau.

2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

2.1. Nguyên vật liệu và hóa chất

Nguyên liệu nghiên cứu gồm 12 chủng nấm *Nomuraea rileyi* phân lập từ sâu xanh bướm trắng thu thập tại thành phố Tuyên Quang vụ đông năm 2022.

Năm môi trường rắn đã được thử nghiệm: (1) Sabouraud Maltose Agar + Men (SMAY); (2) SMAYP bổ sung dịch chiết khoai tây; (3) SMAY bổ sung dịch chiết từ gạo (SMAYR); (4) Men thạch maltose, bổ sung dịch chiết xuất khoai tây (MAYP). (5) Glucose dịch chiết khoai tây agar – PDA. Dịch chiết được chuẩn bị bằng đun khoai tây nghiền (170 g) hoặc gạo (100 g) trong 1000 ml nước, sử dụng kết quả huyền phù lỏng để chuẩn bị môi trường SMAYR và MAYP. Các môi trường chứa agar (15 g), maltose (40 g) và chiết xuất men (15 g), kali photphat (KH_2PO_4 , 0,4 g),

natri photphat (Na_2PO_4 , 1,4 g), kali clorua (KCl, 1 g), magie sunfat (MgSO_4 , 0,6 g) và amoni nitrat (NH_3NO_3 , 0,7g). Môi trường đã khử trùng được cho vào đĩa petri để nghiên cứu kích thước khuẩn lạc, đếm số lượng bào tử [4].

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Phương pháp

Phân lập các chủng nấm men theo phương pháp pha loãng và cấy trên đĩa thạch môi trường Hansen đặc [11].

Đánh giá khả năng sinh trưởng của các chủng theo phương pháp đếm số lượng bào tử trên buồng đếm hồng cầu và đo kích thước khuẩn lạc [3], [12].

Nghiên cứu ảnh hưởng của nhiệt độ đến sinh trưởng của *Nomuraea rileyi* sử dụng các đĩa petri có môi trường SMAYP trong các ngưỡng nhiệt độ từ 16 - 35°C. Nghiên cứu ảnh hưởng của pH đến sinh trưởng của *Nomuraea rileyi* sử dụng các đĩa petri có môi trường SMAYP có pH thay đổi từ 3 - 5,5.

Phương pháp toán học tính trung bình cộng, phương sai và độ lệch chuẩn dựa trên phần mềm Microsoft Excel.

3. Kết quả và bàn luận

3.1. Phân lập, tuyển chọn, cấy giữ giống

Từ các cá thể sâu nhiễm nấm thu được rải rác trên các địa bàn trồng rau thuộc xã Kim Phú, phường Ý La, phường Tân Hà, phường Hưng thành, thành phố Tuyên Quang, chúng tôi tiến hành phân lập trên môi trường PDA. Các chủng có khuẩn lạc lớn, mọc riêng rẽ, tách soi kính, định loại bằng hình thái được 12 chủng nấm *Nomuraea rileyi*, cấy truyền, thuần chủng và giữ giống gọi tên theo thứ tự lần lượt là *Nomuraea rileyi* 1- *Nomuraea rileyi* 12. Kết quả được ghi lại trong Bảng 1.

Bảng 1. Các chủng nấm đã được phân lập và địa điểm thu mẫu

Số TT	Tên chủng nấm	Địa điểm thu mẫu	Thời điểm thu mẫu	Kí sinh trên sâu hại rau
1	<i>Nomuraea rileyi</i> 1	Phường Hưng Thành	16/11/2022	Bắp cải
2	<i>Nomuraea rileyi</i> 2	Phường Hưng Thành	16/11/2022	Cải xanh
3	<i>Nomuraea rileyi</i> 3	Phường Tân Hà	15/11/2022	Cải xanh
4	<i>Nomuraea rileyi</i> 4	Xã Kim Phú	18/11/2022	Cải xanh
5	<i>Nomuraea rileyi</i> 5	Phường Tân Hà	23/11/2022	Su hào
6	<i>Nomuraea rileyi</i> 6	Phường Ý La	16/12/2022	Bắp cải
7	<i>Nomuraea rileyi</i> 7	Phường Tân Hà	15/12/2022	Su hào
8	<i>Nomuraea rileyi</i> 8	Phường Tân Hà	25/11/2022	Rau ngải
9	<i>Nomuraea rileyi</i> 9	Phường Hưng Thành	16/8/2022	Đậu đũa
10	<i>Nomuraea rileyi</i> 10	Phường Tân Hà	23/11/2022	Rau muống
11	<i>Nomuraea rileyi</i> 11	Xã Kim Phú	19/11/2022	Rau cải bẹ
12	<i>Nomuraea rileyi</i> 12	Phường Ý La	22/11/2022	Rau cải xanh

3.2. Khả năng đồng hóa các nguồn hydrat cacbon của *Nomuraea rileyi* (lựa chọn môi trường nuôi cấy thích hợp)

Nghiên cứu lựa chọn môi trường phù hợp cho sự phát triển của các chủng *Nomuraea rileyi* dựa trên các công bố trong và ngoài nước [3], [12], [13]. Môi trường cơ bản trong nhân, giữ giống PDA làm đối chứng, các môi trường được chọn là MAYP, MAYR, SMAY, SMAYP. Kết quả quan sát khuẩn lạc và số lượng bào tử được ghi lại trong Bảng 2.

Môi trường với chiết xuất khoai tây và nấm men tạo ra tốc độ tăng trưởng cao nhất trong hầu hết các trường hợp, trong khi PDA tạo ra tốc độ thấp nhất đối với các chủng phân lập được thử nghiệm. Điều này phù hợp với công bố của Vimala Devi và cộng sự [14] cho rằng *Nomuraea rileyi* tăng sinh khó khăn trong môi trường khác với SMAY. MAPY và PMA thích hợp cho việc phát triển kích thước khuẩn lạc hơn. SMAYR và SMAY thích hợp trong việc làm tăng mật độ bào tử; riêng SMAYP vừa có hiệu quả phát sinh bào tử lớn, lại có hoạt lực cao cho số lượng bào

tử lớn. Điều này cũng phần nào đánh giá được vai trò của các chất khoáng trong cao men có tác dụng lớn đối với việc kích thích sinh trưởng làm tăng về mật độ bào tử, sinh khối tăng nhanh hơn. Môi trường có tinh bột (gạo, protein) lại giúp tăng về kích thước khuẩn lạc. Môi trường có cả khoáng và tinh bột sẽ cho mật độ bào tử tăng, kích thước khuẩn lạc lớn. Trong 12 chủng nấm được tuyển chọn, *Nomuraea rileyi* 6 có ưu thế phát triển tốt trên các môi trường, đồng thời cho kết quả tốt nhất trên môi trường SMAYP, với mật độ bào tử đạt $6,3 \times 10^8$ cm² và khuẩn lạc có kích thước lớn 5,1 cm. *Nomuraea rileyi* 6 được chọn cấy truyền và dùng trong các thí nghiệm tiếp theo, môi trường SMAYP được sử dụng để nghiên cứu ảnh hưởng của nhiệt độ và pH trong nhân giống chủng *Nomuraea rileyi* 6. Kết quả này tuy có khác với công bố của Juilo D. Edelstein và cộng sự [3] (chọn môi trường MAYP) nhưng lại phù hợp sự thích nghi đa dạng sinh thái hoặc đa dạng gen của các chủng *Nomuraea rileyi* khác nhau.

Bảng 2. Ảnh hưởng của các loại môi trường đến sinh trưởng của các chủng *Nomuraea rileyi*

Môi trường	MAYP		SMAY		SMAYP		SMAYR		PDA	
Chủng nấm	Đường kính khuẩn lạc (cm ²)	Số bào tử ($\times 10^8$)	Đường kính khuẩn lạc (cm ²)	Số bào tử ($\times 10^8$)	Đường kính khuẩn lạc (cm)	Số bào tử ($\times 10^8$)	Đường kính khuẩn lạc (cm ²)	Số bào tử ($\times 10^8$)	Đường kính khuẩn lạc (cm ²)	Số bào tử ($\times 10^8$)
<i>Nomuraea rileyi</i> 1	5,5±0,1	4,8 ± 0,2	5,2+0,3	4,3 + 0,3	4,3±0,1	4,1 ± 0,1	4,5±0,1	4,7 ± 0,2	4,2 ± 0,2	4,5±0,1
<i>Nomuraea rileyi</i> 2	5,1±0,1	4,6 ± 0,2	4,3 + 0,3	4,3+0,3	5,2±0,1	4,2 ± 0,1	5,0±0,1	5,1±0,2	4,3 ± 0,2	4,8±0,1
<i>Nomuraea rileyi</i> 3	5,2±0,1	4,3 ± 0,2	4,2 + 0,3	4,2 + 0,3	6,2±0,1	4,7 ± 0,1	4,2±0,1	4,5 ± 0,2	4,5 ± 0,2	4,2±0,1
<i>Nomuraea rileyi</i> 4	5,0±0,2	4,3±0,2	5,2 + 0,3	4,8 + 0,3	5,8±0,1	5,2 ± 0,1	4,3±0,1	4,5 ± 0,2	4,3 ± 0,2	4,0±0,2
<i>Nomuraea rileyi</i> 5	5,1±0,2	4,9 ± 0,2	4,1 + 0,3	4,1 + 0,3	5,6±0,1	5,0 ± 0,1	4,9±0,1	4,2 ± 0,2	4,5 ± 0,2	4,1±0,1
<i>Nomuraea rileyi</i> 6	5,2±0,2	4,9 ± 0,2	5,1 + 0,3	4,8 + 0,3	6,3±0,1	5,1 ± 0,1	5,1±0,1	5,2 ± 0,2	4,6±0,2	5,0 ± 0,3
<i>Nomuraea rileyi</i> 7	5,0±0,2	4,5 ± 0,2	4,8 + 0,3	4,2 + 0,3	4,4±0,1	4,1 ± 0,1	4,2±0,1	5,0 ± 0,2	4,0 ± 0,2	4,1 ± 0,2
<i>Nomuraea rileyi</i> 8	4,9±0,2	4,5 ± 0,2	4,9 + 0,3	4,5+0,3	5,2±0,1	4,5 ± 0,1	4,0±0,1	4,3 ± 0,2	4,4 ± 0,2	4,2 ± 0,4
<i>Nomuraea rileyi</i> 9	5,1±0,3	4,7 ± 0,2	5,2 + 0,3	4,4 + 0,3	5,5±0,1	4,2 ± 0,1	4,4±0,1	5,1 ± 0,2	4,6 ± 0,2	4,5 ± 0,2
<i>Nomuraea rileyi</i> 10	5,0±0,2	4,2 ± 0,2	4,2 + 0,3	4,0 + 0,3	5,4±0,1	5,01 ± 0,1	4,6±0,1	4,7 ± 0,2	4,0 ± 0,2	4,0 ± 0,3
<i>Nomuraea rileyi</i> 11	5,3±0,1	4,1 ± 0,2	4,3 + 0,3	4,2 + 0,3	5,3±0,1	4,8 ± 0,1	5,0±0,1	4,8 ± 0,2	4,2 ± 0,2	4,0 ± 0,3
<i>Nomuraea rileyi</i> 12	5,1±0,2	4,4 ± 0,2	4,6 + 0,3	4,7 + 0,3	5,2±0,1	5,1 ± 0,1	4,8±0,1	4,6 ± 0,2	4,3 ± 0,2	3,9 ± 0,2

3.3. Ảnh hưởng của nhiệt độ đến sinh trưởng và phát triển của *Nomuraea rileyi*

Nomuraea rileyi được nhân giống trên môi trường SMYPA ở sáu điều kiện nhiệt độ khác nhau. Kết quả được trình bày trong Bảng 3.

Ở nhiệt độ dưới 16°C và trên 30°C, mật độ bào tử và kích thước khuẩn lạc không cao. Trong khoảng nhiệt độ 20 - 24°C thu được số lượng bào tử lớn ($5,8 - 6,2 \times 10^8$ /cm²), khuẩn lạc thu được có kích thước lớn (4,6 - 5,3 cm). Kết quả này phù hợp với công bố của Julio D. Edelstein và cộng sự [3] (*Nomuraea rileyi* 32 cần 22,6°C) để phát triển với tốc độ cao nhất, (*Nomuraea rileyi* 34 yêu cầu 25,8°C). Ở 26°C, hầu hết các khuẩn lạc đã có thể tạo bào tử trên tất cả các môi trường thử nghiệm, ngay cả ở nhiệt độ 30°C, phù hợp với nghiên cứu của Ignoffo và các cộng sự [15]. Điều này cũng phù hợp với xác suất thấp của bào tử, xác sâu chết trên cánh đồng trong những

ngày ẩm áp hơn (với nhiệt độ cao hơn 30°C), rất ít nhiễm trùng thứ phát do có liên quan đến quá trình trao đổi chất tích cực hơn ở nhiệt độ cao, tạo ra các chất chuyển hóa độc hại ảnh hưởng đến sự nảy mầm của bào tử và gây thiệt hại đáng kể cho nấm và dẫn đến mất khả năng sống sót. Điều này có ý nghĩa trong trường hợp kiểm soát sinh học tác nhân của côn trùng biến nhiệt.

Bảng 3. Ảnh hưởng của nhiệt độ đến sinh trưởng của chủng *Nomuraea rileyi* 6

T (°C)	H (%)	Số lượng bào tử ($\times 10^8/\text{cm}^2$)	Kích thước khuẩn lạc (cm)
16	82,5	$5,2 \pm 0,3$	$4,1 \pm 0,2$
20	78,2	$6,2 \pm 0,2$	$5,3 \pm 0,1$
24	75,3	$5,8 \pm 0,1$	$4,6 \pm 0,1$
28	75,5	$5,6 \pm 0,2$	$4,4 \pm 0,2$
30	70,2	$5,4 \pm 0,1$	$4,3 \pm 0,2$
35	62	$5,1 \pm 0,2$	$4,0 \pm 0,2$

3.4. Ảnh hưởng của nhiệt độ đến sinh trưởng và phát triển của *Nomuraea rileyi*

Nghiên cứu các tác động của các giá trị pH khác nhau của môi trường nuôi cấy đối với sự phát triển, tạo bào tử trên môi trường SMYPA với các độ pH khác nhau. Kết quả được ghi lại trong Bảng 4.

Bảng 4. Ảnh hưởng của pH đến sinh trưởng của chủng *Nomuraea rileyi* 6

pH	H (%)	Số lượng bào tử ($\times 10^8/\text{cm}^2$)	Kích thước khuẩn lạc (cm)
3,0	80,5	$5,2 \pm 0,2$	$4,4 \pm 0,2$
3,5	78,2	$5,4 \pm 0,1$	$4,3 \pm 0,1$
4,0	76,1	$5,9 \pm 0,2$	$4,5 \pm 0,2$
4,5	75,8	$6,0 \pm 0,3$	$4,9 \pm 0,1$
5,0	79,3	$6,4 \pm 0,3$	$5,3 \pm 0,1$
5,5	82,8	$5,8 \pm 0,1$	$4,5 \pm 0,2$

Sự tương quan giữa pH với đường kính của các khuẩn lạc tăng lên và số lượng bào tử được ghi lại trong Bảng 4. Chủng *Nomuraea rileyi* 6 phát triển tốt trong khoảng pH từ 4,5 đến 5,0, điều này cho thấy *Nomuraea rileyi* 6 sinh trưởng tốt ở môi trường pH axit nhẹ. Đường kính khuẩn lạc phát triển từ 4,9 - 5,3 cm. Không quan sát thấy sự khác biệt đáng kể nào đối với quá trình sinh bào tử của *Nomuraea rileyi* 6 với độ pH 4 - 4,5. Mật độ bào tử ở pH 5,0 cao ($6,4 \times 10^8$), sau đó giảm dần.

Như vậy, để tạo ra bào tử, tăng trưởng và tạo bào tử và khuẩn lạc *Nomuraea rileyi* 6 phát triển cần độ pH tối ưu từ 4,5 đến 5,5. Kết quả nghiên cứu này phù hợp với khoảng pH tối ưu từ 5 đến 7 của Natalia Aguirre và cộng sự [16]. Kết quả này khác với công bố về pH của chế phẩm khi phun trên sâu để xác định hoạt lực của *Nomuraea rileyi*, pH thích hợp 7 - 8 [3] cho tỷ lệ sâu chết cao hơn được chứng minh bằng hoạt động đầy đủ của các enzym có hoạt tính protease và chitinase được tiết ra từ nấm tham gia vào quá trình thủy phân lớp biểu bì của côn trùng, tạo điều kiện cho sợi nấm xâm nhập lây nhiễm và thể hiện độc lực trong lớp biểu bì của côn trùng. Điều này có thể giải thích cho sự thích nghi tốt của chủng nấm *Nomuraea rileyi* 6 với các môi trường từ pH axit nhẹ đến hơi kiềm. Tuy nhiên, trên môi trường nuôi cấy bán tổng hợp không có cơ chất protein và kitin như trên cơ thể sâu hại, do đó *Nomuraea rileyi* chủ yếu thực hiện chức năng sinh trưởng, còn trên môi trường phun trên sâu thì *Nomuraea rileyi* sinh các enzyme protease, kitinase để phân giải protein và kitin mà các enzym này hoạt động trong môi trường hơi kiềm. Do đó pH thích hợp trong môi trường nhân giống có thể khác với pH thích hợp trong phun chế phẩm.

Chủng *Nomuraea rileyi* 6 được phân lập, tuyển chọn tại thành phố Tuyên Quang vụ đông xuân năm 2023 thích nghi tốt trên môi trường bán tổng hợp SMAYP có nhiệt độ tối ưu 20-26°C và pH 4,5-5,0, đáp ứng tiêu chí cơ bản để sản xuất chế phẩm trừ sâu sinh học [3], [13]. Điều này có ý nghĩa quan trọng trong nhân giống và là tiền đề nghiên cứu ảnh hưởng của nhiệt độ, pH môi trường trong sản xuất và sử dụng chế phẩm đạt hiệu quả.

4. Kết luận

Nghiên cứu trình bày kết quả phân lập tuyển chọn *Nomuraea rileyi* trên các môi trường tổng hợp và bán tổng hợp từ các cá thể sâu xanh bướm trắng nhiễm nấm thu được tại thành phố Tuyên Quang vụ đông 2022. Trong nghiên cứu này, tác giả lựa chọn được chủng *Nomuraea rileyi* 6, có mật độ bào tử cao, kích thước khuẩn lạc lớn trên môi trường bán tổng hợp SMAYP; Xác định nhiệt độ thích hợp cho nhân giống *Nomuraea rileyi* 6 là 22 - 24°C, pH thuận lợi là 4,5-5,5. Trong các điều kiện đó, *Nomuraea rileyi* 6 đạt kích thước khuẩn lạc 6,4 cm và mật độ bào tử là $5,3 \times 10^8/\text{cm}^2$, đáp ứng tiêu chí để sản xuất chế phẩm trừ sâu sinh học.

Lời cảm ơn

Nhóm tác giả xin chân thành cảm ơn sự hỗ trợ về kinh phí và trang thiết bị của Trường Đại học Tân Trào, Tuyên Quang.

TÀI LIỆU THAM KHẢO/ REFERENCES

- [1] L. YanHui, T. JunCe, Z. XuSong, X. HongXing, Y. YaJun, Y. TaiYuan, S. ZhaoYun, and L. ZhongXian, "State Key Laboratory for Quality and Safety of Agro-Products (in Prepared), Institute of Plant Protection and Microbiology, Zhejiang Academy of Agricultural Sciences," *Acta Agriculturae Zhejiangensis*, vol. 31, no. 12, pp. 2049-2056, 2019.
- [2] C. E. Grijalba, P. Cuartas, M. L. Chaparro, and L. Villamizar, "Metarhizium rileyi biopesticide to control Spodoptera frugiperda: Stability and insecticidal activity under glasshouse conditions," *Fungal Biology*, vol. 122, no. 11, pp. 1069-1076, 2018.
- [3] R. E. L. Juilo, D. Edelstein, and E. V. Trumper, "Selection of Culture Media and In Vitro Assessment of TemperatureDependent Development of *Nomuraea rileyi*," *Argentina Neotropical Entomology*, vol. 33, no. 6, pp. 737-742, 2004.
- [4] V. R. K. K. Jakka and J. L. Jurat-Fuente, "Spodoptera frugiperda (J.E. Smith) with field-evolved resistance to Bt maize are susceptible to Bt pesticides," *Journal of Invertebrate Pathology*, vol. 122, pp. 52-54, 2014.
- [5] T. Jaronski, *Mass Production of Entomopathogenic Fungi: State of the Art* Stefan. Sidney, MT, USA Department of Agriculture, Agricultural Research Service, 2013.
- [6] M. R. A. Negi, "Biopesticides for Pest Management," *Sustainable Bioeconomy*, vol. 11, pp. 239-266, 2020.
- [7] M. C. Gatarayih, M. D. Laing, and R. M. Miller, "In vitro effects of flutriafol and azoxystrobin on Beauveria bassiana and its efficacy against Tetranychus urticae," *Pest Manag. Sci.*, vol. 66, no. 7, pp. 773-778, 2010.
- [8] S. Ekesi, N. Maniania, and K. Ampom-Nyarko, "Effect of temperature on germination, radial growth and virulence of Metarhizium anisopliae and Beauveria bassiana on Megalurothrips sjostedti," *Biocontrol Sci. Technol*, vol. 3157, pp. 177-185, 1999.
- [9] J. C. Kim, M. R. Lee, S. Kim, S. J. Lee, S. E. Park, S. Baek, L. Gasmi, T. Y. Shin, and J. S. Kim, "Long-term storage stability of Beauveria bassiana ERL836 granules as fungal biopesticide," *J. Asia Pac. Entomol*, vol. 22, no. 2, pp. 537-542, 2019.
- [10] G. Locatelli, G. F. dos Santos, P. S. Botelho, C. L. L. Finkler, and L. As. Bueno, "Development of Trichoderma sp. formulations in encapsulated granules (CG) and evaluation of conidia shelf-life," *Biol. Control*, vol. 117, pp. 21-29, 2018.
- [11] D. T. K. Nhung, M. T. Hang, and V. T. Hao, *Practice Microbiology*, University of Education, Hanoi, 2011.
- [12] L. T. N. Xuan, D. Keomanivone, T. H. D. Luong, and V. H. Tran, "Study on biological characteristics and efficacy of *Nomuraea rileyi* (Farlow) Samson isolates on lepidopteran insects in the Mekong Delta," *Can Tho University Journal*, vol. 2016, no. 3, pp. 70-78, 2016.
- [13] S. R. Thangaraj and P. Thangasamy "Growth and sporulation of *Nomuraea rileyi* isolates on nitrogen based media," *Madaras Agricultural Journal*, vol. 96, pp. 189-193, 2009.
- [14] P. S. Vimala Devi, A. Chowdary, and Y. G. Prasad, "Cost effective multiplication of the entomopathogenic fungus *Nomuraea rileyi* (F) Samson," *Mycopathol*, vol. 151, pp. 35-39, 2019.
- [15] C. M. Ignoffo, C. Garcia, and D. L. Hostetter, "Effects of temperature on growth and sporulation of the entomopathogenic fungus *Nomuraea rileyi*," *Environmental Entomology*, vol. 5, pp. 935-936, 2017.
- [16] L. V. R. Natalia Aguirre, C. Espinel, and P. A. Marina Cotes, *Effect of pH and water activity over Nomuraea rileyi (Hyphomycetes) development Revista Colombiana de Entomología* (no. 2). Print version On-line version: Colomb. Entomol, 2009.