

XÁC ĐỊNH LOÀI NẤM KÝ SINH VÀ ĐÁNH GIÁ KHẢ NĂNG GÂY BỆNH ĐỐI VỚI VÒI VOI ĐỤC THÂN CHUỐI (*Odoiporus longicollis* Olivier)

Đỗ Xuân Đạt*, Nguyễn Thị Chúc Quỳnh, Bạch Thị Diệp, Lại Tiến Dũng

Trung tâm Đấu tranh sinh học, Viện Bảo vệ thực vật

*Tác giả liên hệ: Doxuandatct@yahoo.com

Nhận bài: 06/06/2025 Hoàn thành phản biện: 08/08/2025 Chấp nhận bài: 18/08/2025

TÓM TẮT

Từ tháng 2/2024 đến tháng 4/2025, tiến hành điều tra và thu thập 742 mẫu vòi voi đục thân chuối (*Odoiporus longicollis*) bị nấm ký sinh (29 mẫu) tại 5 xã/phường (Thanh Oai, Bình Minh, Quán Bì, Chương Mỹ và Yên Nghĩa) vùng trồng chuối ven sông Đáy thuộc Thành phố Hà Nội, trên các giống chuối ngự, chuối lá và chuối tiêu. Tỷ lệ sâu bị nấm ký sinh ghi nhận ở giai đoạn sâu non là 5,9-9,4%, nhộng 2,4-4,2% và trưởng thành 1,7-2,4%. Kết quả phân lập, nuôi cấy, mô tả hình thái và phân tích sinh học phân tử xác định loài nấm ký sinh là *Metarhizium anisopliae*. Loài này xuất hiện ở hầu hết tại các điểm khảo sát từ tháng 9 đến tháng 2 năm sau. Trong điều kiện phòng thí nghiệm, *M. anisopliae* gây nhiễm hiệu quả hơn so với ở ngoài tự nhiên, với tỷ lệ nhiễm sau 14 ngày đạt 18,5% (sâu non tuổi 3-4), 31,9% (tuổi 5-6), 12,6% (nhộng) và 10,4% (trưởng thành). Kết quả cho thấy, nấm *M. anisopliae* là tác nhân sinh học tiềm năng trong phòng chống đục thân chuối tại Hà Nội.

Từ khóa: *Metarhizium anisopliae*, Nấm ký sinh côn trùng, *Odoiporus longicollis*, Phòng trừ sinh học, Vòi voi đục thân chuối

IDENTIFICATION OF ENTOMOPATHOGENIC FUNGI AND ASSESSMENT OF THEIR VIRULENCE AGAINST THE BANANA PSEUDOSTEM WEEVIL (*Odoiporus longicollis* Olivier)

Do Xuan Dat*, Nguyen Thi Chuc Quynh, Bach Thi Diep, Lai Tien Dung

Center for Biological Control, Plant Protection Research Institute

*Corresponding author: Doxuandatct@yahoo.com

Received: 06/06/2025

Revised: 08/08/2025

Accepted: 18/08/2025

ABSTRACT

From February 2024 to April 2025, a survey and sample collection of banana stem weevil (*Odoiporus longicollis*) infected by entomopathogenic fungi was conducted in seven communes/wards across banana-growing areas along the Day River (Thanh Oai, Binh Minh, Quan Bi, Chuong My and Yen Nghia) in Hanoi, Vietnam. The objective was to investigate the presence of entomopathogenic fungi infecting the banana stem weevil *Odoiporus longicollis* Olivier (Coleoptera: Curculionidea: Rhynchophoridae). The surveyed banana cultivars included *chuoai ngu*, *chuoai la*, and *chuoai tieu*. Field observations showed fungal infection rates of 5.9-9.4% in larvae, 2.4-4.2% in pupae, and 1.7-2.4% in adults. Isolation, culture, morphological characterization, and molecular analysis identified the fungal species as *Metarhizium anisopliae*. This fungus was detected in most surveyed areas, with high occurrence from September to February of the following year. Under laboratory conditions, *M. anisopliae* exhibited higher infection efficacy than in the field, with infection rates after 14 days reaching 18.5% (larvae instar 3-4), 31.9% (instar 5-6), 12.6% (pupae), and 10.4% (adults). These findings suggest that *M. anisopliae* is a promising biological control agent for managing *O. longicollis* in banana cultivation areas of Hanoi.

Keywords: Banana stem weevil, Biological control, Entomopathogenic fungi, *Metarhizium anisopliae*, *Odoiporus longicollis*

1. MỞ ĐẦU

Vòi voi đục thân chuối (*Odoiporus longicollis* Olivier) là loài gây hại nghiêm trọng trên cây chuối ở Việt Nam và nhiều quốc gia trồng chuối trên thế giới. Tại Ấn Độ, loài này có thể gây thất thu năng suất 10% mỗi năm và lên tới 100% ở các vùng không được quản lý (Shanker và cs., 2021). Các cuộc điều tra của Viện Bảo vệ thực vật trong các năm 1967-1968, 1977-1978 và 1997-1998 đã ghi nhận *O. longicollis* xuất hiện và gây hại phổ biến tại hầu hết các vùng trồng chuối ở nước ta (Viện Bảo vệ thực vật, 1976, 1999a, 1999b).

Trong xu hướng phát triển nông nghiệp bền vững, việc ứng dụng nấm ký sinh côn trùng như một tác nhân sinh học đang được quan tâm nhằm thay thế các biện pháp hóa học. Trên thế giới, nấm *Beauveria bassiana* và *Metarhizium anisopliae* đã được ghi nhận ký sinh trên hơn 700 và 200 loài côn trùng gây hại tương ứng (Imoulan và cs., 2016; Jitendra và cs., 2012). Nấm ký sinh *M. anisopliae* là tác nhân sinh học được ứng dụng để quản lý phòng chống tổng hợp vòi voi đục thân chuối đã đem lại hiệu quả đạt 70-90% ở pha sâu non (Awasthi và cs., 2017; Das và cs., 2019; Velavan và cs., 2021; Hemadri và cs., 2025). Tại Việt Nam, *M. anisopliae* và *M. flavoviride* được ghi nhận ký sinh trên hơn 40 loài côn trùng hại rau, lúa, ngô, mía và các loài mối (Phạm Thị Thùy, 2004). Tuy nhiên, đến nay ở Việt Nam chưa có nghiên cứu nào công bố sự hiện diện của *M. anisopliae* trên vòi voi đục

thân chuối *O. longicollis*, cũng như đánh giá tiềm năng ứng dụng nấm này trong phòng trừ loài sâu hại này. Nghiên cứu này là ghi nhận ban đầu sự ký sinh của *M. anisopliae* trên *O. longicollis*, làm cơ sở cho định hướng ứng dụng trong quản lý sinh học vòi voi đục thân chuối theo hướng bền vững.

2. NỘI DUNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

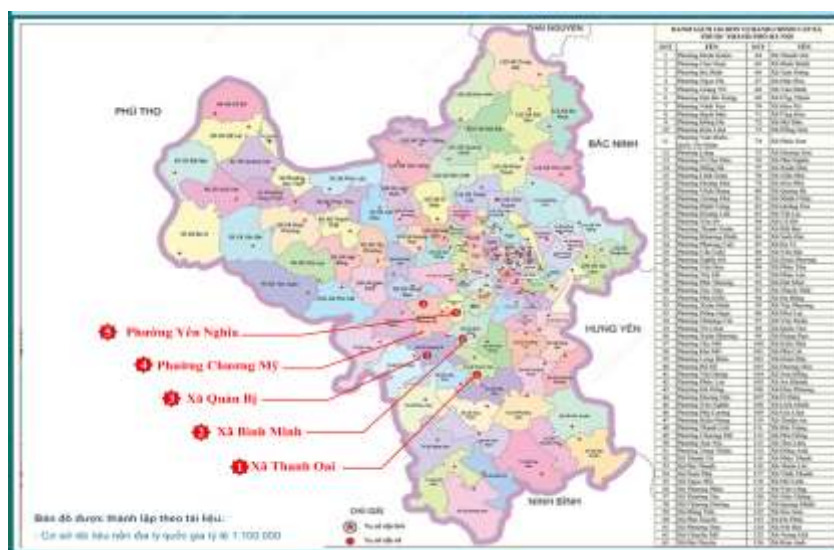
2.1. Vật liệu và dụng cụ nghiên cứu

Mẫu vòi voi đục thân chuối (*Odoiporus longicollis*) bị nhiễm nấm ký sinh được thu thập tại một số vùng trồng chuối ven sông Đáy thuộc Thành phố Hà Nội. Các pha phát dục của vòi voi đục thân chuối (trứng, sâu non, nhộng, trưởng thành) được nhân nuôi trong điều kiện cách ly, sử dụng thân giả của giống chuối ngự làm nguồn thức ăn sạch nhằm phục vụ các thí nghiệm đánh giá khả năng gây bệnh của nấm ký sinh.

Các dụng cụ, thiết bị, hóa chất,... chuyên dụng và thông thường để phục vụ thu mẫu, phân lập, nuôi cấy và quan sát trong phòng thí nghiệm.

2.2. Thời gian và địa điểm nghiên cứu

Nghiên cứu được thực hiện từ tháng 2 năm 2024 đến tháng 5 năm 2025. Việc thu thập mẫu nấm ký sinh được tiến hành tại một số vùng trồng chuối bị vòi voi đục thân chuối gây hại ở 05 xã/phường (Thanh Oai, Bình Minh, Quán Bì, Chương Mỹ và Yên Nghĩa) thuộc Thành phố Hà Nội.



Sơ đồ 1. Địa điểm điều tra và thu thập mẫu vòi voi đục thân chuỗi

Phân lập, nuôi cấy, làm thuần và tái nhiễm được thực hiện tại phòng thí nghiệm của Trung tâm Đấu tranh sinh học, Viện Bảo vệ thực vật.

2.3. Phương pháp nghiên cứu

Phương pháp điều tra thu thập mẫu

Điều tra thu thập mẫu sinh vật hại và vi sinh vật có ích được thực hiện theo phương pháp nghiên cứu của tác giả (Zimmermann và cs., 2007; Lacey, 1997; Viện Bảo vệ thực vật, 1997 và tiêu chuẩn Việt Nam (TCVN 13268-4:2021).

Phương pháp mô tả đặc điểm hình thái của nấm ký sinh

Đặc điểm hình thái, màu sắc của sợi nấm, bào tử được quan sát dưới kính hiển vi (Olympus CX 23) ở độ phóng đại từ 100 - 400 × lần dựa trên những đặc điểm chính và có giá trị định danh theo phương pháp của các tác giả (Bischoff và cs., 2009; Lacey, 1997; Tulloch, 1976; Humber, 1997 và Viện Bảo vệ thực vật, 1997).

Phương pháp đánh giá khả năng ký sinh

Phương pháp đánh giá khả năng ký sinh của nấm *M. anisopliae* đối với vòi voi đục thân chuỗi (*O. longicollis*) được thực hiện theo phương pháp của Padmanaban và Sathiamoorthy (2001), Phạm Thị Thùy

(2004) và có bổ sung cho phù hợp. Nồng độ bào tử được xác định bằng cách đếm trên lame (đếm hồng cầu Thoma) ở độ phóng đại 40 lần, sau đó điều chỉnh thành dung dịch bào tử có nồng độ 1×10^5 , 1×10^6 , 1×10^7 bào tử/ml.

Số bào tử/g = $4 \times 10^6 \times a \times b$ (trong đó a là số bào tử trung bình/ô nhỏ nhất; b là hệ số pha loãng)

Thể tích dung dịch cần pha được tính theo công thức: $C \times V = C' \times V'$ (trong đó C là nồng độ dung dịch gốc; V là thể tích dung dịch gốc; C' là nồng độ dung dịch cần pha; V' là thể tích dung dịch cần pha).

Các pha phát dục khác nhau của vòi voi đục thân chuỗi (*O. longicollis*) được nhân nuôi trong phòng thí nghiệm với số lượng lớn (300 cá thể) để đảm bảo đủ số lượng cá thể cho các thí nghiệm đánh giá khả năng ký sinh. Sau đó phân loại theo các pha phát dục, độ tuổi để tiến hành thí nghiệm đồng thời, bao gồm: công thức 1 (sâu non tuổi 3-4); công thức 2 (sâu non ở tuổi 5-6), công thức 3 (sau khi hóa nhộng 12 tiếng) và công thức 4 (pha trưởng thành sau khi vũ hóa 24 tiếng). Mỗi công thức gồm 30 cá thể, được bố trí trong điều kiện phòng thí nghiệm có nhiệt độ trung bình 25,6°C và ẩm độ 85,4%. Sau khi xử lý, tỷ lệ ký sinh được ghi nhận tại các thời điểm: 3, 5, 7 và 14 ngày sau xử lý. Các cá thể biểu hiện triệu chứng

hoặc chết được kiểm tra sự xuất hiện của nấm ký sinh nhằm xác nhận nguyên nhân gây chết.

Phương pháp định danh bằng sinh học phân tử

Khuếch đại đoạn trình tự ITS của chủng nấm phân lập được bằng phản ứng PCR và giải trình tự trực tiếp trên máy giải trình tự được thực hiện tại công ty FirstBase (Singapore). Kết quả giải trình tự được so sánh với trình tự ITS của loài *Metarhizium anisopliae* đã có trong ngân hàng gen quốc tế để xác định mức độ tương đồng.

- Tách chiết DNA tổng số

DNA tổng số được tách chiết từ sinh khối nấm sử dụng bộ kit GeneJET Genomic DNA Purification Kit (K0721, Thermo Scientific) theo hướng dẫn của nhà sản xuất, với một số điều chỉnh nhỏ. Khoảng 2 g sợi nấm được nghiền mịn trong nitor lỏng, sau đó xử lý với 180 μ l digestion solution và 20 μ l protease K, ủ ở 56°C trong 30 phút. Hỗn hợp được thêm 200 μ l lysis solution, trộn đều, sau đó thêm 400 μ l ethanol 50% rồi chuyển sang cột lọc DNA.

Các bước rửa bao gồm: rửa I (500 μ l), rửa II (500 μ l), li tâm ở 12.000 vòng/phút ở 4°C. DNA được tách ra bằng 200 μ l elution buffer và thu vào ống mới sau li tâm. Sản phẩm DNA được kiểm tra bằng điện di trên gel agarose 0,8% và đo quang phổ để đánh giá nồng độ và độ tinh sạch.

- Điện di DNA trên gel agarose

DNA được phân tích bằng kỹ thuật điện di gel agarose 0,8% trong đệm TAE 1X. Mẫu DNA (5-10 μ l) trộn với 3 μ l đệm màu (loading dye) được nạp vào giếng gel cùng với thang chuẩn DNA (1 kb ladder). Điện di được thực hiện ở 100V trong 30 phút.

Sau điện di, gel được nhuộm trong dung dịch ethidium bromide (2 μ l/ml) trong 10 phút, tráng qua nước, sau đó quan sát và ghi hình dưới tia UV bằng hệ thống soi gel (Bio-Rad).

- Đo quang phổ DNA

Dung dịch chứa DNA tổng số được

đo quang phổ ở bước sóng 260 nm. Giá trị mật độ quang ở bước sóng 260 nm ($OD_{260\text{ nm}}$ - Optical Density) của các mẫu DNA cho phép xác định nồng độ DNA trong dung dịch. Mỗi đơn vị OD ở bước sóng 260 nm kí hiệu là $A_{260\text{ nm}}$.

Khi đó, công thức chung tính nồng độ DNA tổng số:

$C_{\text{DNA}} (\text{ng}/\mu\text{l}) = A_{260\text{ nm}} \times 50 \times \text{độ pha loãng}$

Trong đó: C_{DNA} : nồng độ DNA tổng số ($\text{ng}/\mu\text{l}$)

$A_{260\text{ nm}}$: mật độ quang ở bước sóng 260 nm

- Khuếch đại vùng ITS bằng PCR

Để thực hiện xác định loài của các mẫu nấm, cặp mồi chung cho các loài nấm kí hiệu ITS1F/ITSR, gồm: ITS1F (5' TCCGTAGGTGAACCTGCGG 3') và ITS4R (5' TCCTCCGCTTATTGATATGC 3') được thiết kế để thực hiện phản ứng PCR vùng ITS của tất cả các loài nấm (Irinyl và cs., 2016).

Phản ứng PCR được thực hiện với cặp mồi, bao gồm mồi xuôi (ITS1F) và mồi ngược ITS4R cho sản phẩm khoảng từ 500 bp đến 1200 bp, tùy từng loài. Dung tích phản ứng PCR là 50 μ l, gồm 25 PCR Mastermix (Fermentas Inc.), 2 μ l mỗi loại mồi (10 pmol/ μ l), 3 μ l khuôn, 2 μ l DMSO (dimethyl sulfoxide) và 16 μ l nước khử ion DEPC. Phản ứng được thực hiện trên máy MJ PTC-100 (Mỹ) với chu trình nhiệt bao gồm 1 chu kỳ ở 94°C/5 phút, 35 chu kỳ ở [94°C/30 giây, 58°C/30 giây; 72°C/1 phút, chu kỳ cuối ở 72°C/10 phút. Phản ứng PCR được thực hiện trên máy PCR Mastercycler Pro của Eppendorf.

- Giải trình tự gen

Sản phẩm PCR được tinh sạch và giải trình tự trực tiếp trên máy ABI 3100 Bio System (Mỹ), trình tự của chủng phân lập được so sánh với trình tự của loài *Metarhizium anisopliae* đã được công bố trên ngân hàng gen bằng phần mềm BLAST và xây dựng cây phát sinh chủng loại bằng

phần mềm MEGA 6 (*Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 6*) để định danh đến loài cho chủng phân lập được.

Phương pháp xử lý số liệu

Độ hữu hiệu của nấm ký sinh trong phòng thí nghiệm đối với vôi voi đục thân chuối được hiệu đính bằng công thức Abbott (1925).

$$\text{Độ hữu hiệu (H\%)} = (C - T)/C$$

Trong đó: H - là hiệu lực của dung dịch tính theo phần trăm

C - là số lượng cá thể vôi voi đục thân chuối còn sống (không bị nhiễm nấm) ở công thức đối chứng

T - là số lượng cá thể vôi voi đục thân chuối còn sống (không bị nhiễm nấm) ở công thức xử lý.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Kết quả điều tra thu thập mẫu

Từ năm 2/2024 đến tháng 5/2025, tiến hành điều tra và thu thập mẫu vôi voi đục thân chuối bị nhiễm nấm ký sinh trên các giống chuối ngự, chuối lá, chuối tiêu ở các vùng trồng chuối ven sông Đáy thuộc 05 xã/phường (Thanh Oai, Bình Minh, Quán Bì, Chương Mỹ và Yên Nghĩa), Thành phố Hà Nội. Các mẫu nấm ký sinh vôi voi đục thân chuối này được phân lập, nhân nuôi trong phòng thí nghiệm để định danh và thử nghiệm khả năng ký sinh (Bảng 1).

Bảng 1. Địa điểm thu thập vôi voi đục thân chuối tại Thành phố Hà Nội, năm 2024 - 2025

Địa điểm thu mẫu	Ký hiệu mẫu	Giống chuối	Pha phát dục	Số mẫu thu được (mẫu)	Số mẫu bị nấm ký sinh (mẫu)	Tỷ lệ bị nhiễm (%)	Vị trí thu mẫu (Vĩ độ Bắc/kinh độ Đông)
Xã Thanh Oai	MKS1	Chuối ngự	SN	29	2	6,9	20°50'44,9"N
			N	42	1	2,4	105°44'57,6"E
			TT	58	1	1,7	
Xã Bình Minh	MKS2	Chuối lá	SN	35	3	8,6	20°54'24,7"N
			N	24	1	4,2	105°43'53,7"E
			TT	41	1	2,4	
Phường Chương Mỹ	MKS3	Chuối tiêu	SN	27	2	7,4	20°53'36,9"N
			N	34	1	2,9	105°43'34,9"E
			TT	46	1	2,2	
Phường Yên Nghĩa	MKS4	Chuối ngự	SN	23	2	8,7	20°48'21,6"N
			N	31	1	3,2	105°44'36,2"E
			TT	52	1	1,9	
Phường Yên Nghĩa	MKS5	Chuối lá	SN	25	2	8,0	20°50'03,4"N
			N	38	1	2,6	105°45'35,8"E
			TT	44	1	2,3	
Phường Yên Nghĩa	MKS6	Chuối tiêu	SN	32	3	9,4	20°56'49,0"N
			N	26	1	3,8	105°43'08,1"E
			TT	49	1	2,0	
Phường Yên Nghĩa	MKS7	Chuối tiêu	SN	17	1	5,9	20°56'23,1"N
			N	24	1	4,2	105°43'38,3"E
			TT	45	1	2,2	
Tổng cộng				742	29		

MKS - Mẫu ký sinh; SN- Sâu non; N-Nhộng; TT- Trưởng thành

Bảng 1 cho thấy, tổng số mẫu thu thập 742 mẫu ở các pha phát dục (sâu non, nhộng và trưởng thành) trên ba giống chuối, có 29 mẫu ghi nhận bị nấm ký sinh, chiếm tỷ lệ trung bình 3,9%. Trong đó ở pha sâu non có tỷ lệ nhiễm cao nhất từ 5,9 - 9,4%,

tiếp đến là pha nhộng từ 2,4 - 4,2% và thấp nhất ở pha trưởng thành từ 1,7 - 2,4%. Từ kết quả trên bước đầu cho thấy nấm ký sinh ngoài tự nhiên có mặt ở hầu hết các vùng điều tra, trên các giống chuối và pha sâu non có tỷ lệ nhiễm cao, kết quả này phù hợp với

nhận định của các tác giả (El Husseini, 2019; Wu và cs., 2021). Đây là kết quả nghiên cứu bước đầu và ghi nhận tỷ lệ vòi đục thân chuối bị nhiễm nấm ký sinh đầu tiên ở Việt Nam. Nguồn nấm này rất có tiềm năng cho việc khai thác, ứng dụng là tác nhân sinh học trong quản lý, phòng chống vòi vòi đục thân chuối có hiệu quả.

Các mẫu vật bị nhiễm nấm ký sinh này được ký hiệu (mã hóa) theo tên, giống chuối và địa điểm thu mẫu mang về phòng thí nghiệm phân lập (tách dòng). Lựa chọn dòng nấm có khả năng phát triển tốt, tạo bào tử nhanh và mạnh trên môi trường nuôi cấy để mô tả đặc điểm hình thái, cấu trúc bào tử, cành bào tử phân sinh, giải trình tự gen và thử khả năng ký sinh đối với vòi vòi đục

thân chuối trong phòng thí nghiệm.

3.2. Đặc điểm, triệu chứng nấm ký sinh vòi vòi đục thân chuối

Sâu non từ tuổi 1 đến tuổi 4 đục vào bẹ thân giả để ăn mô mềm, tạo các đường ngoằn ngoèo bên trong thân. Từ tuổi 5 đến tuổi 6, sâu chuyển sang đục ra phía ngoài bẹ để làm kén và hóa nhộng, đây là giai đoạn thuận lợi cho nấm ký sinh xâm nhập. Kết quả điều tra ngoài đồng ruộng và thí nghiệm trong phòng cho thấy, nấm *M. anisopliae* ký sinh chủ yếu trên sâu non tuổi 4-6, nhộng và trưởng thành. Sâu non khỏe mạnh có cơ thể màu vàng nhạt đồng nhất, đầu nâu sẫm, biểu bì căng bóng, không có biểu hiện nhiễm nấm và di chuyển linh hoạt (Hình 1A).



Hình 1. Triệu chứng sâu non vòi vòi đục thân chuối *O. Longicollis* bị nhiễm nấm ký sinh (*M. anisopliae*).

A-Sâu non khỏe (không bị nhiễm nấm); B-Sâu non tuổi 5 bị nhiễm nấm sau 4 ngày; C- Sâu non tuổi 5 bị nhiễm nấm sau 7 ngày; D-Trưởng thành nhiễm nấm ký sinh sau 10 ngày

Triệu chứng điển hình của vòi vòi đục thân chuối bị nấm ký sinh được ghi nhận chủ yếu ở sâu non tuổi 4-6. Khoảng 4-5 ngày sau khi nhiễm *M. anisopliae*, sâu giảm ăn, di chuyển chậm chạp và chết sau 6-7 ngày. Cơ thể sâu chết ban đầu cứng, chuyển màu nâu vàng, chưa có lớp nấm rõ rệt. Vài ngày sau, các sợi nấm màu trắng xuất hiện trên các đốt bụng, các khớp (trưởng thành) rồi lan dần bao phủ toàn bộ bề mặt cơ thể. Lớp nấm sau đó chuyển sang màu xanh lam, cơ thể vật chủ khô tóp và

thường biến dạng (Hình 1B, 1C, 1D).

3.3. Đặc điểm hình thái của sợi nấm và bào tử

Ở điều kiện phòng thí nghiệm có nhiệt độ 25°C, ẩm độ 85% và được nuôi cấy trên môi trường PDA ở các ngày theo dõi cho thấy; Sau 3 ngày nuôi cấy khuẩn lạc xuất hiện dạng tròn, kích thước tán nấm nhỏ từ 0,8 - 1,2 cm, có màu trắng sữa hơi vàng, bề mặt trơn nhẵn. Mặt sau đĩa thạch đổi màu không rõ rệt (Hình 2-1a,b). Sau 7 ngày nuôi cấy, khuẩn lạc phát triển với tốc độ nhanh

hơn, đường kính tán nấm đạt 2,7 - 2,9 cm và có sự thay đổi màu sang xanh nhạt. Bề mặt tán nấm bắt đầu xuất hiện lớp bào tử mịn, rìa đều. Mặt sau dần chuyển màu vàng nhạt (Hình 2-2a,b). Sau 10 ngày, tán nấm có đường kính đạt 5,7 - 5,9 cm và sau 14 ngày tán nấm mọc phủ kín bề mặt đĩa, khuẩn lạc có màu xanh xám, bề mặt hơi phồng lên do



Hình 2. Hình thái của tán nấm ký sinh (*M. anisopliae*) trên môi trường PDA sau các ngày nuôi cấy. Hình 1- sau 3 ngày nuôi cấy (1a-mặt trước và 1b-mặt sau); Hình 2- sau 7 ngày nuôi cấy (2a-mặt trước và 2b-mặt sau) và Hình 3- sau 10 ngày nuôi cấy (3a- mặt trước và 3b- mặt sau)

Trên môi trường PDA, sợi nấm phát triển mạnh, dạng sợi dài, phân nhánh đều, không màu (hyaline), đường kính trung bình khoảng 2,5-3,5 μm . Các sợi phân nhánh hình chữ V hoặc chữ Y là đặc điểm điển hình của chi *Metarhizium* (Hình 3A). Sợi nấm mang các cành bào tử



Hình 3. Đặc điểm hình thái của nấm ký sinh (*Metarhizium anisopliae*) trên môi trường PDA sau 10 ngày nuôi cấy.

A-Sợi nấm; B - Sợi nấm và cành bào tử; C- Bào tử phân sinh của nấm

Bào tử có hình elip dài đến hình trụ ngắn, kích thước đo được trung bình khoảng 5,2-7,0 μm chiều dài và 1,9 - 2,5 μm chiều rộng. Bào tử đơn, không màu, vách mỏng và phân bố rời rạc hoặc thành cụm nhỏ

(conidiophore) phát triển dọc theo chiều dài sợi chính. Cành bào tử ngắn, phân nhánh xen kẽ và mang các bào tử đơn bám thành chuỗi ngắn ở đầu. Kiểu sắp xếp này tạo thành hình dạng đặc trưng có hình cái “chổi” (Hình 3B).

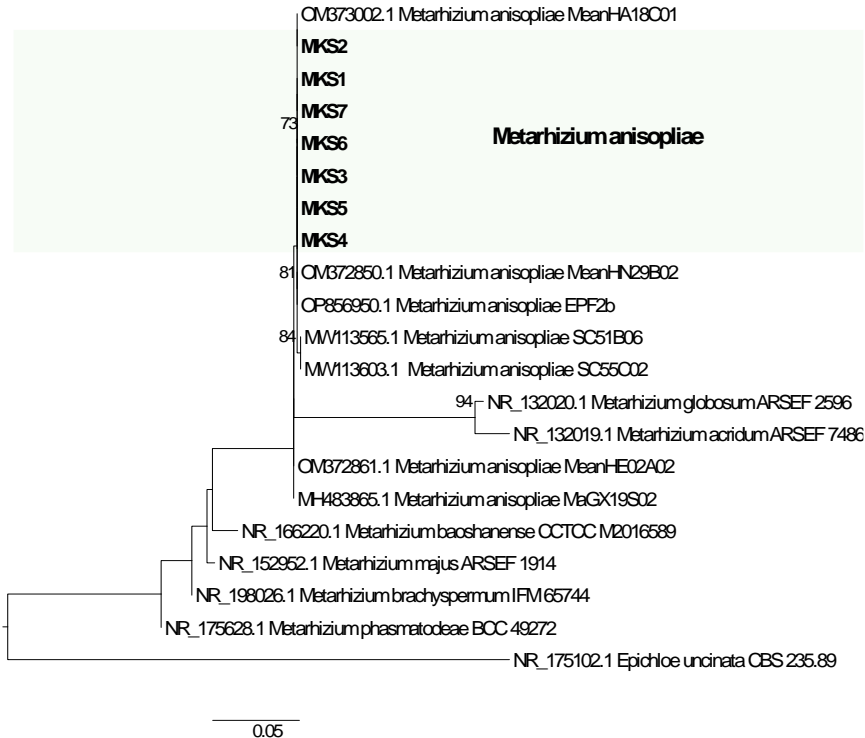
(Hình 3C). Các đặc điểm hình thái quan sát được hoàn toàn phù hợp với mô tả loài nấm *M. anisopliae* của các tác giả Samson và cs., 1988; Kepler và cs., 2014. Sự hiện diện của sợi nấm phân nhánh mảnh, cành bào tử phát

sinh từ sợi chính và bào tử hình trụ nhỏ là các đặc điểm quan trọng để nhận dạng và phân loại.

3.4. Kết quả định danh chủng nấm bằng kỹ thuật sinh học phân tử

Kết quả tìm kiếm trình tự tương đồng trên cơ sở dữ liệu GenBank tại NCBI

(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) cho thấy, trình tự ITS của các mẫu nghiên cứu có độ tương đồng 99,81% với trình tự của các chủng *Metarhizium anisopliae* (mã gen EPF2b), *Metarhizium anisopliae* (mã gen MeanHA18C01), *Metarhizium anisopliae* (mã gen MeanHN29B02).



Hình 4. Cây phát sinh chủng loại được xây dựng bằng phần mềm MEGA 6 (Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 6). Chủng *Epichloe uncinata* CBS 235.89 được sử dụng như mẫu outgroup (nhóm ngoại).

Cây phát sinh chủng loại (Hình 4) được xây dựng dựa trên trình tự gen ITS của loài *M. anisopliae* theo phương pháp Maximum likelihood, với công cụ IQ-TREE cùng mô hình “GTR+F+G4” và ước lượng giá trị bootstrap với 1.000 lần lặp lại. Cây phả hệ được đọc bằng phần mềm Figtree và được hiệu chỉnh bởi phần mềm Adobe Illustrator. Kết quả cho thấy, các mẫu nấm nghiên cứu (MKS1, MKS2, MKS3, MKS4, MKS5, MKS6 và MKS7) tạo thành nhánh với các chủng so sánh đã định danh là *Metarhizium anisopliae* (như

MeanH1A18C01, MeanHN29902, EPF2b, CBS 610.92,...). Từ kết quả này có thể khẳng định các chủng nấm đã thu thập và phân lập được tại các vùng nghiên cứu đều thuộc loài *M. anisopliae*.

3.5. Kết quả thử nghiệm khả năng ký sinh của nấm trên vôi voi đục thân chuối trong điều kiện nhà lưới

Thí nghiệm được tiến hành trên ba pha phát dục của vôi voi đục thân chuối (sâu non, nhộng và trưởng thành) với số lượng mẫu bằng nhau (30 cá thể mỗi pha) trong điều kiện nhiệt độ 25,6°C và độ ẩm 85,4%.

Kết quả theo dõi tỷ lệ bị ký sinh ở các thời điểm 3, 5, 7 và 14 ngày sau xử lý (NSXL)

được trình bày ở Bảng 2.

Bảng 2. Khả năng ký sinh của *M. anisopliae* ở các pha phát dục của vôi voi đục thân chuối trong phòng thí nghiệm (Viện Bảo vệ thực vật, năm 2025)

Pha phát dục		Tỷ lệ bị ký sinh sau các ngày xử lý (%)							
		3 NSXL		5 NSXL		7 NSXL		14 NSXL	
		TN	Đ/c	TN	Đ/c	TN	Đ/c	TN	Đ/c
Sâu non	Tuổi 3-4	2,8 ± 0,3	0	6,8 ± 1,1	0	13,7 ± 1,7	0	18,5 ± 1,8	0
	Tuổi 5-6	4,2 ± 0,5	0	12,4 ± 1,4	0	22,3 ± 2,1	0	31,9 ± 2,4	0
	Pha nhộng	3,2 ± 0,2	0	5,6 ± 0,7	0	12,4 ± 1,2	0	12,6 ± 1,2	0
	Trưởng thành	1,3 ± 0,6	0	4,7 ± 0,4	0	8,5 ± 0,9	0	10,4 ± 1,1	0

Điều kiện thí nghiệm nhiệt độ 25,6°C và ẩm độ 85,4%; sau dấu ± là độ lệch chuẩn (± SD)

NSXL- Ngày sau xử lý; TN- Thí nghiệm; Đ/c- Đối chứng (không xử lý, được cách ly với nguồn nấm)

Sâu non là pha bị ký sinh cao nhất, đặc biệt ở công thức (sâu non tuổi 5-6) với tỷ lệ bị ký sinh lên tới 31,9% sau 14 NSXL, so với 18,5% ở công thức (sâu non tuổi 3-4). Sự chênh lệch này cho thấy sâu non ở tuổi lớn dễ bị nhiễm nấm hơn có thể do cấu tạo lớp da (vỏ kitin) mỏng hơn, bề mặt tiếp xúc với bào tử nấm nhiều hơn. Kết quả

nghiên cứu này phù hợp với nhận định của một số tác giả khi nghiên cứu về nấm ký sinh trên sâu khoang, ruồi đục quả, dâu tằm và sâu tơ. (Quesada-Moraga và cs., 2006; de Faria và Wraight., 2007 và El Hussein, 2019 và Shehzad và cs., 2021) cho rằng sâu non tuổi lớn (4-5) bị nhiễm cao hơn so với tuổi nhỏ (tuổi 2-3).



Hình 5. Triệu chứng sâu non vôi voi đục thân chuối *O. longicollis* bị nhiễm nấm ký sinh (*M. anisopliae*).

A-Sâu non tuổi 4-5 khỏe (đối chứng); B-Sâu non tuổi 3-4 bị nhiễm nấm sau 7 ngày;

C-Sâu non tuổi 5-6 bị nhiễm nấm sau 7 ngày; D-Trưởng thành nhiễm nấm ký sinh sau 7 ngày

Ở pha nhộng, tỷ lệ ký sinh tăng theo thời gian từ 5,6% (sau 5 NSXL) lên 12,6% (sau 14 NSXL). Vì sau khi nhiễm nấm, sâu không chết ngay mà vẫn tiếp tục phát triển và hóa nhộng, quá trình chuyển pha diễn ra nhanh hơn do cơ thể sâu non bị suy yếu, có liên quan đến tác động của nấm lên hệ nội tiết. Trong khi đó, pha trưởng thành cho thấy có tỷ lệ ký sinh thấp nhất chỉ 10,4% sau 14 NSXL. Hiện tượng này cũng được ghi nhận bởi các tác giả Feng và cs. (1994); Nguyễn Văn Cường và cs. (2015) và Borges và cs. (2018) khi nghiên cứu hiệu quả của

nấm *M. anisopliae* và *B. bassiana* ký sinh trên sâu keo mùa thu (*S. frugiperda*), sâu khoang (*S. litura*), sâu hại ngô, bông (*H. zea*) và sâu tơ (*P. xylostella*). Kết quả nghiên cứu bước đầu này cho thấy *M. anisopliae* là một loài nấm ký sinh có tiềm năng ứng dụng cao trong phòng trừ sinh học vôi voi đục thân chuối. Tuy nhiên, tỷ lệ ký sinh ngoài đồng ruộng còn thấp, cho thấy cần có thêm các nghiên cứu, thử nghiệm tiếp theo nhằm ứng dụng kiểm soát sâu hại nói chung và vôi voi đục thân chuối nói riêng có hiệu quả.

4. KẾT LUẬN

Đã thu thập được 29 mẫu bị nấm ký sinh vòi voi đục thân chuối (*O. longicollis*) trên các giống chuối ngự, chuối lá và chuối tiêu tại vùng trồng chuối ven sông Đáy ở các xã/phường Thanh Oai, Bình Minh, Quán Bì, Chương Mỹ và Yên Nghĩa thuộc Thành phố Hà Nội.

Ngoài đồng ruộng, ở pha sâu non có tỷ lệ bị nhiễm nấm ký sinh cao nhất từ 5,9-9,4%, tiếp đến là pha nhộng là 2,4-4,2% và trưởng thành là 1,7-2,4%. Thời gian nấm phát sinh chủ yếu từ tháng 9 đến tháng 2 năm sau.

Dựa trên mô tả đặc điểm hình thái sợi nấm, bào tử và bằng kỹ thuật sinh học phân tử đã xác định được loài nấm ký sinh trên vòi voi đục thân chuối là *Metarhizium anisopliae* với mức độ tương đồng đến 99,81%.

Trong điều kiện phòng thí nghiệm, khả năng gây nhiễm của nấm *M. anisopliae* được ghi nhận: sâu non tuổi 3-4 có tỷ lệ bị nhiễm 18,5%, sâu tuổi 5-6 có tỷ lệ bị nhiễm cao nhất là 31,9%, pha nhộng 12,6% và trưởng thành 10,4% sau 14 ngày xử lý.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Tài liệu tiếng Việt

- Nguyễn Văn Cường, Trần Văn Hải và Lê Thanh Hưng. (2015). Khả năng gây chết của nấm *Beauveria bassiana* lên sâu tơ *Plutella xylostella* ở các giai đoạn phát triển. *Tạp chí Bảo vệ thực vật*, 6, 20–25.
- Phạm Thị Thùy. (2004). Công nghệ sinh học trong bảo vệ thực vật. Nhà xuất bản đại học Quốc gia Hà Nội, 261-263.
- TCVN 13268-4:2021. Tiêu chuẩn quốc gia về Bảo vệ thực vật- Phương pháp điều tra sinh vật gây hại- Phần 4: Nhóm Cây ăn quả.
- Viện Bảo vệ thực vật. (1976). *Kết quả điều tra côn trùng 1967-1968*. Nhà xuất bản Nông thôn Hà Nội, 463.
- Viện Bảo vệ thực vật. (1997). *Phương pháp nghiên cứu bảo vệ thực vật. Tập 1. Phương pháp điều tra cơ bản dịch hại (vi sinh vật hại) nông nghiệp và thiên địch của chúng*. Nhà xuất bản Nông nghiệp, Hà Nội, 99.

Viện Bảo vệ thực vật. (1999a). *Kết quả điều tra côn trùng và bệnh hại cây ăn quả ở Việt Nam 1997 - 1998*. Nhà xuất bản Nông nghiệp Hà Nội, 76-77;122-124.

Viện Bảo vệ thực vật. (1999b). *Kết quả điều tra của côn trùng và bệnh cây ở các tỉnh phía miền Nam năm 1977-1978*. Nhà xuất bản Nông nghiệp Hà Nội, 287-290.

2. Tài liệu tiếng nước ngoài

- Abbott, W. S. (1925). A method of computing the effectiveness of an insecticides. *Journal of Economic Entomology*, 18(2), 265-267.
- Awasthi, N., Srinivasan, S., & Subbarayalu, M. (2017). In vitro evaluation of native isolate of *Metarhizium anisopliae* (Metchinkoff) Sorokin and its oil in water formulations against *Odoiporus longicollis* Olivier. *Journal of Biological Control*, 31(4), 248-254.
- Bischoff, J. F., Rehner, S. A., & Humber, R. A. (2009). A multilocus phylogeny of the *Metarhizium anisopliae* lineage. *Mycologia*, 101(4), 512-530.
- Borges, R. S., Alves, L. F. A., & Neves, P. M. O. J. (2018). Virulence and effects of entomopathogenic fungi on *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). *Journal of Invertebrate Pathology*, 155, 38–46. DOI:10.1016/j.jip.2018.05.009
- Das, D., Borgohain, N., Bhattacharyya, A., & Baruah, K. (2019). Management of banana pseudostem weevil – A biological approach. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 8(10), 2270–2274.
- De Faria, M. R., & Wraight, S. P. (2007). Mycoinsecticides and mycoacaricides: a comprehensive list with worldwide coverage and international classification of formulation types. *Biological control*, 43(3), 237-256.
- El Hussein, M. M. (2019). Efficacy of the entomopathogenic fungus, *Metarhizium anisopliae* (Metsch.), against larvae of the cotton leafworm, *Spodoptera littoralis* (Boisd.) (Lepidoptera: Noctuidae), under laboratory conditions. *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 29(1), 50.
- Feng, M. G., Poprawski, T. J., & Khachatourians, G. G. (1994). Production, formulation and application of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* for insect control: Current status. *Biocontrol Science and Technology*, 4(1), 3–

34. DOI: 10.1080/09583159409355309
Hemadri, T., Chowdary, R. L., Reddy, D. S., & Mahato, S. (2025). Biology and management of banana pseudostem weevil *Odoiporus longicollis*. *Indian Journal of Entomology*: e25299, 1-9
- Humber, R. A. (1997) Fungi: Identification, In A manual of Techniques in insect pathology. *Academic Press, New York*, 153-167.
- Imoulan, A., Wu, H. J., Lu, W. L., Li, Y., Li, B. B., Yang, R. H., & Yao, Y. J. (2016). *Beauveria medogensis* sp. nov., a new fungus of the entomopathogenic genus from China. *Journal of Invertebrate Pathology*, 139, 74-81.
- Irinyi, L., Lackner, M., De Hoog, G. S., & Meyer, W. (2016). DNA barcoding of fungi causing infections in humans and animals. *Fungal Biology*, 120(2), 125-136.
- Jitendra, M., Kiran, D., Ambika, K., Priya, S., Neha, K., & Sakshi, D. (2012). Biomass production of entomopathogenic fungi using various agro products in Kota region, India. *International Research Journal of Biological Sciences*, 1(4), 12-16.
- Kepler, R. M., Humber, R. A., Rehner, S. A. (2014). Clarification of generic and species boundaries for *Metarhizium* and related fungi through multigenephylogenetics. *Mycologia*, 106(4), 811-829.
- Lacey, L.A. (1997). Manual of techniques in insect pathology. San Diego: Academic Press, 409.
- Padmanaban, B., Sundararaju, P., Velayudhan, K. C., & Sathiamoorthy, S. (2001). Evaluation of Musa germplasm against banana weevil borers. *InfoMusa*, 10(1), 26-28.
- Quesada-Moraga, E., Ruiz-García, A., & Santiago-Alvarez, C. (2006). Laboratory evaluation of entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* against puparia and adults of *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae). *Journal of Economic Entomology*, 99(6), 1955-1966.
- Samson, R. A., Evans, H. C., & Latgé, J. P. (1988). Taxonomy of entomopathogenic fungi. *Atlas of Entomopathogenic Fungi*, 5-16.
- Shanker, R., Arya, S., Patel, A., Kumar, P. (2021). Major insect pest of banana and their management. *Times of Agriculture a Resonance in Agriculture*, 12, 73-75.
- Shehzad, M., Tariq, M., Mukhtar, T., & Gulzar, A. (2021). On the virulence of the entomopathogenic fungi, *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* (Ascomycota: Hypocreales), against the diamondback moth, *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae). *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 31(1), 1-7.
- Tulloch, M. (1976). The genus *Metarhizium*. *Transactions of the British Mycological Society*, 66(3), 407-411.
- Velavan, V., Rangeshwaran, R., Sivakumar, G., Sasidharan, T. O., Sundararaj, R., & Kandan, A. (2021). Occurrence of *Metarhizium* spp. isolated from forest samples in South India and their potential in biological control of banana stem weevil *Odoiporus longicollis* Olivier. *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 31, 1-12.
- Wu, J., Du, C., Zhang, J., Ali, S., & Cuthbertson, A. G. S. (2021). Synthesis of *Metarhizium anisopliae*-chitosan nanoparticles and their pathogenicity against *Plutella xylostella*. *Microorganisms*, 10(1), 1.
- Zimmermann, G. (2007). Review on safety of the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* Edit. *Biocontrol Science and Technology*, 17(9), 879-920.