

## MỘT SỐ THÀNH TỰU NGHIÊN CỨU SỬ DỤNG TUYẾN TRÙNG CHO PHÒNG TRỪ SINH HỌC SÂU HẠI CÂY TRỒNG VIỆT NAM

NGUYỄN NGỌC CHÂU, VŨ TỬ MỸ,  
LAI PHÚ HOÀNG, PHAN KẾ LONG

*Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật*

Các loài tuyến trùng ký sinh và gây bệnh cho côn trùng (Entomopathogenic Nematodes - epn) thực chất epn là một tổ hợp cộng sinh của tuyến trùng và vi khuẩn (thuộc 2 giống *Xenorhabdus* và *Photorhabdus*), trong đó tuyến trùng có vai trò ký sinh và mang truyền vi khuẩn gây bệnh vào cơ thể côn trùng, còn vi khuẩn cộng sinh có vai trò sản sinh độc tố để giết chết côn trùng. Vì vậy, các tổ hợp epn có nhiều ưu thế nổi trội trong phòng trừ sinh học (PTSH) sâu hại như: a) có khả năng ký sinh và tiêu diệt sâu hại trong vòng 24 đến 48 giờ; b) an toàn cho người, động vật và các sinh vật có ích; c) có khả năng sản xuất sinh khối lớn bằng công nghệ nhân nuôi in vivo và in vitro; d) dễ dàng áp dụng trong phòng trừ sâu hại; e) có thể tương hợp với nhiều loại thuốc hóa học, phân bón hoặc hệ thống tưới nước tự nhiên; f) có thể tồn tại lâu trong đất và trở thành thiên địch của sâu hại trên đồng ruộng; g) dễ dàng được tuyển chọn di truyền để tạo ra các tổ hợp epn tốt theo tiêu chuẩn mong muốn. Với hàng loạt đặc tính ưu việt như trên, epn có thể đáp ứng các tiêu chuẩn của một thuốc sinh học lý tưởng dùng trong PTSH sâu hại. Hiện nay đã có một số thuốc sinh học epn đã được nghiên cứu và thương mại hóa tại Mỹ, Châu Âu, Australia, Nhật Bản, Trung Quốc, Thái Lan v.v. để phòng trừ hàng trăm loại sâu hại khác nhau.

Ở nước ta những năm gần đây, việc sử dụng thuốc hóa học trong nông nghiệp mặc dù mang lại những lợi ích kinh tế không thể chối cãi, việc lạm dụng hóa chất bảo vệ thực vật đã và đang gây ra tổn hại cho sức khỏe cộng đồng và các thảm họa sinh thái khác như: ô nhiễm môi trường sống, hủy diệt nhiều thiên địch và động vật có ích trong tự nhiên, làm mất cân bằng sinh thái và từ đó phát sinh nhiều dịch hại do sâu bệnh gây ra trong nông nghiệp. Trước tình hình trên, việc nghiên cứu các chế phẩm sinh học có khả năng thay thế thuốc hóa học đã và đang trở thành một nhu cầu cấp bách nhằm phát triển nền nông nghiệp sinh thái bền vững.

Nghiên cứu sử dụng tuyến trùng epn cho phòng trừ một số sâu hại cây trồng ở Việt Nam mới được triển khai từ năm 1997 tại Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật. Trong khuôn khổ các đề tài KHCN-02-07B (1998-2000), đề tài KC-04-12 (2001-2004) thuộc Chương trình Công nghệ sinh học và Đề tài cấp Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam (2002-2003), hàng loạt vấn đề từ điều tra cơ bản, phân lập và tuyển chọn các chủng epn đáp ứng tiêu chuẩn tác nhân sinh học đến phát triển công nghệ sản xuất thuốc sinh học epn đã được triển khai. Dưới đây là một số kết quả nổi bật trong lĩnh vực nghiên cứu khoa học, công nghệ còn khá mới mẻ trong lĩnh vực phòng trừ sinh học ở ta.

### I. CÁC KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

#### 1. Điều tra, phân lập và phân loại epn ở Việt Nam

Mặc dù hầu hết các loài tuyến trùng epn đều có tiềm năng phòng trừ sâu hại nhưng hiệu lực diệt côn trùng của các loài rất khác nhau, thậm chí khác nhau giữa các chủng trong cùng một loài. Vì vậy việc điều tra phát hiện và thu thập các chủng, loài bản địa có tiềm năng cho PTSH có ý nghĩa quan trọng. Kết quả khảo sát và thu mẫu tại 594 địa điểm thuộc 38 tỉnh đã phân lập được 58 chủng epn, trong đó 43 chủng thuộc giống *Steinernema* và 15 chủng thuộc giống *Heterorhabditis*. Đã nhân nuôi và duy trì thành công 43 chủng epn, trong đó 31 chủng thuộc giống *Steinernema* và 12 chủng thuộc giống *Heterorhabditis*. Đây là nguồn gen quý cho việc đánh giá, tuyển chọn các chủng đạt yêu cầu tác nhân sinh học để đưa vào sản xuất. Khác với nhiều nước trên thế giới, ở ta nhóm tuyến trùng này hầu như không tồn tại trong hệ sinh thái nông nghiệp mà chúng chỉ được phân lập từ các hệ sinh thái rừng tự nhiên và một vài chủng ở bãi cát ven biển.

Do tính đặc thù của tuyến trùng epn là các loài đồng hình, không thể dựa trên các đặc điểm hình thái thông thường để giám định đến loài mà cần phải sử dụng bổ sung các kỹ thuật hiện đại như kỹ thuật phân tử và kỹ thuật kính hiển vi điện tử quét để phân loại chúng. Vì vậy, đề tài đã hợp tác với Đại học tổng

hợp Gent và Trung tâm nông nghiệp quốc gia Merelbeke, Vương quốc Bỉ sử dụng kỹ thuật hiển vi điện tử (SEM) và kỹ thuật phân tử (PCR-RFLP và sequencing) vùng ITS-rDNA để phân loại các loài epn ở Việt Nam.

Bảng 1

Danh sách các loài epn đã được phát hiện ở Việt Nam

1. <i>Heterorhabditis indica</i>	H-MP11, H-MP16, H-BB9, H-CP6, H-CP8, H-CP16, H-HS5, H-QB2, H-QB3, H-TN48, H-NT3.
2. <i>Heterorhabditis baujardi</i>	H-BB32, H-CP13, H-CP22, H-TN40
3. <i>Steinernema tami</i>	S-NCT
4. <i>S. sangi</i>	S-TX1, S-MP9, S-XS4
5. <i>S. loci</i>	S-TK10
6. <i>S. thanhi</i>	S-TG10
7. <i>S. robustispiculum</i>	S-TS10, S-TN10
8. <i>Steinernema</i> sp1.	S-TN9, S-TN38
9. <i>Steinernema</i> sp2.	S-TN21, S-TN23, S-TN24
10. <i>Steinernema</i> sp3.	S-TD16, S-TT4
11. <i>Steinernema</i> sp4.	S-BM12
12. <i>Steinernema</i> sp5.	S-HS2
13. <i>Steinernema</i> sp6.	S-DL13, S-DL14
14. <i>Steinernema</i> sp7.	S-DL9, S-DL20, S-DL21, S-DL22
15. <i>Steinernema</i> sp8.	S-BB31, S-TD3
16. <i>Steinernema</i> sp9.	S-CP12
17. <i>Steinernema</i> sp10.	S-TS2, S-TS5, S-TN53

Hiện tại đã xác định 16 loài tuyến trùng ký sinh gây bệnh côn trùng ở Việt Nam, trong đó đã mô tả 6 loài mới cho khoa học là *Steinernema tami*, *S. sangi*, *S. loci*, *S. thanhi*, *S. robustispiculum* và *Heterorhabditis baujardi* (bảng 1) và đang chuẩn bị công bố một số loài mới khác trong thời gian tới. Với kết quả trên đây, Việt Nam đã trở thành một trong những trung tâm nghiên cứu và sở hữu nguồn vật liệu epn trên thế giới. Kết quả này không những phục vụ cho PTSH ở Việt Nam mà còn là đóng góp quan trọng cho lĩnh vực này của khu vực và thế giới.

## 2. Nghiên cứu tuyển chọn các chủng epn cho PTSH

Từ các chủng tuyến trùng được phân lập ở Việt Nam, bước đầu đã tuyển chọn được 7 chủng epn (bảng 2), đáp ứng tiêu chuẩn của tác nhân sinh học như: có phổ diệt sâu rộng, có độc tố cao, tức hiệu lực diệt sâu tốt (LC<sub>50</sub> thấp <100 IJs), có sinh khối lớn (khả năng sinh sản tốt) và có khả năng bảo quản lâu.

Bảng 2

TT	Tên loài tuyến trùng	Tên chủng	Phổ diệt sâu	LC <sub>50</sub>	Khả năng sinh sản *	
					In vivo	In vitro
1	<i>S. loci</i>	S-TK10	Rất rộng		34,4	50.000
2	<i>S. carpocapsae</i>	S-CTL	Rất rộng		32,6	50.000
3	<i>S. sangi</i>	S-TX1	Rất rộng		68,3	70.000
4	<i>S. sangi</i>	S-XS4	Rất rộng		36,6	60.000
5	<i>H. indica</i>	H-MP11	Rộng		180,8	195.000
6	<i>H. indica</i>	H-NT3	Rộng		233,5	195.000
7	<i>S. robustispiculum</i>	S-TN10	Rộng		32,0	50.000

Danh sách các chủng epn được tuyển chọn cho PTSH

\* Đơn vị tính là IJs x 1000. In vivo= IJs/GM. In vitro = IJs/bình tam giác 500 ml

## 3. Nghiên cứu phát triển công nghệ sản xuất chế phẩm epn

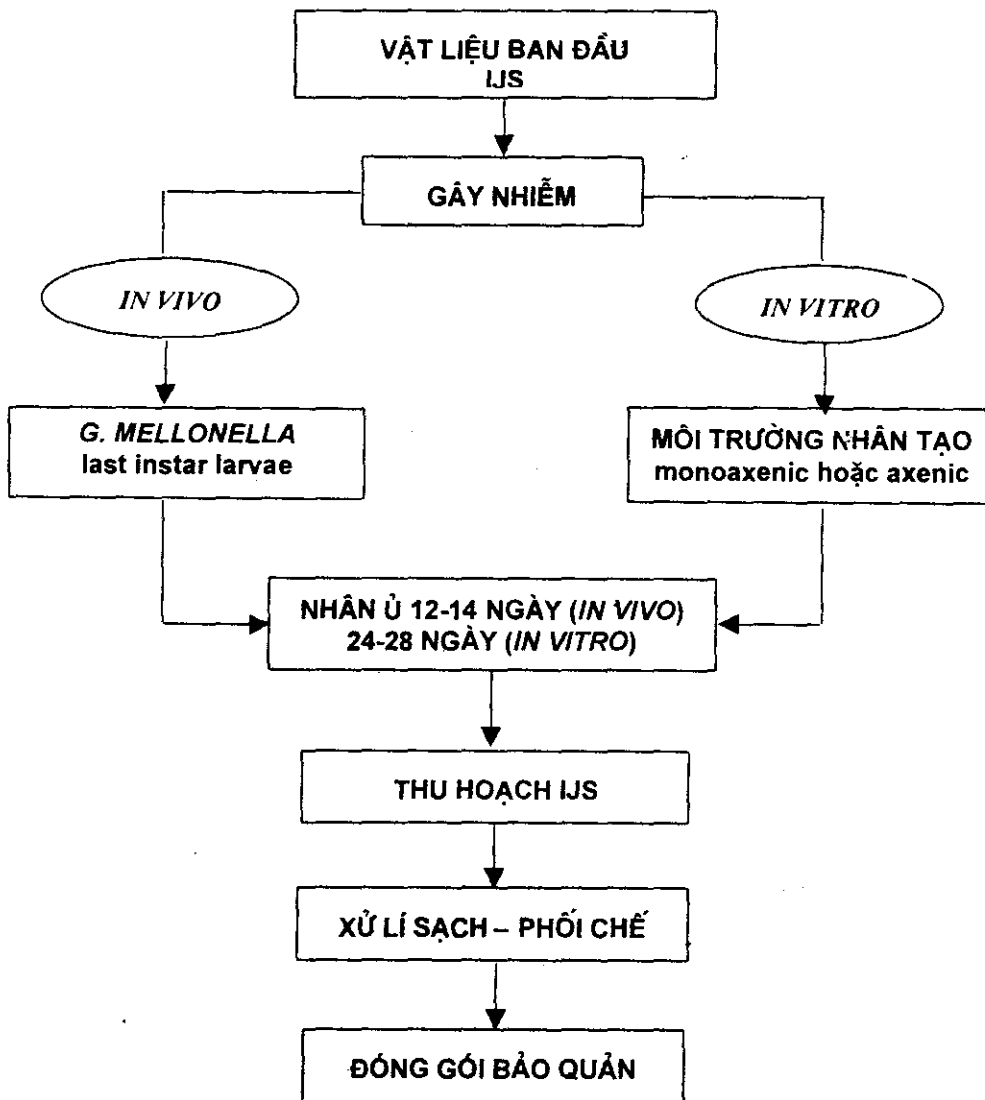
Nghiên cứu phát triển công nghệ sản xuất các chế phẩm sinh học epn là một trong những mục tiêu quan trọng, nhằm tạo ra các chế phẩm sinh học epn với giá thành rẻ và phù hợp với điều kiện Việt Nam.

Đã nghiên cứu sản xuất chế phẩm sinh học epn bằng in vivo và in vitro theo sơ đồ công nghệ dưới đây (hình 1).

- Quy trình công nghệ sản xuất các chế phẩm sinh học epn bằng in vivo trên cơ sở sử dụng ấu trùng tuổi 5 (last instar larvae) của bướm sáp lớn, *Galleria mellonella* (GM) để làm vật liệu nhân nuôi, gồm các bước chính sau đây:

- a) Nhân nuôi sản xuất ấu trùng tuổi 5 GM (có quy trình nhân nuôi riêng).
- b) Gây nhiễm cho GM với ấu IJs
- c) Ủ trong 12-14 ngày
- d) Thu hoạch IJs (bằng phương pháp white trap), phối chế và bảo quản

Công nghệ nhân nuôi in vivo khá đơn giản, không cần đầu tư lớn, vì vậy có thể áp dụng cho quy mô hộ gia đình, các trang trại hoặc các đơn vị sản xuất nhỏ. Tuy nhiên, công nghệ này có nhược điểm là năng suất thấp, chất lượng không ổn định và đặc biệt giá thành cao.



Hình 1. Sơ đồ công nghệ sản xuất in vivo và in vitro chế phẩm epn

- Công nghệ sản xuất in vitro sử dụng môi trường nhân tạo (chicken offal) để sản xuất sinh khối lớn epn, gồm 5 giai đoạn chủ yếu sau đây:

## HỘI THẢO QUỐC GIA VỀ SINH THÁI VÀ TÀI NGUYÊN SINH VẬT LẦN THỨ NHẤT

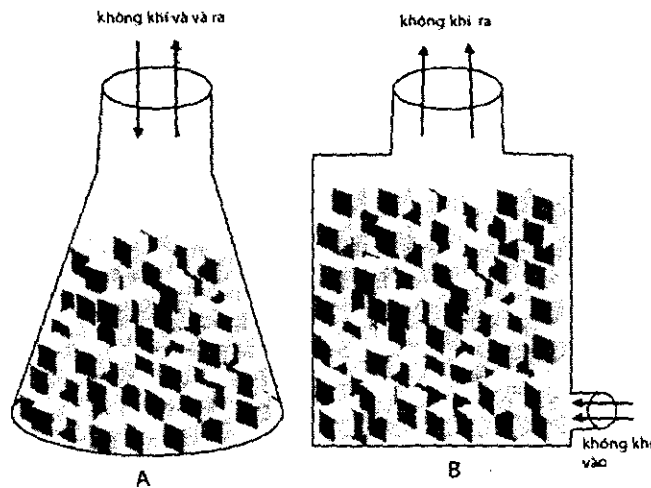
- Phân lập VKCS từ xoang máu của ấu trùng bươm sấp lớn đã được gây nhiễm epn chuyển sang môi trường Laura Broth cho nhân nuôi sơ cấp để tuyển chọn khuẩn lạc chuẩn (pha I).
- Nhân nuôi thứ cấp VKCS trong môi trường chicken offal để tạo sinh khối lớn.
- Gây nhiễm epn vào môi trường chicken offal đã được tạo sinh khối VKCS.
- Nhân ủ tổ hợp epn-VKCS trong vòng 24-28 ngày.
- Thu hoạch epn, phối chế và bảo quản.

Công nghệ này hạn chế được những hạn chế của công nghệ in vivo và có khả năng thương mại hoá chế phẩm sinh học epn với giá thành thấp hơn.

Từ nghiên cứu thành công quy trình công nghệ in vitro trên môi trường chicken offal trong bình tam giác, đã cải tiến 2 khâu quan trọng sau đây:

- Sản xuất môi trường chicken offal giá thành rẻ trên cơ sở thay thế nguồn nguyên liệu lòng gia cầm, một loại vật liệu khá đắt, không sẵn có trên thị trường với khối lượng lớn bằng nguyên liệu mới là lòng gia súc (lòng lợn) một loại vật liệu khá rẻ, luôn sẵn có trên thị trường với khối lượng lớn. Môi trường mới không những rẻ hơn, sản xuất dễ dàng hơn mà năng suất nhân nuôi không thua kém môi trường được sản xuất từ lòng gia cầm.

- Dùng túi nylon để nhân nuôi epn còn cho phép dùng trực tiếp sinh khối tạo ra, có thể đóng gói dễ dàng để đưa trực tiếp các túi nhân nuôi ra đồng ruộng không cần qua khâu tách lọc vừa mất nhiều thời gian vừa bị hao hụt.



Hình 2. Dụng cụ cải tiến nhân nuôi epn in vitro trong túi nylon (B) so với dụng cụ cũ nhân nuôi epn in vitro trong bình tam giác (A)

- Bước đầu cũng đã thử nghiệm thành công sản xuất in vitro epn với môi trường lòng bằng bình lên men tự động (Bio-Reactor). Đây là công nghệ sản xuất epn hiện đại nhất cho phép thương mại hóa và hạ giá thành chế phẩm sinh học epn đang được một số công ty công nghệ sinh học trên thế giới áp dụng.

So sánh các chỉ tiêu kinh tế kỹ thuật của quy trình sản xuất epn bằng môi trường đặc và môi trường lỏng trên các dụng cụ, thiết bị khác nhau (bảng 3) cho thấy sản xuất epn trên môi trường lỏng cho sản lượng sinh khối lớn và hạ được giá thành sản phẩm. Tuy nhiên phương pháp này đòi hỏi thiết bị lên men (bio-reactor) đắt tiền. Trong khi đó sản xuất trên môi trường đặc trong túi polyethylen có thể đáp ứng với quy mô vừa và nhỏ, đầu tư nhỏ và phù hợp với điều kiện hiện nay.

### Sản xuất chế phẩm sinh học BIOSTAR

Đã triển khai sản xuất thử nghiệm qui mô pilot 7 loại chế phẩm sinh học BIOSTAR từ BIOSTAR-1 đến BIOSTAR-7 (bảng 4). Các chế phẩm BIOSTAR bước đầu đáp ứng tiêu chuẩn của thuốc sinh học tuyền trùng như: có phổ diệt sâu rộng (hầu hết các chủng đều có khả năng diệt từ 3-10 loại sâu hại khác

nhau) và có khả năng bảo quản lâu (từ 2-6 tháng) trong điều kiện bình thường. Đây là một trong những ưu thế quan trọng của các chủng epn bản địa của Việt Nam.

Bảng 3

So sánh phương pháp sản xuất chế phẩm epn bằng môi trường đặc trong bình tam giác và trong túi polyetylen và môi trường lỏng

	Môi trường đặc		Môi trường lỏng
	Bình tam giác	Túi nylon chịu nhiệt	Bình lên men
Thiết bị nhân nuôi	Trung bình	Rẻ	Đắt tiền
Chi phí thiết bị	nhỏ	vừa và nhỏ	Lớn
Quy mô sản xuất	Đóng gói	Đóng gói hoặc không	Đóng gói
Đóng gói vận chuyển	7 - 10 x 10 <sup>6</sup>	7 - 10 x 10 <sup>6</sup>	7 - 10 x 10 <sup>6</sup>
SL/100gr môi trường	16-20	16-18	16-18
Thời gian nuôi (ngày)	1,5	1,2	Chưa xác định
Giá thành triệu/1ha			

Bảng 4

Kết quả sản xuất các chế phẩm sinh học epn

TT	Chủng epn	Loài tuyến trùng	Tên chế phẩm	Khối lượng chế phẩm (lit)	Nồng độ tiêu chuẩn (IJs)
1	S-TK10	<i>S. loci</i>	BIOSTAR-1	300	15 x 10 <sup>6</sup>
2	S-CTL	<i>S. carpocapsae</i>	BIOSTAR-2	1400	10 x 10 <sup>6</sup>
3	S-TX1	<i>S. sangi</i>	BIOSTAR-3	6500	10 x 10 <sup>6</sup>
4	S-XS4	<i>S. sangi</i>	BIOSTAR-7	1300	10 x 10 <sup>6</sup>
5	H-MP11	<i>H. indica</i>	BIOSTAR-4	1500	15 x 10 <sup>6</sup>
6	H-NT3	<i>H. indica</i>	BIOSTAR-5	2500	15 x 10 <sup>6</sup>
7	S-TN10	<i>S. robustispiculum</i>	BIOSTAR-6	1050	10 x 10 <sup>6</sup>

**Luận chứng kinh tế kỹ thuật cho sản xuất chế phẩm epn ở qui mô pilot**

Cơ sở để tính giá thành sản xuất và đánh giá hiệu quả kinh tế của chế phẩm sinh học epn, là đầu vào như: chi phí nhà xưởng và trang thiết bị (Bảng 5). Trên cơ sở đó có thể tính toán năng lực sản xuất và giá thành sản phẩm ở qui mô pilot (diện tích 24-30m<sup>2</sup>) như bảng 6 dưới đây. Đây là một phần cơ sở để hạch toán giá thành sản phẩm, và để các địa phương căn cứ trước khi quyết định đầu tư tiếp nhận công nghệ sản xuất chế phẩm sinh học epn tại chỗ.

Bảng 5

Trang thiết bị cho 01 pilot sản xuất chế phẩm sinh học epn

TT	Tên trang thiết bị	Đơn giá (x1000 đ.)
1	01 máy điều hoà nhiệt độ 2 chiều (air-conditioner)	16.000
2	01 tủ định ôn (incubator)	30.000
3	01 tủ cấy vô trùng (laminar flow)*	35.000
4	01 máy hấp vô trùng (sterilizer)*	20.000
5	01 máy lắc (electronic shaker)	7.500
6	01 tủ lạnh (refrigerator)	6.000
7	01 tủ lạnh nóng (pharmaceutical cabinet 4-14 oC)	25000
8	01 kính hiển vi soi nổi (stereomicroscope)	45000
9	100 hộp đĩa petri (F = 5 cm)	1.500
10	100 ống nghiệm (F = 1.8 cm x H=18 cm)	2.000
11	Một số vật tư, dụng cụ nhỏ khác	4.500
--	Tổng kinh phí thiết bị cho 01 pilot sản xuất epn	192.5 triệu đồng

Thực tế sản xuất thuốc sinh học epn cho thấy: giá thành chế phẩm còn cao là một trong những rào cản chính trong việc chuyển giao công nghệ sản xuất và áp dụng epn cho thực tiễn sản xuất. Vì vậy, việc

HỘI THẢO QUỐC GIA VỀ SINH THÁI VÀ TÀI NGUYÊN SINH VẬT LẦN THỨ NHẤT

nghiên cứu, cải tiến và tối ưu hóa công nghệ sản xuất, giảm chi phí đầu vào và tăng sản phẩm đầu ra sẽ có ý nghĩa quyết định trong việc áp dụng epn vào thực tiễn sản xuất.

Bảng 6

Quy mô sản xuất và giá thành chế phẩm epn  
(tính cho 01 đợt sản xuất pilot, thời gian là 28-30 ngày)

Đầu vào	Đơn giá (1000đ.)	Đầu ra (chế phẩm)	Giá thành/kg (1000đ.)
Nguyên liệu (15 kg lòng gia cầm)	300	- 180 túi nhân nuôi x 30 triệu IJs - Thu 45 kg chế phẩm epn (nồng độ tiêu chuẩn 12 x10 <sup>6</sup> IJs. - Sử dụng cho diện tích qui đổi 2,4 ha	54
Hoá chất	150		
Vật liệu phối chế	100		
Năng lượng, thiết bị, dụng cụ	900		
Công lao động 1.5 người/tháng	900		
Chi khác	75		
Cộng	2.425		

\* Chưa tính chi phí xây dựng nhà xưởng pilot vào giá thành sản xuất

Năng lực sản xuất chế phẩm epn của pilot và giá thành phòng trừ bộ hung trong điều kiện Việt Nam (bảng 7) với giá thuốc là 1.080.000 đ./ha. So với giá thành sản xuất epn ở Mỹ (khoảng 250 US\$/1 ha) thì giá thành ở ta rẻ hơn khá nhiều. Tuy nhiên với giá thành này vẫn chưa đủ khả năng thương mại hóa để cạnh tranh với thuốc hóa học. Mặc dù hiện tại chi phí thuốc hóa học Diaphos 10H phòng trừ bộ hung hại mía là khá cao, khoảng 750.000 đ cho 1 ha trong một năm.

Bảng 7

Chi phí sản xuất chế phẩm sinh học epn và giá thành phòng trừ

<input type="checkbox"/> Năng lực sản xuất chế phẩm epn của pilot (tính cho cả năm, 12 đợt)	- Tổng số sản phẩm là: 45 kg x 12 đợt = 540 kg chế phẩm - Sử dụng phòng trừ cho 27 ha tiêu chuẩn
<input type="checkbox"/> Kinh phí đầu tư cho sản xuất qui mô pilot (tính cho cả năm, 12 đợt)	- Một đợt: 2.425.000 đ. - Cả năm: x 12 đợt: 29.100.000 đ.
<input type="checkbox"/> Giá thành sử dụng chế phẩm epn cho 1 ha qui đổi	- Chế phẩm epn: 20 kg x 54.000 đ. = 1.080.000 đ.

4. Kết quả thử nghiệm phòng trừ sâu hại

Bảng 8

Danh sách các loài sâu hại chính được thử nghiệm để xác định hiệu lực gây chết và LC50 của các chủng epn

TT	Loài sâu hại và số chủng epn thử nghiệm	Các chủng epn	Nồng độ TN	Hiệu lực (%)	LC <sub>50</sub>
1	Sâu khoang (19) ( <i>Spodoptera litura</i> )	S-TN10, S-CTL, S-TN10, S-BC, H-NT3	100	75-100	40-75
2	Sâu keo da láng (5) ( <i>Spodoptera exigua</i> )	H-NT3, H-MP11	50-80	99,0	11-15
3	Sâu xám (20) ( <i>Agrotis ypsilon</i> )	S-TN10, S-CTL, S-TX4, H-CP6	100	85-95	11,1
4	Sâu tơ (19) ( <i>Plutella xylostella</i> )	S-TK10, S-HS2, S-CTL, H-MP11, H-NT3	50	80-100	11-45
5	Sâu xanh bướm trắng ( <i>Pieris rapae</i> )	S-TK10, H-NT3	80-100	98-100	13-17
6	Sâu xanh thuốc lá ( <i>Helicoverpa asulta</i> )	S-CTL	10-100	87,5	42,5
7	Sâu xanh thuốc lá ( <i>Helicoverpa armigera</i> )	S-TX1, H-MP11	100	75-100	18-45
8	Bộ hung đen (6) ( <i>Alissonotum impressicolle</i> )	H-MP11, H-NT3, S-TX1, S-CTL, S-TK10	2000	80-90	1193

Nhằm xác định phổ gây chết, hiệu lực gây chết và LC50 của các chủng epn, đã tiến hành hàng loạt thử nghiệm trong phòng thí nghiệm trên 31 loại sâu hại phổ biến ở Việt Nam. Kết quả các thử nghiệm cho thấy với nồng độ thích hợp các chủng epn Việt Nam có khả năng diệt hầu hết các loại sâu hại. Trong số sâu hại được thử nghiệm, 8 loại sâu hại quan trọng được nghiên cứu khá đầy đủ để có thể xác định các thông số cần thiết (Bảng 8). Tuy nhiên, do tính đặc thù tương đối, mỗi chủng epn có khả năng mẫn cảm hơn đối với một hoặc một vài sâu hại khác nhau.

Kết quả xác định chỉ tiêu LC50 cho thấy hầu hết các chủng epn có hiệu lực gây chết rất khá cao (LC50 < 100) đối với hầu hết sâu hại, ngoại trừ bọ hung đen.

Lần đầu tiên các chế phẩm BIOSTAR đã được sử dụng để phòng trừ sâu hại ngoài đồng ruộng (ở qui mô khá lớn 1 - 4 ha) trên một số cây trồng. Các loài sâu hại chủ yếu như sâu khoang, sâu tơ, sâu xanh bướm trắng, bọ nhảy hai rau; sâu xám và sâu xanh hại thuốc lá; sâu keo da láng hại nho, bông và sâu đục thân cây ăn quả (cam, chanh), bọ hung đen hại mía vv. Hầu hết các loại sâu này đều là những đối tượng có khả năng kháng thuốc hóa học cao nên rất ít thuốc hóa học có tác dụng đối với các loại sâu hại này. Dưới đây là kết quả sử dụng các chế phẩm sinh học BIOSTAR để phòng trừ một số loại sâu hại quan trọng.

*Phòng trừ sâu keo da láng hại nho ở Ninh Thuận: Các chế phẩm sinh học BIOSTAR-2 và BIOSTAR-5 với nồng độ phun 1100 IJ/ml diệt được 68% sâu xanh da láng sau khi phun 6 ngày. So với thuốc sinh học SEBA (NPV) thì thuốc sinh học tuyến trùng BIOSTAR-5 có hiệu lực phòng trừ cao hơn không đáng kể (68% so với 66%), nhưng khả năng gây chết của epn nhanh hơn khá nhiều (Bảng 9).*

Bảng 9

Hiệu lực của BIOSTAR-2 và BIOSTAR-5 phòng trừ sâu keo da láng hại nho tại Ninh Thuận (2000)

CT thử nghiệm	Hiệu lực thuốc sau xử lý					
	1 ngày	2 ngày	3 ngày	4 ngày	5 ngày	6 ngày
BIOSTAR-2	21	64	60	69	67	68
BIOSTAR-5	18	61	59	67	69	68
SEBA	0	0	0	22	27	66

Phòng trừ sâu xám hại thuốc lá: Kết quả thử nghiệm phòng trừ sâu xám hại thuốc lá với chế phẩm BIOSTAR-2, BIOSTAR-6 và BIOSTAR-7 tại Ba Vì, Hà Tây trong 3 năm 2001-2003 đều cho kết quả rất tốt với hiệu lực diệt sâu đạt 83-88% (Bảng 10). Tuy nhiên, kết quả xử lý thuốc sinh học epn phụ thuộc rất lớn vào thời điểm xử lý thuốc do tính chất gây hại của sâu xám là chỉ cắn cây thuốc lá non, trong vòng 2 tuần sau khi trồng, vì vậy việc chọn thời điểm phun thuốc trước khi trồng 5-7 ngày là rất quan trọng.

Bảng 10

Hiệu lực của BIOSTAR-2 và BIOSTAR-5 phòng trừ sâu xám hại thuốc lá ở Ba Vì Hà Tây (2002)

Công thức	Cây chết sau các ngày kiểm tra (%)							HL (%)
	1	3	5	7	10	15	Tổng*	
S-CTL	1,5	0,7	0,7	0,7	0,0	0,0	3,6a	85,3
S-TN10	0,7	0,7	0,7	0,7	0,0	0,0	2,8a	88,6
S-XS4	0,7	0,7	1,5	0,0	0,0	0,0	2,9a	88,2
CTĐC	0,0	3,0	8,9	6,7	5,9	0,0	24,5b	00,0

\* Các giá trị với các chữ cái giống nhau là sai khác không có ý nghĩa (a=0,05).

Phòng trừ bọ hung hại mía ở Thanh Hóa: Sử dụng BIOSTAR-3 để phòng trừ bọ hung đen hại mía ở Thạch Thành, Thanh Hóa cho kết quả khá tốt đối với cả ấu trùng bọ hung và bọ hung trưởng thành (Bảng

11). Hiệu quả phòng trừ ấu trùng bọ hung cao nhất là 65,8 % sau 60 ngày xử lý thuốc và hiệu quả phòng trừ bọ hung trưởng thành cao nhất là 53,6 % sau 20 ngày xử lý thuốc. Mặc dù hiệu lực phòng trừ bọ hung của các chế phẩm sinh học BIOSTAR có thấp hơn so với thuốc hóa học Diaphos 10H, nhưng tác dụng của thuốc sinh học kéo dài gấp đôi, tới 180 ngày sau khi xử lý so với thuốc hoá học Diaphos 10H.

Bảng 11

So sánh hiệu lực phòng diệt ấu trùng bọ hung của các chế phẩm sinh học tuyến trùng với thuốc hóa học Diaphos 10H

Thuốc	Liều Lượng	Hiệu lực phòng trừ bọ hung							
		TS*	3	10	20	30	60	120	180
Diaphos 10H	50 kg/ha	AT	70,2	66,8	69,2	57,8	52,7	20,6	23,0
		TT	83	54	0	0	0	0	0
BIOSTAR-3	25 kg/ha	AT	49,4	59,4	59,4	64,6	65,8	58,8	49,2
		TT	50,8	46,7	53,6	53,3	46,7	50,8	41,8

\* TS: Tuổi sáu. AT: ấu trùng bọ hung. TT: Bọ hung trưởng thành

Như vậy so với thuốc hóa học Diaphos 10H, mặc dù hiệu lực của thuốc epn không cao bằng nhưng lại có tác dụng lâu dài hơn và xét về tác dụng phòng trừ thì thuốc sinh học epn vẫn có hiệu quả tốt hơn so với thuốc hóa học.

## II. KẾT LUẬN

1. Đã điều tra và phân lập được 58 chủng tuyến trùng ký sinh gây bệnh côn trùng thuộc giống *Steinernema* và *Heterorhabditis* ở Việt Nam. Đã nhân nuôi và duy trì được hơn 40 chủng epn phục vụ cho phân loại phân tử và nghiên cứu tuyển chọn các chủng đạt yêu cầu cho phòng trừ sinh học sâu hại. Đã phân loại và công bố 6 loài tuyến trùng mới cho khoa học.

2. Đã triển khai hàng loạt thử nghiệm trong phòng thí nghiệm đã xác định được nồng độ gây nhiễm tối ưu, hiệu lực gây chết, LC50, khả năng sinh sản của các chủng epn. Đây là các thông số quan trọng làm cơ sở cho việc đánh giá tuyển chọn các chủng epn cho sản xuất và phòng trừ sâu hại.

3. Đã tuyển chọn được 7 chủng tuyến trùng bản địa và 1 chủng nhập nội, bao gồm: S-TN10, S-XS4, S-TK10, S-TX1, H-MF11, H-NT3 và S-CTL đủ tiêu chuẩn chế phẩm sinh học đưa vào sản xuất 7 loại chế phẩm sinh học BIOSTAR để phòng trừ sâu hại cây trồng Việt Nam. Đây là các chủng epn bản địa rất thích hợp cho việc sản xuất công nghệ và phòng trừ sinh học trên đối tượng sâu hại ở cây trồng Việt Nam

4. Đã nghiên cứu quy trình công nghệ in vivo và in vitro và áp dụng sản xuất thành công 7 loại thuốc sinh học BIOSTAR đạt tiêu chuẩn cho PTSH.

5. Đã cải tiến thành công môi trường chicken offal được sản xuất bằng lòng gia súc thay thế lòng gia cầm và sử dụng túi polyethylen chịu nhiệt thay thế bình tam giác trong sản xuất in vitro. Cải tiến này mang lại hiệu quả kinh tế lớn: nâng cao năng suất sản lượng, giảm giá thành sản phẩm và thích hợp trong bảo quản và sử dụng chế phẩm epn cho PTSH sâu hại.

6. Bước đầu đã xây dựng luận chứng kinh tế kỹ thuật cho sản xuất epn bằng công nghệ in vitro trong điều kiện Việt Nam. Xác định sơ bộ giá thành sử dụng epn cho phòng trừ sinh học bọ hung hại mía.

7. Đã triển khai hàng loạt thử nghiệm trong điều kiện nhà lưới nhằm đánh giá hiệu lực gây chết và các yếu tố môi trường liên quan đến hiệu quả phòng trừ sâu hại bằng thuốc sinh học tuyến trùng.

8. Đã triển khai thử nghiệm phòng diệt một số đối tượng sâu hại quan trọng như sâu xanh da láng hại nho ở Ninh Thuận, sâu xám hại thuốc lá ở Ba Vì, Hà Tây và bọ hung hại mía tại Thạch Thành, Thanh Hóa. Kết quả phòng trừ cho thấy thuốc sinh học tuyến trùng đã đáp ứng yêu cầu thực tiễn và có thể thay thế thuốc hóa học trong việc phòng trừ một số đối tượng hại quan trọng. Bằng việc sử dụng chế phẩm sinh học epn đã tạo ra môi trường thiên địch tiềm năng đối với sâu xám hại thuốc lá và bọ hung hại mía trên các ruộng mía thử nghiệm, hạn chế mật độ bọ hung dưới ngưỡng gây hại kinh tế.



*TÀI LIỆU THAM KHẢO*

1. Nguyễn Ngọc Châu, 1998: Tạp chí Khoa học và Công nghệ, 36(3): 24-29.
2. Nguyễn Ngọc Châu, Nguyễn Vũ Thanh, 1997: Tạp chí Sinh học, 19(4): 24-29.
3. Nguyễn Ngọc Châu et al., 1998: Proceedings of 5th Asean Sci. & Tech. Week. Hanoi: 21-23
4. Nguyễn Ngọc Châu và cs., 1999: Tạp chí Sinh học, 21(2B): 104-113.
5. Nguyễn Ngọc Châu và cs., 1999: Tạp chí Sinh học, 21(2B): 90-95.
6. Nguyễn Ngọc Châu, Lại Phú Hoàng, 2001: Tuyển tập Công trình nghiên cứu Viện Sinh thái và TNSV (1996-2000). Nxb Khoa học và Kỹ thuật Hà Nội, 175-181.
7. Nguyễn Ngọc Châu, Lại Phú Hoàng, 2001: Tuyển tập Công trình nghiên cứu Viện Sinh thái và TNSV (1996-2000). Nxb Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội, 182-187.
8. Phan K.L., Nguyen N.C. and Moens M., 2001: Russian Journal of Nematology, 9: 1-7.
9. Phan K.L., Nguyen N.C. and Moens, M., 2001: Nematology, 3: 503-514.
10. Nguyễn Đăng Tôn và cs., 2000: Những vấn đề nghiên cứu cơ bản trong Sinh học. Hội nghị Sinh học toàn quốc, Nxb Đại học quốc gia, Hà Nội: 163-166.
11. Vu Q.C. and Nguyen, N.C., 2001: Proceedings of the 20th APEC Symposium on Advanced Technology for Sustainable Agriculture, 23 April 2001, Hanoi: 68-78.
12. Phan K.L. et al., 2003: Nematology, 5: 367-382.
13. Lại Phú Hoàng và cs., 2003: Tạp chí Khoa học, 1: 100-104.
14. Lai P.H., Moens, M. and Nguyen N.C., 2003: Tạp chí Khoa học, 1: 105-109.
15. Lai P.H., Nguyen N.C. and Moens M., 2003: Tạp chí Khoa học, 1: 127-131.
16. Lại Phú Hoàng và cs., 2003: Tạp chí Bảo vệ thực vật, 188: 28-32.
17. Lại Phú Hoàng và cs., 2003: Tạp chí Bảo vệ thực vật, 190: 26-29
18. Lại Phú Hoàng, Nguyễn Ngọc Châu, 2003: Những vấn đề nghiên cứu cơ bản trong khoa học sự sống, Nxb Khoa học và Kỹ thuật Hà Nội: 463-466.
19. Phan Kế Long, Nguyễn Ngọc Châu, Maurice Moens, 2003: Những vấn đề nghiên cứu cơ bản trong khoa học sự sống. Nxb Khoa học và Kỹ thuật Hà Nội: 670-673.
20. Phan Kế Long, 2004: Những vấn đề nghiên cứu cơ bản trong khoa học sự sống hướng nông, lâm nghiệp miền núi. Nxb Khoa học và Kỹ thuật Hà Nội: 156-159.
21. Phan K.L., Moens M., 2005: BioControl (in press).
22. Phan K.L. et al., 2005: Systematic Parasitology, 60: 23-32.
23. Vũ Tứ Mỹ, Nguyễn Ngọc Châu, Lại Phú Hoàng, 2004: Những vấn đề nghiên cứu cơ bản trong khoa học sự sống hướng nông, lâm nghiệp miền núi. Nxb Khoa học và Kỹ thuật Hà Nội, 829-832.
24. Lại Phú Hoàng và cs., 2004: Những vấn đề nghiên cứu cơ bản trong khoa học sự sống hướng nông, lâm nghiệp miền núi. Nxb KHKT Hà Nội, 401-404.
25. Vũ Tứ Mỹ và cs., 2004: Tạp chí Bảo vệ thực vật, 196: 20-24.
26. Lại Phú Hoàng, Nguyễn Ngọc Châu, 2004: Tạp chí Bảo vệ thực vật, 198: 27-31.
27. Nguyễn Ngọc Châu, Phan Kế Long, 2005: Tạp chí Sinh học, 27(3):
28. Lại Phú Hoàng, Nguyễn Ngọc Châu, 2005: Tạp chí Sinh học (đang in).

**SOME PRELIMINARY ACHIEVEMENTS ON BASIC AND APPLIED  
STUDIES OF ENTOMOPATHOGENIC NEMATODES FOR BIOCONTROL OF  
INSECT PESTS IN VIETNAM**

NGUYEN NGOC CHAU, VU TU MY, LAI PHU HOANG, PHAN KE LONG

**SUMMARY**

The presentation reviewed preliminary achievements on basic and applied studies on entomopathogenic nematodes (epn) in Vietnam during the years between 1997 and 2004. The results of survey and soil sampling have isolated about 58 epn isolates of *Steinernema* and *Heterorhabditis*. These isolates were recorded from different biotypes, but most of them were isolated from natural biotypes. Of these, 43 isolates have been successfully maintained by cultures in the laboratory providing for identification and for evaluation and screening potential isolates for biological control of insect pests in Vietnam. Based on morphological and molecular characterization, 16 epn species, among them 5 new species for science were recorded. Undoubtedly these new records showed the highest diversity of epn source in Vietnam. Based on pathogenicity tests and reproduction trials in the laboratory, 7 epn isolates were selected and employed into mass production of biological pesticides named with BIOSTAR-1 to BIOSTAR-7. These epn products have been applied for biological control of about thirty important insect pests, among them the vineyard armyworm (*S. exigua*) in Ninh Thuan, tobacco armyworm (*S. exigua*) in Hòa Tay and sugarcane black scarab (*Alissonotum impressicolle*) in Thanh Hoa. Mass production in pilot scale was formulated with *in vivo* and *in vitro* technologies. The improvement of artificial media of chicken offal and culturing tool of heatproof polyethylene were developed with higher yield and allowed to moderately reduce the cost of epn products. In addition, the enhancement of control efficacy of some foliar pests and its storage formulation of epn products, however, might be established as priority needs for practice and commercial purposes. The above obstacles were solved with the screening program of epn isolates for different target insect pests and with the reducing production costs based on employing high technology with bio-reactors into epn production. These need further investment proposals with necessary funding for the accomplishment of research objectives and that for bioreactor equipment and pilot infrastructure.