

TIỀM NĂNG KÝ SINH, GÂY BỆNH VÀ GÂY CHẾT SÂU CỦA TUYẾN TRÙNG *Oscheius tipulae* ĐƯỢC PHÂN LẬP TỪ ĐẤT RỪNG TRỒNG KEO TẠI TỈNH QUẢNG NAM

Lê Thọ Sơn^{1,*}, Bùi Thị Mai Hương¹, Nguyễn Thị Hồng Gấm¹

TÓM TẮT

Tuyến trùng ký sinh gây bệnh côn trùng (Entomopathogenic Nematode (EPN)) sống trong môi trường đất tự nhiên. Chúng có khả năng ký sinh gây bệnh, phát triển trong cơ thể sâu và giết chết sâu. Dựa vào tính chất đối kháng sinh học này, hai giống EPN (*Steinernema* và *Heterorhabditis*) được ứng dụng để tiêu diệt sâu hại cây trồng rộng rãi, tuy nhiên có những hạn chế trong hiệu quả tìm kiếm sâu hại cây trồng vì mỗi chủng không hoặc ít phù hợp với điều kiện đồng ruộng và sâu cần tiêu diệt. Trong nghiên cứu này, 90 mẫu đất đã được thu trực tiếp từ những khu rừng trồng Keo tại tỉnh Quảng Nam. Sử dụng những mẫu đất thu được, đã phân lập 19 chủng tuyến trùng và dựa vào DNA barcode phân loại được 11 chủng thuộc loài *Oscheius tipulae*. Thử nghiệm khả năng giết chết sâu gạo (*Zophobas morio*) và sâu sắn (*Galleria mellonella*) của chủng *O. tipulae* CFB237 cho thấy, chủng này có khả năng gây chết sâu gạo và sâu sắn trong khoảng thời gian 24 giờ, có nghĩa có tiềm năng làm một EPN. Vì vậy, *O. tipulae* CFB237 và 10 chủng tuyến trùng khác cần được nghiên cứu thêm để có thể phát triển như một công cụ hạn chế sâu hại cây trồng trong tương lai.

Từ khoá: DNA barcode, *Oscheius tipulae*, sâu gạo, sâu sắn, tuyến trùng ký sinh gây bệnh côn trùng.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Tuyến trùng ký sinh gây bệnh côn trùng (EPN) tồn tại trong đất. Trong chu trình phát triển vòng đời, ấu trùng EPN tìm kiếm và ký sinh gây bệnh ấu trùng côn trùng (sâu) nằm dưới mặt đất, chúng sinh trưởng, phát triển và sinh sản một thế hệ sau trong cơ thể sâu. Ấu trùng EPN mới sinh ra thoát ra khỏi xác sâu và tìm kiếm những con sâu mới trong đất để tiếp tục quay vòng chu kỳ sống. Trong quá trình ký sinh của EPN, vi khuẩn cộng sinh (*Photobacterium* và/hoặc *Xenorhabdus*) thoát ra khỏi EPN và phát triển thành dạng vi khuẩn gây độc đối với sâu, do vậy góp phần cơ bản giết chết sâu trong khoảng thời gian 24 giờ [1]. Trong môi trường đất, EPNs được định hướng dịch chuyển tới nơi có sâu qua sự nhận diện “chất tổn thương” do rễ cây tiết ra khi bị sâu tấn công [2]. Những EPN đã được tìm thấy chủ yếu thuộc về hai giống: *Steinernema* và *Heterorhabditis* ở trong đất canh tác cây trồng của nhiều nước ở châu Á, tiếp đến là châu Phi, Trung Mỹ và châu Âu [3]. Một số EPN thuộc về giống khác phân bố ở khu vực hẹp hơn như *Oscheius* (*O. carolinensis* và *O. onirica*) [4], [5],

Metarhabditis raina [6]. Từ thập niên 1990 con người đã bắt đầu ứng dụng EPN (*Steinernema* và *Heterorhabditis*) để tiêu diệt sâu gây hại cây trồng [7], [8]. Vì vậy EPN cũng được thương mại hoá rộng rãi ở nhiều nước phát triển. Theo một thống kê trong thập kỷ 20, trung bình lượng tiền sử dụng vào việc giảm thiểu sâu hại vụ mùa 1,064 tỷ USD/năm, trong đó EPN tăng tới 15.825 triệu USD [9]. Thách thức sinh thái của mỗi một chủng EPN có thể khác nhau vì vậy hiệu quả của EPN có thể đạt mức cao, thấp và không có hiệu quả nếu áp dụng EPN được phân lập từ khu vực không thích hợp hoặc sai đối tượng sâu cần tiêu diệt [10]. Vì vậy việc phân lập EPN là cần thiết để có thể đưa ra nhiều khả năng lựa chọn ứng dụng vào hạn chế sâu hại. Tại Việt Nam, một số chủng EPN thuộc hai giống *Steinernema* và *Heterorhabditis* đã được tìm thấy [11]. Tuy nhiên, chưa có nghiên cứu nào đề cập EPN là *Oscheius tipulae*.

Oscheius tipulae đã được phát hiện trong đất ở nhiều nơi trên thế giới, tuy nhiên, loài này cũng chưa được quan tâm như là một EPN [12] hoặc có vai trò “sinh vật ăn xác thối” [4], ngoại trừ 2 chủng *Oscheius tipulae* ở Brazil là EPN có khả năng ký sinh gây bệnh và giết chết sâu [6]. Trong khi đó, loài họ

¹ Trường Đại học Lâm nghiệp

* Email: sonlt@vnuf.edu.vn

hàng *O. chongmingensis* là một “tuyến trùng ăn xác thối” [13]. Điều này cho thấy khả năng làm một EPN là tính chất riêng của chủng (dưới loài) chứ không phải của giống (trên loài), ít nhất là ở *Oscheius*. Vì vậy nghiên cứu này tập trung trả lời 2 câu hỏi: Có thể phân lập *Oscheius tipulae* từ mẫu đất của Việt Nam không? và *Oscheius tipulae* đó có thể là EPN hay không?

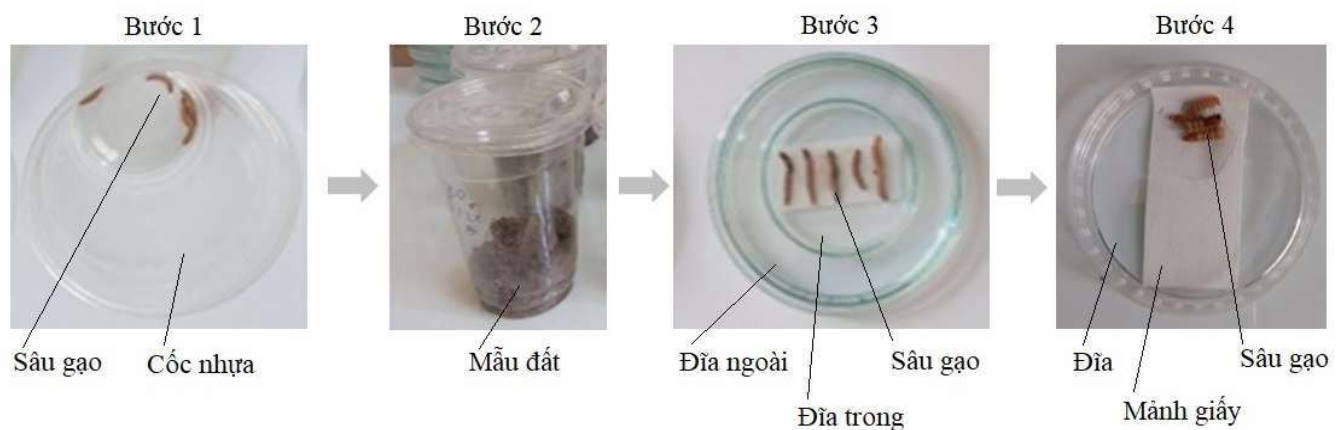
2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Thu thập mẫu đất

Tại mỗi địa điểm cụ thể ở những khu vực rừng trồng cây Keo lai và Keo lá tràm chưa khai thác có độ tuổi khoảng 3 đến 4 năm của huyện Nam Giang, huyện Phước Sơn, tỉnh Quảng Nam (15°33'25" B, 108°02'12" Đ), lấy 1 mẫu đất khoảng 300 mg ở tầng đất có độ sâu khoảng 10 - 15 cm (vào tháng 3 năm 2017). Mỗi mẫu đất đại diện cho một địa điểm của khu vực nhỏ của rừng trồng. Mẫu đất được cho vào túi nhựa riêng, giữ mẫu trong túi mát (khoảng 20 - 25°C) và đưa về phòng thí nghiệm tại Trường Đại học Lâm nghiệp trong 1 tuần.

Quá trình phân lập (thường gọi là “bẫy”) EPN được thực hiện theo quy trình có sự kết hợp với 2 quy

trình đã thành công [14] và có sự điều chỉnh. Phân lập được tóm tắt qua 4 bước sau: 1) Bỏ 5 sâu gạo sống khoẻ mạnh (superworm, *Zophobas morio*) [15] vào trong một hộp nhựa dung tích 500 mL; 2) Đất được bóp vụn, trộn đều và đổ tới 1/2 hộp. Phun nước đã được khử trùng lên trên mặt đất trong hộp đến độ vừa đủ độ ẩm (có nước đọng chút ít ở thành đáy hộp), đậy nắp hộp và đặt hộp mẫu vào nơi bóng tối 5 ngày; 3) Những mẫu sâu chết được gấp ra và sau đó có thể bổ sung thêm 5 con sâu sống khác cho lần bẫy tiếp theo phòng khi lần bẫy đầu tiên không thành công. Các sâu chết được ủ trên mảnh giấy lọc (2 x 4 cm) trong 1 đĩa petri nhỏ (6 cm), tất cả đĩa nhỏ đặt trong một đĩa petri lớn (10 cm), bổ sung 2 mL nước được khử trùng vào đĩa lớn và đậy nắp lại. Cặp đĩa này được ủ ở nhiệt độ phòng 25°C. Sau 5 - 7 ngày, tuyến trùng EPN sinh một số lượng lớn thể hệ sau ở giai đoạn ấu trùng và chúng bò ra đĩa lớn; 4) Dùng pipett hút chuyển 1 mL dung dịch có chứa tuyến trùng EPN ở đĩa petri lớn sang một đĩa nuôi có sâu gạo chết đặt trên mảnh giấy lọc, đậy nắp đĩa và ủ đĩa ở 25°C trong khoảng 3 tới 7 ngày, EPN có thể sinh ra thể hệ tuyến trùng tiếp theo (Hình 1).



Hình 1. Các bước phân lập EPN

2.2. Tách chủng tuyến trùng

Tuyến trùng thu nhận được từ xác côn trùng có thể là hỗn hợp của một hoặc nhiều loài tuyến trùng khác nhau. Chuẩn bị đĩa agar 5,5%, dùng pipet hút những tuyến trùng trưởng thành đang mang trứng và nhỏ lên bề mặt đĩa agar. Để yên 3 - 5 phút, tuyến trùng di chuyển tách rời nhau khắp bề mặt đĩa agar. Tiếp tục thao tác dưới kính hiển vi (40X), sử dụng que gắp nhỏ để nhặt 1 cá thể tuyến trùng trưởng thành bỏ vào đĩa có 1/2 con sâu gạo. Sau 5 - 7 ngày nuôi ở nhiệt độ phòng (25°C), nó sẽ phát triển thành chủng EPN riêng biệt độc lập.

2.3. Thí nghiệm gây chết sâu

Thí nghiệm được thực hiện dựa vào quy trình phổ biến [15] có sự điều chỉnh: trong mỗi lần thí nghiệm thiết lập 3 loại đĩa petri (10 cm) có đặt sẵn giấy lọc. Đĩa đối chứng khô: 1 con sâu sáp là ấu trùng Bướm sáp (*Galleria mellonella*) và 1 con sâu gạo được để chung vào đĩa. Đĩa đối chứng + nước: giống với đĩa đối chứng khô nhưng có bổ sung 1 mL nước. Đĩa thứ 3 giống với đĩa đối chứng khô nhưng được bổ sung 1 mL EPN. Tất cả 3 loại đĩa được đậy nắp và ủ ở nhiệt độ phòng 25°C. Sau 24 giờ, quan sát tình trạng sống và chết của sâu trong mỗi đĩa. Xác sâu chết ở

đĩa thí nghiệm được gấp ra và rửa sạch, đặt trên giấy lọc trong một đĩa petri khác và bổ sung 1 mL nước. Ủ sâu chết ở nhiệt độ phòng trong khoảng 5 - 7 ngày để quan sát khả năng có và không có sự xuất hiện của tuyến trùng trong nước trong đĩa. Thí nghiệm được lặp lại 2 lần đối với dòng *O. tipulae* CFB237.

2.4. Chuẩn bị dung dịch chứa mẫu DNA của tuyến trùng và phản ứng PCR

20 µl dung dịch lysis buffer có bổ sung Proteinase K, tiếp đến, 1 đến 3 cá thể tuyến trùng/chủng được gấp chuyển vào 1 ống PCR 200 µl. Ống PCR được làm lạnh trong nitơ lỏng trong 10 phút, sau đó ủ mẫu ở 60°C trong 1 giờ và ở 95°C trong 10 phút trên máy PCR. 2 cặp mồi được sử dụng FwD2A (5'-CAAGTACCGTGAGGGAAAGTTG-3') và FwD3B (5'-TCGGAAGGAACCAGCTACTA-3'), khuếch đại trình tự 28S rDNA [5]

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Phân lập và phân loại tuyến trùng từ đất rừng trồng cây Keo

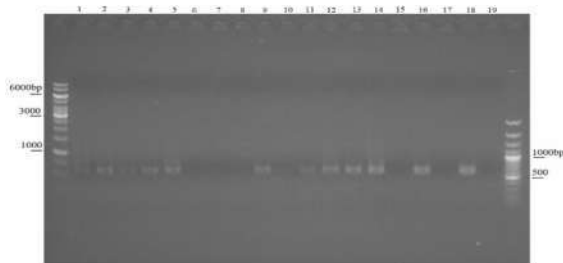
Trong chuỗi thí nghiệm này, 19 trong số 90 túi mẫu đất có pH 4,5 đã được dùng để phân lập tuyến trùng EPN. Đã thu được 19 chủng tuyến trùng từ 19 mẫu đất và không thu được chủng nào khác từ 71 túi mẫu đất còn lại vì tuyến trùng không thể phát triển thành chủng riêng biệt trong điều kiện thí nghiệm hoặc không thấy xuất hiện bất kỳ tuyến trùng nào.

Để xác định được thành phần loài dựa vào DNA barcode cho mỗi một chủng thu được, kỹ thuật PCR có sử dụng những cặp mồi chuyên biệt cho tuyến trùng nói chung và tuyến trùng EPN được áp dụng. Bảy chủng tuyến trùng không xác định được thành phần loài vì sản phẩm PCR không đạt chất lượng (mẫu số 6, 7, 8, 10, 15, 17 và 19; hình 2) và không đề cập trong phần còn lại của nghiên cứu. Tuy nhiên, có thể chúng là những chủng có tính chất của EPN và cần có nghiên cứu sâu hơn. 11 chủng có sản phẩm PCR tốt (mẫu số 1 - 5, 9, 11 - 14, 16 và 18; hình 2).

Bảng 1. Sự so sánh mức độ đồng dạng trình tự 28S rDNA giữa 11 chủng EPN dựa vào NCBI

Chủng tuyến trùng	Loài	Độ dài trình tự 28S rDNA (nucleotide)	Độ dài so sánh (%)	Độ tương đồng (%)	Chỉ số E	Mã số NCBI*
CFB236	<i>Oscheius tipulae</i>	603	99	98,67	0,0	ON256408
CFB237	-	607	99	97,01	0,0	ON256415
CFB238	-	602	98	98,66	0,0	ON256413
CFB239	-	602	99	98,67	0,0	ON256410
CFB240	-	604	98	98,50	0,0	ON256406
CFB241	-	609	98	97,01	0,0	ON256412
CFB242	-	604	98	98,83	0,0	ON256416
CFB243	-	602	99	98,50	0,0	ON256411
CFB244	-	600	99	98,49	0,0	ON256414
CFB245	-	605	98	98,83	0,0	ON256407
CFB246	-	605	98	98,83	0,0	ON256409

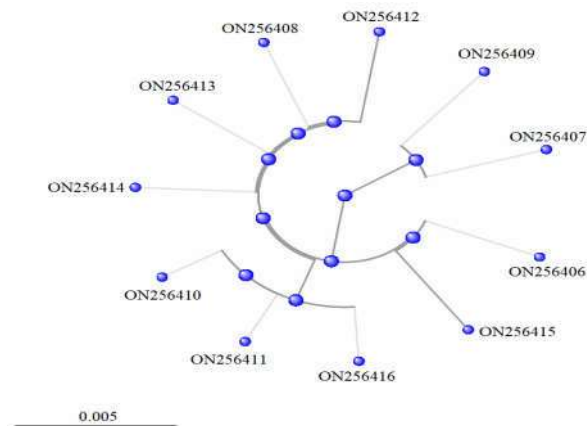
Ghi chú: Dấu “-” loài *Oscheius tipulae*. * National Center for Biology Information.



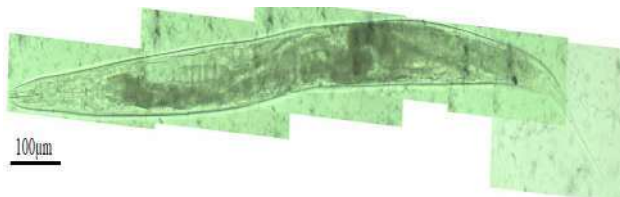
Hình 2. Sản phẩm PCR với cặp mồi D2A và D3B

(Dãy số từ 1 đến 19 là số thứ tự của chủng tuyến trùng)

Phân tích trình tự DNA của sản phẩm PCR sử dụng cặp mồi A2D và D3B cho thấy 11 chủng tuyến trùng đều thuộc loài *Oscheius tipulae*. 11 chủng *O. tipulae* có độ tương đồng trình tự DNA của 28S rDNA là 97,01% cho tới 98,83% (Hình 3 và bảng 1). Kích thước và đặc điểm hình thái được quan sát sơ bộ cho thấy 11 chủng này không có gì khác biệt đáng kể (Hình 4). Vì vậy, 11 chủng này rất gần gũi nhau, có thể chỉ là một hoặc vài chủng được phổ biến rộng rãi trong khu vực lấy mẫu.



Hình 3. Quan hệ phát sinh chủng loại dựa vào khác biệt nucleotide của trình tự 28S rDNA



Hình 4. Cá thể tuyến trùng *O. tipulae* CFBb237 trưởng thành ngày thứ nhất

3.2. Khả năng gây chết sâu sếp và sâu gạo của tuyến trùng *O. tipulae*

Hai thí nghiệm gây chết sâu đã được thực hiện để tìm hiểu khả năng gây chết sâu của tuyến trùng *O. tipulae* CFB237. Cả hai loài sâu (sâu gạo và sâu sếp) có thể chết trong vòng 24 giờ khi bắt gặp tuyến trùng *O. tipulae*. Thế hệ tuyến trùng sau xuất hiện từ xác sâu chết trong khoảng thời gian 3 đến 6 ngày.

Kết quả nghiên cứu cho thấy, chủng *O. tipulae* CFB237 có khả năng tiêu diệt sâu, tức là có tính chất của EPN. Đây có thể là chủng EPN mới thuộc loài *O. tipulae* được phát hiện ở Việt Nam. Trước đây 2 chủng cùng loài *O. tipulae* ở Brazil cũng đã được chứng minh là một EPN [5]. Vì vậy những kết quả nghiên cứu này cho thấy ít nhất có 3 chủng *O. tipulae* có tính chất EPN.

10 chủng còn lại trong nghiên cứu này được phân lập trong cùng điều kiện tự nhiên và đều gần gũi (độ tương đồng trình tự 28S rDNA > 97,01%) với *O. tipulae* CFB237. Vì vậy, có thể chúng cũng có tiềm năng là EPN.

Bảng 2. Khả năng gây chết sâu sếp và sâu gạo của tuyến trùng *O. tipulae* CFB237

Thí nghiệm và đối chứng	Sâu thử nghiệm	24 giờ sau bổ sung EPNs	Thời gian xuất hiện EPNs sau chết từ xác sâu
Thí nghiệm lần 1			
Đĩa thí nghiệm (n=1)*	Sâu gạo	Chết	6 ngày
	Sâu sếp	Chết	6 ngày
Đối chứng + nước [#] (n=1)	Sâu gạo	Sống	Bỏ qua
	Sâu sếp	Sống	Bỏ qua
Đối chứng khô [§] (n=1)	Sâu gạo	Sống	Bỏ qua
	Sâu sếp	Sống	Bỏ qua
Thí nghiệm lần 2			
Đĩa thí nghiệm (n=1)*	Sâu gạo	Chết	3 ngày
	Sâu sếp	Chết	3 ngày
Đối chứng + nước [#] (n=1)	Sâu gạo	Chết	Bỏ qua
	Sâu sếp	Sống	Bỏ qua
Đối chứng khô [§] (n=1)	Sâu gạo	Sống	Bỏ qua
	Sâu sếp	Sống	Bỏ qua

Ghi chú: *n là số đĩa thí nghiệm. [#] 1 sâu gạo và 1 sâu sếp được để chung với nhau trong 1 đĩa và được bổ sung 1 mL nước vô trùng. [§] 1 sâu gạo và 1 sâu sếp được để chung trong 1 đĩa khô.

Lưu trữ lạnh sâu

Lưu trữ chủng EPN là một trong những việc quan trọng và không dễ đối với EPN. Tất cả 11 chủng *O. tipulae* ở giai đoạn L1/L2 sau 42 ngày trong ống trữ mẫu (1,5 mL dung dịch 2,25% (v/v) glycerol) ở -20°C có thể sống 40% đến 50%, tuy nhiên khoảng 99% chết khi tích trữ trong 4,5% glycerol.

Lưu trữ mẫu EPN là một việc bắt buộc để có thể sử dụng làm nhân nhanh bất cứ thời gian nào. Đối với những loài thuộc giống *Steinernema* và *Heterorhabditis* thì có thể nuôi ở điều kiện nhiệt độ > 0°C đến 23°C bằng cách cấy chuyển theo định kỳ hàng tháng [16]. Chúng cũng có thể lưu trữ siêu lạnh nhưng khả năng 100% cá thể bị chết có thể xảy ra sau

khoảng thời gian hàng năm lưu trữ [17]. Sử dụng phương pháp phức tạp hơn là tạo hạt "Calcium alginate" cho *Steinernema* có thể duy trì EPN này lâu hơn (6 tháng) [18]. Tất cả những phương pháp này đều yêu cầu sự tái nuôi cấy theo định kỳ từ hàng tháng. EPN lưu trong nitơ lỏng (-196°C) có thể kéo dài một số năm (> 3 năm) là an toàn hơn [19]. Trong nghiên cứu này, 11 chủng *O. tipulae* trong dung dịch 2,25% glycerol cũng đã lưu trữ thành công trong tủ lạnh sâu (-20°C). Có thể môi trường và điều kiện lưu trữ cần phải được thử nghiệm ở những điều kiện khác, ví dụ trong nitơ lỏng, để đạt được thời gian lưu trữ dài hơn.

4. KẾT LUẬN

90 mẫu đất đã được lấy tại 90 vị trí khác nhau của tỉnh Quảng Nam, phân lập và nuôi cấy duy trì được 19 chủng được phân lập theo quy trình phân lập EPN 19 mẫu đất riêng biệt. 11 chủng được xác định là *O. tipulae*, chúng có thể sống 42 ngày với tỷ lệ sống khoảng 40% đến 50% ở nhiệt độ -20°C. Chủng *O. tipulae* CFB237 có khả năng tiêu diệt sâu trong vòng 24 giờ vì vậy nó có tiềm năng làm EPN hiệu quả.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được tài trợ bởi Quỹ Phát triển Khoa học công nghệ Quốc gia (NAFOSTED) trong đề tài mã số 106.06/2019.27 cho TS. Lê Thọ Sơn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Dillman, A. R., Sternberg, P. W. (2012). Entomopathogenic nematodes. *Curr Biol* 22 (11): p. R430-1.
2. Bhat, A. H., Chaubey, A. K., Askary, T. H. (2020). Global distribution of entomopathogenic nematodes, *Steinernema* and *Heterorhabditis*. *Egyptian Journal of Biologic* 2020 (30: 31).
3. Blanco-Perez, R., Bueno-Pallero, F. A., Neto, L., Campos-Herrera, R. (2017). Reproductive efficiency of entomopathogenic nematodes as scavengers. Are they able to fight for insect's cadavers? *J Invertebr Pathol* 148: p. 1-9.
4. Andrea Torres-Barragan, Alonso Suazo, Wayne G. Buhler, Cardoza, Y. J. (2011). Studies on the entomopathogenicity and bacterial associates of the nematode *Oscheius carolinensis*. *Biological Control* 59 (2011): p. 6.
5. de Brida, A. L., Rosa, J. M., Oliveira, C. M., Castro, B. M., Serrao, J. E., Zanuncio, J. C., Leite, L.

G., Wilcken, S. R. (2017). Entomopathogenic nematodes in agricultural areas in Brazil. *Sci Rep* 7: p. 45254.

6. Zhang, X., Li, L., Kesner, L., Robert, C. A. M. (2021). Chemical host-seeking cues of entomopathogenic nematodes. *Curr Opin Insect Sci* 44: p. 72 - 81.

7. Chang, D. Z., Serra, L., Lu, D., Mortazavi, A., Dillman, A. R. (2019). A core set of venom proteins is released by entomopathogenic nematodes in the genus *Steinernema*. *PLoS Pathog* 15 (5): p. e1007626.

8. Koppenhofer, A. M., Shapiro-Ilan, D. I., Hiltbold, I. (2020). Entomopathogenic nematodes in sustainable food production. *Frontiers in sustainable food systems* 4 (Article 125).

9. Lacey, L. A., Georgis, R. (2012). Entomopathogenic nematodes for control of insect pests above and below ground with comments on commercial production. *J Nematol* 44 (2): p. 218-25.

10. Hiltbold, I., Baroni, M., Toepfer, S., Kuhlmann, U., Turlings, T. C. (2010). Selection of entomopathogenic nematodes for enhanced responsiveness to a volatile root signal helps to control a major root pest. *J Exp Biol* 213 (Pt 14): p. 2417-23.

11. K.L. Phan, L. T., M. Moens. (2005). Pathogenic potential of six isolates of entomopathogenic nematodes (Rhabditida: Steinernematidae) from Vietnam. *BioControl*.

12. Nishikori, K., Setiamarga, D. H. E., Tanji, T., Kuroda, E., Shiraishi, H., Ohashi-Kobayashi, A. (2018). A new microsporidium *Percutemincola morioka* gen. nov., sp. nov. from *Oscheius tipulae*: A novel model of microsporidia-nematode associations. *Parasitology* 145 (14): p. 1853-1864.

13. Zhang, K., Baiocchi, T., Lu, D., Chang, D. Z., Dillman, A. R. (2019). Differentiating between scavengers and entomopathogenic nematodes: Which is *Oscheius chongmingensis*? *J Invertebr Pathol* 167: p. 107245.

14. Selcuk Hazir, H. K. K., S. Patricia Stock, Nevin Keskin. (2003). Entomopathogenic Nematodes (*Steinernematidae* and *Heterorhabditidae*) for Biological Control of Soil Pests. *Turk J Biol* 27 (2003): p. 22.

15. Alonso, V., Nasrolahi, S., Dillman, A. R. (2018). Host-Specific Activation of Entomopathogenic Nematode Infective Juveniles. *Insects* 9 (2).
16. Grewal, P. S. (2000). Anhydrobiotic potential and long-term storage of entomopathogenic nematodes (Rhabditida: Steinernematidae). *Int J Parasitol* 30 (9): p. 995-1000.
17. Lewis, E. E., Shapiro-Ilan, D. I. (2002). Host cadavers protect entomopathogenic nematodes during freezing. *J Invertebr Pathol* 81 (1): p. 25-32.
18. Songbi Chen, I. G. (2005). A novel method for long-term storage of the entomopathogenic nematode *Steinernema feltiae* at room temperature. *Biological Control*.
19. Curran, J., Gilbert, C., Butler, K. (1992). Routine Cryopreservation of Isolates of *Steinernema* and *Heterorhabditis* spp. *J Nematol* 24 (2): p. 269-70.

POTENTIAL ENTOMOPATHOGENICITY OF NEMATODE *Oscheius tipulae* ISOLATED FROM SOIL IN THE ACACIA PLANTATIONS IN QUANG NAM PROVINCE

Le Tho Son, Bui Thi Mai Huong, Nguyen Thi Hong Gam

Summary

Entomopathogenic nematodes (EPNs) are insect parasites and survive in soil. They are parasitic to pests, develop in, and kill them. As known for the biological completion against pests, two EPN genera (*Steinernema* and *Heterorhabditis*) have been used to protect crops and plants from the soil pests. However, the results are not always as expected. One of the failures is that EPNs implemented could not develop in unfavorable field conditions and find low-specific target pests. Therefore, it is required to find more EPNs as possible and the appropriate implementations for them. In this research, we sampled the soils from 90 sites within the Acacia woods in Quang Nam province. We used the soils to isolate 19 EPN strains and 11 of them were determined as *Oscheius tipulae* with the nematode DNA barcode. We conducted virulence assays for one *O. tipulae* strain and found that it could kill superworms (*Zophobas morio*) and waxworms (*Galleria mellonella*) within 24 hours, suggesting the tested *O. tipulae* may be an EPN. *O. tipulae* CFB237 and the other 10 *O. tipulae* strains need to study more to confirm them as EPNs for protecting crops and plants in the future.

Keywords: *DNA barcode, entomopathogenic nematode, Oscheius tipulae, superworm, waxworm.*

Người phản biện: TS. Đào Ngọc Quang

Ngày nhận bài: 15/4/2022

Ngày thông qua phản biện: 16/5/2022

Ngày duyệt đăng: 23/5/2022