

PHẠM THỊ THÙY

CÔNG NGHỆ SINH HỌC TRONG BẢO VỆ THỰC VẬT

BIOTECHNOLOGY IN PLANT PROTECTION



NHÀ XUẤT BẢN ĐẠI HỌC QUỐC GIA HÀ NỘI

PHẠM THỊ THUY

CÔNG NGHỆ SINH HỌC
TRONG BẢO VỆ THỰC VẬT
BIOTECHNOLOGY IN PLANT PROTECTION

NHÀ XUẤT BẢN ĐẠI HỌC QUỐC GIA HÀ NỘI - 2004

Sách được tài trợ bởi Hội đồng Khoa học tự nhiên
(This publication was supported by the Council
for Natural Science of Vietnam)

MỤC LỤC

	Trang
Lời giới thiệu	IX
Lời nói đầu	XIII
Chương 1. Khái niệm về công nghệ sinh học trong bảo vệ thực vật	1
1.1. Vị trí của phương pháp sinh học trong hệ thống tổng hợp bảo vệ thực vật	1
1.2. Các hướng chính của phương pháp sinh học cơ sở của công nghệ sinh học trong bảo vệ thực vật	8
1.3. Khái niệm về công nghệ sinh học trong bảo vệ thực vật	12
Chương 2. Các thành tựu về công nghệ chuyển gen trong bảo vệ thực vật trên thế giới	17
2.1. Sự thiệt hại do sâu bệnh hại gây ra và hậu quả của việc sử dụng ồ ạt các loại thuốc nông dược có nguồn gốc hóa học	17
2.2. Chiến lược bảo vệ thực vật mới và vai trò của công nghệ sinh học trong bảo vệ thực vật	21
2.3. Các thành tựu về công nghệ chuyển gen Genetically Modified Organism (GMO) trong bảo vệ thực vật	26
Chương 3. Thành tựu nghiên cứu và ứng dụng các loài thiên địch ký sinh và ăn thịt trên thế giới	41
3.1. Thành tựu về ong mắt đỏ <i>Trichogramma</i> sp	41
3.2. Thành tựu về ong vàng <i>Habrobracon</i> sp	49
3.3. Thành tựu về bọ mắt vàng <i>Chrysopa</i> sp	51
3.4. Thành tựu về ong đen kén đơn trắng <i>Cotesia plutellae</i> Kurdj	56
3.5. Một số loài thiên địch đã phát triển thành dạng thương mại được sử dụng ở một số nước phát triển	64

Chương 4. Thành tựu về công nghệ sản xuất thuốc trừ sâu vi sinh vật trên thế giới	65
4.1. Cơ sở của việc sản xuất các thuốc trừ sâu vi sinh vật	65
4.1.1. Cơ sở của việc sản xuất thuốc trừ sâu có nguồn gốc từ vi sinh vật	65
4.1.2. Những nguồn bệnh côn trùng chính đã được sử dụng như những tác nhân trong phòng trừ sinh học	67
4.1.3. Khái niệm chung về bệnh lý và triệu chứng bị bệnh của côn trùng	68
4.1.4. Quá trình lây nhiễm và nguyên nhân gây bệnh của vi sinh vật trên côn trùng	69
4.2. Thành tựu về thuốc trừ sâu vi sinh vật trên thế giới	70
4.2.1. Thành tựu về thuốc trừ sâu <i>Bacillus thuringiensis</i> (Bt)	70
4.2.2. Thành tựu về thuốc trừ sâu virus côn trùng	92
4.2.3. Thành tựu về thuốc trừ sâu vi nấm côn trùng	109
4.2.4. Kết quả ứng dụng các thuốc trừ sâu vi sinh vật để phòng trừ sâu hại cây trồng	144
Chương 5. Thành tựu về các tác nhân sinh học khác trong phòng trừ dịch hại cây trồng	147
5.1. Thành tựu về tuyến trùng trừ sâu hại	147
5.2. Thành tựu về các chất có hoạt tính sinh học trừ sâu hại	150
5.3. Thành tựu về các loài vi tảo trừ sâu hại cây trồng	151
5.4. Thành tựu về các thuốc sinh học trừ bệnh hại cây trồng	152
5.5. Thành tựu về các thuốc sinh học trừ cỏ dại	154
5.6. Thành tựu về các thuốc sinh học từ nấm và Bt trừ tuyến trùng hại cây trồng	155
5.7. Thành tựu về thuốc sinh học để phòng trừ các loài gặm nhấm - chuột	155
Chương 6. Kết quả nghiên cứu sản xuất thiên địch ký sinh và ăn thịt có ích ở Việt Nam	157
6.1. Nghiên cứu công nghệ sản xuất ong mắt đỏ <i>Trichogramma</i> sp.	157

6.2. Nghiên cứu sản xuất ong vàng <i>Habrobracon</i> sp.	208
6.3. Nghiên cứu sản xuất bọ mắt vàng <i>Chrysopa</i> sp	213
6.4. Nghiên cứu sản xuất ong đen kén đơn trắng <i>Cotesia plutellae</i> Kurdj	226
Chương 7. Công nghệ sản xuất các thuốc trừ sâu có nguồn gốc từ vi sinh vật ở Việt Nam	235
7.1. Công nghệ sản xuất thuốc trừ sâu <i>Bacillus thuringiensis</i> (Bt)	235
7.2. Công nghệ sản xuất thuốc trừ sâu virus (NPVHa)	243
7.3. Công nghệ sản xuất thuốc trừ sâu vi nấm Boverit (<i>Beauveria bassiana</i>) và Mat (<i>Metarhizium anisopliae</i>)	261
7.4. Ứng dụng tổng hợp các loại thuốc trừ sâu vi sinh để phòng trừ sâu hại cây trồng ở một số địa phương	277
Chương 8. Công nghệ sản xuất các chế phẩm trừ sâu, bệnh hại bằng những tác nhân sinh học khác ở Việt Nam	301
8.1. Công nghệ sản xuất sinh khối tuyến trùng	301
8.2. Công nghệ sản xuất chế phẩm nấm đối kháng <i>Trichoderma harianum</i> để phòng trừ bệnh hại cây trồng	306
8.3. Nghiên cứu ứng dụng kỹ thuật ELISA và PCR trong chẩn đoán nhanh một số bệnh virus hại cây trồng	311
Chương 9. Tổng hợp những kết quả ứng dụng công nghệ sinh học trong bảo vệ thực vật ở nư- ớc ta thời gian qua và triển vọng trong thời gian tới	315
9.1. Tổng hợp về kết quả nghiên cứu và ứng dụng công nghệ sinh học trong bảo vệ thực vật thời gian qua	315
9.2. Triển vọng của công nghệ sinh học trong bảo vệ thực vật thời gian tới	317
Tài liệu tham khảo	323

CONTENT OF THE BOOK

"BIOTECHNOLOGY IN PLANT PROTECTION"

Author: Pham Thi Thuy, Doctor., Associate Professor
National Institute for plant protection

<i>Introduction</i>	IX
<i>Preface</i>	XIII
Chapter 1: What is biotechnology in plant protection	1
1.1. Role of biological control in IPM	1
1.2. Main methods of biological control is base of biotechnology in plant protection	8
1.3. What are biotechnology in plant protection?	12
Chapter 2 : The results of Genetically Modified Organism in plant protection in the world	17
2.1. The damage by pests and harmful effects of chemical pesticides in agricultural production	17
2.2. New methods and role of biotechnology in plant protection	21
2.3. The results of GMO in plant protection	26
Chapter 3: The results of beneficial enimies in the world	41
3.1. The results on <i>Trichogramma</i> sp	41
3.2. The results on <i>Habrobracon</i> sp	49
3.3. The results on <i>Chrysopa</i> sp	51
3.4. The results on <i>Cotesia plutellae</i>	56
3.5. Some enimies have been trade pesticides	64
Chapter 4: The results of biopesticides in the world	65
4.1. Base for production of biopesticides	65
4.1.1. Base for biopesticides production	65

4.1.2. Main entomopathogenic strains was used in the world	67
4.1.3. What are entomopathogenic and their symptoms?	68
4.1.4. Infection and cautions of entomopathogenic infection	69
4.2. The results of biopesticides in the world	70
4.2.1. The results of <i>Bacillus thuringiensis</i> biopesticides	70
4.2.2. The results of virus biopesticides	92
4.2.3. The results of fungus biopesticides	109
4.2.4. The results of use biopesticides to control pests in the world	144
Chapter 5: The results for other bio-agents to control pest in the world	147
5.1. The results of entomopathogenic nematodes (EPN)	147
5.2. The results of high virulence biopesticides	150
5.3. The results of <i>Anabaena variabilis</i> and <i>Mycrocystis aeruginosa</i>	151
5.4. The results of <i>Trichoderma</i> to control plant diseases	152
5.5. The results of biopesticides to control weeds	154
5.6. The results of <i>Bacillus thuringiensis</i> and fungus to control nematodes, damaged crops	155
5.7. The results of <i>Salmonella</i> sp biopesticides to control rats	155
Chapter 6: The results of beneficial enemies in Vietnam	157
6.1. The results of <i>Trichogramma</i> sp.	157
6.2. The results of <i>Habrobracon</i> sp.	208
6.3. The results of <i>Chrysopa carnea</i>	213
6.4. The results of <i>Cotesia plutellae</i>	226
Chapter 7: Research results on the technology for biopesticides production in Vietnam	235
7.1. Production of <i>Bacillus thuringiensis</i> biopesticide	235
7.2. Production of virus (NPVHa) biopesticide	243
7.3. Production of fungi <i>Beauveria bassiana</i> and <i>Metarhizium anisopliae</i>	261
7.4. Application of biopesticides to control pests on crops	277

Chapter 8: Research results for production of other bio-agents to control diseases and pests in Vietnam	301
8.1. Production of <i>Entomopathogenic nematodes</i> (EPN)	301
8.2. Production of <i>Trichoderma harianum</i>	306
8.3. Study on application of ELISA and PCR techniques for fast diagnose some plant virus diseases	311
Chapter 9: Research results for application of biotechnology in plant protection in Vietnam in last time as practiced and the prospects for the future	315
9.1. Research results for application biotechnology in plant protection from 1991 to 2004	315
9.2. Ability of biotechnology in plant protection in the future	317
Reference	323

LỜI GIỚI THIỆU

Những năm qua nền sản xuất nông nghiệp ở nước ta cũng như trên thế giới đã có những chuyển biến mạnh mẽ với sự xuất hiện hàng loạt các giống cây trồng mới có giá trị kinh tế cao, có khả năng chống chịu sâu bệnh hại. Đồng thời việc thâm canh theo phương pháp mới cũng đã nâng cao được năng suất và chất lượng một cách đáng kể. Trong xu hướng chung đó, công tác bảo vệ thực vật đang trở thành một vấn đề rất quan trọng, giúp cho việc thâm canh cây trồng đảm bảo được hiệu quả trên cơ sở con người biết tác động vào trồng trọt một cách có hiểu biết. Một trong những biện pháp mới để nâng cao sản lượng và phẩm chất nông sản là áp dụng các giải pháp về các thành tựu của công nghệ sinh học vào sản xuất nông nghiệp.

Ở nước ta công nghệ sinh học (CNSH) trong bảo vệ thực vật (BVTV) vẫn còn là vấn đề mới mẻ, nhất là công nghệ sản xuất và sử dụng các loại thiên địch trong đó có các loại thuốc trừ sâu vi sinh vật để phòng trừ các loại sâu, bệnh hại, cỏ dại... Tuy nhiên trong những năm qua, được sự đầu tư của Nhà nước và các tổ chức phi chính phủ, rất nhiều các viện nghiên cứu, các trường đại học đã tập trung nghiên cứu để sản xuất ra các chế phẩm sinh học cũng như một số loài thiên địch có ích nhằm góp phần vào việc dập tắt các nạn dịch gây ra trong sản xuất nông, lâm nghiệp, bước đầu thu được một số thành tựu rất đáng khích lệ.

Cuốn sách ***“Công nghệ sinh học trong bảo vệ thực vật”*** do PGS. TS Phạm Thị Thùy biên soạn nhằm cung cấp cho bạn đọc những thông tin và kết quả nghiên cứu về CNSH trong BVTV trên thế giới và ở Việt Nam. Với kinh nghiệm nhiều năm công tác nghiên cứu và triển khai ứng dụng các kết quả về CNSH trong BVTV vào sản xuất đồng thời giảng dạy thường xuyên cho một số trường đại học về lĩnh vực trên, tác giả đã cố gắng tập hợp tài liệu,

trong và ngoài nước, có lựa chọn, phân tích để viết nên công trình này. Đây là một tài liệu có giá trị và bổ ích với nhiều bạn đọc, đặc biệt cho các sinh viên, học viên cao học và nghiên cứu sinh các ngành CNSH và BVTV ở các trường đại học trong cả nước.

Xin trân trọng giới thiệu cùng bạn đọc.

Hà Nội ngày 25 tháng 5 năm 2004



GS. TSKH. Lê Văn Nhung
Chủ tịch Hội Công nghệ sinh học Việt Nam
Nguyên Chủ nhiệm chương trình
Công nghệ sinh học Nhà nước

INTRODUCTION

Recently, agricultural production in Vietnam as well as in over the world has been developed strongly. Many crops new with high yielding and good quality have used. Therefore plant protection task have been considered as very important problem to promote intensified sustainable agriculture. One of new methods to increase the yield is applying biology settlement to agricultural production.

In Vietnam biotechnology is still new, in particularly produced and applied technology of parasitoids and enemies as well as microbiological insecticides to control and prevent diseases, weeds... on many crops. However, through in the years, our Government as well as many NGOs, Institutes, Universities have focused researching to produce bio-product and some enemies to contribute preventing disinterring occurred in production of agriculture, forestry and obtained prospective achievements.

The book "*Biotechnology in plant protection*" is written by Dr., Associate professor Pham Thi Thuy, Senior Researcher, National Institute for Plant Protection. Author wanted to supply to readers the information of researching results on biotechnology in plant protection in over the world as well as Vietnam. Author has researched for long time in laboratory as well as in the field and lectures through many Universities, so that she has collected a lot of experiences to write this work.

This is a precious document for readers, especially students and post- graduated in biotechnology and plant protection in Universities of country.

Respectful introduced to the readers.

Hanoi, May 25 of 2004

A handwritten signature in black ink, consisting of stylized cursive letters, followed by a horizontal line underneath.

*Le Van Nhung, Doctor of science, Professor
President of Vietnam Biotechnology Association
Former Chair- man of National biotechnology program*

LỜI NÓI ĐẦU

Trong những năm gần đây, nền nông nghiệp ở nước ta đang trên đà phát triển với hàng loạt cây trồng mới được lai tạo có năng suất cao, phẩm chất tốt đang thay thế dần những giống cũ, bản địa cổ truyền năng suất thấp. Nhiều biện pháp thâm canh mới được áp dụng vào sản xuất đã hình thành những vùng chuyên canh cây trồng rộng lớn, trong đó công nghệ sinh học trong bảo vệ thực vật có những đóng góp quan trọng tạo nên những sản phẩm hàng hoá có năng suất cao, phẩm chất tốt, an toàn và bền vững.

Thực tế trong 15 năm qua, cùng với sự phát triển của thế giới thì công nghệ sinh học ở nước ta đã đạt một số thành tựu đáng khích lệ, CNSH trong BVTV đã được nghiên cứu ở một số viện nghiên cứu và các trường đại học, bước đầu đã khẳng định được vai trò của chúng trong việc phòng trừ dịch hại bảo vệ cây trồng. Tuy nhiên những tài liệu tổng hợp về vấn đề này đến nay hầu như chưa có, hoặc còn tản mạn. Được sự động viên và cổ vũ của bạn bè, đồng nghiệp, bằng những kết quả đạt được trong quá trình công tác và kinh nghiệm nghiên cứu của mình, tác giả đã mạnh dạn tập hợp các tài liệu trong và ngoài nước với hy vọng cuốn sách này sẽ đáp ứng được yêu cầu cấp bách trong giai đoạn hiện nay về nghiên cứu và giảng dạy. Cuốn sách gồm 2 phần chính:

Phần 1: Vai trò của CNSH trong BVTV và những thành tựu cơ bản đạt được về công nghệ chuyển gen GMO, công nghệ sản xuất, ứng dụng các loài ký sinh, ăn thịt và thuốc trừ sâu vi sinh vật trong phòng trừ dịch hại cây trồng trên thế giới (Chương 1, 2, 3, 4, 5).

Với những khái niệm cơ bản về công nghệ sinh học dựa trên nền tảng của đấu tranh sinh học, cuốn sách này không chỉ là tài liệu chuyên khảo mà còn là giáo trình của từng học phần về CNSH trong BVTV giúp cho các sinh viên, học viên cao học và nghiên cứu sinh ngành công nghệ sinh học ở trường Đại học Bách khoa, Đại

học Khoa học Tự nhiên, Viện Đại học mở... và ngành bảo vệ thực vật ở các trường Đại học nông nghiệp trong cả nước biết và hiểu được ý nghĩa, vai trò của CNSH trong BVTV.

Phần 2: Nghiên cứu công nghệ và bước đầu sản xuất các loại côn trùng ký sinh ăn thịt và các chế phẩm vi sinh vật để ứng dụng phòng trừ các loài sâu hại cây trồng nông, lâm nghiệp ở Việt Nam trong thời gian qua (Chương 6, 7, 8, 9).

Trong phần này ghi nhận những kết quả đạt được chủ yếu về công nghệ sản xuất ong mắt đỏ (OMĐ), một số nghiên cứu ban đầu về thiên địch và cập nhật những kết quả nghiên cứu về công nghệ sản xuất và minh họa ứng dụng của một số chế phẩm vi sinh vật trừ sâu hại trong những năm qua ở Việt Nam của tác giả và đồng nghiệp. Đây là những tài liệu tổng hợp mang tính ứng dụng kết quả nghiên cứu vào thực tiễn sản xuất, giúp các cán bộ kỹ thuật ở các Viện nghiên cứu, các Trung tâm nông nghiệp và các nghiên cứu sinh tham khảo.

Tác giả xin cảm ơn Giáo sư, Viện sĩ Nguyễn Văn Đạo, Chủ tịch Hội đồng Khoa học tự nhiên, Giáo sư, Tiến sĩ Nguyễn Bá, Chủ tịch Hội đồng ngành Khoa học sự sống đã quan tâm hỗ trợ để cuốn sách được xuất bản, tác giả chân thành cảm ơn bà Ngô Thị Khuê và Ban thư ký Hội đồng Khoa học tự nhiên, Ban Khoa học công nghệ Đại học Quốc gia Hà Nội đã giúp đỡ nhiều trong quá trình xuất bản cuốn sách.

Tác giả biết ơn sâu sắc tới GS.TSKH Evgenia Videnova, người thầy hướng dẫn khoa học về công nghệ sinh học trong BVTV tại Sophia Bungaria những năm 1985-1989, xin cảm ơn GS. TS Yasuhisa Kunimi, PGS. TS Madoka Nakai, Giảng viên môn công nghệ sinh học trường Đại học Nông nghiệp và Công nghệ Tokyo Nhật Bản đã cung cấp những tài liệu và hợp tác nghiên cứu về bệnh lý côn trùng. Tác giả kính trọng cố PGS. TSKH Trương Thanh Giản, nguyên Phó Viện trưởng Viện Bảo vệ thực vật, nguyên Giám đốc Trung tâm sinh học đầu tiên, người rất tâm huyết với hướng nghiên cứu CNSH trong BVTV ở Việt Nam về OMĐ và virus côn trùng.

Trong quá trình biên soạn tác giả đã nhận được rất nhiều ý kiến quý báu của GS.TSKH Lê Văn Nhương, Chủ tịch Hội Công nghệ

sinh học Việt Nam, nguyên Chủ nhiệm Chương trình Công nghệ sinh học Nhà nước, nguyên Viện trưởng Viện Công nghệ sinh học và công nghệ thực phẩm, PGS. TS Đặng Thị Thu, nguyên Phó Viện trưởng Viện Công nghệ sinh học và công nghệ thực phẩm trường Đại học Bách khoa Hà Nội, TS Đào Hữu Ngọc, Phó Chủ nhiệm khoa Công nghệ sinh học, Viện Đại học mở Hà Nội, PGS. TS Nguyễn Thị Thu Cúc, bộ môn bảo vệ thực vật, trường Đại học Cần Thơ. Xin chân thành cảm ơn tất cả những sự đóng góp nói trên.

Mặc dù cố gắng đến thế nào chăng nữa, nhưng thời gian có hạn, đồng thời đây còn là nguồn tài liệu mới với những khó khăn nhất định trong bối cảnh nền CNSH về BVTV trong và ngoài nước đang trải qua quá trình phát triển phức tạp để đạt được chân lý, nên không sao tránh khỏi những thiếu sót về các thuật ngữ chuyên môn, nội dung, bố cục và hình thức trình bày. Rất mong bạn đọc gần xa lượng thứ và tác giả mong nhận được nhiều ý kiến đóng góp quý báu để lần tái bản được hoàn chỉnh hơn.

Cuối cùng xin chân thành cảm ơn Ban Giám đốc Nhà xuất bản Đại học Quốc gia Hà Nội, đặc biệt là PGS. TS Nguyễn Ngọc Quyền đã tận tình giúp đỡ để cuốn sách sớm ra mắt bạn đọc.

Một lần nữa xin trân trọng cảm ơn.

Hà Nội ngày 22/4/2004

Tác giả

PGS. TS. Phạm Thị Thùy

Viện Bảo vệ Thực vật

PREFACE

Recently, our agriculture have been developed and brought series of new - high yielding and quality varieties replacing local-older low yielding ones. Many intensive method in agriculture have used and created special large areas in which biotechnology in plant protection have played very important role contributing to produce high quality and yielding products for safety and sustainable agriculture.

In fact, through 15 years ago following the improvement in the world, our biotechnology have achieved successful results in many Institutes as well as Universities, however references in this matters have written not so much. Thank to researching results, experiences through many years and encouragement of friends, colleagues, author have tried her best to collect references in Vietnam and over the world. Hoping to contribute a good work to the readers.

The book consist of two episodes:

Episode 1: consist of 1, 2, 3, 4 and 5 chapter.

The role of biological technology in plant protection and basic achivement, produced technology of Genetically Modified Organism (GMO), enimies and biopesticides in the world.

The book supplied not only references but also the documents for lectures to help students and people understand the meaning and role of biotechnology in plant protection

Episode 2: consist of 6, 7, 8 and 9 chapter.

Researching and starting produced enimies and biopesticides to control disease on crops in Vietnam. In this episode the results of producing technology of *Trichogramma* sp have supported. Some of researching about enemies and bio-product such as Bt, virus and fungi, in this part helped technicians and post-graduated students to refer.

Many thank to Doctor of the science, Professor, Academician Nguyen Van Dao, President of Council for Natural science, Doctor, Professor Nguyen Ba, President of Section of life science, Mrs Ngo Thi

Khue, Secretary of Council for Natural science and science - technology department of National University was supported for this publication.

Author is grateful for the efforts of Doctor., Professor Evginia Videnova in consultancy on biotechnology in plant protection in Sophia, Bungaria. Thank the Doctor., Professor Yasuhisa Kunimi, the Doctor., associate Professor Madoka Nakai, lecturers of biotechnology of Tokyo Agricultural and technological University of Japan in supporting documents on co-operation in enthomopathogenic. Author is respectful to defunct Doctor of science, associate Professor Truong Thanh Gian, the former vice director of National Institute for plant protection, first Director of biology control center, who devoted his heart to the biotechnology direction on plant protection in Vietnam.

Special acknowledgement is made to the following scientists in reviewing this revised edition: The Doctor of science, Professor Le Van Nhung Director, Doctor., Associate Professor Dang Thi Thu, vice Director of bio and food technology of Hanoi Polytechnic University. The Doctor, Dao Huu Ngoc vice head department of Biotechnology of Hanoi open University. The Doctor., Associate Professor Nguyen Thi Thu Cuc, Department of plant protection of Cantho University.

The time of author have limited, as well as new documents blooming at situation of biotechnology in plant protection in country and over the world has suffered through the complicate - improved to obtain the real truth, therefore this book could not avoided some mistakes in content, structure, form and perform. Hoping to receive opinions to improve this book in the following edition.

Last but by no means least, my thanks to Director of National University Publishing House, especially to the Doctor., Associate Professor Nguyen Ngoc Quyen, for assistance in the earlier publishing this publication.

Hanoi, April 22 of 2004

Author

*Pham Thi Thuy, Doctor, Associate Professor
National Institute for Plant Protection*

Chương 1

KHÁI NIỆM VỀ CÔNG NGHỆ SINH HỌC TRONG BẢO VỆ THỰC VẬT

1.1. Vị trí của phương pháp sinh học trong hệ thống tổng hợp bảo vệ thực vật

1.1.1. Biện pháp hóa học giữ vị trí quan trọng trong BVTV từ những năm đầu của thế kỷ XX

Những năm đầu của thế kỷ XX, ngành hóa học bảo vệ thực vật đã phát triển với tốc độ rất nhanh, nhất là sau Đại chiến thế giới lần thứ hai, toàn thế giới đã sản xuất ra hơn 15 triệu tấn thuốc hóa học để phun trên diện tích hơn 4 tỷ ha cây trồng nông - lâm nghiệp. Thực tế cho thấy trên đồng ruộng đã giảm hẳn số lượng sâu bệnh hại và năng suất, sản lượng nông nghiệp tăng lên xấp xỉ hai lần. Kết quả này cho thấy chỉ cần có thuốc hóa học, con người có thể giải quyết được việc phòng trừ sâu bệnh hại cây trồng và thời gian đó biện pháp hóa học giữ vị trí khá quan trọng, gần như là độc tôn trong phòng trừ dịch hại bảo vệ cây trồng.

Từ giữa những năm 1950 trở đi việc sử dụng các loại thuốc trừ sâu hóa học đã không ngừng được tăng nhanh và phát triển rộng khắp trên nhiều đối tượng cây trồng, ở khắp mọi nơi trên toàn thế giới với số lượng ngày càng lớn. Vì vậy việc phòng trừ sâu bệnh hại ở nhiều nước đã bị lạm dụng, có khi còn quá tùy tiện, rất nhiều nơi chỉ trong một vụ đã phun tới 10-12 lần, thậm chí có khi lên tới 20-24 lần, đến lúc nào đó thì năng suất cây trồng đã không thể tăng lên được nữa mà bị chững lại và kết quả ngược lại là sâu bệnh hại lại có chiều hướng gia tăng bởi vì chúng đã quen dần với thuốc hóa

học. Thực tế cho thấy kết quả là sâu hại đã phát sinh, phát triển ngày một nhiều hơn, chúng đã phá cây trồng nhanh hơn và gây thiệt hại đáng kể. Có nhiều loài sâu hại trước đây chỉ là thứ yếu thì nay lại trở thành chủ yếu là do chúng đã phát sinh với số lượng lớn, rộng khắp trên toàn diện tích trồng trọt và phá hại rất mạnh. Chính điều đó đã gây ra những tổn thất và làm mùa màng thiệt hại nghiêm trọng, ảnh hưởng rất lớn đến năng suất và phẩm chất của nông sản.

1.1.2. Hạn chế của thuốc hóa học và vai trò của biện pháp sinh học trong bảo vệ thực vật vào thập kỷ 80 - 90 của thế kỷ XX

Do phun thuốc trừ sâu hóa học định kỳ với nồng độ cao nên môi trường sinh thái chung bị ô nhiễm trầm trọng, các nông sản bị nhiễm độc và ít nhiều cũng để lại dư lượng hóa chất trong nông sản thực phẩm.

Điều tra trên các cây trồng nông lâm nghiệp, các nhà khoa học đã phát hiện thấy có khoảng 500 loài sâu, nhện hại mang tính kháng thuốc. Các quần thể côn trùng ký sinh, thiên địch có ích như các loài ăn thịt và bắt mồi ngoài tự nhiên đã bị giảm hẳn số lượng. Ong bướm thụ phấn hoa đã bị tiêu diệt khá nhiều, điều này đã gây ảnh hưởng lớn đến năng suất cây trồng đặc biệt là các loại côn trùng thụ phấn chéo. Các loài giun và côn trùng sống trong đất có tác dụng làm xới đất và phân hủy các chất hữu cơ trong lớp đất cày cũng ngày một ít đi. Cá, tôm, cua, ếch, nhái... ở các ao hồ giảm sút rõ rệt, các loài chim thú ăn sâu cũng dần dần biến mất, có khi cạn kiệt.

Chính vì vậy, vai trò của các biện pháp sinh học trong đấu tranh sinh học đã được các nhà khoa học trong những năm 80 – 90 của thế kỷ XX đánh giá rất cao khi mà biện pháp hóa học đã bộc lộ rõ những hạn chế chính như sau:

- Thuốc đã tác động lên hệ côn trùng ký sinh và ăn thịt mạnh hơn nhiều so với đối tượng sâu hại cần phòng trừ.

- Thuốc tích tụ trong các cơ thể động vật, thực vật thông qua chuỗi mắt xích thức ăn, thuốc còn đọng lại cả trên đất, nước mà cá tôm đã ăn và con người lại ăn những loại cá tôm trên.

– Liều lượng thuốc trừ sâu cứ tăng dần nên dẫn đến môi sinh bị ảnh hưởng, sức khỏe con người bị giảm sút.

– Việc sử dụng liên tục một loại thuốc đã sinh ra những cá thể bị đột biến có khả năng chịu đựng cao với thuốc trừ sâu, làm cho sâu hại nhờn thuốc.

1.1.3. Đấu tranh sinh học trong tự nhiên là cơ sở, nền tảng của công nghệ sinh học trong bảo vệ thực vật

1.1.3.1. Lịch sử của đấu tranh sinh học

Lịch sử của việc ứng dụng đấu tranh sinh học đã được phát triển và tăng theo sự phát triển chung của nền kinh tế thế giới. Thêm vào đó, khi kinh tế ở mỗi nước phát triển thì cuộc sống của con người càng được cải thiện và đấu tranh sinh học cũng ngày càng được phát triển, khoa học về công nghệ sinh học trong BTVV càng được lãnh đạo của những nước đó chú ý để nâng cao chất lượng sản phẩm, phục vụ trở lại cho con người.

Có thể điểm qua một vài ví dụ cụ thể về lịch sử phát triển của đấu tranh sinh học: từ xa xưa con người đã biết sử dụng những loài ký sinh thiên địch và các vi sinh vật có ích để phòng trừ những loài côn trùng và nhện gây hại cây trồng; ngay từ thế kỷ I- IV, người nông dân Việt Nam đã biết dùng kiến vàng để phòng trừ sâu hại cam chanh; người Trung Hoa cổ xưa cũng biết dùng kiến vàng treo lên cây cho kiến ăn sâu, ăn bọ xít hại cây.

Năm 1856, tại Pháp nhà khoa học Fitch đã thí nghiệm dùng bọ rùa ăn rệp hại cây, tác giả nhận thấy có hiệu quả.

Năm 1882 tác giả Cook. Mc cho biết loài người đã biết sử dụng các loài côn trùng có ích như bọ mắt vàng, bọ xít, kiến... để diệt sâu bảo vệ cây trồng.

Đầu thế kỷ XX có rất nhiều công trình nghiên cứu mang tính quy luật về vai trò của các nhóm sâu ăn thịt như bọ rùa, bọ xít, kiến... của nhóm ký sinh như ong, ruồi. Vào những năm 1890-1897 nhà khoa học Koben người Đức đã thu thập được nấm *Metarhizium* ký sinh trên sâu hại từ Ha - oai, mang về Đức để nghiên cứu. Năm 1870-1895, nhà bác học Louis Paster cũng đã

phát hiện ra vi khuẩn *Bacillus thuringiensis* và nấm *Beauveria* gây hại trên con tằm với *Bombyx more*, mở ra hướng nghiên cứu sử dụng các vi sinh vật gây bệnh với sâu hại nói riêng và côn trùng hại nói chung.

Những năm gần đây nhiều nhà khoa học BVTV trên thế giới và trong nước đã nghiên cứu thành công việc kết hợp các biện pháp sinh học với biện pháp hóa học để phòng trừ sâu bệnh hại đạt kết quả tốt. Các kết quả nghiên cứu có giá trị của ngành hóa hữu cơ và hóa phân tích đã giúp cho một số nhà khoa học tách được các chất dẫn dụ sinh dục đối với một số đối tượng sâu hại làm cho con cái mất khả năng sinh sản dẫn đến loài sâu hại đó bị diệt vong.

Năm 1965, nhà khoa học Steiner đã nghiên cứu ra chất dẫn dụ ăn uống Metylengenol khi phối hợp với thuốc trừ sâu có nguồn gốc lân hữu cơ (phốt phát) theo tỷ lệ 97:3 (100%). Tác giả đã tẩm dịch hỗn hợp trên vào bã mía, kết quả cho thấy chất dẫn dụ ăn uống có thể dẫn dụ được các con đực của ruồi đục quả ở phạm vi bán kính xa 1km. Theo Steiner chỉ cần sử dụng 8 gram chất dẫn dụ ăn uống cho 1ha thì có thể tiêu diệt được hoàn toàn ruồi đục quả *Dacus dorsalis* hại cam chanh.

Chúng ta không ngạc nhiên với số lượng sách viết về côn trùng và đấu tranh sinh học ở những năm đầu thế kỷ XX bao gồm: *Lịch sử về côn trùng* của tác giả E.O. Essing (1931), *Phòng trừ sinh học côn trùng* H.L. Sweetman (1936), *Những nguyên lý về đấu tranh sinh học* của nhiều tác giả (1958), *Côn trùng có ích* của L.A.Swan (1964), *Phòng trừ sinh học côn trùng và cỏ dại* của P. Debach (1964), *Đấu tranh sinh học bởi những thiên địch tự nhiên* cũng do P. Debach viết năm 1974, *Lịch sử của đấu tranh sinh học* của các tác giả K.S. Hagen và J. M. Franz (1977). Ngày nay còn nhiều tác giả khác đã phát triển và hoàn thiện sách về phương pháp sinh học trong BVTV trên cơ sở những nguồn tài liệu nói trên.

Với những nguồn tài liệu bổ ích như vậy đã cho thấy đấu tranh sinh học rất quan trọng, chúng có vai trò hữu ích trong việc điều chỉnh trạng thái cân bằng sinh học trong tự nhiên. Hiểu được vấn đề này, trong tương lai con người sẽ dễ dàng vượt qua được những khó khăn, những thách thức một khi điều kiện khách quan và chủ quan

bất thuận làm dịch hại bùng phát trở lại, chúng ta sẽ tự điều chỉnh trên cơ sở khoa học của công nghệ sinh học trong BVTV.

Thực tế cho thấy trên thế giới đấu tranh sinh học đã được các nhà khoa học nghiên cứu từ lâu, ở nước ta cũng đã được biết đến vấn đề đấu tranh sinh học từ thời xa xưa nhưng những năm gần đây mới được triển khai nghiên cứu trên cơ sở công nghệ sinh học để phát triển và hoàn thiện quy trình một cách đồng bộ trên quy mô lớn nhằm góp phần vào việc ứng dụng bảo vệ cây trồng theo hướng bền vững để đáp ứng nông sản thực phẩm an toàn cho cuộc sống chung của con người.

1.1.3.2. Khái niệm về đấu tranh sinh học

Theo tài liệu của Hoàng Đức Nhuận thì có rất nhiều định nghĩa về đấu tranh sinh học (ĐTSH), nhưng định nghĩa đơn giản và dễ hiểu hơn cả: *Đấu tranh sinh học là biện pháp sử dụng sinh vật hoặc các sản phẩm của chúng nhằm ngăn chặn hoặc làm giảm bớt những thiệt hại do các sinh vật hại gây ra.*

Điều chỉnh sinh học là một quá trình trong đó các loài ký sinh, ăn thịt hoặc gây bệnh trên côn trùng hại xuất hiện trong sinh quần do sự tác động có ý thức của con người với mục đích là làm giảm số lượng cá thể của một loài vật hại nào đó đến mức sinh vật hại đó không còn gây hại, hoặc sự thiệt hại do nó gây ra không có ý nghĩa về mặt kinh tế.

Sử dụng kẻ thù tự nhiên trong đấu tranh sinh học là: Khi sâu hại gặp điều kiện thuận lợi mà phát triển mạnh thì nguyên tắc đầu tiên con người phải vận dụng là tạo mọi điều kiện không thuận lợi nhằm ngăn chặn sự phát triển và thu hẹp phạm vi ảnh hưởng của quần thể sâu hại đối với cây trồng.

Sử dụng biện pháp ĐTSH là vận dụng hài hòa những nguyên tắc và biện pháp sinh học trong phòng trừ sâu bệnh hại, vì vậy trong bảo vệ thực vật nếu như biết ứng dụng ĐTSH thì hiệu quả phòng trừ thường cao và hiệu quả được diễn ra liên tục trong thời gian dài. Các nhà khoa học coi đấu tranh sinh học là sinh thái học ứng dụng.

a. Cơ sở khoa học của đấu tranh sinh học trong BVTV

Tạo ra mối quan hệ mới không thuận lợi cho đối tượng gây hại trên cơ sở vận dụng sáng tạo nghĩa là đưa vào môi trường sống của sâu hại một yếu tố sinh học mới là kẻ thù tự nhiên để phá vỡ điều kiện mới không thuận lợi cho sự phát triển của quần thể sâu hại. Yếu tố sinh học mới đó là các loài ăn thịt, bắt mồi thay ký sinh ong, ruồi và các vi sinh vật gây bệnh côn trùng như Bt, virus, vi nấm,...

Tạo nên hiện tượng nhiều ký sinh cả trong điều kiện tự nhiên cũng như trong nghiên cứu thí nghiệm dựa trên cơ sở côn trùng hại thường có các loại sinh vật có ích ký sinh. Bình thường thì chỉ có một loại ký sinh nhưng trong thực tế cũng có cả thể côn trùng có từ hai loài ký sinh trở lên, hiện tượng này được các nhà khoa học gọi là nhiều ký sinh dẫn đến sự cạnh tranh thức ăn trực tiếp giữa các loài ký sinh (ví dụ như ong *Opius* sp ký sinh trên ruồi đục quả trong cùng một thời gian đã tạo nên sự cạnh tranh quyết liệt). Theo Howard năm 1911 thì việc nghiên cứu tác động của hiện tượng nhiều ký sinh để tiêu diệt loài sâu róm đã dẫn tới lý thuyết tuần tự trong đấu tranh sinh học, nghĩa là tạo cho mỗi loại ký sinh sẽ tác động vào một giai đoạn phát triển của sâu hại. Hiện nay hiện tượng nhiều ký sinh ít thực hiện vì theo các nhà khoa học thì chỉ cần một loài ký sinh tác động có hiệu quả cũng đủ kiểm chế khả năng phát triển của sâu hại.

-- Vai trò của ký sinh và bắt mồi, ăn thịt trong đấu tranh sinh học: Tùy điều kiện cụ thể người ta thường căn cứ vào mối quan hệ sinh học đặc thù giữa sâu hại với kẻ thù tự nhiên mà quyết định sử dụng loài ký sinh hoặc loài bắt mồi ăn thịt để phòng trừ trên cơ sở của công nghệ sinh học.

-- Đấu tranh sinh học theo vùng địa lý: Kết quả thí nghiệm trên đồng ruộng cho thấy côn trùng thường phát triển thích hợp trong điều kiện thuận lợi về nhiệt độ, ẩm độ, lượng chiếu sáng, lượng mưa cũng như chế độ dinh dưỡng đất đai... Đấu tranh sinh học với các loại côn trùng hại này thường dễ dàng hơn và ngược lại.

b. Các nhóm sinh vật có ích trong ĐTSH

Có rất nhiều nhóm sinh vật đang được sử dụng rộng rãi trong ĐTSH:

- Nhóm thiên địch gồm ký sinh và bắt mồi ăn thịt.
- Nhóm vi sinh vật như vi khuẩn Bt, virus (NPV, GV, CPV...), vi nấm *Beauveria*, *Metarhizium*, *Nomuraea*...
- Nhóm vi tảo, tuyến trùng ăn sâu...
- Nhóm nguyên sinh động vật.
- Nhóm chim, thú...

Ở mỗi nhóm sinh vật có ích đều phát huy vai trò và tác dụng to lớn của chúng trong từng biện pháp sinh học để phòng chống các loài dịch hại cây trồng nông, lâm nghiệp.

1.1.4. Vị trí của phương pháp sinh học trong bảo vệ thực vật

Trong mấy thập kỷ gần đây, chiến lược bảo vệ cây trồng trên thế giới đã được thay đổi một cách cơ bản vì vậy biện pháp sinh học ngày càng thể hiện rõ tính ưu việt và vị trí đặc biệt của nó trong hệ thống tổng hợp bảo vệ cây trồng. Nội dung chính của biện pháp sinh học trong BVTV là:

Tăng cường sự điều hòa tự nhiên để làm giảm lâu dài số lượng các cơ thể sinh vật gây hại xuống mức không thể gây tổn thất lớn về kinh tế đối với cây trồng. Vì vậy tất cả các phương pháp được vận dụng để đấu tranh chống các cơ thể gây hại đều phải nhằm nâng cao thể năng sinh học của các kẻ thù tự nhiên để tạo nên mối quan hệ sinh học mới trong sinh quần đồng ruộng làm cho các sinh vật hại không thuận lợi cả về mặt sinh sản cũng như sự tiếp tục phát triển.

Con người phải luôn luôn kìm hãm sự tăng trưởng về số lượng của các cơ thể có hại trong các quần thể tự nhiên trên cơ sở tác động tối ưu đến môi trường sống, nghĩa là bảo vệ và tăng cường sự hoạt động của các loài thiên địch có ích trong tự nhiên cũng như nghiên cứu và sử dụng các tác nhân sinh học mới trong công tác phòng trừ dịch hại.

Những năm vừa qua ở Việt Nam việc sử dụng các giống cây trồng chống chịu với sâu bệnh và các biện pháp phòng trừ sâu bệnh một cách tổng hợp tuy đã có nhiều tiến bộ, nhưng thực sự chưa được nhân rộng. Biện pháp hóa học vẫn giữ vị trí chủ đạo trong bảo vệ

thực vật, mặc dù số lượng thuốc hóa học được dùng còn thấp so với nhiều nước trên thế giới, nhưng vì sử dụng thuốc một cách tùy tiện thiếu hiểu biết nên đã gây ra những hậu quả tiêu cực tương tự như đã xảy ra trên thế giới trước đây.

Đã đến lúc nền sản xuất nông nghiệp ở Việt Nam đòi hỏi công tác BVTV phải bảo đảm và ổn định lâu dài về hiệu quả phòng trừ sâu bệnh cũng như việc ngăn ngừa được dư lượng độc hại của thuốc trừ sâu trên nông sản thực phẩm, đồng thời bảo vệ được môi trường sống thì vấn đề nghiên cứu các biện pháp sinh học trong bảo vệ thực vật phải được nghiên cứu một cách nghiêm túc. Công tác bảo vệ thực vật phải nhanh chóng từng bước chuyển dần sang một chiến lược mới, đó là hệ thống chiến lược bao gồm nhiều biện pháp phòng trừ tổng hợp, lấy các biện pháp sinh học và sinh thái học làm trọng tâm, kết hợp hài hòa sử dụng thuốc hóa học với liều lượng thấp một cách hợp lý mà vẫn đạt hiệu quả phòng trừ cao, nhằm khắc phục dần những hiện tượng tiêu cực do thuốc hóa học gây ra, đồng thời góp phần tạo dựng và thiết lập nên một nền nông nghiệp sạch, an toàn, ổn định và bền vững.

Ngày nay, để đạt được điều đó đòi hỏi các nhà khoa học, các nhà doanh nghiệp và quản lý, đặc biệt là người nông dân tạo ra các sản phẩm hàng hóa như rau, quả, củ... phải hiểu đúng vị trí và ý nghĩa của các biện pháp sinh học trong BVTV. Từ đó hoạch định chính sách đầu tư cho nghiên cứu CNSH, các nhà khoa học có cơ hội nghiên cứu chuyển giao cho cơ sở sản xuất và người nông dân tự nguyện mua các sản phẩm sinh học để sử dụng như mua thuốc trừ sâu khác có chất lượng, đạt hiệu quả phòng trừ dịch hại cao, đảm bảo cây trồng an toàn theo đúng phương châm liên kết giữa 4 nhà: Nhà nông, nhà khoa học, nhà doanh nghiệp và Nhà nước mà Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn đã đề ra.

1.2. Các hướng chính của phương pháp sinh học cơ sở của công nghệ sinh học trong bảo vệ thực vật

Ở nước ta trong ba thập kỷ gần đây, trên cơ sở phát triển với nhịp độ nhanh của các môn khoa học nói chung và các biện pháp

sinh học điều hòa số lượng các cơ thể gây hại nói riêng thì các hướng chính của phương pháp sinh học phòng trừ sâu, bệnh hại, cỏ dại... gây ra đã được các nhà khoa học định hướng và xác lập thành một thể thống nhất, dựa trên hai hướng chính sau đây.

1.2.1. Tính toán để nâng cao hoạt lực của các nguồn sinh vật có ích ngoài tự nhiên

Xác định thành phần và hiệu quả của các loài côn trùng ký sinh- ăn thịt có ích và các tác nhân vi sinh vật gây bệnh trên cơ thể sinh vật hại có sẵn ngoài tự nhiên nhằm mục đích duy trì sự xuất hiện của chúng trên đồng ruộng để làm giảm một phần hoặc tiến tới giảm khối lượng sử dụng thuốc trừ sâu hóa học.

-- Xây dựng cơ cấu cây trồng thích hợp để tạo ra các nguồn thức ăn có các cơ chế không thích hợp với các loài sâu, bệnh, nhện hại gây ra như gieo trồng các loại cây có khả năng chuyển gen độc, các cây có khả năng miễn dịch, các giống mới có khả năng kháng được sâu bệnh hại...

-- Xác lập các biện pháp canh tác thích hợp để nâng cao hoạt tính của các sinh vật có ích.

- Sử dụng các loại thuốc trừ sâu hóa học có ảnh hưởng thấp nhất đối với các quần thể côn trùng ký sinh - ăn thịt và bắt mỗi cũng như không ảnh hưởng tới môi trường sống cộng đồng.

1.2.2. Nghiên cứu tạo ra các thuốc trừ sâu sinh học và sử dụng các vũ khí sinh học để ứng dụng trong phòng trừ sinh vật gây hại

Sản xuất và sử dụng rộng rãi các loại thuốc trừ sâu vi sinh vật trên cơ sở các nguồn vi khuẩn, virus, vi nấm, vi tảo và các thuốc kháng sinh.

- Sử dụng các chất có hoạt tính sinh học như các pheromon sinh dục, các hoocmon sinh trưởng, các chất dẫn dụ ăn uống, các chất gây ngán và các chất xua đuổi côn trùng v.v...

- Sản xuất trên quy mô công nghiệp để phóng thả các loại côn trùng và nhện ký sinh - ăn thịt có ích lên đồng ruộng nhằm hạn chế quần thể sâu hại.

- Phóng thả các côn trùng có hại đã được gây vô sinh nhằm tạo ra sự cạnh tranh sinh dục với quần thể sâu hại ngoài tự nhiên.

- Sử dụng các côn trùng ăn thực vật, các tuyến trùng và các tác nhân gây bệnh chuyên tính hẹp đã qua kiểm dịch để diệt trừ các loài cỏ gây hại trên cây trồng.

Trong hai hướng phát triển trên, hiện nay các nhà khoa học đặc biệt chú ý đến hướng nghiên cứu thứ hai, bởi hướng này hầu hết phải dựa trên nền tảng nghiên cứu của công nghệ sinh học mới có thể phát triển được phương pháp sản xuất các loại thuốc trừ sâu sinh học đạt chất lượng cao, mang tính ổn định để sử dụng rộng rãi trong phòng trừ dịch hại cây nông, lâm nghiệp.

Ngày nay trên thế giới đã có rất nhiều công trình khoa học nghiên cứu về CNSH trong bảo vệ thực vật và rất nhiều nước đã thu được những kết quả khả quan trong quá trình triển khai ứng dụng các hướng sinh học phòng trừ sâu hại, bệnh hại, cỏ dại và chuột hại để bảo vệ cây trồng.

1.2.3. Những phương pháp sinh học để phòng trừ các dịch hại

1.2.3.1. Trừ sâu hại

- Sử dụng các loại côn trùng và nhện ký sinh - ăn thịt, bắt mồi.

- Nghiên cứu các tác nhân gây bệnh côn trùng như sử dụng các loại thuốc vi sinh vật trừ sâu hại có nguồn gốc từ vi khuẩn, virus và vi nấm,... trên cơ sở của công nghệ gen, công nghệ nhân tế bào, công nghệ vi sinh.

Theo Steinhaus (1963) thì bệnh côn trùng đóng vai trò quan trọng trong việc điều chỉnh số lượng dịch hại cây trồng. Trong số nhóm côn trùng hại chính phải kể đến nhiều loài thuộc các bộ cánh thẳng Orthoptera, cánh đều Homoptera, cánh nửa Hemiptera, cánh vẩy Lepidoptera, cánh cứng Coleoptera, hai cánh Diptera, cánh màng Hymenoptera, thậm chí cả những loài trong lớp nhện Acarina.

- Sử dụng tuyến trùng trừ sâu hại.

- Sử dụng các chất có hoạt tính sinh học như các chất dẫn dụ sinh dục Pheromone, các chất hormone sinh trưởng, các anti-hormone.

- Sử dụng các vi tảo xanh-lục trừ sâu hại...

1.2.3.2. Trừ bệnh hại

- Sử dụng các chất kháng sinh.
- Sử dụng nấm đối kháng *Trichoderma* sp.
- Sử dụng các xạ khuẩn đối kháng.
- Sử dụng các vi khuẩn huỳnh quang *Pseudomonas fluorescens*...

1.2.3.3. Trừ tuyến trùng gây hại cây trồng

- Sử dụng các độc tố của vi khuẩn *Bacillus* sp.
- Sử dụng các vi nấm *Athrobotrys*...
- Sử dụng xạ khuẩn *Streptomyces dicklowi*...

1.2.3.4. Trừ chuột hại

- Sử dụng vi khuẩn *Salmonella enteridis* Ishatrenko.
- Sử dụng các bẫy chuột TBS.
- Sử dụng bẫy bán nguyệt.
- Sử dụng mèo ăn chuột.

1.2.3.5. Phương pháp sinh học trừ cỏ dại hại cây trồng

- Sử dụng các côn trùng chuyên tính hẹp.
- Sử dụng các vi sinh vật chuyên tính hẹp để lây bệnh trên cỏ dại.

1.2.3.6. Áp dụng phương pháp di truyền để phòng chống sâu hại

- Gây vô sinh sâu hại cây trồng.
- Chọn tạo ra các nòi nhện ăn thịt và các côn trùng ký sinh - ăn thịt có khả năng chống chịu, sinh sản cao.
- Chọn tạo các chủng vi sinh vật có độc tính cao.

1.2.3.7. Sản xuất công nghiệp các côn trùng gây hại

- Sản xuất ra các thuốc trừ sâu sinh học (NPV, GV...).
- Phương pháp di truyền trừ sâu.
- Phương pháp thử thuốc trừ sâu...

1.3. Khái niệm về công nghệ sinh học trong bảo vệ thực vật

1.3.1. Khái niệm về công nghệ sinh học

Công nghệ sinh học là tập hợp tất cả các ngành khoa học về sự sống như sinh học phân tử, di truyền học, sinh hóa học và vi sinh vật học... trên cơ sở đó khai thác khả năng các hoạt động sống của các vi sinh vật, tế bào động, thực vật, các cơ thể sống... để nâng cao các quá trình sinh học đó trên quy mô công nghiệp.

Hiện nay trên thế giới cũng như ở Việt Nam công nghệ sinh học nói chung thường bao gồm các loại công nghệ mang tính kỹ thuật cao theo hướng sinh học tập trung chủ yếu:

- Công nghệ gen (sinh học phân tử, kỹ thuật di truyền, sinh hóa học, sinh lý học).
- Công nghệ tế bào và mô.
- Công nghệ vi sinh.
- Công nghệ enzym.
- Công nghệ điều khiển và tin học sinh học.

Công nghệ sinh học nói chung chỉ có thể hình thành và phát triển khi các ngành khoa học cơ bản khác đã đạt ở mức công nghệ cao và đã được tích lũy, sáng tạo. Ngày nay CNSH nói chung đang được phát triển dựa trên cơ sở của các ngành khoa học tự nhiên khác nhau với những thành tựu đạt được của hầu hết các cuộc cách mạng về công nghiệp. Vì vậy CNSH đòi hỏi phải có kiến thức không chỉ về khoa học tự nhiên mà còn phải có kiến thức về công nghệ. Ở những nước tiên tiến trên thế giới khi có ngành CNSH phát triển, thường phải kết hợp hài hòa giữa các ngành khoa học công nghệ cao như điện tử, sinh học, vật liệu mới... với kinh tế, sinh thái và môi trường nói chung.

Khái niệm CNSH (Biotechnology) ra đời và thực tế nhiều nước tiên tiến trên thế giới đã nghiên cứu và sử dụng khá phổ biến ở cuối thế kỷ XX như là một tất yếu. CNSH là một quá trình chuyển hóa các tri thức của khoa học kỹ thuật về sự sống thành ngành công nghiệp sinh học.

Công nghiệp sinh học là quá trình sản xuất hàng loạt, đồng bộ theo quy mô lớn bằng công nghệ lên men các sản phẩm sinh học bao gồm: sinh khối tế bào động vật, thực vật, vi sinh vật và các chế phẩm sinh học khác như enzym, protein, peptin hoạt tính, các chất kháng sinh, các hoóc môn sinh trưởng, các vacxin chữa bệnh cho người và động vật...

Như vậy CNSH là cơ sở khoa học của nền công nghiệp sinh học nghĩa là cơ sở chuyển tải các kỹ thuật sinh học thành công nghiệp với quy mô sản xuất lớn. Điều đó đòi hỏi người làm công nghệ phải biết kết hợp giữa kỹ thuật công nghệ với các thiết bị công nghệ cao để có thể sản xuất và thương mại hóa sản phẩm cũng như ứng dụng được những sản phẩm khoa học vào đời sống, sản xuất để phục vụ cho cuộc sống của con người.

1.3.2. Khái niệm công nghệ sinh học trong bảo vệ thực vật

Công nghệ sinh học trong bảo vệ thực vật là vận dụng các kỹ thuật cao mang tính công nghiệp về sinh học trong bảo vệ thực vật để sản xuất ra các loại thuốc trừ sâu sinh học và các loài ký sinh ăn thịt góp phần quan trọng trong việc phòng trừ sâu, bệnh, chuột, cỏ dại... hại cây trồng nhằm đạt hiệu quả kinh tế cũng như xã hội cao, theo hướng bảo vệ môi trường sinh thái cộng đồng, tạo ra các nông sản phẩm sạch, an toàn. Phần lớn công nghệ sinh học được thực hiện trên cơ sở chuyển các gen tái tổ hợp để tái sinh tế bào thành cây hoàn chỉnh mang gen mới Genetically Modified Organism (GMO), các nhà khoa học gọi là cây trồng biến đổi gen.

Việc các nhà khoa học phát hiện ra những gen quan trọng trong tự nhiên là cơ sở tạo ra các cơ thể biến đổi di truyền. Các phương pháp sinh học phân tử đã giúp con người phát hiện ngày càng nhiều các gen mới có thể tạo ra cuộc cách mạng trong nông nghiệp như:

- Phát hiện các gen chống chịu với các loại sâu bệnh hại cây trồng.

– Phát hiện các gen kháng thuốc trừ cỏ để đưa gen này vào cây trồng nhằm giảm chi phí thuốc trừ cỏ, đồng thời nâng cao năng suất.

– Phát hiện các gen chín sớm để chuyển gen này vào cây nhằm rút ngắn thời gian sinh trưởng của cây trồng.

– Phát hiện các gen kiểm soát quá trình chín sớm và các gen kim hãm sinh tổng hợp ethylen để bảo quản hoa quả cả trên đồng ruộng và sau thu hoạch.

– Phát hiện các gen chìa khoá của quá trình quang hợp trong đó có 3 gen đóng vai trò chủ đạo trong chu trình quang hợp của cây C4 đã được tách ra và chuyển vào cây C3. Nhờ sự phát hiện đó các nhà khoa học đã tạo được giống lúa nước có năng suất cao hơn giống lúa không chuyển gen từ 30 - 50%.

Các kỹ thuật của CNSH trong BVTV tập trung chủ yếu là:

– Công nghệ biến đổi gen GMO để chuyển các gen như gen Bt, gen virus, gen kim hãm men tiêu hóa, gen kháng thuốc trừ cỏ vào cây nhằm hạn chế sự phát sinh sâu, bệnh, cỏ dại hại cây trồng.

– Công nghệ vi sinh để sản xuất ra các thuốc trừ sâu vi sinh vật như Bt, nấm và các thuốc đối kháng trừ bệnh hại cây trồng.

– Công nghệ tế bào để nhân nhiễm và tạo ra các chế phẩm virus trừ sâu hại.

– Công nghệ chẩn đoán nhanh bệnh cây bằng các bộ KIT (ELISA, PCR...)

– Công nghệ sinh học chọn tạo các giống cây trồng có khả năng chống chịu với sâu bệnh, cỏ dại và điều kiện bất lợi của ngoại cảnh.

– Công nghệ sản xuất các loài ký sinh, ăn thịt, tuyến trùng có ích...

Như vậy khái niệm về công nghệ sinh học BVTV phải được hiểu rộng hơn và được phát triển ở mức độ cao hơn để nâng cao và làm tăng khả năng sử dụng của các biện pháp sinh học trong phòng trừ dịch hại cây trồng, góp phần rất quan trọng vào việc điều khiển trạng thái cân bằng sinh học trong tự nhiên.

Công nghệ sinh học mang ý nghĩa về mặt công nghệ gắn liền với quy mô công nghiệp hay nói khác đi CNSH phải luôn luôn đi liền với thiết bị hiện đại, với công nghệ cao vì chính thiết bị là cầu nối giữa

khoa học và sản xuất.

Công nghệ sinh học trong BVTV dựa trên nền tảng của các phương pháp sinh học, ngược lại các biện pháp sinh học muốn triển khai tốt vào thực tiễn sản xuất phải dựa trên nền CNSH được phát triển, hay nói khác đi phương pháp sinh học chỉ là cơ sở để CNSH phát triển. Như vậy, biện pháp sinh học có mối quan hệ chặt chẽ và mật thiết với CNSH. Biện pháp sinh học chỉ được phát huy tác dụng khi CNSH được đầu tư thỏa đáng, về mặt công nghệ đòi hỏi các nhà khoa học chủ trì cũng như cán bộ thực hiện phải có kiến thức để nghiên cứu bằng tư duy sáng tạo và sử dụng những thiết bị hiện đại nhằm thực hiện tốt quy trình công nghệ vào sản xuất, tạo ra các sản phẩm sinh học nói chung đảm bảo chất lượng ở quy mô công nghiệp, có khả năng ứng dụng rộng rãi vào sản xuất trên diện tích lớn.

Công nghệ sinh học trong BVTV còn đòi hỏi các cán bộ khoa học và cán bộ kỹ thuật phải biết vận dụng các phương pháp sinh học ở mức công nghệ cao vào bảo vệ cây trồng, phải tâm huyết với nghề, phải say mê với đồng ruộng thì mới mong đạt được hiệu quả kinh tế và xã hội.

Thực tế hiện nay CNSH trong BVTV còn bị phân tâm bởi nền CNSH nói chung đang trong quá trình phát triển phức tạp để đạt được chân lý nên còn gặp khá nhiều khó khăn. Phần lớn thuốc trừ sâu vi sinh vật đang trong giai đoạn sản xuất bằng dây chuyền đơn giản từ thủ công đến bán công nghiệp, do đó tiêu chuẩn chất lượng không ổn định, ngoài ra còn nhiều hàng giả rất khó nhận biết, dẫn đến thiệt hại cho Nhà nước, cho người nông dân sử dụng và hậu quả là khôn lường.

Những năm qua trên thế giới, công nghệ sinh học BVTV ở nhiều nước đã phát triển ở mức độ cao, thực tế trên một số đồng ruộng đã điều chỉnh được trạng thái cân bằng sinh học trong tự nhiên, nghĩa là khi trên đồng ruộng có sâu hại xuất hiện thì chúng chính là nguồn ký chủ cho hàng loạt những loài ký sinh, thiên địch và những vi sinh vật có ích tấn công, nông sản phẩm thực sự an toàn. Hy vọng trong tương lai không xa, CNSH trong BVTV ở nước ta được đầu tư để phát triển và chính những nhà khoa học BVTV sẽ góp phần không nhỏ vào sự nghiệp phát triển nông thôn, tạo ra những nông

sản thực phẩm hàng hóa an toàn, có chất lượng cao, để tiến kịp với các nước trên thế giới, trước mắt là các nước trong khu vực Đông Nam Á.

Chương 2

CÁC THÀNH TỰU VỀ CÔNG NGHỆ CHUYỂN GEN TRONG BẢO VỆ THỰC VẬT TRÊN THẾ GIỚI

2.1. Sự thiệt hại do sâu bệnh hại gây ra và hậu quả của việc sử dụng ồ ạt các loại nông dược có nguồn gốc hóa học

2.1.1. Sự thiệt hại do sâu bệnh hại gây ra

2.1.1.1. Tác động xấu đến sinh trưởng và phát triển của các loại cây trồng

– Các loại dịch hại đã làm đảo lộn, làm rối loạn các quá trình sinh lý sinh hóa của cây, làm hủy hoại các bộ phận của cây và gây độc cho cây cũng như các sản phẩm nông nghiệp.

- Dịch hại cây trồng làm giảm giá trị hàng hóa.
- Làm thoái hóa giống cây trồng.

2.1.1.2. Các loại dịch hại đã gây ra những thiệt hại kinh tế

- Làm mất sản lượng hoặc làm giảm sút năng suất.
- Làm giảm chất lượng nông sản.
- Làm giảm khả năng chế biến nông sản phẩm.
- Làm tăng chi phí sản xuất.

Đánh giá về sự thiệt hại của nông sản do sâu bệnh hại gây ra thì thật khó chính xác, song theo ước tính của Tổ chức Nông lương quốc tế (FAO) thì:

- + Chi phí sử dụng thuốc hóa học để phòng trừ các loại sâu bệnh

hại cây trồng là rất lớn, vì có khoảng 67.000 loài gây hại cây trồng nông lâm nghiệp, trong đó khoảng 9000 loài côn trùng và nhện hại quan trọng.

+ Bình quân hàng năm sản lượng nông nghiệp bị mất đi khoảng 20-30% tổng sản lượng trị giá hàng trăm tỉ đô la Mỹ (USD). Số liệu thu thập được trình bày ở bảng 2.1.

Bảng 2.1. Thiệt hại do sâu bệnh đối với nông nghiệp thế giới năm 1993 (theo A.F. Krer, ISAAA atigN° 2, 1997)

Cây trồng	Thiệt hại do bệnh (Tỉ USD)	Thiệt hại do sâu					
		Có dùng thuốc trừ sâu			Không dùng thuốc		
		%	Triệu tấn	Tỉ USD	%	Triệu tấn	Tỉ USD
Cây ăn quả	16	6	23	20	23	89	76
Rau	10	9	44	25	15	73	42
Bông	21				35	19	3
Lúa	9	27	145	45	29	15	48
Ngô	9	12	68	8	18	103	12

+ Năm 1994, mặc dù chi phí sử dụng thuốc bảo vệ thực vật trên toàn thế giới là 8 tỷ 110 triệu USD, nhưng vẫn bị thiệt hại do sâu bệnh gây ra hơn 100 tỷ USD.

Bảng 2. 2. Phân bố sử dụng thuốc trừ sâu bệnh trên thế giới theo cây trồng, năm 1994

Cây trồng	Triệu USD	Tỷ lệ (%)
Rau và quả	2, 465	30
Bông	1,870	23
Lúa	1,190	15
Ngô	1,620	8
Các cây khác	1,965	24
Tổng cộng	8,110	100

Ở nước ta trong những năm qua lượng thuốc sử dụng trong BVTV đã không ngừng gia tăng, theo số liệu của Tổng cục Thống kê (bảng 2.3).

Với lượng thuốc sử dụng lớn như vậy thì chi phí để sản xuất lượng thuốc này tất nhiên là rất lớn. Nhưng trong cuộc chiến phòng chống sâu bệnh hại cây trồng bằng thuốc hóa học, con người dù đã cố gắng đến đâu chẳng nữa nhưng vẫn bị thất bại, vì sâu bệnh hại vẫn tồn tại liên tục với số lượng ngày càng nhiều, thực chất đây là bản chất của sự cạnh tranh sinh tồn trong đấu tranh sinh học.

Mặc dù chi phí quá lớn như trên song hiệu quả không cao. Do vậy thuốc trừ sâu hóa học chỉ là giải pháp tình thế cấp bách mà thôi.

Bảng 2.3. Lượng thuốc bảo vệ thực vật đã sử dụng ở Việt Nam từ 1991 - 2000 (tấn)

Chủng loại	1991		1993		1995		1997		2000	
	Khối lượng	%	Khối lượng	%	Khối lượng	%	Khối lượng	%	Khối lượng	%
Thuốc trừ sâu	17,59	82,2	18,10	74,13	17,70	69,15	20,50	68,33	68,92	67,10
Thuốc trừ bệnh	2,70	12,6	2,800	11,50	3,800	14,84	4,650	15,50	13,50	13,14
Thuốc diệt cỏ	5,00	3,3	2,600	10,65	3,050	11,91	3,500	11,70	15,70	15,28
Thuốc khác	4,10	1,9	0,915	3,75	1,050	4,10	1,350	4,50	4,60	4,46
Tổng số	29,39	100	24,415	100	25,600	100	30,000	104	102,72	100

2.1.2. Hậu quả trên đồng ruộng sau những năm thực hiện cuộc cách mạng xanh lần thứ nhất và hóa học hóa nông nghiệp

2.1.2.1. Môi trường sống chung cũng như môi trường sinh thái bị ô nhiễm trầm trọng

- Các nông sản thực phẩm và đất trồng trọt bị nhiễm bẩn bởi các hóa chất độc hại.
- Cấu trúc đồng ruộng ở khắp mọi nơi bị mất cân bằng sinh thái.
- Thuốc hóa học gây độc hại và làm ảnh hưởng tới sức khỏe của người và các gia súc, gia cầm, động vật khác.

2.1.2.2. Gây ra tình kháng thuốc của các loài sâu hại

Theo số liệu của các nhà khoa học thì muốn đạt được hiệu quả diệt sâu hàng năm, hàng vụ trồng trọt người ta phải tăng thêm nồng độ thuốc sử dụng cho đến một lúc nào đó sâu hại không còn mẫn cảm với loại thuốc đó nữa, nghĩa là sâu hại đã kháng thuốc hóa học. Năm 2000 Viện Bảo vệ thực vật đã xác định sâu tơ đã chống tất cả

các loại thuốc hóa học có nguồn gốc lân và clo hữu cơ. Sâu xanh hại bông cũng đã chống thuốc. Các loài nấm hại cây trồng và cỏ dại cũng kháng thuốc.

2.1.2.3. Làm mất đi tính đa dạng sinh học

Rất nhiều tài liệu cho biết thuốc hóa học trừ sâu không chỉ tiêu diệt các loài sâu có hại mà còn tiêu diệt cả những loài ký sinh thiên địch có ích khác. Thuốc Metylparathion rất độc đối với các loài ong ký sinh trứng và sâu non của sâu đục thân lúa (Van der Laan 1965).

- Các quần thể côn trùng ký sinh - ăn thịt đã bị giảm hẳn về số lượng. Cụ thể thuốc Thiodan, Monitor, Wofatox... đã làm giảm đáng kể mật độ của bọ rùa đỏ, bọ xít mù xanh và các loại nhện ăn thịt...

- Ong bướm thụ phấn hoa đã bị thuốc hóa học tiêu diệt rất nhiều.

- Các loại côn trùng sống trong đất và các loài giun tạo xốp đất làm phân hủy các chất hữu cơ trong lớp đất cày cũng ngày một ít đi.

2.1.2.4. Làm bùng phát dịch hại mới

Khi sử dụng thuốc trừ sâu một cách phổ biến thì những loài sâu hại trước đây chỉ là thứ yếu, sau một thời gian quen thuốc chúng lại bùng phát lên trở thành chủ yếu và gây hại mạnh, làm giảm đáng kể năng suất. Ví dụ như trên cây bông, nếu phòng trừ được sâu xanh đục quả bông thì chỉ sau một thời gian ngắn sâu loang lại nổi lên và gây hại chủ yếu, chúng cũng làm giảm đáng kể năng suất.

2.1.2.5. Gây hiện tượng tái phát dịch hại

Việc sử dụng thuốc trừ sâu hóa học chỉ là giải pháp cấp bách mang tính tình thế bởi thuốc chỉ có hiệu quả trước mắt, sau khi phun mật độ sâu hại tuy có giảm đi, nhưng trong thực tế thì mật độ sâu không những không giảm đi mà còn gia tăng hơn trước dù rằng đã tăng nồng độ, tăng lượng thuốc lên, hậu quả là mùa màng bị giảm sút. Nguyên nhân là do thuốc hóa học chỉ diệt được sâu hại và các loại thiên địch có ích tại chỗ, còn các pha khác như

trứng, nhộng chưa bị chết; khi lớp trứng mới nở ra thì chúng đã quen với thuốc; mặt khác những cá thể sâu hại còn sống sót đã tỏ ra có sức sống mạnh hơn, hậu quả gây hại lớn hơn, nhiều nhà côn trùng gọi hiện tượng tái phát dịch hại như trên là hiện tượng “bọt phát” dịch hại.

2.2. Chiến lược bảo vệ thực vật mới và vai trò của công nghệ sinh học trong bảo vệ thực vật

2.2.1. Chiến lược bảo vệ thực vật mới trước đây được đặt trên cơ sở sinh học - tổng hợp với một khái niệm mới là quản lý cây trồng tổng hợp và hiện nay đã được thay là quản lý dịch hại tổng hợp

2.2.1.1. Một số khái niệm chung về các biện pháp phòng trừ tổng hợp

– Phòng trừ tổng hợp (Integrated Control - IC) được ra đời năm 1970, IC là hài hòa, xen kẽ giữa các biện pháp để phòng trừ dịch hại nhằm làm giảm số lần phun thuốc hóa học một cách hợp lý.

– Phòng trừ dịch hại tổng hợp IPC (Integrated Pest Control) được ra đời năm 1985, IPC nghĩa là phòng trừ dịch hại một cách tổng hợp vì những năm 50 - 60 của thế kỷ XX, các nhà khoa học cho rằng, những biện pháp đơn lẻ không mang lại hiệu quả cao mong muốn, do đó khái niệm IPC ra đời. IPC có nghĩa là thay đổi việc sử dụng biện pháp hóa học làm sao bảo vệ được thiên địch để tự chúng có thể điều khiển dịch hại mang tính tự nhiên, IPC là sự phối hợp giữa biện pháp hóa học và biện pháp sinh học hoặc biện pháp hóa học với di truyền học.

-- Quản lý cây trồng tổng hợp (Integrated Crop Management - ICM) được ra đời sau IPC nghĩa là điều khiển cây trồng tổng hợp trên cơ sở phòng trừ dịch hại tổng hợp trên cây trồng.

– Quản lý dịch hại tổng hợp (Integrated Pest Management - IPM) được ra đời năm 1992, IPM là một hệ thống điều khiển dịch hại bằng cách sử dụng tất cả những kỹ thuật thích hợp trên cơ sở sinh thái hợp lý để giữ cho quần thể dịch hại phát triển dưới ngưỡng gây hại kinh tế (ngưỡng gây hại của các cơ thể gây hại).

Quản lý dịch hại tổng hợp IPM phát triển cao hơn hẳn IPC và PC ở chỗ:

– Phòng trừ dịch hại PC là khái niệm ban đầu trong BVTV. Biện pháp này chỉ dựa trên từng biện pháp đơn lẻ, (ví dụ biện pháp canh tác, biện pháp cơ giới, biện pháp hóa học...) để thực hiện phòng trừ các loại dịch hại cây trồng nói riêng. Phòng trừ dịch hại chỉ mang ý nghĩa phun thuốc trừ dịch hại trên đồng ruộng đạt hiệu quả.

– Phòng trừ dịch hại tổng hợp IPC có nghĩa là thay đổi biện pháp hóa học, làm thế nào có thể bảo vệ được các loài thiên địch, giữ cho trạng thái cân bằng sinh học được hài hòa trong tự nhiên, hay nói khác đi phòng trừ dịch hại một cách tổng hợp là sự phối hợp một cách tốt nhất giữa biện pháp hóa học với biện pháp sinh học.

Những năm 70 của thế kỷ XX, Tổ chức Nông lương quốc tế FAO đã đưa ra định nghĩa về phòng trừ dịch hại một cách tổng hợp là hệ thống điều khiển dịch hại trong mối quan hệ giữa môi trường và mật độ quần thể dịch hại. Sử dụng tất cả những biện pháp phòng trừ thích hợp sẽ giữ cho mật độ quần thể dịch hại dưới ngưỡng gây hại kinh tế.

Biện pháp quản lý dịch hại tổng hợp IPM nghĩa là điều khiển dịch hại một cách tổng hợp. Khái niệm IPM mới được đưa ra thích hợp hơn phòng trừ dịch hại tổng hợp IPC vì chỉ khi nào cơ thể gây hại phát sinh ngoài đồng ruộng trên ngưỡng kinh tế thì người nông dân mới tiến hành phun thuốc để vừa trừ được sâu hại lại vừa phát huy được các quần thể côn trùng ký sinh - ăn thịt có ích. Biện pháp IPM là sử dụng những nguyên tắc sinh thái hợp lý (mối quan hệ giữa các sinh vật trong hệ sinh thái, cân bằng sinh học trong tự nhiên, quy luật tự điều chỉnh...) mục đích là giữ cho quần thể dịch hại phát triển dưới ngưỡng gây hại kinh tế.

Biện pháp quản lý dịch hại tổng hợp mở rộng cho tất cả các loài sinh vật gây hại như sâu, bệnh, tuyến trùng, cỏ dại, chuột...

Biện pháp quản lý dịch hại tổng hợp đòi hỏi các nhà khoa học phải hiểu biết tổng hợp về phương pháp phòng trừ cũng như tất cả các chuyên ngành khoa học về cây trồng, về công nghệ sinh học trong bảo vệ thực vật một cách toàn diện. Nếu chỉ sử dụng một biện pháp riêng lẻ nào trong IPM đều không có ý nghĩa làm giảm mật độ

quần thể dịch hại mà chỉ dựa trên cơ sở tổng hợp các biện pháp quản lý dịch hại mới có thể làm giảm và giữ cho quần thể dịch hại dưới ngưỡng gây hại kinh tế trong một thời gian dài liên tục (Hà Quang Hùng, 2000).

Biện pháp quản lý dịch hại tổng hợp luôn thay đổi theo các yếu tố tác động đến hệ sinh thái nông nghiệp nói chung, đến các loài dịch hại nói riêng được nâng cao, mục đích của IPM là làm giảm tình trạng gây hại của dịch hại kể cả dịch hại chủ yếu và thứ yếu thông qua việc điều khiển quần thể các loài dịch hại trong hệ sinh thái chung.

Biện pháp quản lý dịch hại tổng hợp mang tính thực tiễn, đạt hiệu quả cao, đồng thời bảo vệ được môi trường sống, bảo vệ được sức khỏe của con người, nó hoàn toàn phù hợp với khuynh hướng bảo vệ thực vật trong giai đoạn hiện nay không chỉ trên thế giới mà ngay cả ở nước ta với 2 tiêu chí sau:

- Bảo vệ được cây trồng.
- Bảo vệ được môi trường sinh thái nói chung.

Như vậy là quản lý dịch hại tổng hợp IPM mang ý nghĩa thực tiễn cao, và có hiệu quả rõ rệt hơn hẳn phòng trừ dịch hại tổng hợp IPC.

IPM đã điều khiển dịch hại trong mối quan hệ quần thể dịch hại và môi trường, giữ cho mật độ quần thể dịch hại dưới ngưỡng gây hại kinh tế.

2.2.1.2. Mức gây hại kinh tế (*Economic Injury Level EIL*)

Là mức có mật độ quần thể dịch hại thấp nhất. Chỉ có IPM mới làm giảm dịch hại và giữ cho quần thể dịch hại dưới ngưỡng gây hại kinh tế.

2.2.1.3. Ngưỡng kinh tế (*Economic Threshold Level ETL*)

Là mức mật độ dịch hại mà ở đó những biện pháp phòng trừ cần được tiến hành để giữ sao cho quần thể dịch hại chỉ tăng tới mức gây hại kinh tế.

Nội dung cơ bản của hệ thống tổng hợp bảo vệ cây trồng là tăng cường sự điều hòa tự nhiên để làm giảm lâu dài số lượng các cơ thể gây hại xuống mức không thể gây tổn thất đối với cây trồng. Tất cả các phương pháp được vận dụng trong hệ thống này để đấu tranh với các cơ thể gây hại đều phải làm nâng cao thế năng sinh học của các kẻ thù tự nhiên đối với các cơ thể gây hại nhằm tạo nên mối quan hệ sinh học mới không thuận lợi cho sự sinh sản của cơ thể gây hại trong quần thể đồng ruộng, đồng thời luôn luôn kìm hãm sự tăng trưởng cả về số lượng và chất lượng của các cơ thể gây hại trong tự nhiên làm cho chúng không có khả năng gây hại về mặt kinh tế cũng như tác động tối ưu tới môi trường sống.

IPM luôn vận động và thay đổi là do con người đã tác động đến đất đai, cây trồng và điều khiển phòng trừ tổng hợp sao cho duy trì được nguồn thiên địch có ích trong tự nhiên. IPM là biện pháp mang tính thực tiễn, có hiệu quả kinh tế cao và hiệu quả xã hội rộng. Trong quá trình thực hiện IPM người nông dân được nâng cao dân trí, các nhà khoa học đã tập trung nghiên cứu tạo ra các giống cây trồng kháng sâu bệnh trên cơ sở công nghệ gen và ngày nay công nghệ gen đang được coi là chủ lực.

2.2.2. Vai trò của công nghệ sinh học là nâng cao các phương pháp sinh học lên mức công nghệ để tạo ra các loại vũ khí mới nhằm chống lại sự phá hại của sâu, bệnh hại cây trồng một cách có hiệu quả và bền vững

Hiện nay công nghệ sinh học trong bảo vệ thực vật thường tập trung vào những vấn đề chính như sau:

- Công nghệ nhân nuôi hàng loạt các loại ký sinh, thiên địch, ăn thịt và bắt mồi trên cơ sở công nghiệp tạo ra nhiều sản phẩm để nhân thả trên đồng ruộng nhằm phòng trừ hàng loạt các loại dịch hại nguy hiểm.

- Công nghệ sinh học dựa trên cơ sở của công nghệ vi sinh có thể sản xuất để tạo ra các chế phẩm sinh học có hoạt lực cao có khả năng tác động nhanh và mạnh trên nhiều đối tượng sâu hại cây trồng. Phổ tác động của thuốc rộng hay hẹp là tùy theo yêu cầu

của sản xuất và chúng đảm bảo được tính ổn định lâu dài bằng cách tổng hợp, khuếch đại cũng như tạo ra các dòng vô tính có độ tổ cao.

– Công nghệ sinh học dựa trên cơ sở của công nghệ gen để tạo ra các giống cây trồng kháng sâu. Theo tài liệu của FAO thì đến năm 2000 các giống cây trồng chuyển gen là chủ yếu, đồng thời với các cây trồng chuyển gen, các thuốc trừ sâu sinh học sẽ ngày càng có ý nghĩa lớn trong BVTV, chúng chiếm 1/2 tổng kim ngạch (8/16 tỷ USD) dành cho công tác bảo vệ cây trồng.

Công nghệ sinh học đã đóng một vai trò rất quan trọng trong việc tạo ra các loại thuốc trừ sâu sinh học và các tác nhân sinh học khác. Các thuốc trừ sâu sinh học này đã góp phần điều chỉnh được số lượng dịch hại cây trồng, chúng hoàn toàn khắc phục được những nhược điểm cơ bản do thuốc hóa học gây ra. Công nghệ sinh học có khả năng làm hạn chế và điều hòa số lượng các quần thể sâu bệnh hại một cách chủ động. Công nghệ sinh học đã góp phần bảo vệ được sâu bệnh hại cây trồng một cách an toàn, bền vững, mang lại hiệu quả kinh tế cao, đồng thời tạo ra những nông sản thực phẩm sạch cho người sử dụng.

2.2.3. Một số công nghệ sinh học tiên tiến phổ biến trên thế giới đã được vận dụng để phòng trừ dịch hại cây trồng

- Thuốc trừ sâu sinh học tái tổ hợp.
- Cây chuyển gen chứa nhiều gen kháng bệnh.
- Thuốc trừ tuyến trùng trên cơ sở *Bacillus* sp.
- Thuốc sinh học xạ khuẩn trừ tuyến trùng và nấm gây bệnh cây trồng.
- Trừ sâu bằng các thuốc sinh học trên cơ sở của công nghệ gen, ví dụ các cây chuyển gen GMO mang gen kháng Bt.
- Công nghệ sản xuất ong mắt đỏ *Trichogramma* sp để diệt trừ trứng sâu hại cây trồng.
- Công nghệ sản xuất ong vàng *Habrobracon hebetor* ký sinh sâu non hại cây trồng.
- Công nghệ sản xuất thuốc trừ sâu *Bacillus thuringiensis* (Bt).

- Công nghệ sản xuất thuốc trừ sâu virus (NPV, GV, CPV...) bằng công nghệ nhân tế bào.
- Công nghệ sản xuất thuốc trừ sâu vi nấm *Boverin, Mosquitano*.
- Công nghệ sản xuất thuốc trừ bệnh cây *Trichoderma* sp.
- Công nghệ sản xuất vi sinh vật hữu hiệu (*Effective Microorganisms* EM) làm tăng sức đề kháng của cây và chống được bệnh hại cây trồng.
- Công nghệ sản xuất các bộ kit chẩn đoán nhanh bệnh hại cây trồng như bộ ELISA, PCR...

Ngoài ra còn nhiều loại công nghệ khác đã và đang bắt đầu được nghiên cứu ở nhiều nước trên thế giới.

2.3. Các thành tựu về công nghệ chuyển gen Genetically Modified Organism (GMO) trong bảo vệ thực vật

2.3.1. Tạo và sử dụng các giống cây kháng sâu bệnh, kháng thuốc trừ cỏ bằng công nghệ gen

Vấn đề này đã được nhiều tác giả trên thế giới nghiên cứu và áp dụng thành công theo nhiều hướng khác nhau. Theo tài liệu thống kê của Mỹ thì tỷ lệ phân bố về công nghệ gen được thực hiện trên các loại cây trồng (Bảng 2.4, 2.5).

Bảng 2.4. Tỷ lệ phân bố các mục tiêu công nghệ gen thực hiện trên cây trồng ở Mỹ (Thống kê 1994)

Mục tiêu công nghệ gen	Tỷ lệ (%)
* Kháng thuốc trừ cỏ	31
* Kháng sâu hại	24
* Kháng bệnh virus	5
* Kháng bệnh nấm	3
Cho bảo vệ thực vật	63
* Tăng chất lượng	29
* Gen chỉ thị	5
* Tình trạng nông học	2
* Mục đích khác	1
Cho các mục tiêu khác	37

Bảng 2.5. Số lượng thí nghiệm ngoài đồng các giống cây trồng tạo bằng công nghệ gen

Nước	Năm									Cộng
	1986	1987	1988	1989	1990	1991	1992	1993	1994	
Bắc Mỹ										
Canada và Mỹ	3	9	22	49	72	105	147	224	173	804
Châu Âu										
Bỉ, Đan Mạch, Phần Lan, Pháp, Đức, Ý, Hà Lan, Tây Ban Nha, Thụy Điển, Thụy Sĩ, Anh	2	7	18	35	64	76	75	104	111	492
Châu Á										
Úc, Israel, Nhật, New Zealand	-	-	4	4	3	5	8	13	16	53
Các nước đang phát triển										
Châu Phi, Châu Á, Mỹ La Tinh, Các nước khác	-	1	1	3	3	14	28	44	24	118
Tổng cộng	5	17	45	91	142	200	258	385	324	1467

2.3.1.1. Chuyển gen Bt

Trên cơ sở của các loại tinh thể độc tố (ngoại độc tố α exotoxin, β exotoxin, γ exotoxin và nội độc tố δ endotoxin), với các crystal tinh thể (CryI, CryII, Cry III...) các nhà khoa học đã chuyển gen Bt vào các tế bào thực vật, mục đích là bắt cây trồng phải sinh ra các protein độc tố để tự bảo vệ mình. Rất nhiều nước có nhiều loại cây đã được chuyển gen Bt, những cây được chuyển gen Bt có chứa khoảng 1% protein độc tố trong tổng số protein của lá. Trên thế giới các loại cây trồng đã được chuyển gen Bt vào cây là thuốc lá, cà chua, khoai tây, bông, ngô, đậu nành, bắp cải, lúa, dưa và nhiều loại cây trồng khác...

Tại Mỹ năm 1996 chỉ tính riêng cây ngô đã có trên 2 triệu ha được chuyển gen Bt. Với cây bông, việc chuyển gen Bt đã kiểm soát hoàn toàn được sâu xanh hại bông *Heliothis armigera* và các loài sâu ăn lá khác như sâu khoang *Spodoptera litura*, sâu keo da láng *Spodoptera exgua*.

Việc chuyển gen Bt có thể tiết kiệm được khoảng 1 tỷ 161 triệu USD (bảng 2.6).

Bảng 2.6. Mức giảm chi phí thuốc trừ sâu trong nền nông nghiệp trên thế giới khi chuyển gen Bt vào cây trồng (Tài liệu James và CTV 1996)

Cây trồng	Chi phí thuốc trừ sâu (Triệu USD)	Mức giảm chi phí khi chuyển gen Bt (Triệu USD)
Rau và quả	2.465	891
Bông	1.870	1.161
Lúa	1.190	422
Ngô	620	158
Các cây khác	1.965	
Tổng cộng	8.110	2.632

Theo nhiều nhà khoa học trên thế giới thì việc chuyển gen Bt vào cây trồng thường xuyên sẽ tạo nên tính kháng thuốc Bt của nhiều loài sâu hại. Những thành tựu mới nhất trên thế giới trong việc điều khiển Bt vào cây là người ta chỉ chuyển gen Bt vào một bộ phận nhất định trên cây hoặc vào một thời kỳ nhất định nào đó của cây mà thôi..., vì làm như vậy sẽ hạn chế được tính kháng thuốc Bt của các loài sâu hại.

Ví dụ trong phòng trừ sâu cắn gié *Leucania separata* hại ngô thường xảy ra vào thời kỳ tạo phấn hoa, người ta thấy protein độc tố chỉ xuất hiện trong phấn ngô và sẽ hạn chế phát sinh sâu cắn gié giảm được mật độ sâu hại.

2.3.1.2. Chuyển gen ức chế *Proteaza* (Trypsin, Chymotrypsin inhibitor)

Chất ức chế Trypsin và chymotrypsin được các nhà khoa học phát hiện ra từ hạt của nhiều loại cây, đặc biệt là các cây thuộc họ đậu. Sử dụng chất ức chế trypsin để chuyển vào cây, các tác giả đã nghiên cứu và rút ra kết luận đây là một trong những cơ chế kháng sâu tự nhiên của cây trồng để bảo vệ hạt không bị sâu hại.

Khi chuyển gen ức chế trypsin vào cây trồng thông qua gen điều khiển tổng hợp trypsin đã được định vị phân lập và dòng hóa, sau đó mới chuyển nạp vào một số cây trồng. Khi có chất ức chế Trypsin và chymotrypsin trong dịch ruột của sâu sẽ làm cho protein không phân giải được thành axit amin, cuối cùng làm cho sâu trương bụng và bị chết.

Chất ức chế trypsin rất độc với người và gia súc vì vậy về sau này người ta chỉ khuyến cáo là tạo ra các loại thuốc phun vào cây hơn là thông qua các gen điều khiển tổng hợp ra chất ức chế trypsin để chuyển vào cây, điều đó sẽ tránh được những nguy hiểm cho người và gia súc khi sử dụng.

2.3.1.3. Chuyển gen tổng hợp các protein kìm hãm amylaza

Protein kìm hãm amylaza có tác dụng phá hủy hoạt tính của các men tiêu hóa tinh bột (amylaza), cuối cùng làm côn trùng chết. Chất kìm hãm amylaza có mặt ở nhiều loại cây, chúng có tác dụng diệt côn trùng. Người ta tách được gen kìm hãm amylaza từ cây đậu Hà Lan, đậu Pháp và chuyển chúng vào cây khoai tây, thuốc lá, đậu tương... và phát hiện thấy cây được chuyển gen có hoạt tính kháng côn trùng.

2.3.1.4. Chuyển gen tổng hợp lectin

Lectin là protein được liên kết với cacbonhydrat, chúng liên kết với phân tử glucoprotein, glucolipit và polysacharit. Chất lectin khi được chuyển vào cây có tác dụng gây độc đối với các vi sinh vật hại cây, côn trùng hại và động vật nguyên sinh.

2.3.1.5. Chuyển gen tổng hợp các chất trao đổi thứ cấp

Các chất trao đổi thứ cấp là chất được tạo ra bởi cây trồng tập trung nhiều nhất là nhóm alcaloit. Các chất này có vai trò quan trọng trong bảo vệ thực vật. Qua nghiên cứu về cấu trúc hóa học, quá trình sinh tổng hợp và liều lượng các nhà khoa học thấy rằng các chất thứ cấp có khả năng gây độc đối với sâu bệnh hại cây trồng. Nhiều chất gây độc chỉ đặc hiệu với côn trùng hại mà không ảnh hưởng đến các động vật khác.

Các gen có vai trò kiểm tra các chất trao đổi thứ cấp được nghiên cứu để biến nạp vào cây đều có khả năng kháng cây trồng. Tùy từng loại côn trùng hại khác nhau mà các cây chứa chất gây độc cũng có những liều lượng khác nhau. Có hai hướng tác động vào quá trình trao đổi chất của cây trồng để tạo ra các chất bảo vệ khi bị côn trùng hại tấn công là:

- Tăng cường các chất có hoạt tính kháng côn trùng vào cây bằng cách tăng cường biểu hiện của các gen mã hóa hoặc làm giảm sự phân hủy các chất này ở trong cây. Sử dụng các promoter đặc hiệu với mô sẽ làm tăng cường gen kháng côn trùng.

- Đưa các gen lạ vào cây trồng để chúng có thể tạo ra các chất độc mới có khả năng kháng lại sâu hại cây trồng.

2.3.1.6. Chuyển gen kháng virus hại cây trồng

Phần lớn virus hại cây trồng có cấu trúc gồm 1 vỏ bọc protein và 1 nhân ADN, gen mã hóa cho protein vỏ bọc nằm trên ADN và được gọi là gen CP (Coat Protein genus, viết tắt là CP genus).

Tại San Diego nước Mỹ vào năm 1985 – 1986, Giáo sư Beachif cho biết nếu chuyển gen CP vào cây trồng thì cây sẽ kháng hoàn toàn với loại virus gây hại cây tương ứng. Tác giả đã đưa ra một

danh sách các loại cây trồng đã được chuyển gen kháng virus (bảng 2.7, 2. 8).

Bảng 2.7. Cây trồng được chuyển gen kháng virus

Tên virus	Loại cây trồng	Tài liệu tham khảo
1. Coat protein expression	Thuốc lá, cà chua	Tunier và CTV (1987)
AIMV (<i>Alfalfa mosaic virus</i>)	Thuốc lá	Loesch - Fries & ctv (1987)
AIMV (<i>Alfalfa mosaic virus</i>)	"	Van Dun & CTV(1987)
AIMV (<i>Alfalfa mosaic virus</i>)	"	Cuozzo & CTV(1988)
CMV (<i>Cucumber mosaic virus</i>)	"	Hemen way& CTV(1988)
PVX (<i>Potato mosaic virus X</i>)	Khoai tây	Hoekema & CTV(1989)
PVX (<i>Potato mosaic virus X</i>)	Thuốc lá	Gasser et Fraley (1989)
PVY (<i>Potato mosaic virus Y</i>)	Thuốc lá	Powell Abel & CTV(1986)
TMV (<i>Tobacco mosaic virus</i>)	Cà chua	Nelson & CTV(1988)
TMV (<i>Tobacco mosaic virus</i>)	Thuốc lá	Van Dun et Bol (1988)
TRY (<i>Tobacco rattle virus</i>)	Thuốc lá	Van Dun et Bol (1988)
TSV (<i>Tobacco streak virus</i>)	Thuốc lá	Van Dun et Bol (1988)
2. Satellite RNA expresseion CMV	Thuốc lá	Baulcombe & CTV (1986)
Tob. RV (<i>Tobacco ringsopt virus</i>)	Thuốc lá	Gerlach & CTV (1987)
3. Mild strain expresion TMV	Thuốc lá	Yamaya & CTV (1988)

2.3.1.7. Chuyển các gen kháng nấm bệnh

Các gen kháng nấm bệnh là các gen mã hóa cho các protein có liên quan đến cơ chế bảo vệ tự nhiên của cây kháng với nấm bệnh. Theo nghiên cứu của các nhà khoa học Mỹ thì trong cây có nhiều loại protein có khả năng kháng nấm bệnh. Cơ chế kháng nấm là cây trồng tạo ra các phytoalexin tại nơi tổn thương để diệt tế bào nấm hoặc tạo ra các men thủy phân tại chỗ bị nhiễm bệnh để phân hủy các tế bào nấm khi nó xâm nhập.

Việc nghiên cứu để biến nạp các gen kháng nấm vào cây khoai tây, cà chua và nhiều cây trồng khác đã thành công ở Mỹ, Anh, Úc, Canada...

Các gen mã hóa cho các protein kháng nấm gồm:

- Chitinaza và 1.3 gluconaza có ảnh hưởng lớn đến sự lây nhiễm của nấm bệnh. Cơ chế của sự kháng nấm tương đối phức tạp vì hai loại men trên được tạo ra ở trong và ngoài tế bào. Công ty Mogen ở Mỹ đã tách được các gen này từ cây thuốc lá chuyển vào

cây cà chua và kết quả nhận được cây cà chua có khả năng kháng nấm *Fusarium* sp và *Cercospora* sp...

– Các gen mã hóa protein kìm hãm polygalactonaza. Các chất kìm hãm này có tác dụng kích thích tạo ra phytoalexin để bảo vệ cây. Nhiều cây hai lá mầm có chứa protein liên kết với thành tế bào có tác dụng kìm hãm endogalactonaza của nấm mà không kìm hãm enzym này của cây chủ. Tác động của gen mã hóa protein thường liên quan đến sự kháng bệnh của cây thông qua các elicitor. Các nhà khoa học đã tách được gen này ở cây đậu để chuyển vào nhiều cây trồng khác nhau.

– Thionin, Definin, Protein gây bất hoạt ribosom và các protein kháng nấm. Các chất trên phổ biến trong hạt, chúng có hoạt tính kháng rất cao với các vi sinh vật gây hại cây trồng. Người ta thường liên kết Thionin với albumin và chất kìm hãm trypsin với mục đích đưa cả hai gen mã hóa vào cùng một cây trồng để làm tăng hiệu quả kháng. Trong cây thuốc lá có rất nhiều chất definin có nguồn gốc từ *Rhaphanus sativus* có tác dụng kháng nấm *Alternaria* sp. Các protein có khả năng gây bất hoạt ribosom là protein ức chế ribosome (Ribosome Inhibitor Protein - RIP). Người ta đã tách được gen RIP từ cây lúa để chuyển vào cây thuốc lá và nhận thấy cây thuốc lá có khả năng kháng nấm *Rhizoctonia solani*.

Vài nét về cây chuyển gen chứa nhiều gen kháng bệnh

Cây chuyển gen chứa nhiều gen kháng bệnh được bảo hộ bằng giấy chứng nhận số 5530187 ngày 25/6/1996 của tác giả Lamb Christopher J, Zhu Qun, Maher Elieen A & Dixon Richard A. thuộc Viện nghiên cứu Sinh học Salk.

*** Mục đích**

Tạo ra các cây trồng có khả năng kháng nhiều tác nhân gây bệnh hại.

*** Nội dung**

Cây chuyển gen được tạo nên bởi nhiều tổ hợp protein để bảo vệ, cây thể hiện khả năng sinh ra protein làm tăng sức đề kháng cho cây có khả năng chống các bệnh gây hại như *Rhizoctonia*, *Fusarium*, *Pythium*, *Phytophthora*, *Verticillium*, *Macrophomina*, *Thielaviopsis*, *Sclerotinia*... và nhiều nấm gây bệnh hại khác.

Bảng 2.8. Cây kháng bệnh qua tuyển chọn tế bào Soma
(Theo tài liệu Furusawa 1986)

Tên bệnh cây	Cây trồng
Bệnh Fiji	Mía
<i>Tobacco mosaic virus</i>	Thuốc lá
<i>Pseudomonas syringae</i> V.	Thuốc lá
<i>Tabaci</i>	Thuốc lá
<i>Alternaria alternata</i> p. <i>tobacco</i>	Khoai tây
<i>Alternaria solani</i>	Khoai tây
<i>Fusarium oxysporum</i>	Ngô
<i>Helminthosporium maydis</i>	Lúa
<i>Helminthosporium</i> sp1	Mía
<i>Helminthosporium</i> sp2	Yến mạch
<i>Helminthosporium victoriae</i>	Cải củ
<i>Phoma lingam</i>	Khoai tây
<i>Phytophthora infestans</i>	Mía
<i>Sclerospora sacchari</i>	Mía
<i>Ustilago scitaminae</i>	Cỏ ba lá
<i>Verticillium albo - atrum</i>	Ngô

* *Phương pháp*: Theo phương pháp chung.

Đến nay cũng mới chỉ có một vài nước tiên tiến trên thế giới nghiên cứu sử dụng gen kháng virus, kháng nấm bệnh hại cây trồng và trên thực tế vẫn chưa có nước nào ứng dụng được rộng rãi.

Konoshita, 1991 đã xác định được 18 gen kháng bệnh bạc lá lúa do vi khuẩn *Xanthomonas oryzae* gây ra, theo tác giả thì gen kháng bệnh bạc lá Xa 21 là một gen trội, có nguồn gốc từ giống lúa đại Ấn Độ. Theo Huang và cs thì có 4 gen kháng bệnh bạc lá lúa Xa4, Xa5, Xa13 và Xa21 đã được chuyển vào giống lúa NH56, kết quả thu được giống lúa kháng bệnh bạc lá tốt hơn giống lúa chỉ mang một gen Xa21.

Mackill và Bonman năm 1992 thông báo có 30 locus gen kháng bệnh đạo ôn hại lúa trong đó có 20 locus kháng bệnh chính và 10 locus không alen với nhau. Nhiều giống kháng bệnh đạo ôn đã được xác định và được tạo ra, chúng đều mang các gen kháng bệnh đạo ôn như giống lúa 5173 có chứa gen Pi - 2(t), giống IR20 có chứa gen Pi - 20...

2.3.1.8. Chuyển gen kháng thuốc trừ cỏ

Tại Mỹ, hãng Monsanto đã phát minh ra thuốc trừ cỏ Round up có hoạt chất là Glyphosate và chất Sulfonylurea, làm rối loạn quá trình quang hợp ở các bộ phận có sắc tố diệp lục của cây cỏ, cuối cùng làm cho cây cỏ bị chết.

-- Gen kháng glyphosate được phát hiện trong một loài vi khuẩn sống trong đất, nơi đã sử dụng glyphosate nhiều lần và chuyển vào cây đậu nành, ngô...

- Gen kháng thuốc trừ cỏ có hợp chất Sulfonylure.

Việc chuyển gen kháng thuốc trừ cỏ thực tế cũng chưa được ứng dụng rộng rãi trên nhiều nước tiên tiến kể cả nước Mỹ.

2.3.1.9. Chuyển gen kháng tuyến trùng hại cây trồng

Tuyến trùng là sinh vật ký sinh gây hại cây trồng, hàng năm sự thiệt hại gây ra do tuyến trùng chỉ tính riêng nước Mỹ ước tính mất khoảng 100 tỷ đô la chi phí vào phòng trừ và sự thất thoát năng suất. Trước tình hình đó các nhà khoa học đã nghiên cứu, phát hiện ra các protein có khả năng kháng lại tuyến trùng gây hại, phần lớn là các chất kìm hãm proteaza như CpII, lectin, GNA. Họ đã nghiên cứu đưa các gen này vào các cây trồng khác nhau để tạo ra cây được chuyển gen kháng tuyến trùng, những gen được chuyển đã làm rối loạn các chức năng trao đổi chất, chức năng sinh lý đồng thời tạo ra các chất gây độc để phá hủy tế bào tuyến trùng khi chúng xâm nhập.

Vấn đề phát hiện ra những gen mới ngoài tự nhiên mà các sản phẩm của chúng có tác dụng bảo vệ được sức khỏe con người, cây trồng và vật nuôi chính là nền tảng, cơ sở khoa học cho sự phát triển của công nghệ sinh học ứng dụng vào việc tạo ra các giống cây trồng mới theo hướng phát triển nông nghiệp thâm canh cao.

2.3.1.10. Phương pháp trừ sâu hại bằng các loại thuốc sinh học trên cơ sở công nghệ gen

Phương pháp trừ sâu bệnh hại bằng các loại thuốc sinh học trên cơ sở công nghệ gen đã được cấp giấy chứng nhận bảo hộ số WO

96/01055 (tài liệu của Mc. Cutchen, Billy Fred & Hammock, Bruce D ngày 18/01/1996, nước Mỹ).

* Mục đích của phương pháp

Tạo ra thuốc trừ sâu sinh học trên cơ sở của công nghệ gen để phòng trừ các loài sâu hại đã kháng các loại thuốc hóa học.

* Nội dung thực hiện

- Trừ sâu hại bằng tổ hợp cộng hưởng của tái tổ hợp virus với các loại thuốc trừ sâu hữu cơ tổng hợp.

- Sử dụng công nghệ gen virus côn trùng trong tổ hợp với thuốc trừ sâu hóa học tổng hợp để trừ các loại sâu hại.

-- Sử dụng Baculovirus tái tổ hợp với thuốc trừ sâu pyrethroid để trừ các loài sâu đang kháng thuốc *Perythroid*.

- Đối tượng hại áp dụng để phòng trừ bằng tổ hợp thuốc các nhóm côn trùng, nhện hại và tuyến trùng.

* Phương pháp thực hiện

- Virus côn trùng được sử dụng là các virus da diện nhân (*Nuclear Polyhesrosis Virus* - NPV), thuộc họ *Baculoviridae* bao gồm:

Lymantria dispar NPV, *Autographa californica* MNPV, *Autographa falcifera* NPV, *Spodoptera litura* NPV, *Sp. frugiperda* NPV, *Heliothis armigera* NPV, *Mamestra brassicae* NPV, *Choristoneura fumiferana* NPV, *Trichoplusia ni* NPV, *Helicoverpa zea* NPV, *Rachiplusia ou* NPV.

Nhóm NPV này có nhiều tiểu thể virus hay gọi là các thể vùi (virion) gắn chặt vào protein trong suốt "Occlusion body".

- Thuốc pyrethroid được dùng trong tổ hợp là Cypermethrin (type II pyrethroid) hoặc allethrin (type I pyrethroid) trong tổ hợp với tít hoang dại AcNPV (wt. AcNPV) hoặc Ac aaIT (> LC99) trong sâu non của các loài sâu xanh bông *Heliothis virescens*, *Heliothis armigera*, *Heliothis assulta*. Các loài sâu *Heliothis virescens*, *Heliothis armigera*, *Heliothis assulta* tuy kháng thuốc hóa học, nhưng chúng rất nhạy cảm với tái tổ hợp Baculovirus.

- Phân lập tái tổ hợp Ac NPV được thực hiện trên dòng tế bào côn trùng loài *Spodoptera frugiperda* (Sf₉).

2.3.2. Tạo và sử dụng các thuốc trừ sâu tái tổ hợp

Phương pháp này được trình bày trong giấy chứng nhận bảo hộ số 5518897 ngày 21/5/96 của tác giả Stevens. Jr, S. Edward-Murphy, Randy C. trường Đại học Memphis.

*** Mục đích**

Tạo ra thuốc trừ ruồi muỗi (Bộ Diptera) trên cơ sở protein độc của vi khuẩn *Bacillus thuringiensis* supsp. *Israelensis*.

*** Nội dung**

Đưa gen toxin của *Bacillus thuringiensis* chủng *israelensis* vào tế bào vi tảo lục *Cyanobacteria*, đây là thức ăn của sâu non các loài côn trùng gây hại này.

*** Phương pháp**

Theo phương pháp chung của công nghệ gen.

2.3.3. Tạo và sử dụng thuốc trừ tuyến trùng trên cơ sở *Bacillus thuringiensis*

Tạo và sử dụng thuốc trừ tuyến trùng trên cơ sở *Bacillus thuringiensis* theo giấy chứng nhận bảo hộ số 5378460 ngày 3/1/1995 của tác giả Zuckerman, Bert M., Dicklow. M. B tại Tổ hợp nghiên cứu công nghệ Research Corporation Technologies MA, Marban - mendoza, Nahum.

*** Mục đích**

Sử dụng vi khuẩn *Bacillus thuringiensis* và toxin của chúng để phòng trừ tuyến trùng hại các cây nông, lâm nghiệp quan trọng.

*** Nội dung**

Phòng trừ bệnh cây do tuyến trùng sống trong đất, trong cây và trong hạt giống bằng chủng *Bacillus thuringiensis* ATCC 55273 hoặc các thể gây đột biến các chất có hoạt tính diệt côn trùng của thuốc.

*** Phương pháp:** Theo phương pháp chung.

2.3.4. Tạo và sử dụng thuốc trừ tuyến trùng và nấm gây bệnh trên cơ sở xạ khuẩn *Streptomyces dicklowii* (CR- 43)

Phương pháp này được trình bày trong văn bằng bảo hộ số WO 93/18135 ngày 28/8/1996 của tác giả Zuckerman.B .M tại Tổ hợp

ngiên cứu công nghệ Research Corporation Technologies MA,
Marban- mendoza, Nahum

** Mục đích*

Xác định hoạt tính của xạ khuẩn *Streptomyces dicklowii* để sử dụng trong phòng trừ tuyến trùng và nấm gây bệnh cây trồng nông nghiệp và một số cây lâm nghiệp quan trọng.

** Nội dung*

– Xạ khuẩn *Streptomyces dicklowii* ức chế quá trình đẻ trứng của tuyến trùng.

– Xạ khuẩn *Streptomyces dicklowii* ức chế tái sinh sản và phát triển của tuyến trùng.

– Xạ khuẩn *Streptomyces dicklowii* gây chết cho tuyến trùng trưởng thành ký sinh trong cây cũng như sống tự do trong đất.

– Xạ khuẩn *Streptomyces dicklowii* là tác nhân diệt tuyến trùng có hiệu quả với các nhóm *Criconebella*, *Ditylenchus*, *Globodera*, *Helicotylenchus*, *Heterodera*, *Longidorus*, *Meloidogyne*, *Paratrichodorus*, *Pratylenchus*, *Radolophilus*, *Rotylenchus*, *Rotylenchulus*, *Tylenchus*, và *Xiphinema*...

– Xạ khuẩn *Streptomyces dicklowii* là tác nhân diệt nấm gây bệnh có hiệu quả cao với các bệnh *Rhizoctonia*, *Fusarium*, và *Pythium*...

– Môi trường nuôi cấy xạ khuẩn *Streptomyces dicklowii* đã giúp cho xạ khuẩn phát triển tốt đồng thời cũng là tác nhân diệt tuyến trùng và nấm gây bệnh trên cây trồng.

– Xạ khuẩn *Streptomyces dicklowii* và môi trường nuôi cấy không độc cho cây trồng và cũng không gây bệnh và ảnh hưởng tới cây trồng.

** Phương pháp*

– Sử dụng môi trường nuôi cấy của International S Project (ISP) và American Type Culture Collection (ATCC).

– Sử dụng môi trường PDA để xác định hoạt tính chống nấm gây bệnh.

– Sử dụng môi trường PDA và PDB để xác định hoạt tính diệt tuyến trùng.

– Phương pháp này đã thử nghiệm trên nhiều loại cây như cà chua, ớt, đậu tây, cam, dưa, bông, nho, chuối, cà phê, đậu nành, lúa...

2.3.5. Những kết quả về công nghệ chuyển gen GMO trong bảo vệ thực vật

Theo tài liệu Transgene Nutzpflanzen (năm 1999), trên toàn thế giới có rất nhiều giống cây trồng mới được tạo ra thông qua công nghệ gen Genetically Modified Organism (GMO), được dịch ra là *cơ thể biến đổi gen*. Những thành tựu đạt được nhiều nhất phải kể đến nước Mỹ, tính đến năm 2000 ở Mỹ đã có hơn 2000 giống cây trồng được chuyển gen; ở một số nước thuộc châu Âu có 2500 giống cây được chuyển gen trong đó có 1030 giống ngô, 325 giống cà chua, 279 giống đậu tương, 265 giống khoai tây và 193 giống bông.

Trong bảo vệ thực vật với các loại cây trồng đã được chuyển gen thì các nhà khoa học đã chuyển gen được 761 giống cây kháng thuốc trừ cỏ, 252 giống cây được chuyển gen kháng virus, 676 giống cây được chuyển gen kháng côn trùng hại, 106 giống cây được chuyển gen kháng bệnh hại thực vật, 738 giống mang gen tính trạng chất lượng và 199 giống mang gen các tính trạng khác.

Trên toàn thế giới vào năm 2000 có khoảng 44,2 triệu hecta các giống cây trồng được chuyển gen, vào năm 2001 có 52,6 triệu hecta đã được chuyển gen, các cây được chuyển gen chiếm 19% tổng diện tích cây trồng chính, tập trung chủ yếu là cây đậu tương, bông, cải dầu, ngô.

Ở Mỹ các giống bông được chuyển gen chiếm 45% tổng diện tích trồng bông, các giống ngô GMO chiếm 25%, các giống đậu tương chiếm 38%. Như vậy trên thế giới các nước có diện tích trồng cây chuyển gen lớn nhất là Mỹ (35.76 triệu ha), Argentina (11.8 triệu ha) và Canada (3.2 triệu ha) và diện tích trồng các cây chuyển gen sẽ tiếp tục tăng lên trong thời gian tới.

Ở châu Á thì Trung Quốc là nước có tiềm lực kỹ thuật mạnh nhất và là nước phát triển nhanh trong lĩnh vực sản xuất trong các cây trồng được chuyển gen vì Trung Quốc chiếm 7% tổng diện tích toàn cầu và chiếm tới 20% dân số trên thế giới. Năm 1999, Trung Quốc đã có 12 giống cây trồng chuyển gen được thương mại hóa,

trong đó có 8 giống bông đã được chuyển gen, xếp thứ 4 trên toàn thế giới về diện tích cây trồng đã được chuyển gen như cây bông, cây cà chua, cây thuốc lá và khoai tây. Đến nay Trung Quốc đã có ít nhất 20 giống cây trồng GMO đang được phát triển đó là các cây ngô, khoai tây, lúa, thuốc lá, lạc, đậu tương và sắn..., ở châu Á ngoài Trung Quốc còn có một số nước như Indonesia, Thái Lan, Philippin, Xingapo đã có diện tích trồng thử nghiệm các cây trồng được chuyển gen nhưng chỉ có rất ít.

Các nước có số lượng giống cây trồng chuyển gen đứng sau nước Mỹ, Argentina, Canada và Trung Quốc là các nước thuộc châu Phi như Ai Cập, Zimbabwe, Kenya... Những nước này đang bắt đầu khảo nghiệm trên đồng ruộng với các giống khoai lang kháng virus, các giống bông kháng Bt có sâu xanh (*H. armigera*), ngoài ra cây khoai tây và các loại cây rau họ thập tự cũng đã được chuyển gen kháng bệnh hại, kháng thuốc trừ cỏ.

Nhờ những thành tựu mới của sinh học phân tử và công nghệ tế bào, các kỹ thuật chuyển gen ngày càng có hiệu quả cao. Các gen quan trọng đã được chuyển vào cây là các gen kháng sâu, kháng bệnh, kháng thuốc trừ cỏ. Các cây được chuyển gen đã làm tăng năng suất, giảm chi phí thuốc bảo vệ thực vật, giảm chi phí về bảo quản, giảm độc hại của thuốc bảo vệ thực vật với môi trường sinh thái. Mặt khác những cây trồng được chuyển gen sẽ mang những đặc tính mới như cây đậu tương GMO sẽ chống chịu được chất diệt cỏ và có hàm lượng axit oleic cao, cây cải dầu GMO có hàm lượng laurate cao và các axit béo thấp, cây khoai tây GMO mang gen protein kháng được bộ *Colorado* sp và gen kháng virus xoắn lá (PLRV) và virus khoai tây (PVY), cây bí GMO có khả năng kháng lại virus hại, cây cà chua GMO sẽ làm cho cà chua chín chậm và thời gian bảo quản được lâu, cây đu đủ GMO chứa một gen protein có khả năng kháng lại virus đốm vòng (PRSV), các cây chuyển gen sẽ mang gen kháng côn trùng khác nhau như gen Bt, gen kim hãm men tiêu hóa, gen kháng tuyến trùng... Do đó các cây chuyển gen sẽ được thương mại hóa vì nó có giá trị kinh tế cao thể hiện ở chỗ giảm chi phí trong quá trình sản xuất, tăng năng suất cây trồng rõ rệt, giảm lượng thuốc bảo vệ thực vật sử dụng, điều đó làm giảm độc hại tới người vật nuôi và môi sinh.

Tuy nhiên việc chuyển gen cũng sẽ có những bất cập xảy ra khó tránh khỏi, đó là khó kiểm soát được sự phát tán của gen cũng như khả năng tạo ra những giống cây mới có thể cho năng suất thấp, khả năng chống chịu kém..., ngoài ra các cây được chuyển gen có thể ảnh hưởng đến các sinh vật có ích khác như ong bướm thụ phấn hoa bị giảm, đây là bất lợi với cây ngô đã chuyển gen, hoặc làm phát triển tính kháng của côn trùng hại cây trồng, hiện nay có một số quan điểm nêu ra khi chuyển gen Bt vào cây đã xuất hiện tính kháng Bt...

Mặc dầu vậy, các cây chuyển gen vẫn có nhiều ưu điểm tốt. Hy vọng trong tương lai các giống cây trồng được chuyển gen sẽ được ứng dụng rộng rãi với quy mô lớn trên toàn thế giới. Trong tương lai, nước ta chắc chắn sẽ được tiếp cận với công nghệ chuyển gen GMO để ứng dụng trên nhiều đối tượng cây trồng. Đây là cơ hội và thách thức rất lớn với nền công nghệ sinh học trong bảo vệ thực vật ở Việt Nam, vấn đề này đang đòi hỏi các nhà quản lý và các nhà khoa học phải quan tâm nghiên cứu để nước ta không bị tụt hậu so với các nước trong khu vực.

Chương 3

THÀNH TỰU NGHIÊN CỨU VÀ ỨNG DỤNG CÁC LOÀI THIÊN ĐỊCH - KÝ SINH VÀ ĂN THỊT TRÊN THẾ GIỚI

Đến nay, các nhà khoa học trên thế giới đã phát hiện ra hàng trăm loài côn trùng đang được nghiên cứu sử dụng trong tổng số hàng nghìn loài ký sinh - ăn thịt thuộc 224 họ ở 15 bộ côn trùng. Chỉ tính riêng các vùng Trung Âu và Đông Âu người ta đã biết trên 10 nghìn loài côn trùng ăn cây cỏ, 2620 loài côn trùng ăn thịt và 6300 loài ký sinh có ích có thể điều chỉnh được số lượng sâu hại cây trồng. Tùy sự phát triển ở từng nước mà công nghệ sản xuất ra côn trùng ký sinh và ăn thịt phục vụ cho công tác phòng trừ sâu bệnh hại cây trồng khác nhau.

Do khuôn khổ cuốn sách có hạn, chúng tôi chỉ giới thiệu sơ bộ một số loài chính đã được nhiều nước trên thế giới nghiên cứu sản xuất thành công cũng như triển khai ứng dụng rộng rãi trên nhiều đối tượng hại cây trồng, những loài thiên địch ký sinh và ăn thịt này cũng đã được nghiên cứu, kết quả bước đầu đã hạn chế một phần dịch hại cây trồng ở nước ta trong thời gian qua.

3.1. Thành tựu về ong mắt đỏ (*Trichogramma* sp)

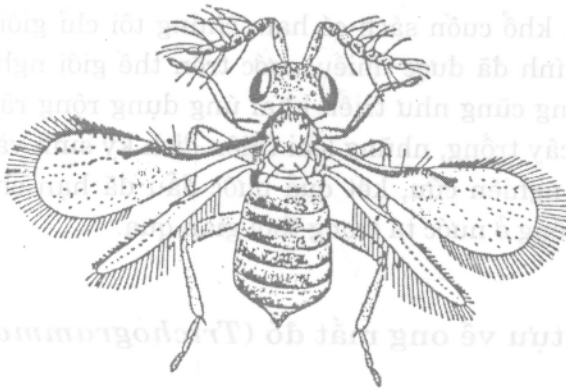
3.1.1. Giới thiệu sơ bộ về ong mắt đỏ

Ong mắt đỏ (OMĐ) *Trichogramma* sp. là loài côn trùng có ích thuộc họ Trichogrammatidae, bộ cánh màng Hymenoptera.

Chu trình phát triển của ong mắt đỏ từ trứng đến sâu non và nhộng đều diễn ra bên trong của trứng sâu.



Hình 3.1 Ong mắt đỏ ký sinh trứng sâu hại



Hình 3.2 Ong mắt đỏ dạng trưởng thành

3.1.2. Tóm tắt tình hình nghiên cứu về ong mắt đỏ trên thế giới

Dựa trên các đặc điểm sinh học của OMD, người ta đã nuôi dưỡng và sử dụng chúng để phòng trừ nhiều loại trứng sâu hại cây trồng nông lâm nghiệp. Thực tế hàng năm ở nhiều nước trên thế giới việc sử dụng ong mắt đỏ đã được thực hiện trên 50 triệu héc-ta cây trồng. Các nhà khoa học cho biết việc phóng thả ong mắt đỏ có chất lượng loại 1 thường đạt hiệu quả cao hơn 80%, loại 2: 65-80%, loại 3: 35-65% và loại không đúng tiêu chuẩn chỉ diệt được khoảng 35% trứng sâu hại. Chính vì vậy ong mắt đỏ đã được nông dân ở nhiều nước gọi là người bạn chủ lực trong phòng trừ sinh học - tổng hợp bảo vệ cây trồng.

Phóng thả lâu dài liên tục ong mắt đỏ trên đồng ruộng đã làm giảm số lượng các loài sâu hại. Ngoài hiệu quả diệt trứng sâu, OMD còn có tác dụng hạn chế được mật độ quần thể nhiều loài sâu hại. Việc thả ong mắt đỏ được nhiều nước khẳng định là cơ chế khởi động tạo lập các điều kiện thiết yếu để làm giảm số lần phun thuốc hóa học, tăng cường số lượng và nâng cao vai trò của các quần thể ký sinh - ăn thịt trong tự nhiên dẫn đến ổn định hệ sinh thái nông nghiệp.

OMD đã được nghiên cứu ở Liên Xô cũ từ năm 1911 (Radetskii, 1911). Năm 1925 trên thế giới đã phát hiện được hơn 40 loài ong mắt đỏ. Theo các nhà khoa học thì ong mắt đỏ là loài ký sinh trứng sâu hại với phổ ký sinh rất rộng, mỗi loài ong mắt đỏ đều có khả năng ký sinh trứng trên khoảng 100 loài sâu. Năm 1926 nhà côn trùng học người Mỹ S. Flanders đã sử dụng trứng ngài mạch *Sitotroga cerealella* L. để nhân nuôi OMD. Sau thời gian đó thì Liên Xô cũ và nhiều nước khác cũng đã mở rộng việc nghiên cứu và sử dụng OMD trên cơ sở nhân nuôi trên ngài mạch nhằm mục đích tạo ra nhiều OMD để phòng trừ nhiều trứng sâu hại với quy mô lớn trên nhiều đối tượng cây trồng khác nhau. Thực tế đến năm 1941 ở châu Âu mới sản xuất ra được hàng loạt OMD thả trên đồng ruộng để trừ sâu hại táo, sâu hại củ cải đường, sâu hại bắp cải... (Meyer, 1941).

Sau đại chiến thế giới lần thứ hai, tại nhiều nước Bắc Âu và Đông Âu các nhà khoa học cũng đã nghiên cứu hàng loạt biện

pháp sinh học bảo vệ cây trồng, trong đó hướng sử dụng OMD được phát triển để phòng trừ trứng sâu hại đã thu được kết quả tốt ở nhiều nước.

3.1.3. Công nghệ sản xuất ong mắt đỏ *Trichogramma* sp (*in vitro*) ở một số nước trên thế giới

3.1.3.1. Trung Quốc

Nhân nuôi *in vitro*: Ong mắt đỏ (OMĐ) *Trichogramma* sp. (diệt trứng nhiều loại sâu)

Thành phần môi trường nhân tạo để nhân OMD gồm:

- Hemolymph của tằm sồi - *Antherraea pernyi*.....2,5 phần.
- Lòng đỏ trứng gà.....1,0 phần.
- Dung dịch 10% mạch nha hoặc sữa bột.....1,5 phần.
- Muối Neisenheimer (7,5 g NaCl, 0,1 KCl, 0,2 g NaHCO₃, 0,2 g CaCl₂, 1000 ml H₂O).....0,5 phần.
- Antibiotic.

Dùng vỏ trứng nhân tạo để nhân nuôi OMD:

Dùng một trong các thứ sau: Parafin, Polyethylen, Polypropylen, dây 20- 86 μ m.

Hình bán cầu với $\Phi = 2 - 3$ mm, xếp thành hàng.

Trung bình nuôi khoảng 30 - 60 cá thể ong mắt đỏ/quả trứng (số lượng ong tối ưu trong mỗi quả trứng được xác định bằng số thời gian tiếp xúc của ong mắt đỏ mẹ khi nhân).

Để thu hút mạnh ong đến đẻ (ký sinh) phun các chất kích thích khác nhau, các axit amin, dung dịch KCl hoặc KCl - MgSO₄ lên vỏ trứng nhân tạo.

Ong mắt đỏ ký sinh trứng có đường kính 1,5 - 3 mm.

Ong vũ hóa ra trên các trứng nhân tạo khoảng 70 - 90%.

Các đặc tính sinh học của ong (khả năng khuếch tán, tìm kiếm, ký sinh, tỷ lệ vũ hóa của ong trưởng thành, tỷ lệ dục cái, khả năng tái sinh sản... không kém so với các cá thể được nuôi từ trứng tằm sồi).

Đến nay việc sản xuất OMD ở Trung Quốc đã đạt được những thành tựu đáng kể bằng các dây chuyền công nghệ cao, để ứng dụng trên diện tích rộng hàng triệu ha cây trồng nông, lâm nghiệp.

3.1.3.2. Mỹ

Nhiều cơ sở nhân ong mắt đỏ (ở các Viện nghiên cứu và các trường đại học trước đây) thường bằng môi trường nhân tạo: cho vào các đĩa petri (không có vỏ bọc) khoảng 5.000 cá thể trong một đĩa petri có $\Phi = 5\text{cm} - 10\text{ cm}$.

Thành phần môi trường nhân nuôi giống như Trung Quốc, nhưng hemolymph côn trùng lấy từ sâu *Manducasisca*.

Ngày nay ở nước Mỹ công nghệ nhân nuôi OMD đã phát triển trên quy mô lớn trong các nhà máy với công suất cao. Trên đồng ruộng hầu hết là sử dụng OMD và các chế phẩm sinh học, rất ít sử dụng hóa chất.

3.1.3.3. Pháp

Thành phần môi trường nhân nuôi OMD cũng giống Trung Quốc, nhưng hemolymph được lấy từ tằm dâu.

Tại nước Pháp việc nuôi ong mắt đỏ loài *T. dendrolimi* thường phát triển tốt hơn loài *T. maydis*. Cho đến nay OMD đã được sản xuất công nghiệp trên quy mô lớn với số lượng rất nhiều, có thể áp dụng rộng rãi để phòng trừ nhiều loại trứng sâu hại cây trồng đạt kết quả cao.

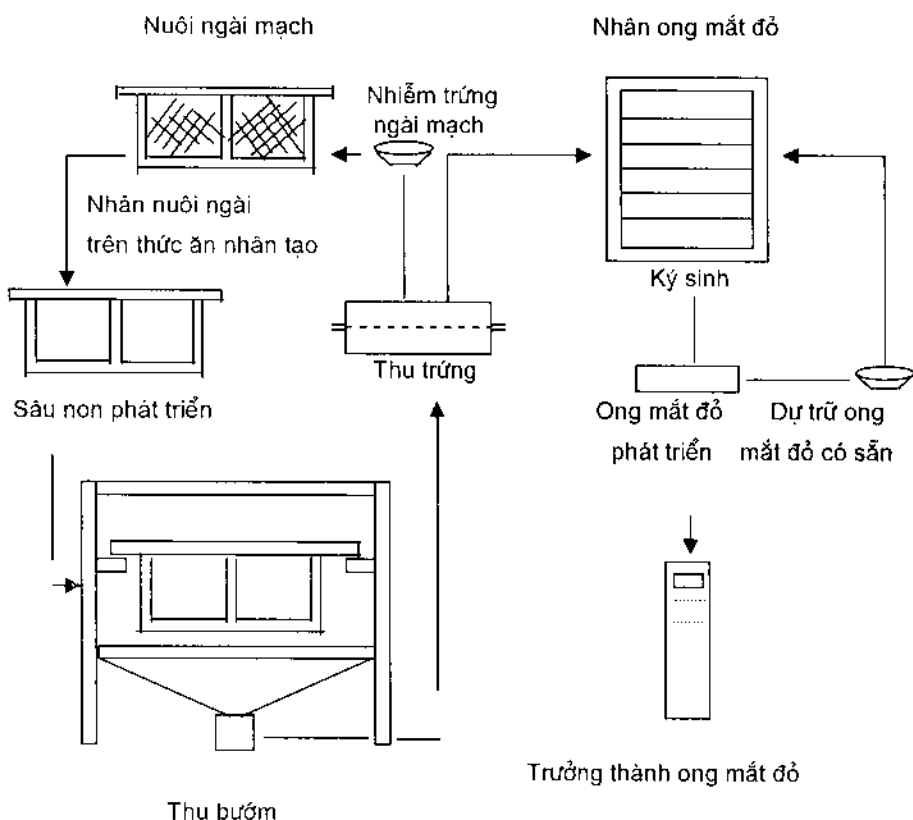
Trong các loài ký sinh trứng sâu hại từ nhiều năm nay thì loài ong mắt đỏ *Trichogramma* sp vẫn là đối tượng chủ yếu được 93 nước trên thế giới nghiên cứu và đã sản xuất hàng loạt với số lượng rất lớn để thả trên diện tích hơn 30 triệu hecta cây trồng. Nhiều nước đã có những xí nghiệp sinh học gồm cả dây chuyền cơ khí hóa, tự động hóa để sản xuất ong mắt đỏ. Gần đây các nước Trung Quốc, Mỹ, Pháp đã đưa ra quy trình công nghệ sản xuất ong mắt đỏ (*in vitro*) bằng trứng nhân tạo, kết quả đó đã mở ra triển vọng to lớn cho quá trình sản xuất công nghiệp ong mắt đỏ trong những năm qua.

Trên cơ sở di truyền học người ta cũng đã tạo ra các giống ong mắt đỏ, nhện ăn thịt và nhiều loài ký sinh ăn thịt khác có khả năng kháng thuốc trừ sâu hóa học, chịu đựng được các điều kiện sinh thái khắc nghiệt và có sức tái sinh sản lớn ngoài tự nhiên.

3.1.3.4. Liên Xô cũ

Quy trình công nghệ thực hiện theo sơ đồ sau:

**Sơ đồ quy trình nhân nuôi ong mắt đỏ (*Trichogramma* sp)
bằng trứng ngài mạch (*Sitotroga cerealella*):**



Công nghệ sản xuất OMĐ đã được thực hiện thông qua nhân ký chủ cho OMĐ là ngài mạch *Sitotroga* sp. Công nghệ này cũng đã được Viện Bảo vệ thực vật áp dụng nghiên cứu từ những năm 1975-

1976. Hiện nay không chỉ Liên Xô cũ mà nhiều nước ở Đông Âu cũng đã phát triển công nghệ sản xuất OMD với quy mô công nghiệp để ứng dụng rộng rãi trong phòng trừ trứng sâu hại bảo vệ cây trồng.

3.1.4. Kết quả ứng dụng ong mắt đỏ phòng trừ trứng sâu hại

Những năm 80- 85 của thế kỷ XX, rất nhiều nước đã nghiên cứu thành công việc sử dụng các côn trùng ký sinh ăn thịt trong đó thành công đáng kể nhất là sử dụng OMD để phòng trừ trứng sâu hại với quy mô ngày càng lớn. Thí dụ như ở Liên Xô cũ, nếu năm 1968 mới có 2 triệu ha sử dụng biện pháp sinh học thì năm 1975 đã lên tới 7 triệu ha, năm 1976 đã phát triển 11,3 triệu ha. Trong số 11,3 triệu ha dùng biện pháp sinh học thì OMD đã sử dụng khoảng 8.286.000 ha. Năm 1979 trong 15,2 triệu ha sử dụng biện pháp sinh học thì đã có 10,2 triệu ha dùng OMD, chiếm 1/2 diện tích dùng OMD trên thế giới (21 triệu ha). Năm 1983 diện tích sử dụng OMD có 14,2 triệu ha thì năm 1984 đã có trên 15 triệu ha. Tại một nước cộng hòa nhỏ như Uđubêkistan trong năm 1983 đã dùng OMD trừ trứng sâu hại trên diện tích khoảng 2. 389.000 ha cây trồng.

Ở Trung Quốc, các nhà khoa học đã dùng OMD loài *Trichogramma japonicum* để phòng trừ trứng sâu cuốn lá lúa loại nhỏ và trứng sâu cuốn lá hoa lan với hàng chục vạn mẫu. Ngoài ra nhiều tỉnh như An Huy, Vũ Hán, Hồ Bắc... đã dùng OMD loài *Tr. dendrolimi (mutsumura)* để phòng trừ trứng sâu róm hại rừng thông, chỉ tính riêng năm 1976 đã sử dụng OMD thả khoảng 5000 ha đạt kết quả. Đến nay việc dùng OMD trừ trứng sâu hại đã được nhân lên rất nhiều trên phạm vi rộng với diện tích hàng triệu ha cây trồng tại nhiều địa phương ở Trung Quốc đạt hiệu quả cao, tỷ lệ ong mắt đỏ ký sinh đạt trên 70% sau 7 ngày thả ong.

Ở Cuba các nhà khoa học đã dùng OMD loài *Tr. phasciatum (penis)* để phòng trừ trứng sâu đục thân mía trên diện tích lớn hàng vạn ha.

Các nước Mỹ, Mehico, Aghentina, Canada đã dùng OMD loài *Tr. chilonis* để phòng trừ trứng sâu đục quả bông trên diện tích rộng (tất cả các nước này đều nhập thiếp bị dây chuyền nhân nuôi OMD của Liên Xô cũ). Tại Ấn Độ cũng đã dùng nhiều OMD để trừ trứng

sâu cuốn lá lúa, sâu đục thân mía... đạt kết quả tốt.

**Bảng 3.1. Khả năng sử dụng OMD ở một số nước trên thế giới,
(Nguồn Wuhrer , 1988)**

Loài ong mắt đỏ	Trên diện tích	Cây trồng	Sâu hại	Nước
<i>Tr. evanescens</i>	16000000	Ngô	<i>Ostrinia</i> sp	LX cũ, Bun, Pháp, Philippin
<i>Tr. dendrolimi</i>	390000 505500 4000 1660 14	Ngô, Thông Bông, Rau Táo	<i>Ostrinia furnacalis</i> , <i>Dendrolimus</i> sp, <i>Heliothis</i> sp, <i>Pieris rapae</i> <i>Cydia</i> sp <i>Adoxophies orana</i>	Trung Quốc, Trung Quốc Trung Quốc Trung Quốc Đức
<i>Tr. pretiosum</i>	555000 35000 32000 9500 1200	Bông Củ cải đường Ngô Đậu tương Cà chua	<i>Heliothis</i> sp <i>Diatraea</i> sp <i>Diatraea</i> sp <i>Anticarsia</i> sp <i>Scrobipalpula</i> sp	Mỹ, Peru Columbia Columbia Columbia Columbia
<i>Tr. japonicum</i>	500000	Lúa	<i>Cnaphalocrosis medinalis</i>	Trung Quốc
<i>Tr. chilonis</i>	444800	Củ cải đường	<i>Chilo</i> sp	Trung Quốc Philippin, Ấn Độ, Đài Loan
<i>Tr. ostrinia</i>	19360	Bông	<i>Ostrinia funacalis</i>	Trung Quốc, Đài Loan
<i>Tr. euproctidis</i>	2000 1700 1500	Táo Đậu Củ cải đường	<i>Cydia pomonella</i> <i>Margaronia</i> sp <i>Noctuidae</i>	Peru Peru Liên Xô cũ
<i>Tr. cacoeciae</i>	280 169	Nho Táo	<i>Lobesia botrana</i> <i>Cydia</i> sp	Bungaria Bungaria
<i>Tr. embryophagum</i>	148	Cây rừng	<i>Tortricidae</i>	Bungaria

Như vậy việc sử dụng OMD để phòng trừ sâu hại trên nhiều loại cây trồng đã đạt hiệu quả rất cao. Đến nay ở Nga, Pháp, Bungari, Rumani, Thụy Sĩ... OMD đã giữ vai trò chủ lực trong

biện pháp sinh học dùng để phòng trừ trứng sâu đục thân ngô, sâu đục thân tảo, sâu hại rau bắp cải... với diện tích rất lớn.

3.2. Thành tựu về ong vàng (*Habrobracon* sp)

3.2.1. Giới thiệu sơ bộ về ong vàng

Ong vàng *Habrobracon* sp (*Bracon* sp.) nằm trong họ Braconidae, bộ cánh màng Hymenoptera. Đây là ong ký sinh trên các loài sâu non hại cây trồng.



Hình 3.3. Trưởng thành ong vàng

3.2.2. Công nghệ sản xuất

Ong vàng ký sinh trên sâu non ngài gạo *Corecya sephalonica* và một số loài sâu non khác trên môi trường cám gạo hoặc bột mì, vì vậy công nghệ nhân ong vàng phụ thuộc vào kỹ thuật nuôi cấy.

Quy trình sản xuất ngài gạo như quy trình sản xuất để nuôi OMD. Cho đến nay nhiều nước trên thế giới như Liên Xô cũ, Bungaria, Tiệp Khắc cũ... đều đã có quy trình công nghệ sản xuất ra hàng loạt ong vàng trên ký chủ ngài gạo với giá thành hạ khoảng 40-85%. Nhiều nước đã ứng dụng thành công ong vàng trên nhiều đối tượng dịch hại cây trồng và đã đạt được những kết quả khả quan.

Ong vàng là loài ký sinh có ích không chỉ trước thu hoạch mà còn sau thu hoạch trong bảo quản kho tàng. Ong vàng thích hợp nuôi trong điều kiện nhiệt độ thấp 20°C, do đó ngoài ý nghĩa trong BVTV, ong vàng còn có ý nghĩa trong bảo quản nông sản phẩm. Tuy nhiên nếu với mục đích nhân nhiều ký chủ ngài gạo để sản xuất ong mắt đỏ, các nhà khoa học phải chú ý khắc phục hiện tượng ong vàng khi nhiễm ngài gạo để nhân OMD hoặc những loài ký sinh có ích khác.

3.2.3. Những thành tựu về ứng dụng ong vàng trong phòng trừ sâu hại

Trên thế giới nhiều nước đã áp dụng thành công việc sử dụng ong vàng *Habrobracon* sp ký sinh sâu non trong việc phòng trừ sâu hại để thả phối hợp với ong mắt đỏ *Trichogramma* sp, ký sinh trứng. Từ năm 1973 đến năm 1987, nước Nga đã dùng OMD *Trichogramma* sp và ong vàng *Habrobracon* để phòng trừ sâu xanh đục quả bông (loài *Heliothis armigera* và sâu xám *Agrotis segetum*), các loại sâu trên hại trên cây bông, cà chua, táo và rau, đồng thời các nhà khoa học Nga cũng dùng kết hợp hai loại ong trên để diệt trừ sâu đục thân ngô *Ostrinia nubilalis*. Theo báo cáo khoa học số 19 của CABIPESTICIDE năm 1973 thì chỉ cần thả 3 - 4 lần OMD *Trichogramma* sp và ong vàng *Habrobracon* vào đồng ruộng thì giá chi phí cho thả ong ký sinh chỉ bằng 1/3 so với 3 - 4 lần dùng thuốc trừ sâu hóa học mà vẫn đạt kết quả.

Năm 1977 nước Nga đã sử dụng ong vàng *Habrobracon* để phòng trừ sâu xanh *Heliothis armigera* và *A. segetum* hại bông và cà chua trên diện tích hơn 550 ha, năm 1978 diện tích tăng là 1920

ha và năm 1979 trên 2975 ha, kết quả sử dụng ong vàng đạt hiệu lực trung bình là 76- 84%. Cũng năm 1977 các nhà khoa học Nga đã thả phối hợp cả ong mắt đỏ và ong vàng để diệt trừ sâu xám *A. segetum* trên diện tích hơn 18.000 ha bông và hơn 1.000 ha rau xanh, hiệu quả đạt trên 70% (CABPESTICIDE, 1973-1987).

Ở Mỹ tại bang Nam California vào cuối tháng 8 năm 1970-1974 các nhà khoa học đã dùng OMD *Trichogramma* sp và ong vàng *Habrobracon* để phòng trừ sâu xanh *Heliothis zea* hại ngô đạt hiệu quả từ 53,1 đến 85,4% (CABPESTICIDE, 1973-1987). Ở nước Nga, vào năm 1981-1985 người ta đã dùng ong vàng *Habrobracon* để phòng trừ sâu xanh *Helicoverpa armigera* hại rau đạt hiệu quả 80 - 87% (CABPESTICIDE, 1973-1987). Trung Quốc cũng đã sử dụng loài ong vàng này để trừ các loại sâu non thuộc bộ cánh vẩy Lepidoptera.

Ngày nay, nhiều nước trên thế giới cũng đã có những công nghệ sản xuất ong vàng *Habrobracon*, ong ký sinh *Telenomus*, bọ mắt vàng *Chrysopa* sp vv... sau đó phóng thả các loài ký sinh thiên địch đó vào trong nhà kính và ngoài đồng ruộng để phòng trừ những loài sâu hại cây trồng. Ngoài ra còn có những loài nhện ăn thịt *Phytoseiulus*, *Amblyseius*, *Stethorus* và các loài côn trùng ăn thịt khác như bọ xít *Eocanthecona*, *Podisus*, *Perillus*, *Mirocolophus*, một số loài bọ rùa ăn rệp thuộc họ Coccinellidae bộ cánh cứng Coleoptera...

3.3. Thành tựu về bọ mắt vàng *Chrysopa* sp

3.3.1. Giới thiệu sơ bộ về bọ mắt vàng

Bọ mắt vàng có tên khoa học là *Chrysopa* sp thuộc họ Chrysopidae bộ cánh mạch Neuroptera, đây là loài thiên địch ăn thịt vì phá sâu non của bọ mắt vàng thường ăn rệp, trứng sâu non hại cây trồng ở ngoài tự nhiên. Nơi có mật độ bọ mắt vàng cao thì có thể không cần sử dụng thuốc trừ sâu mà vẫn không bị thiệt hại về kinh tế.

3.3.2. Tóm tắt tình hình nghiên cứu về bộ mắt vàng

3.3.2.1. Phân bố của bộ mắt vàng

Theo kết quả nghiên cứu của Pelov ở Bungari năm 1964 thì các loài bộ mắt vàng nằm trong họ Chrysopidae, đây là những loài thiên địch có ích hoạt động rất tích cực, chúng đóng vai trò rất quan trọng trong việc điều chỉnh số lượng các loài sâu hại ngoài tự nhiên (B. P. Benco 1968).

Bộ mắt vàng được phân bố rộng rãi ở khắp mọi nơi trên thế giới. Ở Phần Lan đã phát hiện được 13 loài *Chrysopa* sp trên cây chè (Zollny 1971). ở Tiệp Khắc phát hiện được 23 loài, ở Áo có 25 loài, ở Anh có 14 loài, ở Rumani có 24 loài (Kis- Neglex - Mandru 1974). Tại Liên Xô cũ theo công bố của Suvakhina năm 1974, tác giả đã phát hiện được 45 loài *Chrysopa* sp.

Trong số các loài bộ mắt vàng ở họ Chrysopidae thì loài *Chrysopa carnea* Steph là phổ biến hơn cả, chúng có sự phân bố rộng rãi ở khắp mọi nơi. Năm 1965 (tại Tiệp Khắc cũ), Zeleny thông báo loài *Ch. carnea* xuất hiện khá nhiều trên các cây công nghiệp ngắn ngày và chúng là loài dễ bắt gặp nhất trong tổng số các loài thu thập được. Theo tài liệu của Pelov (1972), Babracova và Trần Xuân Bí (1981) thì trong các sinh quần đồng ruộng ở Bungari loài bộ mắt vàng *Ch. carnea* chiếm đa số, dễ bắt gặp và có thể thu thập được từ ngoài đồng ruộng.

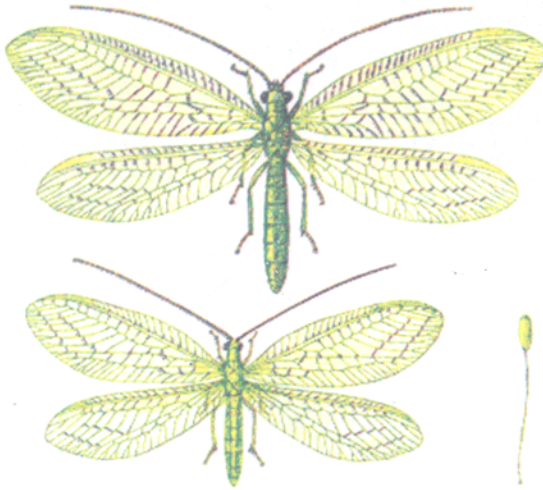
Năm 1980, ở California nước Mỹ, các nhà khoa học đã phát hiện được 86 giống với 1380 loài bộ mắt vàng, theo các tác giả đây là loài thiên địch có ích, xuất hiện khá phổ biến trên đồng ruộng, có khả năng khống chế được các dịch sâu hại bông, đay...

3.3.2.2. Đặc điểm sinh học

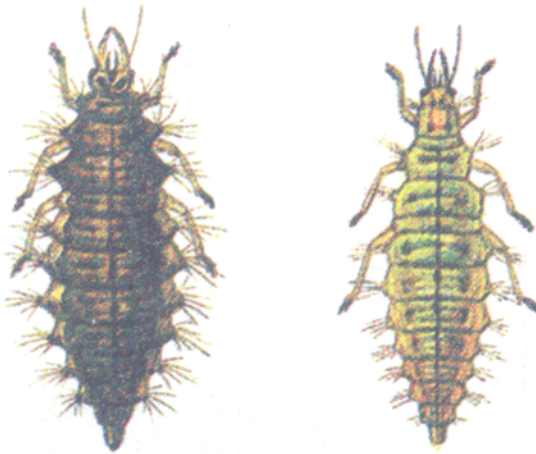
Bộ mắt vàng *Chrysopa* sp với đặc tính là bắt mồi, ăn thịt, có tác dụng hạn chế được pha trứng và pha sâu non của một số loài sâu hại đặc biệt là rệp.

Nghiên cứu về đặc điểm sinh học cũng như khả năng tiêu thụ mồi của bộ mắt vàng, Scopes (1969) cho biết con non của bộ mắt

HÌNH ẢNH VỀ BỘ MẮT VÀNG



Hình 3.4. Trưởng thành và trứng bọ mắt vàng



Hình 3.5. Sâu non bọ mắt vàng

HÌNH ẢNH VỀ ONG KÝ SINH

(nguồn: B.M. Shepard, A.T. Barion và J.A. Litsinger)



Hình 3.6. Ong đen kén trắng ký sinh sâu đục thân lúa



Hình 3.7. Ong xanh ký sinh sâu cuốn lá lúa

vàng loài *Ch.carnea* có khả năng ăn thịt rất nhiều loài sâu hại ở nhiều họ và nhiều bộ khác nhau, trong đó rệp bông (*Aphis gossypii*), rệp cải (*Brevicarinea brassicae*), rệp đào (*Myzodes persicae*) là những con mồi mà bộ mắt vàng thích nhất. Theo Hodek 1979 thì bộ mắt vàng thích ăn rệp hại củ cải đường (*Aphis fabae* Scop).

3.3.3. Công nghệ sản xuất

Những năm 1985-1990 ở Liên Xô cũ và Nhật Bản cũng như một số nước tiên tiến trên thế giới, nhiều nhà khoa học đã nghiên cứu quy trình sản xuất bộ mắt vàng theo quy mô công nghiệp thông qua nhân nuôi hàng loạt ký chủ phụ với lượng thức ăn nhân tạo và đã sử dụng thành công bộ mắt vàng để tiêu diệt một số loài sâu hại cây trồng.

3.3.4. Khả năng ứng dụng bộ mắt vàng trừ sâu hại cây trồng

Năm 1972, Nascova thông báo bộ mắt vàng *Ch. carnea* là thành phần trong phức hợp các loài thiên địch làm giảm số lượng của 9 loài rệp gây hại cây hoa hồng và đánh giá loài bộ mắt vàng này là loài thiên địch đặc biệt quan trọng trong việc phòng trừ rệp hại cây trồng, vì bộ mắt vàng có thể làm giảm trên 80% số lượng rệp sáp.

Các tác giả Bosch và cộng sự thông báo bộ mắt vàng *Ch. carnea* đã làm giảm mật độ của sâu xanh bông (*Heliothis virescens* và *Heliothis zea*) hại bông. Năm 1974 Suvakhina thông báo bộ mắt vàng đã ăn thịt trứng và sâu non của bọ ăn lá khoai tây (*Leptinotarsa decemlineata* Say) và sâu non hại bắp cải (*Mamestra brassicae*). Tại Bungari, Pelov và Trentrop năm 1978 cho biết sâu non của bộ mắt vàng có thể ăn trứng của bướm trắng (*Siphenimus phillyrea* Hal) hại quả lê ở ngoài đồng ruộng. Theo Agarop năm 1982 thì bộ mắt vàng có thể ăn được sâu hồng (*Pectinophora gossypiella*) hại bông và ăn nhện hại cây nho.

Những kết quả trên khẳng định bộ mắt vàng là loài thiên địch có ích, có khả năng khống chế được dịch sâu hại trong tự nhiên. Thực tế hiện nay nhiều nước trên thế giới đã tập trung sản

xuất bộ mắt vàng trên quy mô công nghiệp và đã đạt được những kết quả ứng dụng tốt như Mỹ, Nhật, Canada...

3.4. Thành tựu về ong đen kén đơn trắng

***Cotesia plutellae* Kurdj**

3.4.1. Giới thiệu ong đen kén đơn trắng *C. plutellae*

Đây là một loài ong ký sinh quan trọng và có hiệu quả với sâu tơ hại rau, cùng với những loài ký sinh khác ong đen kén đơn trắng đã điều hòa được quần thể sâu tơ ở nhiều nước trong khu vực Đông Nam Á cũng như trên thế giới. Malaysia là một nước đã có chương trình quản lý dịch hại tổng hợp sâu tơ kéo dài nhiều năm với nhiều biện pháp tổng hợp trong đó có việc nghiên cứu, sản xuất và ứng dụng ong đen kén đơn trắng để phòng trừ sâu tơ đạt kết quả tốt (Lim Guan Soon và Mohamed Rani Yuof, 1992).

3.4.2. Tóm tắt một số kết quả nghiên cứu đặc điểm của ong đen kén đơn trắng

Đặc điểm sinh học, sinh thái của ong ký sinh *C. plutellae* đã được nhiều tác giả nước ngoài nghiên cứu. Ong trưởng thành có thể đẻ nhiều trứng lên một sâu chủ nhưng chỉ có một sâu non phát triển. Ấu trùng ong có 3 tuổi (Lim, 1992). Tùy thuộc vào điều kiện môi trường, nhiệt độ ở từng nước khác nhau mà thời gian phát dục của trứng, sâu non và nhộng cũng như thời gian sống của ong trưởng thành và khả năng đẻ trứng của ong *C. plutellae* cũng khác nhau.

Ở Đài Loan thời gian phát dục của ong *C. plutellae* từ 10 - 13 ngày, trưởng thành sống 7 - 10 ngày, ong cái đẻ trứng 100 - 150 quả (Fan và cs, 1971). Kết quả nghiên cứu của Chiu và cs năm 1974 cho biết ở nhiệt độ $20 \pm 2^{\circ}\text{C}$, ẩm độ 66 - 75% thì tổng thời gian trứng, sâu non 3 tuổi, tiền nhộng là 17 ngày. Ở Philippine năm 1982 theo nghiên cứu của Velasco thì vòng đời của ong *C. plutellae* từ 10 - 21 ngày, ong cái sống trung bình 3,38 ngày, ong đực 2,74 ngày. Tại

Malaysia, nghiên cứu của Lim (1982) cho thấy thời gian phát dục trứng, sâu non và nhộng là 13 ngày, thời gian sống của ong cái từ 3 - 14 ngày, số trứng đẻ của một ong cái 193 - 494 quả. Kết quả nghiên cứu của Chua và Ooi (1986) cho biết thời gian phát dục là 11 - 14 ngày, ong cái sống từ 6 - 21 ngày (trung bình 14 ngày), số sâu chủ bị ký sinh là 85 con.

Tại Hàn Quốc, nhiệt độ 18, 20, 25 và 30°C thời gian phát dục các pha của ong trứng, sâu non và nhộng tương ứng là 29,52; 26,19; 14,17 và 10,35 ngày. Thời gian sống của ong trưởng thành tương ứng là 16,93; 14,83; 13,70 và 7,87 ngày. Số trứng đẻ của một ong cái 10,9; 17,7; 31,8 và 30,3 quả (Mirok và cs, 1997). Kết quả nghiên cứu ở Trung Quốc của tác giả Shi Zuhua và cs, (1999) cho biết ở nhiệt độ 15, 20, 25, 30 và 35°C có tổng thời gian phát dục tương ứng của ong là 37,02; 19,29; 11,68; 9,25 và 8,97 ngày. Thời gian ong sống là 34,87; 19,09; 16,48; 9,67 và 0,88 ngày. Số sâu chủ bị một ong cái ký sinh tương ứng là 200; 311; 293; 158 và 9 con. Điều kiện nhiệt độ thích hợp nhất cho ong *C. plutellae* ký sinh từ 20 - 35°C (Talekar and Yang, 1991).

Belen Morallo- Rejesus (1993) cho biết thức ăn có ảnh hưởng đến thời gian sống của ong *C. plutellae*, khi được ăn mật ong thì trưởng thành được và cái sống trung bình từ 12,0 đến 17,7 ngày, nếu chỉ uống nước là thì thời gian sống của ong chỉ còn 3,0 đến 4,0 ngày.

Tuổi sâu chủ khi bị ký sinh cũng ảnh hưởng đến sự phát triển của sâu chủ và ký sinh (Tagawa và cs, 1982; Jalali và cs, 1987) đến sức sinh sản (Gobbi, Nealis, 1990) đến sức ăn của sâu non sâu chủ bị ký sinh (Brewer and King, 1981) và đến sự sống sót của ký sinh (Luisa và cs, 1999).

Theo Shu- sheng và cs (1984) thì kích thước của sâu chủ cũng ảnh hưởng đến sự ưa thích của ký sinh và tỷ lệ giới tính của nhiều côn trùng ký sinh. Vì trong tự nhiên loài ký sinh thường xuyên tiếp xúc, gặp gỡ với hỗn hợp quần thể sâu chủ và chúng phát triển một dãy tập tính bản năng sinh thái học, sinh lý, chúng có thể ký sinh ở các giai đoạn phát dục khác nhau của sâu chủ và tỷ lệ ký sinh có thể thấp hơn ở những giai đoạn sâu chủ không ưa thích.

Tập tính lựa chọn tuổi sâu chủ để đẻ trứng của loài ký sinh đã

được nhiều tác giả nghiên cứu, theo Shi và Liu (1999) thì ong có thể đẻ trứng lên 4 tuổi sâu tơ. Nghiên cứu của Velasco (1982) cho biết ong ký sinh lên sâu non tuổi 1, 2 và 3 và hầu như không ký sinh sâu non tuổi 4. Theo Chua (1986) thì ong chỉ ký sinh (để trứng) lên sâu non tuổi 2, 3 và 4. Song tất cả các nghiên cứu đều kết luận là ong ưa thích ký sinh lên sâu non sâu tơ tuổi 2 và 3. Đối với sâu non sâu chủ tuổi 4 nếu đã qua 40% thời gian của tuổi thì ong không thích ký sinh. Thời gian phát dục của sâu non tuổi 4 sau khi bị ký sinh dài hơn rõ rệt và lượng thức ăn tiêu thụ cũng tăng hơn so với sâu không bị ký sinh do thời gian phát dục kéo dài (Shi Zuhua, 1999).

Talekar, 1991 thông báo hoạt động tìm kiếm sâu chủ và ký sinh đẻ trứng của ong chỉ xảy ra ban ngày. Nghiên cứu ảnh hưởng của mật độ sâu chủ sâu tơ đến tỷ lệ ký sinh của ong *C. plutellae*, Trung tâm rau châu Á (AVRDC) Đài Loan (1992) cho biết trong khoảng mật độ 5- 20 sâu non trên một cây, tỷ lệ ký sinh của ong *C. plutellae* giảm cùng với sự tăng của mật độ sâu chủ.

3.4.2.1. Đặc điểm hình thái của ong *C. plutellae*

a) Trứng

Bình thường trứng ong ký sinh kén đơn trắng được tìm thấy trong huyết tương của sâu chủ. Chỉ có thể tìm thấy 1 trứng trong 1 sâu chủ. Trứng hình trụ, vào cuối giai đoạn thì trứng nở sâu non.

b) Sâu non

Tại Malaysia, Lim G.S và Mohamed R.Y cho biết chưa chắc chắn xác định sâu tuổi 1, 2, 3 ứng với thời gian cụ thể vì sâu non cũng phát triển trong huyết tương sâu chủ, song các tác giả cho biết sau 1 ngày trứng nở thì kích thước trung bình chiều dài là 0,451 mm, chiều rộng là 0,1 mm, sau 2 ngày trứng nở tương ứng 0,2 mm - 0,7 mm (đo 10 cá thể).

Sâu tuổi 2 sau 7- 8 ngày trứng nở tăng kích thước và sau 4-5 ngày nữa thì sâu tuổi 3 có kích thước dài 3,5 mm, rộng 1,1 mm.

c) Nhộng

Kích thước dài 3,3 mm, rộng 1,3 mm (con đực).

3,4 mm, rộng 1,4 mm (con cái).

d) Trưởng thành

Vũ hóa ra thường có màu đen hoặc nâu tối.

Kích thước trung bình con đực là 2,56 - 0,77 mm, con cái 2,62 - 0,73 mm.

3.4.2.2. Hiện tượng ký sinh

Ông ký sinh trong sâu chủ chỉ khoảng 30 - 60 giây với 1 sâu, phần lớn sâu bắt đầu hình thành vào nhộng (chú ý đưa sâu chủ vào nuôi cùng để cho ông khi vũ hóa ra sẽ ký sinh).

Ảnh hưởng của thức ăn đến tập tính sinh hoạt của ông: Nguồn thức ăn quan trọng cho ông ký sinh cả con đực và con cái có sẵn trong chu kỳ sống của ông ký sinh và thức ăn cho ông trưởng thành cũng rất quan trọng để cho con ông cái đẻ trứng, trung bình một con cái đẻ khoảng 829 quả, một ngày có thể đẻ được 180 - 261 quả.

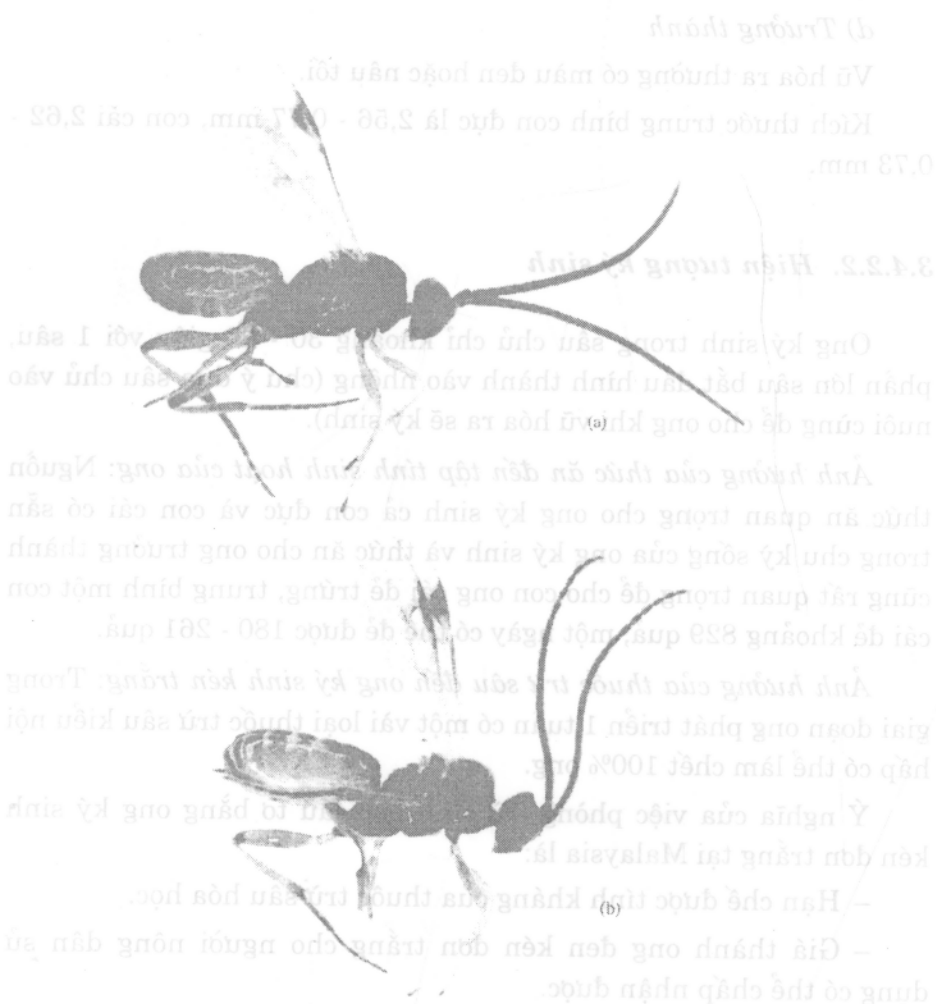
Ảnh hưởng của thuốc trừ sâu đến ông ký sinh kén trắng: Trong giai đoạn ông phát triển 1 tuần có một vài loại thuốc trừ sâu kiểu nội hấp có thể làm chết 100% ông.

Ý nghĩa của việc phòng trừ sinh học sâu tơ bằng ông ký sinh kén đơn trắng tại Malaysia là:

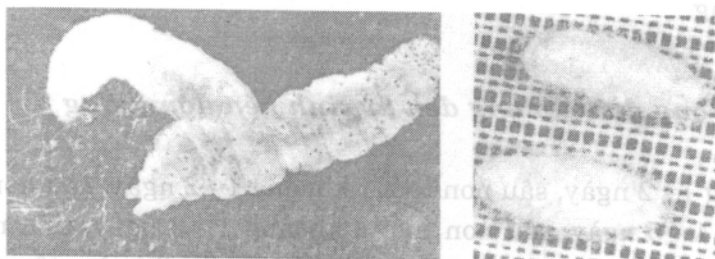
- Hạn chế được tính kháng của thuốc trừ sâu hóa học.
- Giá thành ông đen kén đơn trắng cho người nông dân sử dụng có thể chấp nhận được.
- Làm cho những loài thiên địch tự nhiên khác quay trở lại trên ruộng rau để cân bằng quần thể sâu hại và sâu có ích trên đồng ruộng.

3.4.2.3. Vòng đời của ông đen ký sinh kén đơn trắng

Trứng 1 - 2 ngày, sâu non tuổi 1 khoảng 1 - 2 ngày, sâu non tuổi 2 khoảng 4 - 5 ngày, sâu non tuổi 3 khoảng 1 - 3 ngày, tiền nhộng một ngày, nhộng 3 - 6 ngày và trưởng thành 6 - 8 ngày, tổng vòng đời khoảng 17 - 27 ngày.



Hình 3.8. Trưởng thành ong ký sinh kén đơn trắng
a. Con đực, b. Con cái



Hình 3.9. Sâu non ký sinh hiện ra từ sâu chủ và nhộng ong

MỘT SỐ HÌNH ẢNH VỀ CÁC LOÀI CÔN TRÙNG VÀ NHỆN CÓ ÍCH
(Nguồn: B.M. Shepard, A.T. Barrion và J.A. Litsinger)



Hình 3.10. Bọ xít nước *Microvelia* sp
ăn rầy nâu non khi chúng
rơi xuống nước



Hình 3.11. Bọ rùa đỏ *Microspis* sp ăn
trứng và rầy nâu non hại lúa



Hình 3.12. Bọ rùa đốm lưng
Menochilus sexmaculatus bắt mồi di
chuyển chậm



Hình 3.13. Sâu non bọ rùa đỏ
Microspis sp ăn rầy nâu non hại lúa



Hình 3.14. Nhện chân dài *Tetragnatha maxillosa* ăn trứng và rầy xanh đuôi đen hại lúa



Hình 3.15. Bộ cánh cứng 3 khoang *Ophilonea* sp ăn sâu cuốn lá lúa



Hình 3.16. Nhện lưới *Argiope catenulata* ăn châu chấu hại lúa



Hình 3.17. Bọ xít nước ăn rầy nâu non hại lúa

3.4.3. Công nghệ nuôi nhân sâu tơ và ong đen ký sinh kén đơn trắng

Công nghệ nhân nuôi sâu tơ là rất quan trọng để sản xuất ong đen ký sinh kén đơn trắng *C. plutellae*. Nuôi sâu tơ có rất nhiều phương pháp đã được mô tả ở nhiều nước trên thế giới, một số phương pháp sử dụng thức ăn tự nhiên ở ngoài đồng như cây rau hoặc nuôi sâu tơ trong lồng lưới.

Có thể nuôi sâu tơ bằng thức ăn nhân tạo hoặc thức ăn bán tổng hợp, phương pháp này dễ thực hiện vì có thể chủ động được nguồn thức ăn cho sâu tơ.

Phương pháp nuôi sâu tơ đơn giản bằng thức ăn nhân tạo được chuẩn bị sẵn, đặt giấy có trứng bắt đầu nở ra sâu non (1 tờ khoảng 60-70 trứng) tùy theo kích cỡ của dụng cụ nuôi. Sau 2-3 ngày nuôi với thức ăn tươi lại thay thức ăn mới 1 lần cho đến khi sâu vào nhộng, tỷ lệ vào nhộng trung bình là 80-90%.

Để thu trưởng thành người ta thường giữ nhộng trước, khi nhộng vũ hóa thì đưa những bản giấy vào lồng hay hộp để cho trưởng thành đẻ trứng, trung bình 1 hộp nuôi khoảng 45-50 nhộng tương ứng với 22-25 cặp.

Nuôi ong đen ký sinh kén đơn trắng *C. plutellae* trên sâu chủ là sâu tơ vì vậy trước hết phải nuôi sâu tơ làm ký chủ cho ong đen kén đơn trắng ký sinh, ong thường ký sinh sau 24 giờ khi sâu chủ ở tuổi 2, thức ăn cho ong trưởng thành là nước đường 3 %, cũng như sâu tơ, nhộng ong ký sinh thường thích hợp với độ ẩm dao động 77- 82%. Việc nhân ong ký sinh hoàn toàn phụ thuộc vào con sâu chủ là sâu tơ vì vậy các nước nhân ong kén đơn trắng đã chú ý đến nâng cao hiệu suất nhân nuôi sâu tơ.

Lim G. S và Mohamed R. Y ở Malaysia đã nhân ong ký sinh bằng những hộp nhựa, cứ 1 hộp nuôi sâu tơ, 1 hộp dùng sâu tơ để nhân ong và những hộp nuôi này có kích thước giống nhau. Kết quả thu được ong ký sinh kén đơn trắng tốt, hoàn toàn phù hợp như ong sống ngoài tự nhiên, thể hiện có hiệu quả cao trong việc nhân thả ngoài đồng ruộng trừ sâu tơ.

Hiện nay nhiều nước trên thế giới như Trung Quốc, Philippin, Nhật Bản, Pháp.... đã có quy trình công nghệ sản xuất ong kén đơn trắng trên quy mô lớn và có những thành tựu trong việc ứng dụng ong kén đơn trắng vào sản xuất trừ sâu hại cây trồng.

3.5. Một số loài thiên địch đã phát triển thành dạng thương mại được sử dụng ở một số nước phát triển

Đến nay trên thế giới đã có một số công nghệ nhân thả các loài ký sinh, thiên địch dưới dạng thương mại để phòng trừ các loài sâu hại cây trồng.

Bảng 3.2: Tên các loài ký sinh thiên địch trừ sâu hại cây trồng

STT	Tên Ký sinh, thiên địch	Tên sâu hại để phòng trừ
1	Ong mắt đỏ <i>Trichogramma</i> sp.	Trứng các loài sâu non bộ cánh vẩy <i>Lepidoptera</i>
2	Ong vàng <i>Habrobracon</i>	<i>Helicoverpa armigera</i> ,
3	Bọ mắt vàng <i>Chrysopa</i> sp.	Rệp muội họ <i>Aphididae</i>
4	Ong đen kén đơn trắng <i>Cotesia</i> sp.	Sâu tơ <i>Plutella xylostella</i>
5	Bọ rùa <i>Cryptolaemus montrouzieri</i>	Rệp sáp bột
6	Ong đen ký sinh <i>Opius pallipes</i>	Ruồi đục lá <i>Liriomyza bryoniae</i>
7	Ong ký sinh <i>Dacnusa sibirica</i>	Ruồi đục lá <i>L. bryoniae</i> , <i>L. trifolii</i> , <i>L. huidobrensis</i>
8	Nhện nhỏ <i>Phytoseiulus persimilis</i>	Nhện đỏ <i>Tetranychus urticae</i>
9	Nhện nhỏ <i>Amblyseius cucumeris</i>	Bọ trĩ <i>Thrips tabaci</i>
10	Nhện nhỏ <i>Amblyseius barkeri</i>	Bọ trĩ <i>Thrips tabaci</i>

Chương 4

THÀNH TỰU VỀ CÔNG NGHỆ SẢN XUẤT THUỐC TRỪ SÂU VI SINH VẬT TRÊN THẾ GIỚI

4.1. Cơ sở của việc sản xuất các thuốc trừ sâu vi sinh vật

4.1.1. Cơ sở của việc sản xuất thuốc trừ sâu có nguồn gốc từ vi sinh vật

4.1.1.1. Do sự tăng trưởng của ngành hóa học nông nghiệp

Sự thâm canh cây trồng ngày càng phát triển đã và đang làm thay đổi rất nhiều điều kiện sinh thái và môi trường sống, nó đang chuyển dịch nghiêng về phía tiêu cực, tạo ra một thế cân bằng sinh học mới bất lợi cho con người do vì lợi nhuận nhất thời muốn làm tăng năng suất cây trồng, con người đã phá vỡ hệ sinh thái đồng ruộng.

Các quần thể côn trùng ký sinh- ăn thịt đã bị giảm về số lượng. Ong bướm thụ phấn hoa cũng bị tiêu diệt, đặc biệt đối với các cây trồng thụ phấn chéo. Môi trường sống bị nhiễm các chất độc sau nhiều lần phun định kỳ. Số lượng thuốc hóa học có độ độc cao ngày càng lớn nhưng hiệu quả trong nhiều lần phun lại rất thấp; người ta đã xác định là chỉ có 0,1 - 0,3 % thuốc trừ sâu bệnh đạt được mục tiêu và 5 - 40% thuốc trừ cỏ có thể diệt được cỏ dại. Ở Mỹ, các nhà khoa học đã tính toán 35 - 50% thuốc hóa học trừ sâu bệnh đã được sử dụng một cách không cần thiết. Phần lớn thuốc sử dụng rộng rãi không đúng mục đích phòng trừ sâu bệnh hại; một phần thuốc trừ sâu sử dụng ở nồng độ rất thấp để kích thích sự ra hoa, quả trái vụ...điều đó đã gây ô nhiễm môi trường trầm trọng. Ngoài ra người nông dân không biết rằng trong bất cứ quần thể nông, lâm nghiệp

nào, các loài dịch hại cần phòng trừ như sâu, bệnh, cỏ dại... chỉ chiếm chưa tới 32%, số còn lại khoảng 60-70% là các loài có ích với con người. Thực sự do không hiểu biết nên người nông dân đã phun thuốc tùy tiện, gây hậu quả khôn lường không chỉ với môi sinh mà còn ảnh hưởng xấu đến nền kinh tế xã hội nói chung.

So với nhiều nước trên thế giới, tuy nước ta sử dụng các loại thuốc trừ sâu hóa học ít hơn rất nhiều, nhưng trong thực tế những năm vừa qua người ta đã phát hiện thấy trên nhiều mẫu nông sản thực phẩm, hàm lượng nitrat và tồn dư hóa chất trừ sâu cũng vẫn còn, đa số các mẫu rau quả có chứa một lượng nitrat và dư lượng thuốc trừ sâu cao hơn mức cho phép, và năm sau lại cao hơn năm trước cả về mức độ bình diện cả về mức độ tồn dư. Một mâu thuẫn ai cũng thấy rất rõ là ở các vùng trồng rau quả và những vùng chuyên canh cây trồng có các loại sâu hại kháng thuốc trừ sâu hóa học thường xuyên phát sinh thành dịch, năng suất cây trồng cứ tăng chậm dần, rồi dừng lại và giảm hẳn, còn dư lượng hóa chất trong BVTV lại tăng rất nhanh, có nhiều trường hợp hàm lượng chất độc còn tồn đọng trong nông sản thực phẩm làm một số người (trong đó có trẻ em) bị ngộ độc thậm chí dẫn đến tử vong.

4.1.1.2. Do chiến lược mới là điều khiển các loài côn trùng gây hại và côn trùng có ích trong hệ sinh thái nông nghiệp

Chiến lược mới này được thực hiện trên cơ sở quản lý dịch hại tổng hợp IPM, nghĩa là phối hợp sử dụng các hoạt động của các quần thể ký sinh ăn thịt trong tự nhiên với các biện pháp bảo vệ cây trồng có chọn lọc, bao gồm nhiều phương pháp nghĩa là sử dụng cả các thuốc trừ sâu vi sinh vật và cả các loại thuốc trừ sâu hóa học có độ độc thấp nằm trong danh mục thuốc BVTV được phép sử dụng ở Việt Nam, thuốc chỉ được dùng trên cơ sở điều tra phát hiện và người nông dân, cán bộ kỹ thuật đã nắm bắt được quy luật sinh học sinh thái của dịch hại.

Một trong những hướng cơ bản của công nghệ sinh học trong BVTV là tăng cường sản xuất ra các chế phẩm sinh học (cụ thể là vi sinh vật), bằng công nghệ sinh học và di truyền học người ta đã sản xuất các loại thuốc trừ sâu vi sinh vật trên những môi trường thức ăn nhân tạo dễ kiếm, rẻ tiền và từ nguồn ký chủ phụ.

4.1.1.3. Các chế phẩm sinh học trừ sâu có nguồn gốc từ vi sinh vật

Mặc dù có nhược điểm cơ bản là thuốc không ổn định, phổ tác động hẹp và tác động chậm đến sâu hại, hiệu quả của thuốc ban đầu lại không cao, điều đó đã hạn chế trong quá trình sử dụng. Nhưng trong tương lai, thuốc trừ sâu vi sinh vật sẽ có ý nghĩa lớn trong việc thay dần các loại thuốc hóa học, vì nhờ công nghệ sinh học các nhà khoa học có thể làm cho các chế phẩm sinh học có phổ tác động rộng hơn bằng con đường đưa vào vi sinh vật những gen bổ sung, những tổ hợp gen để chúng khuếch đại và tạo ra các dòng vô tính có độc tố cao. Đồng thời những chế phẩm vi sinh vật thường có hiệu quả trừ sâu lâu dài và bền vững.

Việc tạo các cây trồng được chuyển gen thông qua công nghệ sinh học sẽ ngày càng phát triển và dần dần được mở rộng trên nhiều đối tượng cây trồng. Các cây được chuyển gen có khả năng chống chịu đối với sâu hại bằng con đường tổng hợp các chất có tính chất xua đuổi riêng biệt hoặc bằng con đường sinh học khác.

4.1.2. Những nguồn bệnh côn trùng chính đã được sử dụng như những tác nhân trong phòng trừ sinh học

Theo tài liệu mới nhất của GS Yasuhisa Kunimi, trường Đại học Nông nghiệp và công nghệ Tokyo, Nhật Bản năm 1995 thì những nguồn bệnh côn trùng chính đã được sử dụng (bảng 4.1):

Bảng 4.1. Những nguồn bệnh côn trùng chính đã được sử dụng

Tên nhóm	Nhóm độc tố cao	Họ	Giống	Loài
Virus	Polyhedrosis Inclusion Body (PIB), Granulosis Virus (GV)	Baculoviridae	<i>Nucleopolyhedrosis virus</i>	<i>Helicoverpa armigera</i> , <i>Plutella xylostella</i>
		Poxviridae	<i>Granulosis virus</i>	
		Reoviridae	<i>Entomopox virus</i> <i>Cypovirus</i>	
Vi khuẩn	Nội độc tố Den ta endotoxin	Bacillaceae	<i>Bacillus</i>	<i>thuringiensis</i> <i>popilliae</i> <i>sphaericus</i> <i>entomophila</i>
		Enterobacteriaceae	<i>Bacillus</i> <i>Serratia</i>	

Nấm	Oomycetes Zygomycetes Deutermycetes Boverin Destruxin A,B	Pythiaceae	<i>Lagenidium</i> <i>Pyrenopeziza</i>	<i>giganteum</i> <i>radicans</i>
		Etmophthoraceae	<i>Etmophthora</i>	<i>maimaica</i>
		Moniliaceae	<i>Aschersonia</i>	<i>aulicae</i>
			<i>Beauveria</i>	<i>bassiana</i>
			<i>Hirsutella</i>	<i>brongniartii</i>
			<i>Metarhizium</i>	<i>thompsonii</i>
			<i>Nomuraea</i>	<i>citripormic</i>
			<i>Verticillium</i>	<i>anisopliae</i>
Nguyên sinh động vật	Microsporidide	Nosematidae	<i>Nosema</i>	<i>pyrausta</i>
			<i>Vairimorpha</i>	<i>locustae</i>
Tuyến trùng	Rhabditida	Steinernematidae	<i>Steinernema</i>	<i>carpocapsae</i>
		Heterorhabditidae	<i>Heterorhabditis</i>	<i>feltiae</i> <i>kushidai</i> <i>glaseri</i> <i>bacteriophora</i>

4.1.3. Khái niệm chung về bệnh lý và triệu chứng bị bệnh của côn trùng

a) Khái niệm chung

Côn trùng thường bị chết bởi các loại bệnh khác nhau do nhiều loài vi sinh vật gây nên như virus, vi khuẩn, vi nấm, nguyên sinh động vật và tuyến trùng,... Trong số đó thì bệnh do các vi sinh vật gây ra là chủ yếu, chiếm 80-90%, vì vậy khi nói về bệnh côn trùng nhiều người hiểu ngay là do các vi khuẩn, virus và vi nấm. Bệnh côn trùng thường thể hiện hàng loạt những đặc tính khác nhau, đặc điểm chung nhất của bệnh côn trùng là làm chết rất nhiều cá thể côn trùng trong một đợt, làm chấm dứt sự sinh sản hàng loạt, điều đó đã hạn chế được sự lây lan của các lứa sâu hại tiếp theo trong tự nhiên. Khoa học nghiên cứu bệnh côn trùng gọi là bệnh lý học côn trùng. Bệnh lý học côn trùng không chỉ đơn thuần miêu tả những biến đổi bệnh lý bên trong cơ thể côn trùng mà còn là tác nhân gây dịch bệnh, cũng như nghiên cứu các đặc điểm cơ bản và

những diễn biến của vi sinh vật gây bệnh ở bên trong và cả phía ngoài cơ thể ký chủ.

b) Triệu chứng bệnh côn trùng

Cá thể côn trùng bị bệnh thường khác với cá thể khỏe bởi hàng loạt triệu chứng bên ngoài là do côn trùng có những thay đổi về sinh lý và bệnh lý của các mô.

Những thay đổi bên ngoài có thể cảm nhận được gọi là triệu chứng bệnh. Triệu chứng đặc trưng nhất là sự thay đổi cách di động của côn trùng. Sự di động đó còn ~~tùy~~ theo mức độ phát triển của bệnh. Khi bị bệnh vi sinh vật thì các mô trong cơ thể côn trùng dần dần bị phá hủy từng phần, lúc đầu chúng di động yếu, về sau ngừng hẳn và nằm im một chỗ cho đến khi chết.

4.1.4. Quá trình lây nhiễm và nguyên nhân gây bệnh của vi sinh vật trên côn trùng

4.1.4.1. Quá trình lây nhiễm bệnh côn trùng

Thông thường đối với các loại bệnh truyền nhiễm do vi khuẩn và virus thì chúng lan truyền bằng đường ruột thông qua con đường thức ăn, nhưng đối với nguồn bệnh do vi nấm thì chủ yếu lại là do sự tiếp xúc trực tiếp với nhau hay qua trung gian truyền bệnh. Trung gian có thể là những loài ký sinh hay côn trùng ăn thịt, nhiều trường hợp do việc xác định tên các vi sinh vật gây bệnh côn trùng không chính xác nên rất dễ nhầm lẫn, vì vậy nhà khoa học Robert Koch đã lập ra những tiêu chuẩn để chứng minh sự hiện diện của các tác nhân vi sinh vật gây bệnh trên côn trùng.

4.1.4.2. Nguyên nhân gây bệnh vi sinh vật trên côn trùng

a) Vi sinh vật phải có mặt trong mọi trường hợp của bệnh ở côn trùng và có thể phân lập dòng thuần chủng được các vi sinh vật đó trên môi trường nhân tạo.

b) Khi dùng dạng vi sinh vật thuần khiết để gây bệnh nhân tạo thì có thể gây được loại bệnh tương tự.

c) Phải chứng minh được sự có mặt của vi sinh vật trong cơ thể côn trùng thí nghiệm nghĩa là khi thử lại hoạt lực sinh học của vi sinh vật đó trên côn trùng trong điều kiện thích hợp thì vi sinh vật đó tái xuất hiện trở lại.

Muốn cho vi sinh vật xâm nhập vào cơ thể ký chủ trở thành vi sinh vật gây bệnh thì chúng phải có tác động về mặt hóa học hay cơ học lên ký chủ và gây bệnh cho ký chủ.⁴ Trong các tác động hóa học có hoạt tính thấp nhất là những quá trình mà ở đó vi sinh vật chỉ lấy một phần thức ăn của ký chủ (cơ thể côn trùng) và chúng tiết ra các sản phẩm trao đổi chất với một lượng nhất định đối với côn trùng. Ảnh hưởng của các sản phẩm trao đổi chất thường được thể hiện rất rõ đối với vi nấm thường ở cuối giai đoạn hình thành bào tử.

Dựa vào công nghệ sinh học gồm công nghệ vi sinh, công nghệ tế bào, công nghệ gen, sinh học phân tử... các nhà khoa học trên thế giới và Việt Nam đã nghiên cứu thành công các chế phẩm vi sinh vật có hoạt lực cao nhằm góp phần vào việc phòng trừ sâu hại cây trồng đạt kết quả.

4.2. Thành tựu về thuốc trừ sâu vi sinh vật trên thế giới

4.2.1. Thành tựu về thuốc trừ sâu

***Bacillus thuringiensis* (Bt)**

4.2.1.1. Giới thiệu sơ bộ về *Bacillus thuringiensis*

Trong những năm đầu tiên của thế kỷ XIX kể từ khi nhà bác học Louis Pasteur đã phát hiện ra một loài vi khuẩn gây bệnh trên con tằm, ông đã xác định đó là vi khuẩn *Bacillus thuringiensis*. Năm 1915 nhà khoa học người Đức E. Berliner đã phân lập được một loài vi khuẩn từ ấu trùng của bướm phấn Địa Trung Hải (*Anagasta kuehniella*), tác giả xác định tên vi khuẩn là *Bacillus thuringiensis*, về sau chủng này bị thất lạc cho mãi tới năm 1927 nhà khoa học K. Master mới phân lập lại và từ sau đó trở đi *Bacillus thuringiensis* được các nhà khoa học từ nhiều bộ môn khác nhau trên thế giới

nghiên cứu khá kỹ và rất sâu về tất cả các mặt như sinh lý học, sinh thái học và sinh học phân tử.

Đến nay *Bacillus thuringiensis* được nhiều nước trên thế giới, ngay cả ở nước ta đã biết đến với tên viết tắt là Bt.

a. Đặc điểm của *Bacillus thuringiensis*

Bacillus thuringiensis là trực khuẩn sinh bào tử, hiếu khí hoặc hiếu khí không bắt buộc, bắt màu thuốc nhuộm gram dương, kích thước tế bào dài 3 - 6 μm có phủ tiêm mao không dày, chuyển động được. Tế bào đứng riêng rẽ hoặc xếp thành từng chuỗi. *Bacillus thuringiensis* rất giống với *Bacillus cereus* về hầu hết các đặc điểm hình thái và sinh lý. Cả hai loài trên đều không lên men sinh axit đối với arabinoza, xiloza và manitol, đều khử NO_3 thành NO_2 , đều có phản ứng với lòng đỏ trứng, đều phát triển trên môi trường thạch kỵ khí và trên môi trường chứa 0,001% lizozim.

Đặc điểm khác nhau cơ bản giữa hai loài *Bacillus thuringiensis* và *Bacillus cereus* là Bt chứa tinh thể độc có bản chất protein trong tế bào, còn *B. cereus* thì không có đặc tính này (Goldberg, 1980). Nhiệt độ sinh trưởng cao nhất của *B. cereus* là 35- 45°C, của Bt là 40- 45°C, nhiệt độ sinh trưởng thấp nhất của *B. cereus* là 10-20°C, của Bt là 15-20°C.

Bào tử vi khuẩn Bt có dạng hình trứng dài 1,6 - 2 μm , có thể nảy mầm thành tế bào sinh dưỡng khi gặp điều kiện thuận lợi. Tinh thể protein còn được gọi là “thể kèm bào tử”, có kích thước khoảng 0,6 x 2 μm , hình quả trám tám mặt, có bản chất protein.

b. Cơ sở khoa học để xác định *Bacillus thuringiensis*

Trong loài *Bacillus thuringiensis* được chia thành nhiều loài phụ khác nhau cho nên người ta thường căn cứ vào đặc điểm sau:

- Khả năng hình thành enzym loxitinaza.
- Cấu trúc tinh thể và khả năng gây bệnh cho côn trùng.
- Đặc tính huyết thanh học (kháng nguyên tiêm mao Krieg, 1968).
- Phản ứng ngưng kết của các tế bào vi khuẩn sinh dưỡng với kháng huyết thanh.

Bảng 4.2. Các thứ và tít huyết thanh của vi khuẩn *Bacillus thuringiensis*

Tên thứ (Vairiant)	Tít huyết thanh (Serotype)
<i>var. thuringiensis</i>	H.1
<i>var. finitimus</i>	H.2
<i>var. alesti</i>	H.3a
<i>var. kurstaki</i>	H.3a3b
<i>var. dendrolimus</i>	H. 4a4b
<i>var. morrisoni</i>	H.4a4c
<i>var. ostrinia</i>	H.5a5b
<i>var. tolworthi</i>	H.5a5c
<i>var. damrstadie. sotto</i>	H.6
<i>var. kenyae</i>	H.6
<i>var. galleriae</i>	H.7
<i>var. canadiensis</i>	H.8a8b
<i>var. subtoxicus</i>	H.8a8c
<i>var. entomocidi</i>	H.9
<i>var. airawai</i>	H.10
<i>var. toumanoffi</i>	H.11a11b
<i>var. kyushuensis</i>	H.11a11c
<i>var. thompsoni</i>	H.12
<i>var. pakistani</i>	H.13
<i>var. israelensis</i>	H.14
<i>var. indiana</i>	H.15
<i>var. tohokuensis</i>	H.16
<i>var. kumamotoensis</i>	H.17
<i>var. tochigiensis</i>	H.18
<i>var. dakota</i>	H.(15)
<i>var. fowleri</i>	
<i>var. wuhanensis</i>	
<i>var. nigeriae</i>	H.8a8b
<i>var. yunnanensis</i>	H.19
<i>var. japanensis</i>	H.20

Hiện nay trên thế giới các nhà khoa học đã biết tới hơn 38 loài phụ khác nhau thuộc loài Bt, cùng một tít huyết thanh cũng có loài phụ khác nhau.

~ Căn cứ vào các dạng tinh thể khác nhau, Bt được chia ra nhiều tít huyết thanh khác nhau có độc tính rất chuyên với từng loại sâu hại, các protein độc tố thường ở dạng tinh thể protein (Crystal) hình quả trám, viết tắt là Cry. Đến nay các nhà khoa học đã phân biệt được rất nhiều dạng từ Cry I đến Cry IX, ví dụ như bộ cánh vẩy Lepidoptera có dạng tinh thể thuộc nhóm Cry I, bộ

Lepidoptera & Diptera thuộc nhóm Cry II, bộ cánh cứng Coleoptera thuộc nhóm Cry III, bộ hai cánh Diptera thuộc nhóm Cry IV...

– Căn cứ vào các typ huyết thanh, người ta đã phát hiện ra các loại Bt để sản xuất ra chế phẩm Bt.

4.2.1.2. Các loại độc tố của *Bacillus thuringiensis* và cơ chế tác động của Bt lên côn trùng

a. Các loại độc tố của *Bacillus thuringiensis*

Có 4 loại độc tố được sinh ra đó là:

- Ngoại độc tố α (α - exotoxin) hay còn gọi là phospholipase C.
- Ngoại độc tố β (β - exotoxin) hay còn gọi là độc tố bền nhiệt.
- Ngoại độc tố γ (γ - exotoxin) hay còn gọi là độc tố tan trong nước.
- Nội độc tố δ (δ - endotoxin) hay còn gọi là tinh thể độc.

*** Ngoại độc tố α (α - exotoxin) hay là phospholipase C:**

Năm 1953 lần đầu tiên nhà khoa học Toumanoff phát hiện thấy vi khuẩn Bt var. *elesti* sản sinh ra enzym lōxitinaza. Tác động độc của enzym này có liên quan đến sự phân hủy mang tính cảm ứng của phospholipit trong mô của côn trùng làm cho côn trùng bị chết (Krulov & Manakov, 1987). Enzym này đầu tiên liên kết với tế bào ruột của côn trùng, sau đó tách ra và được hoạt hóa bởi một chất không bền nhiệt. Chất này có trọng lượng phân tử thấp, có thể là lipit. Độc tố này đặc biệt chỉ có tác động với loài ong xẻ (*Tenthredinidae*) có pH đường ruột phù hợp với tác động của enzym.

*** Ngoại độc tố β (β - exotoxin) hay còn gọi là độc tố bền nhiệt**

Ngoại độc tố này ở 120°C trong 15 phút vẫn còn hoạt tính. Một số Bt không sinh tinh thể độc nhưng có thể sinh ra ngoại độc tố β - exotoxin. Hoạt tính của ngoại độc tố β - exotoxin bắt đầu xuất hiện trong giai đoạn vi khuẩn phát triển mạnh, trước khi hình thành bào tử. Ngoại độc tố β - exotoxin là một nucleotit có trọng lượng phân tử thấp (707- 850), có các ademin, riboza, photpho với tỷ lệ bằng nhau. Tác động độc của nó là kìm hãm nucleotit và ADN - polymeraza phụ

thuộc AND, các enzym này gắn với ATP và dẫn tới việc ngưng tổng hợp ARN (Krulov và Manakov, 1987). Ngoại độc tố β - exotoxin còn có tác dụng cộng hưởng với nội độc tố δ - endotoxin, sau khi nội độc tố δ - endotoxin có tác dụng gây dập vỡ, phá hủy hoàn toàn biểu mô ruột giữa của côn trùng mẫn cảm, ngoại độc tố đã nhanh chóng xâm nhập vào huyết tương và máu tới các cơ quan gây thay đổi sinh lý và dẫn tới cái chết nhanh chóng đối với ấu trùng.

Ngoại độc tố β - exotoxin rất có hiệu quả trong việc phòng trừ sâu non của các loài côn trùng mẫn cảm. Nó gây ra những trì trệ trong việc chuyển hóa lột xác của sâu hại và có tác động đối với cả con trưởng thành được phát triển từ các ấu trùng khi đã ăn phải độc tố dưới ngưỡng gây chết.

Ngoại độc tố β - exotoxin đã thử nghiệm trên các loại côn trùng khác nhau như được nêu trong bảng 4.3.

** Ngoại độc tố γ (γ - exotoxin) hay còn gọi là độc tố tan trong nước.*

Độc tố có chứa các peptit với trọng lượng phân tử thấp (200-2000) và một số axit amin tự do. Độc tố này tan trong nước, không ổn định, mẫn cảm với không khí, ánh sáng, oxy và nhiệt độ (bị mất hoạt lực từ 60°C trở lên trong vòng 10-15 phút).

Độc tố này thuộc nhóm photpholipaza, có tác động lên photpholipit và giải phóng ra axit béo.

** Nội độc tố δ - endotoxin hay còn gọi là tinh thể độc*

Nội độc tố δ endotoxin là một protein kết tinh gồm 1.180 axit amin. Các axit amin chủ yếu là glutamic, asparaginic, chiếm trên 20% tổng số axit amin trong phân tử và là nguyên nhân gây điểm đẳng điện thấp (4,4). Lượng axit amin sistin nhỏ, (nhỏ hơn 2% tổng số axit amin) quy định sự không hòa tan của tinh thể. Ngoài ra còn có các axit amin khác như acginin, treonin, lợxin, izoloxin, v.v... Ngoài protein, tinh thể còn chứa những thành phần khác như hydratecarbon (5,6%), nhưng cũng có khả năng hydratecarbon chỉ kết hợp với tinh thể như một sự pha tạp trong quá trình hình thành bào tử.

Về thành phần nguyên tố của tinh thể, ngoài các nguyên tố truyền thống như C, N, H, O, S chúng còn có 19 nguyên tố nữa là

Ca, Mg, Si, Fe... và một số lượng nhỏ Ni, Ti, Zn, Al, Cu, Mn..., hầu như không có photpho.

Bảng 4.3. Khả năng miễn cảm với ngoại độc tố β - exotoxin ở các loài côn trùng khác nhau (Pu Zhelong, 1994)

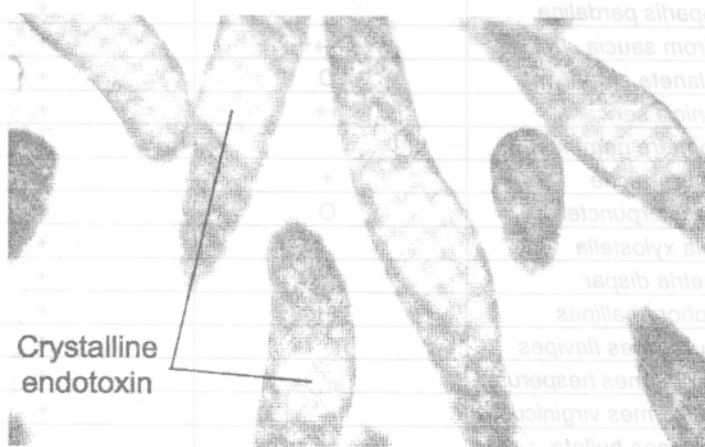
Loài côn trùng	Qua đường tiêu	Qua đường tiêu hoá
<i>Aedes aegypti</i>	++	+
<i>Aphis mellifera</i>	++	O
<i>Biatta orientalis</i>	++	+
<i>Bombyx mori</i>	++	+
<i>Lophyrus pini (Dipion pini)</i>	++	+
<i>Drosophila melanogaster</i>		+
<i>Estigmene acrea</i>	0	+
<i>Euxoa segetum</i>	O → +	+
<i>Galleria mellonella</i>	++	+
<i>Heliothis zea</i>		+
<i>Hylemya brassicae</i>		+
<i>Laphygma exigua</i>		+
<i>Leptinotarsa decemlineata</i>	++	+
<i>Locusta migratoria</i>	++	+
<i>Ostrinia nubilalis</i>	++	+
<i>Malacosoma neustris</i>	+	+
<i>Mamestra brassicae</i>	+	+
<i>Mamestra olivaceae</i>	++	+
<i>Musca autumnalis</i>	++	+
<i>Musca domestica</i>	++	+
<i>Myrioparis pardalina</i>		+
<i>Peridrom saucia</i>	O → +	+
<i>Periplaneta americana</i>	O	+
<i>Phaenicia sericana</i>	++	+
<i>Phytometra gamma</i>		+
<i>Pieris brassicae</i>	+	
<i>Plodia interpunctella</i>	O	+
<i>Plutella xylostella</i>		+
<i>Porthetria dispar</i>	+	+
<i>Pristiphora pallipes</i>	++	+
<i>Reticulitermes flavipes</i>		+
<i>Reticulitermes hesperus</i>		+
<i>Reticulitermes virginicus</i>		+
<i>Sarcophaga bullata</i>	++	
<i>Zootermopsis angusticollis</i>	-	+

Chú thích:

- | | |
|-------|-------------------------|
| O | Không có độc tính. |
| O → + | Độc tính không ổn định. |
| + | Độc tính thấp. |
| ++ | Độc tính cao. |

Sự tổng hợp tinh thể chỉ xảy ra khoảng 3 giờ, trong pha cân bằng. Mỗi bào tử có thể có từ 1- 3 tinh thể độc (Berliner, 1915). Tinh thể độc trong tế bào vi khuẩn có kích thước khá lớn (dài >1µm, rộng >0,5µm), chiếm tới 30% trọng lượng khô của tế bào mang bào tử và tinh thể.

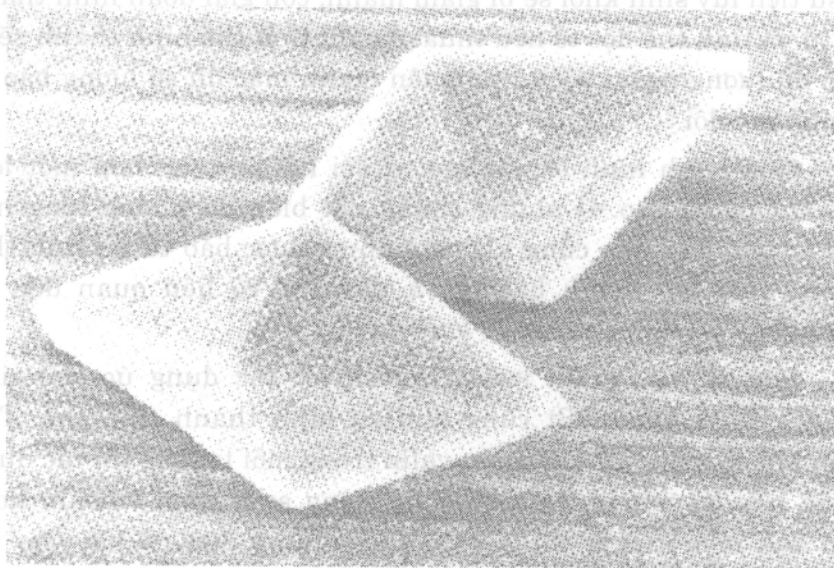
Tinh thể không tan trong dung môi hữu cơ, tuy nhiên có những tinh thể lức đầu tách ra khỏi bào tử có thể tan trong pH rất kiềm, ví dụ pH >11,5, khi có mặt các chất khử trong dung dịch đệm kiềm pH dao động từ 7,9 - 9,5 thì tính tan của nó tăng lên. Tinh thể độc rất bền ở nhiệt độ cao nếu ở dạng nguyên vẹn, đun ở 65°C trong 1 giờ vẫn còn hoạt tính, thậm chí ở 80°C trong 20 phút cũng vậy, đun ở 100°C trong vòng 30- 40 phút thì tinh thể bị phân hủy và mất tính độc (Krulov và Maiorov, 1987). Gần đây các nhà khoa học Mỹ đã phân lập được 72 chủng Bt mới có hoạt lực trừ các loại sâu non thuộc bộ cánh vẩy Lepidoptera, trong đó có những chủng Bt đã sản ra các protein cực độc. Protein độc này có hoạt lực cao gấp 20 lần thuốc trừ sâu và đây là hiệu quả cao nhất, điều này chứng tỏ khả năng to lớn của thuốc trừ sâu vi sinh vật.



Hình 4.1. Tinh thể độc tố của Bt chụp qua kính hiển vi điện tử

Theo các nhà khoa học thì những con đường làm tăng hiệu quả các thuốc trừ sâu Bt là công nghệ để sản xuất thuốc theo phương pháp lên men công nghiệp từ các chủng vi khuẩn Bt đã được lựa chọn và có khả năng tạo ra các tinh thể độc tố.

Trong 4 loại độc tố trên, người ta chú ý nhiều đến nội độc tố δ endotoxin vì nó quyết định hoạt tính diệt côn trùng của Bt. Hiện nay trên thế giới còn có những khả năng chế tạo và nghiên cứu sử dụng thuốc trừ sâu vi sinh Bt tổng hợp, hoặc tổng hợp hai chủng Bt với nhau, hoặc tổng hợp Bt với thuốc trừ sâu virus để làm tăng hiệu quả trừ sâu theo cơ chế đồng tác động. Dưới kính hiển vi điện tử, các nhà khoa học Mỹ đã chụp được tinh thể độc tố trong bào tử của Bt.



Hình 4.2. Tinh thể độc tố của Bt chụp qua kính hiển vi điện tử

b. Các yếu tố ảnh hưởng tới sự hình thành tinh thể độc (nội độc tố δ - endotoxin)

Tất cả các yếu tố ảnh hưởng tới quá trình sinh trưởng và phát triển của Bt đều có ảnh hưởng tới quá trình hình thành tinh thể độc.

– Vi khuẩn Bt sinh trưởng thích hợp trong khoảng nhiệt độ từ 25 - 35°C nhưng nhiệt độ tối ưu là 30°C, nếu nuôi cấy ở 15°C trở

xuống thì bào tử không hình thành nhưng tinh thể độc tạo được rất ít.

- pH thích hợp cho Bt phát triển là 7, pH quá cao hoặc quá thấp đều làm biến tính tinh thể.

- Một số nguồn dinh dưỡng như C, N, P, pepton khi cho vào môi trường ở nồng độ 0,3- 0,5% đều có ảnh hưởng đến quá trình hình thành tinh thể độc.

- Nồng độ oxy có ảnh hưởng lớn đối với sự hình thành bào tử và tinh thể độc, nồng độ oxy phải đưa vào môi trường thích hợp theo từng giai đoạn, nếu giai đoạn đầu sinh trưởng mà thiếu oxy thì sự tích lũy sinh khối sẽ bị giảm mạnh, còn giai đoạn hình thành bào tử và tinh thể độc tổ nếu thừa oxy thì tinh thể hình thành sẽ bị giảm đi, lượng ngoại độc tổ tăng lên mạnh mặc dù số lượng bào tử không thay đổi.

- Quá trình hình thành bào tử đòi hỏi sự tổng hợp một loại proteaza ngoại bào. Ở những chủng đột biến do không tổng hợp được enzym này nên cũng không sinh ra được bào tử và tinh thể. Như vậy sự tạo thành bào tử và tinh thể có liên quan đến sự chuyển hóa protein của tế bào sinh dưỡng.

- Một số axit amin loxin, izoloxin có tác dụng ức chế sinh trưởng của vi khuẩn Bt cũng như sự hình thành tinh thể. Tuy nhiên khi có mặt của axit amin valin trong môi trường thì tác dụng ức chế này bị mất đi. Nếu bổ sung riêng axit amin treonin hoặc serin vào môi trường thì gây ức chế, nhưng đưa cả hai vào thì không có hiện tượng này. Tác dụng ức chế của axit amin serin cũng mất đi nếu có mặt của axit amin methionin (Singer, 1981).

- Những yếu tố ảnh hưởng đến sự trao đổi axit axetic cũng làm ức chế việc tạo thành bào tử và tinh thể độc, ví dụ như axit α - picolinic và axit fluoaxetat.

- Chất kháng sinh erythromicin ở nồng độ thấp chưa đủ để ức chế *Bacillus thuringiensis* sinh trưởng nhưng nó lại cản trở sự hình thành bào tử. Sự có mặt của chất kháng sinh này làm thể mang bào tử không bị phân giải và tinh thể sẽ bị giữ lại trong phần còn lại của thành tế bào.

c. *Hoạt tính diệt côn trùng được quyết định bởi cấu trúc của tinh thể*

Các chủng Bt khác nhau có hoạt tính diệt côn trùng khác nhau, trước đây các chủng Bt được xem là chỉ có độc tính với côn trùng bộ cánh vẩy Lepidoptera, cuối những năm 70 và đầu những năm 80 của thế kỷ XX, có một số chủng Bt phân lập được cũng có độc tính đối với côn trùng bộ hai cánh Diptera và côn trùng bộ cánh cứng Coleoptera (Hernatadt, 1986). Gần đây các nhà khoa học cũng phát hiện ra các chủng Bt khác có độc tính đặc biệt đối với mầm bệnh của động vật nguyên sinh, sán lá ký sinh động vật *Trematoda* hoặc *Acari* (Feitelson, 1992).

Số lượng gen sinh protein tinh thể được xác định tăng cùng với số lượng các chủng Bt, người ta thấy rõ rằng hoạt tính và phổ tác dụng diệt côn trùng phần lớn được quyết định bởi cấu trúc của protein tinh thể.

Năm 1989 nhà khoa học Sanchis đã xác định được trình tự của khoảng 50 gen mã hóa protein tinh thể từ các chủng Bt thuộc các tít huyết thanh khác nhau, trong đó có khoảng 20 gen phân biệt chịu trách nhiệm tổng hợp các protein tinh thể, nhất là các protein tinh thể độc diệt côn trùng có trọng lượng phân tử nằm trong khoảng 130 kDa hoặc 70 kDa. Trong quá trình tiêu hoá, protein tinh thể 130 kDa được hoạt hóa thành mảnh độc tố 60 kDa bằng cách lấy đi một nửa chuỗi các bon cuối của phân tử, các độc tố gắn với màng tế bào ruột tạo ra các lỗ, những lỗ này phá vỡ sự cân bằng thẩm thấu làm cho tế bào bị căng ra và tiêu hủy. Trong các mảnh độc tố có 5 phần đã được xác định, chúng được duy trì trong độc tố của các protein tinh thể độc. Hofte và Whitely (1989) đã chia các protein tinh thể thành 5 lớp, dựa trên trình tự và phổ tác dụng diệt côn trùng.

– Protein tinh thể Cry I là protein tinh thể phổ biến nhất có dạng hình thoi, là độc tố gây bệnh đối với ấu trùng thuộc bộ cánh vẩy Lepidoptera, mặc dù một số protein Cry có mối quan hệ chặt chẽ, mỗi protein có đặc tính và phổ tác dụng diệt côn trùng riêng.

– Các protein Cry II tạo thành các tinh thể hình chữ thập với 2 loại Cry IIA có tác dụng với sâu non thuộc bộ cánh vẩy Lepidoptera

và bộ 2 cánh Diptera, còn protein Cry IIB chỉ có tác dụng với sâu non thuộc bộ cánh vẩy Lepidoptera.

– Các protein Cry III tạo ra các tinh thể hình thoi và chúng chỉ có tác dụng đối với ấu trùng bộ cánh cứng Coleoptera.

d. Cơ chế tác động của các tinh thể độc lên côn trùng

Tùy theo từng loại côn trùng mà có 3 cơ chế tác động của các tinh thể độc lên côn trùng:

– Sau khi ăn phải tinh thể độc một thời gian khoảng 5 - 20 phút thì ruột giữa của côn trùng bị tê liệt làm cho pH trong máu và tế bào bạch huyết tăng lên, pH ruột giữa giảm xuống do chất kiềm của ruột thấm vào máu và các tế bào biểu mô ruột bị phá hủy. Sau 1 giờ toàn bộ cơ thể bị tê liệt.

– Sau khi ăn phải tinh thể độc thì côn trùng ngừng ăn vì ruột bị tê liệt nhưng pH của máu và bạch huyết không tăng, sau 2 - 4 ngày thì côn trùng chết mặc dù sâu non không bị tê liệt toàn thân.

– Khi côn trùng ăn phải tinh thể độc có kèm theo bào tử thì mới gây chết côn trùng chỉ sau 2 - 4 ngày, người ta không thấy hiện tượng liệt.

4.2.1.3. Những ưu điểm và hạn chế của thuốc trừ sâu vi sinh vật *Bacillus thuringiensis*

a. Ưu điểm

Cho đến nay, trên thế giới *Bacillus thuringiensis* là thuốc trừ sâu vi sinh vật càng ngày càng có xu hướng được sử dụng rộng rãi để phòng trừ nhiều loại sâu hại cây trồng bởi vì nó có những ưu điểm hơn hẳn thuốc trừ sâu hóa học:

– Mất hoạt tính trong nước vì tốc độ lắng đọng nhanh của các bào tử và tinh thể, và sự hấp thụ các hạt hữu cơ.

– Mất hoạt tính trong đất vì bị sự tác động của các vi sinh vật đất.

b. Hạn chế

Một trong những hạn chế chính của Bt là không có khả năng nhân lên trong vùng thức ăn của sâu non và kém bền vững dưới tác

động của các tác nhân vật lý và hóa học do sự nảy mầm nhanh của phức hợp tinh thể bào tử.

Thứ hai là côn trùng kháng Bt, năm 1980 theo Bries thì côn trùng không có khả năng kháng Bt nhưng đến năm 1983 Beman và Hered khi nghiên cứu trong phòng thí nghiệm các tác giả đã xác định được côn trùng thuộc bộ 2 cánh Diptera kháng được ngoại độc tố β - exotoxin của Bt.

Năm 1985 William đã tìm ra loài *Plodia interpunctella* thuộc bộ cánh vẩy Lepidoptera kháng lại phức hợp bào tử và tinh thể độc tố của Bt, theo tác giả thì khả năng kháng Bt đã tăng gần 30 lần trong 2 thế hệ được nuôi bằng thức ăn có xử lý Bt. Khả năng kháng Bt bền vững khi tiếp tục chọn lọc, nó di truyền theo tính trạng lặn. Theo Kiniglit (1994) thì khi nắm được cơ chế tác động của tinh thể độc cũng như chức năng của chúng sẽ mang tính quyết định đối với việc xác định việc chống lại cơ chế kháng Bt.

Vai trò kết hợp giữa các protein tinh thể với các receptor trên tế bào biểu mô ruột giữa được chứng minh rõ trong một số trường hợp mà các côn trùng đã tăng khả năng kháng lại đối với một hoặc một số protein tinh thể độc.

Cơ chế kháng Bt đã được phân tích trong các quần thể kháng Bt và cho thấy rằng sự kết hợp với một số receptor đã bị giảm một cách đáng kể (Ferre, 1991 và Klier, 1995). Vấn đề quan trọng là trong các nghiên cứu trên đã chứng minh được sự có mặt của các receptor khác nhau trong tế bào ruột giữa với các protein tinh thể khác nhau đã cho con người điều khiển được sự kháng thuốc trừ sâu Bt của một số côn trùng hại cây trồng.

4.2.1.4. Các phương pháp nghiên cứu để làm tăng hiệu quả của thuốc trừ sâu vi sinh Bt

Bằng kỹ thuật di truyền từ các plasmid chứa các gen Cry, vì vậy có thể tạo nên các gen sinh nội độc tố δ - endotoxin mới của Bt. Nhờ các kỹ thuật này mà các nhà khoa học đã sử dụng rất thành công và một số tác giả đã thu được các chủng Bt mới có hoạt tính diệt sâu tăng một cách có ý nghĩa đối với những dịch côn trùng gây hại nguy

hiếm, tuy nhiên còn có một số giới hạn trong phương pháp tiếp hợp đó là:

- Không phải tất cả các gen Cry nào cũng đều nằm trên các plasmid có thể di chuyển được.

- Nội độc tố δ - endotoxin có hoạt tính diệt côn trùng có thể tổng hợp được với số lượng thấp, ví dụ gen Cry IIA nằm trên plasmid 110 MDa không thể di chuyển được trong điều kiện thí nghiệm bình thường, mặt khác plasmid 110 MDa có thể chứa thêm tới 3 gen Cry bên cạnh Cry IIA, do đó protein Cry IIA được tổng hợp với số lượng khá thấp thậm chí trong một số trường hợp gen Cry quan tâm nằm trên plasmid không thích hợp. Những hạn chế này đã khuyến khích việc nghiên cứu sử dụng kỹ thuật tái tổ hợp ADN. Với các plasmid tái tổ hợp ở Bt, mức độ sinh nội độc tố δ - endotoxin được tăng lên và mở rộng phạm vi sâu chủ đặc trưng (Lereclus và CS, 1989).

Chủng Bt tái tổ hợp mới chứa cả gen Cry trước và gen Cry mới chuyển, song điểm đáng chú ý là cấu trúc của Bt không có ADN lạ, ngoại trừ gen Cry mới. Kết quả của công nghệ này là người ta đã thu được chủng Bt có khả năng diệt trừ cả sâu non thuộc bộ cánh vẩy Lepidoptera và sâu non thuộc bộ cánh cứng Coleoptera (Lereclus, 1992). Một số thể lai tái tổ hợp có hoạt tính diệt côn trùng với phạm vi sâu chủ hẹp hơn nhưng cũng có một số thể lai có hoạt tính diệt côn trùng mạnh hơn, ngoài ra các thể lai còn có khả năng diệt trừ được cả các loài côn trùng khác (Caramori và CS, 1991) (Lu và CS, 1994).

Thực tế cho thấy là không thể thay đổi được những đặc điểm sinh lý của Bt, nhưng con người có thể tạo ra những dòng gen độc tố hoặc tốt hơn là tổ hợp trong cơ thể có khả năng sống sót hoặc được nhân lên trong vùng thức ăn của sâu non hại cây trồng. Hãng Mycogen đã làm tăng độ bền của thuốc trừ sâu vi sinh Bt bằng cách chuyển gen chịu trách nhiệm tổng hợp protein tinh thể vào vi khuẩn *Pseudomonas fluorescens*, sau đó vi khuẩn này bị giết chết và được dùng làm tế bào để bao bọc tinh thể, điều đó đã duy trì lâu dài hơn hoạt tính của tinh thể.

Một gen protein tinh thể được chuyển vào vi khuẩn sống trong mô thực vật *Clavibacter xyli* subs. *Cynodentis* khi vi khuẩn này

mầm, nó sẽ được nhân lên trong hệ thống mạch của thực vật đồng thời tạo ra protein tinh thể độc.

Để giải quyết những hạn chế của Bt trong việc diệt trừ những côn trùng hại sống ở trong đất, các gen tinh thể độc của Bt đã được chuyển thành công vào các vi khuẩn *Pseudomonas fluorescens* ở rễ hoặc ở vi khuẩn nốt sần *Bradyrhizobium*.

Để kéo dài hiệu lực của tinh thể độc tố Bt chủng *Israelensis* người ta đã nghiên cứu chuyển các gen tổng hợp độc tố Cry IV vào các cơ thể vi sinh vật sống ở môi trường nước giống như ấu trùng muỗi và ruồi định diệt. Bằng cách này các độc tố đã tác động lên côn trùng thuộc bộ hai cánh Diptera, chúng bền vững và có thể tăng lên với số lượng lớn làm tăng độc tính của Bt đối với các loài côn trùng sống ở nước mà con người định tiêu diệt (Porter và CS, 1983).

Gần đây do có sự phát triển của công nghệ biến nạp thực vật đã giúp cho các nhà khoa học nghiên cứu chuyển các gen lạ vào rất nhiều loại cây quan trọng kể cả những cây một lá mầm. Thuốc lá là loài thực vật đã được chuyển gen nội độc tố δ - endotoxin bền vững (Vaeck và CS, 1987). Cho đến nay trên thế giới đã có khoảng hơn 25 loài thực vật được chuyển gen để tổng hợp các protein tinh thể độc đặc trưng để diệt trừ các loại sâu non thuộc bộ cánh vẩy Lepidoptera hoặc các loại sâu non thuộc bộ cánh cứng Coleoptera (Ely, 1993).

4.2.1.5. Công nghệ sản xuất chế phẩm Bt trên thế giới

Có hai phương pháp sản xuất Bt là lên men xộp và lên men chìm.

a. Công nghệ lên men xộp

Người ta thường dùng những hạt bằng cơ chất rắn, những loại hạt này có hoặc không có khả năng hấp thụ các chất dinh dưỡng trên bề mặt. Các hạt cơ chất rắn này có thể đóng vai trò làm nguồn chất dinh dưỡng, ví dụ như cám lúa mì, bột ngô, bánh hạt bông loại dầu... hoặc nó có thể chỉ đơn giản đóng vai trò như chất mang vô cơ (Dulmage và Rhodes, 1971).

Theo Dulmage năm 1981 thì công nghệ sản xuất Bt ở quy mô lớn bằng phương pháp lên men xộp gặp nhiều khó khăn mà người

sản xuất phải quan tâm đó là việc cung cấp không khí vào môi trường, ngăn chặn sự nhiễm, điều chỉnh sự lên men và thu hoạch. Phương pháp lên men xốp thường cho sản lượng thấp hơn rất nhiều so với lên men chìm và nó không phải là phương pháp thực sự có hiệu quả cao để sản xuất Bt thành chế phẩm thương mại.

Ở các nước đang phát triển trong giai đoạn hiện nay việc sử dụng Bt rộng rãi vẫn còn bị hạn chế vì các lý do kinh tế, do đó người ta muốn sản xuất Bt ngay tại địa phương thật nhanh với số lượng nhiều để cho giá thành thấp, hoạt tính diệt sâu hại cao. Vì vậy, việc sản xuất Bt bằng phương pháp lên men xốp hầu như không được thực hiện.

b. Công nghệ lên men chìm

** Chọn chủng Bt*

Bằng phương pháp lên men trong nồi lên men nhiều nước đã sản xuất Bt ở dạng công nghiệp để thu được một lượng sinh khối Bt chất lượng tốt, muốn vậy thì việc đầu tiên người sản xuất phải chọn chủng Bt. Căn cứ vào các týp huyết thanh và các protein độc tố theo bảng 4.4 để lựa chọn chủng.

Bảng 4. 4. Danh mục 38 loài phụ trong loài vi khuẩn *Bacillus thuringiensis* (Pu Zhelong, 1994)

STT	Tên loài phụ	Typ huyết thanh
1	<i>B.thuringiensis</i> subsp. <i>wuhanensis</i>	-
2	<i>B.thuringiensis</i> subsp. <i>wequanensis</i>	-
3	<i>B.thuringiensis</i> subsp. <i>hebeiensis</i>	-
4	<i>B.thuringiensis</i> subsp. <i>thuringiensis</i>	H1a
5	<i>B.thuringiensis</i> subsp. <i>funitimus</i>	H1a1b
6	<i>B.thuringiensis</i> subsp. <i>alesti</i>	H2
7	<i>B.thuringiensis</i> subsp. <i>kurstaki</i>	H3a3b
8	<i>B.thuringiensis</i> subsp. <i>sumiyoshiensis</i>	H3a3d
9	<i>B.thuringiensis</i> subsp. <i>fukuokaensis</i>	H3a3d3e
10	<i>B.thuringiensis</i> subsp. <i>sotto</i>	H4a4b
11	<i>B.thuringiensis</i> subsp. <i>dendrolimus</i>	H4a4b
12	<i>B.thuringiensis</i> subsp. <i>kenyae</i>	H4a4c
13	<i>B.thuringiensis</i> subsp. <i>galleria</i>	H5a5b
14	<i>B.thuringiensis</i> subsp. <i>canadaensis</i>	H5a5c

15	<i>B.thuringiensis</i> subsp. <i>subtoxicus</i>	H6
16	<i>B.thuringiensis</i> subsp. <i>entomocidus</i>	H6a
17	<i>B.thuringiensis</i> subsp. <i>oryanensis</i>	H6a6c
18	<i>B.thuringiensis</i> subsp. <i>aizawai</i>	H7
19	<i>B.thuringiensis</i> subsp. <i>morrisoni</i>	H8a8b
20	<i>B.thuringiensis</i> subsp. <i>tenebrionis</i>	H8a8b
21	<i>B.thuringiensis</i> subsp. <i>ostrinia</i>	H8a8c
22	<i>B.thuringiensis</i> subsp. <i>tolworthi</i>	H9
23	<i>B.thuringiensis</i> subsp. <i>darmastadiensis</i>	H10
24	<i>B.thuringiensis</i> subsp. <i>toumanoffi</i>	H11a11b
25	<i>B.thuringiensis</i> subsp. <i>kyushuensis</i>	H11a11c
26	<i>B.thuringiensis</i> subsp. <i>thompsoni</i>	H12
27	<i>B.thuringiensis</i> subsp. <i>pakistani</i>	H13
28	<i>B.thuringiensis</i> subsp. <i>israelensis</i>	H14
29	<i>B.thuringiensis</i> subsp. <i>dakota</i>	H15
30	<i>B.thuringiensis</i> subsp. <i>indiana</i>	H16
31	<i>B.thuringiensis</i> subsp. <i>tohokuensis</i>	H17
32	<i>B.thuringiensis</i> subsp. <i>kumamotoensis</i>	H18
33	<i>B.thuringiensis</i> subsp. <i>tochigiensis</i>	H19
34	<i>B.thuringiensis</i> subsp. <i>yunnanensis</i>	H20
35	<i>B.thuringiensis</i> subsp. <i>colmeri</i>	H21
36	<i>B.thuringiensis</i> subsp. <i>shandongensis</i>	H22
37	<i>B.thuringiensis</i> subsp. <i>japonensis</i>	H23
38	<i>B.thuringiensis</i> subsp. <i>neolenensis</i>	H24

Căn cứ vào các protein độc tố mà nhà sản xuất lựa chọn chủng cho phù hợp.

Bảng 4.5. Ký hiệu protein độc tố của các týp huyết thanh *B. thuringiensis*
(Tài liệu của Crickmore và CTV, 1996)

Ký hiệu protein độc tố	Tên chủng Bt	Trên đối tượng sâu hại	Thuộc bộ
CryIA (a)	<i>Kurstaki</i>	Sâu xanh bông, đục thân ngô, sâu kéo màng	Lepidoptera
CryIA (b)	<i>Berliner</i>	Sâu xám bắp cải, thuốc lá, thuốc	Lepidoptera, Dip.
CryIA (c)	<i>Kurstaki</i>	Sâu đo, sâu xanh thuốc lá, bông	Lepidoptera
CryIA (d)	<i>Aizawai</i>	Nhiều sâu bộ cánh vẩy	Lepidoptera
CryIA (c)	<i>Alesti</i>	Sâu xanh, sâu ăn lá	Lepidoptera
CryIB	<i>Thuringiensis</i>	Sâu tơ, sâu xanh hại cải	Lepidoptera
CryIB (c)	<i>Morrisoni</i>	Nhiều sâu bộ cánh vẩy	Lepidoptera
CryIC	<i>Entomocidus</i>	Sâu cắn lá bông, thuốc	Lepidoptera, Dip.
CryIC (b)	<i>Galleriae</i>	Sâu củ cải	Lepidoptera
CryID	<i>Aizawai</i>	Sâu củ cải, sâu thuốc lá	Lepidoptera

CryIE	<i>Kenya</i>	Sâu cắn lá bông	Lepidoptera
CryIE (b)	<i>Aizawai</i>	Nhiều sâu bộ cánh vẩy	Lepidoptera
CryIF	<i>Aizawai</i>	Sâu đục thân ngô	Lepidoptera
CryIG	<i>Galleriae</i>	Nhiều sâu bộ cánh vẩy	Lepidoptera
CryIIA	<i>Kurstaki</i>	Sâu bướm, muỗi	Lepidoptera, Dip.
CryIIB	<i>Kurstaki</i>	Nhiều sâu bộ cánh vẩy	Lepidoptera
CryIIC	<i>Shangai</i>	Nhiều sâu bộ cánh vẩy	Lepidoptera
CryIIIA	<i>San diego</i>	Bọ <i>colorado</i> khoai tây	Coleoptera
CryIIIA(a)	<i>Tenerbrionis</i>	Bọ <i>colorado</i> khoai tây	Coleoptera
CryIIIB	<i>Tolnorthi</i>	Bọ <i>colorado</i> khoai tây	Coleoptera
CryIIIC	?	Bọ hại dưa chuột	Coleoptera
CryIIID	<i>Kustaki</i>	?	Coleoptera
CryIVA	<i>Isaellenesis</i>	Muỗi <i>Culex</i> và <i>aedes</i>	Diptera
CryIV	?	Muỗi	Diptera
CryIV	?	Muỗi <i>Culex</i> và <i>aedes</i>	Diptera
CryV	?	Sâu đục thân ngô, sâu dưa chuột	Lepidoptera, Col
CryV	<i>Galleriae</i>	Sâu họ Noctuidae	Lepidoptera

Căn cứ vào các kiểu tinh thể độc tố của Bt.

Bảng 4. 6. Kiểu chuẩn Crystal toxins của Bt
(Nguồn Crickmore.N, Zeigler.D.R,...1999)

Kiểu Toxin	Bộ côn trùng	Loại sâu hại nhạy cảm
Cry1A(a-g)	Lepidoptera	<i>Heliothis virescens</i> , <i>Ostrinia nubilalis</i> <i>Trichoplusia ni</i>
Cry1B (a- e)	Lepidoptera	<i>Manduca sexta</i> , <i>Trichoplusia ni</i>
Cry1Ca	Diptera, Lepidoptera	<i>Culex quiquefaciatus</i> , <i>Spodoptera littoralis</i>
Cry1Cb	Lepidoptera	<i>Trichoplusia ni</i>
Cry1D(a-b)	Lepidoptera	<i>Spodoptera littoralis</i>
Cry1E(a-b)	Lepidoptera	<i>Manduca Sexta</i>
Cry1F(a-b)	Lepidoptera	<i>Ostrinia nubilalis</i>
Cry1G(a-b)	Lepidoptera	?
Cry1H(a-b)	Lepidoptera	?
Cry1I(a-b)	Coleoptera, Lepidoptera	<i>Agelastica coerulea</i> , <i>Leptinotarsa decemlineata</i> , <i>Ostrinia nubilalis</i> , <i>Plutella xylostella</i>
Cry1Ic	Lepidoptera	?
Cry1J(a-c)	Lepidoptera	<i>Plutella xylostella</i>
Cry1Ka	Lepidoptera	<i>Artogeria rapae</i>
Cry2A(a-c)	Diptera, Lepidoptera	<i>Aedes aegypti</i> , <i>Lymantria dispar</i> , <i>Trichoplusia ni</i>
Cry3Aa	Coleoptera	<i>Leptinotarsa decemlineata</i>
Cry3B(a-b)	Coleoptera	<i>Leptinotarsa decemlineata</i>
Cry3Ca	Coleoptera	<i>Leptinotarsa decemlineata</i>
Cry4Aa	Diptera	<i>Culex quiquefaciatus</i>
Cry4Ba	Diptera	<i>Aedes aegypti</i>

Cry5A(a-c)	Nematoda	<i>Caenorhabditis elegans</i>
Cry5Ba	Nematoda	?
Cry6A	Nematoda	<i>Pratylenchus scribneri</i>
Cry6Ba	Nematoda	<i>Pratylenchus scribneri</i>
Cry7A(a-b)	Coleoptera	?
Cry8Aa	Coleoptera	<i>Leptinotarsa decemlineata</i>
Cry8Ba	Coleoptera	<i>Popillia japonica</i>
Cry8Ca	Coleoptera	<i>Anomala curpea</i>
Cry9Aa	Lepidoptera	<i>Galleria melonella</i>
Cry9Ba	Lepidoptera	?
Cry9Ca	Lepidoptera	<i>Plutella xylostella</i>
Cry9Da	Coleoptera	?
Cry9Ea	Lepidoptera	?
Cry10Aa	Diptera	<i>Aedes aegypti</i>
Cry11Aa	Diptera	<i>Aedes aegypti</i>
Cry11B(a-b)	Diptera	<i>Culex pipiens</i>
12Aa	Nematoda	<i>Pratylenchus scribneri</i>
13Aa	Nematoda	?
14Aa	Nematoda	?
15Aa	Lepidoptera	<i>Manduca sexta</i>
16Aa	Diptera	<i>Anopheles stephensi</i>
17Aa	Diptera	?
18Aa	Coleoptera	<i>Popillia japonica</i>
19Aa	Diptera	?
19Ba	Diptera	?
20Aa	Diptera	<i>Aedes aegypti</i>
21Aa	Nematoda	?
22Aa	Hymenoptera	?
23Aa	?	?
24Aa	Diptera	?
25Aa	Diptera	?
26Aa	Lepidoptera	?
27Aa	?	?
28Aa	Lepidoptera	?
Cyt1A(a-b)	Nonspecific	?
Cyt1BA	Nonspecific	?
Cyt2Aa	Nonspecific	?
Cyt2B (a-b)	Nonspecific	?

Trên cơ sở lựa chọn chủng các nhà sản xuất đã nghiên cứu, phân lập và sẽ xác định được chủng Bt có hoạt tính cao để đưa vào sản xuất trừ sâu tùy theo từng đối tượng côn trùng hại cây trồng hoặc Bt trừ ruồi muỗi...

** Chọn môi trường*

Môi trường là yếu tố rất quan trọng để tạo sinh khối Bt đạt chất lượng cao, ở mỗi nước có sử dụng một loại môi trường riêng để sản xuất Bt với mục tiêu là lựa chọn môi trường sao cho thích hợp để tạo được chế phẩm sinh nhiều bào tử và tinh thể độc tố nhất. Ở một số nước đang phát triển như Mêhicô, Hàn Quốc, Nigeria, Brazil và Ấn Độ người ta thường sử dụng các môi trường để lên men gồm cả các sản phẩm phụ của nông nghiệp và công nghiệp để sản xuất Bt.

Bảng 4.7. Thành phần môi trường lên men được sử dụng để sản xuất *Bacillus thuringiensis* ở một số nước đang phát triển

Tên nước	Thành phần môi trường	Tác giả
Mêhicô	Rỉ đường, bột đậu tương, bột ngô, $\text{CaCO}_3 + \text{H}_2\text{O}$	Roldan và cs 1988
Hàn Quốc	Bột cá, đậu tương, cám đỏ, bã vừng, gạo, cám	Yoon và cs, 1987
Trung Quốc	Cám lúa mì, trấu, bột chanh, bánh đậu tương loại dầu hoặc bánh hạt bông loại dầu, cám lúa mì hoặc bột ngô.	Hussey và Tinsley, 1981 - Wang Tao, 1988
Nigeria	Bột sắn lên men, ngô, đậu đũa	Ejiofor và Okager (1989)
Brazil	Phụ phẩm của công nghiệp giấy và gỗ thêm tinh bột tan.	Moscardi (1988)
Ấn Độ	Bột chanh hoặc bột đậu tương thêm tinh bột tan hoặc rỉ đường	Mumgatti và Raghunathan - 1990

Việc nghiên cứu để tìm ra môi trường dinh dưỡng tối ưu là rất cần thiết. Theo Dulmage (1981) thì việc sản sinh ra nội độc tố δ -endotoxin của vi khuẩn không những chỉ thay đổi theo chủng tủy huyết thanh mà còn phụ thuộc vào các môi trường nuôi cấy, có chủng Bt phù hợp với loại môi trường này thì cho hoạt tính rất cao, còn những chủng Bt khác cũng nuôi cấy trong môi trường đó nhưng lại cho hoạt tính thấp, vì vậy khi sản xuất Bt cần thiết phải nghiên cứu môi trường sao cho thích hợp.

4.2.1.6. Sử dụng *Bacillus thuringiensis* ở một số nước đang phát triển

Trên thế giới trong hai thập kỷ từ những năm đầu của thế kỷ thứ XX việc nghiên cứu sản xuất và ứng dụng thuốc trừ sâu vi sinh Bt

được bắt đầu ở các nước phát triển như Mỹ, từ những năm 1925 hãng Abbott đã sản xuất Bt bán ra thị trường thế giới để ứng dụng phòng trừ sâu hại rau, hoa, cây cảnh... đạt kết quả tốt. Tiếp theo là Liên Xô cũ, Anh, Pháp, Nhật... Thuốc trừ sâu có nguồn gốc từ vi khuẩn Bt đã được sản xuất trên quy mô công nghiệp và đã được sử dụng rộng rãi để phòng trừ trên 525 loài sâu hại cây trồng nông, lâm nghiệp. Cho đến nay rất nhiều nước đã sản xuất thành công chế phẩm Bt bằng phương pháp lên men chìm, ở Trung Quốc nhiều tỉnh như An Huy, Vũ Hán, Hồ Bắc... đã có những nhà máy sản xuất Bt với quy mô lớn từ 1000 - 2000 tấn, thực tế thuốc trừ sâu Bt được nhiều nước đăng ký tên thương mại để bán trên thị trường thế giới. Năm 1998, tại Nhật Bản, GS. TS Yasuhisa KUNIMI đã thống kê những hãng sản xuất Bt trên thế giới với tên thương mại trình bày ở bảng 4.8.

Bảng 4.8. Tên thương mại của các loại thuốc Bt trên thế giới
(nguồn Yasuhisa KUNIMI offprint from Farmin Japan Vol. 27 1998)

Tên chủng Bt	Tên thương mại	Hãng sản xuất	Diệt sâu	Nước sản xuất
<i>Bacillus popilliae</i>	Grub Attack	Ringer Cop	Bọ cánh cứng	Mỹ
	Dom,		Nhật bản	
<i>B. popilliae</i>	Japidemic	Fairfax Lab.	Bọ cánh cứng	Mỹ
			Nhật bản	
<i>B.sphaericus</i>	Vectolex	Abbott	Lepidoptera	Mỹ
<i>B.thuringiensis</i>	Dipel	Abbott	Lepidoptera	Toàn thế giới
<i>BT. kurstaki</i>	Bactospeine	Solvay	Lepidoptera	Mỹ
<i>BT kurstaki</i>	Agree	Ciba-Geigy	Lepidoptera	Mỹ
<i>BT kurstaki</i>	Toarow	Toagosei	Lepidoptera	Nhật
<i>BT kurstaki</i>	Bidart	ICI Canada	Lepidoptera	Canada
<i>BT kurstaki</i>	OleSkovmand	NovoNordisk	Lepidoptera	Mỹ, châu Âu
<i>BT kurstaki</i>	Thuricide	Sandoz	Lepidoptera	Toàn thế giới
<i>BT aizawai</i>	Xentari	Abbott	Lepidoptera	Mỹ
<i>BT aizawai</i>	Certan	Sandoz	Wax month	Mỹ
<i>BT aizawai</i>	Selectzin	Kyowa	Lepidoptera	Nhật Bản
<i>BT israelensis</i>	Vectobac	Abbott	Mosquitos	Toàn thế giới
<i>BT israelensis</i>	Bactimos	Solvey	Mosquitos	Toàn thế giới
<i>BT israelensis</i>	Teknar	Zoecon	Mosquitos	Toàn thế giới
<i>BT israelensis</i>	Skeetal	Novo Nodisk	Mosquitos	Toàn thế giới
<i>BT tenebrionis</i>	Trident	Sandoz	Bọ ăn lá	Mỹ
<i>BT tenebrionis</i>	Novodor	Novo Nodisk	Bọ ăn lá	Mỹ
<i>BT tenebrionis</i>	Foil	Ecogen	Bọ ăn lá	Mỹ
<i>BT tenebrionis</i>	M-One	Mycogen	Bọ ăn lá	Mỹ

Hiện nay các nhà khoa học ở rất nhiều nước trên thế giới đã nghiên cứu sản xuất ra các loại thuốc Bt hoàn toàn ổn định trên cơ sở tạo tinh thể độc tố delta endotoxin (loại bỏ bào tử), tinh thể độc tố đó có tác dụng diệt trừ sâu hại giống như các thuốc trừ sâu hóa học nhưng thuốc Bt không gây độc hại đối với động vật máu nóng như cá, tôm cua, các côn trùng ký sinh - ăn thịt và các côn trùng thụ phấn hoa có độ bền cao khi gặp các điều kiện bất lợi của môi trường trong quá trình sản xuất cũng như trong bảo quản và khi sử dụng ngoài đồng ruộng.

Hãng Monsanto nhờ có kỹ thuật chuyển gen mà họ đã chuyển được gen mang độc tố của Bt vào các cây thuốc lá, cà chua để diệt trừ sâu hại. Hãng Mycogen đã tách được các gen Bt mã hóa protein độc đối với sâu non họ ngài đêm (Noctuidae) bộ cánh vẩy Lepidoptera, ruồi muỗi ở bộ hai cánh Diptera và sâu non thuộc bộ cánh cứng Coleoptera, những gen đó không chỉ dùng để sản xuất ra các thuốc trừ sâu vi sinh Bt mà họ còn đưa vào các cây thuộc họ hòa thảo nhằm làm tăng sức kháng của cây đối với các sâu hại. Nhiều tác giả trong hãng Mycogen cũng đã sử dụng Bt chủng *Israelensis* để điều chỉnh số lượng muỗi và ruồi đen bằng cách đưa gen độc tố delta - endotoxin vào vi tảo lục *Xyanobacterium*, đây là nguồn thức ăn của các loài côn trùng, đồng thời các tác giả cũng đã phân lập được chủng Bt gây độc đối với tuyến trùng (nematode) và họ cũng sử dụng độc tố delta - endotoxin mới của Bt để tạo ra các cây chống lại tuyến trùng. Hãng Agrigenetic Labrisol đã sử dụng các gen độc tố delta endotoxin của Bt để sản xuất ra các giống cây trồng có khả năng chống chịu được nhiều loại sâu hại.

Cho đến nay việc sản xuất và ứng dụng Bt để phòng trừ sâu hại cây trồng đã gần như phổ biến trên toàn thế giới, một số nước châu Á như Trung Quốc, Ai Cập, Thái Lan,... và cả Việt Nam cũng đã và đang nghiên cứu để sản xuất Bt, song chỉ có Trung Quốc và Ai cập là đã tiên phong trong việc sản xuất và ứng dụng Bt để phòng trừ sâu hại nhiều loại cây trồng, trên diện tích rộng. Salama và cs năm 1991-1992 cho biết ở Ai Cập đã thu được các chủng *Azotobacter chroococum* có khả năng tiếp nhận được gen nội độc tố delta - endotoxin của Bt có khả năng diệt trừ sâu khoang *Spodoptera litura* cao.

Những chủng đó còn có khả năng cố định nitơ dạng N_2 và nó có hai lợi ích là diệt côn trùng gây hại và cung cấp chất dinh dưỡng cho cây trồng. Các tác giả trên còn thông báo họ đã tạo ra các chủng Bt chịu được nhiệt độ cao và kháng được với tia tử ngoại trong thí nghiệm nghiên cứu ảnh hưởng của việc kháng tia tử ngoại lên khả năng diệt côn trùng của Bt. Các tác giả đã xác định các chủng Bt kháng được tia tử ngoại cũng đồng thời có độc tính cao với côn trùng hại.

Những năm 1985-1995 các nhà khoa học Ai Cập đã sản xuất Bt với mục đích chính là làm tăng sản lượng, vì vậy họ đã thực hiện ở dạng quy mô pilot trong các nồi lên men có dung tích lớn $5m^3$ (5000 lít) đặt tại nhà máy đường và rượu vang ở tỉnh Hwandia, Giza nhằm tận dụng những sản phẩm phụ của nhà máy để sử dụng làm môi trường trong việc sản xuất Bt. Các chủng Bt được sử dụng là chủng Bt var. *galleriae* HD-234 và chủng Bt *Kurstaki* HD - 341.

Ở Trung Quốc, Xie Tianji và cs (1990) cho biết từ những năm 80 đến nay tỉnh Vũ Hán đã sản xuất Bt với chủng *Kurstaki* HD-1 là chủ yếu và cung cấp cho nhiều địa phương sử dụng để phòng trừ sâu hại rau. Việc sản xuất Bt theo quy mô lớn đã được thực hiện bằng cả hai phương pháp lên men chìm trong thùng và lên men xộp (Hussey và Tinsley, 1981). Cắm lúa mì, bột ngô, đậu tương, bánh hạt bông, các loại dầu cám lạc là thành phần chính trong môi trường đã sử dụng để sản xuất Bt. Ở Hồ Bắc tại một nhà máy nhỏ, sản lượng Bt đã tăng từ 26 tấn năm 1983 đến 90 tấn năm 1984, 160 tấn năm 1985, 260 tấn năm 1986, 360 tấn năm 1987, 472 tấn năm 1988, 732 tấn năm 1989 đến 900 tấn năm 1990.

Ngày nay ở Trung Quốc, Bt được sản xuất và sử dụng rộng rãi trên 30 tỉnh thành trong cả nước để phòng trừ các loài côn trùng gây hại các cây trồng nông và lâm nghiệp, ngoài ra họ còn sử dụng Bt với mục đích chữa bệnh cho con người (Tianji, 1988-1990). Tổng sản lượng Bt sản xuất ở Trung Quốc ước tính năm 1990 là 1.500 tấn, đến nay số lượng sản xuất còn tăng lên gấp nhiều lần, một phần chế phẩm Bt Trung Quốc được xuất khẩu sang Thái Lan và các nước trong khu vực Đông Nam Á. Năm 1990 thực tế có khoảng hơn 8 triệu hecta đất canh tác được sử dụng phòng trừ sâu hại bằng thuốc trừ sâu vi sinh Bt. Cho đến nay diện tích đất trồng trọt sử dụng Bt

để trừ sâu hại còn tăng lên rất nhiều. Thực tế ở Trung Quốc đã sản xuất Bt hàng loạt với những phương pháp khá đơn giản thích hợp cho người nông dân thực hiện với một số công nghệ đã được phổ biến rộng rãi đến tận địa phương (Thursey và Tinsley, 1981).

4.2.2. Thành tựu về thuốc trừ sâu virus côn trùng

4.2.2.1. Sơ lược lịch sử về nghiên cứu các nhóm virus gây bệnh trên côn trùng

Virus gây bệnh trên côn trùng đã được Phillips nghiên cứu vào năm 1720, sau đó nhà khoa học Cornalia và Mamestri nghiên cứu vào năm 1856 trên cơ thể con tằm, năm 1898 Bolle phát hiện thể đa diện trong ruột con tằm đã giải phóng ra những hạt virus nhỏ. Bệnh virus sâu xanh bông *Helicoverpa armigera* đã được Mally phát hiện ở Nam Phi năm 1891, đến năm 1936, Parson, Sweetman và Bergold mới xác định được nguyên nhân gây bệnh của những thể đa diện đó chính là các virus gây bệnh trên côn trùng. Vào năm 1940 trên thế giới xuất hiện kính hiển vi điện tử thì có hàng loạt các công trình nghiên cứu về các loại virus côn trùng. Từ đó cho đến nay có rất nhiều nhà khoa học trên thế giới nghiên cứu sản xuất và ứng dụng virus đa diện nhân sâu xanh để trừ sâu xanh bông, thuốc lá, ngô, cà chua...

Virus gây bệnh trên côn trùng là một trong những nhóm vi sinh vật gây bệnh có nhiều triển vọng trong việc phòng trừ sâu hại cây trồng. Đây là nhóm virus có kích thước rất nhỏ (siêu vi khuẩn) có khả năng sống và sinh sản trên các mô và tế bào sống, nhưng chúng không thể nuôi cấy trên môi trường nhân tạo vì virus gây bệnh trên côn trùng có đặc điểm nổi bật là tính chuyên tính, nghĩa là virus chỉ gây bệnh riêng cho từng loại côn trùng hại, chúng cũng chỉ gây bệnh trên những mô nhất định của côn trùng đó và mỗi loại virus có một phổ ký chủ riêng, ví dụ như virus sâu xanh bông thì chỉ có thể lây bệnh cho sâu xanh bông, virus sâu tơ chỉ gây bệnh cho sâu tơ,... Do đó tên của virus thường gắn với tên ký chủ ví dụ như virus đa diện nhân sâu xanh bông được ký hiệu *Nuclear polyhedrosis virus*

Helicoverpa armigera, viết tắt là NPV. Ha chỉ gây bệnh cho riêng *Helicoverpa armigera*. Virus sâu tơ là virus hạt *Granulosis virus* chỉ gây bệnh cho sâu tơ *Plutella xylostella* viết tắt là GV Px. Tuy nhiên nếu lây chéo cũng có hiệu quả nhưng không đáng kể.

Khi nghiên cứu để xác định loại virus, các nhà khoa học thường dựa vào sự xuất hiện của các thể protein khác nhau, bởi virus côn trùng thường có vỏ protein bao bọc để tạo nên các thể vùi (*virion*) với hình khối đa diện hoặc hình dạng hạt, không phải các loại virus gây bệnh trên côn trùng đều tạo thành những thể vùi.

Căn cứ vào cấu trúc của các virion, các nhà khoa học đã phân loại và chia virus côn trùng thành 7 nhóm chính như sau:

a. Nhóm Baculovirus thuộc họ Baculoviridae

Virus thuộc nhóm này có dạng hình que, hình gậy. Kích thước từ 40 - 70 nm x 250 - 400 nm, nhóm virus này gồm có 1 vỏ lipoprotein bao quanh 1 protein nằm trong lõi ADN (nucleocapsid) trong đó có các virion, các virion bao gồm 11-25 polypeptid, trong đó có 4-11 polypeptid được kết hợp với nucleocapsid, số còn lại kết hợp với capsid, ADN của Baculovirus có cấu trúc 2 sợi vòng với trọng lượng phân tử từ $50-100 \times 10^6$, các virion được bao quanh bởi 1 tinh thể protein lưới mắt cáo, các nhà khoa học gọi đó là thể vùi (Polyhedrosis Inclusion Body - PIB).

Nhóm Baculovirus bao gồm 4 loại sau:

– *Virus đa diện nhân (Nuclear polyhedrosis virus)* viết tắt là NPV, đây là virus có hình đa giác, bên trong có chứa nhiều hạt virion hay gọi là các thể vùi PIB. Loại virus này có thể lây bệnh rất cao với 7 bộ côn trùng như bộ cánh vẩy Lepidoptera, bộ hai cánh Diptera, bộ cánh màng Hymenoptera, bộ cánh cứng Coleoptera, bộ cánh thẳng Orthoptera, bộ cánh mạch Neuroptera và bộ cánh nửa Hemiptera trong đó thì khoảng 300 loài côn trùng ở bộ cánh vẩy và hai cánh là nhiều nhất, tập trung chủ yếu ở họ ngài đêm Noctuidae và họ ngài sáng Piralidae.

– *Virus hạt Granulosis virus (GV)*, đây là virus dạng hạt có hình oval, hình que... Bên trong chỉ chứa 1 virion ít khi chứa 2 virion, loại virus này chỉ xâm nhập chủ yếu vào tế bào lớp hạ bì của

mô mỡ và huyết tương, khả năng diệt sâu cao ADN này thường có trọng lượng phân tử là 80×10^6 , tỷ lệ (guanin + xitozin) trong ADN thường vào khoảng 35-39% (P. Wildy, 1971). Chúng là những virus chứa ADN (axit dezoxiribonucleic).

– *Virus có thể protein (thể vùi) khác nhau*, bên trong có chứa các virion khác nhau cũng có khả năng diệt trừ sâu hại nhưng tỷ lệ thấp hơn NPV và GV.

– *Virus không tạo thể vùi* hoặc tạo thành rất mỏng cho nên loại virus này ít có khả năng tiêu diệt sâu hại cây trồng.

b. Nhóm Cytoplasmis polyhedrosis virus (CPV)

Nhóm virus này thuộc họ Rioviridae, đây là nhóm virus đa diện tế bào chất có khả năng gây bệnh cho khoảng 200 loài côn trùng tập trung chủ yếu ở bộ cánh vẩy Lepidoptera và bộ hai cánh Diptera. Nhóm virus này tạo ra các thể protein đa diện có chứa các virion hình cầu, đường kính 50- 60 nm, xâm nhập chủ yếu vào trong tế bào chất của biểu bì ruột nên khả năng diệt sâu cao. Sâu bị bệnh CPV có biểu hiện kém ăn, còi cọc, đầu to hơn cơ thể, giai đoạn cuối của bệnh màu sắc côn trùng biến đổi.

Virus đa diện dạng tế bào chất là loại virus chứa ARN (axit ribonucleic). Trọng lượng phân tử của ARN này là $12,7 \times 10^6$.

c. Nhóm Entomopox virus (EV), thuộc họ Poxviridae

Nhóm virus này gây bệnh chủ yếu trên côn trùng ở bộ cánh vẩy Lepidoptera, bộ hai cánh Diptera, bộ cánh cứng Coleoptera, bộ cánh thẳng Orthoptera. Về hình thái nhóm EV có thể protein, ADN gồm 2 sợi có trọng lượng phân tử $110 - 200 \times 10^6$ và có ít nhất là 4 enzym kết hợp, bên trong các thể vùi có chứa các virion hình bầu dục, chúng xâm nhiễm vào các mô mỡ của côn trùng nên khả năng diệt sâu không lớn.

d. Nhóm Irido virus (IV) thuộc họ Iridoviridae

Đây là nhóm virus trần, chúng không tạo thành các thể vùi, các virion có hình cầu chứa ADN thẳng với hai loại kích thước, kích

thước nhỏ khoảng 130 nm với trọng lượng phân tử $114-150 \times 10^6$ và kích thước lớn khoảng $240 - 288 \times 10^6$, trong virion có nhiều enzym ADN, ARN polymeraza, nucleotid phosphohydrolaza và protein kinaza. Nhóm virus này thường xâm nhiễm trong các mô tế bào chất của sâu nên cũng có khả năng diệt sâu nhưng không cao.

e. Nhóm Denso virus (DV) thuộc họ Parvoviridae

Nhóm virus này chỉ gây bệnh trên 3 loài sâu hại: *Galleria mellonella*, *Junonia coenia*, *Agraulis vanillae*, virion chứa sợi ADN có trọng lượng phân tử $1,6 - 2,2 \times 10^6$. Nhóm này có kích thước nhỏ đường kính 20 - 22 nm.

g. Nhóm virus ARN thuộc họ Picornaviridae

Nhóm virus này không tạo các thể vùi, chúng thường ký sinh và xâm nhiễm trong mô biểu bì tế bào ruột, có kích thước nhỏ hơn hoặc bằng 35 nm.

h. Nhóm Sigma virus thuộc họ Rhabdoviridae

Nhóm này có tác nhân lây nhiễm di truyền, kích thước $140 \times 1180 \times 7$ nm.

Trong 7 nhóm virus trên thì nhóm Baculovirus và nhóm CPV là hai nhóm có tác dụng diệt sâu tốt nhất với hiệu quả phòng trừ cao nhất, vì vậy nhiều nước trên thế giới cũng như ở nước ta nhiều nhà khoa học đã tập trung nghiên cứu. Đây là những virus đã ký sinh trên các loại sâu hại, được các nhà khoa học nhân nuôi để tạo ra chế phẩm virus và sử dụng chúng trong việc phòng trừ các loài sâu hại đó. Chúng gồm ba loại chính là loại virus đa diện dạng nhân (*Nuclear polyhedrosis virus*), loại virus thể hạt (*Granulosis virus*) và loại virus đa diện dạng tế bào chất (*Cytoplasmis polyhedrosis virus*).

Theo M. H. Rogoff, năm 1973 thì những loài sâu hại sau đây thường bị virus đa diện nhân gây hại:

- *Antheraea eucalypli*
- *Antheraea pernyi*
- *Barathra brassicae*
- *Bombyx mori*

- *Choristoneura fumiferana*
- *Colias eurythenme*
- *Dendrolimus punctatus*
- *Diprion herceyniae*
- *Galleria melonella*
- *Heliothis ploxiphaga*
- *Heliothis virescens*
- *Heliothis zea*
- *Hemerocampa leucostigma*
- *Kotochalia junodi*
- *Laphygma frugiperda*
- *Malacasoma fragile*
- *Neodiprion sertifer*
- *Neodiprion swainei*
- *Pectinophora gossypiella*
- *Peridroma margaritosa*
- *Phryganida californica*
- *Plusia gamma*
- *Porthetria dispar*
- *Prodenia eridania*
- *Spodoptera litura*
- *Prodenia ornithogalli*
- *Prodenia praefica*
- *Samia walkeri*
- *Spodoptera exigua*
- *Trichoplusia ni...*

Cho đến nay các nhà khoa học trên thế giới đã phát hiện ra hơn 1000 loài virus côn trùng. Ngay từ đầu thập kỷ 80 của thế kỷ XX, thuốc trừ sâu virus đã được phát triển với nhịp độ rất nhanh, có hơn 20 loại virus của các loài sâu hại đã được sản xuất theo phương pháp công nghiệp thành dạng thuốc trừ sâu thương mại được bán ra thị trường để phòng trừ các loại sâu hại cây trồng phổ biến.

Bên cạnh các virus chuyên tính của từng loại sâu hại, người ta đã phát hiện được những virus có phổ tác động rộng như NPV sâu đo *Autographa californica* có hiệu quả đối với sâu keo da láng *Spodoptera exgua*, sâu đo *Trichoplusia ni*, sâu xanh bông *Heliothis armigera*, sâu kéo màng *Estigmane* sp, sâu tơ *Plutella xylostella* gây hại trên nhiều loại cây trồng nhưng hiệu quả đối với các loại sâu hại đó không cao. Vì vậy khi nghiên cứu virus gây bệnh côn trùng các nhà khoa học thường đi sâu vào từng loại virus riêng biệt, ví dụ như virus sâu xanh bông NPVHa.

4.2.2. Triệu chứng và nguyên nhân bệnh virus sâu xanh hại bông

a. Triệu chứng bệnh

Theo Jayarajs (1985):

- Trong thời gian 2 - 3 ngày đầu của thời kỳ ủ bệnh, sâu non bị nhiễm bệnh không có biểu hiện về triệu chứng bệnh rõ rệt và không có sự thay đổi về sức ăn.
- Các ngày sau nhiễm 5-7 ngày thì thấy các đốm thân của sâu non bị sưng phồng lên, căng phồng và mọng nước.
- Cơ thể sâu chuyển sang màu trắng đục, da bỏ, dễ bị vỡ.

Bảng 4.9. Kiểm tra triệu chứng ban đầu về sự hiện diện của bệnh virus côn trùng

Tiêu chuẩn	Đặc điểm	Những điểm chính cần chú ý
Giai đoạn sống của ký chủ	Pha sống thích hợp cho từng tuổi sâu	Sự lây nhiễm mạnh nhất trong giai đoạn sâu non, nhộng và pha trứng cũng bị ảnh hưởng
Kích cỡ	Chiều dài cơ thể bệnh, chiều rộng đầu vỏ nhộng	Có thể xác định mối quan hệ khác thường tương đương với giai đoạn sống.
Độ bền về giai đoạn sống	Chú ý tới thời gian, mỗi giai đoạn sống ảnh hưởng tới sự hình thành và phát triển	Một vài nhóm virus, đặc biệt là CPVs và EPVs, bao gồm mở rộng sự phát triển của bệnh virus
Thói quen	Chuyển động chung, sự hoạt động	Một đặc tính có ích nếu biểu hiện bình thường, sức khỏe bình thường, sự hoạt động tăng lên hoặc tình trạng tê liệt ở đầu giai đoạn đặc trưng.
Sự xuất hiện bệnh	Chú ý màu sắc và có thể nhìn thấy bên trong cơ thể, đặc biệt là ruột, độ béo, không đồng đều, lớp dưới da.	Phát triển sinh khối của virus trong sâu chủ có thể là kết quả của sự thay đổi màu sắc cơ thể trước.

– Trước khi chết sâu thường trèo lên ngọn cây, bám chân vào cành cây, chúi đầu xuống phía dưới.

– Dịch trắng chảy ra ngoài và sâu chết, hiện tượng sâu chết treo.

– Dịch trắng không có mùi hôi.

Thời gian từ khi cơ thể sưng phồng và mọng nước đến khi sâu chết không quá 1 ngày. Theo nghiên cứu của Abbas, M. S. và cs năm 1988 thì thời gian ủ bệnh NPVHa của sâu xanh *Helicoverpa armigera* Hubner thường kéo dài từ 4 - 10 ngày. Sâu trưởng thành vào giai đoạn cuối da côn trùng cũng bỏ, dễ vỡ và có dịch trắng chảy ra. Đối với nhộng trong thời kì ủ bệnh, triệu chứng bị bệnh không rõ, nhưng vào giai đoạn cuối của thời kì ủ bệnh thân nhộng xuất hiện màu đục, da dễ vỡ, dịch trắng không có mùi hôi chảy ra và nhộng cũng bị chết.

b. Bệnh lý

Khi sâu mới bị nhiễm bệnh virus NPV thì các chromatin tụ tập và các hạt rất nhỏ chuyển động brown mạnh ở vùng quanh nhân được gọi là propolyhedral. Propolyhedral có đường kính 0,2 - 0,4 μm , đây là những hạt trong giai đoạn tiền phát triển của polyhedral. Kích thước nhân tế bào bị nhiễm bệnh tăng lên là do sự sinh sản tràn đầy của các polyhedral và cuối cùng làm cho tế bào bị phá vỡ, phần lớn các polyhedral được hòa lẫn vào trong huyết tương.

Theo Bergold G.H. và Smith K. M. năm 1953 thì trong nhân, toàn bộ polyhedral được tạo ra một lần và sau đó kích thước tăng dần. Ở các ký chủ thuộc bộ cánh vẩy Lepidoptera, các polyhedral được tạo ra trong nhân của tế bào máu, tế bào thể béo, gian bào ống và biểu bì, không có trong các tế bào thần kinh. Polyhedral có đường kính 0,5-15 μm . Kích thước và hình dạng của chúng phụ thuộc vào từng loại virus của các loài côn trùng (Aizawa, 1995).

Nghiên cứu về sự trao đổi chất của sâu xanh khi bị nhiễm bệnh NPVHa, năm 1989 Đinh. C và cs cho biết sâu xanh bị nhiễm NPVHa là có sự hấp phụ oxy thấp hơn sâu bình thường.

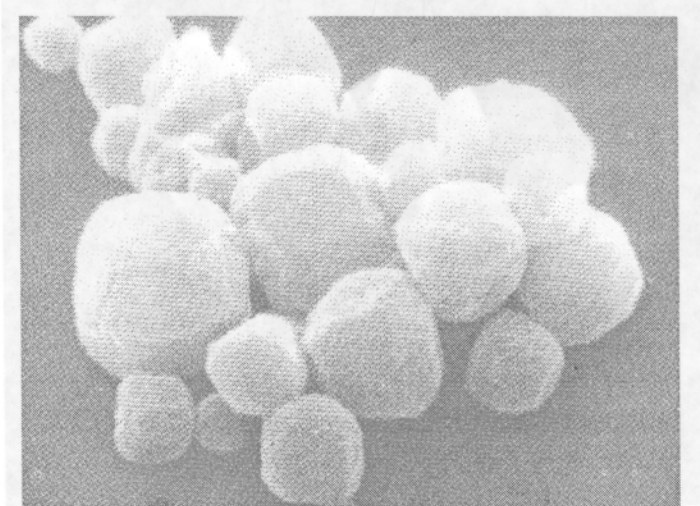
c. Tác nhân gây bệnh và cơ chế truyền bệnh virus lên côn trùng

Tác nhân gây bệnh của virus đa diện nhân là do các thể vùi

Polyhedral Inclusion Body (PIB) và virus hạt do thể vùi Occlusion Body (OB) gây ra.

4.2.2.3. Cấu trúc của virus đa diện nhân NPV

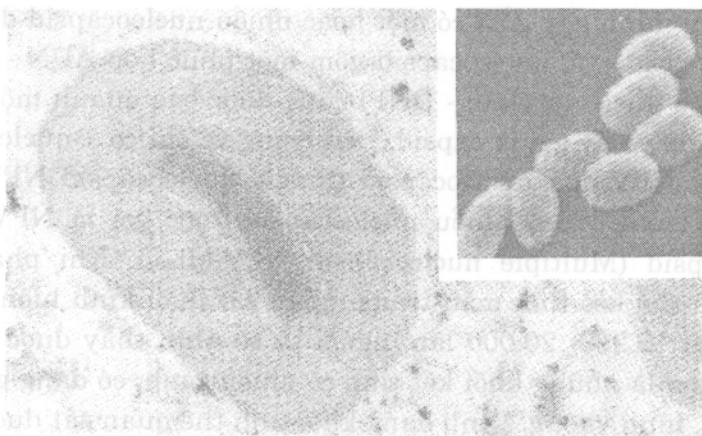
Các hạt virus đa diện nhân được các tinh thể protein có độ lớn khác nhau bao bọc và được gọi là thể vùi đa diện (Polyhedral Inclusion Body - PIB). Virus đa diện nhân NPV bao gồm nhiều hạt virus trong một polyhedral. Theo Kelly D. C năm 1985 thì hạt virus dạng hình gậy gồm có một hoặc nhiều nucleocapsid được bao bọc bởi một lớp vỏ, nucleocapsid gồm một phức hợp ADN - protein (Deoxyribo nucleo protein - DNP) cũng được bao quanh một lớp vỏ protein, lớp vỏ ấy gọi là capsid. Bên trong vỏ chỉ có 1 nucleocapsid thì gọi là NPV đơn nucleocapsid (Single nucleocapsid NPV-S_{NPV}). Còn bên trong vỏ có nhiều nucleocapsid được gọi là NPV nhiều nucleocapsid (Multiple nucleocapsid NPV-M_{NPV}). Khi pha loãng thấy tinh thể kết tinh màu trắng, quan sát dưới kính hiển vi ở độ phóng đại 15.280- 20.000 lần, người ta sẽ nhìn thấy được các thể vùi đa diện là những khối kết tinh có nhiều cạnh, có dạng gần như hình cầu, hình vuông. Hình dạng khối tinh thể quan sát được giống hình dạng khối đa diện. Theo tài liệu mới nhất của Mỹ, các nhà khoa học đã chụp được ảnh thể vùi NPV dưới kính hiển vi điện tử.



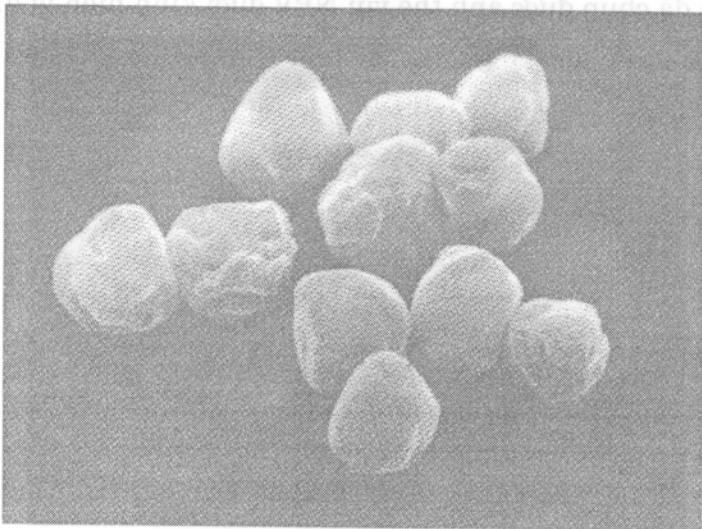
Hình 4.3. Thể vùi virus đa diện nhân *Nuclear polyhedrosis virus*

Các tác giả Zhang G. V. và cs năm 1985 cho biết virus đa diện nhân sâu xanh NPV thuộc loại virus kín. Phân tử ADN gồm có 2 sợi dạng vòng, dài khoảng $40\mu\text{m}$ (Burgess.S, 1977). Mỗi nucleocapsid chứa 1 phân tử ADN, phân tử ADN có chiều dài gấp 2-3 lần chiều dài nucleocapsid (Skuratovskaya và cs, 1982).

Dưới kính hiển vi, các nhà khoa học Mỹ đã chụp các thể vùi của GV ở độ phóng đại 15.280 lần hình 4.4 và thể vùi của CPV (hình 4.5).



Hình 4.4. Thể vùi virus hạt *Granulosis virus*



Hình 4.5. Thể vùi virus tế bào chất *Cytoplasmis polyhedrosis virus*

a. Cấu tạo của deoxyribo nucleo protein (DNP)

Năm 1980, Bud H. M và cs cho biết DNP được tạo thành là do sự kết hợp giữa ADN và protein, sự kết hợp này không đồng nhất, đường kính của DNP vào khoảng 32 nm, DNP được sắp xếp gọn gàng chắc chắn ở trong capsid.

– *Cấu tạo của nucleocapsid*: Nucleocapsid có dạng hình que, dẹt hơi cong, đường kính 40 nm, dài 350 nm, có màng bọc bên ngoài (capsid). Nucleocapsid bao gồm hai loại protein, đó là một lõi DNP protein và màng capsid protein có từ 3 - 8 polypeptid nhỏ (Summer. M.D. và cs 1978).

– *Cấu tạo của thể virus*: Thể virus hình gậy gồm các nucleocapsid được bao bọc bởi vỏ bao, mỗi vỏ bao có thể có 1 hoặc nhiều nucleocapsid, có loại có tới 30 nucleocapsid. Lớp vỏ bao gồm có lipid, trong vỏ còn có 8 - 10 polypeptid (Harrap. K.A 1972 và Kelly.D.C 1982-1985).

– *Cấu tạo của khối đa diện polyhedral*: Theo Crook. N.E và cs (1982) thì polyhedral là những khối kết tinh lớn, kích thước từ 1- 4 μ m, có dạng hình vuông hoặc gần như hình cầu, bên trong có chứa nhiều hạt virus, có khi lên tới 100 hạt, bao quanh các virus đó là mạng lưới hình mắt cáo. Polyhedral còn bao gồm nhiều polypeptid. Protein polyhedral có trọng lượng phân tử thay đổi từ 27.000-34.000 million, chúng phụ thuộc vào từng loại virus khác nhau (Bergold, G.H, 1963; Harrap, K.A, 1972). Polyhedral có pH trung tính và ổn định, nếu pH kiềm từ 9,5 trở lên sẽ làm cho virus bị hòa tan (Faust, R.M. và cs, 1966).

Minion. F và cs năm 1979 cho biết polyhedral hoàn thiện được một lớp vỏ có hình thái riêng biệt vây quanh, cho đến nay chức năng của lớp vỏ này chưa có tác giả nào xác định.

b. Đặc tính của NPV

– NPV có kích thước rất nhỏ dưới 1,4 chiều dài của sóng ánh sáng, nên các dụng cụ quang học cổ điển không nhìn thấy được.

– NPV là sự ký sinh trong tế bào nhĩa là NPV chỉ ký sinh, phát triển và sinh sản trong tế bào sâu chủ, chúng làm thay đổi đặc tính của tế bào sâu chủ và bị hủy hoại, cuối cùng làm cho sâu chủ chết.

– NPV mang tính đặc thù, chúng có thành phần hóa học nhất định có khả năng gây ra phản ứng miễn dịch được xác định ngay trên các cơ thể sâu chủ. NPV có thể hiện tính chọn lọc cao.

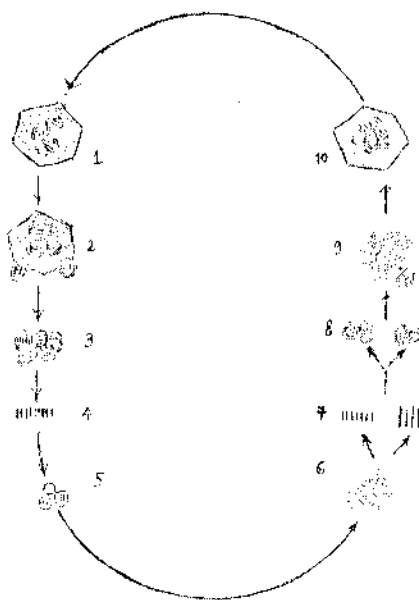
– NPV có tính mềm dẻo, có khả năng biến đổi khi cơ thể thay đổi.

Những đặc tính của virus đều phụ thuộc vào thành phần hóa học của chúng, chủ yếu là axit nucleic. Thành phần hóa học nucleoprotein là đặc tính cơ bản của virus vì nó quy định hoặc giải thích được kích thước của virus. Sự phụ thuộc của virus vào một hệ tế bào, vào tính đặc thù về kháng nguyên của chúng, về phương thức sinh sản và tính di truyền liên tục của virus.

4.2.2.4. Sự lây nhiễm, xâm nhập và phát triển của virus đa diện nhân trong cơ thể sâu chủ

a. Sự lây nhiễm và xâm nhập của virus NPV vào sâu chủ

Theo Chukhrii. M.G. năm 1988, sự phát triển của NPV trong cơ thể ký chủ qua các giai đoạn chính theo sơ đồ sau:



Hình 4.6. Sơ đồ các giai đoạn phát triển chính của NPV trong cơ thể sâu chủ

Ghi chú:

- 1) Virus xâm nhập vào ruột sâu non.
- 2) Lớp vỏ virus bị phá vỡ.
- 3) Các phần tử virus phân tán tự do.
- 4) Tái tạo ra axit nucleic.
- 5) Hình thành vỏ bọc chứa các axit nucleic.
- 6) Virus trong nhân của các tế bào mô mỡ.
- 7) Tái tạo lại axit nucleic.
- 8) Hình thành các virus mới.
- 9) Các phần tử virus tập hợp lại với nhau.
- 10) Hình thành thể đa diện nhân hoàn chỉnh.

Theo Hughes K.M, 1953 và Ignoffo C.M và cs, 1971 thì sau khi xâm nhập vào cơ thể côn trùng, virus thường bám vào các tế bào dễ miễn cảm, xâm nhập vào các tế bào cơ thể và được nhân lên trong đó, các virus mới sinh ra lại được phóng thích từ các tế bào bị nhiễm bệnh và xâm nhập vào các tế bào chưa bị nhiễm, các thể vùi PIB được tạo ra trong nhân của tế bào sâu chủ bị nhiễm bệnh, các PIB và nhân được tăng dần về kích thước, chúng phá hủy các tế bào bị nhiễm bệnh và lan truyền vào khắp các khoang cơ thể của ký chủ, làm cho ký chủ xuất hiện triệu chứng bệnh rồi chết.

b. Cơ chế gây bệnh của virus đa diện nhân lên sâu xanh bông

Khi thức ăn có chứa virus (NPVHa) vào ruột sâu non, cũng như Bt bằng con đường tiêu hóa virus đã thực hiện quá trình phá hủy toàn bộ chức năng của sâu làm cho sâu chết.

Cơ chế được mô tả như sau:

Khi đi vào ruột các thể vùi PIB của virus sẽ giải phóng ra các virion, dưới tác dụng của dịch tiêu hóa, qua biểu bì mô ruột giữa, các virion xâm nhập vào dịch huyết tương, chúng tiếp xúc với các tế bào và xâm nhập vào bên trong để thực hiện quá trình gây bệnh cho sâu hại, quá trình này trải qua 3 giai đoạn:

– *Giai đoạn tiềm ẩn:* Kéo dài từ 6 đến 12 giờ, đây là giai đoạn các thể vùi PIB xâm nhập vào trong tế bào, các virion được phóng ra, chúng tự đính vào các vị trí thích hợp trên màng nhân tế bào thành ruột của sâu.

– *Giai đoạn tăng trưởng*: Kéo dài từ 12 đến 48 giờ, đây là giai đoạn tăng nhanh của các virion mới trong dịch ruột của sâu, những sâu tuổi nhỏ chỉ sau 32 giờ trong cơ thể sâu đã chứa đầy các virion trần.

– *Giai đoạn cuối*: Là giai đoạn tạo thành các thể vùi, nghĩa là các virion được bao bọc bởi các protein.

Thời kỳ ủ bệnh của côn trùng có thể kéo dài 3-7 ngày, có khi dài hơn, vì quá trình ủ bệnh còn phụ thuộc vào tuổi sâu, điều kiện nhiệt độ, ẩm độ và lượng thức ăn khi lây nhiễm...

c. Phân loại, định danh bệnh virus sâu xanh bông

Theo phân loại, virus này thuộc:

- Loài: *Helicoverpa armigera* Nuclear polyhedrosis virus.
- Họ phụ: Eubaculovirinae.
- Họ: Baculoviridae.
- Lớp: Virus.

Các kết quả theo dõi triệu chứng bệnh, quan sát hình dạng thể vùi của virus và phân loại đều kết luận bệnh chết nhũn sâu xanh bông là do virus da diện nhân ký sinh sâu xanh gây ra.

4.2.2.5. Nghiên cứu về sự miễn cảm của sâu xanh hại bông (*Helicoverpa armigera* Hubner), các yếu tố ảnh hưởng đến NPVHa và cách hạn chế

*a. Nghiên cứu về sự miễn cảm của sâu xanh hại bông (*Helicoverpa armigera* Hubner) với NPV Ha*

Nghiên cứu về sự miễn cảm của sâu xanh hại bông với NPV Ha được Moawad G.M. và cs tiến hành từ những năm 1970-1990. Các tác giả cho biết sâu xanh tuổi nhỏ thường miễn cảm với NPV Ha hơn sâu xanh tuổi lớn, cụ thể sâu xanh tuổi 2 miễn cảm với NPVHa hơn tuổi 3 và tuổi 4 ở liều lượng NPV Ha thấp do có sự este hóa và sự gia tăng của huyết tương.

Salama H.S. và cs năm 1986 khi nghiên cứu sự miễn cảm của sâu xanh hại bông với NPVHa tại Ai Cập cũng cho biết kết quả là

sâu xanh tuổi 1 thường mẫn cảm với NPVHa hơn sâu xanh tuổi 2, giá trị LD_{50} của sâu tuổi 1 là $16 \times 10^6 \text{ PIB}_s/\text{sâu non}$, của sâu tuổi 2 là $25 \times 10^6 \text{ PIB}_s/\text{sâu non}$. Tỷ lệ sâu chết cũng được tăng theo nồng độ của NPVHa.

Năm 1988 Abbas M.S và cs đã nghiên cứu sự mẫn cảm về các lứa tuổi của sâu xanh với NPVHa, các tác giả cho biết thời gian ủ bệnh của NPVHa từ 4 -10 ngày tùy theo loại tuổi sâu. Với nồng độ virus nhiễm $2,2 \times 10^8 \text{ PIB}_s/\text{ml}$ thì sâu non tuổi 2 và 3 chết 100%, sâu tuổi 4 chết 93%. Nồng độ và liều lượng virus nhiễm tăng thì tỷ lệ sâu chết bệnh cũng tăng, sâu non tuổi 2 nhiễm NPVHa với các liều lượng: 20, 200, 2000, 20.000 $\text{PIB}_s/\text{sâu}$ cho tỷ lệ sâu chết bệnh tương ứng là: 4,7%; 9,4%; 54%; 100%.

Năm 1989 tại Đài Loan, Tuan.S.J và cs đã nghiên cứu về LD_{50} của sâu xanh (*Helicoverpa armigera* Hubner) đối với NPV, kết quả cho thấy LD_{50} của sâu non tuổi 2, tuổi 3, tuổi 4 là 37, 83, 1221 $\text{PIB}_s/\text{sâu}$

b. Các yếu tố ảnh hưởng đến hiệu lực của NPVHa và cách hạn chế

Tia cực tím của ánh sáng Mặt Trời là yếu tố quan trọng đã làm giảm hiệu lực của NPVHa, theo Bullok H. R. và cs năm 1967 khi phun NPVHa trừ sâu xanh hại bông trên đồng ruộng, người ta cũng phát hiện ra tia sáng có bước sóng ngắn từ 215- 216 nm có khả năng khử hoạt tính thể vùi PIB của NPVHa.

Tác giả Ignoffo C.M và cs, năm 1971 cho biết dưới ánh nắng Mặt Trời các thể vùi đa diện bị khử hoạt tính là do các peroxide hoặc các gốc peroxide được sản sinh từ các amino acid bị chiếu xạ bởi tia X. Năm 1990, Ignoffo C.M và cs thông báo thể vùi PIB của NPVHa dạng dịch thể thường mẫn cảm với tia cực tím gấp 3 lần thể vùi PIB ở dạng khô.

Ở Liên Xô cũ các nghiên cứu của Maiorov V.I và cs năm 1984 đã xác định NPVHa bị mất hoạt tính lớn nhất khi bức xạ Mặt Trời chiếu thẳng lên lá bông, khi không có ánh nắng Mặt Trời thì NPVHa duy trì được hoạt tính trên lá bông khoảng 5 ngày.

Tại Úc, Bell M.R đã tiến hành thí nghiệm cho sâu xanh 6 ngày tuổi ăn 2 ngày ngọn cây hái sau khi phun NPVHa ngoài đồng ruộng

1, 2, 3, 5, 7, 9 ngày, tác giả đã xác định được tỷ lệ sâu xanh chết bệnh tương ứng là: 96%, 94%, 82%, 79%, 76%, 39%, 32%. Kết quả còn cho thấy sau nhiều ngày phun, hiệu lực của NPVHa đối với sâu xanh bông càng bị giảm, hiệu lực cao nhất là sau 1 - 2 ngày phun.

Để duy trì hiệu lực của NPVHa khi phun ngoài đồng ruộng, nhiều nhà khoa học đã nghiên cứu phối trộn thêm các chất phụ gia vào dịch thể để lọc tia cực tím của ánh sáng Mặt Trời, đồng thời làm tăng sức ăn của sâu nghĩa là làm tăng lượng NPVHa vào cơ thể sâu xanh. Ignoffo. C.M và cs năm 1971 cho biết các sản phẩm protein, thuốc màu, thuốc nhuộm, than hoạt tính đều có khả năng lọc tia cực tím để bảo vệ NPVHa. Các nghiên cứu của Rabindra tại Ấn Độ năm 1988- 1989 cho biết nếu thêm sữa, trứng tươi, nước dừa, đường đen, bột hạt bông, dầu lạc, bột đậu đặc biệt là đường đen ở liều lượng 0,5- 5,0% trộn với NPVHa đem phun ra đồng ruộng sẽ làm tăng hiệu lực diệt sâu xanh bông của chế phẩm NPVHa. Tại Đài Loan năm 1988, Tuan. S.J và cộng sự đã làm thí nghiệm trộn noãn hoàn tố với liều lượng 50 mg/ml dịch và 5 mg/ml dịch NPVHa tỷ lệ sâu chết bởi NPVHa tương ứng là 66,7% và 46,7%, đối chứng sâu chết 28,3%. Ignoffo.C.M và cs năm 1995 cũng đã phát hiện các aminoacid vòng thơm như Tryptophan với liều lượng 0,03 mg/ml dịch NPVHa hoặc Tyrosine với lượng 0,5 mg/ml dịch NPVHa có thể làm giảm 50% tác hại của ánh sáng Mặt Trời đối với hoạt tính của NPVHa.

Nhiệt độ và độ pH tuy không làm thay đổi thể vùi PIB như với tia cực tím nhưng các tác giả trên cũng cho biết nhiệt độ và ẩm độ ảnh hưởng ít đến hoạt tính các thể vùi PIB của NPVHa, ngoại trừ nhiệt độ không khí quá cao trên 42°C.

4.2.2.6. Công nghệ sản xuất chế phẩm virus sâu xanh (NPVHa)

Vì virus còn trùng sống và sinh sản trên các mô và tế bào sống nên bằng công nghệ nhân tế bào với thiết bị công nghệ cao, người ta sản xuất virus theo phương pháp nhân tế bào. Song trên thực tế thì sản xuất chế phẩm NPVHa thường theo phương pháp *In vivo* và *In vitro*.

Hiện nay người ta sử dụng chủ yếu là phương pháp *In vivo* để sản xuất chế phẩm NPVHa. Theo phương pháp này thì nuôi ký chủ sâu xanh bông trong phòng thí nghiệm bằng thức ăn nhân tạo và lây nhiễm NPVHa vào ký chủ. Việc thực hiện theo cách này thường tiến hành làm 2 giai đoạn:

a. Nuôi ký chủ sâu xanh bông (Helicoverpa armigera Hubner)

Để sản xuất được NPVHa, trước hết phải nuôi được sâu xanh *Helicoverpa armigera* với số lượng sâu lớn, sâu khỏe. Bell R.A. và cs năm 1980 cho biết tốc độ quần thể mỗi thế hệ tăng có liên quan tới tỷ lệ vũ hóa của thế hệ đầu tiên và các dụng cụ nhân nuôi đều có ảnh hưởng tới thời gian vũ hóa của trưởng thành, tỷ lệ dục - cái và khả năng tiêu thụ thức ăn của sâu non. Sự phát triển của sâu xanh phụ thuộc rất lớn vào cách nuôi, chất dinh dưỡng, kích thước dụng cụ, mật độ quần thể và điều kiện nhiệt, ẩm độ. Tuy nhiên nuôi sâu xanh bông cá thể khó hơn nhiều so với một số loài sâu khác có thể nuôi tập thể được, ví dụ như sâu đo hại bắp cải, sâu khoang, sâu keo da láng... (Ignoffo C.M, 1996).

Để nuôi ký chủ sâu xanh có thể sử dụng nguồn thức ăn tự nhiên như nụ bông, trái đậu non, bắp ngô non... nhưng những loại thức ăn này rất khó dự trữ, thu hái và tiết trùng để cho sâu ăn hàng ngày với số lượng lớn, vì vậy người ta sử dụng thức ăn nhân tạo bao gồm các chất dinh dưỡng như vitamin và các chất kháng sinh có thành phần giống như với thức ăn ngoài tự nhiên.

* Thành phần thức ăn nhân tạo có aga

1. Aga	13g	2. Đậu trắng	100 g
3. Muối khoáng hỗn hợp	7 g	4. Men mì	30 g
5. Methylparaben	2 g	6. Acid sorbic	1 g
7. Formalin 40%	2 ml	8. Streptomisine	0,5 g
9. Ascorbic acid	3 g	10. Nước cất	720 m.

* Thành phần thức ăn nhân tạo có aga (Theo Trung tâm BVTV, trường ĐHN Coimbatore, Tamil Nadu, Ấn Độ).

Ignoffo. C.M., năm 1964 cho biết nuôi sâu xanh bằng thức ăn nhân tạo với dụng cụ nuôi sâu có thể làm bằng chất dẻo, thủy tinh, bìa carton, túi parafin, đĩa petri... đủ rộng, phù hợp và rẻ tiền để cho sâu phát triển. Theo tác giả thì để sản xuất sâu xanh người ta

thường bắt sâu giống từ ngoài đồng về, chọn những sâu non tuổi 4- 5 đem nuôi từng cá thể trên môi trường thức ăn nhân tạo có aga và không có aga.

STT	Thành phần	Số lượng
1	Bột đậu xanh	100,0g
2	Acid asorbic	3,2g
3	Acid sorbic	1,0g
4	Aga	12,8g
5	Metyl paraben	2,0g
6	Men tổng hợp	30,0g
7	Muối tổng hợp	7,2g
8	Multivitamin	2,0g
9	Streptomycin sulphate	40,0g
10	Cholin chloride 10%	7,2g
11	Formalin 40%	2,0ml
12	Nước	720,0ml

b. Lấy nhiễm virus sâu xanh

Một tiến bộ trong nghiên cứu sử dụng thuốc trừ sâu virus để phòng trừ sâu hại là nhiều nước tiên tiến trên thế giới có nền công nghệ và thiết bị cao, với các nhà khoa học có chuyên môn sâu đã sản xuất được liên tục NPV và GV của nhiều loài sâu hại bằng phương pháp nuôi cấy mô tế bào. Phương pháp này cho phép chọn ra được những nòi virus theo ý muốn, thu được sản phẩm nhanh, tinh khiết và có thể kiểm tra được cố định các điều kiện phát triển và sinh sản của các tác nhân gây bệnh virus côn trùng. Cho đến nay rất nhiều nước trên thế giới đã sản xuất được virus với các tên thương mại khác nhau.

Bảng 4.10. Tên thương mại của dạng chế phẩm virus trên thế giới
(Nguồn: Yasuhisa KUNIMI, Nhật Bản, 1998)

Tên virus côn trùng	Tên thương mại	Hãng sản xuất	Diệt côn trùng	Nước sản xuất
<i>Adoxophyes orana</i> GV	Capex	Andermatt Biocontrol Ag	Summer fruit tortrix	Thụy Sĩ
<i>Autographa californica</i> NPV	Gusano	Espro Inc	Lepidoptera	Mỹ
<i>Cydia pomonella</i> GV	Madex	Andermatt Biocontrol Ag	Codling moth	Thụy Sĩ
<i>Cydia pomonella</i> GV	Cydex	Espro Inc	Codling moth	Mỹ

<i>Heliothis zea</i> NPV	Elcar	Sandoz Inc	Codling bollworm	Mỹ
<i>Lymantria dispar</i> NPV	Gypchek	Espro Inc	Gypsy moth	Mỹ
<i>Lymantria dispar</i> NPV	Dispavirus	Forestry Canada	Gypsy moth	Canada
<i>Lymantria dispar</i> NPV	Virin-ensh	Russia	Gypsy moth	Nga
<i>Mamestra brassicae</i> GV	Mamestrin	Calliope	Lepidoptera	Pháp
<i>Neodiprion sertifer</i> NPV	Sentifervirus	Forestry Canada	European pine sawfly	Canada
<i>Neodiprion sertifer</i> NPV	Virox	Agricultural Genetics Company	Pine sawfly	Anh
<i>Neodiprion sertifer</i> NPV	Virin-Diprion	Russia	European pine sawfly	Nga
<i>Neodiprion lecontei</i> NPV	Lecontvirus	Forestry Canada	Redheaded pine sawfly	Canada
<i>Orgyia pseudotsugata</i> NPV	TM Biocontrol-1	Espro Inc	Douglas fir tussock moth	Mỹ
<i>Orgyia pseudotsugata</i> NPV	Virin - OP	Forestry Canada	Douglas fir tussock moth	Canada
<i>Pieris rapae</i> GV	Virin-GKB	Russia	Cabbage worm	Nga
<i>Spodoptera exigua</i> NPV	Spodex	Espro Inc	Beet armyworm	Mỹ
<i>Spodoptera littura</i> NPV	Spodopterin	Calliope	Cotton leafworm	Pháp

4.2.3. Thành tựu về thuốc trừ sâu vi nấm côn trùng

4.2.3.1. Sơ lược lịch sử nghiên cứu bệnh vi nấm côn trùng

Năm 1709, sau những phát hiện đầu tiên của Balisneri về nấm gây bệnh trên côn trùng cũng là lúc ra đời ngành khoa học nghiên cứu bệnh lý côn trùng. Nhưng đến thế kỷ thứ XVIII mới có những ghi chép ban đầu về nấm côn trùng và tác giả đã khẳng định nấm côn trùng là vi sinh vật gây bệnh đầu tiên được chứng minh về khả năng lan truyền bệnh từ ký chủ này sang ký chủ khác.

Vào năm 1815, Agostino Bassi đã mô tả khá tỉ mỉ về bệnh nấm trắng Muscardin gây bệnh trên tằm và đã đưa ra biện pháp ngăn ngừa. Thời gian ấy tuy Bassi chưa có đầy đủ kiến thức về ngành nấm học để phân loại, nhưng tác giả có thể phân biệt được mô của

ký chủ với nấm ký sinh bằng cách đưa ra phương pháp lan truyền cũng như điều kiện lây bệnh và chính tác giả đã đề xuất ra biện pháp phòng trừ. Như vậy, có thể coi Agostino Bassi là nhà bệnh lý học côn trùng đầu tiên. Sau Bassi thì càng ngày, càng xuất hiện rất nhiều công trình nghiên cứu và ứng dụng nấm côn trùng để phòng trừ các loài sâu hại cây trồng.

Những công trình phát hiện về nấm xuất hiện trên côn trùng của Ouden (1837), cho biết nấm trắng Muscardin không chỉ có riêng trên tằm mà còn có thể dùng nấm trắng để phòng trừ những loài côn trùng gây hại khác.

Năm 1878, Metschnikov đã phát hiện và phân lập được nấm xanh *Entomophthora anisopliae* trên sâu non bộ cánh cứng hại lúa mì (*Anisopliae austinia*), về sau này đổi tên là *Metarhizium anisopliae*. Tác giả đã tìm ra con sâu mang bệnh nấm và nghiên cứu môi trường để nhân nuôi chúng rồi thử lại bằng cách sử dụng bào tử nấm thuần khiết gây bệnh trên ấu trùng và dạng trưởng thành của sâu non bộ đầu dài hại củ cải đường (*Bothinoderes punctiventris*), ông nhận thấy có hiệu quả. Sau đó, Metchnikov vẫn miệt mài với những nghiên cứu ứng dụng nấm trên đồng ruộng và xác định khả năng sử dụng nấm gây bệnh trên côn trùng vào thực tiễn sản xuất. Cùng với học trò của mình là nhà côn trùng học Isaac Craxinstic, ông đã tiến hành sản xuất bào tử nấm *Metarhizium anisopliae* dạng thuần khiết rồi trộn với chất bột nền và đưa ra đồng ruộng để diệt sâu non và trưởng thành bộ đầu dài hại củ cải đường (*Bothinoderes punctiventris*), hiệu quả đạt được 55- 80% sau 10-14 ngày thử nghiệm.

Tiếp sau đó nhà bác học Snoi cũng đã tiến hành một loạt thí nghiệm với nấm trắng *Beauveria globuliera* để gây bệnh trên bọ xít (*Bliscus lencoptera* Say) hại lúa mì. Các nhà khoa học trường Đại học Tổng hợp Kazan đã thiết lập một trạm tuyên truyền để phổ biến vai trò của nấm *Beauveria* với việc lây bệnh trên côn trùng, họ đã gửi hơn 500 kiện nấm *Beauveria* đến các trang trại để phòng trừ sâu hại củ cải đường.

Trong suốt 5 năm liên từ 1885-1890, tại Trung tâm nuôi tằm ở Pháp, nhà bác học Louis Paster đã phát hiện ra các vi sinh vật gây bệnh trên tằm với là nấm *Beauveria bassiana* và vi khuẩn *Bacillus*

thuringiensis. Sau đó ông đã nghiên cứu để tìm ra các biện pháp phòng trừ. Ở Mỹ, những loài nấm gây bệnh côn trùng tuy đã được biết đến trước đây khoảng 100 năm nhưng người ta không tiến hành nghiên cứu mà chỉ nhập chế phẩm *Beauveria bassiana* từ châu Âu về để ứng dụng phòng trừ sâu hại cây trồng.

Đến cuối thế kỷ thứ XIX và những năm đầu của thế kỷ XX, các nhà bệnh lý côn trùng trên thế giới mới công bố những công trình về những chủng nấm có khả năng diệt côn trùng thông qua việc giám định và miêu tả rất cụ thể. Vào năm 1944 tại trường Đại học Tổng hợp California ở Berkeley, nhà khoa học Edward Steinhaus là người đầu tiên thành lập phòng thí nghiệm chuyên nghiên cứu về bệnh lý học côn trùng. Từ đó cho đến nay đã xuất hiện hàng loạt những công trình nghiên cứu thực nghiệm về khả năng lây nhiễm bệnh và khả năng ứng dụng vi nấm nói riêng và các vi sinh vật nói chung. Chúng được phân lập từ côn trùng bị bệnh để phòng trừ sâu hại một cách có hiệu quả. Theo các tác giả thì khi phân lập nấm từ côn trùng bị bệnh và xác định được nấm gây bệnh trên côn trùng chỉ có thể chắc chắn nhất là sau khi đã gây bệnh nhân tạo lại thành công trên những loại côn trùng hại bằng chính loài vi nấm đó.

4.2.3.2. Phân loại một số vi nấm gây bệnh trên côn trùng thuộc lớp nấm bất toàn

a. Hệ thống phân loại chung

Đến nay trên thế giới người ta đã biết tới 100.000 loài nấm khác nhau, chúng hợp thành một giới riêng tương đương với giới “thực vật”, giới “động vật”, giới “nhân nguyên thủy” trong thế giới hữu cơ. Vì không có diệp lục nên nấm sử dụng thức ăn hữu cơ có sẵn (dị dưỡng) như các loài động vật nhưng lại có kiểu sinh trưởng vô hạn như nhiều loại thực vật.

Các loài nấm ký sinh trên côn trùng thường thuộc về các giống sau đây (xếp theo hệ thống phân loại nấm của G.C. Anisworth, 1966, 1970, 1971).

Giới nấm (*Mycota* hay *Fungi*).

Ngành nấm thật (*Eumycota* hay *Mycobionta*).

* Ngành phụ *Mastigomyedina*

+ Lớp nấm một roi (*Chytridiomycetes*).

– Giống *Coelosporidium* (ví dụ *C. peripianetae*, *C. simulli*, *C. ephemerae*).

– Giống *Myiophayus* (ví dụ *M. uerainicus*).

– Giống *Chytridiopsis* (ví dụ *C. socius*).

– Giống *Mycelosporidium* (ví dụ *M. talpa*, *M. jacksonae*).

– Giống *Coleospora* (ví dụ *C. binucleata*).

– Giống *Coelomyces* (ví dụ *C. stegomyiae*, *C. indiana*, *C. notonectae*, *C. chironomi*).

* Ngành phụ lớp nấm tiếp hợp *Zygomycetes* gồm:

– Giống nấm *Mucor* (ví dụ *M. mucedo*, *M. hiemalis*).

– Giống *Entomophthora* (ví dụ *E. gryleyi*, *E. muscae*, *E. thaxteriam*, *E. anlicae*, *E. lipulae*, *E. virulenta*, *E. apiculata*, *E. destrucis*, *E. obseara*).

– Giống *Conidiobolus* (ví dụ *C. coronatus*, *C. brefeldianus*).

– Giống *Culicicola* (ví dụ *C. cilicis*, *C. chromaphidis*).

– Giống *Triplosporium* (ví dụ *T. fresenii*, *T. lageniformis*, *T. fumosum*).

– Giống *Zoopthora* (ví dụ *Z. radicans*, *Z. phylonomi*, *Z. vomitoriae*, *Z. aphidis*).

– Giống *Tarichium* (ví dụ *T. megaspermum*).

– Giống *Strongwellsea* (ví dụ *S. casirans*).

– Giống *Massospora* (ví dụ *M. cicadina*, *M. levispora*).

* Ngành phụ lớp nấm túi (*Ascomycotina*):

+ Lớp nấm men (*Hemiascomycetes*).

– Giống *Monosporella* (ví dụ *M. unicuspidata*).

– Giống *Helicosporidium* (ví dụ *H. parasiticum*).

+ Lớp *Plectomyces*

– Giống *Pericytis* (ví dụ *P. apis*).

– Giống *Aspergillus* (ví dụ *A. flavus*, *A. parasiticus*).

– Giống *Metarhizium* (ví dụ *M. anisopliae*).

– Giống *Myriangium* (ví dụ *M. duriai*).

– Giống *Cordyceps* (ví dụ *C. mililaris*, *C. dittmari*, *C. tubereulata*, *C. clavulata*, *C. gracilis*, *C. entomocida*).

– Giống *Hirsutella* (ví dụ *H. glyantea*, *H. thompsonii*).

+ Lớp *Laboulbeniomycetes*

– Giống *Laboulbeniomycetes* (ví dụ *L. vulgaris*, *L. rougetri*, *L. melanaria*).

*Ngành phụ lớp nấm bất toàn (*Deuteromycetes*, *Fungi imperfecti*):

– Giống *Mellanosella* (ví dụ *M. morsapis*).

– Giống *Spicaria* (ví dụ *S. farinosa*, *S. fumosorosea*, *S. aphiall*, *S. rileyi*).

– Giống *Beauveria* (ví dụ *B. bassiana*, *B. tenella*).

– Giống *Sosoporella* (ví dụ *S. upella*).

– Giống *Metarhizium* (ví dụ *M. anisopliae*, *M. flavoviride*).

– Giống *Paecilomyces* (*P. farinesus*, *P. eriophitis*).

– Giống *Nomuraea* (ví dụ *N. rileyi*)...

Trong số những loài nấm thuộc ngành phụ lớp nấm bất toàn gây bệnh trên côn trùng có triển vọng được nhiều nước trên thế giới nghiên cứu, đó là các chi nấm bạch cương *Beauveria*, chi nấm bột *Nomuraea*, chi nấm lục cương *Metarhizium*, chi nấm *Paecilomyces*... Tập trung ở một số loài điển hình sau:

– *Beauveria bassiana*

– *Beauveria tenella*

– *Metarhizium anisopliae*

– *Metarhizium flavoviride*

– *Paecilomyces farinesus*

– *Spicaria rileyi*

– *Conlomomyces stryomyiae*

– *Conlomomyces indiana*

– *Entomophthora* sp

– *Nomuraea rileyi*

b. Phân loại một số chi đã được nghiên cứu và ứng dụng rộng rãi

* Chi *Beauveria* có 4 loài được nghiên cứu tương đối nhiều hơn cả đó là:

- *Beauveria bassiana* (Bals) Vuill.
- *Beauveria brongniartii* (Sacc.) Petch.
- *Beauveria alba* (Limber) Saccas.
- *Beauveria vermiconia* de Hoong.

Trong 4 loài trên thì loài *Beauveria bassiana* (Bals) Vuill và *Beauveria brongniartii* (Sacc.) Petch ký sinh và gây bệnh trên côn trùng là chính, nhiều tài liệu ban đầu gọi loài *Beauveria brongniartii* là *Beauveria densa* hoặc *Beauveria tenella*. Thực tế qua nghiên cứu và quan sát khi nuôi cấy trên môi trường nhân tạo người ta thấy có sự thay đổi về hình thái là do ảnh hưởng của các môi trường khác nhau. Thông qua phân loại các nhà khoa học nhận thấy chính xác chỉ có 2 chủng *Beauveria* ký sinh trên côn trùng đó là:

- *Beauveria bassiana* (Bals) Vuill có bào tử dạng hình cầu.
- *Beauveria brongniartii* (Sacc.) Petch có bào tử dạng elip.

* Chi *Metarhizium* có rất nhiều tên đồng danh khác nhau cụ thể như:

- *Entomophthora anisopliae* Metsch. 1879.
- *Isaria destructor* Metsch. 1880.
- *Oospora destructor* Delacr. 1893.
- *Metarhizium album* Petch. 1931.
- *Metarhizium brumneum* Petch. 1935.
- *Myrothecium commune* Pidopl. 1969.
- *Metarhizium velutinum* Borowska et al 1970.

Nấm *Metarhizium* đồng dạng với *Myrothecium* vì có bào tử trần trong suốt, thể bình (Phialoconidi) liên kết trong chuỗi dạng cột. Một số nấm *Metarhizium* có cuống bào tử và hình dạng cành bào tử gần giống với nấm *Penicilium*.

Trong chi *Metarhizium* có 2 loài nấm được xác định nhiều trong việc gây bệnh trên côn trùng đó là:

– *Metarhizium anisopliae* Sorok, (Ma) 1883.

– *Metarhizium flavoviride* Gams, 1973.

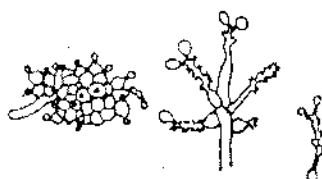
4.2.3.3. Nghiên cứu nấm *Beauveria bassiana* và *Metarhizium anisopliae* trong việc phòng trừ dịch sâu hại

a. Một số đặc điểm và cơ chế tác động

* *Loài nấm Beauveria bassiana* (nấm bạch cương): Vì nấm có màu trắng nên người Trung Quốc và người Việt Nam gọi là nấm bạch cương.

Bệnh nấm bạch cương thường xuất hiện trên con tằm do loài *Beauveria bassiana* gây nên. Trên môi trường thạch đĩa hoặc thạch nghiêng, nấm bạch cương có sợi từ màu trắng đến màu crem có pha một ít màu đỏ, da cam, đôi khi pha một ít màu lục, có thể tiết vào môi trường sắc tố màu vàng, màu đỏ nhạt hoặc màu xanh da trời. Sợi nấm phân nhánh, có vách ngăn ngang, có chiều dài khoảng 3-5µm phát triển dày đặc trên môi trường, về sau xuất hiện chi chít các cuống sinh bào tử. Trên cơ thể tằm và các côn trùng khác, sợi nấm mọc rất nhanh và chằng chịt mốc đã bao phủ kín trên bề mặt cơ thể, sợi nấm có dạng phấn trắng khi khô biến thành màu vàng sữa. Đặc điểm của loại nấm này là có sợi xốp, cuống bào tử trần đứng riêng rẽ hay tụ lại thành từng đám, không phân nhánh hoặc phân nhánh, hình ống hoặc hình bình với chiều dài không đều nhau. Trên cuống có những nhánh nhỏ mang bào tử trần.

Nấm *Beauveria bassiana* sinh ra những bào tử trần đơn bào (chỉ gồm một tế bào) không màu, trong suốt không ngăn vách từ hình cầu (đường kính 1 - 4 µm) đến hình trứng (kích thước 1,5 - 5,5 µm). Tế bào sinh bào tử trần đơn hoặc trong vòng xoắn, phát sinh từ sợi sinh dưỡng mọc thành từng đám, có cuống phình ra. Tế bào sinh bào tử trần có cuống dạng gần cầu hoặc elip hoặc hình hơi trụ, hình cổ chai. Cuống tế bào sinh bào tử trần có hình zíc-zắc nhưng là mẫu dạng răng nhỏ phát sinh bởi sự kéo dài của gốc ghép.



Hình 4.7. Cành và nhánh của bào tử nấm *B. bassiana*

+ Độc tố diệt côn trùng của nấm bạch cương *B. bassiana*

Năm 1969, R.L. Hamill và cs đã xác định được độc tố diệt côn trùng của nấm bạch cương *B. bassiana* và đặt tên cho độc tố này là *Beauvericin*. Những nghiên cứu về sau của Y. A. Ovehinnokov và cs (1971) đã tổng hợp lại độc tố này. James và cs đã xác định bản chất của độc tố sinh ra trong quá trình trao đổi chất là vòng peptit có sắc tố màu vàng là tenelin và basianin, những sắc tố này có thể là do hydroxylat progesteron và những phần nhỏ tách ra từ testosterone ($C_{19}H_{26}O_2$) sinh ra.

Về mặt hóa học, *Beauvericin* có danh pháp là xyclo (N-metyl L-phenylalanin-D- α -hydroxy-izovaleryl)₃. Đó là một loại depxipeptid vòng, có điểm sôi khoảng 93-94°C. Từ một lít môi trường nuôi cấy nấm *B. bassiana* các nhà khoa học Trung Quốc ở trường Đại học Tổng hợp Nam Khai (Thiên Tân) đã tách ra được 1,5 g độc tố *Beauvericin* và từ một kg môi trường đặc các tác giả đã tách ra được 3,8 g *Beauvericin*.

+ Cơ chế tác động của nấm bạch cương *Beauveria bassiana* lên côn trùng

Những bào tử nấm bạch cương thường bay trong không khí khi dính vào côn trùng, gặp điều kiện thích hợp sẽ nảy mầm và mọc thành sợi nấm đâm xuyên qua vỏ kitin. Chúng phát triển ngay trong cơ thể côn trùng cho đến khi xuất hiện các tế bào nấm đầu tiên (có dạng chuỗi ngắn như nấm men), côn trùng đã phải huy động hết các tế bào bạch huyết (lymphocyte) để chống đỡ, nhưng nấm bạch cương đã sử dụng những vũ khí hóa học rất lợi hại là độc tố Boverixin, proteaza và một số chất khác làm cho tế bào bạch huyết của tằm không chống đỡ nổi nên lần lượt bị hủy diệt. Khi độc tố nấm đã tiêu diệt hết các tế bào bạch huyết cũng là lúc côn trùng bị chết,

cơ thể côn trùng bị cứng lại là do các sợi nấm đan xen lại với nhau; bào tử của nấm bạch cương đã được sử dụng một cách có hiệu quả để phòng trừ nhiều loại côn trùng hại cây trồng.

* *Nấm Metarhizium anisopliae* Sorok. 1883: Vì nấm có màu lục hoặc xanh lục nên người ta thường gọi là nấm lục cương:

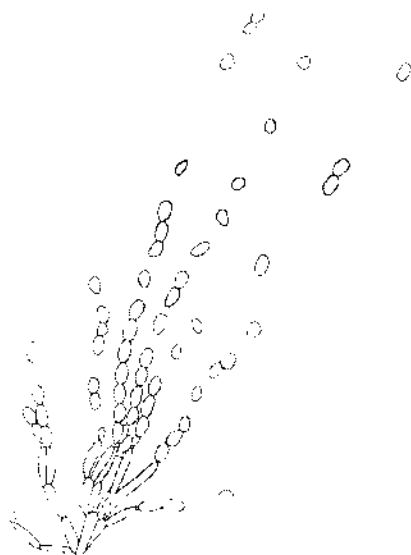
+ *Đặc điểm hình thái:*

Sợi nấm phát triển trên bề mặt côn trùng có màu từ trắng đến hồng, cuống sinh bào tử ngắn mọc tỏa tròn trên đám sợi nấm dày đặc. Bào tử trần hình que có kích thước $3,5 \times 6,4 \times 7,2 \mu\text{m}$, màu từ lục xám đến ôliu - lục, bào tử xếp thành chuỗi khá chặt chẽ và nhìn bằng mắt thường người ta có thể thấy bào tử được tạo ra trên bề mặt cơ thể côn trùng một lớp phấn khá rõ màu xanh lục. Sợi nấm khi phát triển bên trong côn trùng có chiều rộng khoảng $3 - 4 \mu\text{m}$, dài khoảng $20 \mu\text{m}$, chia thành nhiều tế bào ngắn, trong tế bào có thể thấy rõ nhiều giọt mỡ.

Nấm *M. anisopliae* có bào tử dạng hình trụ, hình hạt đậu, khuẩn lạc có màu xanh thỉnh thoảng có màu tối hoặc màu hồng vỏ quế, chúng phát triển chậm trên môi trường không có pepton (ví dụ như môi trường PDA, Czapek - Dox), thích hợp trên môi trường có pepton, cụ thể trên môi trường Sabouraud nấm phát triển tốt trong điều kiện nhiệt độ 25°C sau 7 - 10 ngày nuôi cấy thì khuẩn lạc có đường kính 4 - 6 cm. Loài nấm *Metarhizium anisopliae* có hai loài (varities) dạng bào tử nhỏ và lớn, dạng bào tử nhỏ *Metarhizium var. anisopliae* có kích thước bào tử $3,5 - 5,0 \times 2,5 - 4,5 \mu\text{m}$, dạng bào tử lớn là *Metarhizium anisopliae var. major* có kích thước bào tử $10,0 - 14,0 \mu\text{m}$.

Để phân biệt hai loài trên, tác giả Tsai và cs đã nghiên cứu đặc tính huyết thanh khác nhau của hai loài này và xác định rằng loài *Metarhizium anisopliae* là chủng gây bệnh mạnh nhất trên côn trùng thuộc bộ cánh cứng Coleoptera. Nhiều nhà khoa học đã nghiên cứu và tìm thấy có khoảng 204 loài côn trùng thuộc họ Elaridae và Curculionidae dễ bị nhiễm bệnh bởi nấm *Metarhizium anisopliae*.

+ *Độc tố diệt côn trùng của nấm lục cương*



Hình 4.8. Cảnh và bào tử nấm *Metarhizium anisopliae*

Gồm một số ngoại độc tố có tên là Destruxin A, B, C hay D. Các ngoại độc tố đó là các sản phẩm thứ cấp vòng peptit, L - prolyl, L - leucine, anhydride, L - prolyl - L - valine anhydride và Desmethyl Destruxin B.

Theo tài liệu của tác giả Lysenko và Kucera thì nấm *M. anisopliae* cũng sinh ra độc tố Destruxin A và độc tố Destruxin B. Theo Suzuki và cộng sự năm 1966 - 1970 thì:

– Destruxin A có công thức nguyên là $C_{29}H_{47}O_7N_5$, có điểm sôi là $188^{\circ}C$.

– Destruxin B có công thức nguyên là $C_{30}H_{51}O_7N_5$, có điểm sôi là $234^{\circ}C$.

Đó là những depxipeptit vòng.

Độc tố Destruxin A có bản chất hóa học là D - 2 hydroxy - 4 - pentenoyl - L - prolyl - L - isoleucyl - N-methyl - L - valyl - N-methyl - L - alanyl - β - alanyl lacton.

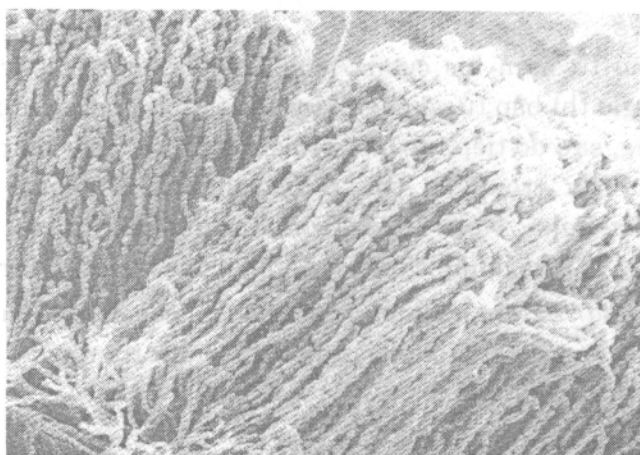
Độc tố Destruxin B có bản chất hóa học là D - α - hydroxy - γ - methylvaleryl - L - prolyl - L - isoleucyl - N - methyl - L - valyl - N - methyl - L - alanyl - β - alanyl lacton.

Năm 1961, 1962, Y. Kodaira đã tách ra được độc tố Destruxin A, và Destruxin B từ dịch nuôi cấy nấm lục cường *M. anisopliae*.

S. Tamura và cs (1965-1970) đã tiến hành nuôi cấy nấm lục cường. Các tác giả cũng tách được những độc tố trên từ môi trường Czapek - Dox có chứa 0,5% pepton. Từ 1 lít dịch nuôi cấy người ta có thể thu nhận được 13-15 mg độc tố Destruxin A và B, dịch lọc được xử lý bằng than hoạt tính rồi được phản hấp phụ bằng N- butanol, sau đó được tách ra bằng benzen và được làm sạch trên cột nhôm oxit trung tính.

Năm 1971, người ta đã tổng hợp nhân tạo được Destruxin B. Có khoảng 70 loài côn trùng bị tiêu diệt bởi nấm lục cường *M. anisopliae*.

Dưới kính hiển vi điện tử với độ phóng đại lớn, năm 2000 các nhà khoa học Mỹ đã chụp được chuỗi bào tử *M. anisopliae* kéo dài với bố mật độ giống như dạng khối mô giậu.



Hình 4.9. Chuỗi bào tử nấm *Metarhizium anisopliae*

+ Đặc điểm sinh lý - sinh hóa của nấm lục cường

Nấm *M. anisopliae* không thể sinh trưởng tốt trên nền cơ chất không có kitin, chúng sống được ở nhiệt độ thấp 8°C, có biên độ về độ ẩm rộng ở nơi tích lũy nhiều CO₂ và thiếu O₂ chúng có thể sống tới 445 ngày. Khi hoại sinh trong đất, bào tử dính bị ức chế sự nảy mầm bởi khu hệ nấm đất, trong đó có chủng *Aeromonas* (thí nghiệm *invitro*).

Ở nhiệt độ dưới 10°C và trên 45°C thì nấm thường không hình thành bào tử. Nhiệt độ thích hợp cho sự nảy mầm của bào tử là từ 25-30°C và sẽ bị chết ở 49°C đến 55°C và nhiệt độ cho nấm phát triển tốt nhất là 25°C. pH thích hợp là 6 và có thể dao động trong khoảng 3,3- 8,5. Nấm *M. anisopliae* có khả năng phân giải tinh bột, xeluloza và kitin (lông và da côn trùng).

Nấm lục cương có thể đồng hóa nhiều nguồn thức ăn cacbon khác nhau. Chúng phát triển tốt trên môi trường có thể chứa glucogen hay lipid. Muốn tạo thành bào tử, nấm lục cương đòi hỏi phải có độ ẩm không khí khá cao.

Sản phẩm trao đổi chất có thể làm tê liệt ấu trùng của sâu loài *Galleria*, *Mellonela* và *Bombyx mori*. Trong dịch nuôi cấy người ta đã tách được toxin và xác định bản chất hóa học của chúng là peptid vùng destruxin A, B, C và D.

+ Cơ chế gây bệnh của nấm lục cương *Metarhizium anisopliae* lên côn trùng

Khi bào tử nấm lục cương bám trên bề mặt côn trùng trong khoảng 24 giờ thì bào tử sẽ nảy mầm tạo thành ống mầm xuyên qua vỏ côn trùng, sau đó tiếp tục phân nhánh tạo nên một mạng sợi nấm chằng chịt bên trong cơ thể côn trùng, cũng giống như nấm *Beauveria bassiana*. Nấm *Metarhizium anisopliae* đã tiết ra các độc tố Destruxin A, B và chính các độc tố trên đã gây chết côn trùng.

Nấm *Metarhizium anisopliae* có thể cần các điều kiện thích hợp như nhiệt độ, ẩm độ, quá trình bệnh lý và hình thành các loại độc tố trong quá trình phát triển.

b. Phân lập và tuyển chọn những chủng vi nấm có hoạt tính cao diệt côn trùng

Để phân lập thuần khiết những loại nấm trên côn trùng, cụ thể là nấm lục cương người ta thường sử dụng môi trường mạch nha (7⁰ Balling), cũng có thể sử dụng môi trường thạch- nước thịt-pepton, hoặc môi trường thạch- nước mắm- pepton.

Một số loại môi trường nuôi cấy có thành phần như sau:

* *Môi trường nước mắm pepton.*

Pepton

10 g.

Nước mắm (hay xì dầu)	20 ml
Nước máy (sạch)	1000 ml

** Môi trường Saburo (Sabouraud)*

Glucosa (hay mantoza)	40 g
Pepton	10 g
Nước máy (sạch)	1000 ml
pH	5 - 6

** Môi trường mạch nha.*

Nước mạch nha 6° Baume (tương đương với 10,8° Brix hay tỷ trọng 1,043).

Nếu như không có mầm đại mạch có thể tự chế tạo bằng mầm lúa. Cứ 1kg bột mầm lúa thì thêm 3 lít nước, giữ ở 60°C cho đến khi đường hóa hết (không còn phản ứng màu với thuốc thử iốt). Lọc và cho thêm ba lòng trắng trứng, đun sôi. Cuối cùng lọc lại lấy dịch trong.

** Môi trường Czapek - Dox:*

Sacaroza	30 g
NaNO ₃	2 g
K ₂ HPO ₄	1 g
MgSO ₄ .7H ₂ O	0,5 g
KCL	0,5 g
FeSO ₄	0,01 g
Nước máy (sạch)	1000 ml

Nếu muốn làm môi trường đặc thì thêm khoảng 2% thạch (aga) vào các môi trường nói trên. Có thể lấy bào tử nấm từ trên xác tằm chết, pha loãng ra rồi cấy lên môi trường thạch đĩa hoặc trước đó cho phát triển trên môi trường dịch thể sau mới phân lập lại trên môi trường thạch đĩa.

Để hạn chế sự phát triển của vi khuẩn hoặc các loại vi sinh vật tạp nhiễm có thể bổ sung vào môi trường một trong các chất sau đây: NaCNS (0,24 - 0,4M/l) hồng (Roza) bengal (70mg/l), streptomycin (40 - 50mg/l), tetracyclin, oxitetracyclin, clotetracyclin (2 - 5mg/l), cloromixylin (5mg/l), neomycin, polymyxin, baxytraxin (50mg/l).

Thế kỷ trước vào năm 1885, nhà bác học Louis Pasteur đã phát hiện và phân lập ra vi sinh vật gây bệnh trên côn trùng với hàng loạt bệnh, với những triệu chứng khác nhau. Từ đó cho đến nay có rất nhiều công trình nghiên cứu và tuyển chọn ra các chủng vi nấm nằm trong lớp nấm bất toàn Deuteromycetes có khả năng diệt côn trùng.

Nhiều tác giả đã tập trung chủ yếu vào việc lựa chọn môi trường nhân tạo phù hợp để phân lập. Yagnuma đã sử dụng môi trường cải tiến (chứa nước chiết của thân cây ngô) để phân lập nấm *M. anisopliae*. Ở Ấn Độ, Mohan đã chọn môi trường có chứa kitin làm nguồn cacbon để phân lập nấm *M. anisopliae* từ phân trâu bò. Chase và cs sử dụng môi trường chứa nguồn tinh bột tự nhiên (bột yến mạch) để phân lập nấm *B. bassiana* và *M. anisopliae*. Sneh C. đã phân lập nấm *M. anisopliae* từ con gián trên môi trường cải tiến có chứa mầm lúa mì. Tại Thụy Điển nhà khoa học Baath đã sử dụng môi trường có chứa Cu^{2+} để phân lập và tách ra nấm gây bệnh trên côn trùng sống ở trong đất v.v...

Nấm *Metarhizium anisopliae* là nấm côn trùng xuất hiện phổ biến trong tự nhiên có thể phân lập từ xác côn trùng chết hay được phân lập từ trong đất, nhiệt độ tối ưu cho nấm *Metarhizium anisopliae* phát triển thường cao hơn nấm *Beauveria bassiana*.

Nấm *Beauveria bassiana* cũng được phân lập từ đất hoặc trên xác chết côn trùng, chúng phát triển trên môi trường PDB ở nhiệt độ 25- 30°C với pH = 5-7. Ở những nơi không có côn trùng người ta cũng phân lập được nấm *M. anisopliae* ngay cả trong điều kiện thời tiết rất khắc nghiệt (như ở nước Đức) trên những khu đất ở rừng sâu khi bị đốt cháy, cả trong những chất thải hữu cơ (chuẩn bị ô nhiễm) hoặc trong trầm tích ở sông chứa đất đầm lầy trồng những loại cây dược, hoặc trong tổ của một số loài chim và cả trong rễ của cây dâu tây cũng có thể phân lập được nấm *M. anisopliae*.

Năm 1940, T. Petch là người phân lập được nấm *Entomophthora dearicida* ký sinh trên cơ thể sâu hại *Halotydens destructor*. Bốn năm sau tác giả lại phân lập được loài nấm *Entomophthora acaridis* ký sinh trên ve.

Năm 1954, F. E. Fisher đã quan sát thấy một loại nấm ký sinh

trên loài ve *Eutetranychus banski*, về sau J. Weiser và M.H. Muma (1966) đã phân lập và xác định được nấm này có tên khoa học là *Entomophthora floridana*.

Phân lập và tuyển chọn vi nấm diệt côn trùng còn căn cứ vào tính độc của chủng nấm đối với các côn trùng khác nhau. Tính độc có thể là sự lây nhiễm trực tiếp bằng bào tử thuần khiết, hoặc bằng độc tố từ dịch nuôi cấy của hàng loạt chủng vi nấm và hệ sợi nấm.

Khi có bộ sưu tập về các chủng vi nấm đã được phân lập từ những nguồn khác nhau, người ta đã tiến hành tuyển chọn những chủng vi nấm có hoạt tính diệt côn trùng cao nhằm phục vụ cho mục đích sản xuất ra các chế phẩm sinh học. Phương pháp được nhiều tác giả trên thế giới sử dụng nhiều nhất đó là cấy thử nghiệm lại trực tiếp trên hàng loạt côn trùng hại để xác định và đánh giá hiệu lực của chủng nấm.

c. Triệu chứng bệnh vi nấm côn trùng và cơ chế tác động của nấm lên côn trùng

** Triệu chứng sâu hại bị bệnh vi nấm côn trùng*

Khi bị bệnh nấm, côn trùng ngừng vận động từ 2- 3 ngày, thậm chí một tuần trước khi nấm phát triển đầy đặc trong toàn bộ thân, côn trùng bị bệnh do nấm *Entomophthorales* thì chúng ngừng di động 24 giờ trước khi sợi nấm từ trong cơ thể xuất hiện ra bên ngoài. Chỉ những côn trùng bị thương hay bị bệnh nấm, màu sắc thân mới bị thay đổi và xuất hiện những vết đen.

Khi côn trùng bị bệnh do nấm bất toàn Deuteromycetes ký sinh, đặc biệt là bị bệnh do nấm *Beauveria bassiana* thì ở chỗ bào tử bám vào, nấm phát triển, bên trong thân của sâu non tạo nên một vết đen, không có hình thù nhất định.

Côn trùng bị bệnh nấm khi chết thường có màu hồng, vàng nhạt và trắng, thân hơi cứng lại, màu sắc này phụ thuộc vào màu sắc của bào tử nấm gây bệnh. Ví dụ như nấm *Sorosporella* hay nấm *Mycophagus* gây bệnh trên côn trùng làm cho chúng chết, khi chết côn trùng thường có màu đỏ rực rỡ.

Sự thay đổi về kích thước và độ lớn của côn trùng cũng là đặc trưng của các bệnh mãn tính hoặc các bệnh xâm nhập vào chậm.

Trường hợp bị bệnh do nấm, thân cơ thể côn trùng bị ngăn lại hoặc bị khô đét đi là do hệ thống tiêu hóa bị tổn thương hoặc do thiếu thức ăn. Các vi sinh vật gây bệnh trên côn trùng thường tác động đến những loại mô nhất định. Khi côn trùng bị bệnh nấm thì tuyến mỡ và các mô khác bị hòa tan là do lipaza và proteaza của nấm tiết ra, nhờ đặc điểm đó mà người ta có thể xác định được côn trùng bị bệnh là do động vật nguyên sinh hay do nấm bậc thấp (*Coelomycidium*, *Entomophthora*...) gây ra. Hiện tượng chết hoại gắn liền với hiện tượng tiêu hủy mô là đặc trưng của bệnh nấm, quá trình này tiến triển qua hai giai đoạn:

- *Hiện tượng chấn thương*: Các mô tổn thương bị phá hoại là do nấm từ bên ngoài gây ra, trong trường hợp này các lympho máu đọng lại và mô tái sinh được tạo nên trên bề mặt phần thân côn trùng bị chấn thương.

- *Hiện tượng nhiễm trùng máu* của côn trùng khi bị bệnh nấm là do lympho chứa đầy sợi nấm hoặc những giai đoạn phát triển khác nhau của nấm. Hiện tượng thực bào là quá trình các tế bào bao vây và nuốt một phần tiểu thể nhất định. Khi côn trùng bị bệnh do nấm *Beauveria bassiana* thì những hợp bào này và các loại tế bào khổng lồ được hình thành và ký sinh trên côn trùng làm cho côn trùng chết.

- * *Con đường truyền bệnh và cơ chế gây bệnh nấm trên côn trùng*

- *Con đường truyền bệnh*

Nguyên nhân gây bệnh chủ yếu là lây lan từ con ốm sang con khỏe thông qua tiếp xúc trực tiếp với nhau, hay qua nguồn thức ăn có chứa mầm bệnh. Việc lây truyền theo con đường đẻ trứng của ký sinh hầu như không đáng kể. Bệnh vi nấm rất dễ lan truyền bằng va chạm đơn giản mà ở một số bệnh vi sinh vật khác hầu như không xảy ra. Khi lây bệnh chúng thường lây lan nhờ gió, mưa, chim, thú... và các bệnh do nấm tạo thành những ổ bệnh kéo dài theo chiều gió thổi - con đường truyền bệnh thông qua các loại độc tố của nấm côn trùng.

- *Cơ chế gây bệnh chung của nấm côn trùng lên côn trùng*

Về nguyên lý chung: Phải kể đến vai trò của các độc tố, các loại toxin của nấm côn trùng. Khi những bào tử nấm trên thân côn trùng

nhờ gió bay đi và chúng rơi vào cơ thể côn trùng khác trong tự nhiên, từ đó bào tử nấm nảy mầm, hệ sợi phát triển tới mức phủ kín các lỗ thông hơi trên cơ thể côn trùng. Quá trình sinh trưởng, phát triển của bào tử và hệ sợi nấm ăn sâu vào cơ thể côn trùng. Đây là quá trình trao đổi chất của các vi nấm lên côn trùng.

d. Cấu tạo và thành phần hóa học của tế bào vi nấm

Cũng như trong thành phần cấu tạo của các loại nấm lớn (nấm có quả thể) và các nhóm vi sinh vật khác, tế bào vi nấm gồm có thành tế bào, chất nguyên sinh, không bào, nhân tế bào và các thể ẩn nhập. Thành phần hóa học của các tế bào vi nấm thay đổi theo loài, theo vị trí tế bào trên sợi nấm so với ngọn nấm (Gibatt, 1996). Các thành phần nguyên tố hóa học của tế bào vi nấm quan trọng nhất là cacbon (40%), oxy (40%), nitơ (7- 8%) và hydro (2-3%). Hydratcacbon quan trọng ở các tế bào nấm là Glycogen và Trehalogen.

Glycogen là hydratcacbon dự trữ của nấm, tương đương với tinh bột ở thực vật. Tỷ lệ hydratcacbon cũng như các thành phần khác của tế bào, thay đổi theo từng loài vi nấm.

** Sợi nấm, hệ sợi nấm và khuẩn lạc*

Sợi nấm có vách ngăn, toàn bộ sợi nấm và các nhánh phát triển từ một bào tử nấm được gọi là hệ sợi nấm. Sợi nấm phát triển từ ống nảy mầm và bào tử mọc ra, sợi nấm chỉ tăng trưởng ở ngọn và đều được đo theo chu kỳ thời gian.

Trên môi trường nuôi cấy nhân tạo và cả trên một số cơ chất tự nhiên, hệ sợi của vi nấm thường phát triển thành một khối có hình dạng nhất định, thường có tiết diện hình tròn, hoặc gần cầu gọi là khuẩn lạc. Một khuẩn lạc có thể phát sinh từ một đoạn sợi nấm nhưng thông thường nhất là từ bào tử. Tốc độ tăng trưởng của các loài vi nấm thường được tính bằng đường kính khuẩn lạc. Khuẩn lạc của một vài loài nấm còn được đặc trưng bởi màu sắc của sợi nấm. Bề mặt khuẩn lạc của vi nấm có thể mượt, nhẵn bóng, dạng bột, dạng hạt, dạng sợi hoặc dạng xốp. Chưa có nhiều dẫn liệu về những biến đổi sinh lý, sinh hóa trong bào tử nảy mầm thuộc các nhóm phân loại khác nhau, tuy nhiên vẫn có những công trình nghiên cứu

nói tới sự biến đổi này. Trong quá trình nảy mầm, sợi nấm rất cần glucoza hoặc các đường đơn khác từ môi trường bên ngoài, ngược lại không cần cung cấp lipit. Glucoza cũng được xem là nguồn cacbon rất cần đối với sự nảy sợi ở nhiều loài vi nấm, chẳng hạn đối với sự nảy sợi của bào tử trần nấm *Penicillium griseofulvum*. Trong quá trình nảy mầm, sinh trưởng và hình thành bào tử, nấm *Metarhizium anisopliae* cũng rất cần nguồn cacbon, nitơ và vitamin.

** Bào tử nấm*

Dựa vào màu sắc mà bào tử trần được phân ra làm hai dạng: Dạng không màu và dạng có màu bao gồm màu trắng: *Beauveria bassiana*, màu trắng nhạt: *Paecilomyces farinosus*, có dạng màu xanh tươi: *Metarhizium anisopliae*, xanh ôliu: *Metarhizium flavoviride*.

Căn cứ vào hình dạng, số lần và cách ngăn vách của bào tử trần, Saccardo phân biệt:

- Bào tử trần không ngăn vách (*Aspergillus* sp. *Penicillium* sp. *B. bassiana*, *B. brongniartii*, *M. flavoviride*, *B. globulifera*).
- Bào tử trần có một vách ngăn (*Trichothecium* sp. *Spodioides* sp).
- Bào tử trần có hai hoặc trên hai vách ngăn (*Fusarium* sp).
- Bào tử trần vừa có vách ngăn vừa có vách dọc (*Alternaria* sp).

Kích thước bào tử trần thay đổi từ 1 - 2 đến vài chục μm , ở bào tử trần *B. bassiana* là 2 - 3 μm , *B. brongniartii* là 2,5 - 4,5 x 20 - 25 μm .

Nấm *M. anisopliae* có kích thước bào tử trần nhỏ 3,5 - 5,0 - 8,0 - 9,0 x 2,5 - 3,5 - 4,5 μm và bào tử trần lớn của *M. anisopliae* var. *major* có chiều dài là 14,0 (1- 8,0 μm). Giá bào tử trần là các nhánh sợi nấm phân hóa hình thái ít hay nhiều, có khả năng trực tiếp sinh bào tử trần như nấm *B. bassiana*. Giá bào tử trần phân biệt về hình thái rõ rệt với sợi nấm có thể ngăn vách hoặc không, có tế bào sinh bào tử trần phân hóa về hình thái, tế bào sinh bào tử phân hóa thành các dạng hình thái đặc biệt như thể bình ở nấm *M. anisopliae*. Tế bào sinh bào tử trần có thể đơn độc ở đỉnh giá như nấm *Chalara* sp hoặc thành từng cụm từ 2 đến nhiều bào tử như ở nấm *M. anisopliae* và *M. flavoviride*.

** Đặc điểm sinh lý, sinh hóa của nấm côn trùng*

Là những phản ứng khác nhau đối với môi trường dinh dưỡng có nguồn cacbon và nitơ khác nhau, với các chất ức chế khác nhau cũng như đối với sự tạo thành các sản phẩm trao đổi chất thứ cấp, chất kháng sinh, độc tố... các phản ứng đó thường đặc trưng cho một số nhóm vi nấm gây bệnh côn trùng riêng biệt.

** Khả năng đồng hóa các nguồn cacbon, nitơ*

Nấm côn trùng có thể sử dụng các nguồn thức ăn cacbon rất khác nhau, hầu như không có loại hợp chất cacbon hữu cơ nào mà không được nhóm nấm này hay nhóm nấm khác sử dụng. Ví dụ như chi *Beauveria*, *Metarhizium* đã sử dụng các nguồn thức ăn cacbon mà các loại vi nấm khác vẫn thường sử dụng. Nhiều loài nấm còn có khả năng đồng hóa cả các hợp chất hữu cơ rất bền vững hoặc rất độc đối với nhiều loài sinh vật khác (các chất n - alcan, alcaloit, phenol, sterin, nhiều chất kháng sinh, nhiều độc tố, nhiều loại tactan, flavon v.v...).

Các loại vi nấm côn trùng thường không đòi hỏi khắt khe đối với một loại thức ăn cacbon nào đấy. Chúng có khả năng sử dụng nhiều loại hợp chất cacbon khác nhau, nhưng cũng có loại hợp chất này được đồng hóa tốt hơn loại hợp chất cacbon khác. Có rất nhiều trường hợp ở trong môi trường nuôi cấy có mặt vài nguồn cacbon khác nhau, nấm sẽ phát triển mạnh hơn khi chỉ có riêng từng loại. Các công trình nghiên cứu của Hegendus và cs đã xác định môi trường tốt nhất để phân lập nấm *M. anisopliae* và *B. bassiana* là môi trường có chứa kitin làm nguồn cacbon.

Để thực hiện các quá trình sinh lý khác nhau, nấm thường có những nhu cầu về các nguồn thức ăn cacbon khác nhau. Hegendus và cs, Dorta và cs cho biết nấm *M. anisopliae* khi nuôi cấy chìm, nếu bổ sung thêm kitin hoặc hexosamines và glucoza thì thu được lượng bào tử cao nhất. Theo các tác giả thì nhu cầu không giống nhau về nguồn gốc thức ăn cacbon nhưng các loại đường này rất thích hợp đối với sự hình thành hệ sợi nấm, song chưa chắc đã là thích hợp cho việc hình thành các cơ quan sinh sản hoặc việc tích lũy những chất chuyên hóa khác. Trên nguồn thức ăn phức tạp như tinh bột, xeluloza, kitin, đầu tiên nấm phải sinh ra các enzym để thủy phân các hợp chất này thành các hợp chất đơn phân tử sau đó mới đồng

hóa được chúng. Nhờ khả năng đồng hóa nguồn cacbon phức tạp này mà trong cơ chế diệt côn trùng của các chủng vi nấm *M. anisopliae*, *M. flavoviride*, *B. brongniartii*, *B. bassiana*... đã được rất nhiều tác giả trên thế giới nghiên cứu và họ đều khẳng định rằng quá trình xâm nhập của các chủng nấm trên trước hết phải là do quá trình phân hủy lớp vỏ kitin ở ngoài lớp da côn trùng. Sau đó là phân hủy protein của các mô côn trùng, đồng thời với protein là sự phá hủy lipid. Quá trình này thực hiện được chính là nhờ vai trò của phức hệ enzym ngoại bào của các nấm ký sinh trên côn trùng hại cây trồng.

Tùy từng loại nấm mà có mối quan hệ khác nhau đối với nguồn thức ăn cacbon, ví dụ như nấm *Neurospora ctassa* có thể đồng hóa tốt nguồn glucoza, xenlobioza, fructoza, maltoza, xyloza, sacaroza và treheloza và đồng hóa yếu ớt nguồn ribit, dunxit, gluconat, N- acetyl glucosamin,... trong đó N- D - acetyl-glucosamin được phân tích từ môi trường nuôi cấy chủng nấm *Beauveria bassiana*. Khi nuôi cấy các chủng nấm *Beauveria bassiana* và *Metarhizium anisopliae* trên môi trường có nguồn cacbon khác nhau người ta thấy chúng đồng hóa tốt các loại đường glucoza, maltoza, sacaroza nhưng lại đồng hóa đường rafinoza yếu. Mối quan hệ giữa nguồn thức ăn cacbon với sự hình thành và phát triển của bào tử nấm *Beauveria bassiana* và *Metarhizium anisopliae* đã được tác giả Jenking và Prior xác định được tỷ lệ thích hợp giữa sacaroza và pepton trong dịch nuôi cấy nấm *Metarhizium anisopliae* có ảnh hưởng tới sự sinh trưởng và hình thành bào tử nấm. Hegedes và cs đã xác định được lượng bào tử của nấm *Beauveria bassiana* sản sinh cao nhất là $8,9 \times 10^7$ bào tử/ml sau hai ngày nuôi cấy chìm trong môi trường chứa N-acetyl-D-glucosamine.

Thành phần kitin trong môi trường nuôi cấy rất cần thiết đối với các chủng vi nấm diệt côn trùng vì chất kitin đã giúp cho sự sinh trưởng, phát triển và hình thành bào tử đính (conidiospore) cũng như bào tử chồi (blastospore) của nấm. Tuy nhiên không phải tất cả nguồn thức ăn cacbon nào cũng đều hỗ trợ có lợi cho sự sinh trưởng, phát triển cũng như sự nảy mầm và hình thành bào tử của nấm. Nghiên cứu về hiệu quả của nguồn cacbon, nitơ và vitamin đối với

nấm *Metarhizium anisopliae* được phân lập từ sâu *Inoplus ruoricus*, người ta nhận thấy quá trình nảy mầm, sinh trưởng và hình thành bào tử, nấm *Metarhizium* đã sử dụng cả nguồn nitrat và nitơ amôn. Trong nguồn nitơ đã thử, chỉ có axitamin cystein là ức chế cả sự sinh trưởng và sự hình thành bào tử của nấm. Những vitamin đã thử cũng không làm tăng sự sinh trưởng và sự hình thành bào tử của nấm *Metarhizium anisopliae*. Một số vi nấm côn trùng khác còn có khả năng sử dụng cả hợp chất vô cơ (diphenol) và cả các nguồn nitơ vô cơ. Nhiều loài nấm có khả năng đồng hóa cả muối amon lẫn muối nitrat. Các loài nấm men, nấm mốc được ghi nhận là ít nhiều có khả năng đồng hóa nguồn nitơ phân tử trong không khí như các loài nấm *Saccharomyces aprulatus*, *Aspergillus flavus*, *Trichoderma lignirum* v.v...

Ngoài việc sử dụng các nguồn nitơ vô cơ, nấm côn trùng còn có thể sử dụng tốt những nguồn nitơ hữu cơ như protein, pepton và các axit amin. Axit glutamic là một trong những axit amin thích hợp hơn cả cho sự phát triển của nấm *Beauveria bassiana* và *Metarhizium anisopliae*. Nguồn thức ăn nitơ là protein từ cơ thể côn trùng là nền cơ chất giàu dinh dưỡng nhất cho nấm gây bệnh côn trùng sinh trưởng và phát triển.

* Nhu cầu về chất kích thích sinh trưởng

Vì nấm có mối quan hệ rất khác nhau đối với các loại vitamin và các chất sinh trưởng. Ngoài tác dụng kích thích nảy mầm của bào tử, sinh trưởng và tăng trưởng của hệ sợi nấm, cũng có loại vitamin kìm hãm hoặc hạn chế sự sinh trưởng của nấm. Trường hợp bổ sung vitamin vào môi trường nuôi cấy người ta thấy có sự ức chế khoảng 30 - 40% quá trình sinh trưởng và phát triển của nấm côn trùng. Các chủng nấm *Beauveria bassiana* và *Metarhizium anisopliae*... nếu bổ sung thêm kitin tự nhiên của châu chấu di cư *Locusta migratoria* vào môi trường nuôi cấy sẽ làm tăng khả năng sinh bào tử (Li và Holdom).

Các nguyên tố vi lượng có tác dụng kích thích sự phát triển của vi nấm, ví dụ nếu loại ra khỏi môi trường nguyên tố vi lượng Mo, người ta nhận thấy hàm lượng nitratreductaza trong tế bào vi nấm cũng giảm đi 9 lần.

Một đặc tính sinh lý, sinh hóa vô cùng quan trọng của vi nấm là khả năng biến đổi các cơ chất khác nhau nhờ hệ thống enzym sinh ra trong quá trình trao đổi chất. Đối với các chủng vi nấm diệt côn trùng thì hệ enzym là một trong những yếu tố đặc trưng cho cơ chế lây nhiễm và xâm nhập bệnh vi nấm vào cơ thể côn trùng.

** Khả năng biến đổi các cơ chất khác nhau nhờ hệ thống enzym*

Các enzym trên mặt ngoài của thành tế bào và ở ngoài tế bào như xenulaza, amylaza, lipaza và kitinaza... là thành phần cấu tạo những hợp chất hoặc những sản phẩm trao đổi chất của tế bào vi nấm. Từ hệ enzym trên người ta đã phát hiện ra tuyến mỡ và các mô bị hòa tan là do các proteinnaza tiết ra trong quá trình nuôi cấy nấm cũng như trong cơ chế gây bệnh côn trùng. Thông qua đặc điểm này có thể phân biệt côn trùng bị bệnh do động vật nguyên sinh hay do nấm bậc thấp gây ra. Các nhà khoa học cũng chứng minh được vai trò của hệ enzym trong quá trình phân hủy các cơ chất hữu cơ ở lớp biểu bì, lớp mô, lớp mỡ, lympho và ruột của côn trùng. Rất nhiều nghiên cứu về khả năng phân giải protein và kitin ở lớp da côn trùng, tác giả Eguchi đã nghiên cứu rất kỹ khả năng phân giải protein của con tằm (*Bombyx mori* L.) khi bị nhiễm nấm *Aspergillus melleus* và *B. bassiana* thì cả hai loài nấm trên đã tiết ra enzym proteaza. Messias (1986) đã nghiên cứu khả năng phân giải kitin của côn trùng thông qua sự sinh trưởng và phát triển của nấm *Metarhizium anisopliae*, theo tác giả khi bổ sung thêm thành phần biểu bì của sâu *Draatraea saccharalis* vào môi trường nuôi cấy thì nấm phát triển tốt hơn. Bidochka và cs đã nuôi cấy nấm *B. bassiana* khi cho thêm biểu bì châu chấu (*Melanoplus sanguinipes*) vào trong môi trường. Các tác giả cũng đã chứng minh được vai trò của enzym phân giải kitin thông qua sự sinh trưởng và phát triển của nấm côn trùng.

Như vậy rất nhiều tác giả trên thế giới đã đi sâu nghiên cứu về những đặc điểm sinh lý, sinh hóa của vi nấm nhất là các chủng nấm có khả năng diệt côn trùng cùng với khả năng phân giải enzym ngoại bào - đó là khả năng sinh ra các độc tố của các loài vi nấm. Hai đặc tính trên chính là cơ sở quan trọng trong cơ chế lây bệnh vi nấm diệt côn trùng ở ngoài tự nhiên.

*** Khả năng sinh độc tố và các sản phẩm trao đổi chất**

Độc tố là một trong những sản phẩm thứ cấp không ổn định và chúng chỉ có ở một số chủng vi nấm gây bệnh trên côn trùng hại cây trồng. Sản phẩm thứ cấp là một loại hợp chất được sinh ra từ các chất trao đổi sơ cấp nhờ quá trình chuyển hóa sinh đặc biệt. Các sản phẩm thứ cấp đó thường được tích lũy vào cuối giai đoạn sinh trưởng của nấm khi các nguồn thức ăn và năng lượng đã cạn dần. Khả năng sinh tổng hợp các sản phẩm thứ cấp là đặc tính sinh lý khá ổn định với từng loài vi nấm côn trùng.

Theo Bidochka và Khachatourians thì sản phẩm của nấm *B. bassiana* là hai axit hữu cơ, đó là axit oxalic và axit citric, khi nuôi cấy trên môi trường có chứa kitin (màng của châu chấu *Melampus sanguinipes*). Các tác giả đã chứng minh được chính hai axit trên đã tham gia vào trong quá trình hòa tan protein biểu bì của côn trùng. Cũng trong thí nghiệm này Bidochka và các cs đã chỉ ra rằng các axit vô cơ như axit clohydric và axit sunfuric không hòa tan hoặc hòa tan rất yếu màng protein của châu chấu *Melampus sanguinipes*.

4.2.3.4. Các yếu tố cơ bản ảnh hưởng đến sự sinh trưởng và phát triển của vi nấm côn trùng

Điều kiện cần thiết cho quá trình hình thành bào tử cũng như hệ sợi nấm côn trùng đó là nhiệt độ, ẩm độ, độ pH trong môi trường, cũng như phương pháp nuôi cấy. Quá trình tác động đến đất như sử dụng phân bón hữu cơ, thuốc trừ sâu hóa học đều có ảnh hưởng tới sự sinh trưởng và phát triển của một số chủng vi nấm sống trong đất.

a. Ảnh hưởng của môi trường và phương pháp nuôi cấy

Môi trường nuôi cấy là yếu tố quan trọng cho nấm sinh trưởng và phát triển, nếu môi trường không tốt, nấm mọc yếu hoặc không mọc. Trong quá trình nảy mầm để hình thành bào tử nấm *M. anisopliae* cần các nguồn C, N. Sự phát triển của nấm phụ thuộc vào các chất ức chế khác nhau. Môi trường thích hợp nhất cho nấm phát triển là môi trường có chứa kitin làm nguồn cacbon, nếu bổ sung thêm chất kitin và glucoza thì trong quá trình nuôi cấy, nấm

M.anisopliae sẽ thu được số lượng bào tử cao, bởi vì thành phần kitin trong môi trường nuôi cấy là rất cần thiết đối với các loại nấm, nó giúp cho sự phát triển và hình thành bào tử đính (Conidiospore) và bào tử trần (Blastospore). Tuy nhiên không phải nguồn thức ăn chứa C và N nào cũng đều có lợi cho sự sinh trưởng và phát triển cũng như sự nảy mầm và hình thành bào tử của nấm *M.anisopliae*, vì ngoài nguồn nitơ vô cơ ra, nấm *M.anisopliae* còn sử dụng tốt nguồn hữu cơ như protein, pepton, các axitamin trong đó có axit glutamic là axit thích hợp cho nấm phát triển. Các nguyên tố vi lượng như C^{++} , Zn^{++} có tác dụng kích thích cho sự phát triển của nấm. Tùy từng loại nấm *Metarhizium* hay *Beauveria* mà chúng ta nghiên cứu để lựa chọn môi trường thích hợp sao cho nấm phát triển tốt nhất.

Về phương pháp nuôi cấy theo các tác giả Rombach, Basto Cruz và cs, Hegedus và cs, Miao và cs, Jenkins và Prior, Shimazu và cs thì sử dụng phương pháp nuôi cấy chìm để sản xuất nấm côn trùng sẽ thu được những kết quả tốt, vì trong nuôi cấy chìm, người ta đã xác định được khả năng sinh bào tử chồi và lượng sinh khối sinh được từ hai chủng nấm *B. bassiana* và *M. anisopliae* là rất cao. Bằng phương pháp nuôi cấy chìm (tại Trung Quốc), Li và cs đã thí nghiệm tách chiết theo phương pháp bản mỏng và các tác giả đã xác định được độc tố của nấm *M. anisopliae* là Destruxin A, B, C, D.

b. Ảnh hưởng của nhiệt độ và ẩm độ

Nhiệt độ và ẩm độ là yếu tố quan trọng quyết định đến sự phát triển của nấm. Nhiệt độ thích hợp cho nấm trong phạm vi 25- 30°C. Ẩm độ thích hợp trong phạm vi 80 - 90%. Nếu trên hoặc dưới ngưỡng đó thì nấm phát triển yếu. Nếu nhiệt độ quá cao thì bào tử dễ bị chết, hoặc bào tử không hình thành.

Gần đây Stathers và cs đã cho công bố những kết quả nghiên cứu về ảnh hưởng của nhiệt độ đến sự phát triển của nấm gây bệnh côn trùng. Các tác giả đã tập trung đi sâu nghiên cứu các chủng nấm *B. bassiana*, *B. brongniartii*, *M. anisopliae*, *M. flavoviride*, *Verticillium lecanii*, *P. farinosus* và *P. cicade* và xác định nấm côn trùng thích hợp ở nhiệt độ 28°C.

Hai tác giả Grajek và Sobczak đã làm thí nghiệm bổ sung nước không đều vào môi trường Czapek-Dox và xác định điều kiện ẩm độ thích hợp là 80% cho sự sinh trưởng phát triển và sự hình thành bào tử của nấm *B. bassiana*.

c. Ảnh hưởng của ánh sáng

Nấm côn trùng phát triển tốt trong điều kiện ánh sáng yếu, chỉ cần một lượng ánh sáng nhỏ trong thời gian 6- 8 giờ cũng đủ cho nấm côn trùng phát triển.

d. Ảnh hưởng của độ thoáng khí (hàm lượng ôxi)

Hầu hết các loại nấm côn trùng thuộc loại hiếu khí, khi nấm phát triển chúng cần có hàm lượng ôxy thích hợp trong dụng cụ nhân nuôi cũng như trong cả biên độ rộng của không gian nuôi cấy, nếu phù hợp thì nấm sẽ phát triển tốt.

e. Ảnh hưởng của hàm lượng nước

Nấm côn trùng đòi hỏi hàm lượng nước thích hợp, nếu quá khô hoặc quá ướt thì nấm phát triển đều không tốt, tỷ lệ thích hợp là 30- 50% tùy theo điều kiện ẩm độ của không khí môi trường. Tại An Huy, Trung Quốc, nhà máy sản xuất nấm *Beuveria bassiana* đã kết hợp giữa men chìm với lên men xộp để sản xuất, kết quả thu được thuốc nấm *B. bassiana* cho chất lượng cao.

g. Ảnh hưởng của độ pH

Phạm vi nấm côn trùng sống ở độ pH từ 3,5 - 8,0, song nấm côn trùng ưa môi trường axit và nấm phát triển thích hợp nhất ở độ pH từ 5,5 - 6.

h. Ảnh hưởng của yếu tố vật lý (tia tử ngoại)

Để kích thích sự nảy mầm, phát triển và sự hình thành bào tử của vi nấm, Zhang và cs (Trung Quốc) đã sử dụng tia cực tím để gây đột biến nấm *B. bassiana* và nấm *B. tenella* (cả 2 loài nấm này được

phân lập từ sâu *Holotrichia porallena*), các tác giả đã nhận thấy rằng khả năng hình thành bào tử và khả năng lây nhiễm bệnh của nấm tăng lên. Deng và cs cũng đã dùng tia cực tím để gây đột biến lên nguyên sinh chất của loài nấm *V. lecanii* và đã tách được chủng mới có khả năng hình thành bào tử tăng gấp 10 lần so với chủng đối chứng. Tuy nhiên việc sử dụng tia cực tím đã được nhà khoa học Moore và cs xác định khi chiếu tia có bước sóng khoảng 320 nm thì tia cực tím đó đã ức chế sự nảy mầm của bào tử nấm *M. flavoviride*. Như vậy, việc sử dụng yếu tố vật lý vào nghiên cứu vi nấm diệt côn trùng vẫn còn phải nghiên cứu thêm.

i. Ảnh hưởng của thuốc hóa học

Tại Úc, năm 1999, D.P. Li và Holdom D.G đã nghiên cứu ảnh hưởng của một số loại thuốc hóa học đến sự phát triển và hình thành bào tử nấm *M. anisopliae*. Các tác giả đã tiến hành với 14 loại thuốc khác nhau được dùng trong phòng trừ sâu hại mía, môi trường nuôi cấy nấm là Sabouraud Dextrose Agar (SDA). Khử trùng môi trường ở 121°C trong 30 phút, để nguội 50°C rồi rót thuốc sâu đã lọc và vô trùng vào bình chứa môi trường theo từng nồng độ 0,01; 0,001; 0,0001% chất hoạt động, lắc đều rồi rót vào đĩa petri. Đĩa không có thuốc hóa học làm đối chứng.

Chủng nấm *M. anisopliae*, EF25 nuôi cấy trên môi trường SDA 7 ngày ở nhiệt độ 25°C, sau đó cắt miếng nhỏ hình tròn có đường kính 5 mm rồi chuyển vào giữa đĩa petri có thuốc trừ sâu và nuôi cấy trong 10 ngày. Đo đường kính khuẩn lạc nấm và đếm số bào tử hình thành. Sau khi theo dõi kết quả các tác giả đã rút ra nhận xét:

- Các loại thuốc trừ nấm bệnh cây có ảnh hưởng đến sự phát triển và hình thành bào tử của nấm *M. anisopliae* kể cả ở nồng độ thấp nhất 0,0001%, vì vậy nên tránh sự tiếp xúc giữa thuốc trừ nấm bệnh cây trồng với nấm *M. anisopliae*.

- Nấm *M. anisopliae* không bị ảnh hưởng bởi các thuốc Carbofuran, Aldicarb và 2,4 Damine...

- Nấm *M. anisopliae* có phản ứng khác nhau với các nồng độ của thuốc trừ bệnh, các loại thuốc trừ bệnh cây cũng ảnh hưởng khác nhau lên sự phát triển của nấm *M. anisopliae*.

Độ pH, lượng nước, lượng oxy cũng như một số chất dinh dưỡng khác đều rất cần thiết cho quá trình nuôi cấy vi sinh vật. Với vi nấm diệt côn trùng thì các yếu tố này không những ảnh hưởng rất lớn đến quá trình sinh độc tố, mà còn quyết định đến mức độ gây tử vong cho các côn trùng gây hại cây trồng.

Biết được những yếu tố ảnh hưởng trên, trong quá trình sản xuất các nhà khoa học có thể định hướng nghiên cứu để làm sao thu được lượng sinh khối cao nhất và chất lượng của thuốc nấm tốt nhất.

4.2.3.5. Công nghệ sản xuất các thuốc vi nấm diệt côn trùng

a. Tình hình sản xuất thuốc vi nấm trên thế giới

Từ những năm 80 của thế kỷ trước (1880-1886), Metschnhikov cùng học trò của mình là Isac Craxinstic đã nghiên cứu hàng loạt môi trường nuôi cấy nấm *M. anisopliae* và đã sản xuất thử hàng nghìn kilogam nấm để tách bào tử thuần khiết, sau đó dùng bào tử nấm trộn với đất bột và đem tung ra đồng ruộng, theo các tác giả thì sau 10-14 ngày thí nghiệm cả sâu non và dạng trưởng thành của bọ dâu dài hại củ cải đường chết với tỷ lệ 55- 80%.

Cũng trong thời gian đó ở Mỹ người ta đã sử dụng nấm để phòng trừ sâu hại lúa mì, Năm 1888, Snoi đã tiến hành một loạt thí nghiệm với nấm Muscardin màu trắng có tên khoa học là *Beauveria globurinfera* (ngày nay gọi là *Beauveria bassiana*) để phòng trừ bọ xít hại lúa mì có kết quả khả quan.

Vấn đề được nghiên cứu nhiều nhất là thành phần dinh dưỡng cũng như phương pháp nuôi cấy nấm côn trùng. Để nhận được lượng sinh khối và bào tử nấm, Dangar và cs đã nuôi cấy nấm *Metarhizium anisopliae* trên vài môi trường và đã xác định môi trường Czapek - Dox là phù hợp nhất. Các tác giả cũng đã nhận thấy trong số các loại ngũ cốc sử dụng làm nguồn cacbon thì gạo là phù hợp hơn cả. Basto Cruz và cs khi nuôi nấm *Metarhizium anisopliae* để sản xuất chế phẩm nhận thấy, trên môi trường gạo cho số lượng bào tử hình thành nhiều gấp ba lần và thời gian hình thành bào tử cũng nhanh hơn so với môi trường đậu tương ngâm. Các tác giả đó còn sử

dụng các loại cám, trấu, nước dừa và cùi dừa để sản xuất ra sinh khối nấm *Metarhizium anisopliae*.

Nuôi cấy nấm để sản xuất ra thuốc trừ sâu sinh học còn phụ thuộc rất nhiều vào nguồn gốc chủng mới phân lập và nguyên liệu làm môi trường. Mặc dù thuốc vi nấm được sản xuất từ các nước khác nhau nhưng đều cho hiệu quả diệt côn trùng cao. Hiện nay các nhà khoa học trên thế giới đã phát hiện được hơn 750 loài nấm có khả năng gây bệnh trên côn trùng. Trên cơ sở công nghệ sinh học, nhiều phòng thí nghiệm sinh học trên thế giới đã nghiên cứu và chế tạo ra các loại thuốc trừ sâu có nguồn gốc từ vi nấm. Phổ biến nhất là các dạng thuốc trừ sâu từ nấm trắng *Beauveria bassiana* và nấm xanh *Metarhizium anisopliae*, *Metarhizium flavoviride*. Nấm *Aschersonia* được chế thành thuốc để trừ bọ phấn.

Những loài nấm khác có hoạt tính cao như *Entomophthora*, *Ascomycestes* và *Coelomonomyces* đã được chế thành thuốc để phòng trừ các loài côn trùng miệng chích hút như rệp, bọ xít, rầy xanh, rầy nâu, muỗi. Cho đến nay có một số nước đã sản xuất thành chế phẩm thương mại để sử dụng phòng trừ sâu hại cây trồng.

b. Công nghệ nuôi cấy và sản xuất nấm bạch cương Beauveria bassiana

** Cơ sở khoa học cho việc sản xuất nấm Beauveria bassiana*

– Căn cứ vào đặc điểm chính của nấm *Beauveria bassiana* là khuẩn lạc nấm khi phát triển trên môi trường Sabouraud khoáng chất sau 7 ngày ở nhiệt độ 25°C có đường kính 3,8 - 5,5 cm, dạng xốp, nấm mọc thành đám và sinh ra rất nhiều bào tử dính. Bó cuống bào tử dính có kích thước khoảng 3 - 6 x 2,5 - 4,0 μm , nếu thời gian nuôi cấy kéo dài trên môi trường thì tế bào sinh bào tử trần sẽ mảnh và chúng kết chặt với nhau hơn.

Theo Shimizu và cs thì khi nấm *Beauveria bassiana* phát triển trên môi trường dịch thể, tác giả đã xác định hệ thống enzym của nấm *Beauveria bassiana* có khả năng phân hủy biểu bì và protein của côn trùng.

– Căn cứ vào những yếu tố ảnh hưởng đến sự phát triển của nấm *Beauveria bassiana*:

Trên môi trường thạch, bào tử nấm bắt đầu hình thành sau 4-5 ngày, còn trong môi trường dịch thể chỉ sau 3 ngày nấm sinh bào tử chồi (blastospore).

Bào tử trần nảy mầm ở nhiệt độ thích hợp là 25-28°C, dưới 10 và trên 45°C thì bào tử không nảy mầm.

Độ pH tối ưu cho nấm phát triển 5,5 - 6. Độ pH phù hợp để hình thành bào tử là 6 -7.

Nấm *Beauveria bassiana* sinh trưởng và phát triển tốt trên môi trường có chứa maltoza, sacaroza,... Nguồn nitơ là axit glutamic và axit asparagic, muối oxalic, citric...

– Môi trường thích hợp cho nấm sinh trưởng và phát triển có thành phần tính theo phần trăm:

Cao ngô	2
Glucoza	2,5
Tinh bột	2,5
NaCl	0,5
CaCO ₃	0,2

Sản phẩm của nấm là lipaza, proteaza, ureaza, amylaza, chitinaza, cellulaza và 1, 2- β glucanaza.

* Công nghệ nuôi cấy và sản xuất nấm *B. bassiana*

Lần đầu tiên vào năm 1892, F. Tang đã nuôi cấy nhân tạo nấm bạch cương (*Beauveria bassiana*) rồi dùng bào tử của chúng để thử nghiệm diệt sâu róm (*Porthetria disper*). Sau đó S. A. Forbes (1893) và S. H. Snow (1896) đã sử dụng có kết quả bào tử của nấm *Beauveria densa* để tiêu diệt loại rệp *Blissus leucoplerus*. Trên cơ sở tiến hành các thí nghiệm tại trường Đại học Tổng hợp Kansas (Mỹ) các nhà khoa học đã tổ chức một cơ sở sản xuất để ứng dụng vi nấm trong công tác bảo vệ thực vật. Nấm *Beauveria bassiana* đã được nghiên cứu trong những giai đoạn phát triển từ khuẩn lạc đến sự hình thành bào tử. Nấm *Beauveria bassiana* là nấm côn trùng xuất hiện thường xuyên trong điều kiện tự nhiên và đã được nhiều tác giả

ngiên cứu sử dụng bào tử để lây nhiễm trên một vài nhóm côn trùng khác nhau đạt kết quả tốt.

Việc nuôi cấy nhân tạo nấm bạch cương theo phương pháp lên men chìm được thực hiện lần đầu bởi J. Maran (1948) với loài nấm *Beauveria brumptii* và gần đây công nghệ sản xuất nấm đã phát triển rất mạnh ở một số nước có nền kinh tế phát triển (A. Samsinakova, 1961; D. W. Roberts, W. G. Yendol, 1971).

Cũng có thể nhân nuôi nấm bạch cương trên môi trường đặc, cụ thể như môi trường cám- ngô, môi trường hạt ngô nảy mầm (N. A. Tienga, 1961).

Tại CuBa những năm 1970-2002, Viện Công nghệ sinh học Lahabana đã nghiên cứu công nghệ sản xuất chế phẩm nấm *B. bassiana* và *M. anisopliae* trên môi trường tấm gạo với dung dịch cacbonnat canxi 0,5%, bằng phương pháp luộc tấm gạo rồi sấy khô sau đó nhân giống thuần. Phương pháp này đã đạt kết quả bước đầu trong việc ứng dụng nấm trừ một số sâu hại cây trồng. Hiện nay nền công nghệ sinh học ở CuBa đã phát triển rất nhanh, phương pháp nhân giống nấm trên tấm hoặc gạo đã được phát triển trên quy mô lớn. Phương pháp này đã được thử nghiệm ở Viện Bảo vệ thực vật năm 2002 song kết quả thu được không ổn định, mất nhiều thời gian, tốn công cho luộc và sấy tấm và khi sản xuất trong túi nilon dễ bị tạp nhiễm, chất lượng thấp và không ổn định, vì sản xuất rất phức tạp, năng suất không cao 10^7 - 10^8 bào tử/lgam. So với phương pháp lên men xốp của Viện Bảo vệ thực vật (1996) thì phương pháp của CuBa cho hiệu suất thấp hơn và thời gian nuôi cấy lâu hơn, giá thành đắt hơn mặc dù có cải tiến nhân giống bằng môi trường dịch thể sau đó nuôi cấy nấm trong túi PP, nhưng điều quan trọng nhất vẫn phải đảm bảo là phân loại và xác định đúng chủng giống?, nếu sai chủng nấm sẽ không có hiệu quả. Vì vậy không nên làm lại phương pháp này một khi tác giả đã thử nghiệm.

Đến nay nhiều nước trên thế giới đã sản xuất ra các thuốc nấm diệt côn trùng có khả năng thương mại hóa trên thị trường (bảng 4.11).

Bảng 4.11. Tên thương mại của các chế phẩm nấm côn trùng
(Nguồn Yasuhisa KUNIMI, Nhật Bản 1998)

Tên nấm	Tên thương mại	Hãng sản xuất	Diệt côn trùng	Nước sản xuất và sử dụng
<i>Aschersoia aleyrodis</i>	Aseronija	Russia	Nhện trắng hại cam chanh	Nga
<i>Beauveria bassiana</i>	Boverin	Glavmikrobioprom	Bọ hại khoai tây	Nga
<i>Beauveria bassiana</i>	Biotrol FBB	Nutrillite	Bọ hại khoai tây	Mỹ
<i>Beauveria brogniartii</i>	Engerlingspliz	Andermatt	Bọ cánh cứng	Thụy sỹ
<i>Hirsutella thompsonii</i>	Mycar	Abbott	Nhện hại cam	Mỹ
<i>Metarhizium anisopliae</i>	Biotrol FMA	Nutrillite	Muỗi	Mỹ
<i>Metarhizium anisopliae</i>	Metaquino	Dodecap	Bọ hung	Brazil
<i>Verticillium lecanii</i>	Microgermin	Chr. Hansen	Rệp	Anh
<i>Verticillium lecanii</i>	Vertalec	Tate and Lyle	Rệp	Anh
<i>Verticillium lecanii</i>	Mycotal	Tate and Lyle	Nhện	Anh
<i>Verticillium lecanii</i>	Thriptal	Tate and Lyle	Bọ trĩ	Anh
<i>Nosema locustae</i>	Noloc	Sandoz Inc.	Châu chấu	Mỹ

4.2.3.6. Ứng dụng vi nấm trong phòng trừ sâu hại cây trồng

a. Kết quả lây nhiễm nấm *B. bassiana* trừ sâu hại

Ở Bắc Mỹ người ta đã phát hiện ra 175 loài côn trùng bị nấm *Beauveria bassiana* ký sinh, các nhà khoa học ở Liên Xô cũ đã tìm thấy khoảng 60 loài côn trùng bị nấm *Beauveria bassiana* ký sinh.

Nhiều nhà khoa học trên thế giới đã đưa ra danh sách các loại côn trùng dễ mẫn cảm với nấm bạch cương *Beauveria bassiana* đó là:

Aporia crataegi
Aradua cinnamomeus
Arancina sp
Balaninus glandium
Bembidion sp
Blissus leucopterus
Bothynoderes punctiventris
Byctiscus sp
Cacoccia crataegana
Carpocapsa pomonella
Chrysomela sp
Chysopa vulgaris
Ciouss sp
Cleonus sp
Coccinella septempunctata
Cossus cossus
Crambus bonifatellus
Cyplocephanus sp
Eurydema sp
Eurygaster intercriceps
Galerucinae rufa
Gnorimoschema ocellatellum
Grapholita glytiniporella
Hoplia sp
Ipidae sp
Ixades ricinus
Lama sp
Laspeyresia sp
Leptinotasa decemlineata
Lethrus apierus
Melasoma tremulae
Melolontha sp

Neodirpion serlifer
Notodonta anceps
Nygmia phaeorhoea
Ophonus sp
Otiorrhynchus sp
Phyllobius sp
Phyllotrela sp
Pyrausta nubilalis
Pyrhocoris apterus
Rhizotrogus sp
Scolytus scolytus
Staphulynus sp
Staruopus fagi
Tachina sp
Tenthredinidae
Tetranychus urticae
Zeuzera pyrina...

Trong thí nghiệm sử dụng nấm *Beauveria bassiana* để phòng trừ một số đối tượng sâu hại, các nhà khoa học cho biết nấm có khả năng lây nhiễm trên nhiều loài côn trùng thuộc bộ cánh cứng Coleoptera, bộ cánh nửa Hemiptera, bộ cánh đều Homoptera, bộ cánh thẳng Orthoptera, bộ cánh bằng Isoptera; đặc biệt là trên rất nhiều sâu non thuộc bộ cánh vẩy Lepidoptera, nhện Acarina và nhiều loài sâu hại khác... Ở mỗi bộ côn trùng khác nhau, hoạt tính lây nhiễm của nấm *Beauveria* cũng khác nhau vì chúng thường đòi hỏi những điều kiện có ảnh hưởng đến sự phát triển của bào tử: ẩm độ, nhiệt độ, tỷ lệ ánh sáng khác nhau, Nhiệt độ tối thiểu đối với nấm *Beauveria bassiana* để có thể lây nhiễm trên côn trùng là từ 3-8°C. Bào tử lây nhiễm trên bề mặt côn trùng, ban đầu bào tử nảy mầm và phát triển đâm xuyên vào cơ thể côn trùng và phát sinh thành sợi, sau đó các sợi nấm *Beauveria bassiana* sinh ra độc tố Beauvericin để phá hủy các tế bào bạch huyết của côn trùng, cuối cùng làm cho côn trùng chết. Cơ sở này giúp cho các nhà khoa học

có thể nuôi cấy và sản xuất nấm *Beauveria bassiana* trên môi trường lỏng hay môi trường xốp để ứng dụng phòng trừ các loại sâu hại cây trồng.

b. Kết quả lây nhiễm và ứng dụng nấm M. anisopliae trừ sâu hại

Tại Úc năm 1995, Richard Miller đã tách được vài trăm chủng nấm *M. anisopliae* từ một nhóm côn trùng sống trong đất dưới gốc mía. Trong số 95 chủng thử nghiệm trực tiếp, tác giả chỉ chọn được hai chủng có khả năng diệt sâu là *Lepidota frenchi* và *L. consobrina* hại rễ mía và một chủng diệt sâu *Antitrogus parvulus* với LD₅₀ là $1-5 \times 10^4$ bào tử/gam. Hanel đã chọn từ 22 chủng vi nấm, chỉ có một chủng *M. anisopliae* là phù hợp cho phương pháp phòng trừ sinh học đối với loài mối *Masutitermes exitiosus* (Hill).

Nhiều loài nấm trong chi *Metarhizium* có khả năng diệt côn trùng thuộc họ Elateridae và Curculionidae thuộc bộ cánh cứng Coleoptera, ấu trùng muỗi *Aedes aegypti*, *Anopheles stephensi*, *Clex pipiens* thuộc bộ hai cánh Diptera, bọ xít đen hại lúa *Scotinophora coarctata* thuộc bộ cánh nửa Hemiptera, châu chấu sống lưng vàng *Patanga sucincta*, châu chấu mía *Hieroglyphus tonkinensis* thuộc bộ cánh thẳng Orthoptera, mối hại đất *Nasutitermes exitiosus* thuộc bộ cánh bằng Isoptera. Nấm *M. anisopliae* là chủng gây bệnh mạnh nhất trên côn trùng thuộc bộ cánh cứng Coleoptera, có hơn 240 loài côn trùng thuộc họ Elateridae và Curculionidae bị nhiễm bệnh bởi nấm *M. anisopliae*. Loài nấm này phân bố rộng rãi trong tự nhiên, và đã có rất nhiều nghiên cứu về sự phân bố của nấm *M. anisopliae* như ở Nepal, Newzealand, Newcaledonia, Bahamat, Mỹ, Canada, Bắc Ireland, Italia, Thổ Nhĩ Kỳ, Liên Xô cũ (IMI).

c. Kết quả lây nhiễm và ứng dụng nấm B. bassiana và M. anisopliae trừ sâu hại

Cho tới nay các nhà khoa học trên thế giới vẫn chưa xác định được một loài vi nấm nào khác có hiệu lực cao và phổ tác dụng rộng rãi như hai chủng *M. anisopliae* và *B. bassiana*. Vì vậy, hai chủng nấm trên đã được các nhà khoa học ở nhiều nước nghiên

cứu khá sâu và đã sản xuất thành công ra các chế phẩm thương mại để ứng dụng rộng rãi trong phòng trừ các loài sâu hại cây trồng nông, lâm nghiệp. Ngoài phương pháp nuôi cấy trên môi trường nhân tạo với thành phần cacbon, nitơ khác nhau để tuyển chọn chủng giống, các nhà khoa học còn nâng cao hoạt tính của nấm bằng các phương pháp vật lý, hóa học, hóa sinh và di truyền học. Nhiều tác giả đã sử dụng tia cực tím có cường độ và thời gian khác nhau để tuyển chọn và làm tăng hoạt tính diệt côn trùng của nấm *M. anisopliae* và *B. bassiana*.

Nấm *Metarhizium anisopliae* cũng giống với nấm *Beauveria bassiana*, chúng nằm trong nhóm nấm bất toàn Deuteromycetes và có bào tử phát triển mạnh trên môi trường thạch màu xanh tối với kích thước 5 - 8 μm lúc đầu màu trắng - vàng, sau chuyển dần sang màu xanh. Nấm *Metarhizium anisopliae* có khả năng lây nhiễm trên nhiều bộ côn trùng, cũng như nấm *Beauveria bassiana* chúng phát triển ở phạm vi nhiệt độ từ 10°C trở lên, vì vậy nấm *Metarhizium* có khả năng diệt được rất nhiều loài côn trùng. Thực tế chúng đã diệt nhiều loài côn trùng hơn cả loài nấm *Beauveria bassiana*. Những chủng nấm *Beauveria bassiana* và *Metarhizium anisopliae* được sử dụng đều đã được phân lập từ đất hoặc từ xác sâu hại ở nhiều địa phương khác nhau. Nấm *Beauveria bassiana* và *Metarhizium anisopliae* có thể sử dụng để phòng trừ sâu hại cây trồng theo phương pháp phòng trừ sinh học riêng và nấm *Metarhizium anisopliae* thường được sử dụng để phòng trừ các loại sâu hại cây trồng thuộc bộ cánh cứng.

Ở Úc, các nhà khoa học đã sử dụng nấm *Beauveria bassiana* và *Metarhizium anisopliae* để phòng trừ bọ hung hại mía và bọ hung hại củ cải đường đạt hiệu quả tốt bởi vì những loài bọ hung trên rất khó phòng trừ bằng thuốc hóa học. Các nhà khoa học còn áp dụng nấm *Beauveria bassiana* và *Metarhizium anisopliae* ở nồng độ 8×10^7 bào tử/ml để phòng trừ ruồi hại rễ bắp cải. Thí nghiệm trên đồng ruộng được tiến hành với 15 ml dịch nấm trên 1 cây, kết quả cho thấy cả hai loài nấm *Beauveria bassiana* và *Metarhizium anisopliae* đều có hiệu quả cao với ruồi hại bắp cải, thuốc nấm đã làm giảm mật độ của sâu và nặng khoảng 70%.

Tại Nhật Bản năm 1988 một số nhà khoa học đã phòng trừ ròi hại rễ củ cải bằng nấm *Beauveria* và *Metarhizium*. Thí nghiệm được tiến hành như sau: Dùng 1 bó củ cải có 10 trứng ròi hại rễ để trong 1 lọ. Trứng đã được sắp xếp quanh củ cải với mỗi trứng đặt cách nhau 3 cm. Nồng độ đưa vào lọ với bào tử nấm *Beauveria bassiana* và *Metarhizium anisopliae* đã được xử lý cùng nhau với mỗi loại nấm bằng 1/2 nồng độ thí nghiệm là 1×10^9 bào tử/ml (nấm phát triển trên môi trường PDA) với 5 lần nhắc lại, kết quả cho hiệu lực rất cao trên 75% (trong điều kiện nhiệt độ 23°C và ẩm độ không khí trên 70%) sau 10 ngày thí nghiệm.

Ngoài ra còn có nhiều công trình nghiên cứu và ứng dụng các chế phẩm vi nấm diệt côn trùng từ những năm 1990 trở lại đây. Nhiều tác giả đã tập trung nghiên cứu thử nghiệm để phòng trừ côn trùng ở trong đất bằng hai chủng nấm chính là *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill và *Metarhizium anisopliae* (Metsch) Sorokin đạt hiệu quả cao. Lobo Lima đã tiến hành thí nghiệm thử sinh học với hai chủng *M. anisopliae* và *B. bassiana* để phòng trừ dạng trưởng thành của bọ hà hại khoai tây (*Cylas puncticollis*). Moorhouse và cs đã sử dụng bào tử thuần khiết của nấm *M. anisopliae* để phòng trừ ấu trùng loài *Ostiorhynchus sulcatus* trong điều kiện nhà kính, kết quả cho thấy tỷ lệ diệt sâu cao nhất là 89% đến 97% và tỷ lệ sâu chết trung bình là 79% khi nồng độ bào tử nấm là 2×10^6 - 5×10^6 bào tử trên đơn vị thí nghiệm.

Ở Trung Quốc, các tác giả Am và Wu đã sử dụng chủng nấm *Paecilomyces farinosus* và *B. bassiana* để phòng trừ sâu róm thông (*Dendrolimus tabulaformis*) qua đông đạt hiệu quả cao. Milner đã lựa chọn những chủng *M. anisopliae* từ côn trùng loài *Antitrogus* sp. và *Lepidiota* sp. sống trong đất với liều lượng LC_{50} của hai chủng nấm là 1×10^6 - 5×10^6 bào tử/gam để phòng trừ những côn trùng hại trong đất.

4.2.4. Kết quả ứng dụng các thuốc trừ sâu vi sinh vật để phòng trừ sâu hại cây trồng

Vào những năm 70 của thế kỷ thứ XX, Liên Xô (cũ) là nước có số lượng công trình nhiều nhất nghiên cứu ứng dụng chế phẩm vi

sinh vật diệt côn trùng.

Qua các phần đã trình bày ở trên chúng ta thấy rất nhiều vi sinh vật có tác dụng diệt sâu hại một cách chọn lọc, hơn nữa lại không làm ô nhiễm môi trường sống, không gây nên những ảnh hưởng xấu đối với người, gia súc, gia cầm cũng như đối với cây trồng, không làm mất đi những nguồn tài nguyên sinh vật có ích; sử dụng hợp lý, đúng phương pháp sẽ mang lại hiệu quả cao, lâu dài và bền vững. Vì vậy càng ngày người ta càng nghiên cứu để tìm thêm được nhiều loại sinh vật có tác dụng quý giá và các nhà máy chuyên sản xuất các chế phẩm vi sinh vật diệt côn trùng đã được xây dựng ở rất nhiều nước trên thế giới. Cho đến nay những nước có nền kinh tế tiên tiến đã sử dụng rộng rãi các chế phẩm vi sinh vật trong nông nghiệp và lâm nghiệp để phòng trừ các loại sâu hại cây trồng. Trong số những chế phẩm vi sinh vật thì Bt là chế phẩm được ứng dụng rộng rãi nhất.

Nhiều nước đã sản xuất các chế phẩm Bt có thể dùng để xuất khẩu sang các nước khác như là xuất khẩu các loại thuốc trừ sâu hóa học. Tùy từng nhãn hiệu chế phẩm mà chúng có thể được ứng dụng để phòng trừ với từng đối tượng sâu hại khác nhau. Ví dụ như chế phẩm vi khuẩn *Bacillus thuringiensis* được sản xuất ở Mỹ để trừ các loại sâu hại rau như sâu tơ, sâu khoang, sâu xanh bướm trắng...

Cùng chủng Bt nhưng mỗi nước lại có một tên thương mại khác ví dụ:

Dendrobacillin	Nhà máy sản xuất thuốc ở Liên Xô cũ.
Entobacterin	Nhà máy sản xuất thuốc ở Liên Xô cũ.
Biospore	Nhà máy sản xuất Hoechst (Tây Đức).

Để kiểm tra số lượng bào tử của thuốc *Bacillus thuringiensis* người ta có thể pha loãng thuốc rồi cấy vào các hộp petri có chứa môi trường [(thạch - nước thịt - pepton, thạch - nước thịt - pepton + thạch mạch nha (50+50v/v)] hay các loại môi trường dinh dưỡng thông thường khác. Đếm số lượng khuẩn lạc sau 1 - 2 ngày nuôi cấy và tính ra số lượng bào tử trong 1 g chế phẩm.

Tuy nhiên các nhà khoa học chưa thể yên tâm vào kết quả kiểm tra số lượng bào tử mà họ còn phải đánh giá chất lượng của từng sản phẩm. Theo quy ước của Hội nghị Quốc tế về bệnh lý học côn trùng

năm 1966 thì chế phẩm được lấy làm tiêu chuẩn để đánh giá chất lượng là chế phẩm E - 61 của Viện Pasteur (Pháp), cứ mỗi miligam của chế phẩm được xem như là 16.000 đơn vị quốc tế (16.000 IU).

Năm 1973 Galowalia S. M. M và cs đã đưa ra phương pháp nhỏ giọt trên các phiến lá hình tam giác để xác định độc tính của thuốc Bt và sâu (chỉ thị là sâu xanh bướm trắng *Pieris brassicae*). Nước Pháp cũng sử dụng sâu này để kiểm tra chất lượng của thuốc, Mỹ sử dụng sâu đo hại su hào *Trichoplusia ni*, Trung Quốc sử dụng sâu tơ *Plutella xylostella* để kiểm tra chất lượng của thuốc vi sinh vật thông qua việc thử lại trên các loài sâu hại nói trên.

Thực tế thì việc ứng dụng Bt trừ sâu hại đã được ứng dụng rộng rãi trên nhiều đối tượng sâu hại cây rau, đậu, cây rừng... Hầu hết các thí nghiệm đặt ra đều đã đạt kết quả cao từ 70 - 90% sau 5 - 7 ngày thử nghiệm.

Ngoài ra việc ứng dụng thuốc virus trừ sâu hại cũng đã đạt nhiều thành tựu đáng khích lệ nhất là với sâu hại rau, đậu, quả... ở nhiều nước trên thế giới tập trung nhiều nhất vẫn là NPV. Ha, NPVSL, GV. Pr, GV. Px... (Ignoffo C.M, 1990).

Thuốc vi nấm *Beauveria bassiana* và *Metarhizium anisopliae* cũng đã được nhiều nước trên thế giới như Mỹ, Canada, Anh, Úc, Philipin và Trung Quốc... Ứng dụng trên nhiều loại cây trồng để phòng trừ nhiều đối tượng sâu hại cây trồng thuộc bộ cánh vẩy Lepidoptera, bộ cánh cứng Coleoptera, bộ cánh thẳng Orthoptera, bộ cánh bằng Isoptera... đạt kết quả tốt, đặc biệt là những loài sâu hại cây rừng như sâu róm thông, bọ hại dừa, châu chấu hại luồng, tre mía... Ở những nơi xa mạc và rừng núi, mối đất hại cây ăn quả, sùng hại mía... (Rombach và Aguda 1988, Milner 1991).

Chương 5

THÀNH TỰU VỀ CÁC TÁC NHÂN SINH HỌC KHÁC TRONG PHÒNG TRỪ DỊCH HẠI CÂY TRỒNG

5.1. Thành tựu về tuyến trùng trừ sâu hại

5.1.1. Giới thiệu tuyến trùng ký sinh côn trùng hại cây

Tuyến trùng ký sinh côn trùng (Entomopathogenic nematodes viết tắt là EPN) đã được nhiều nước trên thế giới nghiên cứu và phát triển thành công nghệ để sản xuất ra chế phẩm sinh học phòng trừ sâu hại cây trồng. Tuyến trùng ký sinh gây bệnh côn trùng thuộc hai giống *Steinernema* và *Heterorhabditis*. Chúng cộng sinh với vi khuẩn giống *Xenorhabdus* (ở *Steinernema*) và *Photorhabdus* (ở *Heterorhabditis*) và chuyên ký sinh côn trùng hại sống trong đất hoặc những côn trùng phải trải qua một phần vòng đời hay một thời gian nhất định trong môi trường sinh thái đất.

Khi tiếp cận với sâu chủ, tuyến trùng thường xâm nhập qua miệng, hậu môn, lỗ thở, tuyến tơ hoặc những nơi có lớp cutin mỏng.

Khi xâm nhập vào trong cơ thể sâu chủ, tuyến trùng giải phóng ra vi khuẩn cộng sinh. Những vi khuẩn này được nhân lên nhanh chóng và chính những chất độc của chúng là nguyên nhân gây chết côn trùng trong vòng 48 giờ.

* Ý nghĩa của tuyến trùng ký sinh côn trùng là

- Có khả năng ký sinh và gây bệnh cho nhiều loài côn trùng khác nhau.
- Sâu hại không bị kháng tuyến trùng.

- Có khả năng nhân sinh khối lớn bằng công nghệ nhân nuôi *in vivo* và *in vitro*.
- Không độc hại với người, gia súc, an toàn với các sinh vật có ích và môi trường.
- Có thể phối hợp với các loại thuốc khác hoặc phân bón trong tự nhiên.
- Tồn tại lâu trong môi trường đất và nhân nhanh số lượng.
- Có thể tuyển chọn di truyền để tạo ra các tổ hợp tuyến trùng đạt tiêu chuẩn mong muốn.

5.1.2. Một số đặc điểm của tuyến trùng ký sinh côn trùng

Vòng đời của tuyến trùng dài từ 10 đến 20 ngày tùy theo điều kiện ôn ẩm độ. Sau đó hàng trăm ngàn ấu trùng giải phóng khỏi xác côn trùng và tự đi tìm sâu chủ khác (Poiner, 1979).

Tuyến trùng ký sinh côn trùng EPN được tìm thấy ở các vùng sinh thái đa dạng như đất trồng rừng, bãi cỏ, đất trống, bãi biển. Tuyến trùng ký sinh côn trùng EPN có ưu thế trong việc phòng trừ sâu hại bởi vì chúng an toàn với phần lớn các cơ thể động vật và môi trường, dễ dàng nhân nuôi trong *in vitro* và thích ứng với nhiều loại thuốc trừ sâu hóa học (Hommilick et al, 1996).

Tuyến trùng ký sinh côn trùng EPN có phổ sâu chủ rộng, khả năng tìm kiếm sâu chủ và khả năng sinh trưởng rất mạnh (Kaya và Gaugler, 1993). Chính vì vậy EPN đã được sản xuất rất nhiều và đã được thương mại hóa để sử dụng rộng rãi như những chế phẩm sinh học khác trong phòng trừ nhiều loại sâu bệnh hại cây trồng như ở Úc, châu Âu, Mỹ và Trung Quốc (Beding, 1990).

Để phân loại EPN, ngoài các kỹ thuật thông thường đã sử dụng như kính hiển vi điện tử quét (SEM), các nhà khoa học còn có thể phân biệt được các cấu trúc bên ngoài của vùng đầu, vùng bên và cấu trúc gai sinh dục của tuyến trùng.

Các kỹ thuật phân tử ADN (bao gồm PCR, RFLP và sequencing) cũng đã được sử dụng để phân tích các đặc trưng DNA của các loài tuyến trùng EPN.

5.1.3. Kết quả nghiên cứu và sử dụng tuyến trùng

Theo Hara và cs, 1991, thì kết quả điều tra thu thập tuyến trùng ký sinh côn trùng ở đảo Hanoi là 6,8%, ở miền Bắc Ailen là 3,8% (Blackshaw, 1988), ở Italia –5% (Ehlers và cs, 1991), ở Ai Cập 9,5%, ở Hàn Quốc 4,6%, Bồ Đào Nha 3,9%, Thụy Điển 25%.... Tỷ lệ tuyến trùng ký sinh côn trùng EPN thu được cao nhất là ở Anh 48,6%. Sự khác biệt trên chính là do thời gian lấy mẫu cũng như phương pháp thu mẫu hoặc do sự miễn cảm của sâu chủ.

Tại Bỉ, năm 1997, Miduturi đã phân lập được được tuyến trùng ký sinh côn trùng *Steinernema eliae*, *S. afinis* và *Heterorhabditis* bằng phương pháp bẫy mồi *Galleria*. Spiridonov và Moens (1999) đã phân lập được *S. kraussei* bằng phương pháp tách tuyến trùng từ mẫu đất. Năm 2002 Ansari và đồng nghiệp cũng phân lập được tuyến trùng ký sinh côn trùng *H. bacteriophora* từ sâu chủ tự nhiên *Hoplia philanthus*.

Năm 2000, Sturhan và Mracek đã so sánh 2 phương pháp bẫy mồi và tách trực tiếp. Thông qua hai phương pháp này các tác giả đã thu được 5 loài tuyến trùng EPN. Một số nghiên cứu của Vanninen và cs năm 1989 cho biết giống tuyến trùng *Steinernema* thường phân bố ở những vùng ôn đới, còn giống *Heterorhabditis* lại phân bố ở các vùng nhiệt đới và cả vùng hàn đới như Ailen, Scotlen và Wale (Vanninen 1994).

Ở Mỹ, các nhà khoa học đã phát hiện thấy khoảng gần 3000 loài tuyến trùng ăn côn trùng, trong số đó có hai loài tuyến trùng *Neoplectana* và *Herterorhabditis* là có hiệu quả trong sản xuất để tạo ra chế phẩm tuyến trùng phòng trừ 30 loài sâu hại. Hiện nay nước Mỹ có 4 hãng đã và đang sản xuất thành dạng thuốc trừ sâu thương phẩm các loài tuyến trùng ăn côn trùng hại và đã bán rộng rãi trên thị trường thế giới. Ngoài Mỹ, nhiều nước tiên tiến như Pháp, Anh, Canada, Trung Quốc, Ấn Độ... cũng thành công về công nghệ sản xuất tuyến trùng trừ sâu hại cây trồng, ngay cả những nước trong khu vực Đông Nam Á như Thái Lan, Xingapo, Malaysia... cũng phát triển công nghệ sản xuất EPN (nguồn Nguyễn Ngọc Châu).

5.2. Thành tựu về các chất có hoạt tính sinh học trừ sâu hại

Việc nghiên cứu và sử dụng các chất có hoạt tính sinh học được phát triển rất nhanh chóng trong hơn 3 thập kỷ qua. Hàng chục ngàn chất pheromon sinh dục, chất hoocmôn gây kích thích và ức chế sự tăng trưởng và phát triển của sâu hại, các chất có tác động dẫn dụ ăn, gây ngán ăn, xua đuổi... đã được nghiên cứu tổng hợp, thử nghiệm và từ đó nhiều chất đã được sản xuất và sử dụng rộng rãi trong phòng trừ sâu hại theo hướng sinh học- tổng hợp.

Hiện nay trên thế giới, người ta đã điều tra thu thập và xác nhận hơn 700 loài côn trùng có quan hệ pheromon sinh dục và các nhà khoa học đã và đang sử dụng pheromon của hơn 50 loài sâu hại nguy hiểm để nghiên cứu phòng trừ tổng hợp chúng. Nhiều tác giả đã sản xuất ra hàng loạt các bẫy pheromon để ứng dụng trên diện tích lớn hàng trăm ngàn hecta cây trồng nhằm dự tính, dự báo sự phát sinh, phát triển của sâu hại. Thu bắt hàng loạt con đực để thay đổi mối quan hệ sinh sản trong thành phần tự nhiên, gây vô sinh các con đực ngay trong các điều kiện đồng ruộng để vô hiệu hóa sự giao phối đồng thời đánh lạc hướng những con đực nhằm ngăn ngừa quá trình giao phối trong quần thể tự nhiên.

Bên cạnh pheromon người ta cũng đã sản xuất ra các antipheromon tác động, các chất này đã làm mất đi hoạt tính của các pheromon sinh dục tự nhiên, gây ảnh hưởng rất nhanh nhạy đến hệ thống thần kinh của các con đực và dẫn tới giảm tần số giao phối và số lượng của các thế hệ sau.

Các nhà khoa học cũng đã sản ra xuất hàng loạt chất hoocmon để đưa vào các chương trình phòng trừ tổng hợp nhiều loài sâu hại một khi chúng phát sinh thành dịch lớn. Những chất hoocmon được nghiên cứu và sản xuất bao gồm các chất tương đồng tổng hợp gây kích thích phát triển nhanh, gây dị tật, làm chóng già, sức đẻ kém, ngủ nghỉ bất bình thường, nằm ì không hoạt động; các chất gây ức chế quá trình sinh tổng hợp, các chất gây đình chỉ sự phân bào, gây u và các chất gây ngán ăn, các chất xua đuổi côn trùng... Nếu năm 1971 các nhà khoa học mới chỉ biết khoảng 500 chất juvenoid thì chỉ trong 15 năm sau vào năm 1986, trên thế giới người ta đã tổng hợp được hơn 10.000 juvenoid tức là gấp 20 lần, đến nay tổng hợp được

25.000 juvenoid (gấp 50 lần).

Những tiến bộ xuất sắc trong nghiên cứu hoocmon thần kinh (neuronhoocmon) của côn trùng trong những năm gần đây đã đẩy nhanh tốc độ sản xuất các thuốc trừ sâu thế hệ mới có hiệu quả kinh tế cao và tránh được ô nhiễm môi trường.

Sự tìm kiếm các antijjuvenoid đã dẫn tới sự phát minh ra các chất Precoxen I, Precoxen II và F. Mev., hai hợp chất Precoxen đã được các nhà khoa học tách ra từ cây cứt lợn *Ageratum houstonianum*.

Trên thế giới các nhà khoa học đã phát minh ra chất Pyperronyl Butoxid gây ức chế các enzym ôxy hóa và chất kích thích sinh trưởng Dimilin gây ức chế quá trình sinh tổng hợp Chitin. Hiện nay chất kích thích sinh trưởng Dimilin đang được các nước Đông Âu sử dụng rộng rãi với các loài sâu hại kháng thuốc hóa học.

Năm 1986- 1988 tại Bungaria, Videnova, Velichcova và Phạm Thị Thùy đã nghiên cứu chất điều tiết sinh trưởng Dimilin và Insecta hoocmon trong việc hỗn hợp với thuốc trừ sâu Bt và virus sâu xanh để phòng trừ sâu xanh *Mamestra brassicae* hại bắp cải và với virus sâu hại củ cải đường để phòng trừ sâu hại củ cải đường *Phytometra gamma*. Các tác giả cho biết khi phối trộn hỗn hợp Dimilin với thuốc trừ sâu Bt và virus sâu xanh thì hiệu quả phòng trừ sâu xanh rất cao trên cơ sở đồng tác động của chất Dimilin.

Các nhà khoa học trên thế giới còn xác định được chất hoocmon Adipokinetin và phát minh ra những hợp chất Decapeptid, proctolin, octopamin mở ra kỷ nguyên mới để sản xuất ra các "thuốc trừ sâu thuộc thế hệ thứ 4". Những thuốc này giữ được tác động chọn lọc đặc trưng của các hoocmon thần kinh và giữ vai trò quan trọng đặc biệt trong hệ thống tổng hợp bảo vệ cây trồng.

5.3. Thành tựu về các loài vi tảo trừ sâu hại cây trồng

Những năm gần đây các nhà khoa học Nhật Bản đã tách được các hợp chất từ vi tảo biển, trên cơ sở đó họ đã tổng hợp ra hơn 300 chất tương đồng ngày nay đang được dùng để phòng trừ nhiều loài sâu hại cây trồng, thậm chí cả tiêu diệt cỏ dại.

- Vi tảo *Anabaena variabilis* và *Platinonas viridis* có khả năng phòng trừ sâu bướm trắng Mỹ đạt hiệu quả 88,9 - 91,1%, vi tảo *Mycrocystis aeruginosa* làm chất gây ngán ăn đối với bọ *Colorado* gây hại nguy hiểm trên khoai tây.

- Vi tảo *Merisneopedia* sp và *M. aeruginosa* có khả năng phòng trừ sâu kéo màng quấn tổ các vườn cây ăn quả và cây rừng.

- Vi tảo lục *Plectonema borjanum* có tác dụng kích thích tác nhân gây bệnh đường ruột *Salmonella enteridis* phát triển mạnh để chúng dễ dàng tạo thành dịch ở khoang bụng làm cho chuột bị chết hàng loạt.

Bằng thực nghiệm, các nhà khoa học đã khẳng định các thuốc trừ sâu được chế từ vi tảo đều cho hiệu quả kinh tế cao và cũng không gây độc hại đối với người và gia súc, cũng như với môi trường.

5.4. Thành tựu về các thuốc sinh học trừ bệnh hại cây trồng

Việc nghiên cứu sử dụng kháng sinh trong BVTV mới chỉ bắt đầu từ những năm 60 của thế kỷ thứ XX, đây là hướng tương đối quan trọng trong việc phòng trừ các vi sinh vật gây bệnh hại cây trồng. Chất kháng sinh là những chất có tính chống lại các vi sinh vật hại, chúng có hoạt tính sinh lý cao có tác động chọn lọc và được các vi sinh vật tiết ra đưa vào môi trường sống trong mối quan hệ đối kháng với các sinh vật khác, trong đó vi khuẩn, vi nấm, xạ khuẩn là những vi sinh vật sinh ra nhiều chất kháng sinh nhất. Chất kháng sinh đầu tiên được mọi người biết đến là *Penicilin* và *Streptomycin*, cho đến nay nhiều nhà khoa học đã phát hiện ra 2000 chất kháng sinh dùng chủ yếu trong y học, còn trong BVTV việc sử dụng kháng sinh mới chỉ ở mức thăm dò.

Công nghệ sản xuất các thuốc kháng sinh trừ bệnh hại cây đã được nghiên cứu và triển khai ở nhiều nước trên thế giới. Nhìn chung các thuốc kháng sinh trừ bệnh cây cũng đều không độc đối với cây trồng và nhanh chóng phân hủy, không gây nhiễm độc cho môi trường.

So với các thuốc sinh học trừ sâu thì tỷ lệ nghiên cứu về công nghệ sản xuất và sử dụng các thuốc sinh học trừ bệnh cây còn quá ít

và như vậy so với khối lượng chung thì tỷ lệ này còn rất thấp. Mặc dù vậy cũng đã có những loài nấm đối kháng được sản xuất và sử dụng rộng rãi ở các nước phát triển trên thế giới.

Thuốc *Trichodermin* được sản xuất từ nấm đối kháng *Trichoderma* đã có tác dụng khá tốt làm giảm 3 - 4 lần một số bệnh hại cây, được sử dụng trong các vùng trồng cây công nghiệp, cây rau, trong các vườn ươm, nhà kính để trừ bệnh thối rễ trong đất, bệnh lở cổ rễ và ngăn ngừa các bệnh hại phát lên lá cây.

Trong tự nhiên các nhà khoa học ở nhiều nước trên thế giới đã gặp rất nhiều loài nấm đối kháng khác nhau với nấm gây bệnh hại cây trồng, song nấm đối kháng *Trichoderma* là dễ gặp hơn cả vì nấm này tương đối phổ biến trong tự nhiên. Nấm đối kháng *Trichoderma* đã được nghiên cứu nhiều ở các nước Liên Xô cũ, Bungaria, Tiệp Khắc cũ, Hungaria, Anh, Pháp, Mỹ, Nhật Bản, Philippin...

Những loài nấm *Trichoderma* được nhiều nước nghiên cứu nhiều hơn cả đó là các loài: *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma hamatum*, *Trichoderma viride*... Các loài nấm trên có thể kìm hãm nấm gây bệnh hại cây trồng thông qua tiết độc tố, chất kháng sinh và enzym đặc trưng, thậm chí chúng có thể ký sinh lên các nấm gây bệnh hại cây trồng. Năm 1987 tại Liên Xô cũ, Dunin và Philipob thông báo đã sử dụng chế phẩm nấm đối kháng *Trichoderma lignorum* trừ bệnh héo do nấm *Verticillium* sp gây hại khoảng 3000 ha bông. Việc sử dụng nấm *Trichoderma* đã làm giảm 20% tỷ lệ bệnh và làm tăng năng suất từ 3 - 8 tạ bông/ha. Thực tế cũng có một số chế phẩm nấm đối kháng *Trichoderma* được thương mại mang tên *Trichodermin* song có thể việc ứng dụng đạt hiệu quả chưa cao, nên cho đến nay thuốc vẫn chưa được sử dụng rộng rãi. Việc thử nghiệm nấm *Trichoderma* mới chỉ trên diện hẹp, cần phải nghiên cứu thêm về cơ chế tác động của nấm đối kháng nấm hoặc nấm đối kháng ký sinh nấm hại cây trồng.

Cơ chế đối kháng của nấm đã được nhà khoa học Weindling nghiên cứu và mô tả vào năm 1932: Đầu tiên sợi nấm *Trichoderma* vây quanh nấm gây bệnh hại cây, sau đó chúng phát triển và quần xung quanh nấm gây bệnh, chúng phá hủy các chất trong nấm gây bệnh cuối cùng làm thủng màng ngoài của nấm gây bệnh rồi đâm

xuyên qua sợi nấm gây bệnh ra ngoài. Khi nấm *Trichoderma* đối kháng với bệnh hại cây trồng, nấm này đã tiết ra các độc tố *Trichodermin*, các enzym và các chất kháng sinh, những chất này đối kháng lại các vi sinh vật gây bệnh hại cây trồng làm kìm hãm sự sinh trưởng và phát triển của các loài nấm gây bệnh hại trên cây trồng.

Các loài nấm đối kháng *Trichoderma* có thể đối kháng với nhiều loài nấm gây bệnh hại cho cây sống trong đất như *Fusarium*, *Pythium*, *Rhizoctonia*, *Sclerotinia*, *Alternaria*, *Botrytis*,...

5.5. Thành tựu về các thuốc sinh học trừ cỏ dại

Đến nay trên thế giới đã có hơn 50 loài cỏ dại nguy hiểm được phòng trừ bằng các chế phẩm sinh học. Nếu ở cuối những năm 1960 người ta mới có công nghệ sản xuất côn trùng thì hiện nay các nhà khoa học đã nghiên cứu được các công nghệ sản xuất ra nấm, virus, tuyến trùng để trừ cỏ dại. Vi sinh vật là thành phần lý tưởng có chất lượng cao trong việc phòng trừ cỏ dại vì chúng có hai ưu điểm là chuyên tính và có thể sử dụng bằng cách phun vào các giai đoạn sinh trưởng dễ bị tổn thương nhất của cây cỏ. Hiện nay người ta đã có công nghệ sản xuất các thuốc trừ cỏ *Microherbicide* từ những nguyên liệu bằng bào tử như thuốc Colligo từ nấm *Collectotricum gleosporioides*, người ta sử dụng để phun trừ cỏ dại trong các ruộng lúa nước đạt được kết quả. Từ các nấm *Fusarium*, *Phytophthora*, *Alternaria*... các nhà khoa học cũng đã sản xuất ra các thuốc *Microherbicide* để tiêu diệt cỏ dại ngay khi hạt cỏ còn nằm trong đất hoặc ở các mầm cỏ mới nhú lên.

Việc sản xuất côn trùng chuyên tính để trừ cỏ dại đã được nhiều nước phát triển trên thế giới nghiên cứu thông qua các công nghệ sản xuất ngày một hoàn thiện hơn.

Qua thực tế sử dụng các thuốc trừ cỏ sinh học và côn trùng được sản xuất ra, các nhà khoa học đã khẳng định là chi phí cho những phương pháp này rẻ hơn nhiều lần so với sử dụng thuốc hóa học và biện pháp canh tác. Việc dùng côn trùng để trừ cỏ ban và các loại cỏ khác ở bang California Mỹ năm 1973 đã đạt được hiệu quả kinh tế cao với tổng thu nhập là 66,2 triệu đôla Mỹ.

Hàng loạt côn trùng chuyên tính để trừ cỏ dại đã được nhiều nước sản xuất dạng công nghiệp và xuất khẩu vào các nước như Úc, Canada, Newzealand, Nam Mỹ và châu Phi để diệt cỏ dại, vì vậy hiện nay ở những nước trên đã chấm dứt được nạn “cháy xanh” cỏ dại.

5.6. Thành tựu về các thuốc sinh học từ nấm và Bt trừ tuyến trùng hại cây trồng

Theo nghiên cứu của các nhà khoa học thì nấm *Paecilomyces lilaceae* có khả năng làm hại các nang của tuyến trùng (nematoda) hại cây và ngăn cản sự phát triển của chúng.

Philippine đã sản xuất ra Biccon (là một loại thuốc chống tuyến trùng), với số lượng nhiều và đã được xuất khẩu và bán rộng rãi ra thị trường ở nhiều nước Đông Nam Á để trừ tuyến trùng hại cây trồng.

Hãng Mycogen cũng đã phân lập được chủng Bt gây độc đối với tuyến trùng. Hiện nay hãng này đã và đang nghiên cứu công nghệ sản xuất chế phẩm Bt để phòng trừ tuyến trùng gây hại nhiều loại cây trồng đạt kết quả cao.

5.7. Thành tựu về thuốc sinh học để phòng trừ các loài gặm nhấm - chuột

Những năm đầu thế kỷ XIX các nhà khoa học Nga đã phân lập được trên xác chuột chết vi khuẩn *Salmonella enteridis* có thể gây bệnh thương hàn cho chuột và một số loài gặm nhấm khác.

Tính độc của vi khuẩn *Salmonella enteridis* sẽ bị biến đổi và dễ bị mất hoạt tính nếu như cấy truyền liên tục trên môi trường nhân tạo hoặc bảo quản lâu dài trên môi trường đã hết chất dinh dưỡng hoặc đã bị axit hóa.

Năm 1960, các nước Nga, Pháp và CuBa... đã xuất hiện các nhà máy sản xuất thuốc vi khuẩn này dưới dạng công nghệ cao để phòng trừ chuột hại cây trồng và đã thu được kết quả tốt.

Tuy nhiên những năm gần đây một nhóm nhà khoa học đã xác định rằng vi khuẩn trên đã gây ảnh hưởng đối với người và gia súc, gia cầm nên hiện nay nhiều nước đã hạn chế sản xuất và sử dụng vi khuẩn *Salmonella enteridis* trong phòng trừ dịch chuột hại cây trồng.

Chương 6

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU SẢN XUẤT THIÊN ĐỊCH KÝ SINH VÀ ĂN THỊT CÓ ÍCH Ở VIỆT NAM

6.1. Nghiên cứu công nghệ sản xuất ong mắt đỏ *Trichogramma* sp

6.1.1. Tóm tắt kết quả nghiên cứu ong mắt đỏ từ 1973 đến nay

Tiếp thu những thành tựu nghiên cứu của nước ngoài, hơn 30 năm qua việc nghiên cứu và sử dụng ong mắt đỏ (OMĐ) trừ trứng sâu hại ở nước ta đã được nhiều cơ quan, trường Đại học tiến hành như Viện Bảo vệ thực vật, Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật, trường Đại học Tổng hợp, Viện Nghiên cứu Bông Nha Hố, Chi cục Bảo vệ thực vật tỉnh Vĩnh Phúc, Chi cục Bảo vệ thực vật tỉnh Thái Bình, Hợp tác xã Liên Khê, Châu Giang, Hưng Yên, Hợp tác xã Nam Bình, Kiến Xương, Thái Bình...

Kể từ năm 1973 đến nay, Viện Bảo vệ thực vật đã nghiên cứu được ba loài ong mắt đỏ là:

- Ong mắt đỏ màu vàng (*Trichogramma chilonis*).
- Ong mắt đỏ màu đen (*Trichogramma japonicum*).
- Ong mắt đỏ diệt trứng sâu róm thông (*Trichogramma dendrolimi*).

Trong 3 loài ong mắt đỏ trên thì OMĐ màu vàng loài *Trichogramma chilonis* đã ký sinh trên 20 loại trứng của các loài sâu hại khác nhau, OMĐ màu đen loài *Tr. japonicum* đã ký sinh hơn 15 loài trứng sâu hại.

Trên cơ sở kết quả đó, năm 1978-1982, Viện Bảo vệ thực vật đã tập trung đi sâu:

- Nghiên cứu một số đặc tính sinh học của 3 loài OMĐ trên.

Bảng 6.1. Kết quả nghiên cứu và sử dụng ong mắt đỏ để phòng trừ một loài trứng sâu hại ở Việt Nam

Sâu hại		Cây trồng
Tên thường gọi	Tên khoa học	
Sâu đục thân lúa	<i>Chilo suppressalis</i>	Lúa
Sâu cuốn lá nhỏ	<i>Cnaphalocrocis medinalis</i>	Lúa
Sâu cuốn lá lớn	<i>Partanga guttata</i>	Lúa
Sâu đục thân ngô	<i>Ostrinia furnacalis</i>	Ngô
Sâu xám	<i>Agrotis ypsilon</i>	Ngô, đậu đỗ, rau, hành, cà
Sâu ăn lá	<i>Lamprosema indicata</i>	chua, bông đay, đậu phụng,
Sâu khoang	<i>Spodoptera litura</i>	thuốc lá, đậu bắp
Sâu keo da láng	<i>Spodoptera exigua</i>	Hành, Tỏi, Đậu, Rau họ cải
Sâu xanh đục quả	<i>Heliothis armigera</i>	Bông, đậu đỗ,
Sâu xanh bướm trắng	<i>Pieris rapae</i>	Rau các loại(Cải xanh)
Sâu đo xanh	<i>Anomis flava</i>	Đay
Sâu đục thân mía:		
- 5 vạch đầu đen	<i>Chilotraea auricilia</i>	Mía
- 4 vạch	<i>Proceras venosatus</i>	"
- Minh trắng	<i>Scripophaga nivella</i>	"
- Cú mèo	<i>Sesamia infercens</i>	"
Sâu cuốn lá đậu đỗ	<i>Cacoecia micaceana</i>	Các loại đậu đỗ
Sâu đục quả đỗ	<i>Maruca testulalis</i>	"
Sâu đục quả đậu	<i>Etiella zinckenella</i>	"
Sâu đo	<i>Plusia eriosoma</i>	"
Sâu róm thông	<i>Dendrolimus punctatus</i>	Thông nhựa
Sâu bướm phượng	<i>Papilio sp</i>	Cam, quýt, chanh...
Sâu đục quả, sâu cuốn lá và ăn lá	Thuộc bộ cánh phấn <i>Lepidoptera</i>	Các vườn cây ăn quả: xoài, chôm chôm, táo, mận (doi), vải, nhãn, hồng xiêm, vú sữa vv...

– Nghiên cứu phương pháp sản xuất và sử dụng loài OMD màu vàng *Trichogramma chilonis* để diệt trừ trứng sâu đục thân

ngô (*Ostrinia nubilalis*), trứng sâu đo xanh (*Anomis flava*) hại đay cách, trứng sâu xanh đục quả bông (*Helicoverpa armigera*).

– Dùng OMD màu đen *Trichogramma japonicum* để diệt trừ trứng sâu cuốn lá lúa loại nhỏ (*Cnaphalocrosis medinalis*), đồng thời kiểm tra khả năng ký sinh của 2 loài OMD màu vàng và OMD màu đen trên 16 loại trứng sâu hại khác nhau.

– Dùng ong mắt đỏ loài *Trichogramma dendrolimi* để phòng trừ trứng sâu róm hại rừng thông.

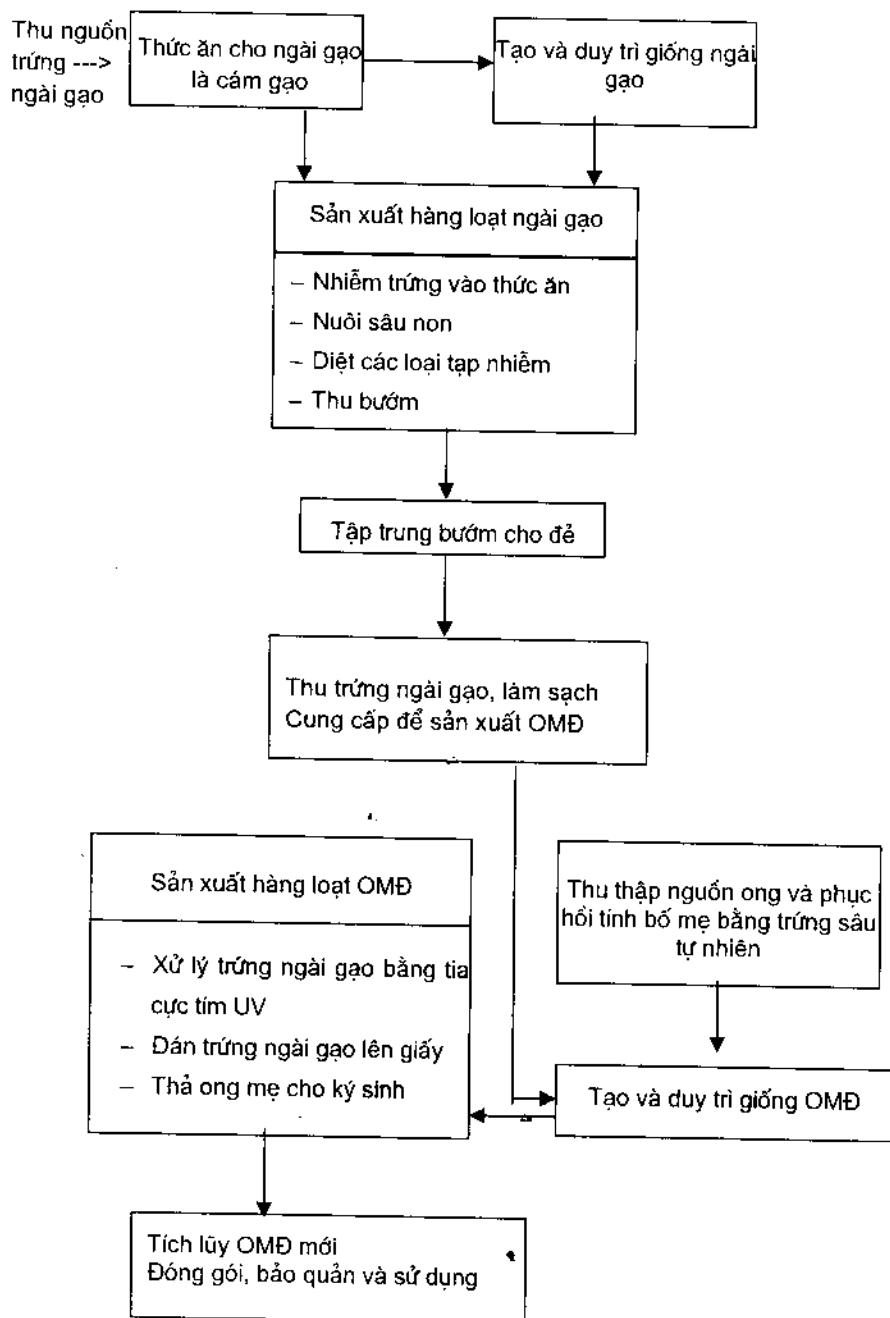
Quá trình điều tra thu thập, Viện Bảo vệ thực vật đã xác định được một số đối tượng trứng sâu hại có thể sử dụng ong mắt đỏ để phòng trừ.

6.1.2. Quy trình công nghệ sản xuất ong mắt đỏ

Việc sản xuất OMD đã được tiến hành ở Viện Bảo vệ thực vật từ những năm 1973. Qua nhiều năm nghiên cứu và hoàn thiện công nghệ sản xuất, đến nay Viện Bảo vệ thực vật đã có quy trình công nghệ sản xuất ong mắt đỏ trên ký chủ là trứng ngài gạo *Corcyra cephalonica*. Công nghệ sản xuất ong mắt đỏ được thực hiện theo sơ đồ sau:

Từ quy trình công nghệ sản xuất OMD của Viện Bảo vệ thực vật trong 30 năm qua, kết quả đã khẳng định rằng: Bằng những dụng cụ đơn giản rẻ tiền, với 2 - 3 gian nhà có diện tích khoảng 40 - 50m², chỉ cần 150 kg cám gạo và 30 - 35 g trứng gốc, sau 40 - 50 ngày nuôi, Viện Bảo vệ thực vật có thể sản xuất ra được một lượng trứng ngài gạo đủ để nhân 7 - 8 triệu ong mắt đỏ có thể thả trên khoảng 80 - 100 ha cây trồng. Nếu như điều kiện thiết bị đầy đủ, đảm bảo nghiêm quy trình công nghệ thì thực tế có thể sản xuất được hơn 10 triệu ong mắt đỏ đủ để thả trên diện tích 120 - 150 ha cây trồng. Như vậy nếu so sánh với phun thuốc hóa học và các chế phẩm trừ sâu sinh học khác thì chi phí cho công nghệ sản xuất và sử dụng ong mắt đỏ để phòng trừ trứng sâu hại không cao hơn.

Quy trình công nghệ sản xuất ong mắt đỏ ở Việt Nam



6.1.3. Kết quả nghiên cứu đạt được

6.1.3.1. Ký chủ nhân tạo

Nuôi nhân sản xuất ký chủ là cơ sở tạo tiền đề giúp cho việc sản xuất OMD, đây là điểm mấu chốt rất quan trọng trong dây chuyền dùng ong mắt đỏ diệt trứng sâu hại. Sản xuất ký chủ phải nhằm vào loài dễ nuôi, thức ăn dễ kiếm thì mới có thể sản xuất nhanh, nhiều, tốt và rẻ tiền.

Những năm 1973-1975, Viện Bảo vệ thực vật đã nghiên cứu đồng thời cả ba loài ký chủ đó là ngài mạch *Sitotroga* sp. nhập ở Liên Xô cũ về nuôi, ngài gạo *Corcyra cephalonica* được thu thập từ các kho lương thực ở Hà Nội và tầm sắn *Philosamia cyathiricind* Biod lấy giống từ Trại tầm Mai Lĩnh. Kết quả nuôi nhân và khảo nghiệm nguồn ký chủ để bổ sung cho quy trình sản xuất OMD sao cho phù hợp với điều kiện nước ta.

a) Ngài mạch *Sitotroga* sp.

Loài này có ưu thế ở châu Âu, châu Mỹ, trên cơ sở quy trình nuôi nhân và sản xuất mang tính chất công nghiệp ở Liên Xô cũ, loài này chủ yếu ăn hạt mạch dài (*Hordeum disticum*), hạt lúa mì. Trong điều kiện Việt Nam, Viện Bảo vệ thực vật cũng đã tiến hành sử dụng một số loài thức ăn khác nhau để nuôi ngài mạch.

* Thức ăn dùng để nuôi ngài mạch

Thí nghiệm được tiến hành với 7 loại hạt khác nhau: lúa tẻ (LT), lúa nếp (LN), ngô tẻ (NT), ngô nếp (NN), lúa mì (LM), cao lương (CL) và mạch hoa (MH). Kết quả sau thí nghiệm nhiễm trứng cho thấy thời gian vũ hóa của bướm ngài mạch ở các công thức khác nhau cũng khác nhau (bảng 6.2).

Kết quả cho thấy thời gian thu được bướm ở hạt cao lương ngắn nhất (22,50 ngày) rồi đến hạt lúa nếp - ngô nếp - lúa tẻ - ngô tẻ - mạch hoa - lúa mì. Quá trình thu bướm kéo dài từ 1- 40 ngày, tập trung vào ngày thứ 6 đến 20, tập trung nhất là từ ngày thứ 11 đến ngày thứ 15. Sản lượng bướm thu được nhiều nhất là ở công thức mạch hoa, rồi đến lúa mì- lúa tẻ- lúa nếp- ngô tẻ- ngô nếp và cuối cùng là cao lương. Kích thước bướm thu được có liên quan nhiều đến kích thước trứng, ở ngô nếp và ngô tẻ, trứng dài 0,255 mm dài hơn là ở lúa nếp - lúa tẻ - mạch hoa - cao lương - lúa mì. Về chiều rộng cũng tương tự như vậy.

Bảng 6.2. Ảnh hưởng của các loại thức ăn khác nhau đến ngài mạch

Công thức	Thời gian thu bướm TB/ngày	Sản lượng bướm (cá thể/CT)	Kích thước bướm (mm)	Kích thước trứng (ngang-mm)	Kích thước trứng (dài-mm)	Sản lượng trứng (g/kg)	Sai số T/n [F=14,89 (2,66)]
LT	28,75	132,75	6,35±0,22	0,230±0,000	0,494±0,017	1,33	-
LN	27,50	129,00	6,27±0,12	0,238±0,017	0,533±0,017	1,33	-
NT	29,55	93,75	7,23±0,27	0,255±0,016	0,500±0,000	1,22	-
NN	28,75	72,50	6,95±0,14	0,255±0,000	0,514±0,017	0,15	-
LM	33,50	155,50	5,61±0,46	0,234±0,000	0,489±0,046	0,18	++
CL	22,50	28,00	5,64±0,11	0,234±0,017	0,477±0,052	0,22	-
MH	31,50	214,25	5,91±0,20	0,241±0,000	0,504±0,022	2,11	++
							+++
							TB 0,42 0,58 0,78
							DL 33,6 46,4 62,4

Ghi chú: LT: Lúa tẻ LN: Lúa nếp NT: Ngô tẻ NN: Ngô nếp LM: Lúa mì CL: Cao lương MH: Mạch hoa

Khi nuôi ngài mạch bằng các loại hạt khác nhau thì sản lượng trứng thu được cũng khác nhau. Với sản lượng thu được, sau khi tính toán bằng phương pháp thống kê sinh học (thấy F tính lớn hơn F tra bảng rất nhiều lần), kết quả thu được đáng tin cậy là 99,9%. Lượng trứng thu được ở hạt mạch hoa rất lớn chứng tỏ hạt mạch hoa là công thức tốt hơn cả, giá thành qua hạch toán cũng thấp nhất. Nhân nuôi bằng hạt cao lương có nhược điểm là hạt nhỏ, vỏ cứng, rồi đến hạt lúa, riêng với hạt ngô thì ngài trưởng thành thường lớn hơn, trứng to, nhưng khi nuôi nhân hạt thường dễ bị tạp do nấm mốc làm sâu chết dẫn đến sản lượng trứng kém. Nuôi ngài mạch bằng hạt mỳ tốt hơn so với những loại hạt trên, vì thu được nhiều bướm và trứng hơn, loại hạt này cũng rẻ tiền, cho nên có thể dùng hạt mỳ để nuôi nhân ngài mạch.

** Nhân nuôi ngài mạch đại trà trong điều kiện ở nước ta*

Thí nghiệm nuôi ngài mạch từ những năm 1973 - 1975 (bảng 6.3).

Bảng 6. 3. Nuôi nhân ngài mạch đại trà trong phòng thí nghiệm

Thời gian nuôi	Số lồng nuôi nhân	Thời gian từ trứng đến khi vũ hóa(ngày)		
		Ngắn	Dài	Trung bình
22/3 - 10/12/1973	11	31	56	41,2
31/12/73 - 3/12/1974	23	17	78	35,4
10/1/75 - 5/12/1975	20	20	51	29,8

** Tỷ suất nhân trung bình / năm là 1 : 2 - 3*

Kết quả nuôi nhân trong phòng thí nghiệm tại Viện Bảo vệ thực vật đã chỉ ra trong điều kiện tự nhiên ngài mạch phát triển trong suốt cả năm, về mùa hè từ tháng 4 đến tháng 10, thời gian từ trứng đến vũ hóa rút ngắn lại chỉ sau 30 đến 34 ngày, kích thước ngài nhỏ, trứng bé. Còn mùa đông từ tháng 11 đến tháng 2 năm sau thì thời gian nuôi kéo dài, quá trình nuôi nhân nhận thấy ngài mạch bị thoái hóa mạnh và dễ bị tạp nhiễm (chủ yếu là nhện).

Về tỷ suất nhân trong thí nghiệm vào thời gian thuận lợi thì đạt được 1: 84 (tức là 1g trứng với 1kg hạt cho ra 84 g trứng), nhưng thực tế khi nuôi nhân đại trà trong điều kiện thiếu thốn năm 1975 thì không đạt được như vậy. Tỷ suất nhân trung bình đạt được rất thấp, chỉ 1: 2-3.

Đến nay nước ta không sử dụng ngài mạch để sản xuất OMD.

b) Ngài gạo Corcyra sephalonica

Loài này thường sẵn có trong các kho lương thực ở nước ta, thức ăn chủ yếu là cám, gạo và thóc, dễ phát triển trong điều kiện thủ công (khi chưa nghiên cứu cơ khí hoá, tự động hóa), phù hợp với quy mô sản xuất nhỏ, nếu có điều kiện trong tương lai nhất thiết phải nâng lên mức công nghiệp như các nước trong khu vực. Vấn đề này còn phụ thuộc vào năng lực thực tiễn của các nhà khoa học và cơ chế đầu tư của nhà nước.

** Khả năng đẻ trứng*

Bảng 6.4. Khả năng đẻ trứng của ngài gạo trong phòng thí nghiệm

Số TT cặp	Đêm đẻ					Tổng số
	I	II	III	IV	V	
1	128	75	16	6	0	225
2	131	99	3	0	0	233
3	102	91	10	2	0	205
4	131	98	18	4	0	231
5	131	79	7	0	0	217
6	100	110	9	0	0	219
7	106	87	9	0	0	202
8	106	81	28	4	0	220
9	70	92	39	8	0	209
10	121	81	6	0	0	208
11	107	89	4	0	0	200
12	109	99	6	0	0	214
13	141	79	3	0	0	223
14	141	88	10	3	0	242
15	81	89	28	4	0	202
16	129	81	11	3	0	224
17	98	108	14	5	0	225
18	97	106	18	4	0	225
19	94	99	11	0	0	204

Qua theo dõi nuôi nhân đại trà, kiểm tra 5 hộp một lần ở nhiệt độ trong phòng thí nghiệm trung bình 28 - 30°C, ẩm độ không khí 70 - 80%, kết quả ngài gạo phát triển từ trứng đến khi bướm chết là 37

- 38 ngày, trong đó thời gian trứng là 5 ngày, sâu non là 24,4 ngày, nhộng là 3, 4 ngày và bướm đẻ trứng khoảng 5 - 6 ngày. Kết quả về khả năng đẻ của bướm ngài gạo nuôi đại trà (bảng 6.4).

Như vậy thời gian đẻ trứng không kéo dài, bình thường chỉ 3 - 4 ngày. Ở ngày thứ nhất tập trung đến 50% số trứng, ngày thứ hai là 40,2% và ngày thứ ba là 8,5% và ngày thứ tư số lượng trứng đẻ ra không đáng kể (0,8%). Tính trung bình một con bướm cái đẻ được 221 trứng, con đẻ nhiều nhất là 259 trứng.

** Lượng cám dùng để nuôi sâu*

Viện Bảo vệ thực vật đã tiến hành thí nghiệm tìm hiểu khả năng nuôi nhện với 4 công thức, CT1: 1kg cám, CT2: 3 kg cám, CT3: 5 kg cám, CT4: 7 kg cám.

Mỗi công thức 3- 4 lần nhắc lại. Kết quả thu được ở bảng 6.5.

Bảng 6.5. Lượng cám sử dụng để nuôi ngài gạo

Công thức	Thời gian từ trứng đến vũ hóa(ngày)	Sản lượng trứng (g)	Sản lượng bướm (g)	Kích thước bướm dài (mm)	Kích thước trứng (mm)		Số trứng/g
					Dài	rộng	
I	59	0,0380	0,1355	0,69			
II	58,9	0,0407	0,1878	0,76			
III	41,9	1,6607	3,4302	0,95	0,3798	0,2344	33,300
IV	41,4	2,6055	4,5568	0,98	0,3011	0,2372	33,100

Số liệu cho thấy số trứng nở ra sâu non ngài gạo đạt trung bình là 80%. Thời gian trứng, sâu và nhộng ở các công thức cung cấp ít thức ăn thường dài hơn so với công thức có lượng thức ăn nhiều (từ 1:1, 1:3, 1:7 tính theo gram trứng/kg cám), điều đó cho thấy khi thức ăn đầy đủ thì số lượng bướm, lượng trứng thu được ở công thức nhiều thức ăn bao giờ cũng cao hơn và bướm vũ hóa ra thường lớn, số trứng đẻ ra cũng to, dài hơn biểu hiện số trứng thu được 1 gram ít hơn.

** Số lần nhiễm trứng ngài gạo*

Kỹ thuật nhiễm trứng vào cám trong quá trình nuôi nhện ngài gạo cũng giữ vai trò rất quan trọng vì cùng một lượng cám, lượng trứng nhưng nhiễm trứng vào cám bao nhiêu lần là thích hợp để đạt năng suất cao, điều đó cần phải nghiên cứu. Vì vậy năm 1978 - 1980, Viện Bảo vệ thực vật đã tiến hành thí nghiệm nhiễm với ba công

thức: CT I nhiễm 1 lần, CT II nhiễm 2 lần, CT III nhiễm 3 lần, mỗi lần nhiễm cách nhau 1 tuần, bảng 6.6.

Bảng 6.6. Số lần nhiễm trứng ngài gạo vào cám

Công thức	Thời gian từ trứng đến đẻ (ngày)	Lượng bướm thu được	Trọng lượng bướm (g)	Sản lượng trứng (g)
I	37	1.097	5.586	4.953
II	37	891	5.150	3.152
III	36	774	4.160	2.935

Kết quả thu được: Thời gian từ trứng đến bướm đẻ là 36-37 ngày. Lượng bướm thu được nhiều nhất ở CT I rồi đến CT II, cuối cùng là CT III. Số lượng bướm thu được có sự khác nhau do đó lượng trứng thu được cũng khác nhau. So với lượng trứng nhiễm ở công thức 1 gấp 10 lần, công thức 2 gấp 6,4 lần và công thức 3 gấp 5,8 lần. Như vậy là nhiễm một lần cho số lượng bướm và trứng nhiều hơn cả, không nên nhiễm 2 - 3 lần.

** Nuôi nhân đại trà*

Do ngài gạo phát triển thích hợp với điều kiện nước ta, thức ăn là cám gạo rất dễ kiếm, nhiều năm qua loài này được nuôi chủ yếu với số lượng lớn để lấy trứng nhân ong cung cấp cho phòng trừ trứng sâu hại đay, bông. Quá trình nhân đại trà cho thấy có thể nuôi được ngài gạo quanh năm, thời gian từ trứng đến bướm ngắn nhất là 28 ngày, trung bình là 40-50 ngày, dài nhất là 60 ngày. Thực tế trong nuôi nhân cho thấy cũng gặp một số khó khăn do tạp nhiễm mọt, nhện và ong tạp, nhất là phòng nhân giống còn đơn giản, thô sơ cho nên tỷ suất nhân trung bình rất thấp chỉ đạt 1 : 4 - 5. Về sau này cơ sở vật chất được đầu tư nâng cấp nên tỷ suất nhân đã nâng lên 1: 10, đến nay có thể đạt 1 : 20 hoặc cao hơn.

*c) Tằm sắn *Philosamia cyathiricind*:*

** Nuôi đại trà*

Tằm sắn là một loại ký chủ chỉ cho một số loài ong mắt đỏ ký sinh, tuy vậy trứng tằm sắn to, dễ nuôi, chất dinh dưỡng nhiều, nên một đơn vị trứng có thể cho nhiều ong. Mặt khác, tằm sắn có sắn và dễ trồng nhất ở các vùng trung du và miền núi nước ta. Nhược điểm của trứng tằm sắn là có vỏ rất cứng, ong mắt đỏ khó

ký sinh.

Để khảo sát tầm sản dùng làm ký chủ nhân nuôi ong mắt đỏ, Viện Bảo vệ thực vật đã nghiên cứu và nuôi nhiều lứa tầm trong năm, kết quả cho thấy từ tháng 2 đến tháng 7 có thể nuôi được 3 - 4 lứa, thời gian phát triển lứa ngắn nhất là 41 ngày, lứa dài nhất là 62 ngày. Một con tầm cái có thể đẻ được 0,5 gram trứng và tầm sản đẻ liên tục trong 12 ngày. Tuy vậy nếu thiếu chăm sóc bướm tầm rất dễ bị thoái hóa thể hiện kích thước nhỏ, bướm vũ hóa không hoàn chỉnh, số trứng đẻ ra ít.

** Khảo nghiệm với ong*

Khi đem trứng tầm sản cho ong *Tr. chilonis* và *Tr. japonicum* ký sinh, kết quả là ong *Tr. chilonis* ký sinh tốt hơn, còn loài *Tr. japonicum* không cho ký sinh. Qua nhiều lần thí nghiệm cho thấy trứng tầm cho ký sinh trên 20 ong, có khi vũ hóa trung bình 35 - 70 ong. Ong vũ hóa từ trứng tầm có kích thước không đồng nhất. Ong *Tr. chilonis* có khả năng ký sinh trên trứng tầm nhiều đời liên tục và ký sinh ngang (qua lại) với cả trứng của những ký chủ khác. So sánh thời gian ong sống trong trứng tầm với trứng ngài mạch và ngài gạo thì ong vũ hóa từ trứng tầm chậm hơn từ 2 - 3 ngày. Tóm lại, ong *Tr. chilonis* có khả năng ký sinh trên trứng tầm sản, nhưng trong thực tiễn việc sản xuất ong trên trứng tầm sản cho đến nay nước ta vẫn không sử dụng.

6.1.3.2. Ký sinh ong mắt đỏ

a) Thành phần loài ong mắt đỏ ở một số tỉnh phía Bắc Việt Nam

Theo nhiều tài liệu trên thế giới thì giống OMD *Trichogramma* bao gồm khoảng 20 loài phân bố theo những điều kiện sinh thái khác nhau. Ở Việt Nam, việc nghiên cứu thu thập ong mắt đỏ đã được tiến hành từ năm 1964 tại trường Đại học Nông nghiệp 1 Hà Nội. Năm 1970, việc điều tra thu thập nguồn ong đã phát triển tương đối có kết quả, loài *Tr. chilonis* có khả năng diệt trứng sâu đục thân ngô, tuy nhiên sự phân bố của loài ong này vẫn chưa có số liệu cụ thể.

Năm 1973, để tài ong mắt đỏ tại Viện Bảo vệ thực vật do TS

Nguyễn Ngọc Tiến chủ trì đã nghiên cứu một cách quy mô, các tác giả đã tiến hành điều tra trên một số cây trồng chính, tập trung ở các tỉnh thuộc đồng bằng sông Hồng nhằm phân loại và lựa chọn để sử dụng một số loại ong mắt đỏ có triển vọng ở nước ta. Kết quả khảo sát ong trên đồng ruộng cho thấy tỷ lệ trứng sâu đục thân lúa (*Schoenobius incertellus* Walk) bị ong mắt đỏ ký sinh tự nhiên ở các vùng lúa khác nhau và các mùa vụ khác nhau, cụ thể trên lúa chiêm xuân vùng Chèm, Hà Nội có tới 40% ổ trứng bị ký sinh, trên mạ mùa có 38% ổ trứng bị ký sinh. Ở Cổ Lễ, Nam Định qua điều tra thấy 25% ổ trứng bị ký sinh, ở ven ngoài Thị xã Thái Bình có 22% và ở Khoái Châu, Hưng Yên có 47% ổ trứng bị ký sinh.

Riêng đối với trứng sâu đục thân ngô (*Ostrinia nubilalis* Hubn) ở lúa rộ vào vụ xuân hè cho thấy càng về sau tỷ lệ trứng sâu đục thân bị ong ký sinh càng cao (bảng 6.7).

Bảng 6. 7. Ong mắt đỏ ký sinh tự nhiên trứng sâu đục thân ngô (*Ostrinia nubilalis* Hubn) tại Chèm, Hà Nội năm 1973

Số TT	Ngày điều tra	Tỷ lệ trứng bị ký sinh (%)		Giai đoạn sinh trưởng của cây ngô
		Ổ	Trứng	
1	23- 4- 1973	0	0	Ngô thâm rầu
2	8-5	0	0	Ngô loa kèn
3	18-5	3,78	0,36	Ngô trở cờ
4	21-5	8,55	1,53	Ngô thâm rầu
5	5-6	18,18	5,35	Ngô muống

Số liệu cho thấy càng về cuối vụ, tỷ lệ ổ trứng và trứng bị ký sinh tự nhiên càng cao, điều này có nghĩa là nên sử dụng ong mắt đỏ nhân nuôi trong phòng rồi tập trung thả vào những đợt trứng sâu mới đẻ ra từ đầu vụ. Theo kết quả điều tra phát hiện thành phần ong trên cây lúa, được tiến hành thu thập ở tất cả các vùng trồng lúa đều cho một kết quả là: OMD màu đen, con đục nhỏ hơn con cái, cánh trong suốt, râu đầu thon, riêng ở con đục không có gì đặc biệt ở nút râu, lông nhỏ dài, bụng có nhiều vết vằn đen, cánh và cơ quan sinh dục đục cũng như cái đều vươn dài ra phía cuối

bụng. Nhìn qua kính hiển vi thấy bộ phận sinh dục đực dài thót ở giữa, riêng phần cuối hơi phình, cuống của dương cụ thon, hẹp dần, không thấy gai lồi, ở giữa thò ra ở phần bụng cơ quan này, ong đen ký sinh trên ngài mạch đạt tỷ lệ vũ hóa trên 80%. Qua nhiều đời ký sinh trên ký chủ phụ, ong vẫn giữ màu sắc ban đầu và ong có khả năng tái ký sinh trên trứng ký chủ chính. Ong mắt đỏ thu được ở tỉnh Nam Định cho thấy lông trên mặt, trên mép cánh và lông ở cuống sinh dục và gai cuối sinh dục cũng dài hơn, thường thò ra ngoài tới 0,04 mm. Dựa trên kết quả giám định, so sánh với các tài liệu phân loại của các tác giả trên thế giới như Telenga, Quednau, Teiishu, Nagaraja... thì loài ong trên được Viện Bảo vệ thực vật khẳng định là *Tr. japonicum* Ash. (Nguyễn Ngọc Tiến, 1975).

Trên cây ngô đã thu được ong mắt đỏ lần đầu vào ngày 21-5-1973, cũng như những loài ong thu tiếp tục vào năm sau kết quả đều cho thấy loài ong này có màu vàng nhạt, cánh vượt dài ra phía sau, râu đầu và phần cuối sinh dục con cái có màu xám tro, con đực màu xám hơn, nhỏ hơn con cái, phía trên râu đầu có lông nhỏ và dài. Vòng đời của ong vào mùa hè, nuôi trong cùng một điều kiện cùng với loài trên là 7 ngày, khi cho ong ký sinh lại trên sâu đục thân lúa hai chấm thì không thấy ký sinh trở lại ở ruộng lúa nhưng ong mắt đỏ lại ký sinh dễ dàng trên trứng sâu tơ và một số trứng của bướm hại kho thóc... Qua phân loại loài ong này được xác định là *Tr. chinonis* Ishii. Những kết quả nghiên cứu về một số đặc điểm sinh học của OMD được thể hiện trong bảng 6.8.

b) Ký chủ của ong mắt đỏ

Do ong mắt đỏ có nhiều loài và mỗi loài thường mang một đặc điểm chuyên tính, chúng có phổ ký chủ riêng. Vì vậy việc xác định giới hạn ký chủ cho từng loài và chọn lọc ra từng đối tượng trứng sâu hại để phòng trừ là hoàn toàn có ý nghĩa trong quá trình ứng dụng vào thực tiễn sản xuất. Kết quả khảo sát hai loài ong mắt đỏ màu vàng *Trichogramma chilonis* Ishii và ong mắt đỏ màu đen *Trichogramma japonicum* Ash trên một số ký chủ trong điều kiện phòng thí nghiệm được thể hiện trong bảng 6.9.

Bảng 6.8. Kích thước ong mắt đỏ thu thập được ở một số địa phương

Thời gian thu thập	Địa phương	Cây trồng	Độ dài cơ thể (mm)		Độ dài của FI			Độ dài đốt chày chân sau ong cái	Độ dài Ae
			Sống	Chết	dài	rộng	Dài lông		
21-5-1973	Chèm, Hà Nội	Ngô	0,598		0,158	0,046	0,077	0,1683	0,1377
21-5-1973	Chèm, Hà Nội	Lúa	0,605		0,155	0,032	0,068	0,1676	0,1700
13-6-1973	Hà Nam	Lúa		0,493				0,1649	0,1802
15-6-1973	Thái Bình	Lúa		0,519				0,1662	0,1819
18-6-1973	Hưng Yên	Lúa	0,528					0,1574	0,1700

Ghi chú: FL = Flagenillum.
Ae = Aedeagus.

Bảng 6. 9. Phổ ký chủ của ong mắt đỏ ở Việt Nam

STT	Ký chủ của OMD	<i>Trichogramma chilonis</i> Ishii	<i>Trichogramma japonicum</i> Ash.
1	<i>Sitotroga cerealella</i> Oliv.	+	+
2	<i>Corcyra cephalonica</i> Staintol	+	+
3	<i>Philosamia cynthiaricind</i>	+	0
4	<i>Ephestia</i> sp	+	+
5	<i>Spodoptera litura</i> Fabr.	+	+
6	<i>Papilio demolens</i> L.	+	+
7	<i>Agrotis ypsilon</i> Rott	+	+
8	<i>Pieris rapae</i> L.	+	+
9	<i>Cirphis</i> sp	+	+
10	<i>Helicoverpa armigera</i> Hubn.	++	0
11	<i>Schoenobius insertellus</i> Walk.	0	++
12	<i>Naranga aenescens</i>	+	+++
13	<i>Cnaphalocrosis medinalis</i> G.	+++	+++
14	<i>Parnara guttata</i> Fab.	+++	+++
15	<i>Ostrinia nubilalis</i> Hubn.	+++	0
16	<i>Plutella maculipennis</i> Curtis	+++	+
17	<i>Anomis flava</i> Fabr.	+++	+

Ghi chú:

- 0 Không có ký sinh.
 - +
 - ++
 - +++
- Có ký sinh trong phòng (chưa thử ngoài đồng ruộng).
 Ký sinh cả trong phòng và ngoài đồng ruộng.
 Có khả năng ứng dụng trong sản xuất.

Phổ ký chủ của OMD loài *Tr. japonicum* là tương đối rộng, loài này không ký sinh trên trứng tằm sắn *Philosamia cynthiaricind*, trong khi đó loài *Tr. chilonis* cho ký sinh rất tốt, một trứng ký chủ cho 20 ong ký sinh, và ngược lại trứng sâu đục thân lúa hai chấm *Schoenobius insertellus* thì ong loài *Tr. chilonis* không ký sinh, còn ong *Tr. japonicum* lại ký sinh với tỷ lệ khá cao. Quá trình thí nghiệm với 17 loại trứng ký chủ khác nhau thì loài ong vàng *Tr. chilonis* ký sinh trên 16 loài, còn ong đen *Tr. japonicum* chỉ ký sinh trên 14 loài. Trong số những loài trứng ong mắt đỏ ký sinh có một số đã được thử ở ngoài đồng ruộng đạt hiệu quả ký sinh tốt như là *Tr. chilonis* ký sinh trứng sâu cuốn lá lúa loại nhỏ *Cnaphalocrosis medinalis* trứng sâu cuốn lá lúa loại lớn *Parnara guttata*, trứng sâu

dục thân ngô *Ostrinia nubilalis*, trứng sâu tơ *Plutella maculipennis* và trứng sâu đo xanh *Anomis flava*. Ong *Tr. japonicum* ký sinh trứng sâu đo *Naranga aenescens* hại lúa, trứng sâu cuốn lá nhỏ, trứng sâu cuốn lá lớn hại lúa (Nguyễn Ngọc Tiến, 1976).

c) *Khả năng nuôi ong mắt đỏ trong điều kiện phòng thí nghiệm*

* *Quá trình phát triển của OMD*

Viện Bảo vệ thực vật đã tiến hành nuôi liên tục trong phòng thí nghiệm từ năm 1973-1976 theo một chu trình khép kín, kết quả cho thấy trung bình một vòng đời của ong mắt đỏ khoảng 6-7 ngày. Như vậy là có thể nuôi ong quanh năm, ong không qua đông và chúng phát triển tự nhiên trong điều kiện ôn ẩm độ bình thường (bảng 6.10).

Bảng 6.10. Kết quả nuôi OMD trong phòng thí nghiệm

Thời gian	Loại ong	Số đợt nuôi	Số lần mỗi đợt (ngày)								
			6	7	8	9	10	11-15	16-20	21-25	26-30
26/IV đến 17/XI/1973	<i>Tr. japonicum</i>	27	2	20	1	1	2	1	0	0	0
23/IV-16/II/1974	<i>Tr. chilonis</i>	26	1	16	2	1	2	2	1	0	1
4/IV/1974-2/XII/1974	<i>Tr. chilonis</i>	37	3	21	1	2	3	3	3	1	0
2/IV/1975-27/XII/1975	<i>Tr. chilonis</i>	40	7	16	5	2	3	5	2	0	0
3/IV/1976-28/XII/1976	<i>Tr. chilonis</i>	40	6	16	6	0	2	10	0	0	0
14/IV/1976-4/XII/1976	<i>Tr. japonicum</i>	23	5	11	2	2	3	0	0	0	0
Tổng số		193	24	100	17	8	15	21	6	1	1

Ghi chú: 7 ngày chiếm 48,28%.

6+7+8 ngày chiếm 69,92%.

* *Tỷ suất nhân OMD*

Nhiều tài liệu cho biết OMD phát triển tùy thuộc vào điều kiện ôn, ẩm độ và thức ăn bổ sung, năm 1975-1976 Viện Bảo vệ thực vật nhân ong đạt kết quả tỷ suất nhân trung bình là 1:16 (bảng 6.11).

Bảng 6. 11. Tỷ suất nhân OMD *Trichogramma chilonis* Ishii

Lần thí nghiệm	Tổng số ong			Lượng trứng ký sinh	Tỷ suất nhân cái: trứng ký sinh
	Đực	Cái	Tổng số		
1	51	71	122	1.230	1:17,0
2	38	68	106	1.147	1:16,7
3	42	79	121	1.195	1:15,5
4	48	70	118	1.085	1:15,5
5	41	56	97	985	1:18,0
6	40	64	104	1.038	1:16,0

* Một số kết quả về kỹ thuật nhân nuôi ong mắt đỏ trong phòng

Đổi nguồn OMD: Thực tế nuôi trong phòng liên tục quanh năm thì kích thước OMD bị nhỏ đi, khả năng phát triển chậm. Để khắc phục hiện tượng trên Viện BVTV đã thường xuyên đổi nguồn OMD địa phương mới, được thu ngoài tự nhiên nhằm tạo giống OMD mới đạt chất lượng tốt hơn, kết quả ở bảng 6.12.

Bảng 6.12. So sánh một số đặc điểm của OMD mới thu và OMD nuôi nhiều thế hệ

Nguồn gốc ong	TS trứng KS (Fo)	TS trứng vũ hoá	VH (%)	Ong cái	Số trứng một ong cái đẻ	Kích thước ong (mm)			Ghi chú
						Dài nhất	Ngắn nhất	Trung bình	
Nuôi nhiều thế hệ	125	123	98,40	73	21,31	0,459	0,289	0,382	t ⁰ =24-30°C
Mới thu ngoài tự nhiên	115	115	100	69	27,39	0,493	0,306	0,410	A ⁰ =70-90-%

Như vậy là OMD mới thu về bao giờ cũng cho hiệu quả ký sinh cao hơn OMD nuôi qua nhiều thế hệ, về khả năng đẻ trứng cũng đạt chất lượng tốt hơn kể cả số lượng trứng và kích thước.

Bảo quản OMD: Để có thể đảm bảo một số lượng OMD đủ thả trên đồng ruộng nhằm chủ động đúng với thời điểm khi có trứng sâu hại cây trồng phát triển rõ thì cần thiết phải nghiên cứu phương pháp bảo quản OMD trong những năm sản xuất gặp khó khăn, Viện Bảo vệ thực vật đã tiến hành thí nghiệm với 6 công thức bảo quản đều cùng một giai đoạn phát dục, mỗi công thức chênh lệch nhau một ngày.

Bảng 6.13. Bảo quản OMD trong điều kiện phòng thí nghiệm

Công thức	STT	Ngày nhận ong	Thời gian ở lạnh (ngày)	Từ ký sinh đến vũ hóa (ngày)	Vũ hóa sau khi ra khỏi lạnh (ngày)	Thời gian sống của ong trưởng thành	Tỷ lệ vũ hóa (%)
I	1	21/V/1974	10	16	0 - 1	5	53,34
	2		15	24	0 - 1	5	43,54
	3		20	26	0 - 1	4	39,56
	4		25	31	0 - 1	4	38,58
	5		30	36	0 - 1	4	22,64
	6		35	41	0 - 1	3	19,09
	7		40	46	0 - 1	2	17,97
	8		45	51	1	1	13,55
	9		50	57	1	1	5,08
	10		55	62	1	1	3,71
	11		60	0	0	0	0
	12		90	0	0	0	0
II	1	22/V/1974	19	25	0 - 1	4	38,46
	2		29	35	0 - 1	4	24,99
	3		39	45	0 - 1	2	16,98
	4		59	0	0	0	0
	5		89	0	0	0	0
III	1	23/V/1974	18	24	0 - 1	4	45,24
	2		28	34	0 - 1	4	33,65
	3		38	44	0 - 1	2	10,58
	4		58	0	0	0	0
	5		88	0	0	0	0
IV	1	24/V/1974	17	23	0 - 1	4	40,30
	2		27	33	0 - 1	4	20,17
	3		37	43	0 - 1	2	8,54
	4		57	0	0	0	0
	5		87	0	0	0	0
V	1	25/V/1974	16	22	0 - 1	5	44,69
	2		26	32	0 - 1	4	22,87
	3		36	42	0 - 1	2	6,39
	4		56	0	0	0	0
	5		86	0	0	0	0
VI	1	26/V/1974	15	21	0 - 1	5	45,00
	2		25	31	0 - 1	4	21,88
	3		35	41	0 - 1	3	9,36
	4		55	0	0	0	0
	5		85	0	0	0	0

Cả 6 công thức bảo quản trên mặc dù có sự biến động nhiều về ngày ký sinh, thời gian ong sống trong tủ lạnh, nhưng tỷ lệ ong vũ hóa ra tương đối đều nhau. Số liệu cho thấy nếu bảo quản OMD trong 10 ngày thì tỷ lệ vũ hóa đạt được 50%, 20 ngày thì tỷ lệ vũ hóa 40%, 30 ngày tỷ lệ OMD vũ hóa chỉ còn 20 %. Việc bảo quản OMD trong phích lạnh để mang đi thả ra ngoài đồng ruộng trong vòng 1 - 3 ngày trong điều kiện khó khăn của những năm 1974 - 1979, kết quả ong vẫn hoạt động tốt cho tỷ lệ vũ hóa cao khoảng 90 - 100%.

6.1.3.3. Thả ong mắt đỏ để diệt trứng sâu hại ngoài đồng ruộng trên diện rộng ở Hà Nội và Hưng Yên từ năm 1974 đến 1985

a) Biến động của OMD ngoài tự nhiên ở một số địa phương

Việc sử dụng ong nuôi trong phòng để thả ra ngoài đồng diệt trứng sâu hại muốn đạt kết quả, công việc đầu tiên cần tiến hành là thu thập, phân loại, khảo sát về ong, sau đó điều tra theo dõi biến động của ong ngoài tự nhiên, nhằm mục đích xác định việc thả ong mắt đỏ vào thời điểm nào thích hợp... Thông qua phương pháp điều tra trứng sâu hại bị ong tự nhiên ký sinh và việc treo trứng ký chủ phụ ra ngoài ruộng, kết quả thu được như sau:

*** Vùng Chèm, Hà Nội**

Việc treo trứng ký chủ được tiến hành trong suốt cả năm thông qua theo dõi biến động ong cứ một tuần treo trứng ký chủ một lần, treo trên một số cây trồng như ngô, điền thanh và rau ở những nơi có trứng sâu hại bị ong *Tr. chilonis* ký sinh trên đồng ruộng. Năm 1975 với 46 lần treo trứng, kết quả ở bảng 6.14.

Điều tra cho thấy vào tháng 4 bắt đầu có ong mắt đỏ tự nhiên xuất hiện, trên ruộng ngô kể ruộng lúa thu được rất ít ong loài *Tr. japonicum*, trên ruộng ngô nếp thường gặp ong này nhiều hơn trên ruộng ngô tẻ, có lần thu được tới 45% số trứng treo bị ong mắt đỏ loài *Tr. chilonis* ký sinh, chúng xuất hiện ở ruộng điền thanh và ruộng cà chua.

Bảng 6.14. Biến động của ong mắt đỏ ngoài đồng ruộng tại một số địa phương

Địa điểm	Năm	Số lần treo trùng/ năm	Kết quả ký sinh (lần)					
			Ruộng ngô		Ruộng đay		Ruộng điển thanh	
			TS lần	Ong	TS lần	Ong	TS lần	Ong
Chèm - Hà Nội Khoái Châu - Hưng Yên Khoái Châu - Hưng Yên	1975	46	3	<i>Tr. chilonis</i>			1	<i>Tr. chilonis</i>
	1975	14	1	<i>Tr. japonicum</i>	4	<i>Tr. chilonis</i>		
	1976	13			2	<i>Tr. chilonis</i>		
							1	<i>Tr. chilonis</i>

** Vùng Khoái Châu, Hưng Yên*

Năm 1975 tại Hưng Yên sau 23 lần treo trứng, Viện Bảo vệ thực vật đã thu được 7 lần có ong mắt đỏ. Thực tế những ruộng thả ong, lượng ong đã tăng và phát triển ở cả những ruộng không thả ong và không phun thuốc, ong bắt đầu xuất hiện trên ruộng vào thượng tuần tháng 5 với tỷ lệ trứng ký sinh là 21%. Ở những ruộng phun thuốc hóa học cũng thu được 8% số trứng bị ong ký sinh nhưng số ong vũ hóa ra chỉ có 1 - 3%. Năm 1976 số liệu thu được tương tự như năm 1975 nhưng ong mắt đỏ thu được sớm hơn. Kết quả ở một số địa phương cho thấy hàng năm ong tự nhiên xuất hiện thường xuyên trên đồng ruộng với tỷ lệ không cao, lý do là điều kiện thời tiết rất thuận lợi cho dịch sâu hại phát triển và chúng đã gây hại nặng trên đây cách. Chính vì vậy, bổ sung một lượng ong nhân tạo để khống chế mật độ trứng sâu hại ngoài đồng ruộng là công việc quan trọng và cần thiết nhằm định hướng việc ứng dụng ong mắt đỏ, biện pháp sinh học bảo vệ môi trường.

b) Dự tính dự báo để thả ong mắt đỏ diệt trừ một số trứng sâu hại

** Trứng sâu đục thân ngô (*Ostrinia nubilalis* Hubn.)*

Sâu đục thân ngô thường phát sinh và gây hại nghiêm trọng ở vụ ngô xuân muộn, ngô hè, ngô thu, thực tế loài sâu này rất khó phòng trừ. Trong những vụ ngô khi có dịch sâu hại phát sinh cũng là lúc xuất hiện ong mắt đỏ, chúng hoạt động mạnh ngoài tự nhiên. Có tài liệu công bố khoảng 80% số trứng, 100% ổ trứng sâu bị ong mắt đỏ ký sinh trong vụ hè thu, tuy nhiên số trứng còn lại vẫn có khả năng nở thành sâu và chúng đã gây hại đáng kể trên ruộng ngô.

Thả ong để trừ trứng sâu đục thân ngô phải thực hiện vào những vụ ngô có khí hậu nóng ẩm khi sâu phá hoại nặng, hoặc vào những vụ có mưa bão, vì vậy khi thả ong mắt đỏ đã gặp phải bất lợi trên. Kết quả thả ong trừ trứng sâu đục thân ngô chỉ trên diện tích hẹp, nhưng điều đó cũng đã chứng minh rằng ong mắt đỏ có khả năng hạn chế được trứng sâu, hiệu quả đạt 95% ổ trứng và 77% số trứng bị ong ký sinh.

** Trứng sâu cuốn lá lúa loại nhỏ (*Cnaphalocrosis medinalis* G.)*

Sử dụng ong mắt đỏ loài *Tr. japonicum* Ash và loài *Tr. chilonis* để diệt trứng sâu đục thân lúa hai chấm và trứng sâu cuốn lá lúa loại nhỏ được tiến hành từ năm 1974 đến năm 1976 tại Việt Yên, Bắc Giang. Thí nghiệm thả ong trên diện tích 4880 m² lúa mùa, kết quả thả ong *Tr. chilonis* chỉ đạt 34,5% trứng bị ký sinh, thả *Tr. japonicum* đạt 47,2% đến 66,6% trứng bị ký sinh, còn thả hỗn hợp cả hai loại ong thì chỉ đạt 19,7% trứng bị ký sinh. Trước khi thả ong, điều tra không thấy ong tự nhiên, như vậy với các công thức thí nghiệm, kết quả thả ong loài *Tr. japonicum* cao hơn loài *Tr. chilonis* và thả hỗn hợp (bảng 6.15).

Bảng 6.15. Kết quả thả ong trên lúa mùa ở Việt Yên, Bắc Giang năm 1976

Công thức	TS trứng	Tỷ lệ trứng ký sinh (%)						Sâu nhộng bướm		
		Ngoài đồng			Trong phòng			Trước thả ong	Sau thả ong	TS
		Thấp nhất	Cao nhất	TB	Thấp nhất	Cao nhất	TB			
<i>Tr. chilonis</i>	123	3,6	33,3	18,9	3,4	50	34,5	73	53	126
<i>Tr. japonicum</i>	256	0	0	0	25,0	66,6	47,2	33	22	55
Hỗn hợp hai loài	240	2,3	2,3	2,3	7,0	50,0	19,7	86	33	119
Đối chứng	167	0	0	0	0	0	0	54	24	68

* Trứng sâu tơ hại rau (*Plutella maculipennis* Curtis)

Bảng 6.16. Hiệu quả thả ong mắt đỏ trừ trứng sâu tơ hại bắp cải tại HTX Phú Diễn, Từ Liêm, Hà Nội năm 1976

Thời gian	Tỷ lệ trứng KS (%)		Sâu nhộng		Ghi chú
	T.O	Đối chứng	T.O	Đối chứng	
23/9	0	0	104	111	Trước thả ong Sau thả ong
4/10	12,0	0	170	151	
15/10	10,7	11,6	131	127	
19/10	45,5	7,2	144	137	

Sâu tơ là loài sâu hại rau rất nguy hiểm, chúng đã gây hại nặng trên một số giống rau su hào, bắp cải,... loài sâu này đã phát sinh loại hình chống thuốc rất mạnh ngay từ những năm 1975, vì vậy khó dùng thuốc hóa học để phòng trừ. Năm 1976 là năm đầu tiên Viện Bảo vệ thực vật đã tiến hành nghiên cứu thả ong mắt đỏ trên diện tích hẹp 720 m² rau bắp cải (không thấy ong tự nhiên) tại hợp tác xã Phú Diễn, huyện Từ Liêm, thả với 1 triệu ong vàng trên 1 ha, kết quả bước đầu thu được có triển vọng, số trứng sâu tơ bị ong vàng

Tr. chilonis ký sinh ngoài đồng ruộng đạt tỷ lệ 45,5%, trong khi đối chúng có tỷ lệ ong ký sinh chỉ dưới 10%.

* *Trứng sâu đo xanh hại đay cách (Anomis flava Fab.)*

Hàng năm sâu đo xanh phá rất mạnh trên cây đay, có khi sâu ăn trơ trụi cả lá trên diện tích rộng hàng chục ha, có những năm nhiều diện tích đay bị phá bỏ vì dịch sâu đo cao lên tới trên 100 con/m² thậm chí có nơi tới vài trăm con/m².

Theo kết quả điều tra ngoài đồng ruộng cho biết mật độ trứng và sâu non ở bảng 6.17.

Bảng 6.17. Diễn biến về mật độ của sâu đo xanh tại HTX Liên Khê, Khoái Châu, Hưng Yên

Thời gian	TS trứng/m ²		TS sâu non/m ²	
	1975	1976	1975	1976
3/4	-	-	-	0
8/4	-	-	-	0
10/4	0	-	0	0
17/4	0	2	0	5
24/4	0	-	0	-
27/4	3	-	0	-
29/4	1	0	1	0
1/5	0	-	0	-
6/5	1	0	7	3
9/5	1	-	1	-
14/5	1	-	4	-
17/5	-	0	-	4
22/5	60	0	43	12
27/5	26	20	100	-
29/5	-	-	-	27
30/5	37	-	116	-
3/6	57	65	75	126
8/6	-	32	-	265
10/6	59	-	38	-
17/6	-	0	-	151
25/6	6	-	1	-

Sử dụng biện pháp hóa học để diệt trừ sâu đo xanh hại đay cách khi cây cao khoảng 2 mét, lúc cây có gai thường gặp khó khăn vì sau phun thuốc mật độ sâu đo vẫn cao, ruộng phun thuốc lại bị hại nặng hơn đúng vào mùa nóng nực và có mưa liên tục. Dùng ong mắt đỏ

trừ sâu đo xanh hại đay bước đầu gặp khó khăn. Tuy vậy sau khi tiến hành thử hiệu quả ký sinh năm 1974, Viện Bảo vệ thực vật đã thu được một số kết quả nhất định và những năm sau đó đã tập trung nghiên cứu sử dụng ong để diệt trừ trứng sâu đo hại đay với mục đích là xác định hiệu quả ổn định của việc dùng OMD trên đồng ruộng.

Sự phát sinh của sâu đo xanh trên cây đay cách đã được Viện Bảo vệ thực vật xác định hàng năm có 5 lứa, những lứa dịch gây hại nặng thường diễn ra vào tháng 5, tháng 6, thời gian đó cả mật độ trứng, sâu, nhộng đều tăng, giai đoạn trứng phát triển rất ngắn có khi chỉ hơn một ngày đã nở ra sâu non và chúng gây hại nặng rất nhanh khi thời tiết diễn ra thuận lợi. Năm 1974 là năm đầu tiên thăm dò, năm 1975 điều tra thấy trứng, sâu non và nhộng phát sinh rộ từ 22/5 đến 10/6, năm 1976 vì thời tiết rét muộn và hạn hơn, nên đợt trứng rộ bị chậm lại khoảng 10 ngày. Qua 3 năm nghiên cứu về diễn biến của sâu, nhộng đặc biệt là bướm vũ hóa ngoài đồng ruộng, Viện Bảo vệ thực vật đã xác định nếu dùng ong mắt đỏ để diệt trứng sâu đo xanh hại đay cách trong lứa dịch thì chỉ cần tiến hành điều tra theo dõi bám sát cây đay ngay từ đầu tháng 5 và chủ yếu từ ngày 20/ 5 trở đi, khi thấy mật độ trứng khoảng 20 - 30 quả trên 1 m² đay thì bắt đầu tiến hành thả ong là có hiệu quả.

** Tình hình vũ hóa của bướm sâu đo trong lứa dịch*

Khi sâu đo xanh vào nhộng thì thu về theo dõi kết quả vũ hóa của bướm (bảng 6.18).

Bảng 6.18. Sự vũ hóa của bướm sâu đo xanh năm 1976

Thời gian điều tra	TS nhộng	Vũ hóa(%)	Vũ hóarộ (ngày)	Vỏ nhộng trên ruộng
1/ 5	68	91,15	3 đến 5/5	33%
28/ 5	28	100,00	1 - 3/6	
29/ 5	31	93,00	2 - 4/6	
2/ 6	114	97,00	5 - 6/6	28%
5/ 6	114	100,00	7 - 8/6	43%

Số liệu ở bảng 6.18 cho thấy bướm đã vũ hóa khá cao, với tỷ lệ trên 90%, đây là nguyên nhân gây hại đay rất nặng. Trên cơ sở xác định khả năng đẻ trứng và số lượng trứng cũng như thời gian bướm

rộ, dựa vào lượng bướm vũ hoá, các nhà khoa học Bảo vệ thực vật đã điều hòa lượng ong và thời gian thả nhằm đạt kết quả cao.

** Xác định vị trí đẻ trứng của bướm trên các tầng lá đay*

Xác định vị trí đẻ của bướm sẽ giúp cho phương pháp thả ong thích hợp nhằm đảm bảo hiệu quả ký sinh của ong. Trên cây đay hàng năm sâu đo phát sinh lứa dịch vào lúc thời tiết thuận lợi, khi cây sinh trưởng tốt, đạt độ cao nhất định. Tiến hành điều tra lúc đay xanh tốt óng ả, cây có chiều cao 2 mét nhận thấy bướm đẻ ở tầng cao từ 0,92-1,22 mét, cây có khoảng 16 lá (cả lá thật và lá lách), tỷ lệ trứng đẻ ở tầng lá này khoảng 41%. Ở tầng cao 1,22 mét đến 1,52 mét, tỷ lệ trứng đẻ chiếm 29%, ở tầng cao đến 1,52 đến 1,82 mét tỷ lệ chiếm 12%, còn lại là phần ngọn cao 1,82 mét chiếm 18%. Như vậy là bướm đẻ tập trung ở tầng thấp vì vậy nên thả ong ở tầng lá thấp để ong dễ hoạt động, phù hợp cho ong ký sinh.

** Khả năng diệt trứng của ong*

Qua ba năm thí nghiệm thả ong mắt đỏ diệt trứng sâu đo xanh ngoài đồng ruộng từ chỗ thăm dò trên diện hẹp vài sào, kết quả bước đầu đạt 57% số trứng bị ong ký sinh, cho đến khi tăng diện tích lên 1 - 3 ha, hiệu quả trứng bị ong ký sinh lên đến 80% - 84,61%. Điều đó khẳng định ong mắt đỏ có khả năng diệt được trứng sâu đo xanh với tỷ lệ cao, trứng bị ong ký sinh sau vài ngày điều tra thấy có màu đen. Điều tra để tìm ong mắt đỏ ký sinh trứng thấy nhiều nhất ở gần điểm thả, hầu như trứng từ tầng lá thấp đến cao đều bị ong ký sinh mặc dù lá có 3 - 4 trứng, có cây trên 10 trứng bị ong ký sinh. Kết quả thả ong diệt trứng sâu đo đạt hiệu quả cao còn được chứng minh bởi lá cây đay còn nguyên vẹn và lành lặn hơn, ở những ruộng đôi chúng không thả ong thì sâu đo xanh đã ăn lá xác xơ, làm trụi cả ngọn cây. Tỷ lệ trứng bị ong ký sinh không có khả năng nở thành sâu non (bảng 6.19) đây là chỉ tiêu quan trọng nhất của kết quả thả ong.

Bảng 6.19. Khả năng ong mắt đỏ *Tr. chilonis* Ishii ký sinh trứng sâu đo xanh hại đay cách tại HTX Liên Khê, Khoái Châu, Hưng Yên

Năm	Diện tích thả ong (m ²)	Tỷ lệ kí sinh cao nhất (%)
1974	1.080	57,03
1975	10.000	80,00
1976	30.000	84,61

** Khả năng ký sinh của ong trên đơn vị trứng*

Mỗi loại ong chỉ ký sinh 1 loại trứng ký chủ hại nhất định, không những thế mà mỗi đơn vị trứng ký chủ còn cho số lượng ong mất đồ khác nhau. Ví dụ với 1 trứng ngài mạch cho 1 ong, 1 trứng ngài gạo cho 2 ong, 1 trứng sâu xám cho nhiều hơn và trứng tầm sắn, trứng bướm phượng có thể cho vũ hóa đến trên 30 ong. Với trứng sâu đo xanh hại đay số liệu ở bảng 6.20.

Bảng 6.20. Khả năng ký sinh của ong mắt đỏ (*Tr. chilonis* Ishii) trên một trứng sâu đo xanh ngoài đồng ruộng

Năm	Số trứng nở ong	Tỷ lệ ong (%)					Tỷ lệ vũ hoá (%)	Ghi chú
		1 ong	2	3	4	5 ong		
1974	14	35,0	57,0	8,0	0	0	80,0	Trứng thu từ đồng ruộng về theo dõi
1975	161	53,0	36,0	11,0	0	0	80,0	
1976	124	24,1	28,1	39,5	8,3	0	80,0	

Như vậy ong mắt đỏ thường ký sinh trên một đơn vị trứng có thể cho vũ hóa từ 1 - 4 ong, không thấy có 5 ong. Đa số cho 1 - 2 - 3 ong nhưng số lượng cho 2 ong là phổ biến, chiếm 40% rồi đến 1 ong chiếm 37% và 3 ong chiếm 19,5% còn lại là 4 ong. Điều đó cho thấy khả năng tự nhân ong trên ruộng cũng khá nhanh và thuận lợi, đây là khả năng tự nhân ong trong tự nhiên rất cao và thực tế cho thấy là hiệu quả phòng trừ cao.

** Tình hình thiệt hại trên ruộng thí nghiệm*

Sự thiệt hại do sâu đo xanh gây ra cho đay là rất rõ, ở tuổi nhỏ khi mật độ thấp thì sâu thường ăn rõ lá, nhưng khi sâu lớn phát triển nhiều, chúng ăn khuyết làm xơ lá có thể trụi phần ngọn và cả lá dẫn đến hàng chục ha đay bị hủy bỏ.

Đánh giá thiệt hại không thể dựa vào tỷ lệ cây hại mà phải dựa vào cấp lá và cấp cây bị hại. Kết quả nghiên cứu những năm 1975-1978 của Viện Bảo vệ thực vật cho thấy ruộng thả ong và ruộng đối chứng có sự chênh lệch nhau rõ rệt, ruộng thả ong do trứng bị ký sinh nên không bị hại nhiều.

Như vậy ruộng không thả ong diễn biến về mức hại cao đạt 43,3% vào năm 1975 và 84,82% năm 1978, thậm chí bên ngoài tới 96,57%. Trong khi đó ruộng thả ong chỉ hại 37,5% vào năm 1975 và 19,73% vào năm 1978, sự chênh lệch này bằng mắt thường có thể

nhìn thấy được, ở những ruộng phun thuốc hóa học tỷ lệ bị hại còn nặng hơn nhiều.

Bảng 6.21. Hiệu quả của việc thả ong *Tr. chilonis* Ishii diệt trứng sâu đo xanh hại đay cách ở HTX Liên Khê

Công thức	Mức hại cao nhất sau khi thả ong (%)		Ghi chú
	1975	1976	
Thả ong	37,5	19,73	Ruộng ngoài tự nhiên có phun thuốc...
Đc I	43,6	75,74	
Đc II	53,5	84,82	
Đc III	55,9	96,57	

*** Phương pháp sử dụng ong**

Ong mắt đỏ là sinh vật sống thả trong điều kiện Việt Nam. Do vậy muốn đạt hiệu quả kỹ thuật cũng như hiệu quả về kinh tế còn gặp khó khăn vì khi sử dụng không chỉ phụ thuộc vào chính ong ký sinh và trứng sâu hại, mà còn phụ thuộc vào cây trồng, khí hậu và thời tiết...

*** Khả năng phát tán của ong trên ruộng đay cách**

Hiệu quả kinh tế khi sử dụng ong mắt đỏ còn phụ thuộc vào khả năng hoạt động của ong rộng hay hẹp, xa hay gần. Nếu phạm vi hoạt động của ong mắt đỏ rộng sẽ phát huy được tác dụng bởi chúng dễ tìm thấy nhiều trứng sâu hại hơn. Nghiên cứu về khả năng phát tán của ong, các nhà khoa học Bảo vệ thực vật cho biết là còn tùy thuộc vào hướng và tốc độ của gió, vì ong mắt đỏ có kích thước nhỏ bé, chúng rất dễ bị cuốn theo chiều gió cho nên tùy loài ong trong mỗi điều kiện ngoại cảnh mà người ta xác định số điểm thả ong trên từng loại cây trồng ứng với mỗi diện tích. Mục đích chính là tìm hiểu khả năng phát tán (nội tại) của ong, thực tế khi thả ong nếu có gió nhẹ, chỉ cần khảo sát khả năng phát tán của ong theo hai hướng xuôi và ngược chiều gió, càng về sau ong càng lan xa hơn.

Sau thả hai ngày, điều tra thấy ong có thể hoạt động cách điểm thả 50 mét theo chiều dọc và 3 mét theo chiều ngang. Sau thả 4 ngày ong có thể lan xa theo chiều dọc tới 200 mét và chiều ngang thì ngắn hơn phạm vi 3 mét. Như vậy là ong mắt đỏ có thể lan truyền theo chiều dọc mạnh hơn. Từ kết quả trên Viện Bảo vệ thực vật đã rút ra nhận xét, khi thả ong trên một diện tích phải thả chéo về

dầu hướng gió và phân bố lượng ong sao cho đều và phù hợp với toàn bộ diện tích thả. Trên cây đay nên phân bố theo chiều dọc là 50 m và ngang là 3 m để có thể đảm bảo cho ong sống được trong thời gian ong ký sinh trứng sâu hại.

Bảng 6.22. Khả năng phát tán của ong *Tr. chilonis* Ishii trên ruộng đay cách

Khoảng cách (m)	Tỷ lệ ký sinh (%)			
	Xuôi gió		Ngang gió	
	Sau 2 ngày	4 ngày	Sau 2 ngày	4 ngày
1	23,2	0,06	29,9	21,3
3	19,7	7,30	11,9	5,3
10	12,3	24,00	0	0
25	34,5	20,00	0	0
50	5,7	2,00	0	0
100	0	2,60	0	0
200	0	2,00	0	0
300	0	0	0	0

*** Mật độ thả**

Mật độ thả ong trên một đơn vị diện tích cũng còn tùy theo khả năng nội tại của ong mắt đỏ mà chúng có thể tìm thấy trứng sâu hại để ký sinh. Vấn đề này còn phụ thuộc vào mật độ trứng và sâu hại trên đồng ruộng cũng như hiện trạng của cây trồng và thời tiết khí hậu trong thời gian thả. Theo dõi về mật độ thả ong cho thấy nếu như thả rải rác trên cây theo phương pháp zích zắc thì lượng thả 150.000 ong trên 1 ha, hiệu quả chỉ diệt được khoảng 50% trứng sâu hại. Nhưng thả với lượng 500.000 ong đến 1 triệu ong thì đạt hiệu quả tốt và thả tập trung khoảng 50% số ong vào lứa dịch sẽ cho hiệu quả cao nhất.

Quá trình thả được tiến hành nhiều năm theo quy luật chung từ 1974-1979 Viện Bảo vệ thực vật xác định nên thả ong làm vài lần, thả đợt đầu 10% và 50% vào cao điểm đợt trứng rộ của lứa dịch là hợp lý nhưng nhất thiết phải điều tra mật độ bướm và trứng trên đồng ruộng, kể từ 20 tháng 5 trở đi 3 ngày tiến hành thả một lần. Đối với việc thả ong mắt đỏ loài *Tr. chilonis*, người ta thường dùng trứng sắp vũ hóa ra ong và thả vào khoảng 10 giờ sáng khi trời râm mát, gió nhẹ là tốt nhất.

** Dụng cụ và phương pháp thả ong*

Để đảm bảo thả ong có hiệu quả trên mỗi loại cây trồng ở mỗi địa phương khác nhau và tùy hoàn cảnh thủ công hay hiện đại cần áp dụng phương pháp riêng. Với cây day, thả ong theo tổ sẽ tránh được thời tiết xấu và đảm bảo cho con ong cuối cùng vẫn sống và hoạt động được. Tổ ong được làm bằng giấy dầu, hình ống, hai đầu có tai, tránh mưa và gió to, kích thước 4 - 5 cm, có dây sắt làm móc treo lên cây day.

6.1.3.4. Kết quả nhân nuôi ong mắt đỏ nhập nội đại trà

Năm 1982, Viện Bảo vệ thực vật đã nhập về từ Liên Xô cũ 4 loài ong mắt đỏ *Tr. evanescens*, *Tr. embryophagum*, *Tr. cacoeciae*, *Tr. semblidis* và 2 loài ong nội địa *Tr. japonicum* và *Tr. chilonis*. Đánh giá khả năng phát triển của các loài ong nhập nội trong điều kiện Việt Nam thông qua theo dõi một số chỉ tiêu sinh học của 2 loài ong nhập nội là: *Tr. evanescens* và *Tr. embryophagum*. Đây là 2 loài ong đã được sử dụng rộng rãi ở Liên Xô cũ đạt hiệu quả cao, loài ong nội địa làm đối chứng là *Tr. chilonis*. Kết quả nghiên cứu đã xác định được loài ong *Tr. evanescens* có thể sử dụng chủ yếu để phòng trừ sâu hại rau vì loài ong này ưa điều kiện có ẩm độ khoảng 75-80%, thích hợp với nhiệt độ là 20°C, ngược lại ong *Tr. embryophagum* phân bố chủ yếu trên cây rừng nên ưa độ ẩm thấp. Thí nghiệm vào tháng 10/1982 sau khi nhập ong từ Liên Xô về và kết thúc vào tháng 6/1983 trong điều kiện nhiệt độ, ẩm độ không thích hợp. Mỗi công thức được bố trí với 50 trứng ký sinh đen và 300 trứng ký chủ ngài gạo *Coryra cephalonica* tươi, thí nghiệm nhắc lại 3 lần. Kết quả ở bảng 6.23.

** Kết quả cho thấy*

– Thời gian sinh trưởng của 2 loài ong nhập nội *Tr. evanescens* và *Tr. embryophagum* không sai khác gì so với loài ong nội địa *Tr. chilonis* nhưng tỷ lệ ký sinh của ong nhập nội bao giờ cũng thấp hơn so với ong địa phương, sự khác biệt đó thể hiện rõ rệt vào các tháng 4, 5 và 6.

– Giữa 2 loài ong nhập nội thì tỷ lệ ký sinh của loài *Tr. evanescens*

và *Tr. embryophagum* sai khác nhau không theo quy luật, thực tế không khác biệt với điều kiện tự nhiên.

Bảng 6.23. Khả năng phát triển của hai loài ong nhập nội trong phòng thí nghiệm

Thời gian	Loài ong theo dõi	Chỉ tiêu theo dõi				
		Thời gian sinh trưởng	TL ký sinh (%)	TL (%) vũ hóa	Tỷ lệ E' (%)	T°C A(%)
10/1982	1- <i>Tr. evanescens</i>	8,5	65,96	95,97	57,8	T°:23,1 A : 65,3%
	2- <i>Tr. embryophagum</i>	8,5	9,34	78,72	50,27	
	3- <i>Tr. chilonis</i>	8,5	81,12	80,79	52,07	
11/1982	1- <i>Tr. evanescens</i>	11,5	70,7	89,0	55,56	t°: 22,7 69,8%
	2- <i>Tr. embryophagum</i>	11,5	15,74	75,25	55,35	
	3- <i>Tr. chilonis</i>	11,5	75,50	84,68	51,04	
1/1983	1- <i>Tr. evanescens</i>	20	68,95	97,52	66,0	t°:16,8 70,9%
	2- <i>Tr. embryophagum</i>	20	63,40	90,00	53,01	
	3- <i>Tr. chilonis</i>	26	82,38	85,16	60,87	
2/1983	1- <i>Tr. evanescens</i>	20,5	40,77	100	42,5	T°:17,3
	2- <i>Tr. embryophagum</i>	20,5	66,34	94	58	
	3- <i>Tr. chilonis</i>	20,5	73,12	90,31	52,63	
3/1983	1- <i>Tr. evanescens</i>	17,5	36,39	94,91	32,5	t°:18,8 75,76%
	2- <i>Tr. embryophagum</i>	17,5	40,50	84	51,4	
	3- <i>Tr. chilonis</i>	17,5	85,22	89,47	52,17	
4/1983	1- <i>Tr. evanescens</i>	10,5	47,74	82,70	54,71	t°:24,60 77,41%
	2- <i>Tr. embryophagum</i>	10,5	44,3	87,41	55,73	
	3- <i>Tr. chilonis</i>	10,5	79,22	90,38	52,73	
5/1983	1- <i>Tr. evanescens</i>	7,5	49,0	94	60,75	t°:30,02 76,0%
	2- <i>Tr. embryophagum</i>	7,5	48,08	95,7	56,24	
	3- <i>Tr. chilonis</i>	7,5	87,13	97,65	55,19	
6/1983	1- <i>Tr. evanescens</i>	41,19	98,24	61,75		t°:31,03 79,9%
	2- <i>Tr. embryophagum</i>	7	0,54	0	-	
	3- <i>Tr. chilonis</i>	7	34,36	4,78	-	
		7	0			
		7	78,8	90,38	54,20	

Ghi chú: * Tỷ lệ E: Tỷ lệ hữu hiệu (Effective).

– Nhiệt độ và ẩm độ ở tháng 6 đã làm giảm thấp tỷ lệ ký sinh và tỷ lệ vũ hóa của 2 loài ong nhập nội.

– Đối với ong *Tr. evanescens* ở lứa đầu cho tỷ lệ ký sinh và tỷ lệ vũ hóa là 41,19% và 98,24%. Tuy tỷ lệ vũ hóa cao nhưng ong vũ hóa ra hoạt động rất kém, khả năng sinh sản giảm nên dẫn đến tỷ lệ ký sinh lần sau chỉ đạt 0,54% và về sau ong mất đỏ không thể vũ hóa ra được.

– Đối với ong *Tr. embryofagum* cho tỷ lệ ký sinh và tỷ lệ vũ hóa là 34,36% và 4,78%, ong vũ hóa ra không còn sức sinh sản tỷ lệ ký sinh là 0%. Viện Bảo vệ thực vật đã tiến hành giải phẫu tất cả những trứng ký sinh của lứa ong thứ 2 thì thu được kết quả là phôi ong hoặc ong trưởng thành bị chết không thấy trong trứng ký chủ.

Ngược lại với loài ong nội địa *Tr. chilonis* thì không có tình trạng trên mà ong giữ được tỷ lệ ký sinh và vũ hóa cao ngay cả trong điều kiện nhiệt độ cao của tháng 6/1983.

Về tỷ lệ ong E: Cả 3 loài ong trên đều có tỷ lệ E bình thường không có những sai khác đáng kể trong điều kiện nhiệt độ và ẩm độ ở các tháng khác nhau, đặc biệt là ong *Tr. embryofagum* được nhân bằng trứng ngài gạo vẫn cho tỷ lệ E bình thường. Hai loài ong nhập nội khi nhân bằng trứng ngài gạo cho thấy:

– Thời gian sinh trưởng không khác so với loài nội địa *Tr. chilonis*

– Tỷ lệ ký sinh thấp hơn loài ong nội địa.

– Điều kiện nhiệt độ và ẩm độ vào hạ tuần tháng 6/1983 dẫn đến khả năng ký sinh và vũ hóa của các loài nhập nội giảm, có khả năng mất giống. Thử nghiệm khả năng ký sinh của các loài ong nhập nội trên trứng một số sâu hại và ký chủ nhân tạo trong phòng thí nghiệm cho thấy:

– Đối với trứng tầm sắn: Chỉ có các loài ong *Tr. evanescens*, *Tr. cacaoeciae* và *Tr. chilonis* ký sinh nhưng tỷ lệ không cao, trong 1 trứng ký chủ cho vũ hóa từ 16 - 27 ong.

Kết quả điều tra thu thập thành phần OMD và các loài ong ký sinh khác ở bảng 6.24.

Bảng 6.24. Thành phần ong ký sinh trứng trên lúa CR 203 trong vụ mùa tại HTX Minh Khai, Từ Liêm, Hà Nội

Tên Việt Nam	Tên khoa học	Họ	Bộ	Ký chủ
OMD màu đen	<i>Trichogramma japonicum</i>	<i>Trichogrammatidae</i>	Hymenoptera	CLN, SĐT 2 chấm, sâu đo xanh
Ong màu vàng	<i>Trichogramma chilonis</i>	nt	nt	sâu đo xanh
Ong đen	<i>Telenomus dignus</i>	<i>Scelionidae</i>	nt	SĐT 2 chấm
Ong xanh	<i>Tetrastichus schoenobii</i>	<i>Tetrastichidae</i>	nt	SĐT 2 chấm

OMĐ *Tr. chilonis* có khả năng ký sinh trứng sâu tơ rất cao 83,33%, sau đó đến ong nhập nội *Tr. evanesens* là 19,43%.

Bảng 6.25. Khả năng ký sinh của OMĐ trên một số trứng ký chủ trong phòng thí nghiệm

Loài ong	Trứng tằm sắn			Trứng sâu tơ		
	TLKS (%)	TL ong E	TL ong /trứng	TLKS %	TL VH (%)	TL ong E (%)
1- <i>Tr. evanesens</i>	29.51	70.39	27.76	19.43	100	66.6
2- <i>Tr. cacoeciae</i>	31.71	75.39	26.06	-	-	-
3- <i>Tr. embryophagum</i>	-	-	-	-	-	-
4- <i>Tr. semblidis</i>	-	-	-	-	-	-
5- <i>Tr. chilonis</i>	38.11	71.32	16.66	83.33	100	58.53
6- <i>Tr. japonicum</i>	-	-	-	-	-	-

Đối với trứng sâu tơ chỉ có ong *Tr. evanescens* và *Tr. chilonis* ký sinh nhưng *Tr. evanescens* có tỷ lệ ký sinh thấp 19,34% trong khi đó *Tr. chilonis* cho tỷ lệ ký sinh rất cao 83,33%.

Bảng 6.26. Diễn biến số lượng và tỷ lệ ký sinh của 3 loài ong trong vụ mùa 1983 trên lúa CR203 tại HTX Minh Khai, Từ Liêm, Hà Nội

Ngày điều tra	GD sinh trưởng	Số ổ trứng kiểm tra	Ổ bị ký sinh	Số ong kiểm tra	Tỷ lệ (%) mỗi loài ong		
					OMĐ	Ong đen	Ong xanh
20-6	mạ	18	83.3	275	49.32	50.68	0
25-6	-	40	85	365	41.40	58.60	0
30-6	-	35	88.57	296	57.15	42.85	0
9-7	mạ muộn	21	80.95	231	35.65	64.35	0
15-7	-	15	73.35	176	38.54	61.46	0
20-7	-	13	76.92	162	29.17	70.83	0
25-7	đẻ nhánh	14	71.42	184	30.88	69.22	0
29-7	-	10	70	192	27.57	72.43	0
10-8	rễ xanh	9	88.88	1979	33.33	66.67	0
15-8	-	12	83.33	187	35.77	64.23	0
25-8	-	10	70	115	32.85	57.58	9.57
5-9	đứng cái	13	76.92	94	31.01	48.15	20.84
15-9	-	23	86.95	322	27.13	53.77	19.10
20-9	đòng	25	88	247	19.84	52.46	27.7
28-9	-	11	81.81	194	15.72	52.79	31.49
3-10	-	9	77.77	146	17.68	25.95	56.37
10-10	trổ	12	91.66	98	8.97	41.19	49.84
17-10	-	15	93.3	128	5.13	29.17	60.70
24-10	chính	7	100	210	0.78	28.05	71.17
1-11	-	11	90	150	0	23.8	76.20
7-11	nt	7	100	107	0	12.36	87.64

Đối với trứng sâu đục thân 2 chấm và sâu cuốn lá loại nhỏ thì các loài ong nhập nội không ký sinh, loài ong nội địa *Tr. japonicum* cho tỷ lệ ký sinh cao hơn loài ong *Tr. chilonis*.

Về thành phần OMD thu được cả ong đen *Tr. japonicum* và ong vàng *Tr. chilonis* ký sinh trứng sâu đo xanh.

Về biến động thành phần cả ba loài ong ký sinh chính trên trứng sâu đục thân bướm hai chấm (*Tr. japonicum*, *Telenomus dignus*, *Tetrastichus schoenobii*).

Ba loài ong trên đã xuất hiện và tuân theo một quy luật nhất định:

- Ong mắt đỏ *Trichogamma japonicum*: Xuất hiện từ đầu vụ có mật độ cao vào tháng 6 - 7 là 39,54% và giảm dần vào cuối vụ đến đầu tháng 11 không xuất hiện nữa.

- Ong đen *Telenomus G*: Chiếm tỷ lệ cao vào tháng 7- 8 gần gấp đôi so với loài *Tr japonicum*, sau đó giảm dần đến cuối tháng 10 chỉ còn trên 23%. Loài này mới tìm thấy từ trứng sâu đục thân bướm 2 chấm có khả năng ký sinh ở các tháng có trứng ký chủ xuất hiện. Ong này có số lượng nhiều hơn và thích ứng với phạm vi nhiệt độ và ẩm độ rộng hơn *Tr. japonicum* và cũng giảm dần về cuối vụ.

- Ong xanh *Tetrastichus schoenobii* Fer: Bắt đầu xuất hiện vào giữa tháng 8, tỷ lệ tăng dần và chiếm ưu thế vào tháng 11 cuối vụ với tỷ lệ ký sinh 64% - 87%.

Tỷ lệ ổ trứng bị 3 loài ong ký sinh trên rất cao, song tỷ lệ trứng bị ký sinh không cao, khoảng thời gian đẻ trứng của mỗi loài ong có khác nhau.

- + OMD: Chỉ đẻ trứng ở trên ổ trứng sâu đục thân hai chấm là chủ yếu, ở tầng giữa rất ít.

- + Ong đen: Đẻ ở cả ba tầng nhưng chủ yếu là tầng 1 và 2.

- + Ong xanh: Cũng có khả năng ký sinh cả 3 tầng trứng.

Trên trứng sâu đục thân hai chấm có ba loài ong ký sinh là *Tr. japonicum*, *Telenomus dignus* và *Tetrastichus schoenobii*, chúng xuất hiện vào đầu vụ và giảm dần vào cuối vụ, trong đó tỷ lệ và thành phần của OMD gần gấp đôi. Ong xanh xuất hiện muộn vào cuối vụ.

6.1.3.5. Kết quả thả OMD diệt trừ trứng sâu đo xanh hại đay cách ở HTX Mễ Sở, Khoái Châu, Hưng Yên năm 1980 và HTX Hồng Minh, Hưng Hà, Thái Bình năm 1981*

Mễ Sở là một xã tiên tiến của huyện Khoái Châu, tỉnh Hưng Yên trong những năm bao cấp, tại đây các cán bộ của xã rất năng động, luôn tiếp cận với khoa học kỹ thuật mới. Vụ đay năm 1980, được sự giúp đỡ của Viện Bảo vệ thực vật, HTX đã ứng dụng OMD diệt trừ trứng sâu đo xanh hại đay cách trên diện tích đại trà 2 ha, bố trí hai thí nghiệm với lượng ong khác nhau, kết quả đạt được trình bày ở bảng 6.27.

Bảng 6.27. Hiệu quả của OMD (*Tr. chilonis*) diệt trừ trứng sâu đo xanh hại đay cách ở HTX Mễ Sở, Khoái Châu, Hưng Yên năm 1980

Lượng ong thả/ha	Tỷ lệ (%) trứng sâu xanh bị diệt sau TN					T (°C) TB	H (%) TB
	2 ngày	3	5	7	12		
500.000	7,5	25,7	40,5	46,5	50,5	28,1	81,7
1.000.000	13,5	36,5	48,7	59,8	69,3	28,1	81,7

Kết quả cho thấy OMD loài *Tr. chilonis* có hiệu quả diệt trừ trứng sâu đo xanh hại đay cách tốt, tỷ lệ ký sinh trứng sâu đo cao đạt 59,8-69,3% vào ngày 30/5 - 4/6 ở công thức thả 1 triệu ong/ha, sau 5-10 ngày thả dễ dàng thu được nguồn trứng ong đen bị ong ký sinh, thu trứng đen mang về phòng thí nghiệm theo dõi thấy trung bình 1 trứng có thể vũ hóa từ 1 - 3 ong mắt đỏ màu vàng, đa số là vũ hóa ra 2 ong.

Năm 1981 tại xã Hồng Minh, huyện Hưng Hà, tỉnh Thái Bình có diện tích trồng đay cách lớn nhất huyện và năm đó cũng xuất hiện dịch sâu đo xanh hại đay cách ngay từ đầu tháng 5. Tác giả đã xuống địa phương giúp HTX nghiên cứu sử dụng OMD để diệt trừ trứng sâu đo xanh hại đay cách trên diện tích 2 ha, kết quả phòng trừ ở bảng 6.28.

Kết quả thu được tỷ lệ trứng sâu đo xanh hại đay cách bị OMD ký sinh đạt 50,3 - 65,8% sau 7 - 10 ngày thả ong. Số trứng sâu đo xanh bị OMD ký sinh có màu đen ngoài đồng về để phân tích thấy đa số trứng vũ hóa ra 2 - 3 ong màu vàng. Số liệu này còn

* Phạm Thị Thùy, bộ môn Phương pháp sinh học

MỘT SỐ HÌNH ẢNH VỀ KẾT QUẢ THẢ OMD
KỶ SINH SÂU ĐO XANH HẠI ĐẬY Ở THÁI BÌNH NĂM 1980



Hình 6.1. Chuyên gia Liên Xô (cũ), Chủ nhiệm HTX và cán bộ Viện BVTV thăm và đánh giá kết quả thả OMD trừ sâu đo xanh hại đậu năm 1981 ở Hồng Minh, Hưng Hà, Thái Bình



Hình 6.2. Điều tra và thu thập OMD trên cây ăn quả ở Hà Nội năm 1979



Hình 6.3. Kiểm tra kết quả thả OMĐ (*Tr. japonicum*) ký sinh trên sâu cuốn lá lúa loại nhỏ ở Hưng Yên năm 1979



Hình 6.4. Kiểm tra trứng sâu cuốn lá bị OMĐ ký sinh

khả năng định ong mất đỏ màu vàng *Tr. chilonis* rất nhạy cảm với trứng sâu đo xanh hại đây cách.

Bảng 6.28. Hiệu quả của OMD (*Tr. chilonis*) diệt trứng sâu đo xanh hại đây cách ở HTX Hồng Minh, Hưng Hà, Thái Bình năm 1981

Lượng ong thả/ha	Tỷ lệ (%) trứng sâu xanh bị diệt sau TN					T (oC) TB	H (%) TB
	2 ngày	3	5	7	10		
500.000	8,5	28,2	45,5	50,3	57,5	28,7	80,2
1.000.000	12,0	38,5	50,6	56,8	65,8	28,7	80,2

Như vậy kết quả thả OMD màu vàng diệt trứng sâu đo xanh từ những năm 1976 - 1981 khả năng, trứng sâu đo xanh *Anomis flava* là phổ ký chủ thích hợp cho OMD ký sinh nếu như thả ong đúng thời điểm khi trứng sâu đo xanh rộ, việc thả ong phải đúng phương pháp, các tổ ong phải được phân bố đều trên ruộng đây theo chiều hướng gió và chú trọng đến nơi có mật độ trứng sâu đo xanh cao thì chắc chắn sẽ đạt hiệu quả.

6.1.3.6. Kết quả thả OMD diệt trừ trứng sâu đo xanh hại đây cách ở Khoái Châu, Hưng Yên năm 1984- 1985*

a) Nội dung nghiên cứu

* Điều tra quy luật phát sinh gây hại và biến động số lượng của sâu đo xanh để xác định thời gian và liều lượng thả OMD.

* Công nghệ sản xuất trứng ngài gạo nhân nuôi ngài gạo, theo từng lứa tập trung vào các cao điểm của bướm rộ ở ba lứa tuổi 4, 5, 6 để đảm bảo lượng trứng mới. Thực hiện quy trình sản xuất nghiêm túc để đạt tỷ xuất nhân ngài gạo 1: 8.

* Công nghệ sản xuất OMD trên 80 triệu ong theo kế hoạch để thả trên diện tích 270 ha, đồng thời sản xuất thêm một lượng ong để đề phòng thiên tai hoặc các yếu tố rủi ro khác.

* Kỹ thuật thả OMD đảm bảo thả 50 điểm/ha (200m²/điểm với khoảng cách 10 x 20 m). Chia OMD theo m² để giao cho các hộ xã viên thả OMD, tùy theo lượng ong người ta thả khoảng cách 5 x 5, 10 x 5, 10 x 10, 10 x 15 m.

* Theo tài liệu của cố PGS. TSKH Trương Thanh Giản, nguyên Phó Viện trưởng Viện Bảo vệ thực vật, nguyên Giám đốc Trung tâm Sinh học đầu tiên

Chú ý trọng điểm ở đợt 2, nơi có mật độ trứng sâu cao cần tăng lượng OMD tương ứng. Thả OMD mới bắt đầu vũ hoá.

b) Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

** Vật liệu:*

– Loài OMD *Trichogramma chilonis* Ishii (Nguyễn Ngọc Tiến, 1973, 1976). Ong gốc thu được từ trứng sâu đo xanh bị ký sinh trên ruộng đay giống tại HTX Đông Kết và Liên Khê, huyện Châu Giang, tỉnh Hưng Yên. Đây là hai hợp tác xã đầu tiên được triển khai dùng ong mắt đỏ trừ trứng sâu đo xanh từ năm 1976 và năm 1985 đã sử dụng OMD trên toàn bộ diện tích 270 ha đay.

– Ngài gạo *Corcyra cephalonica* Stain làm ký chủ nhân tạo để sản xuất ong mắt đỏ. Ngài gạo được thu từ kho thóc Lương Yên, Hà Nội năm 1975 - 1984 và đã được nuôi một số thế hệ trong phòng thí nghiệm tại Bộ môn Sinh học Viện Bảo vệ thực vật.

– Sâu đo xanh *Anomis flava* Fabr. được thu thập trên ruộng đay giống của HTX Liên Khê và Đông Kết từ tháng 10, 11 năm 1984 và trên cây đay mới trồng đầu tháng 3 năm 1985.

– Cây đay cách - *Hibiscus cannabicus* L. là giống đay cổ truyền của địa phương có từ xa xưa.

** Phương pháp:*

Các thí nghiệm về ngài gạo, OMD được tiến hành theo phương pháp chung của Liên Xô cũ, của Bộ môn Sinh học Viện Bảo vệ thực vật và Viện Sinh học (cũ).

Về công nghệ nhân nuôi ngài gạo: Ngài gạo được nuôi riêng từng lứa trong phòng cách ly thay cho cách nuôi liên tiếp gối nhau không thành lứa trước đây. Từng giai đoạn phát triển của sâu được chuyển sang các phòng nuôi thích hợp.

Về công nghệ nhân OMD dùng phương pháp khung hộp có điều chỉnh ánh sáng, độ ẩm, có định lượng trứng ký chủ theo ô rải đều trên mặt giấy thay cho nhân nuôi bằng bô can trước đây.

Về nuôi sâu đo xanh cá thể, tập thể được tiến hành trong phòng thí nghiệm theo các phương pháp thường quy bằng các dụng cụ phổ thông như cốc thủy tinh, bô can, lồng lưới, nhà lưới,... Thức ăn nuôi sâu đo xanh là lá đay và các cây đay được trồng liên tục từ

tháng 10 năm 1984 ngoài đồng ruộng của HTX.

Điều kiện phòng nhân nuôi đảm bảo cho ngài gạo, OMD và sâu đo xanh phát triển bình thường: Phòng nuôi được cách ly, vệ sinh thường xuyên và thay đổi theo chu kỳ để tránh tạp nhiễm.

Phương pháp điều tra mật độ sâu đo xanh, quy luật phát sinh gây hại được tiến hành theo phương pháp của Viện Bảo vệ thực vật, Viện Sinh học (cũ), Trạm Bảo vệ thực vật đồng bằng Bắc bộ. Đánh giá sự phát dục của ký chủ, ký sinh trong phòng nuôi theo phương pháp chung. Tổng hợp các số liệu từ Trạm Bảo vệ thực vật phía Bắc, Trạm khí tượng Hưng Yên và trên những số liệu đã công bố của Viện Bảo vệ thực vật để lên biểu đồ về quy luật phát sinh của sâu đo xanh, của OMD xuất hiện tự nhiên trên đồng ruộng.

Điều tra ngoài đồng ruộng ngay từ cuối vụ cấy giống đến khi làm đất, gieo hạt vụ mới và theo dõi sự phát triển của sâu đo xanh trên ruộng cấy, từ khi cây cấy có hai lá sò đến khi thu hoạch để phục vụ cho dự báo thả ong.

** Phương pháp thả ong mắt đỏ*

Thả tối thiểu 50 điểm trên 1 ha và thả theo ổ khi ong bắt đầu vũ hoá.

– Bổ sung một lượng OMD trên đồng cấy ngay từ khi có trứng sâu đo xanh.

– Mật độ sâu đo xanh vào cao điểm cuối tháng 5 đến trung tuần tháng 6 không quá 100 trứng hữu hiệu trên $1m^2$, chiếm tỷ lệ 50% sâu đo xanh có trên ruộng cấy, tức là có 200 sâu non trên $1m^2$ thì bổ sung vào ruộng cấy một lượng OMD để khống chế sâu đo xanh dưới ngưỡng không cho chúng phát sinh thành dịch.

Quá trình thả ong lưu ý phải thả lượng OMD lớn gấp 2 - 3 lần lượng OMD như đã sử dụng và tính toán cụ thể để có tỷ lệ OMD với trứng sâu đo xanh là 1:10. Chất lượng OMD nhân nuôi phải đảm bảo:

- Chính gốc OMD ký sinh trên trứng sâu đo xanh hại cấy cách.
- Có 75- 80% OMD khỏe có cánh, hoạt động tốt.
- Tỷ lệ ký sinh của OMD lên trứng sâu đo xanh phải đạt trên 70%.

Các đợt thả OMD trong năm 1985:

– Đợt 1: Thả OMD vào thời gian bướm vũ hóa rộ đẻ trứng, thả 5 lần:

+ Lần 1: ngày 1/4/1985, lượng OMD là 10.000 con/ha.

+ Lần 2: ngày 4/4/1985, lượng OMD là 10.000 con/ha.

+ Lần 3: ngày 8/4/1985, lượng OMD là 20.000 con/ha.

+ Lần 4: ngày 12/4/1985, lượng OMD là 20.000 con/ha.

+ Lần 5: ngày 15/4/1985, lượng OMD là 30.000 con/ha.

Tổng số OMD đợt 1 là: 90.000 con/ha.

Thả 270 ha: Tổng 24,3 triệu ong.

– Đợt 2 thả 3 lần. Tổng số OMD đợt 2: 225.000 con/ha.

Lượng ong thả trên 270 ha là: 60,75 triệu ong.

Tổng cộng cả hai đợt thả OMD là: 85,05 triệu ong.

Bình quân cho mỗi ha thả: 315 000 ong/ha.

** Công nghệ nuôi sâu đo xanh thường kết hợp với thực tế*

Tổng tích ôn hữu hiệu cho sự phát triển của sâu đo xanh.

Tiến hành các thí nghiệm nuôi sâu đo xanh trong phòng, trong nhà lưới để xác định tỷ lệ trứng sử dụng trong phục tráng tính bố mẹ của OMD.

Địa điểm nghiên cứu và triển khai: Bộ môn Sinh học Viện Bảo vệ thực vật và HTX Đông Kết, Liên Khê huyện Châu Giang, Hưng Yên.

c) Kết quả

** Điều tra quy luật phát sinh và gây hại của sâu đo xanh*

Quá trình điều tra đã xác định được các cao điểm của “lúa dịch” trứng sâu đo xanh để dự kiến thời gian thả OMD. Nhộng sâu đo xanh ngừng phát triển trong mùa đông từ 27 - 52 ngày.

Bướm sâu đo xanh vũ hóa lứa 1 từ nhộng qua đông từ 20/2 đến 20/3 năm 1985 khi cây đay mới có 2 lá sò, chúng đẻ trứng trên ruộng đay 2 đợt, trung bình 1 con cái đẻ thấp nhất 150 quả, cao nhất trên dưới 1000 quả. Giai đoạn trứng sâu đo xanh phát dục khoảng 2 - 3 ngày, nếu thời tiết lạnh thì 4 - 4,5 ngày.

– Đợt 1: Sâu non tuổi 1 xuất hiện lần 1 vào 20/2, lần 2 sâu non tuổi 1 xuất hiện vào 5-6/3 và từ 27-28/3 đến đầu tháng 4 bướm lứa 1 lại tiếp tục vũ hoá.

– Đợt 2: Sâu đo xanh phát triển khoảng 10-12 ngày trong điều kiện nhiệt độ bình quân 27-28°C ẩm độ 70-80%, khi nhiệt độ cao 30-32°C chỉ 8-9 ngày.

Tuổi 1: 2,5-3 ngày.

Tuổi 2: 2,5 ngày.

Tuổi 3: 2-2,5 ngày.

Tuổi 4: 2 ngày.

Tuổi 5: 2 ngày.

Nhộng: 5,5 - 6 ngày, trời lạnh có thể kéo dài 12-15 ngày.

Bướm: 8-10 ngày.

Số liệu điều tra vào cuối tháng 4 đầu tháng 5 cho thấy sâu non trên đồng ruộng có chiều hướng gia tăng khi cây đay phát triển rất nhanh, khí hậu trong ruộng đay thuận lợi. Mật độ ký sinh thiên địch của sâu đo xanh rất thấp, sau đợt thả OMĐ bổ sung (ngày 2/5) Viện Bảo vệ thực vật đã dự kiến cao điểm sâu đo xanh vào thượng tuần tháng 5 và mật độ sâu có khả năng cao khoảng 500 con/m².

** Kết quả nghiên cứu về ngài gạo để nâng cao số lượng trứng ký chủ*

– Trung bình 1 g trứng ngài gạo có khoảng 25.000 quả.

– Tỷ lệ đục cái bình quân là 1:1.

Công nghệ nhân nuôi với lượng thức ăn cố định trên cỡ hộp 46 x 32 x 6 cm, đối chứng là 0,5 g trứng/2,5 kg cám, kết quả thu được nếu điều kiện như nhau nhiễm lượng trứng càng thấp thì tỷ suất nhân nuôi ngài gạo càng cao. Không gian nuôi nhân ảnh hưởng rất lớn đến tỷ lệ sống sót của sâu non. Công nghệ nhân mới cho lượng sâu non và bướm vũ hóa đều cao hơn. Sức đẻ trứng của một con bướm cái cũng lớn hơn. Lượng nguyên liệu cần thiết để sản xuất 10 kg trứng ngài gạo cần dùng 200- 250 hộp, 1 hộp 0,4 g trấu + 2,4 kg cám với kích thước sẵn có, cho tỷ suất nhân nuôi cao 1: 26, điều này tiết kiệm được nguyên liệu sản xuất như hộp gỗ, kệ sắt, bột ngô, cám gạo, lò sưởi v.v...

Về lượng thức ăn để sản xuất cá thể ngài gạo thể hiện ở bảng 6.29.

Bảng 6.29. Kết quả nuôi cá thể ngài gạo bằng bột ngô ở giai đoạn đầu

STT	Công thức thí nghiệm (g/con)	Thí nghiệm 1			Thí nghiệm 2		
1	0,02	6	30	3,15	19	95	4,21
2	0,04	8	40	3,37	19	95	7,78
3	0,06	15	75	4,93	20	100	10,15
4	0,08	17	85	6,76	19	95	11,15
5	0,1	16	80	6,87	20	100	11,25
6	0,2	17	85	6,81	20	100	11,20
7	0,3	16	80	6,85	20	100	11,10
8	0,4	18	90	6,84	20	100	11,10
9	0,5	16	80	6,54	20	100	11,10

Kết quả ở bảng cho thấy:

– Trong 8 công thức với lượng thức ăn khác nhau từ 0,02 đến 0,08 g cho một cá thể sâu non ở giai đoạn nuôi bằng bột ngô thì công thức 0,08g là tốt nhất.

– Ở giai đoạn nuôi sâu tuổi lớn cho ăn bằng cám gạo lấy cố định bột ngô ở giai đoạn trước 0,08 g thì công thức 6 (0,08 + 0,28 g) là tốt nhất bởi số lượng bướm, trứng thu được cao.

Bảng 6.30. Kết quả nuôi cá thể ngài gạo bằng bột ngô và cám gạo

STT	CT thí nghiệm (g /con)	Số lượng bướm thu được	Số lượng trứng (quả)	Số lượng trứng bình quân của một bướm
1	0,08 + 0,08	13	23	1,77
2	0,08 + 0,12	13	356	27,38
3	0,08 + 0,16	11	316	28,73
4	0,08 + 0,20	14	542	38,71
5	0,08 + 0,24	16	697	43,56
6	0,08 + 0,28	17	790	46,47
7	0,08 + 0,32	16	729	45,56
8	0,08 + 0,36	14	650	46,42

** Kết quả nghiên cứu về OMD*

Bảo quản trứng ngài gạo thích hợp để nhân OMD, kết quả nghiên cứu được thể hiện trên bảng 6.31.

Bảng 6.31. Kết quả bảo quản trứng ngải gạo ở nhiệt độ thấp (3-5°C)

STT	Thời gian bảo quản (ngày)	Bảng hộp Petri			Bảng bình hút ẩm dessicator			Trứng không bảo quản			Nhiệt độ trung bình (°C)	Ẩm độ trung bình (%)
		Tỷ lệ trứng ký sinh (%)	Tỷ lệ OMD vũ hoá (%)	Tỷ lệ OMD cái (%)	Tỷ lệ trứng ký sinh (%)	Tỷ lệ OMD vũ hoá (%)	Tỷ lệ OMD cái (%)	Tỷ lệ trứng ký sinh (%)	Tỷ lệ OMD vũ hoá (%)	Tỷ lệ OMD cái (%)		
1	5	83,66	98,4	66,6	82,77	100	63,33	92,33	100	63,33	27,3	75
2	10	69,7	96,6	67,3	69,42	99,33	70	72,18	99,54	70,24	26,4	72,5
3	15	62,8	97	73,3	75,68	98,76	65,33	83,49	99,21	74	22,7	66,6
4	20	8,3	94,1	73,3	71,40	97	64,6	78,10	98,5	68,11	22,5	67,4
5	25	5,14	94,1	73,3	64,14	98,28	68,66	78,99	98,72	69,33	27,5	79,9
6	30	3,0	94,1	73,3	66,11	97,21	66,44	71,02	97,4	70	23,1	79,7
7	40	3,0	94,1	73,3	3,77	97,21	66,44	85,55	98,6	68	24,5	75,2
8	50	3,0	94,1	73,3	4,0	97,21	66,44	91,8	97,3	68,8	24,6	78,2
9	60	3,0	94,1	73,3	1,33	97,21	66,44	88,7	97,6	65	24,8	73

Bảo quản trứng ngài gạo trong Desicator để trong tủ lạnh tốt hơn so với các phương pháp bảo quản bằng hộp petri, lọ nút nhám. Trứng ngài gạo có thể giữ được tới 30 ngày mà vẫn cho tỷ lệ ký sinh cao 66,11%, trứng bị teo chỉ có 5,7%, sau 40 ngày chất lượng giảm, sau 50 ngày trứng không nở sâu non, không chuyển phôi, chỉ tiêu này rất có lợi cho việc nhân OMD với số lượng lớn vì:

- Nâng cao được tỷ suất nhân, trứng ngài gạo không chuyển phôi và không bị sâu non nở ra ăn mất trứng đã được ký sinh.

- Tỷ lệ OMD vũ hóa cao 66,44% - 97,21%.

Như vậy có thể sản xuất trứng ngài gạo trước 1 tháng và giữ trong tủ lạnh để tích số lượng lớn, Viện Bảo vệ thực vật đã chủ động nhân OMD theo kế hoạch đủ để thả trên diện tích lớn 270 ha.

- OMD có thể nhân trong 1 đợt được một lượng lớn khoảng 2 triệu ong.

- OMD có khả năng ký sinh đều trên các bản giấy in trứng theo ô định sẵn.

- Tỷ lệ ký sinh và tỷ lệ vũ hóa của ong đục và ong cái cao.

Về không gian thích hợp để nhân nuôi OMD thể hiện ở bảng 6.32.

Bảng 6.32. Kết quả thí nghiệm về không gian nhân nuôi OMD

Công thức thí nghiệm	Số lượng OMD (g)	Số lần nhắc lại	Tỷ lệ ký sinh (%)	Tỷ lệ vũ hóa (%)	Tỷ lệ con cái (%)	Ôn độ và ẩm độ trung bình
1	0,1	3	74,28	100	66,66	26,8°C 78,9%
2	0,3	3	66,46	99,33	66	
3	0,5	3	66,04	99,33	64	
4	0,7	3	54,66	98,66	65,33	
5	1	3	54,4	99,33	64,66	

Nhân nuôi OMD bằng bồ can có dung tích 3,14 dm³, đáy bằng giấy bản có rải trứng ngài gạo, trong 5 công thức trên thì công thức 1, 2 có lượng trứng 0,1- 0,3g/bồ can là thích hợp nhất, tỷ lệ ký sinh đạt được 66,46 - 74,28%, cao hơn các công thức khác. Với phương pháp trên nếu muốn nhân lượng OMD lớn để thả trên diện tích rộng đòi hỏi phải có lượng bồ can rất lớn, điều

đó khó thực hiện được, vì vậy cần phải chuyển sang phương pháp mới để nhân OMD nhằm đạt hiệu quả hơn mà không tốn dụng cụ nhân.

Kết quả nhân OMD theo phương pháp mới: Dựa vào tính hướng quang của OMD, Viện Bảo vệ thực vật đã thay đổi dụng cụ mới để nhân OMD nhằm đảm bảo:

Các ô trứng in trên giấy phải đều đặt trong khung hộp để tạo điều kiện thuận lợi cho việc nhân ong cũng như thả ong được chính xác. Kết quả thể hiện ở bảng 6.33.

Bảng 6.33. Kết quả nhân nuôi OMD bằng phương pháp nuôi (khung - hộp)

Vị trí bản trứng	Số bản	Tỷ lệ ký sinh (%)	Tỷ lệ vũ hóa(%)	Tỷ lệ con cái (%)	Số trứng ký chủ bình quân ở 1 ổ	Số trứng bị ký sinh bình quân ở 1 ổ	Tỷ lệ ký sinh của một hộp (%)	Tỷ lệ vũ hóa của một hộp (%)	Tỷ lệ con cái một hộp (%)	T ^o và ẩm độ trung bình
1	4	76,33	99	66	254,65	192,48	75,44	99,03	69,33	31,07°C 71,78%
2	4	76,33	98,9	71,33						
3	4	73,66	99,2	70,66						

Như vậy một lần nhân, 1 khung hộp 4 ngăn cho 16 bản giấy mỗi bản in 504 ô trứng, tính ra được 1,8 - 2 triệu OMD. Tỷ lệ ký sinh từ đầu đến cuối hộp và cả 4 mặt đạt được 73,66 - 76,33%. Tỷ lệ ong cái trung bình 66 - 71,33% trong điều kiện ánh sáng phân bố đều, ôn ẩm độ thích hợp. Để sản xuất lượng OMD đủ thả cho 270 ha, chỉ cần 5-7 khung hộp, so với phương pháp cũ thì tiết kiệm được 3800 bộ can, với hàng chục kệ gỗ, hàng trăm bóng đèn trong 3 - 4 phòng nuôi lớn có đủ thiết bị lò sưởi, quạt trần,... Đây là tính mới, tính sáng tạo so với phương pháp cũ được sử dụng trước năm 1983.

*** Kết quả sản xuất trứng ngài gạo**

Từ tháng 8 - 9/1984 đến tháng 5/1985 Viện Bảo vệ thực vật đã nuôi được 6 lứa ngài gạo với quy mô 512 hộp. Mỗi lứa định được tỷ suất nhân nuôi và lượng nguyên vật liệu sử dụng.

Bảng 6.34. Sản lượng trứng ngài gạo thu được

Lúa nuôi	Lượng trứng nhiễm ban đầu (g)	Tổng số trứng thu được (g)	Lượng trứng dùng nuôi nhân OMD(g)	Lượng trứng dùng để tái nhiễm (g)	Tỷ suất nhân	Ghi chú
1	73,79	1081,02	990,60	90,42	1:14,6	Đợt nhiễm ngày 25/9/84 của lúa 1 đạt tỷ suất 1:17,63
2	99,63	1196,50	1026,20	170,30	1:12	
3	63,00	499,60	295,30	204,30	1:8	
4	152,50	2154,70	1978,00	276,70	1:14,1	
5	203,40	1292,60	1271,00	21,60	1:6,3	
6	255,80	1025,00	854,20	170,85	1:4	
Cộng	848,12	7249,42	6315,3	934,17	1:8,55	

Bảng 6.35. Lượng nguyên vật liệu để nhân nuôi ngài gạo

Lúa nuôi	Chậu thủy tinh		Hộp gỗ		Lượng dùng để ra 1g trứng	
	Số lượng chậu (Cái)	Số lượng bột ngô (kg)	Số lượng hộp	Số lượng cám gạo (kg)	Bột ngô (kg)	Cám gạo (kg)
1	148	61,05	148	384,80	0,056	0,356
2	200	82,15	200	520,00	0,069	0,435
3	127	52,04	127	330,20	0,105	0,661
4	305	125,80	305	793,00	0,058	0,368
5	407	167,0	407	1139,6	0,130	0,882
6	512	221,20	512	1433,6	0,216	1,399
Cộng	1699	709,24	1699	4601,2	0,634	4,101

Kết quả cho thấy:

Tỷ suất nhân ngài gạo đạt khá cao ở lúa I là 1:14,6 trong đó đợt nhiễm ngày 25/9/1984 cho tỷ suất nhân cao nhất đạt 1:17,63.

Lúa II cho tỷ suất nhân 1:12, lúa III là 1: 8, lúa IV là 1: 14,1.

Lúa V và lúa VI vì nuôi với số lượng lớn nên cho tỷ suất nhân chỉ đạt 1: 6,3 và 1:4 giống như tỷ suất nhân những năm trước đây (1976 - 1979). So sánh với năm 1982:

- Lượng trứng thu được gấp 3,6 lần (7249 g : 2013 g).
- Lượng trứng dùng cho nhân OMD gấp 5,4 lần (6336,45 g : 11156,5 g).
- Lượng trứng nhiễm chỉ tăng 1,7 lần (848,12: 502,75).

Ngày sản ra lượng trứng lớn nhất của năm 1982: 19/3 : 53,22 g, 20/3 : 52 g.

Năm 1985: Ngày 3/1 đã đạt 72,5 g. Cao nhất là ngày 7/3 là 110g và ngày 8/3 đạt 114 g.

Nghiên cứu ảnh hưởng của điều kiện ôn ẩm độ đến sự phát triển của ngài gạo (bảng 6.36). Kết quả cho thấy điều kiện nhiệt, ẩm độ và thức ăn có ảnh hưởng đến ngài gạo trong quá trình nhân nuôi. Nhiệt độ trên dưới 28°C là tối ưu cho sâu non phát triển, sang giai đoạn bướm thì ở lứa II và III nhiệt độ bình quân chỉ đạt 25,5°C, có những ngày nhiệt độ xuống thấp 18,3, 19°C vào đúng thời kỳ bướm rộ, đây là nguyên nhân giảm tỷ suất nhân. Như vậy, nhiệt độ thấp ở đỉnh rộ của bướm đã ảnh hưởng đến sản lượng, làm giảm số trứng thu được. Ở lứa V, thời kỳ bướm rộ vào lúc nhiệt độ xuống thấp 19°C và do mất điện, do thức ăn kém phẩm chất, bột ngô bị mốc nên bướm vũ hóa kéo dài không có đỉnh rộ. Theo dõi thời gian phát dục của sâu non qua bảng 6.37.

Bảng 6.37. Thời gian phát dục của ngài gạo qua các lứa nhân

Lứa nuôi	Ở hộp petri (ngày)	Ở chậu thủy tinh (ngày)	Ở hộp gỗ (ngày)			Từ nhiễm trứng đến thái (ngày)	Từ nhiễm trứng đến bướm bắt đầu vũ hoá
			Cho đến bướm bắt đầu vũ hoá	Từ bắt đầu vũ hóa đến vũ hóa rộ	Thời gian bướm ra rộ		
1	5-6	7-10	13-15	7-10	10-12	60-65	30-31
2	5-6	7-10	13-15	7-10	10-12	65-70	30-31
3	5-6	7-10	13-15	7-10	8-10	70-72	30-31
4	5-6	10-12	13-15	7-10	10-12	75-80	30-33
5	5-6	15-18	18-22	7-10	không rõ	80-88	40-46
6	8-9	18-20	18-20	7-8	không rõ	88	45-50

Các loại côn trùng gây tạp nhiễm như ong ký sinh, nhện ăn thịt xuất hiện điều đó đã ảnh hưởng đến quá trình nhân nuôi ngài gạo, kết quả ở bảng 6.38.

Ở pha sâu non và bướm ngài gạo thấy xuất hiện chủ yếu là nhện bụng to và một bột đỏ, số ít là ong vàng, vì vậy trong khi nuôi cần lưu ý khâu vệ sinh, khử trùng để tránh hiện tượng ong ký sinh và nhện ăn thịt xâm nhập làm ảnh hưởng đến ký chủ ngài gạo.

Bảng 6.38. Các loại côn trùng tạp nhiễm ký sinh ăn thịt xuất hiện trong quá trình nhân nuôi ngài gạo

Lúa nuôi	Ở pha sâu non					Ở pha bướm				
	Ong vàng	Mọt đỏ	Nhện trắng nhỏ	Nhện bụng to	Ong nhỏ	Ong vàng	Mọt đỏ	Nhện trắng nhỏ	Nhện bụng to	Ong nhỏ
1	Rất ít	Không	Không	Ít	Không	Nhiều	Ít	Ít	Nhiều	Không
2	Không	Không	Không	Ít	Không	Nhiều	Ít	Ít	Nhiều	Không
3	Ít	Ít	Không	Ít	Không	Ít	Ít	Ít	Nhiều	Không
4	Ít	Ít	Không	Ít	Không	Ít	Nhiều	Nhiều	Nhiều	Không
5	Không	Nhiều	Ít	Nhiều	Không	Rất ít	Rất nhiều	Nhiều	Nhiều	Ít
6	Không	Rất nhiều	Ít	Nhiều	Ít	Rất ít	Rất nhiều	Rất nhiều	Nhiều	Rất nhiều

***Kết quả sản xuất OMD**

Để có một lượng ong lớn đủ thả trên diện tích rộng thì cần phải có kế hoạch sản xuất ong trên cơ sở khoa học và tính toán để dư thừa một lượng ong nhằm khắc phục những rủi ro hoặc thiên tai hoặc mật độ quá cao, hoặc chất lượng ong không đảm bảo (bảng 6.39).

Tổng lượng OMD đã sản xuất được là 37.842.460 ong so với kế hoạch là 85.050.000 ong thì tỷ lệ chỉ đạt được 44,5%. Đây là nguyên nhân cơ bản không thể phòng trừ đủ trên toàn bộ diện tích 270 ha. Một bài toán khó có lời giải về nghiên cứu khi mà cơ sở khoa học chưa đủ thuyết phục. Dù sao thì đây cũng là bài học quan trọng được rút ra trong thực tiễn nghiên cứu về công nghệ sinh học trong Bảo vệ thực vật, cho nên không thể đặt ra kế hoạch thực hiện khi mà không đủ năng lực và điều kiện sản xuất. Bởi vì ngoài yếu tố khoa học sinh học ra nó còn phụ thuộc quá nhiều vào điều kiện, vào tinh thần trách nhiệm, vào cả yếu tố xã hội học trong thời điểm 1985. Ngay thời gian hiện nay cũng không nên quá vì bệnh thành tích mà chuyển giao công nghệ khi chưa có đủ cơ sở khoa học.

d) Kết luận và đề nghị

*** Kết luận**

Năm 1985 đã nhân nuôi được 18 lứa ngài gạo trong điều kiện nhiệt và ẩm độ tương đối ổn định, chất lượng trứng ngài gạo tương đối tốt. Sản lượng trứng thu được cao 7249 g.

Bảng 6.39. Sản lượng OMD được sản xuất cung cấp để thả trừ sâu đo xanh hại đay từ 10/ 1984 đến 5/1985

Đợt thả	Lần thả	Theo kế hoạch		Thực tế sản xuất		Tỷ lệ OMD vũ hoá (%)	Tỷ lệ OMD cái (%)	Số ngày bảo quản trong lạnh (%)
		Ngày thả ong	Số lượng OMD sẽ thả	Ngày thả ong	Số lượng OMD đã được cung cấp thả			
I	1	1-IV-1985	2.700.000	2. IV	4.657.170	99	78.6	6
	2	4-IV-1985	2.700.000	6. IV	2.181.980	98	85.3	9
	3	8-IV-1985	5.400.00	10. IV	4.914.580	98.7	77.7	5-10
	4	12-IV-1985	5.400.00	14. IV	4.845.150	98	75	7
	5	15-IV-1985	8.100.00	18. IV	5.504.760	98	79	10-15
Bổ sung	6	Không có kế hoạch		2. V	7.653.000	98	71.3	10
Cộng đợt 1			24.300.000		29.756.640			
II	1	18. V. 1985	20.250.000	24. V	1.695.750	99.3	73.3	7-13
	2	21. V. 1985	20.250.000	28. V	1.695.750	99.3	67.3	1-3
	3	24. V. 1985	20.250.000	1. V	1.695.750	98.6	66.6	ong tươi
Bổ sung	4	Không có kế hoạch	-	5. V	2.998.570	98	65.3	ong tươi
Cộng đợt 2			60.750.000		8.085.820			
Tổng cộng	10		85.050.000		37.842.460			

Dùng phương pháp mới để nhân OMD đã tiết kiệm được vật tư và nguyên liệu sản xuất, tổng sản lượng OMD thu được 37.842.460, so với kế hoạch đặt ra chỉ đạt 44,5%.

Thả OMD đợt 1 với 5 lần tổng số là 22.103 triệu ong và thả đợt 2 vào ngày 2/5/1985 là 7.653 triệu ong. Tổng số ong đã thả là 29.756 triệu. Về chất lượng OMD đem thả qua kiểm tra thấy tỷ lệ ký sinh, vũ hoá, số ong cái trong quần thể và sức sống sau khi nhả (ong giữ trong tủ lạnh, trước và sau khi chuyển chỗ và trước khi giao thả) đạt chất lượng.

Bước đầu xác định được tập tính sinh học của OMD để tìm diệt trứng sâu đo xanh trong điều kiện mật độ sâu hại chưa cao cũng có kết quả.

** Những hạn chế và đề nghị*

Về ký chủ trung gian đã xác định được vai trò của ngài gạo là cơ sở cho việc nuôi nhân OMD, nhưng thực tế tỷ suất nhân của ngài gạo lại thấp vì thiếu thốn cơ sở vật chất. Mặc dù có được đầu tư nhưng so với yêu cầu công nghệ vẫn không đảm bảo, nên không nâng cao được sản lượng trứng ký chủ và vì vậy không thể mở rộng được diện tích sử dụng.

Đề nghị cần phải tập trung đồng bộ, phải có cơ sở vật chất ổn định trên cơ sở có kiến thức, có trách nhiệm, có uy tín nghề nghiệp áp dụng quy trình phòng trừ tổng hợp và thật sự tâm huyết với nghề mới hy vọng đạt kết quả cao.

Về sâu đo xanh đã dự báo tương đối chính xác thời gian xuất hiện các pha phát dục của sâu qua các lứa phát sinh ngoài đồng ruộng để dự tính sử dụng thả OMD, nhưng về quy luật tích lũy quần thể, mối tương quan giữa ký chủ, ký sinh và những yếu tố khác... chưa có đủ cơ sở khoa học để ứng dụng trên phạm vi rộng nên kết quả không đạt theo mong muốn và hiệu quả không cao, thậm chí có những lúc phải xử lý bằng thuốc hóa học để dập dịch.

Về quy trình thả OMD trừ trứng sâu đo xanh hại đay cách trên đồng ruộng thực tế là chưa hoàn thiện, phương pháp thao tác của cán bộ chủ yếu là thủ công, không thực hiện đồng bộ, dân trí lại thấp, nông dân chưa được tập huấn cụ thể nên chưa thể mở rộng được diện tích phòng trừ trứng sâu đo xanh hại đay cách trong điều

kiện còn khó khăn của những năm 1985.

Hy vọng trong tương lai việc sản xuất và sử dụng OMD diệt trừ trứng sâu đo xanh hại đay cách nói riêng và trứng sâu hại cây trồng nói chung sẽ đạt được kết quả, bằng những bài học có sẵn như chủ động nguồn OMD, nhất thiết phải thông qua công nghệ sinh học để sản xuất ra số lượng lớn cũng như bằng kinh nghiệm nghề nghiệp của nhà khoa học. Phải có tâm, có lòng tự trọng với nghề chắc chắn sẽ thu được kết quả tốt để trong tương lai công nghệ sản xuất OMD sẽ tiến kịp với các nước trong khu vực.

6.2. Nghiên cứu sản xuất ong vàng *Habrobracon* sp.

6.2.1. Giới thiệu về ong vàng ở Việt Nam

Ong vàng *Habrobracon* sp (*Bracon* sp.) thuộc họ Braconidae, bộ cánh màng Hymenoptera, đây là ong ký sinh sâu non trên nhiều loại sâu hại thuộc bộ cánh vẩy Lepidoptera, đặc biệt là sâu non họ ngài đêm Noctuidae và Cydiapomonella.

Ở nước ta từ năm 1984-1986 mới bắt đầu nghiên cứu loài ong *Habrobracon* nhưng chưa nhiều, chỉ mới dừng lại ở việc thử loài ong này trên đối tượng sâu hại thuộc bộ cánh vẩy Lepidoptera và bước đầu tìm hiểu việc nhân nuôi ong này trên sâu non ngài gạo. Theo rất nhiều tài liệu công bố thì vai trò của loài ong này được các nhà khoa học xem như là một loài thiên địch có ý nghĩa quan trọng trong việc phòng trừ các loại sâu hại theo hướng sinh học nhằm góp phần làm giảm thiểu lượng thuốc hóa học lên cây trồng, hướng đến một nền nông nghiệp an toàn và bền vững, vì vậy rất cần nghiên cứu công nghệ để sản xuất loại ong vàng *Habrobracon* sp.

Năm 2003 Đoàn Thị Bích, Nguyễn Thị Phương Thảo, Viện Sinh học nhiệt đới TPHCM đã có những kết quả về điều tra và thu thập ong vàng ngoài tự nhiên. Các tác giả đã nuôi ong vàng trong phòng thí nghiệm trên ký chủ là sâu non ngài gạo *Corcyra cephalonica* để tìm hiểu một số đặc tính sinh học của ong vàng cũng như thử phổ ký chủ sâu non ngài gạo (*Corcyra cephalonica*), sâu xanh (*Heliothis armigera*), sâu keo da láng (*Spodoptera exigua*), sâu đục thân ngô (*Ostrinia nubilalis*) và sâu khoang (*Spodoptera litura*) để xác định tỷ lệ ký sinh của ong vàng.

Với phương pháp thả ong vàng lên các đối tượng sâu hại trên, sau 2- 3 ngày bắt ong vàng ra và theo dõi hàng ngày. Thí nghiệm được bố trí với 3 lần lặp lại, mỗi lần nhắc lại từ 10 - 30 sâu. Theo dõi khả năng diệt sâu của ong vàng, vòng đời của ong trên các loài sâu hại khác nhau, xác định phương pháp nuôi nhân hàng loạt ong vàng trên sâu non ngàì gạo ở các lứa tuổi khác nhau để rút ra cách nuôi nhân tốt nhất.

Các tác giả đã bố trí thử nghiệm với sâu non tuổi 2 để đánh giá khả năng ký sinh ở độ tuổi sâu nào của ong vàng cho hiệu quả cao nhất. Theo dõi vòng đời của ong vàng *Habrobracon* trên sâu non ngàì gạo, khả năng tạo nhộng của ong trên từng tuổi sâu, khả năng đẻ của một cặp ong vàng và tìm hiểu phương pháp bảo quản ong vàng nhằm chủ động nguồn ký sinh để sử dụng trong phòng trừ sâu hại trên đồng ruộng đạt hiệu quả.

6.2.2. Một số đặc điểm sinh học của ong vàng

Theo Đoàn Thị Bích và cs thì loài ong vàng *Habrobracon* sp. thường vũ hóa ban đêm, thích hướng sáng, ban ngày ưa hoạt động và giao phối. Ong cái dùng bộ phận đẻ trứng của mình để chích vào cơ thể sâu non ký chủ. Sâu non ký chủ khi bị ong chích thì tê liệt, ít hoạt động, khi đó ong vàng đẻ trứng lên mình sâu. Sang ngày thứ hai, thứ ba sau khi sâu non bị ong vàng ký sinh thì sâu ngừng hoạt động. Sau bốn, năm ngày sâu non bị ký sinh (trứng ong được đẻ vào mình sâu hại) thì từ mình sâu non sẽ có những ong non màu mỡ gà, hình bầu dục hơi cong phát triển. Sâu non ong vàng sau khi nở hút các chất dịch trong cơ thể của sâu non ký chủ, lớn dần lên nhả tơ trắng uốn kén làm tổ để hóa nhộng, khoảng 5 - 6 ngày thì vũ hóa thành ong trưởng thành. Ong cái trưởng thành tiếp tục tìm kiếm sâu non ký chủ để ký sinh và tiếp tục vòng đời mới, trung bình ong cái trưởng thành sống khoảng 5 - 6 ngày rồi chết.

Một ong cái có thể ký sinh từ 4 - 8 sâu, một con sâu bị ký sinh cho ra từ 4 - 24 nhộng ong, số lượng ong còn phụ thuộc vào tuổi của sâu non. Vòng đời của ong vàng (tính từ lúc đẻ trứng đến lúc ong trưởng thành chết) trên một số đối tượng sâu hại được trình bày ở bảng 6.40.

Bảng 6.40. Vòng đời của ong vàng *Habrobracon* sp. trên các đối tượng sâu hại

Chỉ tiêu theo dõi (ngày)	Sâu xanh đục bắp ngô <i>Hiliothis armigera</i>	Sâu đục thân ngô <i>Ostrinia furrucalis</i>	Sâu ngài gạo <i>Corcyra cephalonica</i>
Vòng đời	15-18	15-18	16-20
Thời gian ký sinh - vũ hóa	10-12	10-12	9-11
Thời gian ký sinh-ong non	4-5	4-5	5-6
Thời gian ong non-nhộng	1	1	1-2
Thời gian nhộng-vũ hóa	5-6	5-6	5-6
Thời gian ong trưởng thành sống	5-6	5-6	5-6
Một cặp có thể ký sinh (con sâu)	5-9	4-8	4-17
Trung bình một con sâu có (nhộng/ con sâu)	9	10	8,5

Ghi chú: Điều kiện nhân nuôi trong phòng: t°: 28-30°C, A%: 86-90%.

Nhìn chung vòng đời của ong vàng trên các đối tượng sâu hại khác nhau không nhiều, dao động trong khoảng từ 15- 20 ngày.

6.2.3. Xác định khả năng ký sinh của ong vàng lên các phổ ký chủ khác nhau

Khả năng ký sinh của ong vàng trên 8 loài sâu hại khác nhau được trình bày ở bảng 6.41.

Bảng 6.41. Khả năng ký sinh của ong vàng *Habrobracon* sp. lên các phổ ký chủ khác nhau

STT	Tên Việt Nam	Tên khoa học	Mức độ ký sinh		Cây trồng
			Có ký sinh	Khả năng tạo nhộng ong	
1	Sâu xanh đục quả bông	<i>Helicoverpa armigera</i>	++	++	Ngô, rau, cà chua
2	Sâu đục thân ngô	<i>Ostrinia furrucalis</i>	++	++	Ngô
3	Sâu xám	<i>Agrotis ypsilon</i>	++	++	Ngô, rau, cà chua
4	Sâu non ngài gạo	<i>Corcyra cephalonica</i>	++	++	Cám, gạo...
5	Sâu keo da láng	<i>Spodoptera exigua</i>	+	0	Rau, đậu độ
6	Sâu khoang	<i>Spodoptera litura</i>	+	0	Rau, đậu, cà chua...
7	Sâu đục quả đỗ	<i>Maruca testulalis</i>	0	0	Rau, cà chua, đậu tương
8	Sâu tơ	<i>Plutella xylostella</i>	+	0	Rau

Kết quả cho thấy có 7 loài sâu bị ong vàng ký sinh là sâu xanh đục quả bông, sâu đục thân ngô, sâu xám, sâu non ngài gạo, sâu keo da láng, sâu khoang và sâu tơ. Riêng sâu đục quả đậu chưa thấy ong vàng ký sinh, điều đó cho thấy có thể sử dụng loài ong vàng *Habrobracon* sp để phòng trừ một số đối tượng sâu hại cây trồng nông nghiệp.

Như vậy cần thiết phải có quy trình công nghệ sản xuất ong vàng trong tương lai nhằm tạo ra một lượng ong đủ lớn để đưa vào ứng dụng phòng trừ sâu hại.

6.2.4. Tìm hiểu khả năng ký sinh thích hợp của ong vàng trên các tuổi sâu ký chủ ngài gạo

Muốn nuôi nhân và sản xuất tốt ong vàng, cần tiến hành nghiên cứu khả năng ký sinh thích hợp của ong vàng *Habrobracon* sp trên các tuổi sâu ngài gạo khác nhau từ tuổi 2, tuổi 3, tuổi 4 đến tuổi 5 nhằm mục đích tìm hiểu xem tuổi sâu nào mà loài ong vàng tạo ra sản lượng nhộng nhiều nhất, từ đó xác định phương pháp sản xuất ong vàng ở quy mô lớn, có thể tạo ra một sản lượng nhộng ong lớn để phục vụ cho việc sử dụng nhân ong thả ra ngoài đồng.

Kết quả thử khả năng ký sinh của ong vàng được trình bày ở bảng 6.42.

Bảng 6.42. Khả năng ký sinh của ong vàng (*Habrobracon* sp.) trên một số loài sâu hại cây trồng

Tuổi sâu non ngài gạo (<i>Corcyra cephalonica</i>)	Số nhộng ong <i>Habrobracon</i> sp. trên một sâu non ngài gạo
Tuổi 2 (T2)	3 - 4 /1 sâu
Tuổi 3 (T3)	6,5 /1 sâu
Tuổi 4 (T4)	8 /1 sâu
Tuổi 5 (T5)	15,6 /1 sâu

Kết quả cho thấy trên sâu non ngài gạo ở tuổi 4 - 5 cho ra số nhộng nhiều nhất, lý do có thể là sâu non tuổi 4, 5 có kích thước lớn vì vậy nên sử dụng sâu non ngài gạo ở tuổi 4 và 5 để sản xuất ra ong vàng.

6.2.5. Nhân nuôi hàng loạt ong vàng *Habrobracon* sp.

Để nhân nuôi hàng loạt ong vàng *Habrobracon* sp trên cơ sở nhân hàng loạt ký chủ ngài gạo của ong vàng, các dụng cụ dùng để nhân nuôi gồm có lồng thu trứng, lồng thu sâu non, lồng thu bướm và ong ký sinh trưởng thành, cách thức nuôi như nuôi ngài gạo làm ký chủ cho OMD (đã trình bày ở phần OMD).

Ký chủ ngài gạo được nuôi bằng cám gạo trong điều kiện nhiệt độ tối ưu khoảng 28 - 30°C, ẩm độ tương đối khoảng 60 - 80%.

Đoàn Thị Bích và cs cho biết: Quá trình nhân nuôi ong vàng *Habrobracon* sp diễn ra qua 3 giai đoạn:

Giai đoạn 1: Nhiễm ong cái trên sâu non ngài gạo.

Giai đoạn 2: Phát triển ong *Habrobracon* sp từ trứng đến trưởng thành.

Giai đoạn 3: Thu ong trưởng thành.

Trong 3 giai đoạn nói trên thì giai đoạn 1 là phức tạp nhất. Giai đoạn này thường đòi hỏi số lượng ong ký sinh phải cao hơn ký chủ để đảm bảo sâu non ký chủ bị ký sinh nhanh nhất. Cần phải tính toán để có thể tiết kiệm ong, tối ưu nhất là nên dùng các con ong cái nhiều lần để ký sinh cho một số đợt của sâu non.

Nhiệt độ thích hợp để nuôi ong trong giai đoạn ký sinh từ 27 - 29°C, giai đoạn ong phát triển là 25 - 27°C. Ong cái ký sinh hiệu quả nhất là trong điều kiện ánh sáng tối hoàn toàn.

6.2.6. Bảo quản ong vàng *Habrobracon* sp.

Các thí nghiệm đều xác định việc bảo quản ong tốt nhất vào giai đoạn ngủ nghỉ của ong trưởng thành bằng việc cho ăn bắt buộc nước đường 3% trong thời kì bảo quản. Bảo quản ong vàng thường ở nhiệt độ 5°C, ẩm độ trung bình là 70%. Định kỳ nuôi bằng nước đường, sau 2 tuần một lần đưa ong vàng ra khỏi tủ lạnh 45 phút cho ăn sau đó lại cho vào tủ lạnh để tiếp tục bảo quản.

Những ngày đầu bảo quản ong thường sống tốt, qua 15 ngày bảo quản ong chết khoảng 25%, qua 30 ngày bảo quản thì tỷ lệ ong chết lên tới 60%. Các kết quả thu được cho biết chỉ nên bảo quản các con cái đã qua thụ tinh.

Như vậy ong vàng là loại ong ngoại ký sinh, thuộc họ Braconidae, bộ cánh màng Hymenoptera, đây là loài ong ký sinh sâu non trên nhiều loại sâu hại thuộc họ ngài đêm Noctuidae, bộ cánh vẩy Lepidoptera.

Ong vàng ký sinh được 7 loại sâu hại đó là sâu xanh bông *Heliothis armigera*, sâu đục thân ngô *Ostrinia furrucalis*, sâu xám *Agrotis ypsilon*... trên cây bông, rau, cà chua, ngô và ngài gạo *Corcyra cephalonica* trên cám gạo.

Vòng đời của ong vàng trên các loài sâu khác nhau không nhiều, trên ngài gạo biến động từ 16 - 20 ngày, trên sâu hại ngô từ 15 - 18 ngày.

Có thể nuôi ong vàng với số lượng lớn trên sâu non ngài gạo để sử dụng thả ra ngoài đồng ruộng phòng trừ các loại sâu hại rau, ngô, đậu đỗ, bông, cà chua...

Nhân nuôi ong vàng trên sâu non ngài gạo tuổi 4, tuổi 5 là thích hợp nhất vì chúng tạo ra sản lượng nhộng nhiều nhất.

Ong vàng có khả năng bảo quản trong một thời gian dài ở nhiệt độ 5°C, trong điều kiện ẩm độ trung bình 70%, chỉ bảo quản những con cái đã qua thụ tinh. Định kỳ nuôi ong vàng bằng nước đường, cứ 2 tuần một lần đưa chúng ra khỏi tủ lạnh 45 phút cho ăn rồi lại cho vào tủ lạnh để tiếp tục bảo quản (nguồn Đoàn Thị Bích, Nguyễn Thị Phương Thảo).

Công nghệ sản xuất ong vàng như trên của Viện Sinh học nhiệt đới bước đầu đã khẳng định được vai trò của chúng trong đấu tranh sinh học phòng trừ sâu hại cây trồng. Do vậy cần thiết phải được chú ý nghiên cứu và sản xuất ong vàng bằng công nghệ sinh học ở Việt Nam trong thời gian tới, nhằm tạo ra một lượng ong lớn để có thể ứng dụng phòng trừ sâu hại cây trồng đạt hiệu quả cao.

6.3. Nghiên cứu sản xuất bọ mắt vàng *Chrysopa* sp.

6.3.1. Xác định vai trò của bọ mắt vàng trong đấu tranh sinh học phòng chống sâu hại ở Việt Nam

Những năm qua cùng với việc nghiên cứu và sử dụng các loài ong ký sinh sâu hại thì các loài thiên địch có ích khác cũng được

nhiều nước trên thế giới quan tâm nghiên cứu, đặc biệt là bộ mắt vàng *Chrysopa* sp.

Trong số các loài bộ mắt vàng ở họ *Chrysopidae* thì loài *Chrysopa carnea* Steph là phổ biến hơn cả, chúng phân bố rộng rãi ở những vùng trồng bông đay... để ăn các loài rệp và trứng sâu hại cây bông, đay...

Bộ mắt vàng *Chrysopa carnea* với đặc tính là bắt mồi, ăn thịt, chúng có tác dụng hạn chế được pha trứng và pha sâu non của một số loài sâu hại đặc biệt là rệp. Scopes (1969) cho biết con non của bộ mắt vàng loài *Ch. carnea* có khả năng ăn thịt rất nhiều loài sâu hại ở nhiều họ và nhiều bộ khác nhau, trong đó rệp bông (*Aphis gossypii*), rệp cải (*Brevicarinea brassicae*), rệp đào (*Myzodes persicae*) là những con mồi mà bộ mắt vàng thích nhất.

Việc nghiên cứu và sử dụng bộ mắt vàng *Chrysopa* sp trong đấu tranh sinh học ở Việt Nam còn mới mẻ. Năm 1982-1984, Trần Xuân Bí, Phạm Thị Thùy, Nguyễn Ngọc Tiến, bộ môn Phương pháp Sinh học Viện Bảo vệ thực vật đã bước đầu nghiên cứu tìm hiểu một số đặc điểm sinh học của *Chrysopa*, cũng như điều tra quy luật phát sinh của chúng trên ruộng đay tại HTX Liên Khê và HTX Mỹ Sở, huyện Châu Giang, tỉnh Hưng Yên, kết hợp điều tra không thường xuyên trên cây bông, cây rau và cây đậu đỗ để có hướng sử dụng chúng trong đấu tranh sinh học phòng trừ trứng sâu đo xanh hại đay.

Vì bộ mắt vàng trưởng thành có thân hình mảnh dẻ giống như chuồn chuồn cỏ, màu xanh dịu dễ phát hiện, với đôi mắt to óng ánh màu vàng cho nên nhiều người thường quen gọi tên là chuồn chuồn cỏ hay bộ mắt vàng. Tên gọi bộ mắt vàng phù hợp với tên gọi như ở các nước Liên Xô cũ, Bungari, Tiệp Khắc cũ...

Kết quả nghiên cứu về đặc điểm hình thái của bộ mắt vàng tại Viện Bảo vệ thực vật đã xác định bộ mắt vàng có tên khoa học là *Chrysopa carnea* thuộc họ *Chrysopidae*, bộ cánh mạch Neuroptera, chúng có vai trò quan trọng trong đấu tranh sinh học phòng trừ rệp hại đay, trứng sâu đo xanh hại đay, rệp hại đậu đỗ...

6.3.2. Một số đặc điểm sinh học của bọ mắt vàng *Chrysopa carnea*

Theo Trần Xuân Bí, Phạm Thị Thùy thì bọ mắt vàng là loài côn trùng có biến thái hoàn toàn, chu kỳ sống trải qua 4 giai đoạn: trứng, sâu non, nhộng và trưởng thành.

a. Trứng

Hình ovan dài 0,7 - 0,8 mm, trên có cuống dài màu trắng đường kính 0,2 - 0,25 mm, có màu xanh nhạt. Trứng được dính trên 1 cầu dài 5 - 7 mm mảnh như sợi chỉ, màu trong suốt, trứng được đẻ riêng từng quả ở phần trên của cây vì ở đó các con mồi (rệp muội hại cây) thường tập trung với mật độ lớn. Kết quả điều tra cho thấy trứng của *Chrysopa carnea* còn được đẻ ở các tầng lá thấp cách mặt đất khoảng 20 - 30 cm. Ở điều kiện nhiệt độ trung bình ngày 27 - 29°C, ẩm độ không khí từ 60 - 95%, trứng phát triển từ 3 - 5 ngày, phần lớn trứng phát triển khoảng 4 ngày chiếm 66,28%. Khi nghiên cứu về tỷ lệ trứng nở của bọ mắt vàng cho thấy, trứng bọ mắt vàng có tỷ lệ nở cao đạt 100% sau 4-8 ngày, tập trung nở rộ nhất sau 5 ngày trong điều kiện nhiệt độ từ 27 - 29°C và ẩm độ khoảng 70 - 85%.

Bảng 6.43. Tỷ lệ nở của trứng *Chrysopa carnea* trong điều kiện phòng thí nghiệm

Thời gian phát triển (ngày)	Trứng nở			
	Số quả	(%)	T°C	A° (%)
8	22	28,86	23±1,3	77,5
5	58	66,23	27±0,9	79,6
4	4	4,81	28±0,3	75,9
Cộng	84	100	27 - 29	70 - 85

b. Sâu non

Thường nở về ban đêm, qua 2 lần lột xác có 3 tuổi. Lúc mới nở ra sâu non tuổi 1 có thân hình bé nhỏ và yếu đuối. Chúng đậu lại một thời gian ở vỏ trứng, cửa mình vận động các chân, sau đấy mới tìm thức ăn, bình thường sâu non dùng hai gọng kìm làm chất xúc con mồi, tàn dư thực vật lên lưng và trở thành một khối rác rưởi phủ lên mình. Lớp tàn dư này đã giúp cho *Chrysopa carnea* ngụy trang

tránh khỏi sự tiêu diệt của các loại ký sinh và ăn thịt chúng. Mặt khác lớp tàn dư phủ lên mình sâu non bộ mắt vàng *Chrysopa carnea* đã đóng vai trò như một cái áo chống nóng, chống lạnh..., tạo ra một lớp nhiệt và ẩm độ thích hợp cho sâu non.

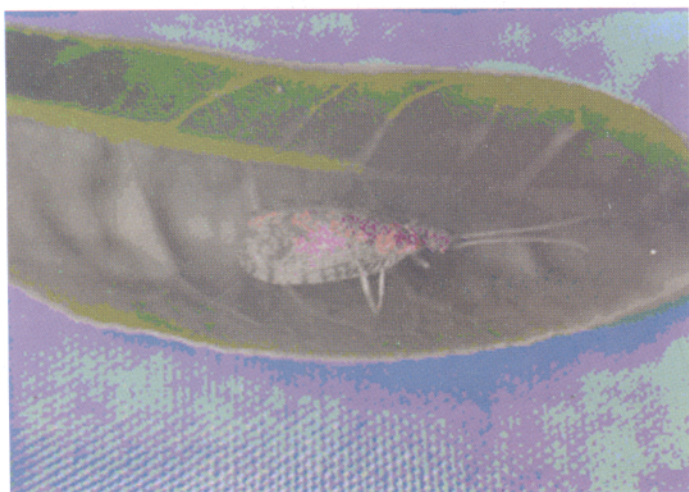
Sâu non có 3 đôi chân dài từ 5 -10 mm màu xanh vàng, trên mình thân có 2 sọc màu cà phê, thân dạng hình thoi to, phía giữa thon dần về hai đầu. ở phía trên đặc biệt là hai bên rìa bụng có chùm lông mọc ra.

Bảng 6.44. Sự phát triển của sâu non bộ mắt vàng *Chrysopa carnea* trong điều kiện phòng thí nghiệm

Số TT cá thể	Thời gian phát triển ngày				T°C	A°(%)
	Tuổi 1	Tuổi 2	Tuổi 3	Tổng		
1	2	4	3	9	25 ± 1,32	81 ± 8,3
2	2	4	3	9	25 ± 1,32	81 ± 8,3
3	2	4	3	9	25 ± 1,82	81 ± 8,3
4	2	4	4	10	24,6 ± 1,8	78 ± 3,4
5	2	4	5	11	24,6 ± 1,3	78 ± 2,6
6	2	4	4	10	24,6 ± 1,8	78 ± 3,4
7	2	4	4	10	24,6 ± 1,8	78 ± 3,4
8	2	4	4	10	24,6 ± 1,8	78 ± 3,4
9	2	5	3	10	24,3 ± 1,8	78 ± 3,4
10	2	5	3	10	24,6 ± 1,8	78 ± 5,4
11	2	5	4	11	24,3 ± 1,8	78 ± 2,6
12	2	5	3	10	24,6 ± 1,9	75 ± 5,5
13	3	4	6	13	22 ± 2,56	75 ± 5,5
14	3	4	3	10	24,6 ± 1,8	78 ± 3,4
15	4	3	2	9	25 ± 1,32	81 ± 8,3

Bảng 6.44 cho thấy trong điều kiện phòng thí nghiệm với nhiệt độ trung bình 21-26°C và ẩm độ từ 65 - 90%, sâu non tuổi 1 phát triển từ 2 - 4 ngày, bình quân $2,57 \pm 0,59$ ngày, sâu non tuổi 2 phát triển 3 - 5 ngày bình quân $4,2 \pm 0,33$ ngày, sâu non tuổi 3 phát triển từ 2 - 6 ngày, trung bình $3,6 \pm 0,31$ ngày. Trong số 15 cá thể điển hình được nuôi bằng rệp hại đậu tương có cá thể phát triển từ tuổi 1, 2 và 3 đến 9 ngày, có cá thể phát triển sau 10, 11, 13 ngày, bình quân $10,07 \pm 0,02$ ngày. Sâu non cuối tuổi 3 bước vào giai đoạn hình thành kén, chúng ngừng ăn, hoạt động kém dần, không đi lại, qua lỗ hậu môn chúng thường nhả tơ mảnh màu trắng làm kén và hóa nhộng ở trong đó.

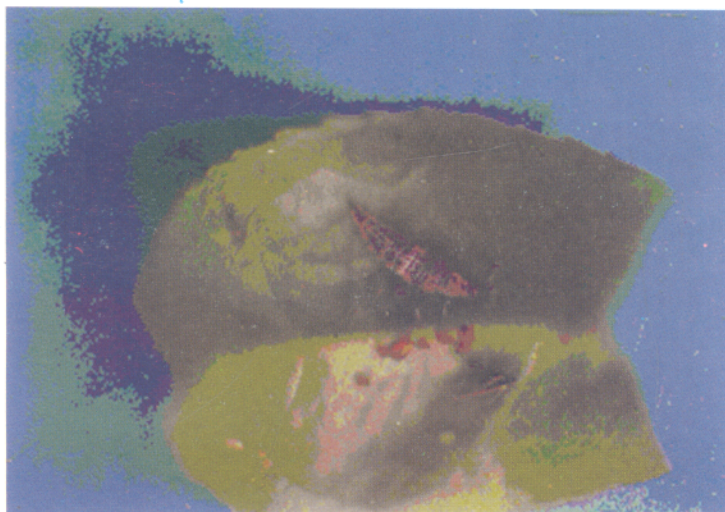
HÌNH ẢNH VỀ VÒNG ĐỜI CỦA BỘ MẮT VÀNG



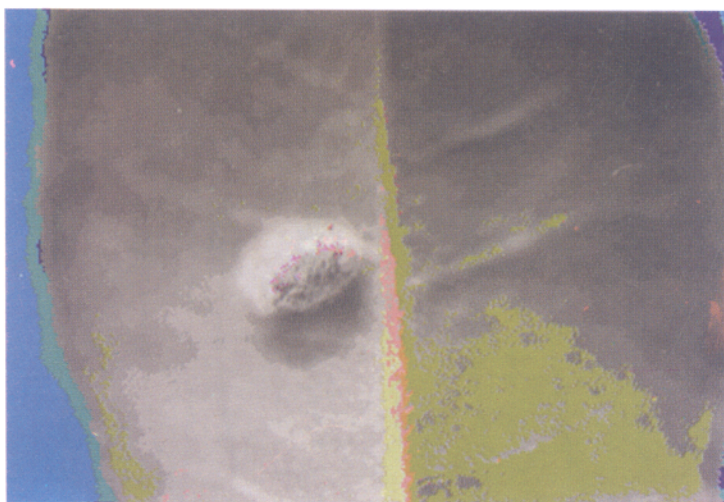
Hình 6.5. Trưởng thành của bọ mắt vàng (ảnh Lê Thị Nhung)



Hình 6.6. Trứng của bọ mắt vàng



Hình 6.7. Sâu non bộ mắt vàng đang ăn rệp hại lá chè (Ảnh Lê Thị Nhung)



Hình 6.8. Nhộng của bộ mắt vàng

c. Nhộng

Nhộng trần giống như hình cầu màu trắng, đường kính 3 - 4 mm. Nhộng được dính chặt vào các bộ phận thân, lá, cành của cây chủ. Thời gian phát triển của nhộng được quan sát qua nuôi nhân trong phòng thí nghiệm bằng thức ăn là rệp hại đậu tương ở điều kiện ẩm độ không khí trung bình từ 70 - 90% và nhiệt độ 28 - 30°C, nhộng phát triển trong khoảng 7- 8 ngày.

Bảng 6.45. Sự phát triển của nhộng bọ mắt vàng *Ch. carnea* Steph. trong điều kiện phòng thí nghiệm

STT cá thể	Thời gian phát triển (ngày đêm)	T°C ngày	Ẩm độ (%)
1	8	29 ± 1,5	85,5
2	8	29 ± 1,5	85,5
3	8	29 ± 1,5	85,5
4	8	29 ± 1,5	85,5
5	9	28,6 ± 1,7	83,6
6	7	29,3 ± 1,6	84,4
7	7	29,3 ± 1,5	84,4
8	8	29,8 ± 1,5	85,5
9	9	29,8 ± 1,7	80,7
10	14	20 ± 3,52	78,9
11	14	20 ± 3,52	78,9
12	13	22 ± 1,38	79,5
13	17	18 ± 1,31	73,7
14	16	18 ± 1,54	75,1
15	15	19 ± 1,42	78,6
16	15	19 ± 1,42	78,6
17	17	18 ± 1,31	73,7
18	17	18 ± 1,31	73,7
19	16	18 ± 1,4	75,1
20	15	18 ± 1,42	78,6
21	19	18 ± 2,42	70,9
22	16	18 ± 1,54	75,9
	12,55 ± 5,85		

Qua số liệu bảng 6.45 cho thấy nhiệt độ có ảnh hưởng rất lớn đến sự phát triển của nhộng bọ mắt vàng, nếu nhiệt độ và độ ẩm thấp hơn (t°: 17 - 25°C, ẩm độ: 60 - 80%) thì nhộng kéo dài thời gian phát triển từ 14 -19 ngày. Trong điều kiện ẩm độ tương đối của không khí từ 60 - 90% nhiệt độ bình quân ngày từ 17- 30°C

nhộng của *Ch. carnea* phát triển từ 7 - 19 ngày, bình quân $12,55 \pm 3,85$ ngày.

Như vậy trong điều kiện nhiệt độ trung bình 27°C và ẩm độ trung bình 80,5%, nhộng phát triển trung bình khoảng 12,5 ngày. Theo tài liệu của Pelop (1978) thì nhiệt độ 25°C - 26°C là điều kiện tối ưu cho bọ mắt vàng *Ch. carnea* phát triển, trong điều kiện đó nhộng phát triển khoảng 11 - 15 ngày.

d. Trưởng thành

Con trưởng thành màu xanh lá cây nhạt, thân mềm dài từ 8 - 15 mm, dang cánh rộng từ 23 - 30 mm. Anten râu đầu hình sợi chỉ dài 13 - 17 mm, cánh màng trong suốt với nhiều sợi ngang, dọc, màu xanh được phủ bởi những lông chia ra, mắt lồi to có ánh vàng. Mắt hình cầu lồi có ánh kim. Cánh màng trong suốt có nhiều đường gân ngang và dọc màu xanh nhạt. Gân cánh có phủ lông mịn, trên lưng và dọc theo giữa bụng có một đường vàng nhạt.

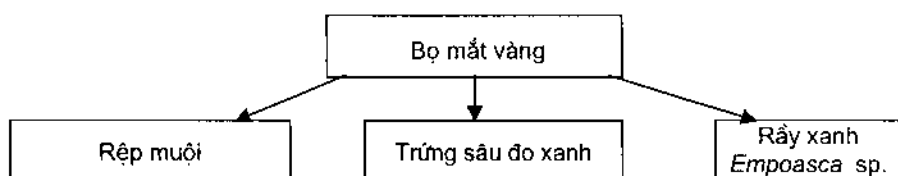
Kết quả nuôi trong phòng thí nghiệm chúng tôi nhận thấy trưởng thành hoạt động mạnh vào lúc chiều tối khi sâu non được nuôi bằng rệp hại đậu tương. Nhiệt độ không khí trung bình từ $18 - 23^{\circ}\text{C}$ và ẩm độ từ 60 - 80%, trưởng thành (đực + cái) sau khi vũ hóa phát triển 10-18 ngày. Trong suốt thời kỳ này cá thể đực và cái giao phối nhiều lần và sau hai ngày giao phối, con cái bắt đầu đẻ trứng. Trung bình mỗi đêm 1 con cái đẻ được 5 - 10 quả. Theo tài liệu của Pelop ở Bungaria năm 1978 thì con cái của trưởng thành *Ch. carnea* có thể sống và đẻ trứng trong hai tháng. Sản lượng trứng mỗi ngày đạt tới 25 quả, lúc thiếu thức ăn sản lượng trứng có thể giảm xuống 2 - 4 quả một ngày. So sánh với kết quả nghiên cứu ở Bungari, Trần Xuân Bí, Phạm Thị Thùy thấy kết quả của Viện Bảo vệ thực vật tương đối phù hợp.

6.3.3. Quan hệ thức ăn

Trưởng thành sau khi vũ hóa thường ăn thêm một thời gian mới hoàn thành sinh dục. Thí nghiệm tiến hành trong phòng cho trưởng

thành không ăn mỗi, chúng được nuôi bằng nước đường hoặc bằng nước mật ong. Kết quả nghiên cứu của một số tác giả nước ngoài thì trưởng thành của *Ch. carnea* trong tự nhiên ăn mật ong, phấn hoa, mật ngọt do rệp tiết ra... còn trong điều kiện phòng thí nghiệm ngoài nước đường và mật ong, có thể cho ăn thêm men bột bia.

Sâu non của bộ mắt vàng *Ch. carnea* thường ăn thô. Trong phòng thí nghiệm sâu non bộ mắt vàng ăn thức ăn bằng rệp hại đậu tương, rệp hại khoai nước, trứng ngài gạo. Kết quả điều tra trong sinh quần đày cách cho thấy sâu non của bộ mắt vàng có mối quan hệ thức ăn với các loài sau đây:



Sơ đồ 1: Quan hệ thức ăn của bộ mắt vàng với trứng sâu đo xanh trong ruộng đày cách ở Liên Khê

Trong sinh quần ruộng đày sâu non của bộ mắt vàng có thể tiêu diệt được rệp *Aphis gossypii*, trứng và sâu non tuổi nhỏ của sâu đo xanh *Anomis flava* Far, ấu trùng của rầy xanh. Theo kết quả nghiên cứu của nhiều tác giả nước ngoài xác định ấu trùng của bộ mắt vàng *Ch. carnea* là loài đa thực.

Nhóm thức ăn chủ yếu của bộ mắt vàng là rệp muội, sau đó là trứng và sâu non tuổi nhỏ của nhiều loài côn trùng, nhóm thứ 3 là nhện hại cây.

6.3.4. Khả năng tiêu thụ con mồi

Khả năng tiêu thụ con mồi của sâu non *Ch. carnea* được đánh giá qua các chỉ tiêu:

- Khả năng tiêu thụ con mồi của bộ mắt vàng trong một ngày đêm.
- Tổng số con mồi cần thiết để sâu non *Ch. carnea* kết thúc giai đoạn phát triển của mình.

Trong quá trình nghiên cứu, Viện Bảo vệ thực vật đã tiến hành theo dõi số lượng con mỗi mà sâu non tuổi 1, 2, 3 ăn hết trong 1 ngày đêm, số lượng con mỗi cần thiết cho sâu non từng lứa tuổi và tổng số con mỗi mà sâu non ăn hết. Rệp hại đậu tương có màu xanh lá cây nhạt được dùng làm thức ăn cho sâu non *Ch. carnea* tuổi 2, 3. Sâu non bộ mắt vàng còn ăn con rệp cái không cánh sinh sản vô tính.

Kết quả nghiên cứu cho thấy sâu non tuổi 1 của *Ch. carnea* lúc mới nở chỉ tiêu thụ một vài con mỗi, dần dần sức ăn của sâu non tuổi lớn trong một ngày đêm được tăng lên. Ở tuổi 1 trung bình 1 sâu non ăn hết $16,37 \pm 5,88$ con rệp trong một ngày đêm (rệp hại đậu tương, ấu trùng tuổi 4, 5 con cái sinh sản vô tính không có cánh). Mức tiêu thụ mỗi ở tuổi 2 trong suốt một ngày đêm lớn hơn chúng ăn hết $24,94 \pm 5,84$ rệp, ở tuổi 3 mức tiêu thụ $32,80 \pm 8,55$ cá thể rệp. Như vậy cả giai đoạn tuổi 1, sâu non *Ch. carnea* cần tiêu thụ $36,76 \pm 8,82$ con rệp, ở tuổi 2 lượng rệp đó lớn hơn gấp 3 lần là $117,85 \pm 28,84$ cá thể, tuổi 3 cần một lượng rệp là $137,0 \pm 83,05$ con, gần bằng cả lượng rệp cần thiết cho phát triển tuổi 1 và tuổi 2. Kết quả còn cho thấy cả giai đoạn ấu trùng *Ch. carnea* tiêu thụ hết $291,43 \pm 29,53$ cá thể rệp. Sâu non bộ mắt vàng được nuôi trong hộp petri là thích hợp vì dụng cụ này đã tạo điều kiện cho *Ch. carnea* bắt mồi dễ dàng và bắt được nhiều hơn so với ngoài tự nhiên.

Bảng 6.46. Khả năng tiêu thụ rệp hại đậu tương của sâu non *Ch. carnea* Steph. (*Chrysopidae*, *Neuroptera*)

Ch. carnea	Khả năng tiêu thụ mỗi		T°C	A° (%)
	Ngày đêm	Cả giai đoạn		
Sâu non tuổi I	$16,37 \pm 5,38$	$36,76 \pm 8,82$	$25 \pm 3,62$	$78,5 \pm 12,4$
Sâu non tuổi II	$24,84 \pm 5,84$	$117,28 \pm 28,84$	$24 \pm 2,96$	$75 \pm 9,3$
Sâu non tuổi III	$32,86 \pm 8,86$	$137 \pm 32,05$	$24 \pm 3,84$	$77 \pm 15,3$
Tổng I+II+III	$74,07 \pm 8,86$	$291,43 \pm 29,53$	19-28	60-95

So sánh với kết quả của Pelop năm 1978 và Babricova năm 1980 ở Bungari thì kết quả nghiên cứu của Viện Bảo vệ thực vật phù hợp vì ở Bungari sâu non *Ch. carnea* ăn hết từ 250 - 350 con rệp hay 1000 nhện đỏ gây hại cây trong cả giai đoạn phát triển của sâu non.

* Nghiên cứu về biến động của bọ mắt vàng trên ruộng đay tại HTX Liên Khê, Châu Giang, Hưng Yên năm 1982, kết quả ở bảng 6.47.

Bảng 6.47. Biến động của bọ mắt vàng *Chrysopa carnea* trên ruộng đay

Ngày điều tra	Trứng		Sâu		Nhộng	
	Đại trà	Ruộng muện	Đại trà	Ruộng muện	Đại trà	Ruộng muện
15 - IV	1,33					
20	0,33					
25	1		0,66			
30	1,66		1	0,33		
5 - V	1	0,33		0,33		
10	1	0,33		0,33		
15		1,33	0,33	0,33		
20	1,66	1	2,66	3,66		
23	1,66	1,33	4	1,33		
26	1,66	5	1,66	1	0,33	
29	0,33	2	2	0,33		
2 - VI	1,66	3,33	0,33	0,66		0,33
5	2	0,33	0,5			
11		0,66		2,3	0,5	
15	0,33	1	0,33	2,6		

Trên ruộng đay, bọ mắt vàng xuất hiện từ tháng 3 đến tháng 5 và tháng 6 xuất hiện nhiều hơn có lúc lên đến 4 - 5 con/m². Bọ mắt vàng xuất hiện cả trên các cây họ đậu, họ cà, họ hoa thập tự, tập trung chủ yếu trên các đọt hoa, lá non có nhiều rệp. Kết quả điều tra cho thấy ở những nơi có nhiều bọ mắt vàng thì hầu như không có rệp hại.

Về tỷ lệ trứng nở của bọ mắt vàng thu được từ ngoài đồng được trình bày ở bảng 6.48.

**Bảng 6.48. Tỷ lệ nở của trứng bọ mắt vàng *Chrysopa carnea*
(Trứng được thu ở ngoài đồng)**

Số thứ tự	Ngày TN	TS trứng thu được	Tỷ lệ nở (%)	Tỷ lệ ung (%)	Tỷ lệ ký sinh (%)	Ghi chú
1	20-V	4	75		25	Trứng thu được trên cây đay
2	23-V	8	62,5	37,5		
3	29-V	4	25		75*	
4	6-VI	4	50	50		
5	11-VI	6	83,3	16,7		
6	18-VI	19	100			
7	20-VI	29	75,7	24,3		
Tổng số		74	67,54	18,36	14,1	

Qua bảng 6.48 cho thấy tỷ lệ trứng nở của bọ mắt vàng đạt trung bình là 67,54%, tỷ lệ trứng ung và trứng bị ký sinh trên 30%, số liệu trên khẳng định bọ mắt vàng có khả năng phát triển tốt trong điều kiện tự nhiên.

Thời gian phát triển của sâu non bọ mắt vàng:

Tiến hành nuôi vào tháng 5, tháng 6 tại HTX Liên Khê năm 1982. Kết quả thu được trong điều kiện nhiệt độ và ẩm độ bình thường tỷ lệ trứng nở ra sâu non bọ mắt vàng đạt 90,6%.

- Thời gian trứng 3 - 4 ngày.
- Thời gian sâu non từ 6 - 9 ngày.
- Thời gian vào nhộng từ 9 - 10 ngày.
- Thời gian sống của trưởng thành 4 - 6 ngày.
- Tỷ lệ trưởng thành vũ hóa 76,6%.

Tổng chung 1 vòng đời của bọ mắt vàng từ 22 - 29 ngày.

Quá trình nuôi bọ mắt vàng tại HTX Mỹ Sở từ tháng 4 đến tháng 6 năm 1983 với thức ăn chính là rệp đậu, kết quả cho thấy:

- Thời gian trứng từ 3 - 4 ngày.
- Thời gian sâu non 10 - 13 ngày.
- Thời gian nhộng 7 - 11 ngày.
- Thời gian trưởng thành từ 1 - 3 ngày.

Tổng vòng đời của bọ mắt vàng từ 21 - 31 ngày.

Kết quả nuôi sâu non bọ mắt vàng tại phòng thí nghiệm sinh học Viện Bảo vệ thực vật bằng trứng ngải gạo và rệp đậu (bảng 6.49).

Bảng 6.49: Khả năng tiêu thụ mỗi của sâu non bọ mắt vàng

STT	Số cá thể theo dõi	Thời gian nuôi	Khả năng tiêu thụ mỗi				Ghi chú
			Tuổi 1	Tuổi 2	Tuổi 3	Tuổi 4	
1	20	20/IV-2/V	20-25	30-45	45-65	95-133	Nuôi bằng quả trứng ngải gạo
2	30	4/V-12/V	18-20	44-50	60-75	122-145	
3	60	17/V-26/VI	14-18	25-28	30-40	69-86	Nuôi bằng rệp đậu (con)
4	40	8/VI-17/VI	11-16	22-29	30-38	63-76	
5	30	26/V-5/VI	13-18	21-25	28-38	62-81	

Số liệu cho thấy với thức ăn là trứng ngải gạo thì khả năng tiêu thụ mỗi của sâu non bọ mắt vàng trung bình từ 95 - 145 quả, với thức ăn là rệp đậu thì bọ mắt vàng chỉ tiêu thụ được 62 - 86 con rệp non (nguồn Trần Xuân Bí, Phạm Thị Thùy, Nguyễn Ngọc Tiến).

Bọ mắt vàng đã phát triển tốt trong điều kiện nóng ẩm, mưa nhiều khi trên đồng ruộng nhiều loại cây trồng khi có dịch rệp muội và các loại trứng của sâu hại đây, cây rau màu và cây ăn quả. Thực tế bọ mắt vàng đã tiêu thụ được khá nhiều loài rệp muội, trứng của nhiều sâu non hại cây trồng. Đây là loài thiên địch có ích và rất nhiều triển vọng ở Việt Nam.

Trong thời gian tới chúng tôi hy vọng bằng công nghệ sinh học, các nhà khoa học bảo vệ thực vật và công nghệ sinh học cần phải tập trung đi sâu nghiên cứu giải quyết vấn đề nhân nuôi và phát triển bọ mắt vàng theo quy mô công nghiệp trên cơ sở được nhà nước đầu tư kinh phí cho nghiên cứu, trang thiết bị... Có như vậy mới có thể áp dụng nhanh loài thiên địch này vào sản xuất để bảo vệ cây trồng theo định hướng bảo vệ môi trường, an toàn sức khỏe cho người sản xuất, vật nuôi, đồng thời tạo nên những nông sản thực phẩm an toàn và bền vững.

6.4. Nghiên cứu sản xuất ong đen kén đơn trắng *Cotesia plutellae* Kurdj

6.4.1. Một số đặc điểm hình thái của ong đen kén đơn trắng *Cotesia plutellae* Kurdj (Hymenoptera, Braconidae)

Nghiên cứu về ong đen kén đơn trắng đã được Viện Sinh thái tài nguyên sinh vật và trường Đại học Nông nghiệp I tiến hành trong những năm gần đây. Về đặc điểm hình thái:

Ong trưởng thành có màu đen, mặt dưới bụng màu nâu hơi vàng, chân màu nâu đỏ trừ phần gốc sau và các đốt bàn sau có màu đen hoặc tối màu.

Ong đực có chiều dài thân 2,3 - 2,4 mm, râu đầu hình sợi chỉ có 16 đốt, dài hơn thân, các đốt râu dài gần bằng nhau, sải cánh dài 3,4 - 4,0 mm, cánh trước có mắt cánh với các chấm thưa màu nâu đen, gốc cánh sáng màu hơn so với phần trên. Đốt bụng thứ nhất hẹp gốc bề mặt đốt thứ 3 có chấm thưa và lông nhỏ rải rác và là đặc điểm phân biệt với *Apanteles rificrus*. Bàn chân có 5 đốt, đốt thứ nhất màu vàng sáng, dài gấp đôi đốt thứ hai, đốt thứ ba ngắn hơn đốt thứ hai một chút, đốt thứ năm dài gấp hai lần đốt thứ tư, từ đốt 2 đến đốt thứ 5 có màu nâu đen.

Ong cái có chiều dài 2,4 - 2,5 mm. Râu hình chỉ dài bằng thân, có 16 đốt từ đốt 10 đến đốt thứ 16, các đốt ngắn dần và xếp xít lại. Máng đẻ trứng tương đối ngắn, chỉ nhìn rõ từ mặt bên.

Trứng ở trong buồng trứng lúc mới đẻ vào sâu chủ có hình quả dưa chuột, một đầu có gai móc, sau 12 giờ phát triển đến 24 giờ, trứng hình quả chanh yên, một đầu có chiều ngang phình to.

Ấu trùng có 3 tuổi, cơ thể gồm 9 đốt, màu trắng trong, cuối tuổi 3 ấu trùng thường có màu trắng sữa. Riêng ấu trùng tuổi 2 có một màng mỏng hình quạt ở phía đuôi, rất dễ phân biệt với tuổi 1 và tuổi 3.

Nhộng ong có màu trắng hoặc hơi ngà vàng, kén thường ở dưới lá, đôi khi có ở mặt trên và kẽ lá. Chiều dài kén 3,4 - 3,5 mm, rộng 1,3 - 1,5 mm, hai đầu kén hình tù tròn. Khi chui ra ong trưởng thành tiện một đầu kén thành một nắp hình tròn. Nhộng nằm trong vỏ kén lúc đầu có màu trắng sữa, sau 2 - 3 ngày mắt và ngực có màu

nâu nhạt, sau 4 - 5 ngày có màu nâu hoặc đen, lúc này các bộ phận của ong trưởng thành đã phát triển đầy đủ trong nhộng, ong chuẩn bị vũ hóa.

6.4.2. Kích thước và thời gian phát triển của trứng và ấu trùng

Kết quả nghiên cứu của Vũ Thị Chỉ, Mai Phú Quý, Nguyễn Thị Lai (2003), Viện Sinh thái và tài nguyên sinh vật cho biết: Trứng (lúc mới đẻ) có kích thước chiều dài 0,3 cm và chiều rộng 0,75 mm. Trước khi trứng nở, chiều dài trung bình của trứng đạt 0,7 - 0,02 mm và chiều rộng 0,115 - 0,02 mm.

Ấu trùng ong mới nở có kích thước rất nhỏ, chiều dài thân trung bình 0,56 - 0,01 mm, chiều rộng đầu 0,063 - 0,005 mm. Ấu trùng tuổi 1 có kích thước trung bình 0,78 - 0,10 mm (dài), 0,072 - 0,14 mm (rộng đầu), giai đoạn tuổi 1 kéo dài 1 - 2 ngày, trung bình 1,96 - 0,68 ngày. Ấu trùng tuổi 2 có kích thước trung bình 1,57 - 0,18 mm (dài) và 0,13 - 0,02 mm (rộng đầu), giai đoạn tuổi 2 kéo dài 2 - 3 ngày, trung bình 2,60 - 0,80 ngày; ấu trùng tuổi 3 có kích thước trung bình 3,09 - 0,50 mm (dài) và 0,397 - 0,03 mm (rộng đầu) (bảng 6.50).

Bảng 6.50. Sự phát triển của pha trứng, ấu trùng và ong ký sinh trong sâu tơ ký chủ (Nhiệt độ 25 - 28°C, ẩm độ 80 - 85%)

Chỉ số đo (n=25)	Trứng		Ấu trùng			
	Mới đẻ	1 ngày	Mới nở	Tuổi 1	Tuổi 2	Tuổi 3
Chiều dài (mm)	0,03 ± 0,038	0,70 ± 0,02	0,56 ± 0,10	0,78 ± 0,18	1,57 ± 0,18	3,09 ± 0,50
Chiều rộng (mm)	0,075 ± 0,005	0,115 ± 0,02	0,063 ± 0,035	0,072 ± 0,014	0,13 ± 0,02	0,397 ± 0,03
Thời gian phát triển (ngày)		1		1,96 ± 0,68	2,60 ± 0,80	3,0 ± 0,61

Qua bảng cho thấy cuối tuổi 3, ấu trùng ong chui ra khỏi cơ thể sâu chủ rồi bắt đầu nhả tơ, dệt kén, lúc này ấu trùng rất mập, chiều ngang cơ thể tới gần 1 mm, chiều dài cơ thể đạt tới 4 mm. Sau khi chui ra khỏi cơ thể sâu chủ trong vòng 10 - 15 phút là ấu trùng dệt xong kén. Sâu tơ ký chủ, sau khi ong ký sinh đã hình thành kén vẫn còn sống được thêm một vài giờ nữa mới chết hẳn.

6.4.3. Vòng đời của ong ký sinh *Cotesis plutellae* ký sinh sâu tơ *Plutella xylostella*

Theo Nguyễn Thị Chỉ và cs thì trong điều kiện nhiệt độ 20°C, giai đoạn trứng và ấu trùng của ong kéo dài $15 \pm 2,5$ ngày, giai đoạn nhộng (kén) $7 \pm 1,5$ ngày. Giai đoạn trưởng thành sống trung bình là $8,5 \pm 1,4$ ngày. Vòng đời của ong kéo dài 20 - 21 ngày, ở nhiệt độ 30°C, thời gian phát triển lần lượt là $6,7 \pm 0,7$ ngày, $3,7 \pm 0,5$ ngày, $6,3 \pm 1,5$ ngày. Vòng đời của ong kéo dài 11 ± 12 ngày.

Bảng 6.51. Thời gian phát triển của ong *Cotesis plutellae* trong các điều kiện nhiệt độ khác nhau

Nhiệt độ	Giai đoạn trưởng thành (ngày)				Vòng đời (ngày)
	Ấu trùng	Nhộng	Trưởng thành	Trứng	
20°C	$15 \pm 2,5$ n= 46	$7 \pm 1,2$ n= 32	$8,5 \pm 1,4$ n= 25	$7,7 \pm 1,5$ n= 26	20 - 21
30°C	$6,7 \pm 0,7$ n= 85	$3,7 \pm 0,5$ n= 68	$6,3 \pm 1,5$ n= 30	$6,0 \pm 2,0$ n= 50	11 - 12

Số liệu cho thấy thời gian phát triển của ong ký sinh kén đơn trắng phụ thuộc chặt chẽ vào nhiệt độ theo tỷ lệ nghịch.

6.4.4. Đặc điểm sinh học của ong đen kén đơn trắng

Vũ Thị Chỉ, Mai Phú Quý, Nguyễn Thị Lai cho biết trong điều kiện nhiệt độ 20°C vòng đời của ong *C. plutellae* kéo dài 20 - 21 ngày, trong đó giai đoạn trứng và ấu trùng kéo dài $13 \pm 2,5$ ngày, giai đoạn nhộng $7 \pm 1,2$ ngày, trưởng thành $8,5 \pm 1,4$ ngày và $7,7 \pm 1,5$ ngày. Ở nhiệt độ 30°C các số liệu tương tự như sau: 11 - 12 ngày; $6,7 \pm 0,7$ ngày; $3,7 \pm 0,7$ ngày; $6,3 \pm 1,5$ ngày (ong đực) và $6,0 \pm 2$ ngày (ong cái).

Hồ Thị Thu Giang, Đại học Nông nghiệp I đã xác định thời gian các pha phát dục của ong *C. plutellae* ở điều kiện nhiệt độ trung bình 25°C, ẩm độ 60 - 80%, (bảng 6.52). Số liệu cho thấy thời gian phát dục pha trứng kéo dài là $2,00 \pm 0,38$ ngày.

Sâu non các tuổi có thời gian phát dục trung bình là $6,63 \pm 1,37$ ngày, trong đó sâu non tuổi 1 là $1,89 \pm 0,31$, tuổi 2 và tuổi 3 tương ứng là $2,56 \pm 0,67$ ngày và $2,18 \pm 0,39$ ngày. Nhộng có thời gian phát dục trung bình $4,96 \pm 0,87$ ngày. Trưởng thành giao phối,

ghép đôi và đẻ trứng ký sinh lên sâu non sâu chủ ngay trong ngày sau khi vũ hóa từ 6 giờ (0,25 ngày) đến 12 giờ (0,50 ngày).

Bảng 6.52. Thời gian phát dục các pha của ong *C. plutellae*

Pha phát dục	Số cá thể theo dõi	Thời gian phát dục từng pha (ngày)		
		Ngắn nhất	Dài nhất	Trung bình
Trứng	29	1,0	3,0	$2,0 \pm 0,38$
Sâu non tuổi 1	28	1,0	2,0	$1,89 \pm 0,31$
Sâu non tuổi 2	32	2,0	4,0	$2,56 \pm 0,67$
Sâu non tuổi 3	22	2,0	3,0	$2,18 \pm 0,39$
Tổng pha trứng - sâu non	111	6,0	12	$8,63 \pm 0,44$
Pha nhộng	26	4,0	8,0	$4,96 \pm 0,87$
Trưởng thành	7	0,25 (6 giờ)	0,50 (12 giờ)	$0,30 \pm 0,10$
Vòng đời	144	10,25	20,50	$13,89 \pm 1,41$

Ghi chú: Nhiệt độ: 25 °C; ẩm độ: 60 - 80%.

Tổng vòng đời của ong *C. plutellae* trung bình là $13,89 \pm 1,41$ ngày.

*** Về tập tính ký sinh của ong *C. plutellae***

– **Hành vi ký sinh:** Ngay sau hóa trưởng thành 3 - 4 giờ, ong *C. plutellae* có thể giao phối với thời gian khoảng 25 - 30 giây. Ong cái đẻ trứng ngay trong ngày vũ hoá, sau khoảng 6 - 12 giờ ong thường dùng râu đầu dò tìm kiếm sâu tơ tuổi 2 - 3 để đẻ trứng lên cơ thể, thời gian đẻ trứng kéo dài từ 3 đến 12 giây. Ong trưởng thành có xu hướng hướng tới ánh sáng vì trong ống nghiệm đựng đứng thường thấy ong bò lên trên miệng.

– **Thời gian đẻ trứng trong ngày:** Biết được thời điểm thích hợp của ong *C. plutellae* trong việc tìm kiếm sâu chủ để ký sinh, giúp chúng ta có thể bổ sung vào kỹ thuật nhân nhanh loài ong này, đồng thời để bảo vệ được ong ký sinh và hạn chế số lượng sâu hại trên đồng ruộng mà không phải phun thuốc vào những thời điểm (giờ) ong đang vũ hóa với tỷ lệ cao trong ngày. Việc tìm hiểu đặc tính ký sinh đẻ trứng, giao phối của ong *C. plutellae* trong ngày ở điều kiện tự nhiên, Hồ Thị Thu Giang đã thí nghiệm cho từng cặp ong ký sinh tiếp xúc với 7 sâu tơ tuổi 2 - 3 trong từng ống nghiệm. Khoảng thời gian tiếp xúc là 02 - 06 h; 06 - 10 h; 10 - 14 h; 14 - 18 h; 18 - 22 h và 22 - 02 h. Sau mỗi khoảng thời gian tiếp xúc thì phải thay sâu tơ mới. Sâu non sau khi bị ký sinh tiếp tục nuôi cho đến khi ong vũ hóa

để xác định tỷ lệ sâu bị ký sinh, kết quả cho thấy ong có thể tìm kiếm sâu tơ và đẻ trứng ký sinh vào tất cả các thời gian trong ngày. Song ong đẻ trứng nhiều và tập trung vào khoảng thời gian 06 - 10h; 10 - 14 h; 14 - 18 h cho tỷ lệ ký sinh tương ứng là 57,14; 24,68 và 40,91%, còn tỷ lệ ký sinh thấp nhất vào khoảng thời gian 02 - 6 h và 18 - 22 h là 2,60 và 0,65%, ong không hoạt động ký sinh trong khoảng thời gian 22 - 02 h.

– *Thời gian vũ hóa trong ngày của ong C. plutellae*: Hồ Thị Thu Giang đã tiến hành 3 đợt với tổng số là 300 kén, kết quả cho thấy hầu hết ong *C. plutellae* trưởng thành được vũ hóa từ nhộng ở tất cả các khoảng thời gian trong ngày. Buổi sáng từ 8 -10 giờ ong vũ hóa với tỷ lệ cao nhất 16,09 - 17,01% cao gấp 2,19 lần so với giờ vũ hóa lúc 12 h là 7,77%, cao gấp 6,12 lần so với giờ vũ hóa thấp nhất trong ngày vào lúc 22 h.

– *Tính lựa chọn tuổi sâu chủ của ong ký sinh Cotesia plutellae*: Hiểu biết về mối quan hệ tương tác giữa ong ký sinh *C. plutellae* và sâu chủ *Plutella xylostella* là rất có ý nghĩa không chỉ trong sản xuất nhân nuôi ký sinh mà còn giúp người ta xác định đúng thời gian thích hợp nhất cho việc thả ong ra ngoài đồng ruộng. Thí nghiệm trong phòng để tìm hiểu ảnh hưởng của nhiệt độ đến tập tính lựa chọn sâu chủ của ong *C. plutellae* cho cả 4 độ tuổi sâu tơ vào trong một ống nghiệm cùng với 1 cặp ong. Kết quả cho thấy ong *C. plutellae* đã đẻ trứng ký sinh ở tất cả các tuổi của sâu tơ song với mức độ khác nhau, sâu tơ tuổi 2 có tỷ lệ nhiễm ký sinh cao nhất 64,6%. Tỷ lệ ký sinh giảm dần ở các tuổi tương ứng theo thứ tự tuổi 3, tuổi 1 và tuổi 4. Nhiệt độ 20°C và 25°C có ảnh hưởng đến tập tính lựa chọn tuổi sâu chủ của ong ký sinh.

Bảng 6.53. Tỷ lệ sâu tơ bị ong *C. plutellae* ký sinh ở các lứa tuổi khác nhau

Tuổi sâu Ngày theo dõi	20°C				25°C			
	Tuổi 1	Tuổi 2	Tuổi 3	Tuổi 4	Tuổi 1	Tuổi 2	Tuổi 3	Tuổi 4
Ngày thứ nhất	7,5	42,5	32,5	0	26,3	63,8	37,5	7,5
Ngày thứ hai	20,0	48,8	36,3	7,5	15,0	52,5	40,0	16,3
Ngày thứ ba	12,5	58,8	55,0	8,8	25,0	77,5	67,5	5,0
Tỷ lệ trung bình (%)	13,3	50,0	41,3	5,4	22,1	64,6	48,3	10,0

Ghi chú: Thời gian tiếp xúc ký sinh và sâu chủ: 24 h.

Số cặp ong thí nghiệm: 10.

Số lượng sâu chủ mỗi tuổi: 10 sâu non.

Sự đẻ trứng của ong ký sinh khi đẻ riêng từng độ tuổi của sâu chủ nhằm xác định tính lựa chọn tuổi sâu chủ để ký sinh được trình bày ở bảng 6.54.

Bảng 6.54. Tính chọn lựa tuổi sâu chủ của ong *C. plutellae*

Tuổi sâu chủ	Số sâu chủ bị ký sinh/ 1 ong cái (con)	Số trứng đẻ của 1 ong cái/ từng tuổi sâu chủ (quả)	Số trứng đẻ ký sinh/ 1 sâu chủ (quả/ 1con sâu)
Tuổi 1	$2,60 \pm 1,35^{a*}$	$3,0 \pm 1,89^a$	$1,13 \pm 0,22^a$
Tuổi 2	$5,35 \pm 2,83^b$	$7,0 \pm 4,21^b$	$1,49 \pm 0,74^b$
Tuổi 3	$5,55 \pm 2,58^b$	$8,35 \pm 5,06^b$	$1,46 \pm 0,41^b$
Tuổi 4	$1,10 \pm 1,17^c$	$1,25 \pm 1,33^a$	$1,17 \pm 0,39^{ab}$

Kết quả cho thấy số trứng đẻ của 1 ong cái ở sâu tơ tuổi 2 và sâu tơ tuổi 3 theo thứ tự là $7,0 \pm 4,21$ và $8,35 \pm 5,06$ quả. Xử lý thống kê ở độ tin cậy $P < 0,05$ cho thấy không có sự khác nhau về số trứng đẻ của một ong cái trên sâu non tuổi 2 và tuổi 3. Như vậy tập tính lựa chọn tuổi sâu chủ để ong *C. plutellae* đẻ trứng là không thay đổi khi hỗn hợp các tuổi sâu chủ hoặc tách riêng từng tuổi.

Bảng 6.55. Ảnh hưởng của tuổi sâu chủ đến thời gian phát dục của ong ký sinh *C. plutellae*

Tuổi sâu chủ	Tỷ lệ xuất hiện kén (%)	Thời gian phát dục của ký sinh (ngày)		
		Trong sâu chủ	Ngoài sâu chủ	Tổng thời gian phát dục
Tuổi 1	$13,17 \pm 14,58^{a*}$	$8,29 \pm 0,19^a$	$5,10 \pm 1,02^a$	$13,35 \pm 1,40^a$
Tuổi 2	$51,54 \pm 10,04^c$	$8,18 \pm 0,20^{ab}$	$5,14 \pm 0,98^a$	$13,27 \pm 1,38^a$
Tuổi 3	$56,10 \pm 12,16^c$	$7,96 \pm 0,17^c$	$5,03 \pm 0,87^a$	$12,91 \pm 1,16^b$
Tuổi 4	$33,54 \pm 25,05^b$	$7,43 \pm 0,39^d$	$5,00 \pm 0,89^a$	$12,19 \pm 1,28^c$

Tuổi sâu chủ có vai trò quan trọng đến sức sống của ong non. Nếu dinh dưỡng đầy đủ, phù hợp thì ong ký sinh phát triển tốt và ngược lại. Nghiên cứu ảnh hưởng của sâu tơ đối với ong ký sinh *C. plutellae* trong phòng thí nghiệm, kết quả cho thấy tuổi của sâu tơ khi bị ký sinh có ảnh hưởng đến sức sống của ong phát triển bên trong sâu tơ. Tỷ lệ xuất hiện kén ở tuổi 2 và tuổi 3 là $51,54 \pm 10,04\%$ và $56,10 \pm 12,16\%$. Sâu non, sâu tơ tuổi 1 do kích thước cơ thể nhỏ,

sức yếu nên bị chết nhiều vì vậy sự tạo thành kén thấp, tỷ lệ xuất hiện kén chỉ đạt $13,17 \pm 14,58$.

Các loài ong ký sinh thuộc họ Braconidae có thời gian phát dục từ khi đẻ trứng đến khi trưởng thành vũ hóa giảm dần cùng với tuổi sâu chủ càng lớn.

– *Ảnh hưởng của ong ký sinh C. plutellae đến sức sống của sâu tơ*: Nghiên cứu ảnh hưởng của ong ký sinh đến thời gian phát triển ở mỗi lứa tuổi và sức ăn của sâu tơ, Hồ Thị Thu Giang cho biết nếu ở sâu tuổi 2 bị ký sinh thì thời gian phát triển ở tuổi 3 thường kéo dài $2,87 \pm 0,83$ ngày còn với sâu không bị ký sinh thì thời gian phát triển chỉ $2,25 \pm 0,64$ ngày. Sâu tơ tuổi 4 bị ký sinh thì thời gian phát triển kéo dài $3,33 \pm 0,87$ ngày, sâu non không ký sinh chỉ $2,44 \pm 0,63$ ngày. Sâu tơ tuổi 3 mới bị ký sinh thì thời gian phát triển tuổi 4 dài $6,22 \pm 0,97$ ngày và dài hơn sâu non bình thường tới 3 lần. Tất cả sâu non bị ký sinh không thể hóa nhộng, sâu tơ tuổi 1 - 3 sau khi bị ký sinh vẫn lột xác bình thường, sinh trưởng phát triển cho đến tuổi 4. Sâu tơ sau khi bị ký sinh tuy không thể hóa nhộng được nhưng chúng vẫn sống cho đến khi sâu non của ong chui từ trong cơ thể sâu tơ ra ngoài để làm kén, thời gian phát dục của sâu tơ tuổi 4 bị ký sinh dài hơn so với sâu non không bị ký sinh, mặt khác sâu tuổi 4 càng lớn thì thời gian phát dục càng dài.

Khi điều tra mật độ quần thể sâu tơ ngoài đồng ruộng các nhà khoa học cần điều tra thêm tỷ lệ ký sinh của ong *C. plutellae* bằng cách trực tiếp thu thập sâu tơ tuổi 4 về để tính tỷ lệ ký sinh thực tế. Theo dõi sức ăn của sâu tơ bị ký sinh và sâu không bị ký sinh. kết quả cho thấy sau khi bị ký sinh 1 ngày thì khả năng ăn giữa nhóm sâu bị ký sinh và không bị ký sinh là như nhau. Nhóm sâu sau khi bị ký sinh từ 2 - 4 ngày thì chúng hoạt động chậm chạp và sức ăn giảm dần cho đến khi ong non chui ra dẹt kén hóa nhộng. Đối với nhóm sâu không bị ký sinh thì khả năng tiêu thụ thức ăn cao trong 3 - 4 ngày sau đó sức ăn cũng giảm dần để chuẩn bị hóa nhộng.

** Sức đẻ trứng và nhịp điệu đẻ trứng của ong ký sinh C. plutellae*

Theo dõi về thời gian và nhịp điệu đẻ trứng của ong *C. plutellae* khi cho ong cái tiếp xúc với sâu tơ tuổi 2, 3 trong một ngày (20 sâu

non). Sau mỗi ngày lại thay sâu non mới. Thí nghiệm được tiến hành từ khi ong vũ hóa tới khi chết. Phân tích các sâu chủ trong từng ngày để xác định số lượng trứng của ong và mổ những con cái trưởng thành sau khi chết để xác định số trứng còn lại (theo dõi 15 ong) kết quả được trình bày ở bảng 6.56.

Bảng 6.56. Sức đẻ trứng và nhịp điệu đẻ trứng của ong *C. plutellae*

Ngày đẻ trứng	Số lượng trứng đẻ theo ngày (quả/1 con cái)		
	Ít nhất	Nhiều nhất	Trung bình
Ngày thứ nhất	2	8	4,40 ± 2,23
Ngày thứ hai	3	14	7,13 ± 2,92
Ngày thứ ba	4	24	13,20 ± 5,35
Ngày thứ tư	0	16	7,50 ± 4,80
Ngày thứ năm	0	20	9,09 ± 5,62
Ngày thứ sáu	2	12	8,30 ± 2,89
Ngày thứ bảy	3	18	11,22 ± 4,53
Ngày thứ tám	0	15	7,86 ± 4,37
Ngày thứ chín	3	12	5,33 ± 2,57
Ngày thứ mười	0	13	5,75 ± 4,37
Ngày thứ mười một	1	7	3,50 ± 1,87
Ngày thứ mười hai	1	3	2,00 ± 1,00
Ngày thứ mười ba	1	1	1,00
Ngày thứ mười bốn	2	2	2,00
Tổng số trứng	22	165	88,28 ± 38,58

Ghi chú: Nhiệt độ 25°C ± 1; ẩm độ trung bình 86,4%.

Như vậy ong ký sinh kén đơn trắng có thời gian đẻ trứng kéo dài 14 ngày. Mỗi ong cái đẻ được từ 22 - 165 quả, trung bình 88,28 ± 21,44 quả. Số lượng trứng đẻ tăng dần kể từ ngày thứ nhất, đạt cao nhất vào ngày thứ 3 trung bình 13,2 ± 5,35 quả, sau đó số trứng giảm dần cho tới ngày sống cuối cùng, ngoại trừ tăng vào ngày thứ 7 (trung bình 11,22 quả).

*** Mối quan hệ giữa độ tuổi đẻ trứng ký sinh và hiệu quả ký sinh của ong *Cotesia plutellae***

Thí nghiệm tìm hiểu độ tuổi đẻ trứng của ong ở ngày thứ 1, 2, ... 14 ngày sau vũ hoá. Kết quả cho thấy chúng có ảnh hưởng đến sức sống của thế hệ sau, đến thời gian sống và hiệu quả ký sinh của ong trưởng thành. Tỷ lệ sâu tơ bị ký sinh là không khác biệt giữa ngày đầu với ngày thứ 6 kể từ khi vũ hoá, ong bắt đầu đẻ trứng ký sinh đạt 47,5% và 53,0%, sau đó tỷ lệ ký sinh giảm xuống 29,5%, hiệu

quả ký sinh thấp nhất vào ngày thứ 14. Ong trưởng thành sống tăng từ 11,1 đến 19,8 ngày tương ứng với ngày đầu và ngày thứ 14 kể từ khi ong vũ hóa bắt đầu đẻ trứng ký sinh. Hiệu quả ký sinh (số kén được tạo ra) cũng không sai khác giữa ngày đầu và ngày thứ 6 kể từ khi ong bắt đầu đẻ trứng.

Những kết quả nghiên cứu trên của Hồ Thị Thu Giang và Nguyễn Thị Chỉ có ý nghĩa trong việc nhân nhanh số lượng ong ký sinh để ứng dụng, là cơ sở khoa học của công nghệ sinh học. Vì vậy ong ký sinh kén trắng đơn là một trong những loài ký sinh có triển vọng, hy vọng trong tương lai nếu được đầu tư của Nhà nước thì các nhà khoa học tiếp tục hoàn thiện công nghệ nhân nuôi ong với số lượng lớn nhằm góp phần vào việc phòng trừ sâu hại cây trồng theo hướng bảo vệ môi trường, tạo ra những nông sản sạch và an toàn.

Chương 7

CÔNG NGHỆ SẢN XUẤT CÁC THUỐC TRỪ SÂU CÓ NGUỒN GỐC TỪ VI SINH VẬT Ở VIỆT NAM

7.1. Công nghệ sản xuất thuốc trừ sâu *Bacillus thuringiensis* (Bt)

7.1.1. Phương pháp thu thập mẫu và kiểm tra mẫu côn trùng bị nhiễm bệnh do Bt

Dựa vào triệu chứng bệnh côn trùng bị ký sinh ngoài đồng ruộng để nhận biết các vi sinh vật gây bệnh trên côn trùng nói chung và Bt nói riêng thông qua điều tra thu mẫu ngoài tự nhiên (có thể định kỳ hoặc không định kỳ) với các phương pháp sau:

- * Phương pháp lấy mẫu bệnh côn trùng từ ngoài đồng ruộng
 - Bắt bằng tay.
 - Bắt bằng vợt.
 - Phương pháp vỗ đập hoặc rung cây.

Bỏ những mẫu côn trùng chưa xác định được tên trên các cây trồng hoặc bị mất một phần cơ thể ở mẫu côn trùng.

* Thu mẫu đất ở tầng lớp dưới mặt đất 5 -10 cm, lấy ngẫu nhiên nhưng đại diện cho từng vùng đất.

* Kiểm tra mẫu Bt trong phòng thí nghiệm.

– Phương pháp kiểm tra mẫu bệnh thường dựa vào triệu chứng để xác định loại vi sinh vật nào đó rồi sử dụng môi trường nuôi cấy thích hợp để phân lập và tuyển chọn những chủng giống thuần.

– Phân lập bằng phương pháp vi sinh vật nói chung. Định loại và làm tiêu bản theo tài liệu của Evgenia Videnova, Bungaria, 1976.

Dựa vào công nghệ vi sinh các nhà khoa học trên thế giới và trong nước đã nghiên cứu thành công ra các chế phẩm sinh học Bt có hoạt lực cao nhằm góp phần vào việc phòng trừ sâu hại cây trồng đạt kết quả.

7.1.2. Công nghệ sản xuất thuốc trừ sâu Bt

Việc sản xuất thuốc trừ sâu sinh học Bt ở Việt Nam trong những năm gần đây mới chỉ ở trong quy mô phòng thí nghiệm. Cho đến nay vẫn chưa có nhà máy sản xuất với công suất cao để có thể đáp ứng được cho phòng trừ sâu hại rau ở các vùng rau chuyên canh. Hiện nay mới chỉ có một số viện nghiên cứu có các thiết bị lên men có thể sản xuất được như Viện Công nghiệp thực phẩm, Công ty vi sinh thành phố Hồ Chí Minh và mới đây là Viện Công nghệ sinh học, Viện Cơ điện nông nghiệp và công nghệ sau thu hoạch cũng bắt đầu nghiên cứu song tất cả mới chỉ ở quy mô rất nhỏ trong phạm vi thăm dò chủng để sản xuất. Phần lớn các chủng dùng sản xuất là ở nước ngoài, vì vậy mà chưa thể đáp ứng được dù chỉ một phần nhỏ cho nhu cầu sản xuất. Công nghệ sản xuất Bt ở Việt Nam chủ yếu là sản xuất theo phương pháp lên men chìm. Phương pháp lên men xối đã có một số cơ sở thực hiện nhưng không thu được kết quả như mong muốn.

Quá trình sản xuất Bt những năm 1989 - 1996, Viện Công nghiệp thực phẩm đã phối hợp với Viện Bảo vệ thực vật vừa sản xuất vừa tiêu thụ chế phẩm Bt trong việc phòng trừ các loài sâu hại rau (sâu tơ, sâu xanh bướm trắng, sâu khoang...) ở xã Song Phương - Hoài Đức - Hà Tây và một số vùng rau thuộc ngoại thành Hà Nội, Bt trừ sâu róm thông ở Nghệ An, Thanh Hoá... Theo phương pháp lên men chìm, ngoài việc xác định chủng Bt thích hợp (chủng của Úc) và môi trường dinh dưỡng tối ưu cũng như tìm kiếm các chất tăng cường quá trình trao đổi chất và chất chống nhiễm phage, việc sản xuất Bt còn phải chú ý quan tâm tới các thông số kỹ thuật khác rất quan trọng trong quá trình lên men như yếu tố nhiệt độ, độ pH, độ oxy hòa tan, tốc độ không khí để xác định thời gian thu hoạch lượng sinh khối tối ưu sao cho thu được nhiều tinh

thể độc tố nhất. Cuối cùng phải nghiên cứu công nghệ sấy phun, phối trộn... để đảm bảo chất lượng của thuốc Bt.

7.1.2.1. Chế độ thông gió

Đây là chỉ tiêu quan trọng cho quá trình hình thành bào tử và các loại tinh thể độc tố, ngưỡng tốt nhất trong quá trình lên men là 0,5 - 0,6 m³ môi trường trên 1m³ không khí. Nếu chế độ thông gió ở mức thấp hơn thì bào tử phát triển yếu, mật độ thưa. Nếu gió ở mức cao, bào tử phát triển nhanh, thời gian lên men ngắn, tinh thể độc tố được tạo ra nhỏ, do đó hiệu quả diệt sâu không cao, vì vậy khi lên men người sản xuất phải luôn chú ý tới chỉ tiêu này.

7.1.2.2. Chế độ nhiệt

Nhiệt độ cũng có ảnh hưởng lớn tới sự hình thành bào tử, nhiệt độ tốt nhất cho quá trình lên men là 29-30°C, nếu nhiệt độ cao hơn hoặc thấp hơn thì thường kéo dài quá trình lên men làm hạn chế đến sự tạo ra mật độ bào tử. Vì vậy khi lên men người ta cần phải theo dõi nhiệt độ để ổn định, nếu như diện không đảm bảo cần thiết phải sử dụng ổn áp để tránh hiện tượng giảm sút số lượng bào tử cũng như tinh thể độc tố được hình thành trong giai đoạn logarit (giai đoạn gần kết thúc lên men).

7.1.2.3. Chế độ luân chuyển giống

Đây cũng là chỉ tiêu làm giảm sự hình thành bào tử cũng như sự tạo tinh thể độc, nếu như dùng một giống liên tục sẽ thường xảy ra hiện tượng nhiễm phage (thực khuẩn thể). Bình thường khi lên men khoảng 10 - 15 lần giống Bt cũ, chúng ta cần thay chủng giống mới thì sẽ khắc phục được hiện tượng phân đốt hoặc lượng sinh khối tạo ra ít bào tử và ít các tinh thể độc tố. Do đó việc luân chuyển giống là một công việc cần thiết để nâng cao năng suất cũng như chất lượng bào tử của tinh thể độc tố Bt. Nếu đảm bảo chỉ tiêu này sẽ đảm bảo chất lượng của Bt và hiệu quả diệt sâu sẽ cao.

7.1.2.4. Kết quả lên men

Tính ổn định của quá trình lên men được thể hiện ở kết quả lên men thông qua một số chỉ tiêu như mật độ bào tử nhiều, tạo ra tinh thể nội độc tố δ - endotoxin cao, kích thước tinh thể độc tố lớn và lượng sinh khối thu hồi trong quá trình lên men rất nhiều. Một số nghiên cứu trong nước trước đây cho biết quá trình sản xuất Bt có thể bị nhiễm thực khuẩn thể (bacteriophage) xâm nhập làm hỏng toàn bộ mẻ cấy, làm phá hủy tế bào và các tinh thể nội độc tố khi đang sinh trưởng, hậu quả là chế phẩm diệt côn trùng cho hiệu lực trừ sâu thấp.

– Đối với chế phẩm dạng lỏng người ta thu hồi sinh khối (gồm bào tử và các tinh thể độc) sau khi kết thúc quá trình lên men đem hỗn hợp với các chất phụ gia, chất bám dính, chất chống thối để tạo ra chế phẩm Bt, sau đó kiểm tra chất lượng, cuối cùng đóng chai để bảo quản sử dụng.

– Chế phẩm Bt có thể ở dạng sữa như thuốc sữa Thuricide 90 TS khá ổn định và bền lâu, trong quá trình sản xuất người ta có thể tách bào tử và tinh thể độc tố nhờ ly tâm sinh khối và không cần sấy khô mà đưa ngay vào nhũ tương (nước chứa dầu). Ngoài phương pháp ly tâm, người ta còn dùng phương pháp axit hóa dịch nuôi cấy đến pH 6,0 - 6,2, sau đó chuyển sang giai đoạn tách. Sau khi tách nhận được dạng bột nhão có độ ẩm 85% với hiệu suất 100kg/m³ dịch nuôi cấy với lượng bào tử 20.10⁹/g.

Dịch nuôi cấy đã tách vi khuẩn Bt có thể sử dụng lại một lần nữa, nhưng không thể sử dụng nhiều lần vì tích lũy nhiều chất ức chế sinh trưởng, tuy nhiên dịch đó có thể dùng làm nguyên liệu sản xuất thức ăn chăn nuôi. Điều này đảm bảo việc rút gọn khối lượng thu được trong quá trình công nghiệp, giảm lượng nước thải, tăng giá trị kinh tế của quá trình lên men. Ở giai đoạn cuối để tách giải phóng bào tử và tinh thể độc ra khỏi màng tế bào, người ta đã đưa vào thiết bị đặc biệt chuyên dùng để trộn với bột nhão trong 30 phút làm đều các bào tử và tinh thể độc tố sao cho đồng nhất, sau đó đưa bột nhão tạo chế phẩm bằng cách trộn với Cacboxy Metyl Cellulose (CMC), phân tử CMC hấp thụ tinh thể và bào tử. Chế phẩm thu được ở dạng nhót, không làm cho bào tử

chết và sản xuất Bt ở dạng này có tính ưu việt là giảm được năng lượng và thời gian sấy.

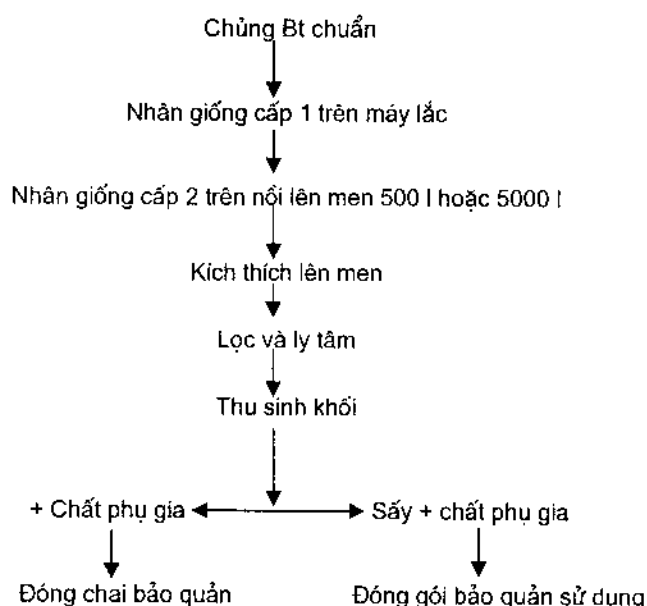
– Đối với chế phẩm dạng bột khô

Đây là dạng tiện lợi và phổ biến nhất vì dạng chế phẩm này thường dễ sử dụng, dễ bảo quản, lượng sinh khối thu được trong quá trình lên men và được tách ra nhờ ly tâm, được làm khô bằng phương pháp đông lạnh hoặc sấy khô trong máy sấy phun hoặc ly tâm vắt sau đó trộn với các chất phụ gia như tinh bột, lactoza, thạch tín, cao lanh...

Để tăng thêm độ bám dính của chế phẩm Bt người ta thường dùng một số chất như bột mỳ, dextrin, casein... tạo chế phẩm, cuối cùng kiểm tra chất lượng và đóng gói bảo quản để sử dụng. Chế phẩm Bt bột trước khi đóng thành gói phải đảm bảo hàm lượng chất khô đạt tiêu chuẩn 7 - 10%.

Trong quá trình tạo chế phẩm thường sử dụng các thiết bị phù hợp, thao tác nhanh để không mất bào tử, không ảnh hưởng đến chất lượng của tinh thể độc tố.

7.1.2.5. Quy trình sản xuất Bt



7.1.2.6. Tính ổn định của Bt thông qua một số chỉ tiêu cơ bản

- Số lượng bào tử và số lượng nội độc tố δ - endotoxin được xác định và biểu thị bằng đơn vị quốc tế (IU) dựa trên tiêu chuẩn quốc tế E - 61 (Burger, 1967) nghĩa là đạt 16000 IU hoặc 32000 IU, hoặc đạt theo tiêu chuẩn Việt Nam từ 3 - 10 tỷ bào tử trên 1gam chế phẩm.
- Hàm lượng chất khô đảm bảo từ 7 - 10%.
- Độ pH trung tính 7 - 7,5.
- Hiệu lực diệt sâu đạt từ 70 - 90% sau 7 ngày.
- Thời gian bảo quản 12 tháng.

7.1.3. Những thành tựu ứng dụng Bt ở Việt Nam

Đánh giá khả năng ứng dụng của một số chủng Bt sản xuất ở Việt Nam trong việc phòng trừ sâu hại cây trồng nông, lâm nghiệp đã được Viện Bảo vệ thực vật tiến hành. Mặc dù số lượng sản xuất Bt không nhiều nhưng những năm 1989 - 1996, Viện Công nghiệp thực phẩm đã phối hợp với Viện Bảo vệ thực vật vừa sản xuất, vừa tiêu thụ, vừa triển khai để ứng dụng trên toàn bộ diện tích trồng rau ở xã Xuân Phương và một số xã lân cận thuộc huyện Hoài Đức, tỉnh Hà Tây, xã Mai Dịch và Tây Tựu huyện Từ Liêm, Thành phố Hà Nội đạt kết quả khả quan. Việc sản xuất Bt để ứng dụng phòng trừ sâu róm thông ở một số lâm trường thông thuộc tỉnh Nghệ An, Thanh Hóa và Hà Tĩnh năm 1994 - 1996 cũng đạt hiệu quả trên 70% sau 15 ngày phun. Sau đó việc sản xuất Bt bị chững lại vài năm từ 1996 đến 2000.

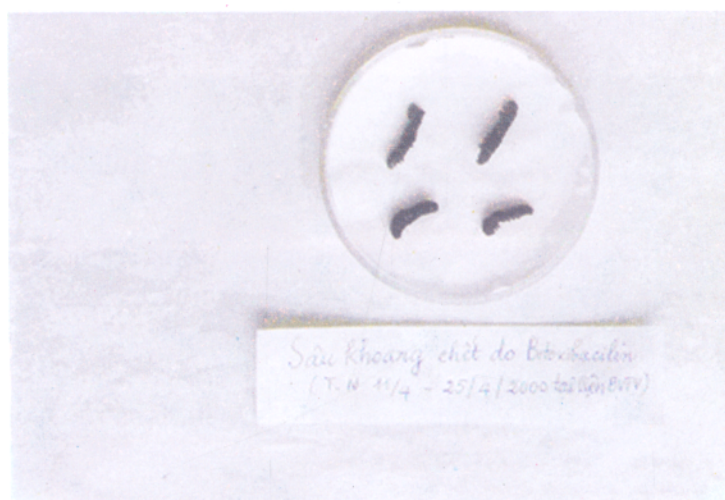
Kết quả nghiên cứu sản xuất và ứng dụng thuốc Bt trừ sâu hại ở Việt Nam đã được công bố ở 3 Hội nghị Quốc tế tại Úc 1994, Bắc Kinh Trung Quốc 1995, Manila Philippin 1996.

Những năm gần đây thuốc trừ sâu vi sinh Bt đã được sản xuất trở lại trên quy mô nhỏ lẻ ở một số Viện nghiên cứu như Viện Công nghiệp thực phẩm, Viện Công nghệ sinh học, Viện Cơ điện nông nghiệp và công nghệ sau thu hoạch, Viện Bảo vệ thực vật... và chế phẩm Bt đã được ứng dụng để phòng trừ sâu hại rau, hại đậu ở Hà Nội, Hải Phòng, Vĩnh Phúc và Hà Tĩnh đạt kết quả trên diện tích hàng nghìn ha từ năm 2001 - 2004.

HÌNH ẢNH KIỂM TRA SAU KHI PHUN THUỐC BT TRỪ SÂU HẠI RAU

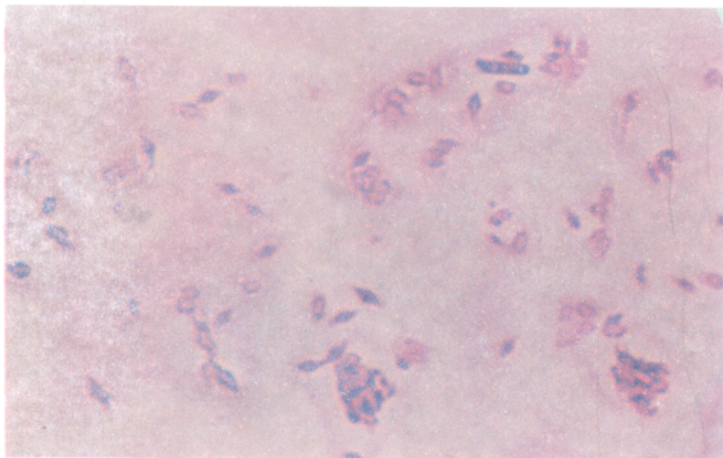


Hình 7.1. Kiểm tra sâu chết do thuốc Bt ở Thái Nguyên năm 2002

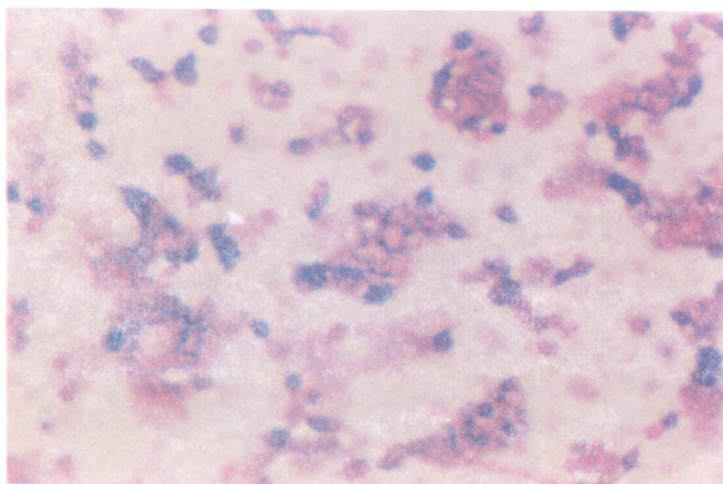


Hình 7.2. Sâu khoang chết do thuốc Bt

HÌNH ẢNH TINH THỂ ĐỘC CỦA Bt CHỤP DƯỚI KÍNH HIỂN VI QUANG HỌC



Hình 7.3. Chủng Alesti chụp ở độ phóng đại 400 lần
(ảnh Viện Công nghiệp thực phẩm)



Hình 7.4. Chủng Aizawai chụp ở độ phóng đại 400 lần
(ảnh Viện Công nghiệp thực phẩm)

Mặc dù vậy, đến nay số lượng Bt sản xuất ra chất lượng vẫn chưa ổn định và số lượng chưa đủ để đáp ứng yêu cầu đối với riêng cây rau tại một vùng chuyên canh rau ở một số thành phố lớn. Điều này đòi hỏi các nhà quản lý và các nhà hoạch định chính sách cùng với các nhà khoa học công nghệ sinh học trong BVTV phải hết sức nỗ lực trong việc tìm ra giải pháp khắc phục để trong tương lai thuốc trừ sâu vi sinh Bt sẽ trở thành một loại hàng hóa giống như ở Trung Quốc, Bt sẽ cung cấp cho nông dân phòng trừ sâu hại rau và đậu đạt kết quả cao nhằm giảm thiểu việc sử dụng một lượng lớn thuốc trừ sâu hóa học, góp phần tạo ra sản phẩm rau an toàn thực sự cho người dân Việt Nam.

7.2. Công nghệ sản xuất các thuốc trừ sâu virus (NPVHa)

Qua 14 năm nghiên cứu do xác định được tầm quan trọng của việc điều tra vi sinh vật có ích, Phạm Thị Thuý và cs Viện Bảo vệ thực vật đã điều tra, thu thập và xác định được trên đồng ruộng Việt Nam có rất nhiều loài sâu hại bị các nguồn virus tấn công đó là:

- Sâu tơ *Plutella xylostela* (GV.Pr)
- Sâu xanh bướm trắng *Pieris rapae* (GV.Pr)
- Tằm dâu *Bombyx mori* (NPV.B.m)
- Sâu róm thông *Dendrolimus punctatus* (NPV.Dp)
- Sâu xanh bông *Helicoverpa armigera* (NPV.Ha)
- Sâu xanh thuốc lá *Helicoverpa assulta* (NPV.Has)
- Sâu xanh ngô *Helicoverpa zea* (NPV.Hz)
- Sâu hồng hại bông *Pectinophora gossypiella* (NPV.Pg)
- Sâu khoang *Spodoptera litura* (NPV.Sl)
- Sâu keo da láng *Spodoptera exigua* (NPV.Se)
- Sâu đo xanh *Anomis flava* (NPV.Af)...

Trong số các loài trên thì sâu xanh bông, sâu khoang, sâu keo da láng đã được một số Viện nghiên cứu và sản xuất với số lượng nhỏ có thể ứng dụng ngoài đồng ruộng trên diện tích vài trăm ha. Vì virus có tính chuyên tính nên trong cuốn sách này chúng tôi chỉ trích dẫn nghiên cứu công nghệ sản xuất và ứng dụng thuốc trừ

sâu virus sâu xanh bông (NPV Ha) của Viện Bảo vệ thực vật và Viện nghiên cứu bông Nha Hồ.

7.2.1. Triệu chứng bệnh virus sâu xanh bông ở Việt Nam

Ở Việt Nam sâu chết do virus thường có hiện tượng chết nhũn nên nhiều người quen gọi là bệnh thối nhũn.

Sau khi thu mẫu bệnh sâu xanh chết nhũn ở ngoài đồng về, chọn những mẫu bệnh đặc trưng sâu chết mọng nước, da bở, có dịch trắng.

Đem những sâu chết bệnh đặc trưng đó nghiền nhỏ, hòa vào nước cất và lọc, sau đó cho ly tâm lấy tinh thể màu trắng. Lấy dịch virus này đem nhiễm vào thức ăn nhân tạo cho sâu xanh tuổi 4 ăn và quan sát hàng ngày, sâu xanh bị bệnh thường biểu lộ các đặc điểm như sau:

- Trong 1 - 2 ngày đầu sau khi nhiễm bệnh sâu vẫn ăn bình thường, chưa có biểu hiện bệnh rõ rệt.
- Sau khi nhiễm từ 3 ngày trở lên thì có biểu hiện bệnh rõ rệt, cụ thể ở các đốt thân của sâu non bị sưng phồng lên, toàn cơ thể sâu mọng nước trông giống như có nước chuyển động bên trong.
- Màu sắc của sâu non thay đổi chuyển từ màu xanh sang màu trắng đục.
- Trước khi chết sâu thường trèo lên miệng lọ, chân sau bám vào nút lọ, đầu chúc xuống phía dưới rồi chết.

Cơ thể sâu non mềm nhũn, da sâu bở dễ bị vỡ ra dịch trắng chảy ra ngoài, sâu chết bệnh lúc đầu không có mùi hôi.

Các biểu hiện về triệu chứng của sâu bị bệnh khi quan sát thấy chúng hoàn toàn giống như triệu chứng bệnh NPVHa được Jayarajs mô tả năm 1985.

Theo tài liệu phân loại, quan sát hình dạng thể vùi của virus thì bệnh chết nhũn sâu xanh hại bông ở Việt Nam là do các thể vùi khối đa diện (Nuclear Polyhedrosis Virus - NPV) của sâu xanh *Helicoverpa armigera* gây ra, virus này thuộc:

– Loài: *Helicoverpa armigera* Nuclear Polyhedrosis Virus Viết tắt là NPV Ha.

– Họ phụ: Eubaculovirinae.

– Họ: Baculoviridae.

– Lớp: Virus.

7.2.2. Cơ chế gây bệnh của virus đa diện nhân lên sâu xanh bông

Khi sâu non ăn thức ăn vào ruột có chứa virus (NPVHa) lẫn với thức ăn, cũng như Bt bằng con đường tiêu hóa virus đã thực hiện quá trình phá hủy toàn bộ chức năng của sâu làm cho sâu chết.

** Cơ chế được mô tả như sau*

Khi đi vào ruột các thể vùi PIB của virus sẽ giải phóng ra các virion, dưới tác dụng của dịch tiêu hóa, qua biểu bì mô ruột giữa, các virion xâm nhập vào dịch huyết tương, chúng tiếp xúc với các tế bào và xâm nhập vào bên trong để thực hiện quá trình gây bệnh cho sâu hại, quá trình này trải qua 3 giai đoạn:

– *Giai đoạn tiềm ẩn*: Kéo dài từ 6 đến 12 giờ, đây là giai đoạn các thể vùi PIB xâm nhập vào trong tế bào, các virion được phóng ra, chúng tự đính vào các vị trí thích hợp, trên màng nhân tế bào thành ruột của sâu.

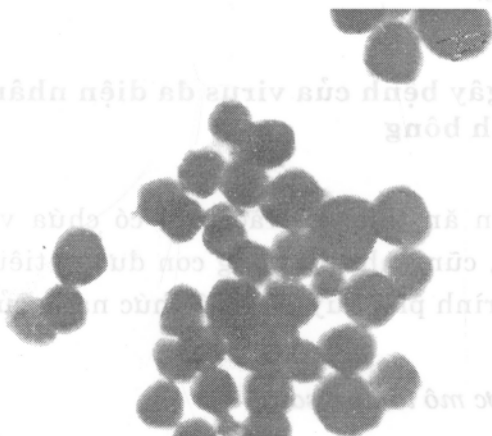
– *Giai đoạn tăng trưởng*: Kéo dài từ 12 đến 48 giờ. đây là giai đoạn tăng nhanh của các virion mới trong dịch ruột của sâu, những sâu tuổi nhỏ chỉ sau 32 giờ trong cơ thể sâu đã chứa đầy các virion trần.

– *Giai đoạn cuối*: Là giai đoạn tạo thành các thể vùi, nghĩa là các virion được bao bọc bởi các protein.

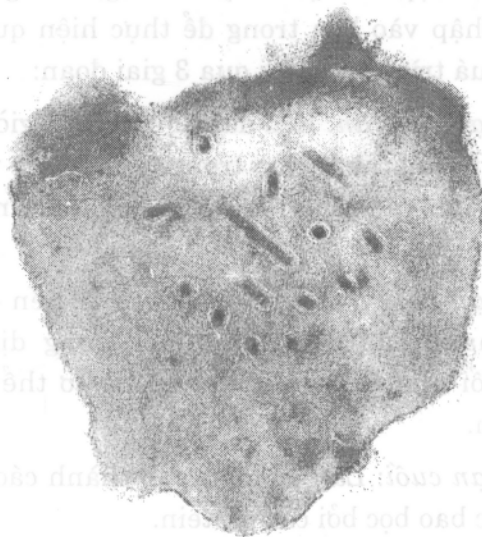
Thời kỳ ủ bệnh của côn trùng có thể kéo dài 3 - 7 ngày, có khi kéo dài hơn, vì quá trình ủ bệnh còn phụ thuộc vào tuổi sâu, điều kiện nhiệt độ, ẩm độ và lượng thức ăn khi lây nhiễm...

7.2.3. Nghiên cứu cấu trúc về thể vùi PIB của NPVHa

Trong thời gian công tác ở Đức, năm 1992, Hoàng Thị Việt, Viện Bảo vệ thực vật đã quan sát dưới kính hiển vi ở độ phóng đại 13.000 - 58.200 lần, thấy được các thể vùi đa diện của NPVHa là những khối có nhiều cạnh, có dạng gần như hình cầu, hình vuông.



Hình 7.5. Các thể vùi PIB của NPVHa phóng đại 13.000 lần



Hình 7.6. Lớp cắt mỏng thể vùi PIB của NPVHa phóng đại 58.250 lần
(ảnh Hoàng Thị Việt)

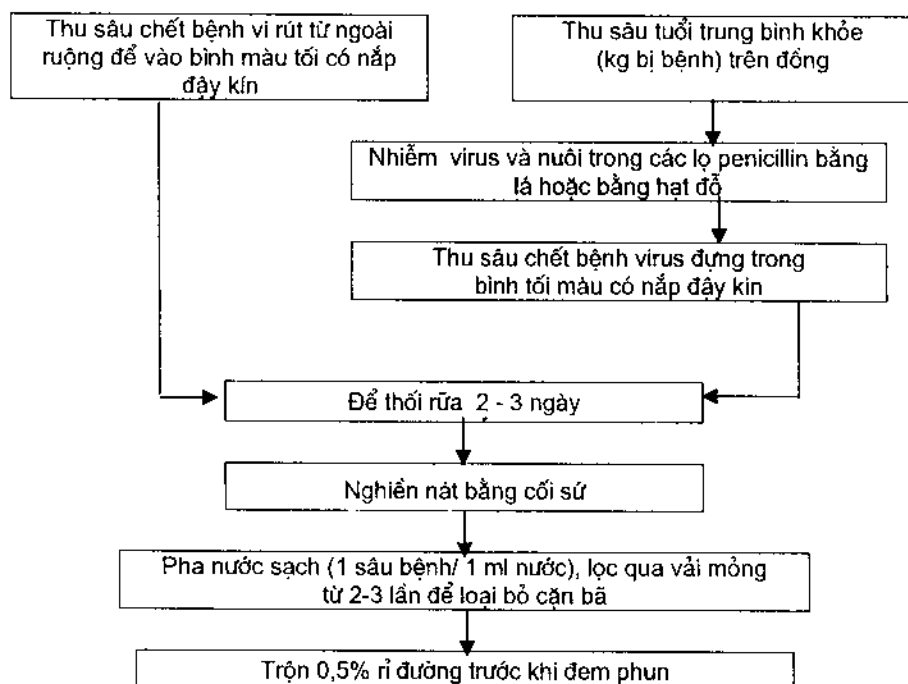
7.2.4. Công nghệ sản xuất chế phẩm virus sâu xanh (NPVHa)

Giống như trên thế giới, ở Việt Nam cũng có hai phương pháp sản xuất chế phẩm NPVHa đó là phương pháp *Invivo* và *Invitro*.

Hiện nay người ta sử dụng chủ yếu là phương pháp *Invivo* để sản xuất chế phẩm NPVHa, theo phương pháp này có hai cách:

– *Cách thứ nhất* là nhân virus thủ công, nghĩa là tìm ở những vùng trồng bông nơi có mật độ sâu xanh cao, phun NPVHa vào quần thể đồng ruộng đó và thu lượm lại những cá thể sâu xanh hại bông đã bị nhiễm bệnh NPVHa để tạo sinh khối virus sâu xanh bông. Phương pháp nuôi sâu này thường phổ biến cho nông dân thực hiện ngay trên mảnh ruộng của gia đình họ. Bằng các dụng cụ rất đơn giản như xô, chậu, bồ, thúng, nong, nia, mẹt, vải màn... để đựng các loại thức ăn tự nhiên. Sau khi thu thập các loại sâu hại như sâu đo xanh hại đay, sâu khoang hại rau, sâu xanh đục quả bông... đem thả vào các dụng cụ nuôi trên để trong nhà thoáng mát, kê cao tránh kiến, dán, chuột...

Quy trình sản xuất chế phẩm NPV bằng phương pháp thủ công cho nông dân
(theo Hoàng Thị Việt, Viện Bảo vệ thực vật)



Hàng ngày thay thức ăn tươi mới, khi sâu đạt tuổi 3 - 4 thì sử dụng nguồn virus tinh để nhiễm. Sau khoảng 2 - 3 ngày thu lại nguồn sâu bị chết do virus vào lọ thủy tinh tối màu rồi đem nguồn sâu đó ủ bệnh trong vài ngày (3 - 5 ngày). Sau đó đưa ra nghiền, lọc và phun ngay trên đồng ruộng.

Bằng cách này Viện Bảo vệ thực vật đã giúp cho người nông dân thực hiện phương pháp đơn giản, dễ áp dụng và thực tế hiệu quả đạt được tương đối cao.

Nhược điểm của phương pháp là dễ bị nhiễm thực khuẩn thể (phage), do đó không dễ bảo quản lâu được, mặt khác lượng virus sản xuất ra cũng không được nhiều. Phương pháp này chỉ phổ biến cho nông dân tự thực hiện ngay trên mảnh ruộng của họ.

– *Cách thứ hai* là nuôi ký chủ sâu xanh bông trong phòng thí nghiệm bằng thức ăn nhân tạo và lây nhiễm NPVHa vào ký chủ. Hiện nay cách này đang được sử dụng phổ biến ở Việt Nam. Việc thực hiện theo cách này thường tiến hành làm 2 giai đoạn:

+ Nuôi ký chủ sâu xanh bông (*Helicoverpa armigera* Hubner).

Để sản xuất được NPVHa, trước hết phải nuôi được sâu xanh *Helicoverpa armigera* với số lượng sâu lớn và sâu khỏe.

Để nuôi ký chủ sâu xanh người ta có thể sử dụng nguồn thức ăn tự nhiên như nụ bông, trái đậu non, bắp ngô non... nhưng những loại thức ăn này rất khó dự trữ, thu hái và tiết trùng để cho sâu ăn hàng ngày với số lượng lớn. Vì vậy người ta thường sử dụng thức ăn nhân tạo bao gồm các chất dinh dưỡng như vitamin và các chất kháng sinh có thành phần giống với thức ăn ngoài tự nhiên.

+ Nuôi sâu xanh bằng thức ăn nhân tạo với dụng cụ nuôi sâu có thể làm bằng chất dẻo, thủy tinh, bìa carton, túi parafin, đĩa petri... làm sao đủ rộng và rẻ tiền để cho sâu phát triển. Theo kết quả của Viện Bảo vệ thực vật thì để sản xuất sâu xanh người ta thường bắt sâu xanh giống từ ngoài đồng về chọn những sâu non tuổi 4 - 5 đem nuôi cá thể từng con trên môi trường thức ăn nhân tạo có aga và không có aga.

* *Một số thành phần môi trường thức ăn nhân tạo để nuôi sâu*

Hiện nay ở Việt Nam có một số môi trường thức ăn có aga hoặc

không có aga thường dùng để nuôi một số loại sâu (nguồn tài liệu của Nguyễn Văn Cẩm, Trương Thanh Giản và cs).

1. Môi trường cho sâu keo da láng (*Spodoptera exgua*) có aga

TT	Thành phần	Số lượng (gram)
1	Aga	12
2	Bột đậu xanh	150
3	Bột đậu tương	30
4	Bã đậu	30
5	Men bia	45
6	Axit Ascorbic	5
7	Axit Benzoic	3,5
8	Formalin	1,5 - 2
9	Cồn thực phẩm	20
10	Nước cất	600 ml

Phương pháp: Khử trùng Aga với nước ở 1 at trong 30 phút, sau đó đưa ra rồi trộn các nguyên liệu với nhau theo thứ tự từ 2 đến 9, để nguội rồi cho sâu ăn, loại sâu keo da láng có thể nuôi tập thể.

2. Môi trường nuôi sâu keo da láng không aga

TT	Thành phần	Số lượng (gram)
1	Bột ngô	100
2	Bột đậu xanh	150
3	Bột đậu tương	30
4	Bã đậu	30
5	Men bia	30
6	Axit Ascorbic	10
7	Axit Benzoic	5
8	Formalin	2 ml
9	Nước	1000 ml

Phương pháp: Đun sôi nước rồi cho các nguyên liệu theo thứ tự từ 1 đến 8, bỏ từng loại nguyên liệu rồi khuấy đều, sau đó để nguội rồi cho sâu ăn.

3a. Thành phần môi trường thức ăn nhân tạo nuôi sâu xanh bông (*Helicoverpa armigera*) không aga.

TT	Thành phần	Số lượng (gram)
1	Bột ngô	200
2	Bột đậu xanh	50
3	Bột đậu tương	50
4	Bã đậu	30
5	Men bia	45
6	Axit Ascorbic	5
7	Axit Benzoic	3
8	Formalin 5 %	2 ml
9	Cồn thực phẩm	10 ml
10	Nước	1000 ml

3b. Môi trường thức ăn nhân tạo nuôi sâu xanh bông có aga

TT	Thành phần	Số lượng (gram)
1	Aga	12
2	Đậu xanh	150
3	Methyl parabel	2,5
4	Axit Sorbic	1,5
5	Men mì	15
6	Sữa không béo	3
7	Axit Ascorbic	3
8	Formalin 40 %	2 ml
9	Vitamin C	10 ml
10	HCl	0,5
11	Nước cất	750 ml

Phương pháp: Đun sôi nước rồi cho các nguyên liệu theo thứ tự từ 1 đến 9 hoặc 11 rồi khuấy đều, để nguội cho sâu ăn. Riêng đối với sâu xanh bông không nuôi tập thể được bởi vì chúng có hiện tượng cắn nhau, cho nên mỗi con để 1 lọ hoặc 1 khuôn riêng.

4. Môi trường thức ăn nhân tạo nuôi sâu khoang (*Spodoptera litura*) không có aga

TT	Thành phần	Số lượng (gram)
1	Lõi ngô	140
2	Bã bia	60
3	Khô dầu cám	30
4	Bã đậu phụ	30
5	Bột đậu xanh	10
6	Men nội	45
7	Axit Accorbic	5
8	Axit Benzoic	3,5
9	Cồn 96°	80 ml
10	Formalin	2 ml
11	Nước	600 ml

Nuôi sâu bằng môi trường thức ăn nhân tạo của Monasturski. A. L., Trương Thanh Giản, Trần Đình Phả, Viện Bảo vệ thực vật: Môi trường này đã được Cục Sở hữu công nghiệp (nay là Cục Sở hữu trí tuệ) Bộ Khoa học và Công nghệ cấp Bằng độc quyền Sáng chế số 166 ngày 2/8/1995 với thành phần sau:

5. Thành phần môi trường thức ăn nhân tạo nuôi sâu non Bộ cánh vẩy.

Tên thành phần	Loại môi trường thức ăn				
	2MM +	2MM - CT	Non Aga SX	Aga - C	Aga - M
Bột ngô	-	-	+	-	-
Lõi ngô	+	+	+	-	-
Bã bầu phụ	+	+	+	+	-
Bã bia	+	+	+	-	-
Bột đậu xanh	+	+	+	+	-
Giá đỗ	-	-	-	-	+
Bột đậu tương	-	+	-	+	-
Sữa bột	-	-	+	-	-
Khô đậu cám	+	-	-	-	-
Men BVK-Nga	+	-	-	-	-
Men bia VN tử phân	-	+	-	+	-
Men thức ăn gia súc VN	-	-	+	-	+
Tảo Spirulina	-	-	-	-	+
Đường kính	+	+	+	-	-
Aga	-	-	-	+	+
Acorbic acid	+	+	+	+	+
Poly - B	-	+	+	+	+
Tocopherol	-	+	+	-	-
Dầu đậu nành	-	+	+	-	-
Streptomycin sulfate	-	-	-	-	+
Cồn thực phẩm	+	+	+	+	+
Benzoic acid	+	+	+	+	+
Sorbic acid	-	-	+	-	-
Acetic acid	+	-	-	-	-
Formaline 40%	+	+	+	+	+
H ₂ O lọc	+	+	+	+	+

a) Phương pháp nuôi sâu bằng thức ăn nhân tạo

• Bước 1:

– Ghép cặp bướm mới vũ hóa ra 1-2 ngày (10 đực + 10 cái) hoặc có thể hơn trong 1 lồng (tùy theo kích cỡ của lồng), đảm bảo như

điều kiện tự nhiên có cây cho bướm đậu để đẻ, có thể làm bằng giấy gấp hoặc lớp vải màn, thức ăn cho bướm là nước đường 3%. Sau giao phối 1 - 2 ngày thì hàng ngày thu trứng, để riêng từng ngày, thu trứng 3 - 5 ngày rồi loại bỏ.

- **Bước 2:** Để riêng trứng để hàng ngày vào trong điều kiện có ôn, ẩm độ thích hợp, theo dõi đến trứng nở ra sâu non.

- **Bước 3:** Nuôi sâu non mới nở bằng thức ăn nhân tạo ngay, riêng sâu xanh bông thì tuổi nhỏ 1 - 2 nuôi tập thể, đến sâu tuổi 3 tách riêng để tránh cắn lẫn nhau, khi sâu đạt tuổi 4 có thể nhiễm virus hoặc nuôi tiếp cho đến khi vào nhộng, chú ý hàng ngày phải vệ sinh và thay thức ăn mới.

- **Bước 4:** Giữ nhộng trong điều kiện thích hợp để nhộng phát triển tốt, lưu ý là thu nhộng từng đợt để vũ hóa cùng đợt.

Khi bướm vũ hóa lại tiếp tục nuôi sâu chu kỳ mới. Trung bình 1 vòng đời nuôi sâu khoảng 30-35 ngày trong điều kiện nhiệt và ẩm độ thích hợp. Tùy điều kiện trong quá trình nuôi cần cải tiến phương pháp để tránh tạp nhiễm nhằm đạt hiệu suất nuôi sâu cao, tránh hiện tượng sâu còi cọc, loại bỏ những nhộng vào không đều, bướm vũ hóa không hoàn chỉnh.

b) Lây nhiễm virus sâu xanh bông (NPV Ha) lên sâu xanh bông để tạo chế phẩm virus

Theo nghiên cứu của Hoàng Thị Việt thì nên sử dụng sâu xanh tuổi 4 để nhiễm virus, thông thường khi sâu được 10 ngày tuổi. Pha dịch virus theo một lượng nhất định khoảng 10^7 PIB/ml, sau đó trộn vào thức ăn nhân tạo (có hoặc không aga) rồi thả sâu vào và nuôi trong vài ngày, cần theo dõi hàng ngày để thay thức ăn mới cho sâu cho đến khi sâu bị bệnh chết.

** Thu sâu chết bệnh*

Thời gian sâu chết bệnh phụ thuộc vào nhiệt độ và ẩm độ trong quá trình lây nhiễm, nhưng thích hợp nhất là 28-30°C và ẩm độ trên 80%. Sau khi nhiễm 3 - 5 ngày thì sâu chết do NPVHa, phải tiến hành thu ngay vào trong một lọ màu tối, đưa vào tủ lạnh để giữ cho khỏi nhiễm tạp trong vài ngày, tùy điều kiện cụ thể có thể để lâu hơn.

TRIỆU CHỨNG SÂU CHẾT DO VIRUS VÀ NUÔI SÂU XANH



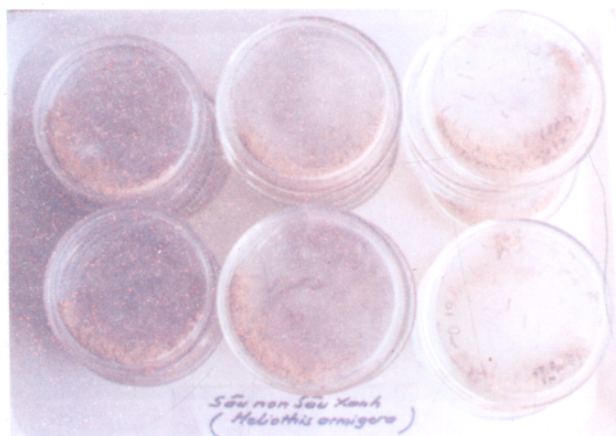
Hình 7.7. Triệu trứng sâu xanh bị bệnh virus NPVHa
(ảnh Ngô Trung Sơn)



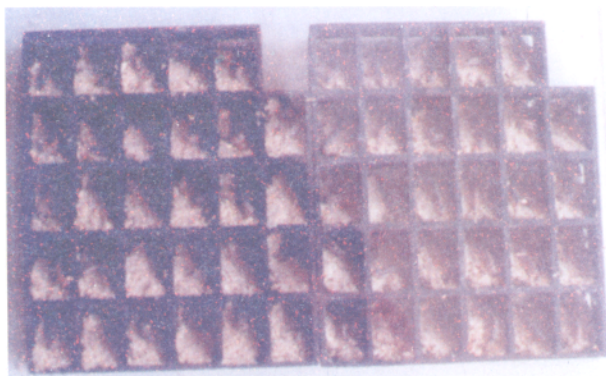
Hình 7.8. Ghép cặp bướm sâu xanh (ảnh Trần Đình Phả)



Hình 7.9. Trứng sâu xanh (ảnh Trần Đình Phả)



Hình 7.10 Nuôi tập thể sâu xanh tuổi 1 - 2 (ảnh Trần Đình Phả)



Hình 7.11. Nuôi sâu xanh cá thể từ tuổi 3 - 4 (ảnh Trần Đình Phả)



Hình 7.12. Thu nhộng sâu xanh (ảnh N. T. Sơn)

** Nghiền và ly tâm*

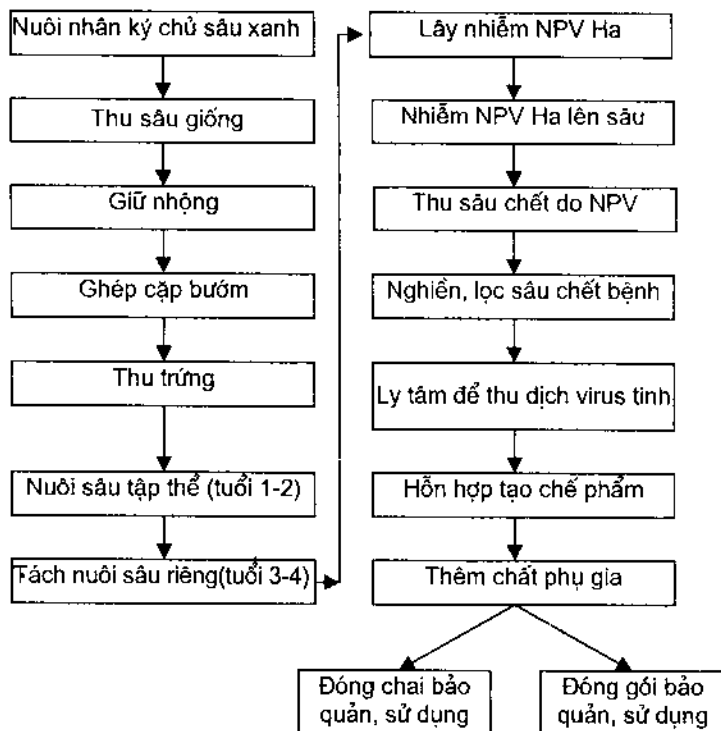
Việc tách chiết dịch virus được thực hiện qua máy ly tâm, lấy NPVHa thu được trên sâu chết bệnh từ tủ lạnh ra, đem nghiền nhỏ (hỗn hợp 3 phần nước với 1 phần sâu chết bệnh) rồi lọc qua vải mỏng lọc bỏ bã xác sâu để thu dịch, ly tâm dịch 15.000 - 20.000 vòng/phút từ 15 - 20 phút, lấy phần tinh thể trắng lắng đọng là virus và loại bỏ nước phần trên.

** Hỗn hợp tạo chế phẩm virus*

Chế phẩm dạng dịch thể: Trước khi tạo chế phẩm phải kiểm tra và đếm số lượng PIB, sau đó cho thêm các chất phụ gia như chất bám dính, chất chống thối, chất kháng sinh, chất chống tia tử ngoại... cuối cùng đóng chai tối màu để bảo quản sử dụng.

Chế phẩm dạng bột: Sau khi thu dịch virus tinh đem sấy phun nhẹ hoặc đông khô rồi phối chế với các chất phụ gia để tạo chế phẩm dạng bột, phương pháp tạo chế phẩm dạng bột đòi hỏi độ ẩm từ 7 - 10% để bảo quản trong thời gian dài hơn dạng dịch thể.

c) Quy trình sản xuất chế phẩm virus (NPV Ha)



d) Tính ổn định của chế phẩm virus thông qua một số chỉ tiêu sau

- Chất lượng dịch virus đạt 10^7 - 10^8 PIB/ml.
- Chất lượng chế phẩm virus dạng bột đạt 10^8 - 10^9 PIB/ gram.
- Hàm lượng chất khô của virus dạng bột đạt 7 - 10 %.
- Hiệu quả diệt sâu của chế phẩm virus đạt 70 -100% sau 7 - 10 ngày phun.
- Thời gian bảo quản chế phẩm virus dạng dịch thể từ 6 - 12 tháng.
- Thời gian bảo quản chế phẩm virus dạng bột từ 12 - 24 tháng.

7.2.5. Một số kết quả nghiên cứu tuổi sâu xanh và liều lượng virus lây nhiễm thích hợp làm cơ sở cho việc sản xuất NPVHa

7.2.5.1. Tuổi sâu và liều lượng virus lây nhiễm

Liều lượng virus lây nhiễm là một yếu tố quan trọng trong việc sản xuất NPVHa. Nếu liều lượng virus nhiễm thấp, tỷ lệ chết bệnh thấp dẫn đến năng suất và sản lượng NPVHa thu được thấp. Song liều lượng virus nhiễm quá cao, lượng dịch ban đầu để lây nhiễm yêu cầu cần phải nhiều sẽ gây quá tốn kém và khó khăn trong việc sản xuất. Mặt khác khi nhiễm ở liều lượng cao, thời gian sâu chết nhanh, lượng PIB /sâu thu được sẽ thấp. Kết quả nghiên cứu của Hoàng Thị Việt với 7 liều lây nhiễm cho thấy liều lượng lây nhiễm từ 10^7 - 10^8 PIB /2 g thức ăn với sâu khỏe là tốt nhất, liều lượng virus lây nhiễm giảm thì tỷ lệ sâu chết bệnh cũng giảm dần.

Năm 1996, Ngô Trung Sơn đã tiến hành thí nghiệm với 3 loại tuổi từ tuổi 3 đến tuổi 5 và với 3 liều lượng lây nhiễm là 4×10^8 PIB/sâu; $1,6 \times 10^8$ PIB/sâu và 8×10^7 PIB/sâu, kết quả nhiễm sâu xanh ở tuổi 3 thì tỷ lệ sâu bị nhiễm bệnh cao hơn so với sâu tuổi 4 và tuổi 5. Lượng PIB thu được của 1 sâu chết bệnh thì ngược lại, sâu xanh tuổi 3 khi chết bệnh cho lượng PIB thu được trên sâu thấp hơn so với lượng PIB thu được từ một sâu chết bệnh tuổi 4 và 5. Có thể giải thích ở cùng một nồng độ có lượng PIB cao thì sâu tuổi 3 dễ bị nhiễm bệnh, sâu chết sớm nên số lượng PIB thu được ít hơn, còn khi ở tuổi lớn, sâu chết chậm có thời gian cho virus tăng sinh khối, nên số lượng PIB nhiều hơn.

Đối với liều lượng virus lây nhiễm chúng thường tuân theo tỷ lệ thuận, cụ thể lượng virus lây nhiễm thấp thì tỷ lệ sâu chết bệnh thấp, nhất là đối với tuổi 5, sâu xanh chết bệnh chậm vì virus có thời gian tích lũy sinh khối kéo dài hơn so với dùng liều lượng virus lây nhiễm cao. Kết quả thí nghiệm cho thấy nếu nhiễm sâu ở tuổi 4 với liều lượng virus lây nhiễm là 8×10^7 PIB/sâu thì cho sản lượng PIB/100 sâu nhiễm là cao nhất, mặt khác do tỷ lệ sâu chết giảm đi không nhiều so với sâu tuổi 3, nhưng lượng PIB thu được trên sâu lại tương đương với sâu tuổi 5.

Kết quả dùng sâu tuổi 4 với lượng dịch 8×10^7 PIB/sâu để lây nhiễm là thích hợp nhất cho việc sản xuất NPVHa tại Viện Bảo vệ thực vật và Viện nghiên cứu bông Nha Hồ.

7.2.5.2. Nghiên cứu bảo quản chế phẩm NPVHa

Bảo quản cất giữ NPVHa là khâu hết sức quan trọng trong việc sản xuất và sử dụng NPVHa để trừ sâu hại trên đồng ruộng. Theo Attamthom và cs năm 1990, khi đem giữ NPVHa trong điều kiện lạnh ở nhiệt độ -20°C thì có thể cất giữ được lâu dài giảm được sự nhiễm khuẩn. Nghiên cứu một số phương pháp bảo quản NPVHa các tác giả cho thấy sau 4 tháng giữ NPVHa ở điều kiện nhiệt độ bình thường của phòng thí nghiệm thì hiệu lực diệt sâu xanh giảm nhiều nhất và bảo quản ở nhiệt độ $8 - 10^\circ\text{C}$ thì hiệu lực diệt sâu của NPVHa cũng bị giảm. Khi bảo quản NPVHa ở nhiệt độ từ -18 đến -20°C thì hiệu lực của sâu xanh chưa bị giảm.

Sau khi bảo quản 12 tháng, công thức ở nhiệt độ phòng và công thức ngâm trong nước cho hiệu quả giảm nhiều nhất sau đó đến công thức giữ lạnh ở $8 - 10^\circ\text{C}$.

Bảo quản ở âm 18°C đến âm 20°C , hiệu lực của NPVHa tuy có giảm nhưng không nhiều so với dịch virus mới được sản xuất được pha chế ở nồng độ PIB bằng nồng độ PIB của dịch bảo quản, liều lượng nhiễm là 2×10^8 PIB/sâu.

Bảo quản trong glycerin, hiệu lực diệt sâu không giảm so với dịch mới cất giữ và cao hơn hẳn các công thức bảo quản khác. NPVHa có thể bảo quản trong glycerin hoặc bảo quản trong lạnh, điều đó sẽ duy trì được hiệu lực trừ sâu cao hơn để trong nhiệt độ phòng.

Như vậy có thể bảo quản NPVHa để sử dụng trong sản xuất bảo vệ cây trồng. Phương pháp bảo quản NPVHa tốt nhất là giữ trong glycerin hoặc giữ trong điều kiện lạnh ở nhiệt độ từ 8 - 10°C, do đó thuốc virus được sản xuất ra hiện nay ở bất cứ dạng nào cũng đều có sự bền vững cao trong quá trình bảo quản cũng như sử dụng ngoài đồng ruộng sau khi phun.

Muốn đưa chế phẩm NPVHa ra sản xuất được thuận tiện, vấn đề quan trọng là phải có phương pháp bảo quản cất trữ sao cho NPVHa không mất hiệu lực.

7.2.5.3. Nghiên cứu về sự miễn cảm của sâu xanh hại bông (*Helicoverpa armigera* Hubner) với NPVHa

Các tác giả trong nước đều có kết luận là sâu xanh hại bông rất miễn cảm với NPVHa, sâu tuổi nhỏ miễn cảm với NPVHa hơn sâu tuổi lớn và nồng độ, liều lượng NPVHa tăng thì tỷ lệ sâu chết cũng tăng lên, cả sâu non tuổi nhỏ lẫn sâu non tuổi lớn đều bị nhiễm NPVHa. Nghĩa là các loại tuổi của sâu xanh hại bông đều miễn cảm với NPVHa, mức độ miễn cảm của sâu xanh đối với NPVHa còn phụ thuộc vào độ thành thực và trọng lượng cơ thể của sâu non. Sự miễn cảm của sâu xanh đối với NPVHa được thể hiện ở tỷ lệ sâu chết bệnh và thời gian ủ bệnh.

– Về tỷ lệ sâu chết bệnh:

Kết quả thí nghiệm trong phòng cho thấy tỷ lệ sâu xanh chết bệnh bởi NPVHa khá cao. Sâu non tuổi 1, tuổi 2 bị nhiễm NPVHa có tỷ lệ chết bệnh đạt hơn 90%. Sâu non lớn ở tuổi 5 mới đem nhiễm NPVHa thì tỷ lệ chết bệnh chỉ còn 50- 60%.

– Thời gian ủ bệnh:

Kết quả thí nghiệm cho thấy thời gian ủ bệnh NPV Ha của sâu xanh kéo dài khoảng 3 - 8 ngày. Thời gian ủ bệnh ngắn hay dài phụ thuộc vào tuổi của sâu khi nhiễm NPV Ha. Sâu non tuổi 1 đến tuổi 2 bị nhiễm NPV Ha có thời gian ủ bệnh rất ngắn, chỉ từ 3 - 3,5 ngày. Khi sâu tuổi càng lớn đem nhiễm NPV Ha thì thời gian ủ bệnh càng kéo dài. Sâu non tuổi 3 bị nhiễm NPV Ha có thời gian ủ bệnh từ 4,2 - 4,5 ngày, sâu non tuổi 4 đến tuổi 5 mới bị nhiễm NPV Ha thì thời gian ủ bệnh từ 5 – 7,7 ngày.

7.2.5.4. Hiệu lực phòng trừ sâu xanh hại bông của NPVHa ở các nồng độ khác nhau

Phụ thuộc vào nồng độ PIB của sâu: Khi lây nhiễm dịch NPVHa ở nồng độ 4×10^9 PIB/ml thì gây chết sâu xanh với tỷ lệ khá cao (75%) nhưng khi lây NPVHa ở nồng độ 4×10^5 PIB/ml thì tỷ lệ gây chết bệnh sâu xanh giảm, chỉ còn 50% và nếu lây NPVHa ở nồng độ thấp 4×10^2 PIB/ml thì cho tỷ lệ rất thấp, đạt 10%. Điều đó cho thấy khả năng gây bệnh cho sâu xanh của NPV Ha được tăng theo nồng độ PIB/ml của NPVHa.

Khả năng tiêu thụ thức ăn của sâu xanh hại bông sau khi nhiễm bệnh NPV: Hạn chế của việc sử dụng NPVHa trừ sâu xanh là sâu chết chậm, sau khi nhiễm bệnh 3 - 8 ngày sâu mới chết. Trong thời gian sống sâu vẫn tiếp tục phá hại gây tổn thất lớn cho hoa màu. Kết quả nghiên cứu từ 1989 - 1990 cho thấy khi sâu xanh đã nhiễm bệnh virus thì khả năng tiêu thụ thức ăn giảm đi, đến ngày thứ 5 sau khi nhiễm bệnh thì sức tiêu thụ thức ăn chỉ bằng 5 - 20% so với sâu xanh chưa nhiễm bệnh.

7.2.5.5. Các yếu tố ảnh hưởng đến hiệu lực diệt sâu xanh của NPVHa và cách hạn chế

+ *Ảnh hưởng của tia cực tím ánh sáng Mặt Trời đến hiệu lực diệt sâu xanh của NPVHa:*

Khi phun NPV Ha ra ngoài tự nhiên, hiệu lực diệt sâu xanh bị giảm đi do ảnh hưởng của ánh sáng Mặt Trời, theo kết luận của nhiều tác giả trong và ngoài nước thì ở điều kiện không có ánh sáng Mặt Trời 10-15 ngày, chế phẩm NPV Ha hoàn toàn không bị giảm hiệu lực, còn thí nghiệm trong điều kiện có ánh sáng Mặt Trời sẽ ảnh hưởng đến hiệu lực của NPVHa. Kết quả thí nghiệm của Ngô Trung Sơn tại Ninh Thuận cho thấy chỉ cần phun NPVHa trên lá bông dưới ánh nắng Mặt Trời 1 giờ, hiệu lực diệt sâu xanh đã giảm một cách đáng kể.

+ *Ảnh hưởng của một số chất phụ gia đến hiệu lực diệt sâu xanh của NPVHa các tác giả xác định:*

– Bảo vệ NPVHa bằng sữa lọc béo và than hoạt tính có khả năng lọc tia cực tím.

– NPVHa bị mất hiệu lực nhanh chóng dưới tác động của tia cực tím ánh sáng Mặt Trời. Kết quả thí nghiệm xác định khi phơi NPVHa ngoài nắng 1 giờ, hiệu lực diệt sâu xanh chỉ còn 37%, song nếu phun dịch NPVHa có trộn với 3% sữa lọc béo thì hiệu lực diệt sâu tăng lên 81% và nếu trộn 3% than hoạt tính thì hiệu lực diệt sâu xanh của NPVHa đạt 50%.

Như vậy, sữa lọc béo và than hoạt tính là những chất phụ gia có khả năng làm giảm tác động của ánh sáng Mặt Trời, chủ yếu là tia cực tím đối với NPVHa, trong đó sữa lọc béo có tác dụng tốt hơn than hoạt tính.

+ *Ảnh hưởng của rỉ đường đến hiệu lực diệt sâu xanh của NPVHa khi phun trên đồng ruộng*: Một số chất phụ gia có tác dụng chống tia cực tím của ánh sáng Mặt Trời, giữ được hiệu lực diệt sâu xanh của NPVHa ngoài tự nhiên. Trộn rỉ đường cũng có tác dụng duy trì được hiệu lực trừ sâu xanh của NPVHa ở tất cả các khoảng thời gian để ngoài tự nhiên, tỷ lệ sâu xanh chết do NPVHa ở các công thức trộn rỉ đường đều cao hơn tỷ lệ sâu xanh chết do NPVHa ở các công thức không trộn rỉ đường.

7.2.5.6. Hỗn hợp NPVHa với Bt để trừ sâu xanh hại bông nhằm làm tăng hiệu lực

Một nhược điểm của NPVHa là khi để lâu thì hiệu lực trừ sâu không cao, hơn nữa thời gian sâu chết bệnh còn dài, khoảng 5 - 6 ngày. Để nâng cao hiệu lực trừ sâu xanh cũng như rút ngắn thời gian sâu chết bệnh của NPVHa, năm 1986 – 1989 tại Sophia Bungari, Phạm Thị Thùy, Videnova và Velichcova đã nghiên cứu hỗn hợp Bt với NPVMb để phòng trừ sâu hại bắp cải và cho kết quả tốt đạt 89 – 93,5% sau 5 – 7 ngày phun. Ngoài ra các tác giả còn hỗn hợp Bt với NPVPhg để phòng trừ sâu hại củ cải đường, hiệu quả thu được tốt trên 90% sâu chết sau 6 – 7 ngày phun, trong khi đó phun đơn lẻ Bt hoặc NPVMb hoặc NPVPhg chỉ đạt 60 – 73,5% sau 7 ngày phun. Năm 1993 tại Viện Bảo vệ thực vật Phạm Thị Thùy cũng đã nghiên cứu hỗn hợp NPVHa với Bt để trừ sâu xanh hại bông, tác giả đã xác định hiệu lực của hỗn hợp trên với sâu xanh tăng rõ rệt theo

cơ chế đồng tác động. Thí nghiệm phối trộn 30% NPVHa với 70% Bt tính theo lượng pha chế để phun ngoài đồng ruộng, kết quả đã nâng cao tỷ lệ sâu xanh chết bệnh từ 72% lên 92%.

7.3. Công nghệ sản xuất thuốc trừ sâu vi nấm Boverit (*Beauveria bassiana*) và Mat (*Metarhizium anisopliae*)

7.3.1. Kết quả điều tra những nguồn sâu hại bị nấm ký sinh

Những năm trước đây do chưa hiểu biết về vi sinh vật gây bệnh trên côn trùng nên không ai phát hiện, tìm thấy những nguồn vi sinh vật hữu ích này mặc dù chúng xuất hiện trong tự nhiên với một tỷ lệ rất nhỏ. Nhiều nơi khi có dịch sâu hại bùng phát tuy không phun thuốc trừ sâu nhưng năng suất cây trồng cũng không bị giảm sút. Nguyên nhân có thể do các vi sinh vật tấn công và lây lan trong đó có nấm côn trùng. Từ năm 1990 trở lại đây hiện tượng nấm ký sinh sâu hại cây trồng đã được Viện Bảo vệ thực vật nghiên cứu trên cơ sở thu thập và tuyển chọn những nguồn nấm có ích làm chủng giống để sản xuất ra các thuốc nấm trừ sâu hại cây trồng. Thực tế cho thấy trên đồng ruộng Việt Nam cũng đã được bổ sung một nguồn đáng kể vi sinh vật ký sinh gây bệnh côn trùng cho nên nhiều nơi, nhiều vùng cũng xuất hiện rất nhiều loài sâu hại bị nấm côn trùng ký sinh. Chúng có tác dụng rất lớn trong việc hạn chế một số dịch sâu hại nguy hiểm như châu chấu, sâu róm thông, bọ hại dừa, sâu kèn hại keo tai tượng, sâu xanh ăn lá bồ đề... Đến nay nấm gây bệnh côn trùng không còn là một điều xa lạ với các nhà khoa học, các nhà quản lý và cả những người nông dân.

Trong 14 năm, Phạm Thị Thùy và cs (Viện Bảo vệ thực vật) đã điều tra phát hiện ra những loài nấm côn trùng thường ký sinh trên các loài sâu hại ngoài tự nhiên đó là:

- Nấm bạch cương *Beauveria bassiana*
- Nấm lục cương *Metarhizium anisopliae*, *Metarhizium flavoviride*
- Nấm bột *Nomuraea* sp
- Nấm tua *Hisutella citriformis*

-- Nấm *Paecilomyces* sp...

Nhưng do điều kiện có hạn với nguồn kinh phí ít ỏi, tác giả và cs mới chỉ tập trung đi sâu vào nghiên cứu 3 loài: Nấm bạch cương *Beauveria bassiana*, nấm lục cương *Metarhizium anisopliae* và nấm *Metarhizium flavoviride*, bước đầu nghiên cứu nấm bột *Nomuraea rileyi*.

Dưới đây là danh sách các loài sâu hại cây trồng bị nấm *Beauveria bassiana* ký sinh đã được phát hiện ở các vùng trồng rau, lúa, ngô, mía, thông, ...:

- Sâu khoang *Spodoptera litura*
- Sâu keo da láng *Spodoptera exgua*
- Sâu xanh bông *Helicoverpa armigera*
- Sâu xanh thuốc lá *Helicoverpa assulta*
- Sâu xanh bướm trắng *Pieris rapae*
- Sâu tơ *Plutella xylostella*
- Sâu đục thân ngô *Pyrausta nubilalis*
- Sâu ăn lá đậu *Etiella* sp
- Sâu róm thông *Dendrolimus punctatus*
- Bọ xít hôi *Leptinotasa acuta*
- Rầy nâu *Nilaparvata lugent*
- Sâu cắn gié *Leucania separata*
- Bọ xít đen *Scotinophora lurida*
- Bọ xít xanh *Neraza viridulla*
- Bọ hà khoai lang *Cylas formicarius*
- Sâu đo xanh *Anomis flava*
- Châu chấu *Hypomesces squamosus*
- Châu chấu *Locusta* sp
- Châu chấu mía *Hieroglyphus tonkinensis*
- Châu chấu mía *Hieroglyphus banian*
- Châu chấu sống lưng vàng *Patanga succincta*
- Bọ hại dừa *Brontispa longissima*

- Sâu kền hại keo tai tượng *Amasstisa* sp
- Sâu đo hại quế *Culculla paterianria*
- Sâu xanh ăn lá bồ đề *Fentonia* sp
- Rệp *Aphis* sp
- Mọt đục quả cà phê
- Mối đất *Coptotermes* sp
- Mọt bột đỏ *Tribolium* sp
- Mọt gạo *Sitotroga* sp
- Rệp nâu mềm hại cà phê *Parasaisetia nigra*...

Phạm Thị Thùy, Viện Bảo vệ thực vật cũng đã xác định được trên 40 loài côn trùng hại cây trồng và mối đất bị nấm lục cương *Metarhizium anisopliae*, *Metarhizium flavoviride* ký sinh:

- Châu chấu sống lưng vàng *Patanga succincta*
- Châu chấu mía *Hieroglyphus tonkinensis*
- Châu chấu mía *Hieroglyphus banian*
- Châu chấu lúa *Oxya chinensis*
- Châu chấu lúa *Oxya duminuta*
- Châu chấu *Locusta* sp
- Bọ hại dừa *Brontispa* sp
- Bọ hại dừa *Brontispa longissima*
- Mối đất *Coptotermes* sp
- Mối đất *Coptotermes squamosus*
- Sâu kền hại keo tai tượng *Amasstisa* sp
- Sâu đo hại quế *Culculla paterianria*
- Sâu keo da láng *Spodoptera exgua*
- Sâu xanh bông *Helicoverpa armigera*
- Sâu xanh thuốc lá *Helicoverpa assulta*
- Sâu xanh bướm trắng *Pieris rapae*
- Sâu tơ *Plutella xylostella*
- Sâu khoang *Spodoptera litura*
- Sâu đục quả đậu *Maruca testulalis*
- Sâu đục thân ngô *Pyrausta nubilalis*

- Sâu ăn lá đậu *Etiella* sp
- Bọ xít hôi *Leptinotasa acuta*
- Bọ xít đen *Scotinophora lurida*
- Bọ xít xanh *Neraza viridulla*
- Sâu cắn gié *Leucania separata*
- Rầy nâu *Nilaparvata lugent*
- Rầy điện quang *Nephotetix bipunctatus*
- Bọ hà khoai lang *Cylas formicarius*
- Sâu do xanh *Anomis flava*
- Câu cấu *Hypomesces squamosus*
- Sâu xanh ăn lá bồ đề *Fentonia* sp
- Mọt gạo *Sitotroga* sp
- Sâu róm thông *Dendrolimus punctatus*
- Bọ hung đen hại mía *Alissonotum impressicolle*
- Bọ hung nâu *Exolontha* sp
- Cánh cam *Anomala cupripes*
- Sâu róm quế *Malacosoma dentata*
- Sâu đục cánh quế *Arbela bailbarana*
- Xén tóc *Bacchisa atritatic*
- Bọ hung nâu nhỏ *Maladera orientalis*
- Bọ xít vải *Tessaratomia papillosa...*

7.3.2. Nghiên cứu một số yếu tố ảnh hưởng đến sự phát triển của nấm côn trùng ở Việt Nam

7.3.2.1. Ảnh hưởng của môi trường nuôi cấy

Xác định được môi trường nuôi cấy là yếu tố rất quan trọng cho nấm côn trùng sinh trưởng và phát triển. Đồng thời biết được nếu môi trường không tốt, nấm mọc yếu hoặc không mọc vì trong quá trình nảy mầm để hình thành bào tử, nấm côn trùng cần các nguồn C, N. Sự phát triển của nấm phụ thuộc vào các nguyên tố vi lượng như C^{++} , Zn^{++} , K^{++} , Mg^{++} ... có tác dụng kích thích cho sự phát

triển của nấm đồng thời duy trì độ pH. Tùy từng loại nấm *Metarhizium* hay *Beauveria* mà lựa chọn môi trường sao cho thích hợp để các nấm có thể phát triển tốt. Kết quả nghiên cứu của Phạm Thị Thùy và cs, năm 1992 đã xác định môi trường nhân giống cấp 1 chính là môi trường Sabouroud bổ sung thêm khoáng chất:

– *Môi trường Sabouroud*:

- + Aga 20 g
- + Glucoza 40 –
- + Pepton 10 –
- + H₂O 1000 ml
- + pH 6

– *Môi trường Sabouroud khoáng chất* (PT. Thùy 1992):

- + Aga
- + Pepton
- + Glucoza
- + MgSO₄. 7H₂O
- + KH₂PO₄
- + H₂O
- + pH

* *Môi trường nhân giống cấp 2*

- Bằng phương pháp lên men chìm:

– *Môi trường cao nấm men* (YPSS của Rombach và Aguda, 1988):

- + Cao nấm men
- + Pepton
- + KH₂PO₄
- + MgSO₄. 7H₂O
- + Aga
- + H₂O
- + pH = 6

– *Môi trường Sabouroud, Dextroza, Aga, cao nấm men (SDAY):*

+ Cao nấm men

+ Pepton

+ Sacaroza

+ Aga

+ H₂O

+ pH = 6,5

• *Bằng phương pháp lên men xốp:*

– *Môi trường sản xuất:*

+ Bột cám gạo

+ Bột ngô

+ Bột đậu tương (hoặc đậu xanh)

+ Trấu (hoặc bã mía, vỏ lạc)

+ Nước

– *Có thể sử dụng môi trường:*

+ Gạo

+ Tắm

+ Nước hoặc CaCO₃ (5%)

Năm 2003-2004, Phạm Thị Thùy và cs đã nghiên cứu môi trường sản xuất nấm *M. anisopliae* có thành phần 50% cám gạo, 20% bột ngô, 20% bột đậu, 10% trấu với tỷ lệ nước/môi trường sản xuất là 50%, cấy chủng nấm *M. anisopliae* được phân lập trên bộ hai dừa Phú Quốc, chất lượng chế phẩm nấm đạt cao 3,0 x 10¹⁰ BT/g. Đây là kết quả rất tốt có triển vọng rút ngắn số lượng chế phẩm nấm để phòng trừ sâu hại trên 1 ha cây trồng, nhằm giảm giá thành cho nông dân.

7.3.2.2. Nghiên cứu về ảnh hưởng của nhiệt độ và ẩm độ đến quá trình phát triển của nấm *B. bassiana* và *M. anisopliae*

Nhiệt độ và ẩm độ là hai yếu tố quan trọng có ảnh hưởng lớn đến sự phát triển của nấm, kết quả nghiên cứu của Viện Bảo vệ thực vật xác định phạm vi nhiệt độ thích hợp cho nấm côn trùng

phát triển tốt, phát triển đều trong khoảng 25 - 30°C, ẩm độ thích hợp trong phạm vi từ 80-90%, trên hoặc dưới ngưỡng nhiệt, ẩm độ đó thì nấm sẽ phát triển yếu, khi nhiệt độ quá cao thì bào tử dễ bị chết, hoặc không hình thành bào tử.

7.3.2.3. Ảnh hưởng của ánh sáng

Qua nhiều năm sản xuất nấm côn trùng, Viện Bảo vệ thực vật xác định nấm *B. bassiana* và *M. anisopliae* phát triển tốt trong điều kiện ánh sáng yếu, chỉ cần một lượng ánh sáng nhỏ trong ngày với thời gian 6 - 8 giờ cũng đủ cho nấm phát triển tốt, vì vậy phòng nuôi cấy nấm cần phải che ánh sáng Mặt Trời để hạn chế tia tử ngoại.

7.3.2.4. Ảnh hưởng của độ thoáng khí

Hầu hết các loại nấm côn trùng thuộc loại hiếu khí, khi nấm phát triển chúng đòi hỏi điều kiện có hàm lượng oxy thích hợp trong cả biên độ rộng cũng như trong dụng cụ nuôi cấy. Quá trình nghiên cứu, Phạm Thị Thùy và cs rút ra kết luận phạm vi thích hợp cho các loài nấm côn trùng phát triển là 0,3 - 0,7 m³ môi trường/m³ không khí. Nếu sản xuất lớn cần để độ dày bề mặt (xốp) của nấm trên khay hay nia khoảng 10 - 15 cm trong phòng sản xuất có không gian thích hợp và điều kiện ôn ẩm độ phù hợp.

7.3.2.5. Ảnh hưởng của hàm lượng nước

Nấm côn trùng đòi hỏi hàm lượng nước thích hợp, nếu quá khô hoặc quá ẩm thì nấm đều phát triển không tốt, kết quả nghiên cứu của Phạm Thị Thùy về tỷ lệ nước thích hợp trong môi trường để nấm phát triển tốt là 30- 50%.

7.3.2.6. Ảnh hưởng của độ pH

Phạm vi nấm côn trùng sống ở độ pH từ 3,5 – 8,0, song nấm côn trùng ưa môi trường axit và phát triển thích hợp nhất ở độ pH từ 5,5 – 6. Vì vậy Phạm Thị Thùy đã bổ sung vào môi trường một lượng nhỏ KH₂PO₄ và MgSO₄. 7H₂O, mục đích là để duy trì tính ổn định của pH trong môi trường nuôi cấy.

Trong quá trình sản xuất, Viện Bảo vệ thực vật luôn chú ý đến những yếu tố ảnh hưởng để đưa phạm vi thích hợp vào sản xuất đại trà, nhằm thu được lượng sinh khối cao, chất lượng thuốc nấm ổn định và không có hiện tượng gây tạp nhiễm.

7.3.3. Công nghệ sản xuất nấm côn trùng (*B. bassiana* và *M. anisopliae*)

7.3.3.1. Sử dụng các chủng nấm

Sản xuất chế phẩm nấm *Beauveria bassiana* Vuill thường sử dụng chủng nấm *Beauveria bassiana* được phân lập trên sâu róm thông ở Thanh Hóa.

Sản xuất nấm *Metarhizium flavoviride* phải chọn chủng *Metarhizium flavoviride* được phân lập trên cào cào, châu chấu ở Hòa Bình hoặc Bà Rịa - Vũng Tàu.

Sản xuất nấm *Metarhizium anisopliae* chọn chủng *Metarhizium anisopliae* được phân lập trên rầy nâu hoặc trên bọ hại dừa ở Bến Tre, Kiên Giang.

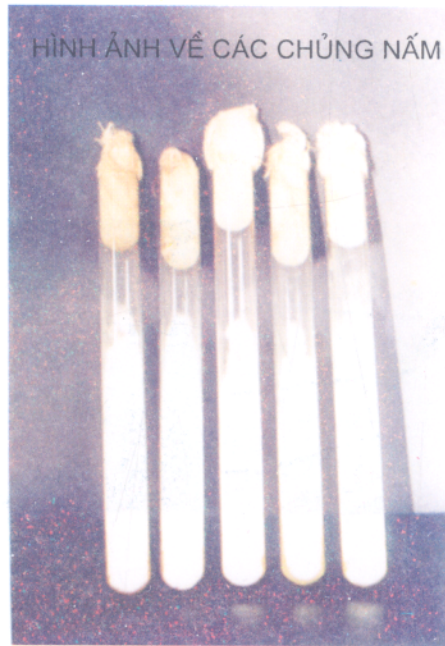
Vấn đề quan trọng là phải phân loại và giám định đúng chủng nấm, theo chúng tôi chủng nấm là yếu tố quyết định đến công nghệ sản xuất thuốc nấm côn trùng. Thực tế ở Việt Nam hiện nay vấn đề này còn bất cập, thiết nghĩ các nghiên cứu về nấm côn trùng đòi hỏi phải có trình độ cơ bản.

7.3.3.2. Chọn môi trường nhân giống cấp 1 và môi trường nhân giống cấp 2

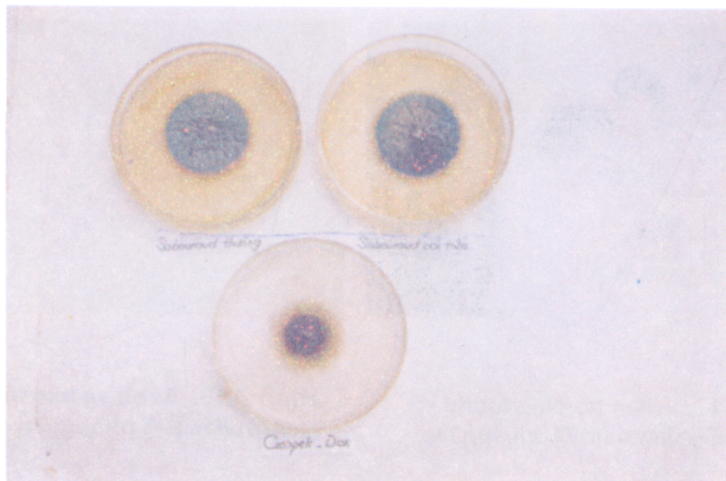
a) Phương pháp lên men chìm:

Chuẩn bị môi trường cấp 1 và cấp 2, cả hai môi trường khử trùng 1at trong 30 phút, sau đó cấy giống cấp 1 vào giống cấp 2 rồi lên men.

Trong điều kiện Việt Nam cho đến thời điểm này vẫn chưa có thiết bị lên men cho nên phương pháp lên men chìm vẫn chưa thực hiện được, vì vậy vẫn sản xuất bán thủ công quy mô phòng thí nghiệm.



Hình 7.13. Chủng nấm *Beauveria bassiana* (ảnh Phạm Thị Thùy)



Hình 7.14. Chủng nấm *Metarhizium anisopliae* (ảnh Phạm Thị Thùy)

MỘT SỐ HÌNH ẢNH VỀ SẢN XUẤT NẤM



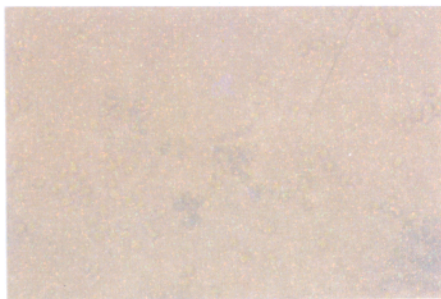
Hình 7.15. Kiểm tra sự phát triển của nấm *M. anisopliae* sau 3 ngày nuôi cấy



Hình 7.16. Nấm *B. bassiana* phát triển sau 5 - 7 ngày nuôi cấy

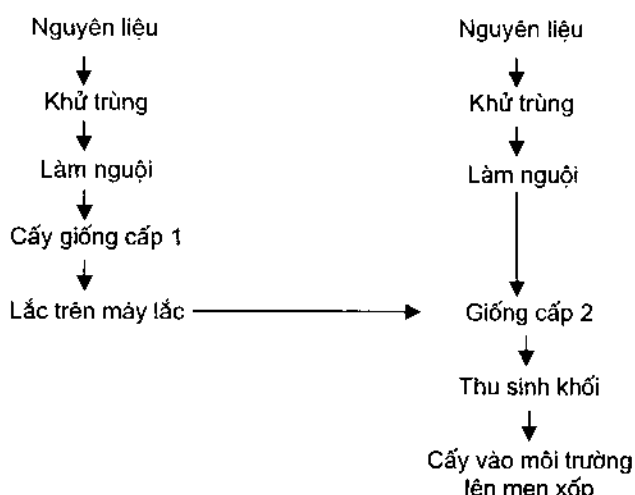


Hình 7.17. Kiểm tra chất lượng của chế phẩm nấm *M. anisopliae*



Hình 7.18. Cảnh và bào tử nấm *M. anisopliae* (Độ phóng đại 400 lần)

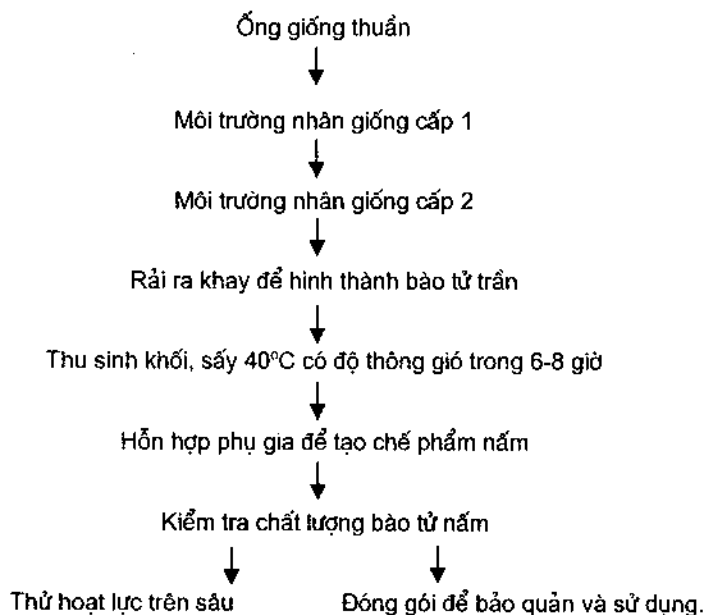
**Quy trình sản xuất nấm bằng phương pháp lên men chìm trong
nồi lên men 5 lít tại Đại học Tổng hợp (Phạm Thị Thùy, 1994)**



b) Phương pháp lên men xốp

Chuẩn bị các loại môi trường cấp 1 và cấp 2 như nêu trên. Cấy giống cấp 1 vào môi trường nhân giống và môi trường sản xuất theo quy trình sau:

**Quy trình sản xuất nấm theo phương pháp lên men bề mặt (xốp)
(Quy trình này được cấp Bằng độc quyền Sáng chế số 3451 ngày 7/4/2003)**



Đến nay Viện Bảo vệ thực vật vẫn đang tiến hành sản xuất nấm theo phương pháp lên men xốp vì phương pháp này đơn giản dễ thu sinh khối, mặt khác số bào tử trần thu được cũng cao và khả năng diệt sâu hại thường đạt 70% trở lên sau 7 - 12 ngày thí nghiệm. Phương pháp này Viện Bảo vệ thực vật đã giúp cho Viện Lúa Ômôn thực hiện từ đầu năm 2000. Tại thời điểm này trong điều kiện Việt Nam, người nông dân không thể sản xuất nấm vì thiếu phương tiện, nhưng có tác giả đã đăng bài ở Hội thảo viết là có thể hướng dẫn nông dân sản xuất nấm *B. bassiana* là hoàn toàn thiếu cơ sở khoa học, chỉ có thể hướng dẫn nông dân sử dụng nấm để phòng trừ các loại sâu hại cây trồng mà thôi.

7.3.4. Nghiên cứu các phương pháp bảo quản một số giống nấm côn trùng có triển vọng ở Việt Nam

Hiện nay Viện Bảo vệ thực vật đã và đang bảo quản bộ giống nấm theo một số phương pháp sau:

Bảo quản ở nhiệt độ phòng từ 1 - 2 tuần tùy theo điều kiện nuôi cấy khác nhau, sau đó giữ trong lạnh ở nhiệt độ 5 - 6°C, cứ sau 2 - 3 tháng cấy truyền lại. Phương pháp này đơn giản nhưng tốn công, mặt khác giống bảo quản không được lâu. Đến nay phương pháp bảo quản này vẫn là chính vì thuận lợi trong việc sản xuất ngay, kịp thời.

Bảo quản để trong tủ lạnh sâu dưới âm độ với những nguồn nấm quý mà ít sử dụng, ví dụ như nguồn của nước ngoài, nguồn thu cũ... Để lâu không sử dụng sản xuất.

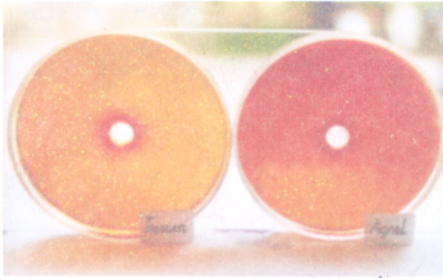
Bảo quản bằng phương pháp hút bào tử bằng máy hút chân không, sau đó cất giữ trong tủ lạnh, phương pháp này có thể giữ được vài năm.

Bảo quản bằng phương pháp đông khô vi sinh vật, phương pháp này có thể giữ được 5 - 7 năm.

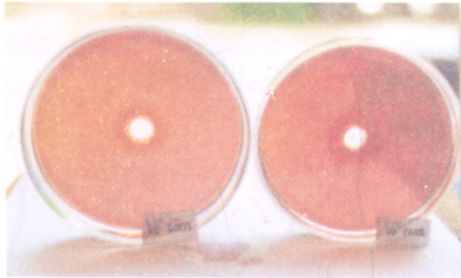
Ngoài ra còn một số phương pháp bảo quản tiên tiến khác, song ở nước ta chưa có điều kiện nên chưa thực hiện được.

Việc bảo quản giống nấm côn trùng mục đích là để lưu giữ bộ gen vi sinh vật quý hiếm, mặt khác để so sánh và đối chiếu với các mẫu

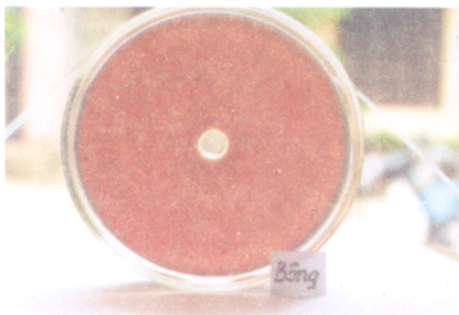
HÌNH ẢNH VỀ KHẢ NĂNG HÌNH THÀNH ENZYM NGOẠI BÀO CỦA NẤM
METARHIZIUM ANISOPLIAE (MA)



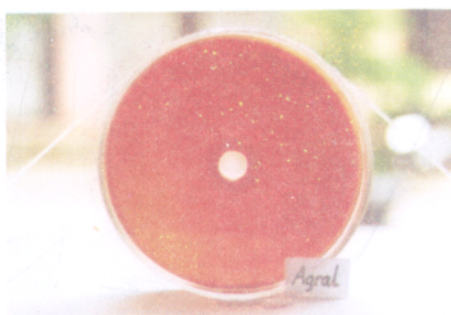
Hình 7.19. Vòng phân giải enzym lipaza của nấm Ma trên nền cơ chất Tween 80 và Agral



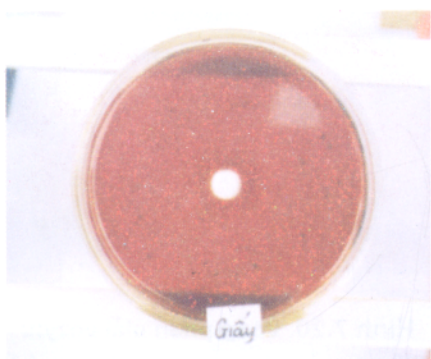
Hình 7.20. Vòng phân giải enzym Kitinaza của nấm Ma trên nền cơ chất vỏ tôm và vỏ cua



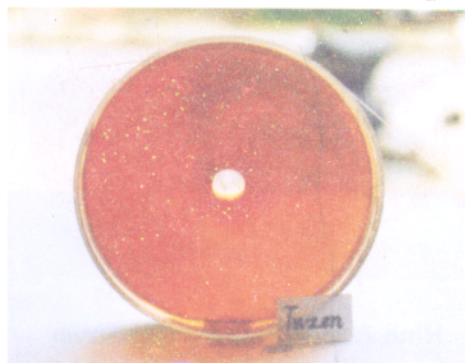
Hình 7.21. Vòng phân giải enzym Xellulolaza của nấm Ma trên nền cơ chất bông



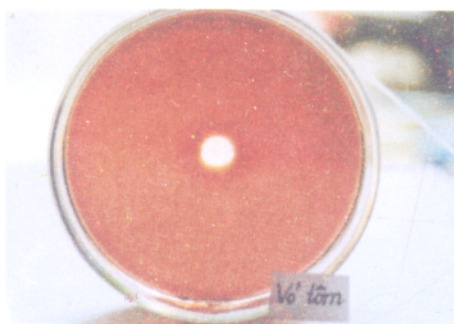
Hình 7.22. Vòng phân giải enzym lipaza của nấm Ma trên nền cơ chất Agral



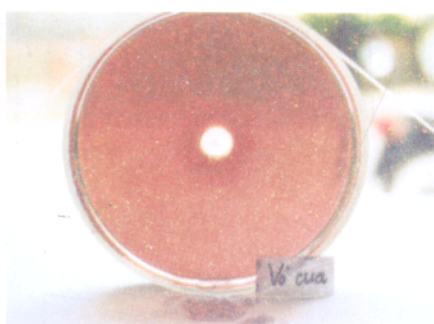
Hình 7.23. Vòng phân giải enzym
Xellulolaza của nấm Ma
trên nền cơ chất là giấy



Hình 7.24. Vòng phân giải enzym
Lipaza của nấm Ma
trên nền cơ chất Tween 80



Hình 7.25. Vòng phân giải enzym
Kitinaza của nấm Ma
trên nền cơ chất là vỏ tôm



Hình 7.26. Vòng phân giải enzym
Kitinaza của nấm Ma
trên nền cơ chất là vỏ cua

chuẩn của Quốc tế. Vấn đề này rất cần được nhà nước đầu tư để bảo quản bộ mẫu nấm theo tiêu chuẩn quốc tế.

Trong công nghệ sản xuất chế phẩm vi nấm không nên sử dụng những chủng đã bảo quản quá lâu và những chủng đã cấy lại nhiều lần hoặc chủng của nước ngoài. Việc sản xuất chế phẩm nấm đòi hỏi phải sử dụng những chủng mới phân lập trên những đối tượng sâu hại cần phòng trừ để đạt được hiệu quả cao.

7.3.5. Nghiên cứu khả năng hình thành một số enzym ngoại bào của chủng nấm *M. anisopliae*

Thí nghiệm năm 2002 tại Viện Bảo vệ thực vật, kết quả cho thấy khả năng hình thành enzym lipaza trên nền cơ chất Tween 80 cho vòng phân giải đạt cao là 1,3 - 1,75 mm, khả năng phân giải enzym kitinaza trên nền cơ chất là vỏ tôm đạt 0,96 - 1,30 mm, trên nền vỏ của đạt 0,92 - 1,34 mm và khả năng phân giải enzym xellulolaza trên nền cơ chất là giấy và bông đạt được 0,91 - 1,35 mm (nguồn Phạm Thị Thùy, Vũ Hải Thùy).

Kết quả này đã mở ra hướng nghiên cứu về khả năng lây lan của nấm *M. anisopliae* ngoài tự nhiên.

7.3.6. Những thành tựu đạt được của thuốc nấm Boverit và Mat trong phòng trừ sâu hại cây trồng nông, lâm nghiệp ở Việt Nam

Trong khoảng 15 năm trở lại đây các loại thuốc nấm Boverit (*Beauveria basiana*), Mat (*M. anisopliae*) và *M. flavoviridae* đã được Phạm Thị Thùy và cs, Viện Bảo vệ thực vật nghiên cứu về công nghệ sản xuất, cho đến nay đã hoàn thiện quy trình công nghệ sản xuất quy mô 20 - 30 kg/ngày trong điều kiện trang thiết bị của Viện nhờ chương trình Công nghệ sinh học cấp nhà nước KC 08 - 14 (1991 - 1995), KHCN 02 - 07B (1996 - 2001), KHCN 04 - 12 và chương trình Bánh mỳ nhà thờ thế giới VNM8910 - 030 (1989 - 1998). Trên cơ sở nghiên cứu công nghệ sản xuất ra các loại thuốc nấm trên, Viện Bảo vệ thực vật đã triển khai ứng dụng phòng trừ một số đối tượng sâu hại cây trồng nông, lâm nghiệp:

– Sâu đo xanh hại đay cách tại Liên Khê, Khoái Châu, Hưng Yên năm 1992 - 1993.

– Châu chấu hại ngô, mía, luồng... ở Bà Rịa - Vũng Tàu, Đồng Nai, năm 1994-1996, Hòa Bình năm 1997, Tây Ninh năm 1998 Nghệ An, Hưng Yên năm 2003.

– Rầy nâu hại lúa ở Hà Nội, Hà Nam (1991 - 1994), Tiền Giang, Bạc Liêu, Bà Rịa - Vũng Tàu (1992 - 1994).

– Sâu róm thông ở Hà Trung, Thanh Hóa năm 1996, ở Phù Bắc, Yên Sơn La, Sơn Động, Bắc Giang năm 1998 - 2000, Công ty thông Hương Khê, Hà Tĩnh năm 2003.

– Sâu kèn hại keo tai tượng ở Suối Hai, Ba Vì, Hà Tây năm 1999.

– Bọ hại dừa ở 12 tỉnh thuộc đồng bằng sông Cửu Long trong đó có tỉnh Bến Tre phòng trừ đầu tiên trên diện tích rộng năm 2000-2002 và 7 tỉnh miền Trung trong đó tỉnh Bình Định phòng trừ trên diện rộng ở 3 huyện Phù Cát, Phù Mỹ và Hoài Nhơn năm 2003.

– Sâu xanh ăn lá bồ đề ở HTX Tân Hưng, Yên Bình, Yên Bái năm 2002.

– Sùng hại mía ở Thạch Cẩm, Thạch Thành, Thanh Hóa năm 2001.

– Sâu xanh bông, sâu khoang, sâu tơ, sâu xanh bướm trắng hại rau ở An Hải, Hải Phòng năm 2001, Đồng Bẩm, Đồng Hỷ, Thái Nguyên năm 2002 - 2004.

– Sâu xanh bông, sâu cuốn lá... hại đậu xanh, đậu tương năm 2003 - 2004 ở Hà Tĩnh.

– Mối đất hại cà phê ở Đắc Lắc, mận đào ở Sa Pa, cây ăn quả ở Bà Rịa, Vũng Tàu và Đaklak... từ năm 1996 - 2004.

Tóm lại việc triển khai ứng dụng ngoài đồng ruộng đều được các địa phương đánh giá tốt, người nông dân đã quen sử dụng thuốc nấm trừ sâu hại cây trồng.

Với những kết quả triển khai trên, thuốc nấm Boverit của Viện (*Beauveria bassiana*) và thuốc nấm Mat (*Metarhizium anisopliae*) đã đạt được những thành tựu như sau:

– Thuốc nấm *Metarhizium anisopliae* trừ châu chấu hại ngô mía ở Bà Rịa - Vũng Tàu được UBND tỉnh cấp bằng khen về thành tích dập dịch năm 1994.

– Thuốc nấm *Metarhizium anisopliae* trừ châu chấu hại ngô, mía ở Bà Rịa - Vũng Tàu và Đồng Nai đã đoạt Giải ba Giải thưởng Sáng tạo Khoa học công nghệ Việt Nam VIFOTEC năm 1995.

– Thuốc nấm *Beauveria bassiana* trừ sâu róm hại rừng thông ở Lâm trường Phù Bắc Yên, Sơn La đã đoạt Giải nhì VIFOTEC và Bằng, Huy hiệu Lao động Sáng tạo của Tổng Liên đoàn Lao động Việt Nam năm 1998.

– Thuốc nấm *Metarhizium anisopliae* phòng trừ bọ cánh cứng hại dừa đã được UBND tỉnh Bến Tre cấp bằng khen về thành tích dập dịch năm 2000.

– Thuốc nấm *Beauveria bassiana* do Viện Bảo vệ thực vật sản xuất đã đăng ký trong danh mục thuốc Bảo vệ thực vật được sử dụng từ năm 2001 với tên thuốc Boverit.

– Thuốc nấm *Metarhizium anisopliae* do Viện Bảo vệ thực vật sản xuất đã được đăng ký trong danh mục thuốc Bảo vệ thực vật được sử dụng từ năm 2001 với tên thuốc Mat.

Phương pháp sản xuất thuốc trừ sâu vi nấm *Beauveria bassiana* đã được chấp nhận đơn cấp Bằng độc quyền Sáng chế hợp lệ số 2275 / SCHI ngày 18/2/2004.

Phương pháp sản xuất thuốc trừ sâu vi nấm *Metarhizium anisopliae* đã được cấp Bằng độc quyền Sáng chế số 3451 ngày 7/4/2003.

Năm 2003 Phòng thí nghiệm Nấm côn trùng đã được tặng Cờ Thi đua và Biểu trưng (Cúp) Vàng của Liên hiệp các Hội Khoa học Kỹ thuật Việt Nam và Bộ Khoa học và Công nghệ với thành tích ứng dụng xuất sắc các thuốc nấm Boverit và Mat trong phòng trừ nhiều loại sâu hại cây trồng nông, lâm nghiệp ở Việt Nam.

7.4. Ứng dụng tổng hợp các thuốc trừ sâu vi sinh vật để phòng trừ sâu hại cây trồng ở một số địa phương

7.4.1. Những lưu ý và hướng dẫn trước khi sử dụng thuốc trừ sâu vi sinh vật

Thuốc trừ sâu vi sinh vật có bản chất là các vi sinh vật sống, do đó việc thử nghiệm và phòng trừ sâu hại cây trồng thường:

* *Tăng độ tiếp xúc của thuốc*: Bằng cách khi pha thuốc phải khuấy đều, khi phun phải phun đều vào các lá, thân, cành... phun kỹ không bỏ sót. Chọn những nơi có mật độ cao phun trước, mục đích là bổ sung thêm các nguồn vi sinh vật cho đều vào đồng ruộng để chúng thích hợp với điều kiện tự nhiên.

* *Tăng hiệu lực*: Thuốc vi nấm, sau khi pha lấy dịch bào tử và trước khi phun phải cho thêm chất bám dính như Tween 80 của Mỹ, Agral của Nhật, hoặc dầu đậu nành, dầu mè, rỉ đường, xà phòng, bồ kết... Ở nước ta hiện nay không có Tween 80 của Mỹ, Agral của Nhật, hoặc có rất ít, lượng nhỏ, giá thành quá cao nên trong đại trà không được khuyến cáo cho nông dân sử dụng vì không thực tế. Mục đích thêm bám dính là làm cho các bào tử và các độc tố dính được vào lá cây hoặc vào cơ thể sâu hại để cho sâu hại dễ tiếp xúc, đồng thời duy trì được độ ẩm tạo điều kiện cho bào tử và độc tố dễ nảy mầm, nâng cao khả năng lây bệnh, đạt hiệu quả phòng trừ kinh tế và kỹ thuật cao.

– Hỗn hợp các thuốc vi sinh với nhau để tăng hiệu lực diệt sâu theo cơ chế đồng tác động, ví dụ những năm gần đây có nơi sử dụng Bt trừ sâu tơ, sâu khoang hiệu quả kém, vì vậy cần hỗn hợp virus với Bt (trước khi phun) để tăng hiệu lực, vì nếu Bt chưa đủ gây chết thì virus sẽ gây chết nhanh. Có thể hỗn hợp nấm *Beauveria* với nấm *Metarhizium* sẽ tăng hiệu quả diệt sâu.

– Hỗn hợp với một lượng rất nhỏ thuốc hóa học (1 - 5 phần vạn) trước khi phun để kích thích mục đích làm cho sâu hại yếu đi và hoạt lực của các thuốc trừ sâu vi sinh vật được nâng cao.

* *Tăng hiệu quả diệt sâu*: Khi phun thuốc trừ sâu vi sinh vật nên chú ý một số điểm:

– Phun vào lúc trời đêm mát, khi nhiệt độ và ẩm độ thích hợp.

– Phun vào buổi sáng sớm hoặc chiều mát để tránh ánh sáng Mặt Trời.

– Phun đúng phương pháp, đúng kỹ thuật trên cơ sở điều tra xác định mật độ sâu / m² hoặc sâu / cây và tuổi sâu hại trên cơ sở đó mới quyết định phun thuốc.

– Lượng nước và nồng độ phun phụ thuộc vào từng loại cây trồng khác nhau trung bình 300 - 600 lít / ha.

7.4.2. Hướng dẫn cách tính toán nồng độ sử dụng và hiệu lực của thuốc trừ sâu vi sinh vật đối với sâu hại cây trồng

7.4.2.1. Tính mật độ bào tử hoặc tế bào

– Xác định số lượng VSV theo đơn vị Quốc tế (IU) chỉ trong điều kiện thuốc sản xuất ra phải đạt tiêu chuẩn quốc tế (đã được đăng ký tên thương mại quốc tế).

– Xác định số lượng bào tử của nấm, bào tử và tinh thể độc tố của Bt, thể vùi đa diện nhân PIB hoặc OB của virus trên máy đếm hoặc trên buồng đếm hồng cầu theo phương pháp pha loãng vi sinh vật.

– Tính số lượng bào tử và số PIB theo công thức:

$$A = \frac{a \times 400 \times 10^n}{b} \times 10.000.$$

trong đó: A : Số lượng bào tử, số PIB... trên 1 ml.

a : Số lượng bào tử đếm được trên buồng đếm hồng cầu.

b : Số ô đếm được (16 x 25 ô = 400 ô nhỏ).

n : Hệ số pha loãng.

10.000 : Hằng số.

Đếm 3 lần, lấy giá trị trung bình.

7.4.2.2. Tính hiệu lực diệt sâu

a) Thí nghiệm trong phòng:

– Bố trí sâu tuổi 2 - 3 đồng đều có công thức đối chứng.

– Mỗi công thức được nhắc lại 3 lần, một lần nhắc lại ít nhất 10 sâu.

– Phương pháp pha, phun thuốc thí nghiệm theo từng nồng độ vào thức ăn đã sắp sẵn sau đó thả sâu vào.

- * Chỉ tiêu theo dõi hàng ngày:
 - Số sâu chết có sự hiện diện của các vi sinh vật.
 - Thay thức ăn mới.
 - Ghi chép nhiệt, ẩm độ trong phòng thí nghiệm.
- * Hiệu lực của thuốc được tính theo công thức Abbott (1925).

$$M(\%) = \frac{Ca - Ta}{Ca} \times 100.$$

trong đó: M : Tỷ lệ (%) chết.

Ca: Số sâu sống ở công thức đối chứng sau thí nghiệm.

Ta: Số sâu sống ở công thức thí nghiệm sau thí nghiệm.

b) Thí nghiệm đồng ruộng

Chọn nồng độ có hiệu lực được rút ra từ thí nghiệm trong phòng đặt trên 70% trở lên sau thí nghiệm từ 5- 10 ngày để ứng dụng vào đồng ruộng.

Chọn ruộng thí nghiệm, có đối chứng, tùy loại cây trồng nên chọn diện tích mỗi ruộng thích hợp, diện tích thí nghiệm nhỏ nhất là 30 m², có nhắc lại.

Điều tra trước và sau phun thuốc 3,5,7,10,12,10,20... ngày thí nghiệm.

Hiệu lực của thuốc trừ sâu vi sinh vật được tính theo công thức của Henderson Tilton (1955).

$$\text{Độ hữu hiệu } (\%) = \left(1 - \frac{T_a \times C_b}{T_b \times C_a}\right) \times 100.$$

trong đó:

T_a: Số sâu sống ở công thức thí nghiệm sau phun.

T_b: Số sâu sống ở công thức thí nghiệm trước phun.

C_a: Số sâu sống ở công thức đối chứng sau phun.

C_b: Số sâu sống ở công thức đối chứng trước phun.

7.4.3. Những kết quả ứng dụng thuốc trừ sâu vi sinh vật đạt được trong 15 năm qua ở Việt Nam

a) Thuốc trừ sâu vi sinh Bt

Đến nay một số Viện nghiên cứu đã triển khai sản xuất ra thuốc trừ sâu Bt như Công ty vi sinh thành phố Hồ Chí Minh, Viện Công nghiệp thực phẩm, Viện Bảo vệ thực vật, Viện Công nghệ sinh học... Tuy vậy cũng chỉ được một lượng nhỏ thuốc Bt, tập trung ứng dụng chủ yếu để phòng trừ sâu hại rau như sâu tơ, sâu khoang, sâu xanh bướm trắng... tại các vùng trồng rau chuyên canh ở thành phố Hà Nội, Hải Phòng, Đà Lạt, Thái Nguyên... trên diện tích hàng vạn ha, hiệu quả đạt được từ 75 - 90% sau 7 ngày phun.

– Ứng dụng Bt để phòng trừ sâu róm thông ở Thanh Hoá, Nghệ An, Sơn La...trên diện tích hàng nghìn ha thông, hiệu quả đạt trên 80% sau 7-10 ngày phun.

– Ứng dụng Bt để phòng trừ sâu hại đậu đỗ, thuốc lá, sâu hại bông...trên diện tích hàng vài trăm ha, hiệu quả phòng trừ 65 -85% sau 7-14 ngày phun.

Tóm lại Bt là thuốc trừ sâu vi sinh vật dễ sản xuất lớn bởi hệ thống lên men công nghiệp, vấn đề quan trọng là cần tìm chủng có hoạt tính sinh học cao để sản xuất. Hy vọng trong thời gian tới nước ta sẽ có nhà máy sản xuất Bt với số lượng lớn để cung cấp cho các vùng trồng rau trong cả nước.

Thuốc trừ sâu Bt do Viện Công nghiệp thực phẩm sản xuất đã đăng ký trong danh mục thuốc BVTV sử dụng ở Việt Nam năm 2003 với tên FIRIBIOTOX – P16.000UI.

b) Thuốc trừ sâu virus

Được SX chủ yếu ở Viện Bảo vệ thực vật, Viện sinh học nhiệt đới Thành phố HCM, Viện nghiên cứu cây bông Nha Hố, Ninh Thuận.

Thực tế hiện nay mới chỉ ứng dụng NPVHa trừ sâu xanh hại bông trên diện tích vài nghìn ha bông, NPVSe trừ sâu keo da láng trên diện tích vài trăm ha hành tỏi ở Ninh Thuận, Đồng Nai, NPVDp trừ sâu róm thông trên diện tích vài trăm ha ở Thanh Hóa, Sơn La, NPVAf trừ sâu đo xanh hại đay cách ở Hưng Yên và Hà Tây trên diện tích vài trăm ha, NPVSl trừ sâu khoang, GVPr trừ sâu xanh bướm trắng, GVPx trừ sâu tơ hại rau ở Hà Nội, Hải Phòng, Vĩnh Phúc trên diện tích hàng trăm ha bắp cải, cà chua, súp lơ xanh...

Thuốc trừ sâu virus của Viện Bảo vệ thực vật đã đăng ký trong danh mục thuốc Bảo vệ thực vật sử dụng ở Việt Nam năm 2003 với tên ViHa trừ sâu xanh bông, ViS1 trừ sâu khoang.

c) Thuốc trừ sâu vi nấm Boverit và Mat

Hiện nay thuốc Boverit và Mat chủ yếu được sản xuất tại Viện Bảo vệ thực vật và một số Viện khác mới bắt đầu sản xuất nhưng rất ít và chỉ ở quy mô phòng thí nghiệm, do đó số lượng thuốc sản xuất ra chưa thể cung cấp để ứng dụng trên diện tích rộng. Mặc dù vậy khi nhiều nơi có dịch sâu hại cây trồng nổi lên và thuốc nấm bước đầu đã khẳng định được vị trí của mình trong phòng trừ sâu hại trên nhiều loại cây trồng như:

1) *Trên cây đay*: Dịch sâu đo xanh hại đay cách năm 1992-1993 ở HTX Liên Khê, Khoái Châu, Hưng Yên với mật độ 30-50 con/m². Viện Bảo vệ thực vật đã ứng dụng thuốc nấm Boverit và Mat để phòng trừ sâu đo, kết quả rất khả quan chỉ sau 7 - 10 ngày phun đã cho thấy mật độ sâu đo giảm khoảng 70 - 89%, đặc biệt là tháng 5 - 6/1992 khi mật độ sâu cao, sau phun nấm thời tiết ở vùng đay có mưa độ ẩm cao kết hợp với nhiệt độ cao, Viện Bảo vệ thực vật đã thu được rất nhiều sâu đo xanh bị nấm ký sinh, kết quả này đã mở ra triển vọng tốt cho việc phòng trừ sâu đo xanh hại đay cách bằng thuốc nấm Boverit và Mat.

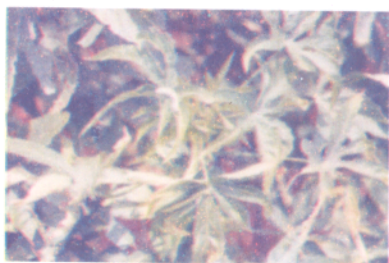
2) *Trên cây ngô, cây mía và cây luồng*: Dịch châu chấu ở Bà Rịa - Vũng Tàu, Đồng Nai, Tây Ninh và Hòa Bình từ những năm 1993-1998, thuốc nấm *Metarhizium* (Mat) và nấm *M. flavoviride* (Mf) của Viện Bảo vệ thực vật đã phòng trừ kịp thời và dập tắt được nạn dịch châu chấu gây ra trên diện tích hàng vạn ha ở các tỉnh nói trên hiệu quả phòng trừ đạt được từ 68,5 - 94% sau 2 - 6 tuần phun thuốc nấm sau 2 - 3 năm phun nấm. Kết quả sử dụng nấm *Metarhizium* trừ châu chấu đã được nhận Giải ba VIFOTEC năm 1995, cho đến nay thuốc nấm Mat và Mf vẫn là vũ khí chủ lực để phòng trừ châu chấu hại cây trồng nông lâm nghiệp như mía, ngô, mỳ (sắn), chuối, luồng, tre, lúa và một số cây ăn quả (Phạm Thị Thùy, Võ Mai, Lê Thị Quý, Lê Văn Hạnh, Dương Nghiêu, Nguyễn Thị Đoàn, Nguyễn Thị Liên, Nguyễn Văn Thủy, Nguyễn Văn Yển).



Hình 7.27. Phun thuốc nấm *Boverit* và *Mat* trừ sâu đỏ xanh ở HTX Liên Khê, Khoái Châu, Hưng Yên năm 1992 (ảnh P.T.Thùy)



Hình 7.28. Kiểm tra nấm *Beauveria* và *Metarhizium* ký sinh trên sâu đỏ xanh sau phun 10 ngày



Hình 7.29. Nấm *Beauveria* ký sinh trên sâu đỏ xanh ở HTX Liên Khê, Khoái Châu, Hưng Yên năm 1992 (ảnh P.T.Thùy)



Hình 7.30. Nấm *Metarhizium anisopliae* ký sinh trên sâu đỏ xanh ở Khoái Châu, Hưng Yên năm 1992 (ảnh P.T.Thùy)

HÌNH ẢNH VỀ KẾT QUẢ PHÒNG TRỪ CHÂU CHẤU
BẰNG NẤM *METARHIZIUM*



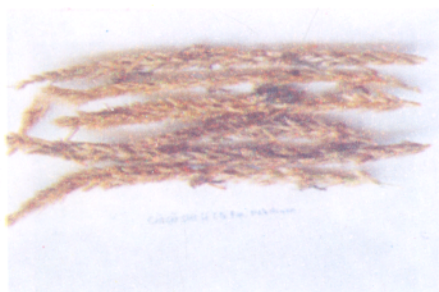
Hình 7.31. Kiểm tra nấm *M. flavoviride* ký sinh trên châu chấu ở Tây Ninh năm 1998



Hình 7.32. Kiểm tra nấm *M. anisopliae* và *M. flavoviride* ký sinh trên châu chấu ở Hòa Bình, 1997



Hình 7.33. Nấm *M. flavoviride* ký sinh trên châu chấu ở Bà Rịa - Vũng Tàu năm 1995



Hình 7.34. Nấm *M. flavoviride* ký sinh trên châu chấu ở Xuyên Mộc, Bà Rịa - Vũng Tàu, 1996

HÌNH ẢNH DỊCH SÂU RÓM THÔNG VÀ KẾT QUẢ PHÒNG TRỪ SÂU RÓM BẰNG NẤM *BEAUVERIA BASSIANA*



Hình 7.35. Rừng thông bị cháy do sâu róm thông ở Phù Bắc Yên Sơn La, năm 1998 (ảnh Nguyễn Xuân Nghiêm)



Hình 7.36. Kiểm tra nấm *B. bassiana* ký sinh trên sâu róm thông ở lâm trường Phù Bắc Yên, Sơn La sau 1 tháng phun nấm (tháng 9/1998)



Hình 7.37. Nấm *B. bassiana* ký sinh trên sâu róm thông ở Sơn La, 1998



Hình 7.38. Rừng thông Sơn La xanh trở lại sau phun nấm *B. bassiana*, 1998

HÌNH ẢNH VỀ KẾT QUẢ PHÒNG TRỪ BỌ DỪA
BẰNG NẤM *M. ANISOPLIAE*



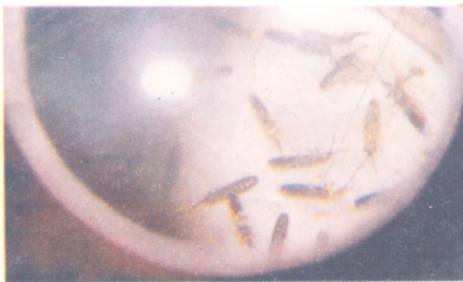
Hình 7.39. Điều tra mật độ bọ hại dừa ở Châu Thành, Bến Tre, 6/2000



Hình 7.40. Thí nghiệm nấm *Mat* trừ bọ hại dừa ở Chi cục BVTV Bến Tre, 2000



Hình 7.41. Nấm *Mat* ký sinh trên bọ hại dừa (TN ở lồng lưới), 2000



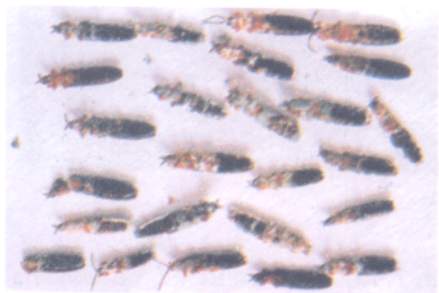
Hình 7.42. Nấm *Mat* ký sinh trên bọ hại dừa ở Châu Thành, Bến Tre, 2000



Hình 7.43. Kiểm tra nấm *Mat* ký sinh trên bộ hại dừa ở Châu Thành, Bến Tre



Hình 7.44. Lãnh đạo tỉnh Bến Tre kiểm tra kết quả phòng trừ bộ hại dừa bằng nấm *Mat* năm 2000



Hình 7.45. Bộ hại dừa bị nấm *M. anisopliae* ký sinh



Hình 7.46. Trưởng thành bộ hại dừa bị nấm *M. anisopliae* ký sinh ở Kiên Giang (ảnh Nguyễn Xuân Niệm)

HÌNH ẢNH VỀ ỨNG DỤNG THUỐC NẤM BOVERIT VÀ MAT TRỪ SÂU HẠI
RAU Ở HÀ NỘI, ĐÀ LẠT, HẢI PHÒNG VÀ HÀ TĨNH



Hình 7.47. Điều tra nấm *Beauveria* và *Metarhizium* ký sinh trên sâu hại rau ở Đà Lạt, 1998



Hình 7.48. Kiểm tra Bt, nấm *Beauveria* và *M. anisopliae* ký sinh trên sâu hại ở HTX Hồng Phong, huyện An Hải, Thành phố Hải Phòng sau phun thuốc 3 lần/vụ, năm 2001



Hình 7.49. Kiểm tra thuốc trừ sâu Bt, V-Bt nấm *Beauveria* và *M. anisopliae* ký sinh trên sâu rau ở Đồng Bẩm, Đồng Hỷ, Thái Nguyên, 11/2002



Hình 7.50. Kiểm tra Bt, nấm *Beauveria* và *M. anisopliae* ký sinh trên sâu hại đậu xanh ở HTX Thạch Môn, huyện Thạch Hà, tỉnh Hà Tĩnh, vụ hè thu 2003

3) *Trên cây thông*: Dịch sâu róm thông đã xuất hiện và gây hại cây thông rất nghiêm trọng ở Hà Trung, Thanh Hóa và lâm trường Phù Bắc Yên, Sơn La năm 1996 - 1998, tại Sơn Động, Bắc Giang năm 1998 - 2000, tại Nghệ An, Hà Tĩnh năm 2003, thuốc trừ sâu hóa học khó có thể kiểm soát nổi nhưng thuốc nấm Boverit của Viện Bảo vệ thực vật đã dập tắt được nạn dịch sâu róm thông trên diện tích hàng nghìn ha với hiệu quả đạt 70 - 97,8% sau 2 - 3 tháng phun, hiệu quả kéo dài đến năm sau, thậm chí đến vài năm. Kết quả sử dụng nấm Boverit trừ sâu róm thông đã được nhận giải thưởng VIFOTEC hạng nhì, điều đó khẳng định với sâu róm thông chỉ có thuốc Boverit là hữu hiệu. (Phạm Thị Thùy, Nguyễn Xuân Nghiêm, Nguyễn Thị Lưu, Nguyễn Văn Quang, Nguyễn Thị Buôn, Nguyễn Văn Hùng, Trần Văn Mão).

4) *Trên cây dừa*: Tại Bến Tre và các tỉnh thuộc đồng bằng sông Cửu Long, các tỉnh Khánh Hoà, Phú Yên, Bình Định, Quảng Ngãi, Quảng Nam, Đà Nẵng và các tỉnh Tây Nguyên từ năm 2000 đến nay, bộ hại dừa đã phát sinh và gây hại rất nguy hiểm, chúng đã làm giảm đáng kể năng suất và sản lượng dừa, cũng như làm mất đi vẻ đẹp của các làng quê Việt Nam. Phòng trừ bộ hại dừa bằng thuốc trừ sâu hóa học tuy có hiệu quả ban đầu nhưng càng về sau bộ hại dừa càng quen thuốc. Trước tình hình đó Viện Bảo vệ thực vật đã nghiên cứu ứng dụng phòng trừ bộ hại dừa ở Bến Tre năm 2000 và rất nhiều tỉnh trồng dừa bằng thuốc nấm *Metarhizium anisopliae* trên diện tích hàng vạn ha từ năm 2001 - 2004, bước đầu khắc phục được nạn ô nhiễm môi trường, hiệu quả kỹ thuật cao đạt từ 75,4 - 88,5% sau 1 - 2 tháng phun, hiệu quả kéo dài. Cho đến nay riêng 2 tỉnh Bến Tre năm 2000 và Bình Định năm 2003 đã ứng dụng nấm để phòng trừ bộ hại dừa trên diện tích rộng.

Thực tế hiện nay nấm *Metarhizium* đã ký sinh tự nhiên và xuất hiện nhiều trên bộ hại dừa ở 1 số tỉnh, quan trọng hơn cả là người nông dân đã biết ứng dụng thuốc nấm để phòng trừ bộ hại dừa đạt hiệu quả (Phạm Thị Thùy, Nguyễn Văn Tuất, Phùng Thị Lạc, Nguyễn Xuân Niệm, Nguyễn Văn Chiến, Nguyễn Văn Giáp, Nguyễn Văn Dũng, Thân Thời An, Đặng Văn Mạnh...).

5) *Trên rau họ thập tự*: Thuốc nấm Boverit và nấm Mat bước đầu cũng đã phòng trừ được các loại sâu hại rau bắp cải, su lơ, su hào, cải xanh... như sâu tơ *Plutella xylostella*, sâu khoang *Spodoptera litura*, sâu xanh bướm trắng *Pieris rapae*, sâu xanh đục quả *Helicoverpa armigera* ở Hà Nội, Hải Phòng, Thái Nguyên và Hà Tĩnh... trên diện tích vài trăm ha rau, đậu xanh V123, đậu tương DT 84, DT 1996, DT 2001. Ngoài thuốc nấm trên rau, đậu còn ứng dụng cả những thuốc trừ sâu Bt, thuốc virus. Kết quả ứng dụng tổng hợp các thuốc trừ sâu vi sinh vật để phòng trừ các loại sâu hại trên đã đạt kết quả tốt, về hiệu quả kỹ thuật đạt được 70 - 95% sau 7 - 15 ngày phun. Về hiệu quả xã hội là người nông dân đã nâng cao được hiểu biết về khoa học kỹ thuật mới, môi trường sinh thái đảm bảo, năng suất rau, đậu đạt cao hơn so với đối chứng và phẩm chất rau xanh được an toàn (Phạm Thị Thùy, Trần Thị Vân, Trần Quang Tấn, Lê Mạnh Cường, Nguyễn Thúy Hà, Nguyễn Văn Sơn).

6) *Trên cây lúa*: Với sâu hại lúa, thuốc nấm Boverit và Mat đã ứng dụng để phòng trừ rầy nâu, bọ xít, sâu cắn gié hại lúa trên diện tích hàng trăm ha ở Hà Nam, Hà Nội, Bà Rịa - Vũng Tàu, Tiền Giang, Bạc Liêu... từ những năm 1992 đến 1995. Hiện nay trên ruộng lúa người nông dân dễ dàng thu được các nguồn nấm *B.basiana* và *M. anisopliae* trên những sâu hại nói trên, cho nên một số nơi tuy mật độ sâu hại gia tăng nhưng người nông dân vẫn không cần phun hóa chất mà vẫn không hề thiệt hại về năng suất vì nguồn nấm tự duy trì và chúng đã phát triển trên những ký chủ sâu hại cây lúa (Phạm Thị Thùy, Lê Văn Thiệt, Nguyễn Thị Nề, Lê Thị Quý, Chu Ngọc Dụ, Nguyễn Văn Khoa).

7) *Trên cây keo tai tượng tại Suối Hai, Ba Vì, Hà Tây*: Năm 1999 có dịch sâu kền xuất hiện và chúng đã phá hại nghiêm trọng trên cây keo tai tượng làm mất cảnh quan du lịch khu vực Suối Hai. Thuốc hóa học tuy đã dập tắt bước đầu nhưng chỉ là giải pháp tình thế vì về sau dịch sâu kền lại gia tăng. Tháng 6/1999 theo đề nghị của chi cục Bảo vệ thực vật tỉnh Hà Tây, Viện Bảo vệ thực vật phối hợp cùng với trường Đại học Lâm nghiệp Xuân Mai Hòa Bình tiến hành phòng trừ sâu kền hại cây keo tai tượng trên đảo Độc Lập.

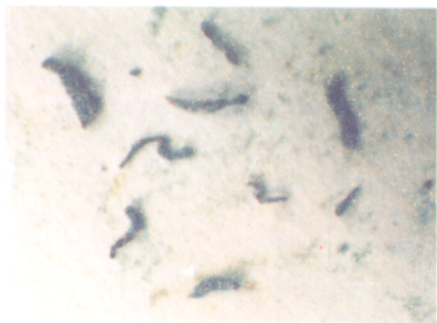
HÌNH ẢNH VỀ ỨNG DỤNG NẤM MAT VÀ BOVERIT TRỪ SÂU HẠI ĐẬU TƯƠNG VÀ ĐẬU XANH



Hình 7.51. Hội thảo đầu bờ về quản lý tổng hợp dịch hại đậu tương và đậu xanh ở Hà Tĩnh, 2003



Hình 7.52. Mô hình ứng dụng các chế phẩm sinh học Bt, nấm *B. bassiana* và *M. anisopliae* trừ sâu hại đậu tương DT 84 tại Viện Bảo vệ thực vật Hà Nội vụ hè thu 2003



Hình 7.53. Nấm *M. anisopliae* ký sinh trên sâu hại rau ở Hà Nội, 2003



Hình 7.54. Bt ký sinh trên sâu đục quả đậu ở Viện Bảo vệ thực vật, 2003

HÌNH ẢNH SỬ DỤNG NẤM BOVERIT VÀ MAT ĐỂ TRỪ RẦY NÂU HẠI LÚA
Ở TRONG PHÒNG, LỒNG LƯỚI, NGOÀI ĐỒNG RUỘNG



Hình 7.55. Thử nghiệm nấm *B. bassiana* và *M. anisopliae* trên rầy nâu hại lúa thí nghiệm trong phòng, Viện Bảo vệ thực vật, 1991



Hình 7.56. Thí nghiệm nấm *B. bassiana* và *M. anisopliae* trên rầy nâu ở IRRI, Philippin, 1993



Hình 7.57. Thí nghiệm nấm *B. bassiana* và *M. anisopliae* trên rầy nâu ở Viện Bảo vệ thực vật, 1993



Hình 7.58. Kiểm tra nấm *B. bassiana* và *M. anisopliae* ký sinh trên rầy nâu ở Châu Thành, Bà Rịa - Vũng Tàu năm 1994



Hình 7.59. Nấm *B. bassiana* ký sinh trên rầy nâu ở TN lồng lưới Viện Bảo vệ thực vật, 1993



Hình 7.60. Kết quả phun nấm *B. bassiana* trừ rầy nâu hại lúa ở Duy Tiên, Hà Nam, 1994



Hình 7.61. Thí nghiệm nấm *M. anisopliae* trên rầy nâu ở xã Cổ Nhuế, Hà Nội, 1994



Hình 7.62. Kết quả phun nấm *M. anisopliae* trừ rầy nâu hại lúa ở Cổ Nhuế, 1994

HÌNH ẢNH ỨNG DỤNG NẤM *B. BASSIANA* VÀ *M. ANISOPLIAE* TRỪ SÂU
KÈN HẠI CÂY KEO TẠI TƯỢNG Ở SUỐI HAI, HÀ TÂY NĂM 1999



Hình 7.63. Thí nghiệm trong phòng nấm
B. bassiana và *M. anisopliae* trừ sâu
ở Trạm Bảo vệ thực vật Suối Hai,
Hà Tây năm 1999



Hình 7.64. Kiểm tra nấm *B. bassiana*
và *M. anisopliae* ký sinh trên sâu kèn
ở đảo Độc Lập, Suối Hai, Ba Vì,
Hà Tây năm 1999



Hình 7.65. Rừng keo tai tượng
ở đảo Độc Lập, Suối Hai, Ba Vì, Hà Tây
sau 2 tháng phun, cây xanh trở lại, 1999



Hình 7.66. Sâu kèn chết do
nấm *B. bassiana*

Kết quả sử dụng thuốc nấm Boverit và nấm Mat để phòng trừ sâu kèn loại nhỏ chỉ sau hai đợt phun nấm bằng bình động cơ có vòi cao 30 mét, hiệu quả phòng trừ đạt trên 85% sau 2 - 8 tuần phun thuốc nấm (Phạm Thị Thùy, GS Trần Văn Mão, Trần Công Xuân). Đây là kết quả rất khả quan của việc ứng dụng thuốc nấm vi sinh để phòng trừ sâu kèn. Đến nay tại đảo Độc Lập loại sâu kèn hầu như chưa xuất hiện trở lại, điều này thể hiện tính ổn định và bền vững của hai loại thuốc nấm nói trên.

8) *Trên cây mía*: Thuốc nấm *Mat* đã sử dụng để phòng trừ sùng (bọ hung đen) hại mía tại xã Thạch Cẩm, Thạch Hưng... huyện Thạch Thành, tỉnh Thanh Hóa tháng 8 - 9 năm 2001 - 2002 trong điều kiện thí nghiệm tại Trạm Bảo vệ thực vật huyện Thạch Thành, hiệu quả đạt 65% sau 10 ngày phun. Thí nghiệm ngoài đồng ruộng trên diện tích hẹp, do không theo dõi được thường xuyên nên chưa có số liệu cụ thể, tuy vậy cũng có nhận xét là nấm *Mat* có thể phòng trừ được sùng hại mía cả hai giai đoạn sâu non và trưởng thành (Phạm Thị Thùy, Nguyễn Văn Ba, Nguyễn Anh Diệp).

9) *Trên cây bồ đề*: Năm 2002 đã bị dịch sâu xanh *Fentonia* sp. ăn lá và phá hại nghiêm trọng. Đã ứng dụng thuốc nấm Boverit và *Mat* để phòng trừ sâu xanh ăn lá bồ đề tại thôn Đồi Hối, Xã Tân Hưng, huyện Yên Bình, tỉnh Yên Bái, kết quả đạt được từ 70% trở lên sau 2 - 4 tuần phun thuốc (Phạm Thị Thùy, Nguyễn Thị Tính).

10) *Trên cây ăn quả*: Với môi đất thường hại các loại cây ăn trái ở miền Nam và cây ăn quả ở miền núi phía Bắc, thuốc nấm *Mat* đã phòng trừ được mối đất hại cây ăn quả ở Bà Rịa- Vũng Tàu năm 1995 - 1997. Trừ được mối đất hại cây đào, cây mận ở Sơn la năm 1998, trừ mối hại cây cà phê ở Đắk Lắk năm 2001 - 2004... trên diện tích hàng trăm ha đạt kết quả tốt (Lê Văn Hạnh, Phó chi cục trưởng Chi cục Bảo vệ thực vật Bà Rịa - Vũng Tàu, Nguyễn Xuân Thanh, Nguyễn Anh Dũng, Nguyễn Thị Kim Liên, Bộ môn Bảo vệ thực vật trường Đại học Tây Nguyên, Phạm Thị Thùy).

11) *Trên cây quế*: Với sâu đo hại quế, năm 2003 Viện Bảo vệ thực vật đã thử nghiệm thuốc nấm Boverit và *Mat* để phòng trừ sâu đo hại quế trong điều kiện phòng thí nghiệm, bước đầu có hiệu quả, tỷ lệ sâu đo chết đạt 60,5 - 73,8% sau 7 - 10 ngày phun.

12) *Trên cây cà phê*: Có dịch rệp sáp *Pseudococcus citri* (Risso) hại về cà phê ở nông trường cà phê Chư Quynh, huyện KrôngAna và nông trường cà phê tháng 10, Đaklak. Từ năm 2002 - 2004, Viện Bảo vệ thực vật đã phối hợp với trường Đại học Tây Nguyên tiến hành thử nghiệm nấm *M. anisopliae* để phòng trừ rệp sáp trên diện tích từ 1 - 10 ha.

Kết quả thí nghiệm trong phòng khi sử dụng nấm *M. anisopliae* dưới dạng bào tử thuần khiết ở nồng độ từ 10^8 bào tử / ml thì hiệu quả đạt được từ 70 - 100% sau 5 - 10 ngày phun. Trên xác rệp chết xuất hiện 1 lớp bào tử nấm màu xanh. Trên các gốc cà phê trồng trong chậu vại, kết quả thí nghiệm thu được sau 5 ngày phun có 45% số rệp chết do nấm ký sinh, sau 7 ngày hiệu quả đạt được là 75%, sau 14 ngày đạt 100%, hầu hết trên xác rệp được phủ 1 lớp nấm màu xanh.

Thí nghiệm ngoài đồng ruộng tại nông trường cà phê Chư Quynh, huyện KrôngAna với 3 công thức:

– *Công thức 1*: Phun bào tử nấm ở nồng độ 10^8 bào tử / ml trực tiếp vào mặt đất dưới tán cây từ gốc ra 1 cây 1 lít, sau đó lấp đất giữ ẩm.

– *Công thức 2*: Đào quanh gốc cà phê sâu 10 cm, bán kính 15 cm, phun 1 lít dịch bào tử như CT1 vào gốc xong cũng lấp đất giữ ẩm.

– *Công thức 3*: Đào gốc cà phê như trên mỗi gốc cây cho 1 kg phân bò hoai và 0,5 kg vỏ cà phê (đã trộn đều), sau đó phun 1 lít dịch bào tử nấm như CT1 vào phần rễ cây cà phê, lấp đất để ủ, tạo điều kiện cho bào tử nấm *M. anisopliae* tồn tại và duy trì lâu dài.

Hiệu quả thí nghiệm thu được ở công thức 1 đạt 20%, công thức 2 đạt 67,7%, công thức 3 đạt 90% sau 4 tuần thử nghiệm. Riêng công thức 3 hiệu quả kéo dài đến 12 tháng đạt 70% và sau 2 năm không thấy rệp sáp hại trở lại cây cà phê và cây hồ tiêu ở Đaklak (nguồn Nguyễn Xuân Thanh, Phạm Thị Thùy).

Kết quả trên đã mở ra hướng sản xuất nấm *M. anisopliae* dưới dạng phân vi sinh để ứng dụng trong phòng trừ rệp sáp hại cây cà phê và cây hồ tiêu ở Đaklak nói riêng, các tỉnh Tây Nguyên và miền Nam Trung Bộ nói chung.

HÌNH ẢNH THÍ NGHIỆM NẤM *M. ANISOPLIAE* TRỪ MỐI VÀ SÂU ĐO
HẠI QUẾ Ở QUẢNG NAM



Hình 7.67. Nấm *M.anisopliae* ký sinh trên mối *Coptotermes squamosus*, 1998



Hình 7.68. Điều tra sâu đo quế hại vườn ươm cây trầm hương ở Trà My, Quảng Nam năm 2003



Hình 7.69. Điều tra sâu đo quế ở Trà My, Quảng Nam, 2003



Hình 7.70. Kiểm tra sâu đo hại quế bị vi sinh vật ký sinh



Hình 7.71. Kiểm tra bệnh tua mực hại quế ở Quảng Nam 2003



Hình 7.72. Điều tra sâu hại quế ở Quảng Nam 2003

13) *Trên cây khoai lang*: Thường xuất hiện dịch bọ hà *Cylas formicarius*, chúng đã gây hại trên khoai lang ở cả giai đoạn sâu non và trưởng thành, chúng không chỉ hại ở ngoài ruộng mà còn tiếp tục gây hại trong quá trình bảo quản. Dùng thuốc hóa học khó đạt hiệu quả, vì vậy chúng tôi đã tiến hành thí nghiệm sử dụng nấm *B. bassiana* để phòng trừ ở nồng độ $3 - 5 \times 10^6 - 10^8$ bào tử / ml, hiệu lực của nấm đạt từ 58,9 - 75,6% sau 7 - 10 ngày phun. Phần lớn bọ hà chết đều có sự hiện diện nấm trở lại (nguồn Phạm Thị Thùy, Nguyễn Ngọc Thư, Nguyễn Thị Kim Oanh).

Như vậy là thuốc nấm *B. bassiana* và *M. anisopliae* do Viện Bảo vệ thực vật nghiên cứu và sản xuất đã được triển khai và ứng dụng tương đối rộng rãi trên nhiều đối tượng sâu hại cây trồng nông, lâm nghiệp như phần trên đã trình bày. Kết quả ứng dụng tuy mới là bước đầu với từng địa phương, song các kết quả trên đã khẳng định vị trí và vai trò của thuốc nấm trong bảo vệ thực vật nói chung. Đến nay đã có hơn 50 tỉnh, thành trong cả nước triển khai ứng dụng các loại thuốc nấm để phòng trừ nhiều loại sâu hại cây trồng, điển hình như nấm *B. bassiana* trừ sâu róm thông ở hầu hết các tỉnh trồng thông trong cả nước và nấm *M. anisopliae* trừ châu chấu ở các tỉnh miền Đông Nam Bộ, nấm *M. anisopliae* trừ bọ hại dừa ở nhiều tỉnh thuộc đồng bằng Sông Cửu Long và các tỉnh miền Trung từ Khánh Hoà đến Đà Nẵng.

Tóm lại là tất cả các loại thuốc trừ sâu vi sinh vật đều tỏ ra có hiệu quả cao với nhiều loài sâu hại cây trồng ở Việt Nam. Ý nghĩa quan trọng của thuốc trừ sâu vi sinh vật là hiệu quả kéo dài bởi thuốc có thể lây lan trên diện rộng, trên nhiều đối tượng sâu hại như vi nấm, Bt.

Song trên thực tế thì thuốc trừ sâu vi sinh vật ở nước ta vẫn chưa được đầu tư phát triển và chưa đáp ứng được so với một phần yêu cầu của thực tiễn sản xuất, công nghệ vẫn còn thô sơ, thủ công và không đồng bộ. Do đó nhiệm vụ của CNSH trong BVTV sẽ phải cố gắng nhanh chóng giải quyết được yêu cầu đòi hỏi nói trên. Hy vọng trong thời gian tới nhà nước sẽ có chính sách, có cơ chế tạo điều kiện về cơ sở vật chất, trang thiết bị hiện đại cũng như đào tạo cán bộ khoa học CNSH để công nghệ sản xuất thuốc trừ sâu vi sinh

vật thực sự phát triển nhằm góp phần quan trọng vào việc sản xuất rau, hoa, quả cũng như nhiều loại cây ăn quả có giá trị cao, đảm bảo an toàn, bền vững.

Các số liệu khoa học về kết quả ứng dụng thuốc trừ sâu vi sinh vật phòng trừ các loại sâu hại cây trồng ở Việt Nam đã được đăng tải ở các hội nghị khoa học và các tạp chí chuyên ngành trong và ngoài nước. Vì vậy, nội dung cuốn sách này không thể trích dẫn hết những kết quả cụ thể, mong bạn đọc quan tâm tham khảo thêm phần tài liệu.

Chương 8

CÔNG NGHỆ SẢN XUẤT CÁC CHẾ PHẨM TRỪ SÂU, BỆNH HẠI BẰNG NHỮNG TÁC NHÂN SINH HỌC KHÁC Ở VIỆT NAM

8.1. Công nghệ sản xuất sinh khối tuyến trùng

8.1.1. Công nghệ sản xuất sinh khối tuyến trùng

Hiện nay, ở nước ta các chế phẩm sinh học tuyến trùng đã được sản xuất thành sinh khối bằng phương pháp nhân nuôi *in vivo* và *in vitro* tại Viện Sinh thái và tài nguyên sinh vật.

Công nghệ sản xuất *in vivo* là phương pháp nhân nuôi sinh khối tuyến trùng trên cơ sở sử dụng các côn trùng sâu chủ mẫn cảm đối với tuyến trùng. Bướm sáp lớn *Galleria mellonella* đã được dùng như một loại côn trùng hữu ích để nhân nuôi sinh khối tuyến trùng. Đây là một loại côn trùng dễ nhân nuôi vì chúng rất mẫn cảm với tuyến trùng. Bướm sáp lớn là sâu chủ rất lý tưởng cho sự sinh sản của tuyến trùng. Công nghệ nhân nuôi *in vivo* rất đơn giản và thích hợp phù hợp với quy mô sản xuất nhỏ.

Công nghệ sản xuất *in vitro* bao gồm các phương pháp nhân nuôi khác nhau trên các môi trường nhân tạo để sản xuất sinh khối tuyến trùng ở các quy mô khác nhau. Môi trường nhân tạo có thể sử dụng các mô động vật ở dạng đặc (Solid media) hoặc các môi trường nhân tạo được pha chế theo các công thức khác nhau ở dạng lỏng (Liquid media).

Các công nghệ sản xuất bằng phương pháp *in vitro* rất hiệu quả và thích hợp đối với các cơ sở sản xuất lớn phục vụ cho phòng trừ tại chỗ cũng như các cơ sở sản xuất thương mại.

8.1.2. Công nghệ ứng dụng thuốc sinh học tuyến trùng

8.1.2.1. Phương pháp sử dụng đơn giản

Có thể dùng trực tiếp ấu trùng bướm sáp lớn *Galleria mellonella* đã nhiễm tuyến trùng được chôn vào đất trồng các cây rau màu hoặc đất xung quanh các cây ăn quả sau đó phủ đất bằng một lớp cỏ có rác để ẩm.

8.1.2.2. Phương pháp sử dụng các chế phẩm tuyến trùng

Các chế phẩm tuyến trùng thường được đóng gói ở dạng bột hoặc nước; người ta thường phối chế với các chất bám dính và dùng các dụng cụ bình bơm, bình tưới có kích thước lỗ nhỏ từ 50 - 100 μm , áp suất bơm là 20 kg/cm^2 để phun hoặc tưới vào gốc cây để phòng trừ các loại sâu hại thân, lá. Chế phẩm tuyến trùng có thể được sử dụng bằng hệ thống tưới phun mưa sẵn có trên đồng ruộng.

Khi phòng trừ sâu hại, thuốc sinh học tuyến trùng có thể phối hợp với các loại thuốc hóa học khác thuộc nhóm carbamate, chlorinated hydrocarbon và organophosphate.

8.1.2.3. Liều lượng sử dụng

Thường là 2,5 tỷ tuyến trùng trên 1 ha tương đương với 250.000 tt/ m^2 liều lượng sử dụng còn phụ thuộc vào các loài sâu hại cũng như các cây trồng khác nhau.

8.1.3. Một số chế phẩm sinh học tuyến trùng sử dụng trong phòng trừ sâu hại rau màu ở Việt Nam

8.1.3.1. Xuất xứ của tuyến trùng ký sinh gây bệnh côn trùng EPN

Hai chủng tuyến trùng *Steinernema* sp TK10 và *Heterorhabditis* sp TK3 được phân lập ở Việt Nam. Đây là 2 chủng đã được Nguyễn Ngọc Châu tuyển chọn và sử dụng trong phòng trừ sinh học đối với một số sâu hại cây trồng. Chủng *Steinernema carpocapsae* A11 được nhập nội, là chủng được sản xuất thương mại và đã được sử dụng

rộng rãi ở nhiều nước trên thế giới để phòng trừ nhiều loại sâu hại cây trồng và sâu hại sống trong đất.

8.1.3.2. Phổ sâu hại

Theo Nguyễn Ngọc Châu thì các sản phẩm sinh học tuyến trùng có khả năng phòng trừ được khoảng 15 - 16 loài sâu hại khác nhau trong bộ cánh vẩy Lepidoptera, bộ cánh cứng Coleoptera và bộ cánh thẳng Othoptera.

Bảng 8.1. Hiệu quả phòng trừ của tuyến trùng đối với một số sâu hại

STT	Tên sâu hại	Chủng TK10	Chủng TK3	Chủng A11
1	Sâu khoang <i>Spodoptera litura</i>	++	+++	+++
2	Sâu keo da láng <i>Spodoptera exigua</i>	+++	+++	+++
3	Sâu keo <i>S. manritia</i>	+++	+++	
4	Sâu xám <i>Agrotis ypsilon</i>	+++	+++	+++
5	Sâu đo xanh <i>Plusia</i> sp	+++		
6	Sâu cuốn lá đậu tương <i>Lamprocema indicata</i>	+++	++	
7	Sâu xanh bông <i>Helicoverpa armigera</i>	+++		+++
8	Sâu cuốn lá bông <i>Sylepta flava</i>	+++	++	
9	Sâu xanh bướm trắng <i>Pieris rapae</i>	+++	++	
10	Sâu cuốn lá lúa lớn <i>Parnara guttata</i>	+++	++	
11	Sâu tơ <i>Plutella xylostella</i>	+++		
12	Dế dũi <i>Gryllotalpa africana</i>	+++		
13	Dế mèn <i>Gryllus</i> sp	+++		
14	Bọ hung đen <i>Catharsius molour</i>	+++		
15	Bọ hung nâu <i>Adoretus</i> sp	+++		

Ghi chú: +++ Hiệu quả tốt.

++ Hiệu quả trung bình.

Trên bảng cho thấy chủng TK10 có hiệu quả tốt với cả 15 loài sâu hại rau màu chính và nhiều loại cây trồng khác, tuy nhiên hiện nay các sản phẩm sinh học tuyến trùng chỉ có hiệu quả cao với sâu hại sống trong đất.

Các sản phẩm sinh học tuyến trùng có thể sử dụng để phòng trừ cả sâu hại khi chưa xuất hiện hoặc cả khi sâu hại đã xuất hiện trên đồng ruộng.

8.1.3.3. Thời gian áp dụng EPN trừ sâu hại cây trồng

Để đạt hiệu quả phòng trừ cao nên phun tuyến trùng và sáng sớm hay chiều tối khi nhiệt độ và ẩm độ thích hợp.

Sử dụng trước khi sâu hại xuất hiện hoặc cả ngay lúc sâu đang phát triển trên đồng ruộng.

8.1.4. Kết quả điều tra tuyến trùng ký sinh gây bệnh côn trùng (EPN)

Phan Quang Long, Nguyễn Ngọc Châu, Viện Sinh thái và tài nguyên sinh vật cho biết các loài tuyến trùng ký sinh thuộc hai giống *Steinernema* và *Heterorhabditis*, chúng cộng sinh với vi khuẩn giống *Xenorhodus* (ở *Steinernema*) và *Photorhabdus* (ở *Heterorhabditis*) và chuyên ký sinh côn trùng hại sống trong đất hoặc những côn trùng phải trải qua một phần vòng đời hay ở một vùng sinh thái trong đất.

Với mục đích điều tra, thu thập và phân lập các chủng tuyến trùng ký sinh gây bệnh côn trùng EPN để phòng trừ sâu hại ở Việt Nam, từ năm 1997 đến 2002, Viện Sinh thái và tài nguyên sinh vật đã tiến hành điều tra thu thập mẫu đất ở 25 tỉnh và các tác giả đã phân lập được 44 chủng. Kết quả điều tra bước đầu về tuyến trùng đã được công bố có 3 loài EPN mới thuộc giống *Steinernema* và một loài mới thuộc giống *Heterorhabditis* đã được mô tả, 24 chủng EPN còn lại đang tiếp tục phân loại.

Trong tổng số 910 mẫu đất đã thu được từ 25 tỉnh; mỗi mẫu đất thường lấy 4 - 5 lần ngẫu nhiên trong phạm vi 100m², sau đó trộn đều và chuyển vào hộp nhựa có dung tích 50ml. Tuyến trùng được tách ra từ mẫu đất bằng phương pháp bẫy mồi *Galleria* (Bebding và Akhurst, 1975) còn ấu trùng được thu từ *Galleria* theo phương pháp White (1927), sau đó làm sạch và bảo quản ở nhiệt độ 15°C. Ngoài ra còn sử dụng phương pháp tách trực tiếp để tách ấu trùng cảm nhiễm từ đất.

Để phân loại EPN, ngoài các kỹ thuật thông thường đã sử dụng kính hiển vi điện tử quét (SEM) để phân biệt các cấu trúc bên ngoài của vùng đầu, vùng bên và cấu trúc gai sinh dục. Các kỹ

thuật phân tử ADN (bao gồm PCR, RFLP và sequencing) đã được sử dụng để phân tích đặc trưng ADN của các loài EPN.

Các tác giả đã thu được ở 44 mẫu EPN (4,8%) (tương ứng với 44 chủng thuộc 16 loài) và trong mỗi mẫu chỉ thu được một chủng EPN. Giống *Heterorhabditis* được tìm thấy ở 15 mẫu (34%), còn giống *Steinernema* ở 29 mẫu còn lại (66%). Trong giống *Heterorhabditis* thì loài *H. indica* được gặp nhiều nhất, ba loài mới thuộc giống *Steinernema* đã được nghiên cứu và mô tả là *S. sangi* gặp ở 3 mẫu đất, *S. thanhhi* và *S. loci* mỗi loài chỉ gặp ở mỗi mẫu đất.

Các chủng EPN phân bố ở các độ cao rất khác nhau, từ 2 mét đến 1210 mét so với mặt nước biển (bảng 8.2).

Bảng 8.2. Phân bố của các loài EPN ở Việt Nam

TT	Loài EPN	Địa điểm phát hiện
1	<i>Heterorhabditis indica</i>	Mường Phăng, Điện Biên (chủng H-MP11 & H-MP16); Ba Bể, Bắc Kạn (H- BB9), Cúc Phương, Ninh Bình (H-CP6 & H-CP16), Hương Sơn, Hà Tĩnh (H-HS5); Bồ Trạch, Quảng Bình (H-QB2 & H-QB3); Sa Thầy, Kon Tum (H-TN48); Thái An, Ninh Thuận (H-NT3)
2	<i>H. baujardi</i>	Ba Bể, Bắc Kạn (H- BB32), Cúc Phương, Ninh Bình (H-CP13 và H- CP22); Sa Thầy, Kon Tum (H-TN40)
3	<i>H. sangi</i>	Thường Xuân, Thanh Hóa (S-TX1); Điện Biên, Lai Châu (S-MP9); Thanh Sơn, Phú Thọ (– XS4)
4	<i>H. soci</i>	Thạch Hà, Hà Tĩnh (S –TK10)
5	<i>H. thanhhi</i>	Tĩnh Gia, Thanh Hóa (S –TG10)
6	<i>Steinernema</i> sp1	Mang La, Kon Tum (S–TS10); Sa Thầy, Kon Tum (H-TN10)
7	<i>Steinernema</i> sp2	Sa Thầy, Kon Tum (S –TN9 và S – TN38)
8	<i>Steinernema</i> sp3	Sa Thầy, Kon Tum (S –TN21, S – TN23 và S – TN24)
9	<i>Steinernema</i> sp4	Tam Đảo, Vĩnh Phúc(S – TD16 và S –TT4)
10	<i>Steinernema</i> sp5	Bạch Mã, Thừa Thiên Huế (S –BM12)
11	<i>Steinernema</i> sp6	Hương Sơn, Hà Tĩnh (H-HS2);
12	<i>Steinernema</i> sp7	CưMNgà, Đắk Lắk (S-DL13 và S-DL14)
13	<i>Steinernema</i> sp8	Krông Ana, Đắk Lắk (S-DL9); Ea Pok, Đắk Lắk (S-DL20, S - DL21 và S DL22)
14	<i>Steinernema</i> sp9	Ba Bể, Bắc Kạn (H- BB31); Tam Đảo, Vĩnh Phúc (S – TD3)
15	<i>Steinernema</i> sp10	Cúc Phương, Ninh Bình (S – CP12)
16	<i>Steinernema</i> sp11	Mang La, Kon Tum (S–TS2 & S-TS5); Sa Thầy, Kon Tum (H-TN10)

Nguồn: Nguyễn Ngọc Châu, 2003

Dựa trên sự sai khác về hình thái và kết quả sequence trong số 24 chủng thu được từ 24 mẫu đất còn lại thì có 11 loại mới. Đa số chủng EPN (76%) thu được ở đất rừng, 13 % ở đất trồng cà phê và 2% ở đất trồng cây ăn quả lâu năm, ở trong đất trồng cây 1 năm chưa thu được mẫu EPN nào.

Kết quả điều tra và thu được tuyến trùng ký sinh gây bệnh côn trùng trong đất EPN ở Việt Nam với tỷ lệ 4,8%, kết quả này gần giống với kết quả thu được ở đảo Haoai là 6,8 %, ở miền Bắc Ailen là 3,8%, ở Italia –5%... Điều này cho thấy có khả năng nhận được EPN trong điều kiện Việt Nam. Do đó rất cần nghiên cứu công nghệ sản xuất EPN ở nước ta để ứng dụng phòng trừ một số sâu hại cây trồng theo hướng sinh học.

8.2. Công nghệ sản xuất chế phẩm nấm đối kháng *Trichoderma harianum* để phòng trừ bệnh hại cây trồng

8.2.1. Giới thiệu nấm đối kháng *Trichoderma*

Nấm có ích *Trichoderma* là một trong những tác nhân sinh học đã được nhiều nước trên thế giới như Liên Xô cũ, Philippin, Hungaria, Thái Lan... nghiên cứu và sử dụng để hạn chế bệnh hại cây trồng, hầu hết các nhà khoa học đều khẳng định nấm *Trichoderma* có khả năng đối kháng với nhiều loại bệnh hại ở mức độ khác nhau như là nấm đất *Rhizotonia*, *Verticilium*, *Phytophthora*...

Ở nước ta, nấm *Trichoderma* đã được Bộ môn Bệnh cây Viện Bảo vệ thực vật nghiên cứu từ năm 1989 đến nay. Đây là loài nấm đất thường xuất hiện trên các loại đất giàu dinh dưỡng, có khả năng phân hủy các chất kitin, xelluloza... Qua điều tra phát hiện người ta thấy nấm *Trichoderma* thường sinh sống và tồn tại trên những tàn dư thực vật.

Với mục đích nghiên cứu tuyển chọn những chủng nấm *Trichoderma* để xác định khả năng ức chế của nấm đối với một số bệnh hại cây trồng, trên cơ sở đó ổn định hoàn thiện quy trình sản xuất nấm đối kháng *Trichoderma* sp nhằm tạo ra chế phẩm nấm có

năng suất cao, chất lượng tốt đạt 3×10^9 bào tử/g có khả năng ức chế các bệnh lở cổ rễ, bệnh khô vằn hại ngô.

8.2.2. Nội dung và phương pháp nghiên cứu

8.2.2.1 Nội dung nghiên cứu

Thu thập những nguồn nấm *Trichoderma* sp để tuyển chọn chủng giống có hoạt tính cao có khả năng ức chế bệnh hại cây trồng.

Xác định khả năng ức chế của nấm *Trichoderma* sp đối với một số bệnh nấm hại cây trồng.

Sản xuất chế phẩm nấm đối kháng để cung cấp cho các vùng thử nghiệm.

Có mô hình trình diễn sử dụng chế phẩm nấm *Trichoderma* sp để ức chế bệnh hại rau.

8.2.2.2. Phương pháp nghiên cứu

- Dùng môi trường Czapek - Dox để phân lập nấm *Trichoderma*.
- Đối tượng sử dụng nấm đối kháng: Bệnh khô vằn lúa, khô vằn ngô *Helminthosporium*, nấm *Fusarium* hại hành tây, *Aspergillus* hại đậu lạc.
- Môi trường sản xuất nấm *Trichoderma* gồm bã mía, bã đậu, cám gạo, lõi ngô và thóc.

8.2.2.3. Kết quả nghiên cứu

Theo Trần Thị Thuần thì việc điều tra thu thập và tuyển chọn nguồn nấm *Trichoderma* là một trong những nội dung trọng tâm để xác định chủng có hoạt lực cao, định hướng cho công nghệ sản xuất chế phẩm nấm đạt chất lượng.

Bảng 8.3. Nguồn nấm *Trichoderma* sp thu thập được (năm 2002)

STT	Nguồn thu mẫu	Số mẫu phân lập	Mẫu có nấm <i>Trichoderma</i>	<i>Trichoderma</i> phát triển
1	Đất	60	7	1
2	Cây lạc bị bệnh	9	3	2
3	Cây ngô bị bệnh	1	0	

Kết quả thu được nguồn nấm *Trichoderma* từ trong đất có 7/60 mẫu chiếm khoảng 11,6%, trên đồng ruộng nấm *Trichoderma* xuất hiện tương đối phổ biến hơn cả, trong 10 mẫu thu được thì 3 mẫu có nấm *Trichoderma*. Theo dõi sự phát triển của 3 nguồn nấm tốt nhất để đánh giá khả năng ức chế với các nấm bệnh hại (bảng 8.4).

Bảng 8.4. Khả năng ức chế của nấm *Trichoderma* đối với một số loại nấm bệnh

STT	Nguồn <i>Trichoderma</i>	Hiệu quả ức chế với nấm bệnh		
		<i>Rhizoctonia</i>	<i>Fusarium</i>	<i>Aspergillus</i>
1	<i>Trichoderma harzianum</i>	73,5	74,8	74,5
2	<i>Trichoderma viride</i>	69,5	71,0	70,5
3	<i>Trichoderma</i> sp 4	65,7	67,1	66,5
4	<i>Trichoderma</i> sp 13	67,8	69,0	68,1
5	<i>Trichoderma</i> sp 14	63,1	65,1	64,3
6	<i>Trichoderma</i> sp 15	69,1	70,5	70,5

Ghi chú: Nguồn từ 1 - 3 là nguồn trong tập đoàn.

Nguồn từ 4 - 6 là nguồn mới bổ sung.

Trong 6 nguồn *Trichoderma* tham gia thí nghiệm thì kết quả thu được cả 6 nguồn đều có khả năng ức chế với các loại nấm bệnh, hiệu quả ức chế đạt từ 63,1 - 74,8% tùy theo nguồn *Trichoderma* và tùy theo từng loại nấm bệnh.

Kết hợp theo dõi khả năng phát triển của nấm *Trichoderma* và khả năng ức chế với nấm bệnh, Viện Bảo vệ thực vật xác định được nguồn nấm *Trichoderma harzianum* là nguồn có hoạt lực cao đồng thời đây cũng là nguồn nấm giống đối kháng được chọn để sản xuất tạo chế phẩm nấm.

8.2.3. Sản xuất chế phẩm nấm *Trichoderma harzianum*

Viện Bảo vệ thực vật đã dùng nguyên liệu thóc để sản xuất chế phẩm. Sau khi khử trùng nguyên liệu, để nguội rồi cấy nấm giống vào và giữ trong điều kiện nhiệt độ phòng từ 25 - 28°C khoảng 7 - 10 ngày, sau đó cho ra và thu sinh khối nấm.

Năm 2002, tiếp thu quy trình công nghệ của CuBa, bộ môn Bệnh cây đã dùng trấu và cám để làm nguyên liệu sản xuất nấm, kết quả thu được ở bảng 8.5.

Bảng 8.5. Khả năng hình thành sinh khối nấm *Trichoderma* trên các loại môi trường

STT	Nguyên liệu	Ngày thu sản phẩm	Số bào tử/gram
1	Trấu + Cám	14	$4,9 \times 10^8$
2	Thóc	10	$3,2 \times 10^9$

Số liệu trên cho thấy cả hai loại nguyên liệu môi trường, nấm *Trichoderma* đều sinh trưởng và phát triển tốt. So sánh giữa hai loại môi trường thì môi trường trấu + cám (công nghệ của Cuba) vừa phát triển chậm vừa hình thành số bào tử thấp hơn môi trường thóc (công nghệ của Viện BVTV), cụ thể ở môi trường trấu + cám chỉ đạt $4,9 \times 10^8$ bào tử/gram còn môi trường thóc đạt $3,2 \times 10^9$ bào tử/gram chế phẩm. Vì vậy cho đến nay Viện Bảo vệ thực vật vẫn sử dụng môi trường là thóc để sản xuất nấm *Trichoderma*.

Trên cơ sở có chế phẩm Viện Bảo vệ thực vật đã phối hợp với các địa phương để ứng dụng phòng trừ một số bệnh hại cây trồng (bảng 8.6).

Bảng 8.6. Đối tượng bệnh hại cây trồng đã ứng dụng chế phẩm nấm *Trichoderma harzianum*

STT	Địa điểm	Thời vụ	Cây trồng	Trừ bệnh hại
1	Chi cục Bảo vệ thực vật Nam Định	Xuân Đông	Lạc Khoai tây	Héo vàng Lở cổ rễ
2	Chi cục Bảo vệ thực vật Hải Phòng	Xuân Hè thu Đông	Khoai tây Cà chua Bắp cải	Lở cổ rễ Héo vàng Lở cổ rễ
3	Chi cục Bảo vệ thực vật Lâm Đồng	Xuân	Bắp cải Các loại đậu	Lở cổ rễ Thối hạch
4	Chi cục Bảo vệ thực vật Hà Tây	Đông	Đậu Bắp cải	Lở cổ rễ

Kết quả cho thấy nấm đối kháng *Trichoderma harzianum* đã được nhiều địa phương sử dụng để phòng trừ bệnh héo vàng, bệnh lở cổ rễ và bệnh thối hạch do nấm *Fusarium*, *Rhizoctonia* và nấm hạch gây ra trên các cây trồng cạn.

Từ những kết quả đạt được bộ môn Bệnh cây Viện Bảo vệ thực vật đã đưa ra quy trình sản xuất nấm *Trichoderma* theo 4 bước như sau:

Bước 1: Tuyển chọn nguồn nấm giống *Trichoderma harzianum*.

Bước 2: Dùng thóc làm nguyên liệu để sản xuất chế phẩm nấm trong điều kiện 25-30°C với ánh sáng bình thường trong khoảng 7 - 10 ngày.

Bước 3: Thu chế phẩm và làm khô ở 40- 45°C.

Bước 4: Đóng gói và bảo quản chế phẩm ở nơi thoáng mát để sử dụng.

Triển khai mô hình ứng dụng chế phẩm *Trichoderma harzianum* để phòng trừ bệnh hại cây trồng. Năm 2002 Viện Bảo vệ thực vật đã tiến hành thí nghiệm ứng dụng chế phẩm nấm *Trichoderma harzianum* để trừ bệnh lở cổ rễ trên diện tích 1 ha bắp cải tại HTX Song Phương, huyện Hoài Đức, tỉnh Hà Tây, kết quả ở bảng 8.7.

Bảng 8.7. Hiệu quả của nấm *Trichoderma harzianum* đối với bệnh lở cổ rễ bắp cải tại HTX Song Phương, Hoài Đức, Hà Tây

Ruộng	Thời vụ trồng	Tỷ lệ (%) bệnh xử lý	Tỷ lệ (%) bệnh /xử lý	Hiệu quả (%)
1	15/9	2,08	4,15	49,9
2	17/9	0,60	1,39	56,8
3	11/10	3,00	10,00	70,0
4	11/10	2,19	7,14	69,3
5	15/10	1,90	6,13	69,0

Vụ đông xuân năm 2002 tại HTX Song Phương, do thời tiết thích hợp nên bắp cải đã bị bệnh lở cổ rễ rất nhiều, Viện Bảo vệ thực vật đã giúp nông dân xử lý nấm *Trichoderma harzianum* để trừ bệnh. Kết quả cho thấy nấm đã hạn chế được bệnh lở cổ rễ, thời vụ trồng ngày 11/10-15/10 cho hiệu quả cao từ 69-70% và tỷ lệ bệnh không cần xử lý đạt 6,13- 10%.

Đây là kết quả của việc triển khai mô hình ứng dụng chế phẩm nấm *Trichoderma harzianum* để trừ bệnh lở cổ rễ hại bắp cải ở Hà Tây đạt hiệu quả tốt (Nguồn Trần Thị Thuần, 2002).

Như vậy việc nghiên cứu công nghệ để sản xuất thuốc nấm *Trichoderma* là hoàn toàn cần thiết, nhằm đáp ứng việc phòng trừ bệnh cây hồ tiêu, bệnh lở cổ rễ lạc, đậu, rau... Các cây đó thường tập trung nhiều ở các tỉnh phía Nam. Trong tương lai, hy vọng nhà nước đầu tư để công nghệ sản xuất thuốc nấm *Trichoderma* sẽ được phát triển, góp phần quan trọng vào việc tạo ra những nông sản an toàn.

8.3. Nghiên cứu ứng dụng kỹ thuật ELISA và PCR trong chẩn đoán nhanh một số bệnh virus hại cây trồng

Hiện nay Bộ môn Bệnh cây, Viện Bảo vệ thực vật đã và đang thực hiện một số kỹ thuật hiện đại ADN, ADS - ELISA và PCR để chẩn đoán nhanh các bệnh nguy hiểm trên cây trồng như bệnh Tungro, lúa cỏ hại lúa, Tristeza, bệnh greening hại cam quýt nhằm mục đích phát hiện sớm một số bệnh hại cây trồng để đề xuất biện pháp phòng trừ.

Với mẫu lá lúa được thu thập vào giai đoạn đẻ nhánh tại Diên Khánh, Khánh Hòa và Thanh Bình, Đồng Tháp với phương pháp thu một mẫu là một dảnh và chẩn đoán bệnh Tungro bằng kỹ thuật DAS - ELISA.

Với mẫu lá cam quýt thì thu thập mẫu tươi trên các giống gốc tại Viện Bảo vệ thực vật, Nghệ An, Hà Giang, Ninh Bình và Lạng Sơn... Chẩn đoán bệnh Tristeza bằng DAS - ELISA và bệnh Greening bằng phương pháp PCR.

Với rầy chổng cánh, một con một mẫu thử bằng PCR để tìm ra tỷ lệ rầy mang nguồn bệnh Greening ở mỗi lần thu mẫu.

8.3.1. Chẩn đoán bệnh Tristeza trên cam quýt

Bước 1: Chuẩn bị đĩa phản ứng kháng thể 3E10 được pha loãng trong Coating buffer tỷ lệ 1:200, phủ vào mỗi lỗ giếng 100 μ l. Để ấm 37°C trong 2 giờ hoặc 4°C qua đêm cộng với 1 giờ để ở 37°C.

Bước 2: Chuẩn bị dịch chiết (0,5 g gân lá nghiền với 3 ml dịch chiết CTV bằng cối sứ, sau đó gạn lấy 1,5 ml dịch nghiền cho vào ống tít 1,7 ử trong đá nghiền).

Bước 3: Rửa đĩa sử dụng PBS - t rửa đĩa 3 lần, mỗi lần ngâm 3 phút.

Bước 4: Cho kháng thể ly tâm các tít dịch nghiền 3000 vòng/phút trong 5 phút. Sau đó cho vào mỗi lỗ giếng của đĩa phản ứng 100 μ l dịch trong phía trên, ủ ấm 37°C trong 2 giờ.

Bước 5: Lặp lại như bước 3.

Bước 6: Cho chất cộng hợp (3E10^E pha trong PBS - t với tỷ lệ 1:400), cho vào mỗi lỗ giếng 100 μ l, ủ ấm trong 2 giờ ở 37°C.

Bước 7: Lặp lại như bước 3.

Bước 8: Pha viên phản ứng với tỷ lệ 1 mg/ml. Nhỏ vào mỗi lỗ giếng 100 μ l, đặt trong tủ ấm 37°C và đọc trên máy đọc ở tần số 405 nm tại các thời điểm 30, 45, 60 và 90 phút sau khi nhỏ dịch phản ứng.

Căn cứ vào trị số và màu vàng đặc trưng của bệnh và cây khỏe để lấy kết quả.

8.3.2. Chẩn đoán bệnh Tungro trên lúa

Các bước tiến hành giống như chẩn đoán bệnh Tristeza trên cam quýt, chỉ khác là cá thể dòng lai đơn tính và chất cộng hợp. Do tính đặc hiệu của từng loại kháng thể khác nhau nên độ pha loãng kháng thể virus Tungro và chất cộng hợp là khác nhau. Thời gian ủ ấm 37°C là 4 giờ.

8.3.3. Chẩn đoán bệnh Greening trên lá cam quýt

Bước 1: Tách chiết và tinh sạch ADN.

- 0,5 g gân lá cộng với 3 ml dịch chiết Greening + 500 μ l Sakosyl (nghiền bằng cối sứ để lấy 1,5 ml dịch đưa vào tít 1,7, sau đó để ấm 2 giờ ở 55°C).

- Ly tâm 6000 vòng/phút trong 5 phút, lấy 0,8ml dịch phía trên vào 1 tít khác, rồi thêm 100 μ l 5M NaCl và 100 μ l CTAB/NaCl, để ấm 65°C trong 10 phút.

- Thêm 600 μ l Chloroform 24:1, lắc thật mạnh. Ly tâm 11000 vòng/phút trong 5 phút.

- Chuyển 800 μ l dịch phía trên sang tít khác rồi thêm 800 μ l phenol 25:24:1 (tỷ lệ 1:1), lắc thật mạnh đem ly tâm 11000 vòng/phút trong 5 phút.

- Chuyển 600 μ l dịch phía trên sang tít khác rồi thêm 360 μ l (6:10) isopropanol, lắc nhẹ cho đều, để trong tủ lạnh ở âm 20°C ít nhất 2 giờ đến qua đêm.

– Ly tâm 11000 vòng/phút trong 15 phút bằng máy ly tâm lạnh, đổ phần dịch trong giữ lại viên ADN, rửa lại 1, 2 lần bằng cồn 70°C, để khô nhẹ ở nhiệt độ phòng hoặc thiết bị làm khô. Hoà tan ADN bằng 50 - 100 μ l TE (tùy vào sự tách chiết và tinh sạch ADN).

Bước 2: Chạy PCR

– Pha dung dịch đệm PCR mỗi mẫu gồm nước cất 2 lần khử trùng: 15 μ l, PCR, buffer : 2,5 μ l, dNTPs: 2,0 μ l, $MgCl_2$:2,0 μ l, Tag enzym : 0,25 μ l, Primer : 1,0 μ l.

– Cho 20 μ l dịch đệm PCR đã chuẩn bị ở trên vào mỗi tít rồi thêm 1 μ l ADN đã tinh sạch ở bước 1. Lập trình máy để chạy.

Bước 3: Chạy điện di

Nồng độ Agar để làm gel là 1,4%, dung dịch đệm chạy điện di là 0,5 x TBE hoặc 0,5 x TAE. Load toàn bộ sản phẩm PCR + 4 μ l Loading dye, 1 μ l Marker, dùng mẫu bệnh và mẫu khỏe để chạy máy trong 45 phút.

Bước 4: Đọc kết quả, ngâm miếng gel trong dung dịch Ethidium bromide đã pha loãng (15 μ l/100ml) trong 3 phút, rửa sạch rồi soi trên đèn cực tím để xác định và chụp ảnh.

8.3.4. Chẩn đoán bệnh greening trên mẫu rầy chống cánh

Bước 1: Tách chiết và tinh sạch ADN

Cho mỗi tít 1,7 một rầy chống cánh, dùng chày nhỏ nghiền nát rầy với 70 μ l dịch chiết greening bằng máy nghiền đồng thể, sau đó thêm 200 μ l dịch chiết greening + 30 μ l 10% Sakosyl. Để ấm 55°C trong 1 giờ.

Thêm 200 μ l phenol 25:24:1, lắc thật mạnh rồi ly tâm 11000 vòng/phút trong 10 phút, chuyển 200 μ l dịch trong phía trên sang tít khác, thêm 500 μ l cồn tuyệt đối, lắc nhẹ cho đều rồi để lạnh ở âm 20°C trong 2 giờ đến qua đêm rồi làm bước 2, 3, 4 giống như với mẫu lá.

8.3.5. Đánh giá kết quả

DAS ELISA: Tính ngưỡng so sánh $H = 1/4 (H_1 + H_2 + H_3 + H_4)$ dựa vào kết quả đọc trên máy trị giá OD (optical density).

- Nếu $OD_{mẫu} < H$: Mẫu khỏe.
- Nếu $H < OD_{mẫu} < OD_{Đôi\ chứng\ bệnh}$: Mẫu nhiễm nhẹ.
- Nếu $OD_{Mẫu} > OD_{Đôi\ chứng\ bệnh}$: Mẫu nhiễm nặng.

PCR: Căn cứ vào sự xuất hiện các vạch ADN sáng trắng trên miếng thạch aga sau khi chạy điện di và soi trên đèn cực tím, cũng như vị trí của các vạch ADN của mẫu thử so với mẫu đối chứng bệnh và Marker (so ở vị trí 228 base pairs) để xác định mẫu nhiễm hay không nhiễm, có thể xem độ đậm nhạt của vạch ADN để xác định mức độ nặng nhẹ của mẫu bệnh từ đó đề xuất biện pháp phòng trừ bệnh sớm và kịp thời.

(Nguồn: Nguyễn Văn Tuất và cs)

Chương 9

TỔNG HỢP NHỮNG KẾT QUẢ ỨNG DỤNG CÔNG NGHỆ SINH HỌC TRONG BẢO VỆ THỰC VẬT Ở NƯỚC TA THỜI GIAN QUA VÀ TRIỂN VỌNG THỜI GIAN TỚI

9.1. Tổng hợp những kết quả nghiên cứu và ứng dụng công nghệ sinh học trong bảo vệ thực vật thời gian qua

Tiếp thu những thành quả nghiên cứu và phát triển công nghệ sinh học trên thế giới về sản xuất các thiên địch có ích, hơn 20 năm qua ở nước ta đã có rất nhiều Viện nghiên cứu, các Trường đại học thuộc nhiều Bộ, Ngành đã tiến hành một số đề tài khoa học cơ bản và triển khai ứng dụng như đã nêu ở các chương trên, chúng tôi xin điểm lại một số công nghệ có triển vọng trong thời gian qua:

- Tạo công nghệ sản xuất hàng loạt ong mắt đỏ *Trichogramma* trừ một số trứng sâu hại trên cơ sở ký sinh ký chủ ngài gạo *Corcyra cephalonica*. Nghiên cứu bước đầu về công nghệ sản xuất ong vàng *Habrobracon* để phòng trừ sâu xanh và sâu đục thân ngô. Nghiên cứu về bọ mắt vàng *Chrysopa*. Nghiên cứu về ong đen ký sinh kén đơn trắng *Cotesia plutellae*.

- Có quy trình công nghệ sản xuất thuốc trừ sâu vi sinh trên cơ sở vi khuẩn *Bacillus thuringiensis* trong điều kiện Việt Nam để ứng dụng trong phòng trừ sâu hại rau, đậu, thông...

- Có quy trình công nghệ sản xuất thuốc virus sâu xanh trừ sâu xanh bông (NPV.Ha), virus sâu khoang (NPV.Sl) trừ sâu khoang hại rau, virus sâu đo xanh trừ sâu đo xanh hại đay... (NPV.Af) trên cơ sở sản xuất hàng loạt côn trùng trên môi trường thức ăn nhân tạo từ nguyên liệu rẻ tiền của Việt Nam.

– Có quy trình công nghệ sản xuất thuốc nấm *Boverit* trừ sâu róm thông, sâu hại rau, sâu kèn hại keo tai tượng, sâu xanh ăn lá bồ đề, rầy nâu hại lúa, sâu đo hại đay... Nấm *Mat* trừ châu chấu hại ngô, mía, luống, bọ hại dừa, sâu đo xanh hại đay, rầy nâu hại lúa, sâu xanh ăn lá bồ đề, sâu tơ, sâu khoang, sâu xanh hại rau, đậu, mối đất hại cây trồng và nhiều sâu hại khác...

Đã tuyển chọn sưu tập được hai bộ chủng nấm *Beauveria* và *Metarhizium* có hoạt tính cao.

Nghiên cứu xác định được các loại môi trường nhân giống, sản xuất và những điều kiện thích hợp cho quy trình công nghệ sản xuất thuốc nấm trừ sâu.

Nghiên cứu các phương pháp bảo quản 2 bộ giống nấm *Beauveria* và *Metarhizium* trong điều kiện Việt Nam.

Nghiên cứu khả năng hình thành enzym ngoại bào của chủng nấm *M. anisopliae*.

– Có quy trình công nghệ sản xuất thuốc nấm *Trichoderma* trừ bệnh khô vằn ngô, lúa và bệnh héo lác.

– Có quy trình công nghệ sản xuất tuyến trùng ký sinh gây bệnh côn trùng EPN để trừ sâu hại đất và cây trồng.

– Thử nghiệm một số hợp chất pheromon, chất gây vô sinh và chất dẫn dụ ăn uống, bước đầu Viện Bảo vệ thực vật có quy trình sản xuất pheromon diệt trừ sâu hại rau.

– Công nghệ tạo những bộ kit chẩn đoán nhanh bệnh hại cây trồng như ELISA, PCR...

Tất cả các thuốc sinh học trừ sâu bệnh (biopesticide) tạo ra đều được triển khai ứng dụng và thử nghiệm trên thực tế đồng ruộng ở nhiều vùng cây trồng nông lâm nghiệp nước ta. Điều đó khẳng định vai trò của CNSH trong việc sản xuất tạo các thuốc sinh học trên đã góp phần thúc đẩy nhanh các phương pháp sinh học để bảo vệ cây trồng có hiệu quả cao và có ý nghĩa quan trọng đảm bảo sự trong sạch của môi trường và tạo ra nông sản phẩm an toàn, bền vững.

Tuy nhiên tất cả những nghiên cứu về công nghệ sinh học đạt được như trên cũng mới chỉ là bước đầu chủ yếu là công nghệ vi sinh, công nghệ nhân nuôi đơn giản. Công nghệ sinh học trong bảo vệ thực

vật ở nước ta vẫn còn non trẻ, các nhà khoa học nước ta vẫn đang từng bước khai phá nghiên cứu, ứng dụng để đuổi kịp với các nước tiên tiến trên thế giới. Muốn làm được như vậy đòi hỏi nhà nước phải đầu tư thêm nhiều vào lĩnh vực công nghệ gen GMO, công nghệ nhân tế bào. Những công nghệ cao này cho đến nay, nước ta cũng vẫn chưa được nghiên cứu; ngay cả công nghệ chuyển các gen Bt, gen kháng virus... vào cây ngô, cây bông trong sản xuất nhỏ và đại trà để hạn chế sự phát sinh của sâu, bệnh hại gây ra cũng như công nghệ nhân tế bào virus để sản xuất thuốc virus... cũng gần như vậy.

Dù sao những kết quả đạt được như trên cũng rất đáng khích lệ, bởi chúng là tiền đề của công nghệ sinh học trong BVTV hiện nay. Mặc dù còn khá nhiều tranh luận về khái niệm CNSH trong BVTV nhưng chúng tôi vẫn hy vọng nhà trọng tài quyết định đến việc thực hiện CNSH trong BVTV chính là Nhà nước và các tổ chức phi Chính phủ sẽ quan tâm thực sự đến nền nông và công nghiệp sạch ở Việt Nam. CNSH trong BVTV thời gian tới theo chúng tôi chắc chắn sẽ có bước đột phá quan trọng.

9.2. Triển vọng của công nghệ sinh học trong bảo vệ thực vật thời gian tới

9.2.1. Những bất cập trong công tác phòng trừ sâu bệnh

– Với hơn 80% dân số làm nông nghiệp trong điều kiện nhiệt đới gió mùa, sâu bệnh hại thường phát sinh quanh năm nhưng dịch vi sinh vật gây hại côn trùng xuất hiện không đáng kể, nói chung quá thấp trung bình dưới 1%, kể cả trong những tháng có điều kiện thời tiết thích hợp, đây là nguyên nhân gây trạng thái mất cân bằng sinh học trong tự nhiên.

– Hiện tượng sử dụng thuốc hóa học ở nước ta còn tùy tiện và quá lạm dụng do điều kiện dân trí thấp chỉ ham lợi trước mắt mà không nghĩ tới lợi ích lâu dài. Thuốc hóa học đã để lại dư lượng xấu là ô nhiễm môi trường, gây ảnh hưởng lớn tới người sử dụng, tới gia súc và vật nuôi...

– Việc đầu tư của nhà nước về lĩnh vực CNSH vẫn còn thấp, cả trang thiết bị, kinh phí cho nghiên cứu cũng như kinh phí đào

tạo, nếu có được đầu tư thì trong thực tế ở mỗi cấp mỗi nơi vẫn còn dãn trải, luôn xảy ra những điều bất cập là người hiểu biết được đào tạo muốn làm thì không được làm, người được làm thì không có kiến thức, nhiều nơi vẫn còn hiện tượng “cai” khoa học, nên thực tế vẫn chưa đáp ứng được cho nhu cầu sản xuất nông nghiệp dù chỉ một phần nhỏ (?).

- Do phân tán nên sản xuất thuốc sinh học nói chung còn thủ công, vì vậy giá thành của thuốc cao hơn nhiều so với thuốc hóa học, mặt khác do còn thiếu phương tiện nên thuốc trừ sâu sinh học sản xuất ra vẫn còn ở dạng thô, khó sử dụng, nông dân khó tiếp thu.

- Do nền kinh tế nước ta còn thấp, cộng với trình độ dân trí của người dân còn hạn chế và bị ảnh hưởng của hệ tư tưởng phong kiến từ xa xưa, không nghĩ tới lợi ích lâu dài nên chưa sử dụng một cách tự giác thuốc trừ sâu sinh học, chỉ nơi nào được bao cấp mới tự nguyện sử dụng...

- Do chưa có chế tài thưởng phạt về việc quản lý, phân phối và sử dụng thuốc trừ sâu hoá học, nên khó áp dụng CNSH vào BVTV.

- Công nghệ chuyển gen được thực hiện theo cơ chế chuyển gen tự nhiên nhờ các vi khuẩn, virus và vi nấm... vào cây trồng, đến nay ở nước ta vẫn chưa được thực hiện.

- Kỹ thuật PCR là công cụ của sinh học phân tử, lợi ích của nó là chẩn đoán bệnh nhanh, phát hiện ra các tác nhân gây bệnh sớm, chẩn đoán đột biến gen trong cây trồng, đến nay cũng vẫn chưa được thực hiện phổ biến.

9.2.2. Những khó khăn trong việc triển khai ứng dụng thuốc trừ sâu sinh học

- Tất cả các nghiên cứu sản xuất và ứng dụng ở nước ta trong những năm qua còn trên diện hẹp và phân tán nhỏ lẻ ở nhiều địa bàn khác nhau, về quy trình công nghệ còn có nhiều mặt quan trọng chưa được đề cập do thiếu thiết bị, thiếu kinh phí, thậm chí không đủ trình độ nên chất lượng sản phẩm chưa ổn định, còn phải

nghiên cứu thêm trong thời gian tới nếu được đầu tư để có thể đáp ứng được nhu cầu đòi hỏi của sản xuất.

– Về hiệu quả kinh tế tuy đã được nghiên cứu trong khoảng thời gian dài trên 10 năm nhưng vẫn chưa được tính toán một cách đầy đủ với một số tác nhân sinh học kể cả một số đề tài đã được Hội đồng khoa học cấp nhà nước công nhận là tiến bộ kỹ thuật. Thực tế cho đến nay vẫn chưa một nơi nào tạo ra được mô hình sản xuất và sử dụng tương đối ổn định trên quy mô có ý nghĩa trong sản xuất để làm tiền đề cho việc mở rộng sản xuất và sử dụng CNSH trong BVTV trên diện tích lớn hàng vạn ha, điều đó đã gây ra khá nhiều khó khăn trong việc tổ chức nghiên cứu công nghệ sản xuất và triển khai sử dụng thuốc sinh học ở nước ta trong thời gian qua; ngoại trừ những yếu tố xã hội tế nhị...

9.2.3. Thuận lợi

– Nước ta đã hòa nhập với cộng đồng quốc tế và khu vực, do đó nhu cầu về nông sản thực phẩm an toàn cho con người ngày càng được mọi người quan tâm, mặt khác nền sản xuất nông nghiệp ở nước ta đang trên đà phát triển theo hướng canh tác hữu cơ. Trong bảo vệ thực vật lấy quản lý dịch hại tổng hợp IPM làm trọng tâm, chú trọng đến các biện pháp sinh học vì vậy công nghệ sinh học đang trở thành một vấn đề quan trọng được Đảng và Nhà nước đầu tư, đã tạo điều kiện cho các nhà khoa học phát huy khả năng, tay nghề, làm động lực giúp cho người nông dân nâng cao sự hiểu biết về các biện pháp phòng trừ sinh học nói chung trên quy mô cả nước.

– Nước ta có chiến lược quản lý dịch hại tổng hợp IPM toàn quốc từ năm 1992, đến nay đã được nhiều địa phương ứng dụng và người nông dân từng bước đã nhận thức được tác hại của thuốc trừ sâu hóa học cũng như ý nghĩa và vai trò của thuốc sinh học nói chung trong vấn đề an toàn lương thực, thực phẩm mục tiêu phục vụ cho con người.

– Đến nay nước ta đã có một đội ngũ cán bộ khoa học về công nghệ được đào tạo ở nhiều nước có nền công nghệ tiên tiến, với

những kiến thức và thiết kế trang thiết bị cần thiết để phục vụ cho nghiên cứu và sản xuất các loại thuốc trừ sâu sinh học, mặt khác nước ta lại có có một tiềm năng lao động dồi dào có thể tiếp thu công nghệ cao.

– Tuy sản xuất thủ công và nhỏ lẻ các loại thuốc trừ sâu sinh học ở một số Viện nghiên cứu, song nhìn chung những nghiên cứu, thử nghiệm trên diện hẹp hoặc một số thuốc sinh học được ứng dụng trên diện rộng hàng trăm ha trên 1 vụ trong 1 năm cũng đã thu được những kết quả đáng khích lệ và trong thực tế đã xác nhận rằng, việc sản xuất các chế phẩm sinh học để sử dụng trên diện tích nhỏ đối với một số loài sâu, bệnh hại cụ thể đều được nhiều địa phương ứng dụng đánh giá tốt. Đây là cơ sở và tiền đề khẳng định nếu được đầu tư đúng người, đúng việc, trong tương lai chắc chắn CNSH trong BVTV ở nước ta sẽ có những bước chuyển mạnh. Học theo kinh nghiệm của nhiều nước phát triển trên thế giới thì công nghệ sản xuất các loại thuốc sinh học ở nước ta cũng phải được xây dựng trên cơ sở:

+ Sự quan tâm chú ý của toàn xã hội về vấn đề an toàn chất lượng của lương thực, thực phẩm.

+ Sự phát triển tính kháng của các loại sâu hại cây trồng đối với thuốc hóa học ngày càng gia tăng.

+ Sự cần thiết phải bảo vệ môi trường sống chung cho toàn xã hội.

– Khả năng đầu tư về thiết bị cho công nghệ sinh học để nâng cao chất lượng của các loại thuốc trừ sâu sinh học đã được nhà nước quan tâm và hướng nghiên cứu sản xuất các loại thuốc mới mang tính tổng hợp để tập trung đi sâu vào những công nghệ chuyển gen Bt, công nghệ nhân tế bào virus, công nghệ chuyển gen kháng thuốc trừ cỏ, công nghệ chọn tạo giống cây trồng thông qua công nghệ biến đổi gen GMO. Vấn đề này không chỉ là cơ hội tiếp cận với thế giới mà còn là sự thách thức đòi hỏi cho các nhà khoa học CNSH ở nước ta nhanh chóng nghiên cứu để thực hiện trong tương lai gần nhất dựa trên cơ sở được nhà nước đầu tư, được các tổ chức phi chính phủ hỗ trợ kinh phí cho nghiên cứu và đào tạo.

– Thực tế trên đồng ruộng Việt Nam trong giai đoạn hiện nay đã xuất hiện hàng loạt các loại sinh vật có ích, chúng phát triển đa

dạng và rất phong phú nhất là các chủng vi sinh vật ký sinh trên côn trùng. So với các loại thiên địch ký sinh ăn thịt và bắt mồi thì vi sinh vật gây bệnh côn trùng, tuy rằng người nông dân biết muộn hơn song chúng tôi vẫn cứ hy vọng bằng công nghệ sinh học, trong tương lai chắc chắn các loại thuốc trừ sâu sinh học sẽ được người dân chấp nhận như là loại vũ khí sinh học để phòng trừ dịch hại. Điều đó sẽ góp một phần không nhỏ để tạo ra những nông sản thực phẩm sạch và an toàn thật sự cho con người, riêng thuốc trừ sâu vi sinh vật chính là một hướng đi đúng của công nghệ sinh học trong BVTV ở nước ta. Trong thời gian tới nếu thực sự được Nhà nước đầu tư mạnh, tập trung vào việc điều tra thành phần sinh vật có ích, đặc biệt chú trọng về thành phần vi sinh vật có ích trên côn trùng hại, cũng như đầu tư cho một số công nghệ cao, chắc chắn CNSH trong BVTV ở Việt Nam sẽ có những bước đột phá cơ bản và khái niệm về CNSH trong BVTV ở nước ta mới được hiểu đúng nghĩa, nhằm từng bước đẩy nhanh CNSH trong BVTV ở nước ta tiến kịp với thế giới.

Hiện nay nền công nghệ sinh học trong BVTV ở nước ta đang trong bối cảnh còn non trẻ bởi những kỹ thuật cao như chuyển gen, kỹ thuật PCR..., nhiều Viện nghiên cứu vẫn chưa được tiếp cận cho nên việc nghiên cứu CNSH trong BVTV lúc nào chẳng nữa cũng vẫn đòi hỏi các nhà khoa học trẻ cần phải tiếp thu, học hỏi để có kiến thức thực tiễn, có trách nhiệm cao, có tính kỷ luật hay nói khác đi làm công nghệ sinh học phải có tâm với nghề, phải say mê mới mong nhận được những kết quả mong đợi.

Trên đây là những thuận lợi cơ bản để phát triển công nghệ sinh học trong BVTV ở nước ta. So với khó khăn và những bất cập thì thuận lợi vẫn là cơ bản. Chúng ta tin tưởng rằng trong thời gian tới triển vọng về công nghệ sinh học trong BVTV ở Việt Nam sẽ ngày càng được phát triển, nó sẽ đáp ứng đủ yêu cầu cho các biện pháp phòng trừ sinh học phát huy tác dụng để việc phòng trừ dịch hại cây trồng đạt kết quả cao trong phạm vi cả nước.

Chúng tôi hoàn toàn hy vọng trong một ngày không xa, CNSH trong BVTV ở nước ta sẽ đạt được những thành tựu đáng kể, góp phần nâng cao và chuyển biến được nhận thức của tất cả mọi người trong toàn xã hội về vấn đề an toàn lương thực

thực phẩm, đồng thời góp phần bình ổn được môi trường sinh thái nói chung, đảm bảo trạng thái cân bằng đồng ruộng nói riêng để nhanh chóng đưa nước ta thoát khỏi đói nghèo, tránh được sự tụt hậu làm sao tiến kịp với cộng đồng quốc tế, trước mắt là sánh vai và ngang bằng với các nước trong khu vực Đông Nam Á và nước láng giềng Trung Quốc.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Đoàn Thị Bích, Nguyễn Thị Phương Thảo (2003), *Nghiên cứu công nghệ sản xuất ong vàng Habrobracon sp và khả năng phòng trị một số loại sâu hại cây trồng của chúng*. Báo cáo khoa học Hội nghị toàn quốc lần thứ hai, nghiên cứu cơ bản trong sinh học, nông nghiệp, y học, Huế 25-26/7, tr. 324- 326.
2. Trần Xuân Bí, Nguyễn Ngọc Tiến, Phạm Thị Thùy (1983), *Vai trò của Chrysopa trong đấu tranh sinh học chống sâu hại*. Thông tin Bảo vệ thực vật số 1/1983 trang 15-16.
3. Nguyễn Văn Cẩm, Nguyễn Văn Hoa, Lương Thanh Cù (1993), *Một số kết quả nuôi sâu xanh hàng loạt trên môi trường thức ăn bán tổng hợp có cải tiến theo điều kiện ở Việt Nam*. Báo cáo khoa học tại hội nghị khoa học BVTV. 24-25/3, tr. 47-48.
4. Nguyễn Ngọc Châu (1998), *Công nghệ sản xuất sinh khối tuyến trùng*, Báo cáo tại Hội nghị quốc tế về tập huấn IPM trên rau tại Đà Lạt, tháng 9.
5. Vũ Thị Chỉ, Mai Phú Quý, Nguyễn Thị Lại (2003), *Một số đặc điểm hình thái và sinh học của Cotesia plutellae Kurdj. (Hymenoptera, Braconidae) ký sinh sâu tơ Plutella xylostella (L.) (Lepidoptera. Yponomeutidae)*. Báo cáo khoa học Hội nghị toàn quốc lần thứ hai, nghiên cứu cơ bản trong sinh học, nông nghiệp, y học, Huế 25-26/7, tr. 38-40.
6. 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 tiến sĩ sinh học, Viện Công nghệ sinh học.
7. Vũ Quang Côn (1990), *Lợi dụng các tác nhân sinh vật để hạn chế số lượng sâu hại, một trong những phương pháp quan trọng của phòng trừ tổng hợp*. Thông tin BVTV, 6, 19-21.
8. Đường Hồng Dật (1971). *Virus hại côn trùng trong hệ thống phân loại virus (trong những nghiên cứu về BVTV)*. Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật, tr. 106-115.

9. Nguyễn Lâm Dũng (1981), *Sử dụng vi sinh vật phòng trừ sâu hại cây trồng*, Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật.
10. Bùi Xuân Đồng (1982) *Vi nấm*, Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật.
11. Trương Thanh Giản (1985), *Kết quả nghiên cứu về công nghệ sản xuất ong mắt đỏ để phòng trừ trứng sâu đo xanh hại đay cách ở huyện Khoái Châu (Hưng Yên)*, Báo cáo chép tay.
12. Hồ Thị Thu Giang (2002), *Nghiên cứu thiên địch sâu hại rau họ hoa thập tự. Đặc điểm sinh học, sinh thái của hai loài ong Cotesia plutellae (Kurdjumov) và Diadromus collaris Gravenhorst ký sinh trên sâu tơ Plutella xylostella Line, ở ngoại thành Hà Nội*, Luận án tiến sĩ nông nghiệp, trường Đại học Nông nghiệp 1 Hà Nội.
13. Lại Phú Hoàng, Nguyễn Ngọc Châu (2003), *Nghiên cứu sự phát triển và sinh sản trên bướm sáp (Galleria mellonella) của một số chủng tuyến trùng ký sinh gây bệnh côn trùng*. Báo cáo khoa học Hội nghị toàn quốc lần thứ hai, nghiên cứu cơ bản trong sinh học, nông nghiệp, y học, Huế 25-26/7, tr. 463-466.
14. Phan Kế Long, Nguyễn Ngọc Châu, Mourice Moens (2003), *Sự phân bố của tuyến trùng ký sinh gây bệnh côn trùng (Rhabditida: Steinernema và Heterorhabditis) ở Việt Nam*. Báo cáo khoa học Hội nghị toàn quốc lần thứ hai, nghiên cứu cơ bản trong sinh học, nông nghiệp, y học, Huế 25-26/7, tr. 670- 673.
15. Hà Quang Hùng (2000), *Giáo trình Quản lý dịch hại tổng hợp*, Nhà xuất bản Nông nghiệp.
16. Trần Quang Hùng (1999), *Thuốc Bảo vệ thực vật*, Nhà xuất bản Nông nghiệp.
17. Phạm Văn Lâm (1996), *Biện pháp sinh học phòng chống dịch hại*, Nhà xuất bản Nông nghiệp.
18. Khuất Đăng Long (1993), *Đặc điểm hình thái sinh học và tập tính của ong đen Apanteles plutellae*. Tạp chí Bảo vệ thực vật. Số 2 tr. 14-18.
19. Hoàng Đức Nhuận(1979), *Đấu tranh sinh học và ứng dụng*, Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật.
20. Trần Đình Phả, Trương Thanh Giản, Monastursky, A.L. Huỳnh Thị Huệ và ctv (1993), *Một số kết quả nghiên cứu năm*

- 1990-1991 về nuôi nhân hàng loạt sâu xanh (*Heliothis armigera* Hubner) bằng thức ăn nhân tạo. Tạp chí BVTV, 5, 19-22.
21. Trần Đình Phả (1999), *Nghiên cứu môi trường thức ăn nhân tạo để nhân nuôi hàng loạt sâu xanh, sâu khoang, sâu keo da láng để tạo các sinh khối virus. Luận án tiến sĩ nông nghiệp*, Viện Khoa học và Kỹ thuật Nông nghiệp Việt Nam.
 22. Ngô Trung Sơn (1999), *Nghiên cứu sử dụng Ha NPV trong phòng trừ tổng hợp sâu xanh hại bông tại Ninh Thuận. Luận án tiến sĩ nông nghiệp*, Viện Khoa học và Kỹ thuật Nông nghiệp Việt Nam.
 23. Trần Quang Tấn, Trương Thanh Giản và ctv (1993), *Kết quả nghiên cứu tạo sinh khối NPV sâu xanh (Heliothis armigera Hubner), sâu khoang (Spodoptera litura Fabr) và sâu keo da láng (Spodoptera axigua Hubner) trong điều kiện phòng thí nghiệm. Báo cáo khoa học tại hội nghị khoa học BVTV 24-25/3, Hà Nội, 46-47.*
 24. Lê Lương Tế (1998), *Giáo trình trồng trọt, Tài liệu đánh máy in trường Cao đẳng Nông nghiệp Hà Nội.*
 25. Trần Thị Thuần (2002), *Nghiên cứu sản xuất nấm đối kháng Trichoderma để phòng trừ một số bệnh hại cây trồng, Báo cáo khoa học trong đề tài CNSH KC 04-12, Viện Bảo vệ thực vật.*
 26. Nguyễn Công Thuật (1996), *Phòng trừ tổng hợp sâu bệnh hại cây trồng, nghiên cứu và ứng dụng.* Nhà xuất bản Nông nghiệp, Hà Nội.
 27. Nguyễn Ngọc Tiến và ctv (1976), *Kết quả nghiên cứu ong mắt đỏ để phòng trừ trứng sâu hại đay, lúa. Kết quả nghiên cứu khoa học BVTV1970-1976, Nhà xuất bản Nông nghiệp trang 200-226.*
 28. Nguyễn Ngọc Tiến và ctv (1979), *Nghiên cứu OMD để phòng trừ trứng sâu hại cây trồng. Kết quả nghiên cứu khoa học BVTV1969-1979, Nhà xuất bản Nông nghiệp trang 160-168.*
 29. Phạm Thị Thùy (1979), *Phương pháp nuôi chuẩn chuẩn cỏ và tốc độ phát triển của chúng. Thông tin Bảo vệ thực vật số 1/1979.*

30. Phạm Thị Thùy (1983), *Bước đầu tìm hiểu về bọ mắt vàng ở Việt Nam. Thông tin Bảo vệ thực vật số 1/1983* trang 6-8.
31. Phạm Thị Thùy (1983), *Dùng ong mắt đỏ, một biện pháp sinh học bảo vệ cây trồng. Bài viết phát trong chương trình khoa học và đời sống Đài tiếng nói Việt Nam ngày 22/9/1983.*
32. Phạm Thị Thùy, Videnova E., Velichcova K. (1988), *Tác động tương hỗ giữa chế phẩm vi khuẩn Bacillus thuringiensis hỗn hợp với virus đa diện nhân NPV Mb và chất kích thích sinh trưởng Dimilin lên sâu hại bắp cải Mamestra brassicae L.* Báo cáo tiếng Nga tại *Hội nghị Quốc tế về thuốc vi sinh vật* ngày 24-26/10/1988 tại Plopdip- *Bungaria*.
33. Phạm Thị Thùy, Velichcova K., Videnova E. (1989), *Tác động tương hỗ giữa virus đa diện nhân Baculovirus phytometra với một số chất điều tiết sinh trưởng lên sâu hại củ cải đường Phytometra gamma.* Báo cáo tại *Hội nghị khoa học Quốc tế tiếng Nga về thuốc vi sinh vật tại Hungaria* 16-20/10/ 1989.
34. Phạm Thị Thùy và ctv (1993), *Một số kết quả nghiên cứu và sản xuất thử nghiệm nấm Beauveria và Metarhizium trên rầy nâu hại lúa và sâu đo xanh hại đay.* Tạp chí Nông nghiệp và Công nghiệp Thực phẩm số 5/1993, tr. 137-139.
35. Phạm Thị Thùy và ctv (1995), *Nghiên cứu sản xuất nấm Beauveria bassiana (Bb) và bước đầu sử dụng nấm Beauveria để phòng trừ sâu hại kho ở Việt Nam.* Tạp chí Nông nghiệp và Công nghiệp thực phẩm số 6/1995, trang 221-223.
36. Phạm Thị Thùy và ctv (1995), *Nghiên cứu công nghệ sản xuất nấm côn trùng Metarhizium flavoviride Gams để phòng trừ sâu hại cây trồng.* Báo cáo khoa học tại *Hội thảo quốc gia và khu vực về Vi sinh vật và CNSH* ngày 6-7/10/1995, trang 340-345.
37. Phạm Thị Thuỳ và ctv (1996), *Sản xuất sinh khối nấm Beauveria bassiana Vuill.* Tuyển tập công trình nghiên cứu biện pháp sinh học phòng trừ dịch hại cây trồng 1990-1995. Nhà xuất bản Nông nghiệp, trang 56-57.
38. Phạm Thị Thùy và ctv (1996), *Kết quả nghiên cứu thử nghiệm chế phẩm nấm Metarhizium anisopliae (Ma) và Metarhizium*

- flavoviride* (Mf) trừ châu chấu hại ngô, mía ở Bà Rịa - Vũng Tàu trong 2 mùa mưa 1994-1995. Tạp chí Nông nghiệp và Công nghiệp thực phẩm, số 10.
39. Phạm Thị Thùy, Đỗ Thị Giang, Ngô Thị Mai, Nguyễn Hoài Trâm (1997), *Nghiên cứu công nghệ sản xuất và ứng dụng chế phẩm Bacillus thuringiensis để phòng trừ một số sâu hại cây trồng*. Tạp chí bảo vệ thực vật số 4, trang 9-14.
 40. Phạm Thị Thùy (1998), *Thành phần vi sinh vật gây bệnh trên côn trùng hại cây trồng*. Tạp chí Nông nghiệp và Công nghiệp thực phẩm số 1, trang 40-42.
 41. Phạm Thị Thùy và ctv (1998), *Khảo nghiệm chế phẩm nấm Metarhizium flavoviride trừ châu chấu hại luống ở Lương Sơn, Hòa Bình năm 1997*. Tạp chí BVTV số 5, trang 23-26.
 42. Phạm Thị Thùy và ctv (1999), *Khảo nghiệm chế phẩm nấm Beauveria bassiana trừ sâu róm thông ở Lâm trường Phú Bắc Yên, Sơn La năm 1998*. Tạp chí Nông nghiệp và Công nghiệp thực phẩm số 3.
 43. Phạm Thị Thùy, Nguyễn Thị Vân (2000), *Thành phần vi sinh vật trên sâu tơ hại rau ở Đà Lạt năm 1998*. Tạp chí Nông nghiệp và Công nghiệp thực phẩm số 5, trang 223-225.
 44. Phạm Thị Thùy và ctv (2001), *Kết quả nghiên cứu cải tiến công nghệ sản xuất và ứng dụng chế phẩm Metarhizium anisopliae (Ma) để phòng trừ bọ hại dưa ở Bến Tre năm 2000*. Báo cáo tại Hội thảo Quốc tế sinh học, Hà Nội 2-5/7/2001, trang 449-458..
 45. Phạm Thị Thùy, Trần Quang Tấn (2002), *Một số kết quả nghiên cứu virus xanh bướm trắng (GVPr)*. Tạp chí bảo vệ thực vật số 1 trang 28-31.
 46. Phạm Thị Thùy (2002), *Kết quả sử dụng nấm bột Nomuraea rileyi để phòng trừ sâu hại rau*. Tạp chí bảo vệ thực vật số 2, trang 27- 29.
 47. Phạm Thị Thùy và ctv (2002), *Kết quả nghiên cứu về bọ hại dưa và khả năng sử dụng nấm Ma để phòng trừ bọ hại dưa ở các tỉnh phía Nam*. Báo cáo khoa học tại Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn ngày 9/9/2002.

48. Phạm Thị Thùy, Nguyễn Văn Tuất (2003), *Phân lập và tuyển chọn các chủng nấm Ma trên bọ hại dừa ở các tỉnh phía Nam*. Báo cáo khoa học tại Hội nghị công nghệ sinh học toàn quốc tại Khách Sạn La Thành, Hà Nội, tháng 12.
49. Võ Thanh Thứ (1996), *Nghiên cứu đặc điểm sinh học và khả năng ứng dụng của một số chủng thuộc chi Bacillus*. Luận án tiến sĩ, Viện Công nghệ Sinh học.
50. Nguyễn Văn Tuất và cs (2002), *Nghiên cứu ứng dụng kỹ thuật ELISA và PCR chẩn đoán nhanh một số bệnh virus hại cây trồng*. Kỷ yếu hội thảo quốc gia về Khoa học và công nghệ bảo vệ thực vật. Nhà xuất bản Nông nghiệp, trang 111- 122.
51. Hoàng Thị Việt (1996), *Nghiên cứu virus sâu xanh và khả năng sử dụng chúng trong phòng trừ sâu xanh (Helicoverpa armigera Hubner) hại thuốc lá*. Luận án Thạc sỹ Khoa học Nông nghiệp, Viện Khoa học kỹ thuật nông nghiệp Việt Nam.
52. Đỗ Năng Vịnh (2002), *Công nghệ sinh học cây trồng*. Nhà xuất bản nông nghiệp.
53. Aguda R. M. Saxena R. C. Litsinger and Roberts D. S. (1994), *Inhibitory effect of insecticides on entomogenous fungi Metarhizium anisopliae and Beauveria bassiana*. Rice Res. New 9(6).16-17.
54. Ali A., Baggs R. D & Stewart J. P (1981), *Susceptibility of some Florida chironomids and mosquitoes to various formulations of Bacillus thuringiensis serovar. israelensis*. J.Econ. Entomol 74, 672-677.
55. Attathom, chaeychomsri S, MahattanaA, Siri wattanagul C.(1990), *Technological development for the local production of nuclear polyhedrosis virus of Heliothis armigera*. Proceedings and abstract, Vth International colloquium on invertebrate pathology and microbial control, Department of Entomology, University of Adelaide, Australia, 20-24 August.
56. Barnett H. L. and Barry B. Hunter (1972), *Illustrated genera of imperfect fungi*. Bugress Publishing Company. Minneapolis Minnesota 250pp.

57. Bailey L. A. & Rath. A. C. (1994), *Production of Metarhizium anisopliae spores using nutrient impregnated membranes and its economic analysis*. Biocontrol Sci. Technol. 4, 297-307.
58. Bell M. R. (1990), *Use of baculovirus for control Heliothis armigera in area wide pestmanagement programs*. Proceedings and abstract, Vth International colloquium on invertebrate pathology and microbial control, Department of Entomology, University of Adelaide, Australia, Ref. 6, pp 486-490.
59. Bateman R. P., Carey M., Moore D. and Prior C. (1993), *The enhanced infectivity of Metarhizium flavoviride in oil formulations to desert locusts at low humidities*. Ann. Appl. Biol. 122, 145-152.
60. B.M. Shepard, A.T. Barrion và J.A. Lisinger (1989), *Các côn trùng, nhện và nguồn bệnh có ích*. Viện nghiên cứu lúa quốc tế IRRI (Cù Phan Huy Táo dịch, Giáo sư Hà Minh Trung hiệu đính).
61. C. B. Ahgpeeb (1977), *Công nghiệp sản xuất ong mắt đỏ*. Zas. rast, 6, 26-27.
62. Coppel H. C, Mertins W. J (1977), *Biological insect pest suppression*, New York.
63. Coupland, J. B (1993), *Factors affecting the efficacy of three commercial formulations of Bacillus thuringiensis var. israelensis against species of European black flies*. Biocontrol Sci. Tech. 3, 199-210.
64. Côn trùng học báo (1976), *Tình hình lợi dụng ong mắt đỏ ở Trung Quốc*. 8(3), 248, 249.
65. Dame, D, Savage. K. Meisch. M. & Oldacre. S. (1981), *Assessment of industrial formulations of Bacillus thuringiensis var. israelensis*. Mosq. News 41, 540-546.
66. Daoust. R. A. & Roberts, D. W (1983), *Studies on the prolonged storage of Metarhizium anisopliae conidia: Effect of temperature and relative humidity on conidial viability and virulence against mosquitoes*. J. Invertebr. Pathol. 41, 143-150.
67. Debach, P. (1964), *The scope of Biological control*. In: P. Debach (ed) *Biological control of Insect Pest and Weeds*. Chapman & Hall, Ltd: London. p.3-20.

68. Debach, P. (1974), *Biological control by Natural Enemies*. Cambridge University Press, New York, 323 pp.
69. Drlica K. (1996), *Understanding ADN and Gene Cloning*, John Wiley and Sons, New York, 329pp.
70. Drion G. Boucias and Jacquelyn C. Pendland (2001), *Principles of insect Pathology*, Kluwer academic publishers Boston/ Dordrech/ London.
71. Dulmage, H. T. McLaughlin, R. E, Lacey, L. A. Couch, T. L. Alls. R. T & Rose. R. I (1985) HD-968-S-1983, *A proposed U.S standard for bioassays of preparations of Bacillus thuringiensis subsp israelensis* - H-14. *Bull. Entomol. Soc. Am.* 31, 31-34.
72. Ellis, B. J. Obenchain, F. & Mehta, R. (1989), *In vitro method for producing infective bacterial spores and spore-containing insecticidal compositions*. US Patent, 4, 824,671
73. Fallcon L. A. (1978), *Safety aspects of baculoviruses as biological insecticides*. Edited by Miltenburger H. G. *Sym. Proc. Bonn*, pp 27-46
74. Feng. M. G. Poprawski. T. J & Khachatourians. G. G (1994) *Production, formulation and application of the entomopathogenic fungus Beauveria bassiana for insect control: Current status*. *Biocontrol Sci. Technol.* 4, 3-43.
75. Fransen. J. J (1995), *Survival of spores of the entomopathogenic fungus Aschersonia aleyrodis (Deuteromycotina: Coelomycetes) on leaf surfaces*. *J. Invertebr. Pathol.* 65, 73-75.
76. Goettel. M. S (1987), *Studies on bioassay of the entomopathogenic hyphomycete fungus Tolypocladium cylindrosporum in mosquitoes*. *J. Am. Mosq. Control Assoc.* 3, 561-567.
77. Groden. E & Lockwood. J. L (1991), *Effects of soil fungistasis on Beauveria bassiana and its relationship to disease incidence in the Colorado potato beetle, Leptinotarsa decemlineata, in Michigan and Rhode Island soil*. *J. Invertebr. Pathol.* 57, 7-16.
78. Griffiths A. J. F et al (1999), *Modern Genetic Analysis* W. H. Freeman and Company, New York, 657 pp.
79. Hartl D. L., Johns E. W. (2000), *Genetics Analysis of genes and genomes*. Johns and Bartlet Publisher, 858 pp.

80. Hywell. Jones. N. I. & Gillespie A. T. (1990), *Effect of temperature on spore germination in Metarhizium anisopliae and Beauveria bassiana*. *Mycol. Res.* 94, 389-392.
81. Ignoffo C. M. (1990), *Influence of physical factors (water, pH, temperature) on simulated sunlight- UV inactivation of occluded Hz. NPV*. Proceedings and abstract, *Vth International colloquium on invertebrate pathology and microbial control*, Department of
82. *Entomology*, University of Adelaide, Australia, 20-24 August.
83. Inglis. G. D. Johnson. D. L & Goettel. M. S (1996a), *Effect of bait substrate and formulation on infection of grasshopper nymphs by Beauveria bassiana*. *Biocontrol Sci. Technol.* 6, 35-50.
84. Jayarajs (1985), *Symptoms and pathologies of insect diseases in "Microboal control and pest management"*. Tamilnadu Agr. Univ. Coim. India, 30-33.
85. Jenkins. N. E & Goettel. M. S (1997), *Methods for mass production of microbial control agents of grasshoppers and locusts*. *Microbial Control of Grasshoppers and Locusts* (eds M. S. Goettel & D. L. Johnson) Memoirs Entomological society of Canada (in press).
86. Jenkins. N. E & Prior. C (1993), *Growth and formation of true conidia by Metarhizium flavoviride in a simple liquid medium*. *Mycol. Res.* 97, 1489-1494.
87. Johnson D.L. Pavlik E, Bradley (1988), *Activity of Beauveria bassiana sprayed onto wheat against grasshoppers*. Expert Committee on Pesticide use in *Agriculture Pesticide Research Report*, Ottawa, p140.
88. Kleespies. R. G & Zimmermann. G (1992) *Production of blastospores by three strains of Metarhizium anisopliae (Metch)*. Sorokin in submerged culture. *Biocontrol Sci. Technol.* 2, 127-135.
89. Klein M. G. & Jackson, T. A (1992), *Bacterial diseases of scarabs*. In *use of pathogens in scarab pest management* (eds T.A. Jackson & T.R. Glare), pp 43-61. Intercept Ltd, Andover.
90. Klein M. G. & Kaya, H. K (1995), *Bacillus and Serratia species for scarab control*. *Mem, Inst. Oswaldo Cruz*, 90, 87-95.
91. Krieg. N. R. & Holt. J. G (1984), *Bergey's manual of systematic bacteriology, vol. I*. Williams & Wilkins, Baltimore, 964 pp.

92. Kunimi YSUHISA (1993), *Curren status of microbial control of insect pest*, offprint from *Farming Japan* Vol. 27- 6.
93. Kunimi YSUHISA and Madoka NAKAI (2000), *Workshops for mocrobial control, Cantho University*.
94. Lawrence A. Lacey (2001), *Manual of Techniques in insect Pathology*. Yakuma Agricultura Research Laboratory USDA-ARS. 5230 Komowac Pass Road. Wapato, WA 98051, USA.
95. Lawrence A. Laccey and Harryk. Kaya (2001), *Field Manual of Techniques in Invertebrate Pathology*. US Deparment of Agricultur, Agricultural research wapato USA.
96. Lim Guan Soon ang Mohamed Rani Yusof (1992), *Cotesia plutellae: Importance, Biology and Mass Rearing*. Fundamental Reseach Division, MARDI, Serdang, Selangor, Malaysia. *Training Manual on Integrated Pest Management of Diamondkack Moth in Cabbage in Malaysia*.
97. Litsinger J. A (1979), *Sampling methods for field crop insect pests and the use of economic thresholds*. Cropping Systems Training Lecture, IRRI,9 Nov., 15pp.
98. Lomer C. J and Prior C. (1991). *Biological control of locusts and grasshoppers*. Proceedings of a Workshop held at the Inter. Inst of Trop. Agriculture.
99. Lui. Z. Y. Milner. R. J. McRae. C. F & Lutton. G. G (1993), *The use of dodine in selective media for isolation of Metarhizium spp, from soil*. *J. Invertebr. Pathol.* 62, 248-251.
100. Madoka NAKAI (1999 - 2000), *A lecture for microbial control for CanTho University*, Faculty of Agriculture, Tokyo University of Agriculture and Technology.
101. Magan. N & Lacey. J (1984), *Effect of temperature and pH on water relations of field and storage fungi*. *Trans. Br. Mycaol. Soc.* 82, 71-81.
102. Manolche C. và Nguyễn Ngọc Tiến (1973), *Số sánh hình thái 2 loại ong mắt đỏ: Tr. evanescens west và Tr. chilonis Ishii, kết quả thả ong trừ sâu đục thân ngô*. An. In. Pr, plant, Bucaest, Vol IX, 249-361.

103. Mc Coy, C. W. Storey, G. K & Tigano - Milani.MS (1992), *Environmental factors affecting entomopathogenic fungi in soil*. Pesqui. Agropecu. Bras. 27, 107-111.
104. Mendonca, A. F (1992), *Mass production, application and formulation of Metarhizium anisopliae for control of sugarcane frog hopper; Mahanarva posticata*, in Brazil. In Biological control of locusts and grasshoppers (eds C. J. Lomer & C. Prior) pp 239-244. CAB International Wallingford.
105. Milner R. J (1981), *Identification of the Bacillus popilliae group of insect pathogens*. In *Microbial control of pest and plant diseases 1970 - 1980* (ed. H. D. Burges), pp. 45-59. Academic Press. London.
106. Milner R. J (1989), *Recent progress with Metarhizium anisopliae for pest control in Australia*. In *Proceeding of the first Asia/Pacific conference on Entomology Chiang Mai, November*.
107. Ohba, M, Iwahana, H, Asano, S, Suzuki, N, Sato, R, & Hori, H (1992), *A unique isolate of Bacillus thuringiensis serovar japonensis with a high larvicidal activity specific for scarabaeid beetles*. Letters in Appl. Microbiol. 14, 54-57.
108. Obha, M. & Iwahana, H. (1992), *Insecticidal spectrum of a novel isolate of Bacillus thuringiensis serovar japonensis*. Biol. Control . 2, 138-14291.
109. Peirera, R. M & Roberts, D. W (1990), *Dry mycelium preparations of entomopathogenic fungi, Metarhizium anisopliae and Beauveria bassiana*. J. Invertebr. Pathol. 56, 39-46.
110. Pham Thi Thuy (1994), *Research on multiplication of Beauveria bassiana fungus and preliminary utilisation of Beauveria bassiana bioproduct for pest management in Stored product in Viet Nam*. Proceedings of 6th International Working Conference on Stored - product protection, 17-23 April 1994 Cenberra Australia, pag 1123-1133.
111. Pham Thi Thuy (1994), *Effect of Beauveria bassiana Vuill and Metarhizium anisopliae Sorok on brown planthopper (Nilaparvata lugens Stal) In Viet Nam IRRN- IRRI, Philippin. Volum 19. Number 3 - September 1994. Page 29*.
112. Pham Thi Thuy (1995), *Interative effect of 4 kind of Bacillus thuringiensis pesticides mixed with NPV- Ha on Heliothis armigera*

- Hubn. International Symposium on Microbiology of the twenty one century. A centennial Tribute to Louis Pasteur (1822-1895). October 10-13, 1995 Beijing, China, pag 24.*
113. Ngo Thi Mai, Pham Thi Thuy, D. T. Giang, N. T. H. Tram (1996), *Research on Technology and application Bacillus thuringiensis to control pests in Vietnam*. Proceedings in 3th Asia Pacific Congress on Biotechnology in Makati, Manila, Philippines 22-24 may/1996, pag 64-75.
 114. Pham Thi Thuy, Nguyen Thuy Ha (2003), *Application of Bt biopesticide to control some pests on cabbage in Thai Nguyen, Vietnam in 2002*, 5th Pacific rim conference on the biotechnology of *Bacillus thuringiensis* and its environmental impact 17th - 21st November 2003, Hanoi, Vietnam, pag 67.
 115. Prior, C. Sollands. P and le Patourel G (1988) *Infectivity of oil and water formulation of Beauveria bassiana (Deuteromycotina: Hyphomycetes) to the cocoa weevil pest Pantorhytes plutus (Coleoptera: Curculionidae)*, Journal of Invertebrate Pathology 52, 66-72.
 116. Rabindra R. J, Jayarajs. S (1988), *Larval extracts and other adjuvants for increased efficacy of Nuclear polyhedrosis virus against Heliothis armigera larvae*. Journal of biological control 2, Ref. 13. pp 102-105.
 117. Robert van den Bosch, P. S Messenger, A. P. Gutierrez (1990), *An Introduction to biological control*. Division of Biological Control University of California, Berkeley Albany, California, Plenum press, New york and London.
 118. Salama H. S., Moawad S. M., Megahed M. I. (1986), *Effect of Nuclear polyhedrosis virus on the cotton bollworm Heliothis armigera*, Journal of applied entomology. Ref.16, pp 123-130.
 119. Southey J. F. (1986), *Laboratory method for works with plant and soil nematodes*, Ministry of Agriculture, Fisheries and Food, London, 202pp.
 120. Stahly. D. P. Andrews, R. E. & Yousten. A.A. (1992a), *The genus Bacillus: insect pathogens*. In *The procaryotes*, vol. 2 (eds A.

- Balows, H. G. Truper, M. Dworkin, W. Harder & K. H. Schliefer), pp. 1697-1745. Springer Verlag, New York.
121. Suzuki, N. Hori, H, Tachubabam M. & Asano, S. (1994) *Bacillus thuringiensis strain Buibui for control of cupreous chafer, Anomala cuprea (Coleoptera: Scarabaeidae), in turfgrass and sweet potato. Biol. Control* 4, 361-365.
 122. Rombach. M. C (1989), *Production of Beauveria bassiana (Deuteromycotina. Hyphomycetes) sympoduloconidia in submerged culture. Entomophaga* 34, 45-52.
 123. Samsináková. A. Kálalová. S. Vlæk. V & Kybal. J (1981), *Mass production of Beauveria bassiana for regulation of Leptinotarsa decemlineata populations. J. Invertebr. Pathol.* 38, 169-174.
 124. Tanada. Y. & Kaya. H. K (1993), *Insect pathology* Academic Press. London, 666pp.
 125. Tipvadee, Attayhom, Pissawan Poolpol (1983), *Virus diseases of the insect pest of economically important vegetable crop: Nuclear polyhedrosis virus of cabbage looper, Trichoplusia ni in Thailand. Kasetsart Univ, Bangkok. Researrrch reports. Raigan Khon Khwa Wichai Prachampi* 2526, Bangkok Thailand.
 126. Wallace H. R. (1973), *Nematode Ecology and Plant Disease.* Eward Anold London. 228pp.
 127. Watson. D. W.Geden. C. J. Long. S. J & Rutz. D. A (1995), *Efficacy of Beauveria bassiana for controlling the house fly and stable fly (Diptera: Muscidae). Biol. Control* 5, 405-411.

ĐÌNH CHÍNH

Trang	Dòng	Nội dung đã in	Nội dung đính chính
4	Dòng 13 từ dưới lên	H.L. Sweetman	của H.L. Sweetman
88	Bảng 4.7	Moscard (988)	Moscardi (1988)
275	Dòng 14 từ trên xuống	vỏ của	vỏ của

NHÀ XUẤT BẢN ĐẠI HỌC QUỐC GIA HÀ NỘI

16 Hàng Chuối - Hai Bà Trưng - Hà Nội

Điện thoại: (04) 9715012; (04) 7685236. Fax: (04) 9714899

E-mail: nxb@vnu.edu.vn

★ ★ ★

Chịu trách nhiệm xuất bản:

Giám đốc: **PHÙNG QUỐC BẢO**

Tổng biên tập: **PHẠM THÀNH HÙNG**

Chịu trách nhiệm nội dung:

Người nhận xét: **GS. TSKH. LÊ VĂN NHƯỜNG**

PGS. TS. NGUYỄN THỊ TRÂM

Biên tập: **ĐỨC HỮU**

NGỌC QUYÊN

NHƯ QUỲNH

Chế bản: **PHẠM HIỂN**

Trình bày bìa: **NGỌC ANH**

CÔNG NGHỆ SINH HỌC TRONG BẢO VỆ THỰC VẬT

Mã số: 1L-04007-01404

In 1000 cuốn, khổ 16 x 24 tại Nhà in Khoa học và Công nghệ

Số xuất bản: 35/981/XB-QLXB, ngày 15/7/2004.

Số trích ngang: 344 KH/XB

In xong và nộp lưu chiểu quý IV năm 2004.



PHẠM THỊ THÙY

Sinh tháng 11 năm 1954

Quê quán: Nam Định

Tốt nghiệp ngành Trồng trọt, Đại học Nông nghiệp I Hà Nội năm 1976.

Nhận học vị Tiến sĩ Sinh học bảo vệ thực vật ở Bungari năm 1990.

Nhận học hàm Phó Giáo sư năm 1996.

Công tác ở Viện Bảo vệ thực vật Hà Nội từ tháng 1/1977 đến nay.

LĨNH VỰC NGHIÊN CỨU:

Bệnh lý côn trùng, sinh thái côn trùng, các chất điều tiết sinh trưởng côn trùng Dimilin, Hoocmon..., các dạng thiên địch ký sinh, ăn thịt côn trùng hại cây trồng và tổng hợp các biện pháp sinh học trong bảo vệ thực vật.

THÀNH TỰU KHOA HỌC:

Đoạt 2 Giải thưởng Sáng tạo khoa học công nghệ Việt Nam VIFOTEC.

Được tặng Bằng và huy hiệu lao động sáng tạo của Tổng LĐLĐVN.

Được Cục Sở hữu trí tuệ cấp 2 Bằng Độc quyền sáng chế.

Được tặng Biểu trưng vàng và cờ thi đua của LHKHKTVN và Bộ Khoa học và Công nghệ.

Được tặng nhiều Bằng khen của Bộ NN & PTNT và các Tỉnh.

