

Phân lập và tuyển chọn chủng vi khuẩn có hoạt tính diệt rệp sáp từ đất trồng hoa màu tại Đà Nẵng

Isolation and selection of bacteriophages with insecticidal activity against Mealybugs (*Planococcus citri*) from cropland in Da Nang

Nguyễn Thị Thu^{a,b*}, Đỗ Thu Hà^{a,b}, Lê Thị Mai^c, Ngô Hoài Nam^c
Nguyen Thi Thu^{a,b*}, Do Thu Ha^{a,b}, Le Thi Mai^c, Ngo Hoai Nam^c

^aViện Nghiên cứu và Đào tạo Y Sinh Dược, Đại học Duy Tân, Đà Nẵng, Việt Nam

^aInstitute for Research and Training in Medicine, Biology and Pharmacy, Duy Tan, Da Nang, 550000, Vietnam

^bKhoa Dược, Trường Y Dược, Đại học Duy Tân, Đà Nẵng, Việt Nam

^bDepartment of Pharmacy, Medicine and Pharmacy University, Duy Tan University, Da Nang, 550000, Vietnam

^cKhoa Sinh - Môi trường, Trường Đại học Sư Phạm, Đà Nẵng, Việt Nam

^cDepartment of Bio-Environment, Da Nang Pedagogical University, Vietnam

(Ngày nhận bài: 07/12/2022, ngày phân biện xong: 13/12/2022, ngày chấp nhận đăng: 21/12/2022)

Tóm tắt

Rệp sáp (*Planococcus citri*) được phát hiện trên 70 họ cây trồng khác nhau. Rệp sáp không chỉ phá hoại trực tiếp bằng cách chích hút nhựa cây mà còn truyền virus gây bệnh cho cây. Mục tiêu của nghiên cứu này là phân lập và sàng lọc các chủng vi khuẩn trong đất trồng cây hoa màu tại Đà Nẵng có hoạt lực diệt rệp sáp. Chúng tôi đã phân lập được 10 chủng vi khuẩn và tuyển chọn chủng vi khuẩn TA1 giải trình tự 16S rRNA để định danh sau khi thực hiện các thí nghiệm sinh hóa cũng như xác định hiệu quả diệt rệp sáp. Kết quả định danh bằng giải trình tự 16S rRNA cho thấy chủng TA1 thuộc loài *Bacillus thuringiensis* serovar *kurstaki*.

Từ khóa: Rệp sáp, *Planococcus citri*, *Bacillus thuringiensis*, phân lập.

Abstract

Mealybugs (*Planococcus citri*) are found in over 70 different plant families. Mealybugs not only destroy trees directly by sucking sap, but also transmit viruses that cause diseases to plants. The objective of this study was to isolate and screen strains in the crop soil in Da Nang with activity against mealybugs. We isolated 10 bacterial strains and selected bacterial strain TA1 to sequence 16S rRNA for identification after performing biochemical experiments as well as determining the efficiency of killing mealybugs. Based on 16S rRNA, a species which has the best insecticidal activity was classified in the *Bacillus thuringiensis* serovar *kurstaki* family.

Keywords: Mealybugs, *Planococcus citri*, *Bacillus thuringiensis*, isolation.

* Corresponding author: Nguyễn Thị Thu, Viện Nghiên cứu và Đào tạo Y Sinh Dược, Đại học Duy Tân, Đà Nẵng, Việt Nam; Khoa Dược, Trường Y Dược, Đại học Duy Tân, Đà Nẵng, Việt Nam
Email: nguyenthuyen.90@gmail.com

1. Đặt vấn đề

Rệp sáp (*Planococcus citri*) là một trong những loài rệp phổ biến nhất, phân bố rộng khắp nơi trên thế giới, đặc biệt là ở các vùng nhiệt đới và cận nhiệt đới [1]. Đây là loài gây hại phổ biến trên các cây trồng thuộc họ cam quýt, các cây công nghiệp như cà phê, ca cao, hồ tiêu, dừa, khóm và các cây khác như nho, chuối, xoài, gừng, tất cả loài hoa, rau [2]. Hàng năm, rệp sáp cùng với các côn trùng khác gây thiệt hại 15% sản lượng cây trồng trên toàn thế giới [1].

Biện pháp phòng trừ rệp phổ biến nhất cho đến nay là sử dụng thuốc diệt côn trùng hóa học do phổ tác dụng rộng và hiệu quả tác dụng nhanh. Tuy nhiên, thuốc hóa học ngày càng bộc lộ rõ nhiều nhược điểm như nhanh bị kháng bởi côn trùng sau một thời gian sử dụng, gây ô nhiễm môi trường, ảnh hưởng xấu đến sức khỏe con người. Các chế phẩm sinh học (có nguồn gốc từ sinh vật) thân thiện với hệ sinh thái và sức khỏe con người đã và đang được khuyến khích ứng dụng để thay thế dần các thuốc diệt côn trùng hóa học. Trong đó, các chế phẩm sinh học từ *Bacillus thuringiensis* (*Bt*) đã được nghiên cứu, sản xuất và ứng dụng nhiều trong nông nghiệp, mang lại hiệu quả cao [3].

Tại Việt Nam, Ngô Đình Bính đã có nhiều nghiên cứu về định loại chủng *Bt*. Theo số liệu công bố năm 2010 có 3500 chủng *Bt* đã được phân lập chủ yếu ở Hà Nội [4]. Cuốn sách “Đa dạng sinh học toàn cầu - Tập 1: Các quốc gia châu Á” của T. Pullaiah cho thấy số liệu mới nhất về số chủng *Bt* ở Việt Nam năm 2015 là 7364 chủng [5].

Đà Nẵng nằm ở phía nam đèo Hải Vân, có đặc trưng khí hậu thổ nhưỡng khác với Hà Nội, có tiềm năng đa dạng vi sinh vật cao nhưng chủng *Bt* chưa được tập trung nghiên cứu. Trên cơ sở đó, nghiên cứu của chúng tôi được tiến hành để phân lập và tuyển chọn chủng *Bt* trong đất trồng hoa màu tại Đà Nẵng có hoạt lực diệt

rệp sáp để sau này có thể phát triển thành chế phẩm sinh học đặc trưng cho địa phương.

2. Phương pháp nghiên cứu

2.1. Phương pháp lấy mẫu

Tiến hành lấy mẫu theo TCVN6663-1:2001. Các mẫu phải mang tính đại diện và đảm bảo không bị biến đổi trong suốt quá trình từ khi lấy mẫu tới khi phân tích.

2.2. Phương pháp phân lập vi khuẩn

Một gam mẫu đất được hòa tan trong nước muối sinh lý NaCl 0,9% để pha loãng nối tiếp đến 10^{-10} . Loại bỏ tế bào sinh dưỡng và các vi sinh vật khác bằng cách tiến hành gia nhiệt trong bể ổn nhiệt ở 80°C trong 10 phút. Hút 100 μl dịch pha loãng cấy trải trên môi trường Lysogeny borth ở 30°C .

Sau 48 giờ tiến hành quan sát hình thái khuẩn lạc, nhuộm Coomassie brilliant blue trong 3 phút để quan sát hình dạng tế bào, tinh thể và bào tử theo phương pháp của Fadel (1998) [3].

2.3. Phương pháp nghiên cứu đặc điểm sinh học, khảo sát khả năng sinh enzyme ngoại bào chitinase, protease và cellulase

* Nghiên cứu đặc điểm sinh học: tiến hành theo phương pháp của Claus và Berkeley với các phép thử sinh hóa như Oxidase, Catalase, Citrate Utilization, khả năng di động và khả năng phân giải urea, phân giải đường; đặc điểm sinh trưởng ở 42°C [6].

* Khả năng sinh enzyme ngoại bào: tế bào của chủng vi khuẩn tuyển chọn được nuôi cấy trong môi trường Lysogeny borth lỏng ở 37°C trong 24 giờ. Hút 1ml dịch li tâm và nhỏ vào lỗ thạch (đường kính $d=1,3\text{cm}$) môi trường có thành phần 0.5g/l KCl; 1.5g/l K_2HPO_4 ; 0.5g/l $\text{MgSO}_4.7\text{H}_2\text{O}$; 0.01g/l $\text{FeSO}_4.7\text{H}_2\text{O}$; 20g/l, 20g thạch có bổ sung: 10g/l casein cho khảo sát khả năng sinh protease; 0.5% colloidal chitin cho khảo sát khả năng chitinase và CMC 0,5% cho khảo sát khả năng

sinh cellulase. Đọc kết quả bằng cách nhỏ thuốc thử Coomassie brilliant blue đối với protease, thuốc thử Lugol đối với cellulose và chitinase, quan sát các vòng đục xung quanh lỗ thạch. Mỗi phản ứng lặp lại 3 lần [7].

2.4. Phương pháp thử nghiệm hoạt tính diệt rệp sáp

Nuôi cấy các chủng vi khuẩn có chứa bào tử phân lập được trên môi trường Lysogeny borth ở 28°C, lắc 180 vòng/phút trong 72 giờ. Sau đó tiến hành xác định số lượng bào tử và thử hoạt tính trên rệp sáp (*Planococcus citri*) ở cây cà chua bị nhiễm bệnh tại vườn trồng cây hoa màu ở Đà Nẵng.

- Xác định số lượng bào tử: xử lý mẫu ở 80°C trong 10 phút rồi pha loãng mẫu. Lấy 0,1ml cấy gọt vào các đĩa Petri vô trùng chứa môi trường Lysogeny borth. Để vào tủ ấm ở 28°C trong 24 giờ và đếm số lượng khuẩn lạc mọc trên mỗi đĩa. Số lượng bào tử được tính theo công thức:

$$CFU = n.a.10$$

Trong đó:

+ CFU: số lượng bào tử trong 1ml dịch nuôi cấy

+ n: số khuẩn lạc trung bình tạo thành trong 0,1ml dịch pha loãng

+ a: nồng độ pha loãng

- Thử hoạt tính diệt rệp sáp: pha loãng dịch lên men của các chủng vi khuẩn nghiên cứu đến nồng độ 10⁷ bào tử/ml. Thí nghiệm thử hoạt lực diệt rệp được bố trí trong các đĩa Petri, mỗi đĩa 25 con rệp (trung đối đồng đều về kích thước, tuổi). Xác định hoạt lực diệt rệp ở các thời điểm sau 24 giờ, 48 giờ và 72 giờ (tính theo công thức Abbott).

$$M (\%) = [(C-T)/C] \times 100$$

Trong đó:

+ M: hiệu lực của chế phẩm

+ C: số rệp sống ở công thức đối chứng

+ T: số rệp sống ở công thức thí nghiệm sau xử lý

2.5. Phương pháp định danh *Bacillus thuringiensis* đến loài

Chọn ra chủng vi khuẩn có hoạt tính enzyme cao nhất và hoạt lực diệt rệp mạnh nhất để tiến hành định danh bằng phương pháp giải trình từ vùng gen 16D rRNA [8].

Nuôi cấy thu sinh khối vi khuẩn trong môi trường Lysogeny borth ở máy lắc 180 vòng/phút trong 16 giờ. Tách chiết DNA tổng số, khuếch đại vùng gen 16D rRNA bằng phản ứng PCR với cặp mồi:

27F (5'- AGAGTTTGATCCTGGCTCAG -3')

1492R (5'- GGTTACCTTGTTACGACTT-3')

Sản phẩm PCR được tinh chế và gửi giải trình tự tại Công ty Khoa học – kỹ thuật NEXT GENE (TP. Hồ Chí Minh). Sử dụng công cụ BLAST trên website NCBI để tìm kiếm trình tự tương đồng cho kết quả.

2.6. Phương pháp xử lý số liệu

Các số liệu nghiên cứu thực nghiệm được xử lý bằng phần mềm SPSS với độ tin cậy 95%. Kết quả thí nghiệm được biểu thị bằng (M ± SD).

3. Kết quả

3.1. Thành phần, đặc điểm các chủng vi khuẩn phân lập từ đất trồng hoa màu tại Đà Nẵng

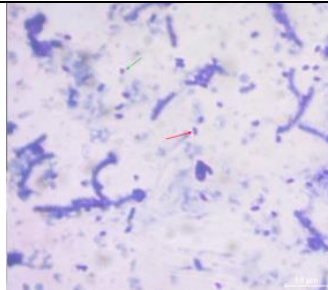
Từ những mẫu đất trồng cây hoa màu tại Đà Nẵng, chúng tôi đã phân lập và tuyển chọn được 10 chủng vi khuẩn sinh trưởng và phát triển trên môi trường sàng lọc. Kết quả được trình bày qua Bảng 3.1, Hình 3.1, Hình 3.2 và Hình 3.3.

Bảng 3.1. Đặc điểm hình thái khuẩn lạc, đặc điểm hình thái tế bào của các chủng vi khuẩn phân lập trong đất tại Đà Nẵng

Ký hiệu chủng	Hình thái khuẩn lạc	Hình thái tế bào	Tính thể
M1	KL màu trắng sữa, lõm ở giữa, viền lan rộng tròn nhẵn.	Hình que, xếp riêng lẻ, bào tử chính tam, tinh thể hình cầu.	+
TA1	KL màu trắng trứng, tròn, có núm ở giữa, bề mặt nhẵn.	Hình que, xếp thành chuỗi, bào tử chính tâm, tinh thể hình cầu.	+
NL	KL màu trắng sữa, tròn đều, có nhầy.	Hình que, xếp riêng lẻ.	-
NCL2	KL màu trắng sữa, có núm ở giữa, viền lan rộng, bề mặt sần sùi.	Hình que, xếp thành chuỗi, bào tử hình trứng, ngay tâm.	-
3	KL màu vàng nhạt, tròn đều, có ria nhỏ tỏa đều, hơi nhầy.	Hình que, xếp riêng lẻ, bào tử hình elip chính tâm, tinh thể hình quả trám.	-
5	KL màu trắng đục, bề mặt nhẵn, cạnh mịn.	Hình que, xếp riêng lẻ, bào tử cạnh tâm.	-
CP	KL màu trắng đục, bề mặt nhẵn, cạnh mịn.	Hình que, xếp thành chuỗi, bào tử hình elip, chính tâm, tinh thể hai đầu.	+
B1	KL màu trắng sữa, mọc lan tỏa như long chim, vết mờ.	Hình que, xếp riêng lẻ, bào tử hình elip chính tâm, không có tinh thể.	-
L	KL màu trắng sữa, nhẵn nheo, có viền lan rộng.	Hình que, bào tử hình elip chính tâm.	-
HF	KL màu trắng đục, khô, bám dính trên thạch.	Hình que, xếp thành chuỗi, bào tử hình elip	-



(a)

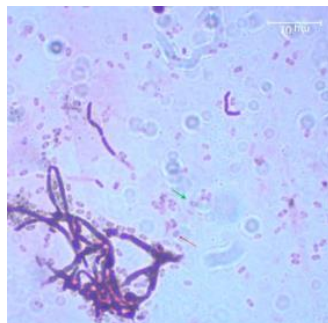


(b)

Hình 3.1. Hình thái KL (a) và hình thái TB (b) của chủng TA1

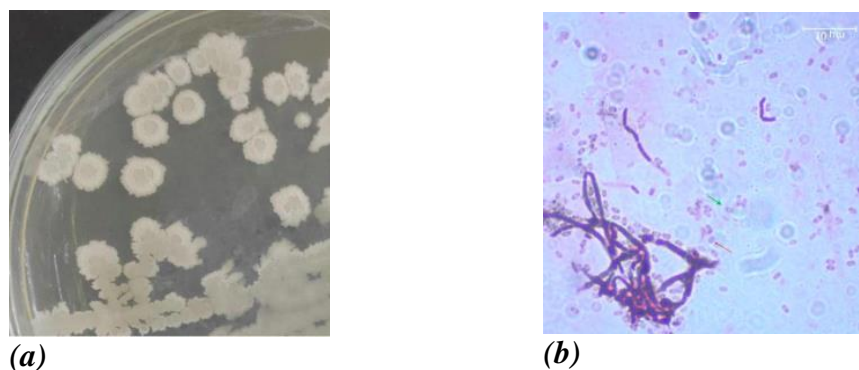


(a)



(b)

Hình 3.2. Hình thái KL (a) và hình thái TB (b) của chủng CP



Hình 3.3. Hình thái KL (a) và hình thái TB (b) của chủng M1

Nghiên cứu của chúng tôi cho thấy 10 chủng vi khuẩn phân lập được đều có tế bào dạng hình que và hình thành bào tử. Trong đó, 3 chủng TA1, CP và M1 có sự hiện diện của tinh thể độc bất màu xanh của thuốc nhuộm. Các chủng vi khuẩn sinh tinh thể mới phân lập được có độ đa dạng cao về dạng tinh thể, bao gồm: dạng lưỡng tháp và dạng hình cầu với các kích thước khác nhau (Hình 3.1, Hình 3.2 và Hình 3.3). Sự khác nhau về cấu trúc cũng như hình dạng tinh thể độc là do các thành phần protein cấu tạo nên. Sự phong phú về hình dạng tinh thể có thể

đẫn tới sự đa dạng về gene độc tố, là cơ sở tạo nên phổ diệt côn trùng rộng cho các chủng vi khuẩn nghiên cứu nên chúng tôi chọn chủng TA1, CP, M1 cho những nghiên cứu tiếp theo.

3.2. Đặc điểm nuôi cấy và sinh hóa của chủng TA1, CP, M1

Đặc điểm sinh học của các chủng vi khuẩn tuyển chọn được tiến hành theo phương pháp Claus và Berkeley (1986) [6]. Kết quả được thể hiện ở Bảng 3.2.

Bảng 3.2. Kết quả thử nghiệm sinh hóa của chủng TA1, CP, M1

Các chỉ tiêu	Chủng vi khuẩn			Các chỉ tiêu	Chủng vi khuẩn		
	TA1	CP	M1		TA1	CP	M1
Di động	+	+	+	Nuôi cấy ở 42 ⁰ C	+	+	+
Oxidase	+	+	+	Glucose	+	+	+
Catalase	+	+	+	Sucrose	+	+	+
S.citrate	+	+	+	Phân giải urea	+	+	+

Các thử nghiệm đã thực hiện cho thấy ba chủng vi khuẩn TA1, CP, M1 đều sinh trưởng ở 42⁰C và có các phản ứng tích cực liên quan đến xét nghiệm catalase, oxidase, S.citrate, phân giải urea và phân giải đường. So sánh những đặc điểm sinh hóa của ba chủng vi khuẩn này với phân loại của Claus và Berkeley, chúng tôi nghi ngờ TA1, CP, M1 đều thuộc chi *Bacillus* [6].

3.3. Hoạt lực diệt rệp sáp (*Planococcus citri*) của các chủng TA1, CP, M1

Để thử hoạt tính diệt rệp của các chủng vi khuẩn phân lập được, chúng tôi tiến hành nuôi cấy ba chủng vi khuẩn (TA1, CP, M1) trong môi trường Lysogeny broth ở 28⁰C trong 72 giờ để thu sinh khối. Sau đó tiến hành thử hoạt tính trên rệp sáp (*Planococcus citri*). Kết quả xác định hoạt lực diệt rệp ở các thời điểm sau 24 giờ, 48 giờ và 72 giờ (tính theo công thức Abbott) được trình bày ở Bảng 3.2.

Bảng 3.2. Hoạt lực diệt rệp của các chủng vi khuẩn nghiên cứu

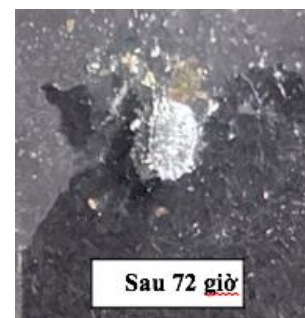
Kí hiệu chủng	Tỉ lệ rệp chết (%)		
	24 giờ	48 giờ	72 giờ
M1	0 ± 0 ^a	6 ± 2 ^a	56 ± 4 ^a
TA1	0 ± 0 ^b	36.33 ± 5.5 ^b	86.67 ± 4.61 ^b
CP	0 ± 0 ^c	12 ± 4 ^c	73.33 ± 4.61 ^c
Đối chứng	0 ± 0 ^d	0 ± 0 ^d	0 ± 0 ^d

Ghi chú: Số liệu trong bảng là giá trị trung bình của 3 lần lặp lại. Các giá trị biểu hiện bằng chữ cái giống nhau trong cùng 1 cột sai khác không có ý nghĩa ở mức xác suất $P \leq 0.05$ theo phân tích Duncan.

Kết quả ở Bảng 3.2 cho thấy, cả ba chủng vi khuẩn nghiên cứu đều có hoạt lực diệt rệp. Trong 24 giờ đầu tiên, những con rệp tiếp xúc với dịch nuôi cấy của TA1, M1, CP di chuyển chậm, các đoạn bụng bắt đầu xẹp xuống. Sau 48 đến 72 giờ, rệp ngừng di chuyển, màu sắc chuyển sang nâu, bụng rệp tăng kích thước và hiển thị các đốm đen trên các đoạn bụng đầu tiên, cơ thể rệp bị mất nước, màu tối kéo dài về phía ngực sau. Tuy nhiên, chúng tôi nhận thấy

hoạt lực diệt rệp của ba chủng vi khuẩn nghiên cứu khác nhau, trong đó chủng TA1 có hoạt lực mạnh nhất: 48 giờ (36.33%), 72 giờ (86.67%) và chủng M1 có hoạt lực yếu nhất 48 giờ (6%), 72 giờ (56%).

Sự khác biệt hoạt lực diệt rệp giữa các chủng có ý nghĩa về mặt thống kê. Vì vậy, chúng tôi quyết định chọn chủng TA1 để nghiên cứu khả năng sinh enzyme ngoại bào.

**Hình 3.4.** Rệp ban đầu**Hình 3.5.** Hoạt lực diệt rệp của chủng TA1 sau 48 giờ**Hình 3.6.** Hoạt lực diệt rệp của chủng TA1 sau 72 giờ

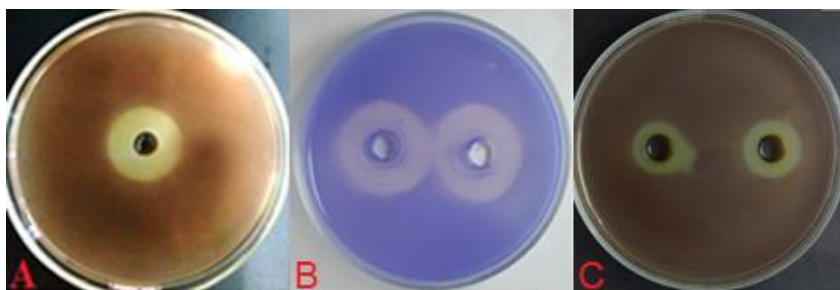
3.4. Khả năng sinh enzyme ngoại bào của chủng TA1

Hoạt tính enzyme do vi khuẩn sinh ra được xác định gián tiếp qua kích thước vòng phân giải

trên các môi trường thử hoạt tính nhờ vào khả năng phân hủy các cơ chất và làm đổi màu môi trường đặc hiệu xung quanh khuẩn lạc vi khuẩn. Kết quả thu được ở Bảng 3.3 và Hình 3.7.

Bảng 3.3. Khả năng sinh enzyme ngoại bào của chủng TA1

Chủng	Đường kính vòng phân giải (D – d, cm)		
	Chitinase	Protease	Cellulase
TA1	2,0 ± 0,08	2,7 ± 0,14	1,24 ± 0,12



Hình 3.7. Đường kính vòng phân giải của enzyme ngoại bào

A. Vòng phân giải chitin, B. Vòng phân giải protein, C. Vòng phân giải cellulose

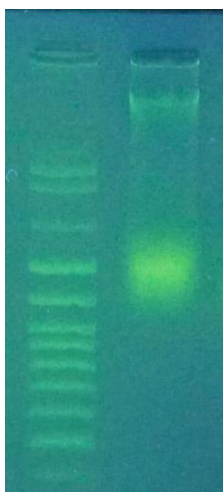
Kết quả nghiên cứu cho thấy chủng TA1 có khả năng sinh enzyme ngoại bào với khả năng sinh protease là cao nhất, đường kính vòng phân giải đạt $2,7 \pm 0,14$ cm. Enzyme cellulase, protease có nhiều đặc tính quý như khả năng hoạt động tốt trong dải pH rộng và bền nhiệt [10]. Vì vậy, chúng tôi tiến hành định danh chủng TA1 đến loài bằng sinh học phân tử.

3.5. Định danh bằng sinh học phân tử chủng TA1

Chúng tôi tiến hành định danh chủng TA1 bằng cách khuếch đại vùng gen 16S rRNA bằng phản ứng PCR. Kết quả như sau:

Tách chiết DNA tổng số

DNA tổng số sau khi tách chiết được kiểm tra bằng kỹ thuật điện di sử dụng gel agarose 0,8%. Kết quả được trình bày ở Hình 3.8.

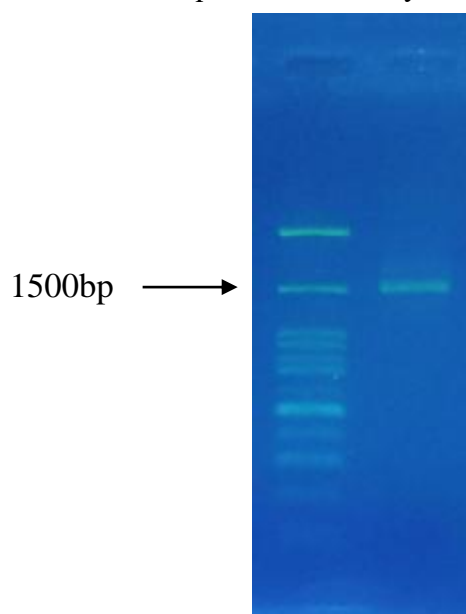


Hình 3.8. DNA tổng số của TA1

Lượng DNA tổng số thu được có chất lượng khá tốt (sạch và ít bị đứt gãy) được sử dụng làm DNA khuôn mẫu để khuếch đại vùng gen 16S rRNA.

Khuếch đại vùng gen 16S rRNA

Sản phẩm khuếch đại vùng gen 16S rRNA được kiểm tra bằng kỹ thuật điện di sử dụng gel agarose 0,8%. Kết quả được trình bày ở Hình 3.9.



Hình 3.9. Khuếch đại vùng gen 16S rRNA chủng TA1

Sản phẩm khuếch đại có kích thước khoảng 1500bp, không có sản phẩm phụ được sử dụng để gửi đi đọc trình tự.

Đọc trình tự sản phẩm PCR

Sản phẩm khuếch đại được đọc trình tự tại Công ty Khoa học - kỹ thuật NEXT GENE (TP. Hồ Chí Minh), kết quả trình tự 5' - 3' của gen 16S rRNA như sau:

GTCGAGCGAATGGATTAAGAGCTTGC
 TCTTATGAAGTTAGCGGCGGACGGGT
 GAGTAACACGTGGGTAACCTGCCCATA
 AGACTGGGATAACTCCGGGAAACCG
 GGGCTAATACCGGATAACATTTTGA
 ACTGCATGGTTTCGAAATTGAAAGGCGG
 CTTCGGCTGTCACCTTATGGATGGACCCG
 CGTCGCATTAGCTAGTTGGTGAGGT
 AACGGCTCACCAAGGCAACGATGCGTA
 GCCGACCTGAGAGGGTGATCGGCC
 AACTGGGACTGAGACACGGCCAGAC
 TCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGA
 ATCTTCCGCAATGGACGAAAGTCTGACG
 GAGCAACGCCGCGTGAGTGATGAA
 GGCTTTCGGGTCGTAAA
 ACTCTGTTGTTAGGGAAGAACAAGTGCTAGTTGAA
 TAAGCTGGCACCTTGACGGTACCTAACC
 AGAAAGCCACGGCTAACTACGTGC
 CAGCACCCGCGGTAATACGTAGGTGGC
 AAGCGTTATCCGGAATTATTGGGCG
 TAAAGCGCGCGCAGGTGGTTTCTTAATT
 CTGATGTGAAAGCCCACGGCTCAA
 CCGTGGAGGGTCATTGGAAACTGGGGA
 ACTTGAGTGCAGAAGAGGAAAGTG.

So sánh với ngân hàng gen NCBI, trình tự gen 16S rRNA của chủng TA1 có độ tương đồng 99,68% với loài *Bacillus thuringiensis serovar kurstaki*.

4. Kết luận

Qua quá trình tiến hành nghiên cứu, chúng tôi đã thu được những kết quả sau:

- Đã phân lập được 10 chủng vi khuẩn từ đất trồng hoa màu ở Đà Nẵng, trong đó tuyển chọn được 3 chủng có sự hiện diện của tinh thể độc.

- Đã chọn được chủng TA1 dựa trên đặc điểm sinh học, khả năng sinh enzyme ngoại bào và hoạt lực diệt rệp sáp cao nhất.

- Kết quả định danh chủng vi khuẩn TA1 bằng việc giải trình tự gen 16S rRNA cho thấy

chủng này thuộc loài *Bacillus thuringiensis serovar kurstaki*.

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi có thể làm cơ sở cho các nghiên cứu sâu hơn như khảo sát các yếu tố ảnh hưởng đến sự sinh trưởng và sinh độc tố của chủng *Bacillus thuringiensis serovar kurstaki* TA1, tiến tới tối ưu hóa điều kiện nuôi cấy nhằm tăng hoạt lực diệt rệp sáp.

Tài liệu tham khảo

- [1] Ebert, T.A., and Cartwright, B. (1997). *Biology and ecology of Aphis gossypii Glover (Homoptera: Aphididae)*.
- [2] Karacaoğlu, M., Yarpuzlu, F. (2007). *Turunçgilde Biyolojik Mücadele*.
- [3] Nguyễn Thiện Phú, Trần Thanh Thùy (2013). *Phân lập, tuyển chọn chủng Bacillus thuringiensis từ rừng ngập mặn Cần Giờ có hoạt tính diệt sâu*, Tạp chí Khoa học Trường Đại học Sư phạm Thành phố Hồ Chí Minh, 51, 49-58.
- [4] Ngô Đình Bính và cộng sự (2010). *35 năm nghiên cứu và phát triển thuốc trừ sâu sinh học Bacillus thuringiensis tại Việt Nam*, Hội nghị Khoa học kỷ niệm 35 năm thành lập Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam 1975 – 2010, Nhà xuất bản Khoa học Tự nhiên và Công nghệ, 288-300.
- [5] T. Pullaiah (2019). *Global Biodiversity: Volume 1: Selected Countries in Asia*, Apple Academic Press, Incorporated.
- [6] Claus D. and Berkeley, R.C.W. (1986). *Geneus Bacillus In: Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Sneath P.H.A. (ed) 2, 1110-1137.
- [7] Harley J. P. and L. M. Prescott (2001). *Laboratory exercises in microbiology*.
- [8] Nguyễn Văn Phúc, Phan Thị Phượng Trang (2014). *Phân lập, định danh và xác định các đặc tính có lợi của chủng Bacillus ssp. từ ao nuôi tôm tỉnh Bến Tre*. Tạp chí Khoa học Trường Đại học Sư phạm Thành phố Hồ Chí Minh, 64.
- [9] Uribe, D., Martinez, W., and Cerón, J. (2003). *Distribution and diversity of cry genes in native strains of Bacillus thuringiensis obtained from different ecosystems from Columbia*. Journal of Invertebrate Pathology, 82, 119-127.
- [10] Trịnh Thành Trung, Phan Lạc Dũng, Trần Thị Lê Quyên, Dương Văn Hợp, Đào Thị Lương (2013). *Đặc điểm sinh học và tiềm năng ứng dụng của chủng vi khuẩn Bacillus amyloliquefaciens subsp. plantarum sp 1901 phân lập tại Rừng Quốc gia Hoàng Liên*. Tạp chí Khoa học Đại học Quốc gia Hà Nội: Khoa học Tự nhiên và Công nghệ, 29, 3, 59-70.