



DOI: <https://doi.org/10.52714/dthu.14.04S.2025.1537>

PHÂN LẬP VI KHUẨN CÓ KHẢ NĂNG GÂY ĐỘC CHO RUỒI GIẤM *Drosophila melanogaster*

Trần Thúy Quỳnh¹, Võ Phát Tài², La Thị Kim Tú², Nguyễn Tường Quyên³,
Võ Đức Thái⁴ và Trần Thanh Mến^{2*}

¹*Viện Công nghệ Sinh học và Thực phẩm, Trường Đại học Cần Thơ, Việt Nam*

²*Khoa Khoa học Tự nhiên, Trường Đại học Cần Thơ, Việt Nam*

³*Trường THPT Vĩnh Kim, huyện Châu Thành, tỉnh Tiền Giang, Việt Nam*

⁴*Trung tâm Thông tin và Ứng dụng Khoa học Công nghệ – Hậu Giang, Việt Nam*

*Tác giả liên hệ, Email: ttmen@ctu.edu.vn

Lịch sử bài báo

Ngày nhận: 01/3/2025; Ngày nhận chỉnh sửa: 12/4/2025; Ngày duyệt đăng: 16/4/2025

Tóm tắt

Xu hướng phát triển nền nông nghiệp sạch và xanh là mục tiêu của xây dựng nền nông nghiệp bền vững trên toàn cầu. Việc tìm ra các vật liệu kháng côn trùng an toàn mới, đồng thời phòng ngừa vấn đề kháng thuốc trên sâu bệnh ngày càng được quan tâm. Từ các mẫu đất vườn và mẫu côn trùng thu được tại hai tỉnh Vĩnh Long và Hậu Giang đã phân lập được 55 dòng vi khuẩn có khả năng tăng trưởng trong môi trường LB, trong đó có 31 dòng vi khuẩn Gram dương và 24 dòng vi khuẩn Gram âm. Kết quả khảo sát khả năng gây độc của các dòng vi khuẩn phân lập cho thấy dịch ly tâm của hai dòng vi khuẩn I3 và I4 cùng với tế bào của hai dòng vi khuẩn MT1 và MT2 có khả năng diệt côn trùng hiệu quả. Bên cạnh đó, dịch ly tâm của vi khuẩn I4, tế bào vi khuẩn MT2, cũng như khi kết hợp cả 2 nguồn vật liệu được chứng minh khả năng diệt côn trùng hiệu quả sau 7 ngày khảo sát. Thời gian nuôi cấy và pH môi trường nuôi cấy cũng ảnh hưởng đến sự gia tăng mật số vi khuẩn, trong đó vi khuẩn I4 có mật độ quang tăng dần từ pH5 đến pH7, trong khi vi khuẩn MT2 có mật số giảm dần. Cả hai dòng vi khuẩn có sinh khối hình thành cao nhất ở thời điểm 48 giờ nuôi cấy. Dựa vào kết quả giải trình tự 16S-rRNA và đặc điểm sinh hóa, hai dòng vi khuẩn MT2 và I4 có độ tương đồng cao nhất với lần lượt hai loài *Bacillus subtilis* và *Proteus mirabilis* và được định danh là *Bacillus* sp. MT2 và *Proteus* sp. I4.

Từ khóa: *Bacillus* sp. MT2, gây độc, *Proteus* sp. I4, vi khuẩn.

Trích dẫn: Trần, T. Q., Võ, P. T., La, T. K. T., Nguyễn, T. Q., Võ, Đ. T., & Trần, T. M. (2025). Phân lập vi khuẩn có khả năng gây độc cho ruồi giấm *Drosophila melanogaster*. *Tạp chí Khoa học Đại học Đồng Tháp*, 14(04S), 13-26. <https://doi.org/10.52714/dthu.14.04S.2025.1537>

Copyright © 2025 The author(s). This work is licensed under a CC BY-NC 4.0 License.

**ISOLATION OF TOXIC BACTERIA
FOR THE *Drosophila melanogaster* FRUIT FLY MODEL**

**Tran Thuy Quynh¹, Vo Phat Tai², La Thi Kim Tu², Nguyen Tuong Quyen³,
Vo Duc Thai⁴, and Tran Thanh Men^{2*}**

¹*Institute of Biotechnology and Food Technology, Can Tho University, Vietnam*

²*College of Natural Sciences, Can Tho University, Vietnam*

³*Vinh Kim High School, Chau Thanh district, Tien Giang province, Vietnam*

⁴*Center for Information and Application of Science and Technology - Hau Giang province, Vietnam*

**Corresponding author, Email: ttmen@ctu.edu.vn*

Article history

Received: 01/3/2025; Received in revised form: 12/4/2025; Accepted: 16/4/2025

Abstract

*The development of clean and green agriculture, aimed at promoting sustainable farming worldwide, increasingly focuses on finding new, safe insect-resistant materials. This is particularly important, given the growing concerns about pest resistance to pesticides more prevalent due to climate change and natural selection from native bacterial strains. In a study conducted in Vinh Long and Hau Giang provinces, 55 bacterial strains were isolated from garden soil and insect samples, all capable of thriving in LB (Luria-Bertani) medium. The collection included 31 Gram-positive bacteria and 24 Gram-negative bacteria. Toxicity tests revealed that the spent media of two bacterial strains, I3 and I4, along with the cells of two others, MT1 and MT2, demonstrated effective insecticidal properties. Moreover, the spent media of I4, the bacterial cells of MT2, and a combination of both sources were found to kill insect effectively after a 7-day period. Additionally, bacterial growth was influenced by incubation time and pH levels, with I4 showing a steady increase in optical density from pH5 to pH7, while MT2 showed a decrease in growth. Both strains exhibited the highest biomass after 48 hours of incubation. Based on 16S-rRNA sequencing and biochemical analysis, the bacterial strains MT2 and I4 were identified as *Bacillus subtilis* and *Proteus mirabilis*, respectively, and named *Bacillus sp. MT2* and *Proteus sp. I4*.*

Keywords: *Bacteria, Bacillus sp. MT2, Proteus sp. I4, toxicity.*

1. Giới thiệu

Nông nghiệp đóng góp một phần không nhỏ cho kinh tế và sự phát triển của nước ta. Sự phát triển nông nghiệp kéo theo việc sử dụng lượng lớn thuốc bảo vệ thực vật. Dư lượng thuốc bảo vệ thực vật có thể ảnh hưởng đến các hoạt động của con người, gây ảnh hưởng đến hệ sinh thái và môi trường. Bên cạnh các thuốc bảo vệ thực vật hóa học, các chế phẩm sinh học bảo vệ thực vật, bao gồm các chế phẩm trừ sâu sinh học, chủ yếu có bản chất vi sinh vật (VSV) được cho là tiềm năng ứng dụng do hoạt tính đối kháng đa dạng và tính an toàn của vi sinh vật.

Những nghiên cứu sản xuất các chế phẩm vi sinh vật trừ sâu hại cây trồng theo quy trình lên men ở Việt Nam được tiến hành từ những năm 90 của thế kỷ XX (Phạm, 2011). Một số chế phẩm đã được phát triển, thử nghiệm và đã đạt những kết quả đáng ghi nhận như chế phẩm *Bt*, chế phẩm virus NPV.Ha và NPV.SI để phòng trừ các loại sâu hại rau (Nguyễn, 2006), các chế phẩm nấm *Metarhizium anisopliae* trừ châu chấu hại ngô, mía và trừ bọ cánh cứng hại dừa ở các tỉnh Đồng bằng sông Cửu Long, Hà Nội, Hải Phòng, v.v., hay nấm *Beauveria bassiana* trừ sâu róm hại rừng thông ở Sơn La, Thanh Hóa, Nghệ An, Hà Tĩnh,... (Phạm, 2011). Tuy nhiên, các chế phẩm nói trên đa số đều dựa trên hoạt tính của các đơn chủng vi sinh vật nên phổ tác dụng còn hẹp (Phạm & Vũ, 2007). Chính vì vậy, đề tài được thực hiện với mục tiêu tìm ra các dòng vi khuẩn bản địa có khả năng gây độc đối với ruồi giấm, đồng thời sử dụng phối hợp các dòng vi khuẩn nhằm gia tăng hiệu quả diệt côn trùng, làm tiền đề cho các nghiên cứu ứng dụng hỗn hợp vi sinh vật bản địa trong sản xuất chế phẩm sinh học diệt côn trùng.

2. Phương pháp nghiên cứu

2.1 Thu mẫu

Mẫu đất tại các nhà vườn được thu thập bằng cách dùng dụng cụ lấy mẫu gạt bỏ lớp đất mặt, đào sâu và lấy phần đất cách lớp mặt 5–10 cm thu khoảng 0,5 kg. Mẫu đất và xác côn trùng trên mặt đất tại các vườn trái cây được đựng trong túi nhựa polyetylene tiệt trùng. Mẫu đất được thu thập được chuyển về phòng thí nghiệm Sinh học Phân tử và Tế bào để bảo quản ở 4°C đến khi phân tích.

2.2. Phân lập vi khuẩn

Phân lập vi khuẩn theo phương pháp của Afriani & cs. (2018). Thí nghiệm phân lập được thực hiện như sau: 5 g mẫu đất được hòa tan trong 50 mL nước cất khử trùng. Loại bỏ tế bào sinh dưỡng và các vi sinh vật khác bằng cách tiến hành gia nhiệt trong bể ồ nhiệt ở 80°C trong 10 phút. Dịch mẫu nuôi cấy trong môi trường LB trong 24 giờ ở nhiệt độ phòng được trải trên môi trường thạch LB, mẫu sau đó được ủ ở 32°C. Sau 24 giờ, chọn những khuẩn lạc rời rạc khác nhau về hình dạng, màu sắc và kích thước để phân lập ròng trên môi trường LB. Các dòng vi khuẩn ròng được mô tả đặc điểm khuẩn lạc sau 24 giờ nuôi cấy trên môi trường LB, đặc điểm tế bào được mô tả trên kính hiển vi sau khi nhuộm Gram.

2.3. Khảo sát khả năng gây độc của vi khuẩn phân lập trên mô hình ruồi giấm

Ruồi giấm được nuôi giữ bằng thức ăn tiêu chuẩn theo hướng dẫn của trung tâm ruồi giấm Bloomington (Mỹ). Thành phần dinh dưỡng trong 1 L thức ăn tiêu chuẩn để nuôi giữ ruồi gồm có: agar (8 g), saccharose (100 g), nấm men khô (40 g), bột bắp (50 g), propionic acid (5 mL) và sodium benzoate (1 g). Thức ăn được đun sôi và cho vào các lọ thủy tinh có kích thước 10×4 cm, mỗi lọ 20 mL. Ruồi giấm được nuôi giữ với số lượng 30 ruồi cho mỗi lọ và đặt trong điều kiện nhiệt độ 25°C để ruồi sinh sản và phát triển.

Các dòng vi khuẩn ròng được nuôi trong môi trường LB, ủ ở 30°C sau 7 ngày (Huang & cs., 2018). Sau đó, thu dịch vi khuẩn và ly tâm ở 4°C trong 10 phút (lặp lại 2 lần), thu giữa

phần nổi phía trên và các tế bào lắng phía dưới riêng biệt. Thí nghiệm gây độc trên ruồi giấm của dịch ly tâm và tế bào lắng của vi khuẩn được tiến hành trong điều kiện 25°C, 30 ấu trùng ruồi giấm giai đoạn 3 được chọn thử nghiệm cho mỗi lọ, mỗi nghiệm thức lặp lại 3 lần (3 lọ). Thí nghiệm được tiến hành với 4 nội dung: (1) Đánh giá hiệu quả diệt côn trùng của chế phẩm thương mại; (2) Đánh giá hiệu quả diệt côn trùng của tế bào và dịch ly tâm của vi khuẩn phân lập; (3) Xác định nồng độ của dịch ly tâm và tế bào của vi khuẩn có khả năng diệt côn trùng; và (4) Hiệu quả diệt côn trùng của dịch nuôi cấy của vi khuẩn I4 và tế bào vi khuẩn MT2.

Các nồng độ dịch khuẩn, tế bào vi khuẩn và thuốc diệt côn trùng *Bt* thương mại (BIO-B, Công ty Trách nhiệm Hữu hạn Phân bón Lực Điền) dùng để khảo sát khả năng gây độc trên ấu trùng ruồi giấm được xác định theo phương pháp của Pilaquinga & cs. (2019) và Riaz & cs. (2018). Ấu trùng được nuôi giữ trong môi trường thử nghiệm sau 7 ngày, ghi nhận số lượng ấu trùng chết.

2.4. Khảo sát khả năng sinh bào tử của các dòng vi khuẩn tiềm năng

Dùng que cấy vô trùng lấy một ít vi khuẩn từ ống giống thạch nghiêng (hoặc mẫu sinh thiết bị nghi ngờ nhiễm khuẩn) hòa vào 1 giọt nước cất ở giữa kính mang vật, làm khô trong không khí, hơ nhanh vết bôi trên ngọn lửa đèn cồn 2-3 lần để gắn chặt vi khuẩn vào phiến kính. Cố định vết bôi bằng cách nhỏ lên vết bôi 1-2 giọt cồn 95°. Đốt cháy và dập tắt ngay khoảng 10 giây. Nhỏ 2-3 giọt dung dịch lục malachite 5% lên vết bôi và tiến hành hơ hơi nước nóng trong 5-10 phút, nếu thấy thuốc nhuộm trên giấy bị khô thì bỏ sung. Rửa vết bôi bằng nước cất trong 30 giây (lúc đó các tế bào dinh dưỡng sẽ bị mất màu, bào tử vẫn giữ lại màu). Nhỏ 2-3 giọt dung dịch safranin hay fuchsin lên trên giấy lọc, để 30 giây. Rửa nước rồi thấm khô hay để khô tự nhiên vết bôi. Quan sát tiêu bản trên kính hiển vi quang học với độ phóng đại 100 lần, bào tử sẽ bắt màu xanh lục, tế bào chất bắt màu đỏ hồng (Harley & cs., 2005).

2.5. Khảo sát ảnh hưởng của pH và thời gian đến sự phát triển của vi khuẩn phân lập tiềm năng

Một khuẩn lạc sau 72 giờ nuôi cấy trên môi trường LB agar của dòng vi khuẩn tiềm năng đã phân lập được chủng vào 4 mL môi trường LB. Sau đó, mẫu trên máy lắc tròn với tốc độ 200 vòng/phút trong 12 giờ. Mật số của các dòng vi khuẩn được điều chỉnh về cùng một giá trị quang phổ hấp thụ ở bước sóng 600 nm = 0,6 (tương đương 10^8 CFU/mL). Sau đó, chủng 40 μ L dung dịch dòng vi khuẩn tiềm năng vào ống nghiệm có 4 mL môi trường LB đã được điều chỉnh pH từ 5 đến 7. Vi khuẩn được thông khí trên máy lắc tròn với tốc độ 200 vòng/phút ở 30°C trong 48 giờ, kiểm tra mật số của vi khuẩn sau 24 và 48 giờ nuôi cấy. Thí nghiệm được lặp lại 3 lần.

2.6. Giải trình tự gen 16S-rRNA của các dòng vi khuẩn tiềm năng

Các dòng vi khuẩn tiềm năng có hiệu quả gây độc trên mô hình ruồi giấm được cấy trên môi trường LB agar, ủ ở 32°C trong 72 giờ. DNA của vi khuẩn được ly trích bằng phương pháp phenol-chloroform sử dụng iVAaDNA Extraction Kit P (VA.A92-002A). Cặp mồi 27F (5'-AGAGTTTGTATCMTGGCTCAG-3') và 1492R (5'-TACGGYTACCTTGTTACGACTT-3') (Frank & cs., 2008) được sử dụng để khuếch đại đoạn gen 16S-rRNA. Sản phẩm PCR được kiểm tra bằng kỹ thuật điện di trên gel agarose 1,5% và được giải trình tự bằng phương pháp Sanger (Blazej & cs., 2006). Trình tự nucleotide được phân tích bằng phần mềm FastPCR và so sánh với ngân hàng dữ liệu gen của NCBI bằng công cụ BlastN.

2.7. Xử lý số liệu

Phần mềm Microsoft Office Excel 2016 được sử dụng để xử lý số liệu thô và vẽ biểu đồ. Phần mềm Minitab 18 được dùng để phân tích ANOVA và so sánh số liệu bằng kiểm định Tukey.

3. Kết quả và thảo luận

3.1. Phân lập vi khuẩn từ mẫu đất vườn và xác côn trùng.

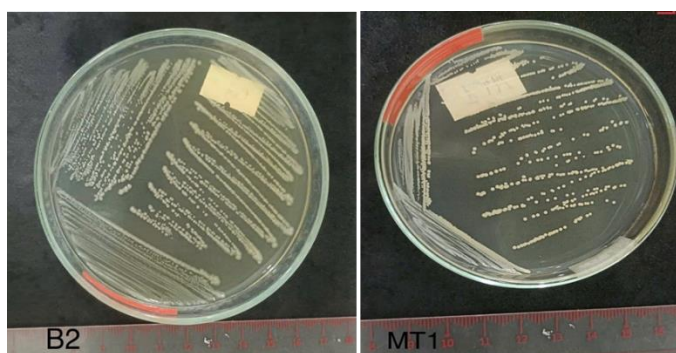
Từ các mẫu đất và côn trùng thu được ở hai tỉnh Hậu Giang và Vĩnh Long, đã phân lập được 55 dòng vi khuẩn. Từ 4 mẫu đất tại vườn trái cây (Mít, Dừa, Măng cụt và Dâu ta) và 1 mẫu xác côn trùng được thu tại vườn cây ăn trái Hậu Giang đã phân lập 24 dòng vi khuẩn. Trong đó, 10 dòng vi khuẩn được phân lập ở mẫu đất vườn cây Măng cụt, 2 dòng vi khuẩn từ mẫu đất vườn cây Dâu ta, 3 dòng vi khuẩn từ mẫu đất vườn cây Dừa, 5 dòng vi khuẩn được phân lập từ mẫu đất vườn cây Mít và 4 dòng từ mẫu côn trùng.

Từ 4 mẫu đất vườn cây Mít, Xoài, Cà Na và Nhãn được thu tại vườn cây ăn trái Vĩnh Long đã phân lập 31 dòng vi khuẩn. Trong đó, 5 dòng vi khuẩn được phân lập ở mẫu đất vườn cây Nhãn, 14 dòng vi khuẩn từ mẫu đất vườn cây Mít, 6 dòng vi khuẩn từ đất vườn Xoài và 6 dòng vi khuẩn từ mẫu đất vườn Cà Na.

3.1.1. Đặc điểm hình thái khuẩn lạc của các dòng vi khuẩn phân lập

Khuẩn lạc của các dòng vi khuẩn trên môi trường phân lập thường có dạng tròn hoặc không đều, bìa nguyên hoặc răng cưa. Các dòng vi khuẩn phân lập đa dạng về màu sắc như màu trắng trong, trắng đục, trắng vàng, trắng nhạt, vàng nhạt hoặc vàng. Hình dạng khuẩn lạc của một số dòng vi khuẩn đại diện được minh họa ở Hình 1.

Đa số các dòng vi khuẩn được phân lập từ vườn cây ăn trái tỉnh Hậu Giang không đa dạng về hình thái khuẩn lạc. Trong 24 dòng, có 23 dòng vi khuẩn có khuẩn lạc hình tròn và 1 dòng với khuẩn lạc không đều. Về màu sắc, 11 dòng có khuẩn lạc màu trắng sữa, 6 dòng có khuẩn lạc màu trắng vàng, 3 dòng có khuẩn lạc màu trắng trong, 3 dòng có khuẩn lạc màu vàng và 1 dòng trắng nhạt. Về dạng bìa, có 18 dòng vi khuẩn có bìa khuẩn lạc nguyên và 6 dòng vi khuẩn có khuẩn lạc với bìa răng cưa. Đa số các dòng vi khuẩn được phân lập từ vườn cây ăn trái tỉnh Vĩnh Long không đa dạng về hình thái khuẩn lạc. Trong 31 dòng, có 15 dòng vi khuẩn có khuẩn lạc hình tròn và 16 dòng vi khuẩn với khuẩn lạc không đều. Về màu sắc, có 28 dòng có khuẩn lạc màu trắng đục và 3 dòng vàng. Về dạng bìa, có 20 dòng vi khuẩn có bìa khuẩn lạc nguyên và 11 dòng vi khuẩn có khuẩn lạc với bìa răng cưa.



Hình 1. Hình thái khuẩn lạc của vi khuẩn B2 và MT1

3.1.2. Đặc điểm tế bào vi khuẩn

Từ 55 dòng vi khuẩn phân lập từ các mẫu thu được ở hai tỉnh Hậu Giang và Vĩnh Long như đã nói ở trên thì đã tiến hành nhuộm gram các dòng vi khuẩn này. Về hình dạng tế bào có 42 dòng vi khuẩn có hình que (chiếm 76,36%) và 13 dòng vi khuẩn có hình cầu (chiếm 23,64%). Kết quả nhuộm Gram cho thấy vi khuẩn Gram dương có 31 dòng (chiếm 56,36%) và 24 dòng Gram âm (chiếm 43,64%). Đặc điểm hình thái khuẩn lạc và tế bào của các dòng vi khuẩn phân lập được sau 48 giờ nuôi cấy trên môi trường LB agar được thể hiện ở Bảng 1.

Bảng 1. Đặc điểm khuẩn lạc và đặc điểm tế bào của các dòng vi khuẩn phân lập được sau 24 giờ nuôi cấy trên môi trường LB

STT	Địa điểm	Dòng vi khuẩn	Đặc điểm khuẩn lạc			Đặc điểm tế bào			
			Hình dạng	Màu sắc	Bìa	Kích thước (mm)	Hình dạng	Kích thước (µm)	Gram
1	Vĩnh Long	L1	không đều	vàng	nguyên	3	que	<3-1	(-)
2		L2	tròn	trắng đục	nguyên	2	que	<2-1	(+)
3		L3	không đều	trắng đục	nguyên	3	que	<3-1	(-)
4		L4	tròn	trắng đục	nguyên	4	que ngắn	<1-1	(+)
5		L5	không đều	vàng	răng cưa	4	cầu	<1-1	(-)
6		J1	tròn	trắng đục	nguyên	4	que ngắn	<1-1	(+)
7		J2	tròn	trắng đục	nguyên	2	que	<2.5-1	(+)
8		J3	tròn	trắng đục	răng cưa	3	cầu	<1-1	(-)
9		J4	tròn	trắng đục	răng cưa	3	que	<2-1	(-)
10		J5	tròn	trắng đục	nguyên	4	que	<3-1	(-)
11		J6	tròn	trắng đục	răng cưa	2	que	<3-1	(+)
12		J7	không đều	trắng đục	răng cưa	4	que	<3-1	(+)
13		J8	tròn	trắng đục	nguyên	2	que	<3-1	(-)
14		J9	tròn	trắng đục	nguyên	3	que ngắn	<1-1	(-)
15		J10	tròn	trắng đục	nguyên	1	que	<2.5-1	(-)
16		J11	không đều	vàng	nguyên	2	que	<2-1	(-)
17		J12	không đều	trắng đục	nguyên	3	que	<3-1	(-)
18		J13	không đều	trắng đục	răng cưa	3	cầu	<1-1	(-)
19		J14	không đều	trắng đục	răng cưa	1	que	<4-1	(+)
20		M1	không đều	trắng đục	nguyên	2	que	<2-1	(+)
21		M2	không đều	trắng đục	răng cưa	3	cầu	<1-1	(-)
22		M3	không đều	trắng đục	nguyên	2	que	<3-1	(-)
23		M4	không đều	trắng đục	răng cưa	2	que	<4-1	(+)
24		M5	không đều	trắng đục	nguyên	3	cầu	<1-1	(-)
25		M6	tròn	trắng đục	nguyên	2	que	<2-1	(+)
26		E1	không đều	trắng đục	răng cưa	3	que	<2-1	(-)
27		E2	không đều	trắng đục	răng cưa	3	cầu	<1-1	(+)
28		E3	tròn	trắng đục	nguyên	1	cầu	<1-1	(-)
29		E4	không đều	trắng đục	nguyên	2	cầu	<1-1	(-)
30		E5	tròn	trắng đục	nguyên	3	que	<2.5-1	(-)
31		E6	tròn	trắng đục	nguyên	3	cầu	<1-1	(+)
32	Hậu Giang	MT1	tròn	vàng	nguyên	1	que	<1-2	(+)
33		MT2	không đều	trắng nhạt	nguyên	3	que	<1-2	(+)
34		MT3	tròn	trắng sữa	răng cưa	4	que	<1-2	(+)
35		MT4	tròn	trắng sữa	nguyên	1	que	<1-2	(+)
36		MT5	tròn	vàng nhạt	nguyên	4	que	<1-2	(+)
37		MT6	tròn	trắng trong	răng cưa	2	que	<1-2	(+)
38		MT7	tròn	trắng sữa	nguyên	1	que	<1-2	(+)
39		MT8	tròn	trắng sữa	nguyên	2	que	<1-2	(+)
40		MT9	tròn	vàng	nguyên	1	que	<1-2	(-)
41		MT10	tròn	trắng trong	nguyên	3	que	<1-2	(-)
42		B1	tròn	trắng sữa	răng cưa	2	que	<1-2	(+)

43	B2	tròn	trắng vàng	nguyên	1	que	<1-2	(+)
44	I1	tròn	trắng sữa	răng cưa	3	que	<1-2	(+)
45	I2	tròn	trắng vàng	nguyên	2	que	<1-2	(+)
46	I3	tròn	trắng vàng	nguyên	2	que	<1-2	(+)
47	I4	tròn	trắng sữa	nguyên	1	que	<1-2	(-)
48	Co1	tròn	trắng sữa	nguyên	3	cầu	<1-2	(+)
49	Co2	tròn	trắng sữa	nguyên	4	cầu	<1-2	(+)
50	Co3	tròn	trắng vàng	nguyên	2	que	<1-2	(+)
51	JF2	tròn	trắng sữa	nguyên	1	que	<1-2	(+)
52	JF3	tròn	trắng sữa	nguyên	2	que	<1-2	(+)
53	JF4	tròn	trắng trong	nguyên	3	que	<1-2	(+)
54	JF5	tròn	trắng vàng	răng cưa	1	cầu	<1-2	(-)
55	JF6	tròn	trắng vàng	răng cưa	1	cầu	<1-2	(-)

Về hình dạng tế bào của các dòng vi khuẩn phân lập từ tỉnh Hậu Giang có 20 dòng vi khuẩn có hình que (chiếm 83,33%) và 4 dòng vi khuẩn có hình cầu (chiếm 16,67%). Tất cả dòng vi khuẩn phân lập được nhỏ hơn 2 μm . Kết quả nhuộm Gram cho thấy vi khuẩn Gram dương có 19 dòng (chiếm 79,17%) và 5 dòng Gram âm (chiếm 20,83%).

Về hình dạng tế bào của các dòng vi khuẩn phân lập từ tỉnh Vĩnh Long có 9 dòng có hình cầu (chiếm 29,03%) và 21 dòng có hình que (chiếm 67,74%). Tất cả các dòng vi khuẩn phân lập có kích thước tế bào của tế bào từ 1 đến 4 μm . Kết quả nhuộm Gram cho thấy vi khuẩn Gram dương có 12 dòng (chiếm 38,7%) và 19 dòng Gram âm (chiếm 61,3%).

Theo nghiên cứu của Ramasamy và cs. (2020) từ các mẫu đất ở quần đảo Andaman và Nicobar, Karnataka, Assam, Arunachal Pradesh và Sikkim đã phân lập được 65 dòng vi khuẩn, trong đó có 15 dòng *Bacillus thuringiensis* có khả năng diệt rệp. Bên cạnh đó, trong nghiên cứu của Harba và cs. (2022) từ 25 dòng *Bacillus thuringiensis* phân lập từ đất Syria và 40 dòng *Bacillus thuringiensis* phân lập từ côn trùng có mười dòng phân lập (SSy60b, SSy111-c, SSy125-c, SSy126-c, SSy141-c, SyG46, SyG41, SyG43, SyG30-a và SyE3-S) khi thử nghiệm gây độc đối với ấu trùng *Ephestia kuehniella* có nồng độ gây chết trung bình (LC_{50}) cao hơn so với dòng vi khuẩn đối chứng *Bt kurstaki* HD-1. Trong nghiên cứu này đã phân lập được 55 dòng vi khuẩn từ đất vườn và xác côn trùng có tiềm năng gây độc trên mô hình ruồi giấm, kết quả này phù hợp với những nghiên cứu trước đây về phân lập vi khuẩn từ các mẫu đất và xác côn trùng.

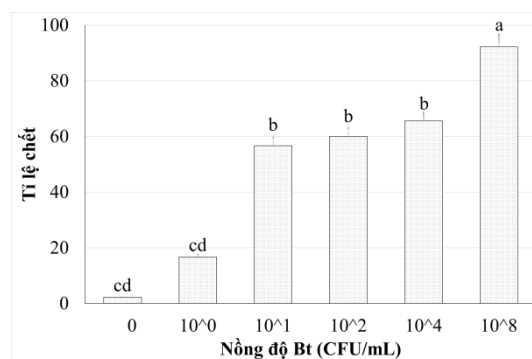
3.2. Khảo sát khả năng gây chết của các dòng vi khuẩn tiềm năng trên ruồi giấm

3.2.1. Hiệu quả của chế phẩm sinh học thương mại Bt

Ấu trùng được nuôi bằng thức ăn có bổ sung thuốc diệt côn trùng Bt thương mại (bổ sung vào thức ăn theo tỷ lệ 10^8 CFU/mL, 10^4 CFU/mL, 10^2 CFU/mL, 10 CFU/mL và 1 CFU/mL). Qua khảo sát có bổ sung thuốc diệt côn trùng Bt thương mại vào thức ăn ấu trùng, nồng độ thuốc Bt thương mại từ 10 đến 10^8 CFU/mL đều đạt độ hữu hiệu từ 95%-100% và được thể hiện chi tiết ở Hình 2.

Trong thử nghiệm phạm vi phơi nhiễm thuốc diệt côn trùng Bt thương mại, tỷ lệ tử vong 92,22% của ấu trùng thử nghiệm xảy ra trong vòng 7 ngày khi nồng độ là 10^8 CFU/mL. Tỷ lệ tử vong là 16,67% của ấu trùng thử nghiệm ở nồng độ 10^0 CFU/mL và ở mức nồng độ 10^1 CFU/mL tỷ lệ tử vong của ấu trùng thử nghiệm là 56,67%. Vì vậy, thí nghiệm cuối cùng về nồng độ gây chết trung bình của phơi nhiễm Bt thương mại đã được thực hiện ở các mức nồng độ từ 10^1 đến 10^4 CFU/mL. Kết quả thử nghiệm phạm vi cho thấy LC_{50} của Bt thương

mại nằm trong khoảng từ 10^0 đến 10^8 CFU/mL được trình bày trong Hình 2. Thử nghiệm phạm vi cho thấy LC_{50} của Bt thương mại nằm trong khoảng 10^0 đến 10^1 CFU/mL.



Hình 2: Ảnh hưởng của nồng độ Bt đến tỉ lệ chết ở ruồi giấm

3.2.2. Ảnh hưởng của tế bào và dịch ly tâm của vi khuẩn đến tỉ lệ chết của ruồi giấm

Vi khuẩn sau 7 ngày nuôi cấy được ly tâm tách biệt giữa dịch ly tâm và tế bào vi khuẩn và được bổ sung vào môi trường tiêu chuẩn cho ruồi giấm. Kết quả tỉ lệ chết của ruồi giấm được thể hiện trong Bảng 2.

Khảo sát kết quả thử độc tế bào vi khuẩn qua 7 ngày cho thấy đa số các dòng vi khuẩn phân lập được đều có khả năng gây độc trên mô hình ruồi giấm. Trong 24 dòng vi khuẩn khảo sát, dòng vi khuẩn I4 và I3 gây độc cao nhất so với các dòng vi khuẩn còn lại (tỷ lệ gây chết lần lượt là 75,56% và 71,11%) khác biệt so với nghiệm thức đối chứng không bổ sung vi khuẩn vào thức ăn.

Khảo sát kết quả thử độc dịch vi khuẩn qua 7 ngày cho thấy đa số các dòng vi khuẩn phân lập được đều có khả năng gây độc trên mô hình ruồi giấm. Trong 55 dòng vi khuẩn khảo sát, đa số các dòng vi khuẩn được phân lập từ tỉnh Hậu Giang có khả năng gây độc cao hơn so với các dòng vi khuẩn được phân lập từ tỉnh Vĩnh Long. Hai dòng vi khuẩn MT và MT2 có hiệu suất diệt côn trùng đạt hơn 67% khi thử nghiệm trên mô hình ruồi giấm sau 7 ngày nuôi cấy, trong đó vi khuẩn MT2 có tỉ lệ gây chết trên ruồi giấm cao hơn vi khuẩn MT1.

Bảng 2. Ảnh hưởng của tế bào và dịch ly tâm của vi khuẩn đến tỉ lệ chết của ruồi giấm

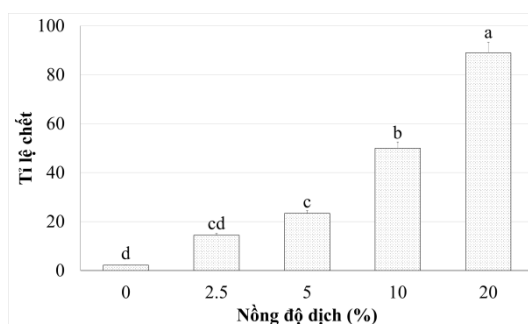
STT	Dòng vi khuẩn	Tỉ lệ chết (%)		STT	Dòng vi khuẩn	Tỉ lệ chết (%)	
		Tế bào vi khuẩn	Dịch vi khuẩn			Tế bào vi khuẩn	Dịch vi khuẩn
1	ĐC	1,111±1,67 ⁿ	1,852±1,76 ^t	29	J8	32,22±1,92 ^{c-i}	13,33±3,33 ^{m-t}
2	B1	18,89±1,92 ^{g-m}	41,11±5,09 ^{e-g}	30	J9	7,78±1,92 ^{l-n}	13,33±3,33 ^{m-t}
3	B2	14,44±5,09 ⁱ⁻ⁿ	27,78±3,85 ^{g-m}	31	JF1	23,33±10 ^{d-m}	62,22±5,09 ^{a-d}
4	Co1	20±5,77 ^{f-m}	68,89±6,94 ^{a-c}	32	JF2	26,67±14,53 ^{c-l}	11,11±1,92 ^{m-t}
5	Co2	5,56±6,94 ^{mn}	37,78±6,94 ^{e-j}	33	JF3	36,67±6,67 ^{c-g}	33,33±5,77 ^{f-l}
6	Co3	38,89±6,94 ^{c-f}	51,11±3,85 ^{c-f}	34	JF4	27,78±1,92 ^{c-k}	51,11±3,85 ^{c-f}
7	E1	23,33±6,67 ^{d-m}	23,33±5,77 ^{g-p}	35	JF5	26,67±5,77 ^{c-l}	50±3,33 ^{d-f}
8	E2	23,33±11,55 ^{d-m}	40±8,82 ^{e-h}	36	L1	13,33±5,77 ⁱ⁻ⁿ	8,89±1,92 ^{n-t}
9	E3	8,89±1,92 ^{k-n}	11,11±7,77 ^{m-t}	37	L2	20±5,77 ^{f-m}	17,78±3,85 ^{k-s}
10	E4	21,11±5,09 ^{e-m}	4,44±1,92 ^{q-t}	38	L3	16,67±3,33 ^{h-n}	22,22±1,92 ^{h-q}
11	E5	11,11±6,94 ^{j-n}	6,67±5,77 ^{p-t}	39	L4	20±5,77 ^{f-m}	12,22±3,85 ^{m-t}
12	E6	31,11±11,71 ^{c-i}	35,56±6,94 ^{f-k}	40	L5	26,67±3,33 ^{c-l}	33,33±3,33 ^{f-l}

STT	Dòng vi khuẩn	Tỉ lệ chết (%)		STT	Dòng vi khuẩn	Tỉ lệ chết (%)	
		Tế bào vi khuẩn	Dịch vi khuẩn			Tế bào vi khuẩn	Dịch vi khuẩn
13	I1	18,89±1,92 ^{g-m}	61,11±10,18 ^{a-d}	41	M1	15,56±1,92 ⁱ⁻ⁿ	17,78±1,92 ^{k-s}
14	I2	14,44±5,09 ⁱ⁻ⁿ	64,44±11,71 ^{a-d}	42	M2	21,11±1,92 ^{e-m}	12,22±1,92 ^{m-t}
15	I3	11,11±1,92 ⁱ⁻ⁿ	71,11±1,92 ^{ab}	43	M3	22,22±1,92 ^{d-m}	3,33±3,33 ^{r-t}
16	I4	35,56±6,94 ^{c-h}	75,56±1,92 ^a	44	M4	41,11±6,94 ^{cd}	14,44±5,09 ^{m-t}
17	J1	16,67±3,33 ^{h-n}	14,44±3,85 ^{m-t}	45	M5	11,11±3,85 ^{j-n}	11,11±10,72 ^{m-t}
18	J10	6,67±5,77 ^{mn}	15,56±3,85 ^{l-t}	46	M6	10±0 ^{j-n}	2,22±1,92 st
19	J11	11,11±1,92 ^{j-n}	21,11±5,09 ^{i-r}	47	MT1	63,33±5,77 ^{ab}	40±3,33 ^{e-h}
20	J12	7,78±1,92 ^{l-n}	21,11±7,70 ^{i-r}	48	MT10	15,56±1,92 ⁱ⁻ⁿ	63,33±3,33 ^{a-d}
21	J13	21,11±5,09 ^{e-m}	7,78±1,92 ^{o-t}	49	MT2	67,78±10,18 ^a	26,67±5,77 ^{g-n}
22	J14	11,11±1,92 ^{j-n}	25,56±5,09 ^{g-o}	50	MT3	32,22±8,39 ^{c-i}	38,89±7,70 ^{e-i}
23	J2	31,11±8,39 ^{c-i}	12,22±6,94 ^{m-t}	51	MT4	40±8,82 ^{c-e}	7,78±3,85 ^{o-t}
24	J3	17,78±5,09 ^{g-m}	17,78±7,70 ^{k-s}	52	MT5	40±6,67 ^{c-e}	28,89±1,92 ^{g-m}
25	J4	22,22±6,94 ^{d-m}	20±5,77 ^{j-s}	53	MT6	14,44±1,92 ⁱ⁻ⁿ	63,33±8,82 ^{a-d}
26	J5	28,89±1,92 ^{c-j}	4,44±1,92 ^{q-t}	54	MT7	23,33±3,33 ^{d-m}	28,89±3,85 ^{g-m}
27	J6	27,78±1,92 ^{c-k}	7,78±3,85 ^{o-t}	55	MT8	44,44±5,09 ^{bc}	51,11±6,94 ^{c-f}
28	J7	22,22±5,09 ^{d-m}	11,11±3,85 ^{m-t}	56	MT9	23,33±3,33 ^{d-m}	55,56±10,18 ^{b-e}

Ghi chú: Số liệu trình bày là trung bình của 3 lần lặp lại ± độ lệch chuẩn, các chữ cái theo sau độ lệch chuẩn khác nhau thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê (Tukey, $P < 0,05$).

3.2.3. Ảnh hưởng của tỉ lệ tế bào và dịch ly tâm của vi khuẩn tiềm năng đến tỉ lệ chết của ruồi giấm

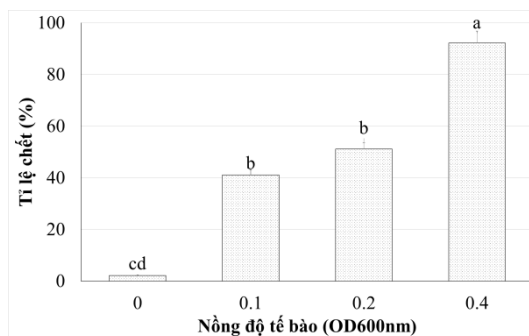
Dịch vi khuẩn sau khi ly tâm từ huyền phù vi khuẩn I4 (theo tỷ lệ nghiệm thức 2,5%, 5%, 10%, 20%) của dòng vi khuẩn I4 (Hình 3). Nồng độ dịch ly tâm tỉ lệ thuận với tỉ lệ chết của ruồi giấm sau 7 ngày nuôi cấy, trong đó tỉ lệ chết từ nồng độ 5% đến 20% khác biệt có ý nghĩa thống kê so với nghiệm thức đối chứng. Ở nồng độ 20%, tỉ lệ chết của ruồi giấm đạt cao nhất (88.89%) trong khi tỉ lệ chết khoảng 50% ở nồng độ 10% ($LC_{50}=10\%$).



Hình 3. Ảnh hưởng của nồng độ dịch ly tâm của vi khuẩn I4 đến tỉ lệ chết ở ruồi giấm

Kết quả thử độc tế bào vi khuẩn MT2 theo tỷ lệ nghiệm thức bổ sung 10% vào thức ăn (theo tỷ lệ OD_{600nm} 0,1; 0,2; và 0,4) qua 7 ngày của dòng vi khuẩn MT2 cho thấy dòng vi khuẩn có khả năng gây độc trên mô hình ruồi giấm (Hình 4). Mật số vi khuẩn tỉ lệ thuận với tỉ lệ chết của ruồi giấm, chẳng hạn mật độ quang của vi khuẩn ở bước sóng 600 nm đạt 0,1 cho hiệu suất gây tử vong ở ruồi giấm đạt hơn 40% và tăng dần đều đến hơn 90% ở mật độ quang 0,4,

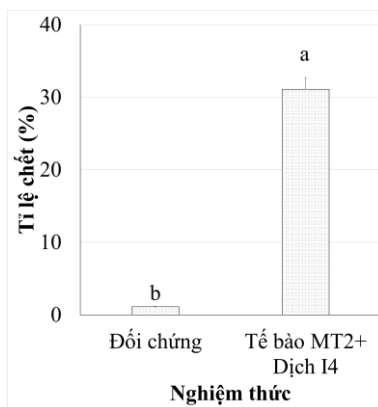
trong đó mật độ quang đạt 0,2 cho tỉ lệ chết đạt khoảng 50% (LC₅₀) nên tỉ lệ này được sử dụng cho thí nghiệm tiếp theo.



Hình 4: Ảnh hưởng của mật độ vi khuẩn MT2 đến tỉ lệ chết của ruồi giấm

3.2.4. Ảnh hưởng của hỗn hợp pha trộn giữa tế bào vi khuẩn MT2 và dịch ly tâm của vi khuẩn I4

Nồng độ tế bào vi khuẩn MT2 và dịch vi khuẩn I4 được tuyển chọn ở thí nghiệm trước được sử dụng để bố trí thí nghiệm sử dụng đồng loạt cả hai nguồn nguyên liệu này. Kết quả cho thấy khả năng gây độc trên mô hình ruồi giấm thấp hơn so với thử độc riêng lẻ mỗi dòng vi khuẩn (Hình 5). Cụ thể, khi khảo sát hỗn hợp có tỷ lệ gây chết đạt 31,11% sau 7 ngày, thấp hơn khoảng 20% khi chỉ sử dụng mỗi tế bào MT2 hoặc I4. Điều này có thể là do sự ức chế sinh học giữa 2 nguồn vật liệu, dịch nuôi cấy của I4 có thể ức chế sự tăng trưởng của vi khuẩn MT2 đồng thời vi khuẩn MT2 cũng có thể gây ức chế chống lại các thành phần trong I4.



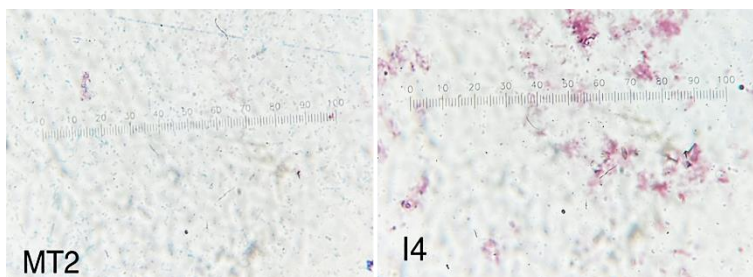
Hình 5. Ảnh hưởng của hỗn hợp tế bào vi khuẩn MT2 và dịch ly tâm của vi khuẩn I4 đến khả năng gây độc cho côn trùng trên mô hình ruồi giấm

Theo nghiên cứu của Álvarez-Lagazzi và cs. (2021) đã khảo sát khả năng gây độc của bào tử *B. subtilis* trên mô hình rệp thông qua thức ăn nhân tạo có bổ sung và không bổ sung bào tử *B. subtilis*. Nghiên cứu cho thấy rệp được cho ăn thức ăn nhân tạo có bổ sung bào tử *B. subtilis* có tỷ lệ sống sót thấp hơn so với nghiệm thức thức ăn không bổ sung bào tử *B. subtilis*. Long và cs. (2023) đã phân lập được 2 dòng vi khuẩn thuộc loài *Serratia marcescens* có khả năng gây bệnh cho sâu sấp non (*Galleria mellonella*) bằng cách phun dung dịch có chứa vi khuẩn lên cơ thể sâu non, thì sâu non chết với tỉ lệ trên 70%. Vậy hai dòng vi khuẩn MT2 và I4 có khả năng gây độc trên mô hình ruồi giấm tiếp tục được sử dụng cho các nghiên cứu tiếp theo.

3.3. Khảo sát khả năng sinh nội bào tử của các dòng vi khuẩn tiềm năng

Sau khi nhuộm và quan sát kết quả về hình thái tế bào của các dòng vi khuẩn bằng kính hiển vi quang học ở độ phóng đại 1000X cho thấy các nội bào tử bắt màu xanh (Hình 6). Trong đó chủng MT2 có nội bào tử và chủng I4 không có khả năng sinh nội bào tử.

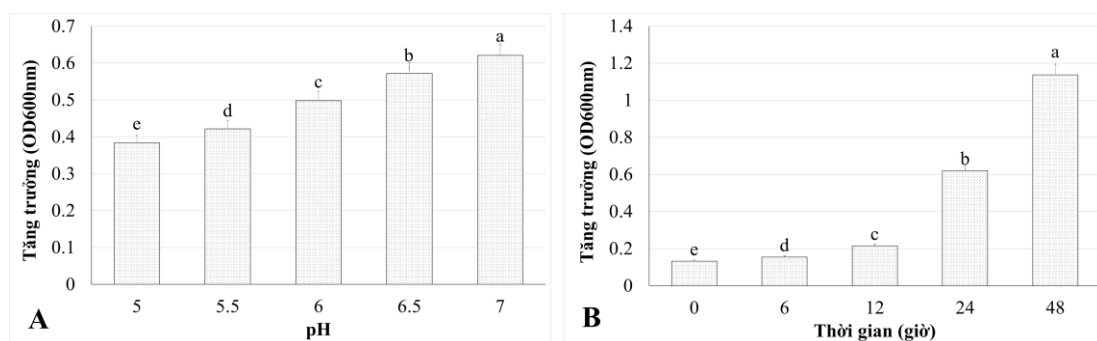
3.4. Kết quả khảo sát ảnh hưởng của các yếu tố đến sự phát triển của vi khuẩn phân lập tiềm năng



Hình 6. Kết quả sinh nội bào tử của hai dòng vi khuẩn MT2 và I4

Kết quả khảo sát ảnh hưởng của pH đến sự tăng trưởng của vi khuẩn cho thấy dòng vi khuẩn MT2 có sinh khối khác nhau ở từng điều kiện pH (Hình 7A). Ở cả 5 điều kiện pH dòng vi khuẩn MT2 đều có khả năng tăng trưởng tạo sinh khối trong môi trường LB sau 24 giờ nuôi cấy. Mật độ quang của dòng vi khuẩn MT2 được đo ở bước sóng 600 nm đạt sinh khối cao nhất ở pH7 và thấp nhất ở pH5 lần lượt là 0,621 và 0,384. Trong khoảng pH từ 5 đến 7 dòng vi khuẩn MT2 có khả năng tăng trưởng tạo sinh khối tốt nhất lần lượt là pH7, pH6,5 và pH6 có giá trị mật độ quang lần lượt là 0,621; 0,572; 0,498. Như vậy, pH7 là pH thích hợp cho sự tăng trưởng của vi khuẩn MT2.

Kết quả khảo sát ảnh hưởng của thời gian đến sự tăng trưởng của vi khuẩn cho thấy dòng vi khuẩn MT2 có sinh khối khác nhau ở từng khoảng thời gian khác nhau (Hình 7B). Ở khoảng thời gian từ 0 giờ đến 48 giờ dòng vi khuẩn MT2 đều có khả năng tăng trưởng tạo sinh khối trong môi trường LB ở điều kiện pH7. Mật độ quang của dòng vi khuẩn MT2 được kiểm tra ở bước sóng 600 nm đạt 0,132; 0,154; 0,215; 0,621 và 1,137 lần lượt ở 0 giờ, 6 giờ, 12 giờ, 24 giờ và 48 giờ. Mật độ quang của dòng vi khuẩn I4 đo được ở sau 48 giờ đạt sinh khối cao nhất. Như vậy, khoảng thời gian từ 48 giờ nuôi cấy là khoảng thời gian thích hợp để thu sinh khối của dòng vi khuẩn MT2.



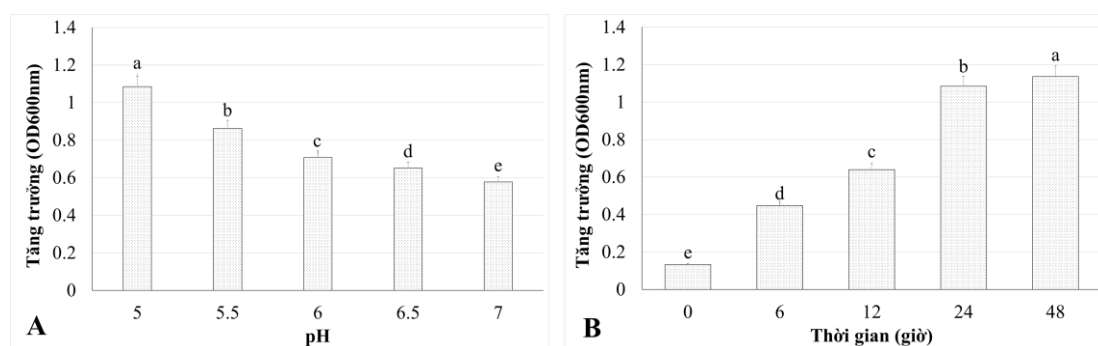
Hình 7. Ảnh hưởng của pH và thời gian nuôi cấy đến sự tăng trưởng của vi khuẩn MT2

A: pH; B: Thời gian (giờ)

Kết quả khảo sát ảnh hưởng của pH đến sự tăng trưởng của vi khuẩn cho thấy dòng vi khuẩn I4 có sinh khối khác nhau ở từng điều kiện pH (Hình 8A). Ở cả 5 điều kiện pH dòng vi

khuẩn I4 đều có khả năng tăng trưởng tạo sinh khối trong môi trường LB sau 24 giờ nuôi cấy. Mật độ quang của dòng vi khuẩn I4 được đo ở bước sóng 600 nm đạt sinh khối cao nhất ở pH5 và thấp nhất ở pH7 lần lượt là 1,085 và 0,577. Trong khoảng pH từ 5 đến 7 dòng vi khuẩn I4 có khả năng tăng trưởng tạo sinh khối tốt nhất lần lượt là pH5, pH5,5 và pH6 có giá trị mật độ quang lần lượt là 1,085; 0,863; 0,708. Như vậy, pH5 là pH thích hợp cho sự tăng trưởng của vi khuẩn I4.

Kết quả khảo sát ảnh hưởng của thời gian đến sự tăng trưởng của vi khuẩn cho thấy dòng vi khuẩn I4 có sinh khối khác nhau ở từng khoảng thời gian khác nhau (Hình 8B). Ở khoảng thời gian từ 0 giờ đến 48 giờ dòng vi khuẩn I4 đều có khả năng tăng trưởng tạo sinh khối trong môi trường LB ở điều kiện pH5. Mật độ quang của dòng vi khuẩn I4 được kiểm tra ở bước sóng 600nm đạt 0,133; 0,448; 0,64; 1,085 và 1,137 lần lượt ở 0 giờ, 6 giờ, 12 giờ, 24 giờ và 48 giờ. Mật độ quang của dòng vi khuẩn I4 đo được ở sau 48 giờ đạt sinh khối cao nhất. Như vậy, khoảng thời gian từ 48 giờ nuôi cấy là khoảng thời gian thích hợp để thu sinh khối của dòng vi khuẩn I4.



Hình 8. Ảnh hưởng của pH và thời gian nuôi cấy đến sự tăng trưởng của vi khuẩn I4

A: pH; B: Thời gian (giờ)

3.5. Định danh khoa học dòng vi khuẩn I4 và MT2 có khả năng gây độc trên mô hình ruồi giấm

Kết quả so sánh trình tự của các chủng vi khuẩn với trình tự trên cơ sở dữ liệu GenBank của NCBI cho thấy trình tự của hai dòng vi khuẩn MT2 và I4 lần lượt tương đồng với trình tự đoạn gene 16S rRNA của vi khuẩn *Bacillus subtilis* và *Proteus mirabilis* với tỉ lệ tương đồng đều đạt 100,00%. Vì vậy hai dòng vi khuẩn MT2 và I4 lần lượt được định danh là *Bacillus* sp. MT2 và *Proteus* sp. I4.

Bên cạnh đó, các đặc điểm sinh hóa của hai dòng vi khuẩn MT2 và I4 cũng cho thấy sự tương đồng với các loài thuộc chi *Bacillus* và *Proteus*. Cả hai dòng vi khuẩn đều có tính di động và đồng hóa citrate. Dòng vi khuẩn *Proteus* sp. I4 có khả năng sinh enzyme catalase và urease trong khi *Bacillus* sp. MT2 không có khả năng sinh tổng hợp 2 enzyme này.

Bảng 3. Đặc điểm sinh hóa của hai dòng vi khuẩn MT2 và I4

STT	Dòng vi khuẩn	Đặc điểm sinh hóa			
		Catalase	Citrate	Urease	Di động
1	I4	+	+	+	+
2	MT2	-	+	-	+

Nghiên cứu của Kelly (2024) đã phân lập được vi khuẩn *Bacillus subtilis* có khả năng gây độc cho những con giấm ở nồng độ 10^8 CFU/mL. Nghiên cứu của Çelik et al. (2022) đã

phân lập tổng cộng có mười tám dòng vi khuẩn gây bệnh tiềm ẩn từ *Diprion pini* L. (Hymenoptera: Diprionidae). Trong đó, *Proteus mirabilis* O-2 có khả năng diệt nhiều loài côn trùng với hiệu suất đạt 100% trong vòng 10 ngày sau khi tiếp xúc.

4. Kết luận

Từ các mẫu đất vườn và mẫu côn trùng thu thập tại hai tỉnh Vĩnh Long và Hậu Giang, 55 dòng vi khuẩn có khả năng phát triển trong môi trường LB đã được phân lập, bao gồm 31 dòng vi khuẩn Gram dương và 24 dòng vi khuẩn Gram âm. Kết quả khảo sát độc tính của các dòng vi khuẩn phân lập cho thấy dịch ly tâm của hai dòng vi khuẩn I3 và I4, cùng với tế bào của hai dòng vi khuẩn MT1 và MT2, có khả năng diệt côn trùng hiệu quả. Ngoài ra, dịch ly tâm của vi khuẩn I4, tế bào vi khuẩn MT2, cũng như sự kết hợp của cả hai nguồn vật liệu này, đều chứng tỏ khả năng diệt côn trùng hiệu quả sau 7 ngày khảo sát. Thời gian nuôi cấy và pH môi trường cũng có ảnh hưởng đến sự gia tăng mật độ vi khuẩn. Cụ thể, vi khuẩn I4 có mật độ quang tăng dần từ pH5 đến pH7, trong khi vi khuẩn MT2 có mật độ giảm dần. Cả hai dòng vi khuẩn này đạt sinh khối cao nhất ở thời điểm 48 giờ nuôi cấy. Dựa trên kết quả giải trình tự 16S-rRNA và các đặc điểm sinh hóa, hai dòng vi khuẩn MT2 và I4 có sự tương đồng cao nhất với hai loài *Bacillus subtilis* và *Proteus mirabilis*, và được xác định là *Bacillus* sp. MT2 và *Proteus* sp. I4, đây là hai dòng vi khuẩn tiềm năng để ứng dụng vào sản xuất chế phẩm diệt côn trùng trong tương lai.

Tài liệu tham khảo

- Afriani, S. R., Pujiastuti, Y., Irsan, C., Damiri, N., Nugraha, S., & Sembiring, E. R. (2018). Isolation and toxicity test of *Bacillus thuringiensis* from Sekayu region soil, South Sumatra on Spodopteralitura. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* (Vol. 102, No. 1, p. 012066).
- Álvarez-Lagazzi, A. P., Cabrera, N., Francis, F., & Ramírez, C. C. (2021). *Bacillus subtilis* (Bacillales, Bacillaceae) spores affect survival and population growth in the grain aphid *Sitobion avenae* (Hemiptera, Aphididae) in relation to the presence of the facultative bacterial endosymbiont *Regiella insecticola* (Enterobacteriales, Enterobacteriaceae). *Journal of economic entomology*, 114(5), 2043-2050.
- Blazej, R. G., Kumaresan, P., & Mathies, R. A. (2006). Microfabricated bioprocessor for integrated nanoliter-scale Sanger DNA sequencing. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 103(19), 7240-7245.
- Çelik, T., & Sevim, A. (2022). Bacterial pathogens from *Diprion pini* L.(Hymenoptera: Diprionidae) and their biocontrol potential. *Biologia*, 77(10), 3001-3013.
- Frank, J. A., Reich, C. I., Sharma, S., Weisbaum, J. S., Wilson, B. A., & Olsen, G. J. (2008). Critical evaluation of two primers commonly used for amplification of bacterial 16S rRNA genes. *Applied and environmental microbiology*, 74(8), 2461-2470.
- Harba, M., Idris, I., & Ismail, H. (2022). Toxicological and molecular characterization of local *Bacillus thuringiensis* isolates from soil and insects. *Journal of Agroalimentary Processes and Technologies*, 28(3), 226-232.
- Harley, J. P., Klein, D. A., & Prescott, L. M. (2005). *Microbiology*. McGraw-Hill Higher Education.
- Huang, S., Li, X., Li, G., & Jin, D. (2018). Effect of *Bacillus thuringiensis* CAB109 on the growth, development, and generation mortality of *Spodoptera exigua* (Hübner)(Lepidoptera: noctuidea). *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 28, 1-5.

- Kelly, B. A. (2024). Insecticidal potency of entomopathogenic bacterium *Bacillus subtilis* on cockroach (*Periplaneta americana*). *International Journal of Science and Research Archive*, 12(1), 934-939.
- Long, P. D., Hung, T. X., Hang, H. T., Tai, D. T., Van Phuc, P., Long, B. D., & Chi, N. M. (2023). Entomopathogenic bacterium *Serratia marcescens* isolated from episparis tortuosalis causing a damage to chukrasia tabularis in Vietnam. *Journal of Forestry Science and Technology*, (15), 100-107.
- Nguyễn, V. T. (2006). *Nghiên cứu sản xuất sử dụng thuốc sâu sinh học đa chức năng cho một số loại cây trồng bằng kỹ thuật công nghệ sinh học*. Báo cáo kết quả đề tài nghiên cứu khoa học cấp Nhà nước KC.04.12, Viện Bảo vệ thực vật.
- Phạm, T. T. (2011). Thực trạng về sản xuất và ứng dụng các chế phẩm vi sinh vật để phòng trừ dịch hại cây trồng ở Việt Nam trong 20 năm qua, Trang web chính thức của Viện Khoa học Kỹ thuật Nông nghiệp miền Nam (iasvn.org).
- Phạm, V. T., & Vũ, N. T. (2007). *Công nghệ sinh học* (Tập 5 – Công nghệ vi sinh vi môi trường), Nxb. Giáo dục, trang 107.
- Pilaquinga, F., Morejón, B., Ganchala, D., Morey, J., Piña, N., Debut, A., & Neira, M. (2019). Green synthesis of silver nanoparticles using *Solanum mammosum* L.(Solanaceae) fruit extract and their larvicidal activity against *Aedes aegypti* L.(Diptera: Culicidae). *Plos one*, 14(10), e0224109.
- Ramasamy, A., Suresh, M., & Mallesh, M. S. H. (2020). Toxicity evaluation of Aphidicidal crystalliferous toxins from *Bacillus thuringiensis* strains: a molecular study. *Annals of Microbiology*, 70, 1-14.
- Riaz, B., Zahoor, M. K., Zahoor, M. A., Majeed, H. N., Javed, I., Ahmad, A., ... & Sultana, K. (2018). Toxicity, phytochemical composition, and enzyme inhibitory activities of some indigenous weed plant extracts in fruit fly, *Drosophila melanogaster*. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2018(1), 2325659.