

# LỰA CHỌN MÔI TRƯỜNG NHÂN NUÔI NẤM *METARHIZIUM* ĐỂ DIỆT MỐI *ODONTOTERMES ANGUSTIGNATHUS* TSAI ET CHEN HẠI CÂY CON LÂM NGHIỆP

**Bùi Thị Thủy, Phan Lương Ngọc**  
*Phòng Nghiên cứu Bảo quản Lâm sản*  
*Viện Khoa học Lâm nghiệp Việt Nam*

## TÓM TẮT

Bốn loại môi trường (Sabouraud, Sabouraud bổ sung bột vỏ tôm, Sabouraud bổ sung bột vỏ cua, Sabouraud bổ sung casein) đã được thử nghiệm để nghiên cứu khả năng sinh trưởng, sinh bào tử trần (BTT), sinh enzyme của 3 chủng vi nấm *Metarhizium* M1, M2, M5. Kết quả cho thấy, trên môi trường Sabouraud bổ sung 0,5% bột vỏ tôm 3 chủng vi nấm sinh trưởng, sinh BTT, sinh enzyme tốt nhất. Bào tử trần, sinh khối, dịch nuôi cấy của 3 chủng vi nấm thu được từ môi trường tối ưu được nhiễm bệnh trên mối để đánh giá hiệu lực diệt mối *Odontotermes angustinathus* trong điều kiện phòng thí nghiệm. Cả 3 chủng *Metarhizium* M1, M2, M5 đều có hiệu lực diệt mối *Odontotermes angustinathus* bằng BTT và dịch nuôi cấy. Chủng M1 có hiệu lực diệt mối cao hơn chủng M2, M5.

**Từ khóa:** *Metarhizium*, *Odontotermes angustinathus*, Môi trường.

## MỞ ĐẦU

Mối là một trong những loài côn trùng có ý nghĩa quan trọng đối với nền kinh tế, đặc biệt là ở các nước nhiệt đới. Mối phân giải gỗ trả lại mùn cho đất, làm biến đổi tính chất lý, hoá của đất ở nơi chúng hoạt động. Mối cũng là đối tượng gây hại rất lớn. Mối hại nhà cửa, kho tàng, tài liệu lưu trữ, hệ thống đê điều ... Mối gây hại cây trồng trong công, nông nghiệp, lâm nghiệp. Chúng tấn công cây con trong các vườn ươm và rừng mới trồng, lấy nước và chất dinh dưỡng của cây làm cây chết hàng loạt.

Phòng trừ mối hại cây con lâm nghiệp, một mặt phải hạn chế được thiệt hại kinh tế do mối gây ra, mặt khác phải bảo vệ được tính đa dạng của các sinh vật khác, không gây ô nhiễm môi trường. Trên thế giới, vi nấm *Metarhizium* đã được sử dụng nhiều để phòng trừ côn trùng gây hại, trong đó có mối. Viện Khoa học Lâm nghiệp Việt Nam đã nghiên cứu thành công chế phẩm Dimez từ vi nấm *Metarhizium* để diệt mối nhà *Coptotermes formosanus* theo phương pháp lây nhiễm (Nguyễn Dương Khuê, 2004). Đây là tiền đề cơ sở để chúng tôi tiếp tục nghiên cứu sử dụng 3 chủng vi nấm này để diệt mối hại cây con lâm nghiệp. Tuy nhiên, mối hại cây lâm nghiệp có những đặc tính khác so với mối hại công trình kiến trúc nên việc phòng trừ cũng có những đặc thù riêng. Nhằm mục đích lựa chọn chủng nấm và môi trường nhân nuôi thích hợp có hiệu lực diệt mối cao, chúng tôi quan tâm đến một số tiêu chuẩn: môi trường để vi nấm có khả năng sinh trưởng, môi trường để vi nấm có khả năng sinh bào tử trần (BTT), sinh enzym ngoại bào tốt. Những tiêu chuẩn trên đã được chứng minh là có ảnh hưởng lớn đến

chất lượng của chế phẩm và ảnh hưởng lớn đến khả năng diệt côn trùng của *Metarhizium* (Tạ Kim Chinh, 1996; Tạ Kim Chinh *et al.*, 2001).

Có rất nhiều trường hợp khi có mặt trong môi trường nhiều nguồn C, N khác nhau, vi nấm sẽ phát triển mạnh hơn khi chỉ có riêng từng loại (Tạ Kim Chinh *et al.*, 2001). Bài báo trình bày kết quả về khả năng sinh trưởng, sinh enzyme ngoại bào, sinh BTT, hiệu lực diệt môi của 3 chủng vi nấm *Metarhizium* khi bổ sung các chất dinh dưỡng: casein, bột vỏ tôm, bột vỏ cua vào môi trường cơ sở.

## VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

### Vật liệu

+ Ba chủng vi nấm: *Metarhizium anisopliae* M1, *Metarhizium anisopliae* M2, *Metarhizium flavoviride* M5 do Phòng Bảo quản Lâm sản cung cấp.

+ Môi *Odontotermes angustinathus* được thu thập tại vườn ươm và rừng trồng, Trạm thực Nghiệm Cẩm Quỳ và Trạm Đá Chông, Ba Vì, Hà Nội.

### Phương pháp nghiên cứu

#### *Lựa chọn môi trường nhân nuôi nấm Metarhizium*

*Nghiên cứu khả năng sinh trưởng của 3 chủng Metarhizium trên các môi trường khác nhau*

Thí nghiệm sử dụng kỹ thuật cấy chấm điểm theo Pitt; Hocking, 2000, cụ thể như sau:

- Chuẩn bị dung dịch A: 0,2% agar + 0,05% Tween 80.
- Chuẩn bị dung dịch huyền phù bào tử nấm (dung dịch B): bào tử nấm được hòa vào 1ml nước cất vô trùng, lắc mạnh để các bào tử phân bố đều trong nước cất.
- Lấy 1ml dung dịch A cho vào ống nghiệm chứa dung dịch B, lắc đều cho đến khi dịch A và B trộn đều vào nhau ta được dung dịch C. Dùng pipet lấy 2 microlit dung dịch C đặt lên 1 điểm trên mặt thạch, chấm 3 điểm như vậy trên mặt thạch trong các đĩa petri chứa các môi trường khác nhau:

Môi trường 1 (MT1): Sabouraud

Môi trường 2 (MT2): Sabouraud bổ sung 0,5% kitin từ vỏ tôm

Môi trường 3 (MT3): Sabouraud bổ sung 0,5% kitin từ vỏ cua

Môi trường 4 (MT4): Sabouraud bổ sung 0,5% casein

Mỗi loại môi trường tiến hành với 10 đĩa Petri, thí nghiệm được lặp lại 3 lần. Đánh giá khả năng sinh trưởng theo 2 tiêu chí: đường kính khuẩn lạc và độ dày hệ sợi. Đo đường kính khuẩn lạc theo 2 chiều vuông góc. Kết quả thí nghiệm là trị số trung bình cộng của các giá trị. Độ dày hệ sợi được xác định theo phương pháp của Schwantes; Salttler, 1971.

#### *Nghiên cứu khả năng sinh bào tử trên các môi trường thạch khác nhau*

Chuẩn bị các đĩa Petri đường kính 100mm chứa 30ml môi trường, với 4 loại môi trường như trên, dùng pipet hút 0,1ml dung dịch C (đã trình bày ở trên) nhỏ vào mỗi đĩa petri, dùng que trang dàn đều. Giữ ở nhiệt độ 28 - 30°C trong 7 ngày. Sau khi nấm phủ kín bề mặt

thạch, lấy 1cm<sup>2</sup> từ các đĩa petri với các môi trường khác nhau cho vào bình tam giác chứa 100ml nước cất và 0,1ml Tween 80. Trộn đều dung dịch bào tử bằng máy lắc trong 5 phút. Dùng phương pháp pha loãng tới hạn, cấy và trang dung dịch bào tử trên môi trường dinh dưỡng, cất giữ trong tủ âm, sau đó lấy ra đếm số khuẩn lạc CFU (Colony Forming Unit). Mỗi loại môi trường tiến hành với 10 đĩa Petri, thí nghiệm được lặp lại 3 lần (Alves *et al*, 1980).

#### *Xác định hoạt tính enzyme ngoại bào bằng phương pháp khuếch tán trên môi trường thạch*

Dùng que cấy vô trùng lấy một vòng nấm sợi nghiên cứu vào bình tam giác chứa 30ml các môi trường lỏng khác nhau (MT1, MT2, MT3, MT4). Nuôi cấy trên máy lắc (160 vòng/phút) trong 3 ngày ở nhiệt độ 28<sup>0</sup>C. Lọc qua giấy lọc vô trùng. Loại bỏ sinh khối, thu dịch lọc. Dùng khoan nút chai đường kính 10mm, vô trùng khoan các lỗ thạch trên các môi trường cơ chất tương ứng trong các hộp petri. Dùng pipet vô trùng nhỏ 0,1ml dịch enzyme thô vào các lỗ khoan trên các môi trường thử hoạt tính tương ứng, giữ các đĩa petri trong tủ lạnh 4<sup>0</sup>C trong 6 - 8 giờ cho enzyme khuếch tán vào môi trường thạch, sau đó chuyển sang giữ trong tủ ấm 28 - 30<sup>0</sup>C trong 4 giờ.

Kiểm tra hoạt tính enzyme bằng thuốc thử tương ứng. Đánh giá khả năng sinh enzyme bằng cách đo đường kính vòng phân giải cơ chất. (William, 1983). Mỗi loại môi trường tiến hành với 10 đĩa Petri, thí nghiệm được lặp lại 3 lần.

#### *Phương pháp thử khả năng diệt môi Odontotermes angustinathus của các chủng Metarhizium.*

- Gây nhiễm bằng BTT theo phương pháp của Hänel: Cấy vi nấm vào môi trường thạch (MT2) trong đĩa Petri, sau khi nấm phát triển kín bề mặt thạch, thả 30 cá thể mồi vào mỗi đĩa Petri. Cứ 60 phút quay tròn đĩa 90<sup>0</sup> để các bào tử dính bám đều lên các cơ thể mồi. Sau 4 giờ gạt mồi sang đĩa Petri khác có bổ sung nước, giấy lọc (Hänel, 1981).
- Gây nhiễm bằng dịch nuôi cấy: Cấy chủng vi nấm vào môi trường dịch thể (MT2) trên máy lắc 200 vòng/phút trong 5 ngày ở nhiệt độ 28<sup>0</sup>C. Hút 1ml dịch sau khi nuôi lắc phun lên 30 cá thể mồi trong đĩa Petri chứa thạch vô trùng (Tạ Kim Chinh, 1996).
- Gây nhiễm bằng sinh khối nuôi cấy tĩnh: Cấy chủng vi nấm vào môi trường dịch thể (MT2), để tĩnh trong 5 ngày ở nhiệt độ 28<sup>0</sup>C, lấy 1 gam sinh khối gạt lên 30 cá thể mồi trong đĩa Petri chứa thạch vô trùng.

Đối chứng: chuẩn bị số lượng mồi đưa vào như trên và nuôi ở điều kiện bình thường (bổ sung nước, giấy lọc, không cấy vi nấm) hoặc phun nước cất. Mỗi cách nuôi cấy thử nghiệm với 10 đĩa Petri, thí nghiệm được lặp lại 3 lần.

## **KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN**

### **Lựa chọn môi trường nhân nuôi nấm *Metarhizium***

#### ***Nghiên cứu khả năng sinh trưởng của 3 chủng *Metarhizium* trên các môi trường khác nhau***

Sau 8 ngày nuôi cấy, đo đường kính khuẩn lạc từ đó tính tốc độ sinh trưởng và xác định độ dày hệ sợi của 3 chủng vi nấm trên 4 môi trường khác nhau. Kết quả về khả năng sinh trưởng của 3 chủng vi nấm được trình bày ở Bảng 1

**Bảng 1. Khả năng sinh trưởng của 3 chủng vi nấm *Metarhizium* M1, M2, M5 trên các môi trường khác nhau**

TT	MT	M1		M2		M5	
		Tốc độ sinh trưởng ( $\mu\text{m/h}$ )	Độ dày hệ sợi	Tốc độ sinh trưởng ( $\mu\text{m/h}$ )	Độ dày hệ sợi	Tốc độ sinh trưởng ( $\mu\text{m/h}$ )	Độ dày hệ sợi
1	MT1	188,2	1,0	241,2	2,0	251,0	2,1
2	MT2	<b>220,3</b>	<b>1,3</b>	<b>268,2</b>	<b>2,8</b>	<b>273,9</b>	<b>2,8</b>
3	MT3	209,4	1,2	258,9	2,5	255,7	2,5
4	MT4	200,5	1,1	237,5	2,2	290,1	3,0

Bảng 1 cho thấy: khi bổ sung thêm 0,5% bột vỏ tôm, bột vỏ cua, casein vào môi trường Sabouraud, 3 chủng vi nấm đều sinh trưởng tốt hơn so với môi trường cơ sở (môi trường Sabouraud). Các chủng nấm nghiên cứu sinh trưởng tốt nhất trong môi trường có bổ sung bột vỏ tôm. Điều này có thể giải thích bởi kitin là thành phần cấu tạo của thành tế bào nấm, do đó khi bổ sung kitin nấm sinh trưởng, phát triển mạnh hơn. Kitin là các polime sinh học chứa các N-acetyl- glucosamin liên kết với nhau bằng liên kết  $\beta$ -1,4-glucozit. Kitin cung cấp cả nguồn N và nguồn C, đó là thành phần dinh dưỡng phù hợp cho sự sinh trưởng của vi nấm *Metarhizium*. Giữa kitin từ vỏ tôm và vỏ cua thì *Metarhizium* đồng hóa vỏ tôm tốt hơn. Chủng M2 và M5 sinh trưởng tốt hơn M1. Điều này có thể được đặc trưng bởi sự đa dạng nhỏ trong hệ enzyme của chúng.

**Khả năng sinh BTT của 3 chủng vi nấm *Metarhizium* trên các môi trường khác nhau**

Để lựa chọn chủng giống cũng như môi trường để nhân nuôi nấm tạo chế phẩm diệt mối, khả năng sinh BTT đã được xác định vì đây là một chỉ tiêu ảnh hưởng đến chất lượng chế phẩm. Kết quả được trình bày ở Bảng 2.

**Bảng 2. Ảnh hưởng của các môi trường nuôi cấy đến khả năng hình thành bào tử trần của 3 chủng vi nấm *Metarhizium* M1, M2, M5**

Chủng nấm	Môi trường	Số lượng BTT (đơn vị tính CFU/ml)
M1	MT1	$3,5 \times 10^6$
	MT2	<b><math>4,3 \times 10^6</math></b>
	MT3	$3,8 \times 10^6$

	MT4	3,5 x10 <sup>6</sup>
<b>M2</b>	MT1	1,4 x10 <sup>6</sup>
	<b>MT2</b>	<b>2,1 x10<sup>6</sup></b>
	MT3	1,5 x10 <sup>6</sup>
	MT4	1,8 x10 <sup>6</sup>
<b>M5</b>	MT1	1,6 x10 <sup>6</sup>
	<b>MT2</b>	<b>2,4 x10<sup>6</sup></b>
	MT3	2,0 x10 <sup>6</sup>
	MT4	1,7 x10 <sup>6</sup>

Kết quả ở Bảng 2 cho thấy trên môi trường Sabouraud bổ sung 0,5% bột vỏ tôm, cả 3 chủng vi nấm đều cho lượng BTT nhiều nhất. Trong đó chủng M1 cho lượng BTT nhiều hơn chủng M2 và M5.

***Khả năng sinh một số enzyme ngoại bào của Metarhizium trên các môi trường khác nhau***

Ở các chủng vi nấm diệt côn trùng, các enzyme ngoại bào được sinh ra đóng vai trò quan trọng trong quá trình phân hủy da hay biểu bì côn trùng. Giai đoạn tiếp theo là quá trình phân giải protein của các mô côn trùng (Tạ Kim Chinh, 1996; Domsch et al., 1980). Chúng tôi đã khảo sát khả năng sinh các enzyme: kitinaza, proteaza, lipaza của 3 chủng *Metarhizium* M1, M2, M5, kết quả được trình bày ở Bảng 3.

***Bảng 3. Hoạt tính enzyme ngoại bào của 3 chủng vi nấm Metarhizium M1, M2, M5***

Chủng	Môi trường	Đường kính vòng phân giải (mm).		
		Kitinaza	Proteaza	Lipaza
M1	MT1	9,1	9,3	9,2
	<b>MT2</b>	<b>12,3</b>	10,7	<b>11,5</b>
	MT3	10,1	8,2	9,1
	MT4	8,9	9,5	9,8
M2	MT1	8,5	9,2	8,5
	<b>MT2</b>	10,2	<b>10,5</b>	9,5
	MT3	8,7	9,2	8,2
	MT4	8,8	9,2	8,9
M5	MT1	9,2	7,3	8,2
	MT2	10,4	8,1	9,6
	MT3	7,2	8,3	8,9
	MT4	9,5	7,5	8,3

Kết quả ở bảng 3 cho thấy: Trên môi trường Sabouraud bổ sung 0,5% bột vỏ tôm cả 3 chủng *Metarhizium* M1, M2, M5 đều sinh nhiều enzyme ngoại bào (kitinaza, proteaza, lipaza) hơn các môi trường khác. Chủng M1 đã sinh ra nhiều enzyme kitinaza, lipaza hơn chủng M2, M5; chủng M2 đã sinh nhiều enzyme proteaza hơn chủng M1, M5. Hoạt tính của các enzyme đã làm tăng tính gây bệnh ở mối của các chủng vi nấm *Metarhizium* M1, M2, M5. Hơn nữa, với hệ enzyme phong phú như vậy, các chủng này có thể tồn tại dễ dàng trong thiên nhiên. Tuy nhiên, enzyme nào đóng vai trò quan trọng thì cần có những nghiên cứu sâu hơn.

Từ các kết quả trên cho thấy, khi được nuôi cấy trên môi trường Sabouraud bổ sung 0,5% bột vỏ tôm, các chủng vi nấm *Metarhizium* M1, M2, M5 đều có khả năng sinh trưởng, sinh BTT, sinh enzym tốt nhất. Chúng tôi đã chọn môi trường này để nhân nuôi và theo dõi khả năng diệt mối *Odontotermes angustinathus* của 3 chủng vi nấm nghiên cứu.

### **Thử nghiệm khả năng diệt mối *Odontotermes angustinathus* của 3 chủng vi nấm *Metarhizium* M1, M2, M5 trong phòng thí nghiệm**

Bào tử, sinh khối và dịch nuôi cấy của 3 chủng vi nấm nghiên cứu thu được trên môi trường tối ưu (sabouraud bổ sung 0,5% bột vỏ tôm) được nhiễm bệnh trên mối. Kết quả thử hiệu lực diệt mối khi nhiễm bào tử trần, sinh khối và dịch nuôi cấy của 3 chủng vi nấm *Metarhizium* M1, M2, M5 được trình bày ở Bảng 4.

**Bảng 4. Tỷ lệ (%) môi chết khi nhiễm các yếu tố (YT) khác nhau của 3 chủng *Metarhizium* M1, M2, M5**

Chủng	Tỷ lệ (%) môi chết đối với 3 chủng <i>Metarhizium</i> M1, M2, M5																				
	M1							M2							M5						
Ngày YT	12h	24h	48h	72h	96h	120h	240h	12h	24h	48h	72h	96h	120h	240h	12h	24h	48h	72h	96h	120h	240h
MT2 (BTT)	32,0	37,5	58,0	75,0	87,5	100	-	23,1	28,5	42,7	53,1	65,4	100	-	18,7	27,8	37,5	42,3	56,3	56,3	100
MT2 (Dịch nuôi cây lắc)	61,5	69,2	73,1	76,9	87,5	100	-	46,2	50,0	53,8	61,5	78,3	100	-	38,5	46,2	53,8	57,7	65,4	67,6	100
MT2 (Sinh khôi nuôi tĩnh)	15,4	23,1	26,9	30,8	43,7	100	-	12,5	12,5	15,4	21,6	26,1	30,6	100	7,7	11,5	15,3	19,2	19,2	26,7	100
ĐC	0	0	0	5,1	5,1	7,7	7,7	0	0	0	5,1	5,1	7,7	7,7	0	0	0	5,1	5,1	7,7	7,7

Kết quả thể hiện ở Bảng 4 cho thấy: dịch nuôi cấy có hiệu lực diệt mối *Odontotermes angustinathus* cao hơn BTT và sinh khối nấm (đạt 75,0%; 53,1%; 42,3% mỗi chết sau 3 ngày tương ứng với chủng M1, M2, M5).

Mức độ gây bệnh khác nhau có thể giải thích bằng cơ chế gây bệnh của vi nấm trên côn trùng (Blasto; Oliveira, 1985), trong đó phải kể đến khả năng tiết ra enzyme ngoại bào phân giải vỏ côn trùng và các độc tố được sinh ra trong dịch nuôi cấy nấm. Kết quả nuôi cấy các chủng vi nấm trong những điều kiện khác nhau sẽ rất khác nhau. Bào tử trần thường được thu nhận khi nuôi cấy trên môi trường xốp hoặc môi trường thạch (Blasto; Oliveira, 1985). Khi nuôi cấy trong môi trường dịch có khuấy hoặc lắc thường cho sinh khối dạng sợi, đến một giai đoạn nhất định sẽ hình thành bào tử chồi (blastospore). Trong môi trường dịch, nếu nuôi cấy tĩnh sẽ cho sinh khối là những hệ sợi, đến một thời điểm nhất định (đối với các chủng vi nấm *Metarhizium* trong nghiên cứu của chúng tôi là 4 - 5 ngày), từ màng sợi, nơi tiếp xúc với không khí sẽ hình thành BTT. Các sản phẩm này đều có khả năng diệt côn trùng nhưng với những hiệu lực khác nhau. Tác nhân gây bệnh là hệ sợi chưa đủ thời gian để phát huy hiệu lực, do đó mỗi chết chậm hơn.

Bảng 4 cho thấy 3 chủng vi nấm có hiệu lực diệt mối *Odontotermes angustinathus*. Chủng M1 có hiệu lực cao nhất. Kết quả thu được có thể giải thích: trên môi trường tối ưu, các chủng vi nấm tạo ra nhiều bào tử, enzyme, độc tố có hiệu lực diệt mối. Điều này mở ra triển vọng, có thể làm tăng hiệu lực diệt mối của chế phẩm từ các chủng *Metarhizium* M1, M2, M5 bằng cách tìm điều kiện môi trường nuôi cấy để các chủng này tạo nhiều BTT/g chế phẩm, sinh nhiều enzyme, nhiều độc tố. Tuy nhiên, cần có nghiên cứu sâu hơn để xác định yếu tố nào có vai trò quyết định trong cơ chế diệt mối *Odontotermes angustinathus*: BTT, độc tố, enzyme...

## KẾT LUẬN

Đã xác định được môi trường hoạt hóa và nhân nuôi cho 3 chủng *Metarhizium* M1, M2, M5 là môi trường Sabouraud có bổ sung 0,5% bột vỏ tôm. Trên môi trường này, các chủng vi nấm đều sinh trưởng tốt, sinh nhiều enzym, BTT và có hiệu lực diệt mối *Odontotermes angustinathus* cao.

Cả 3 chủng đều có hiệu lực diệt mối *Odontotermes angustinathus* hại cây con lâm nghiệp, diệt bằng dịch nuôi cấy đạt kết quả cao hơn BTT và sinh khối nấm. Chủng *M.anisopliae* M1 có hiệu lực diệt mối *Odontotermes angustinathus* cao hơn chủng M2 và M5.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

Nguyễn Dương Khuê, 2004. Nghiên cứu sử dụng vi nấm *Metarhizium* Sorok. để diệt mối nhà (*Coptotermes formosanus* Shiraki) theo phương pháp lây nhiễm, *Luận văn thạc sỹ Khoa học Lâm nghiệp* 72tr.42-43, 51-53, 58, 64-65.

Tạ Kim Chinh, 1996. Tuyển chọn một số chủng vi nấm diệt côn trùng gây hại ở Việt Nam và khả năng ứng dụng, *Luận án PTS khoa học sinh học* tr.48, 71, 76-79, 89,100.

Tạ Kim Chinh, Hà Thị Quyên, Hoa Thị Minh Tú, 2001. Lựa chọn môi trường nhân nuôi và tạo chế phẩm diệt mối từ *Metarhizium anisopliae*. Hội thảo quốc tế sinh học, tập 2, tr. 77 - 81.

Alves S.B.; Forti L.C.; Cividanes F.J., 1980. Influence of light colour on some biological activities *Metarhizium anisopliae* (Metsch.)Sorok. An entomopathogenic fungus. *Revista Brasileira de Entomologia*, Vol. 24, pp. 123 - 125.

Blasto Cruz B.P., Oliveira D.A., 1985. Massal production of *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin spores in natural culture media of rice and macerated bean, *Biologico*, Vol.51 (7): 169 - 174

Charnley A.K., Leger R.J., 1997. The role of cuticle degrading enzymes in fungal pathogenesis in insects. In the fungal spore and disease initiation in plant and animals. Plenum Press 267 - 286.

Domsch K.H., Gams W., Traute - Heidi Anderson, 1980. *Compendium of Soil fungi*, Vol 1, pp. 413 - 415.

Hänel H., 1981. "A bioassay for measuring the Virulence of the insect pathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* (Metsch.)Sorok. against the termite *Nasutitermes exitiosus* (Hill) (Termitidae)", *Zeischrift fur Angewandte Entomologie*, N<sup>o</sup> 92, pp. 18.

Pit J.I. and Hocking, 2000. Fungi and food spoilage. *Second edition*. Blackie Academic and Professional Publisher, pp. 220 - 224.

William S., 1983. Staining reaction for detection of hemicellulose degrading. *Microbiol. Letters*. 20: 253-258.

## **SELECTION OF MEDIUM FOR CULTIVATION OF METARHIZIUM TO CONTROL ODONTOTERMES ANGUSTIGNATHUS TSAI ET CHEN ASSOCIATED WITH TREE SEEDLINGS**

**Bui Thi Thuy and Phan Lương Ngọc**

### **SUMMARY**

Three strains of *Metarhizium* M1, M2, M5 were cultivated in four cultures (Sabouraud, Sabouraud added powdery prawn exoskeleton, crab exoskeleton, casein) for testing mycelium growth, conidia formation and enzyme activities. The results indicate that Sabouraud medium added 0,5% powdery prawn exoskeleton is optimum medium. The conidia, living mass and crude supernatant of *Metarhizium* strains obtained from cultivations were used for the evaluation of antitermitic activity in laboratory. All strains are able to control *Odontotermes angustignathus* with conidia, crude supernatant and M1 strain is the best.

Key words: *Metarhizium*, *Odontotermes angustignathus*, medium