

NGHIÊN CỨU CÔNG NGHỆ SẢN XUẤT VÀ ỨNG DỤNG MỘT SỐ CHẾ PHẨM SINH HỌC TRONG PHÒNG TRỪ BỆNH HẠI CÂY TRỒNG

TS. Nguyễn Thị Chính và các cộng tác viên nhóm đề tài

Khoa Sinh

Trường Đại học Khoa học Tự nhiên - ĐHQG Hà Nội

Trong báo cáo này chúng tôi đưa ra 2 phần *Sản xuất và ứng dụng các chế phẩm*:

- Thuốc trừ sâu sinh học Bt từ vi khuẩn *Bacillus thuringiensis*.

- Chế phẩm sinh học Fluorescent phòng trừ bệnh đạo ôn, khô vằn, thối thân, thối rễ ở lúa và các cây trồng khác.

I. Mở đầu

Hiện nay việc sử dụng thuốc trừ sâu hoá học và thuốc hoá học bảo vệ thực vật đã ảnh hưởng lớn đến chất lượng sản phẩm, làm ô nhiễm môi trường, ảnh hưởng nghiêm trọng tới sức khoẻ con người. Các nhà khoa học đã và đang cố gắng nghiên cứu thuốc trừ sâu sinh học và chế phẩm sinh học dùng trong bảo vệ thực vật để giảm phần nào lượng thuốc hoá học trên.

Thuốc trừ sâu sinh học từ vi khuẩn *Bacillus thuringiensis* từ lâu đã nổi tiếng về tác dụng diệt sâu cũng như tính chất thương phẩm của chúng. Hàng năm lượng thuốc Bt sản xuất ra không đủ cho nhu cầu tiêu thụ. Đã có trên 30 loại chế phẩm Bt ra đời với nhiều tên gọi khác nhau cũng như hiệu lực diệt sâu của chúng. Tính thể độc của vi khuẩn delta toxin tác dụng diệt trên 200 loài sâu hại, song người ta vẫn luôn tìm kiếm những môi trường lên men thích hợp để cho sản sinh lượng delta toxin cao nhất để tăng hiệu lực diệt sâu.

Bệnh đạo ôn, khô vằn, thối thân, thối rễ làm chết hàng loạt cây trồng là do 1 số chủng nấm mốc và vi khuẩn gây nên. Hàng năm nó đã làm giảm năng suất và sản lượng cây trồng một cách đáng kể. Trên thế giới đã đưa ra chế phẩm sinh học nổi tiếng từ một vi khuẩn có khả năng tiết sắc tố huỳnh quang và sử dụng Fe làm dừng sự phát triển của những nấm mốc thường gây bệnh đối với thực vật như *Rhizoctonia solani* (khô vằn), *Pyricularia oryzae* (đạo ôn), *Fusarium oxysporum* gây bệnh thối thân ở nhiều loại thực vật. Vì thế, chúng tôi nghiên cứu sản xuất và ứng dụng thử 1 số chế phẩm sinh học trong phòng trừ bệnh hại cây trồng.

- Chế phẩm Bt là một nhánh của dự án thuộc tổ chức bánh mì thế giới VNM 9510 - 017

- Chế phẩm Fluorescent thuộc đề tài nhánh KHCN 02- 08 Công nghệ sinh học cấp nhà nước.

II. Nguyên liệu và phương pháp

1. Chúng vi sinh vật sử dụng

- Cho sản xuất chế phẩm Bt: *Bacillus thuringiensis* var *kurstaki*. Typ 3a, 3b với 2 chủng có nguồn gốc từ Thái Lan và Tiệp ký hiệu là BT1 và BC1.

- Cho sản xuất chế phẩm Fluorescent: Vi khuẩn *Pseudomonas fluorescens*.

- Nấm mốc gây bệnh đối với cây trồng:

+ *Pyricularia oryzae* (gây bệnh đạo ôn ở lúa).

+ *Rhizoctonia solani* (gây bệnh khô vằn ở lúa).

+ *Fusarium oxysporum* (gây bệnh thối thân, thối rễ nhiều loại cây trồng).

* Sâu hại:

Sâu xanh đục quả (*Heliothis armigera*).

Sâu xanh hại cải (*Pieris rapae*)

Sâu tơ (*Plutella xylostela*)

Các loại sâu trên tuổi 1-2 do Viện Bảo vệ Thực vật (VBVTV) cung cấp.

2. Môi trường nhân giống vi khuẩn

- Môi trường thạch thịt-Pepton.

- Môi trường lên men gồm có pepton, đường, bột ngô, 1 số nguyên tố khoáng khác.

3. Máy móc thiết bị

- Máy lắc ngang.

- Nồi lên men chuẩn 2 lít và nồi lên men sục khí 10 lít, 20 lít và 200 lít tự tạo.

4. Phương pháp kiểm tra nhanh đánh giá chất lượng của chế phẩm Bt

- Nhuộm tinh thể độc soi kính hiển vi quang học.

- Soi kính hiển vi điện tử.

- Thử trên sâu hại trong phòng thí nghiệm và ngoài đồng ruộng, trên 1 số loại cây trồng (rau cải, bắp cải, su hào).

- Thử khả năng ức chế nấm bệnh bằng phương pháp khuyếch tán trên thạch đĩa

5. Chế phẩm Fluorescent chống bệnh hại cây trồng

- Sản xuất ở nồi lên men chuẩn và nồi lên men có sục khí.

- Thử ngoài đồng ruộng, trên lúa, dưa và chè.

III. Kết quả và thảo luận

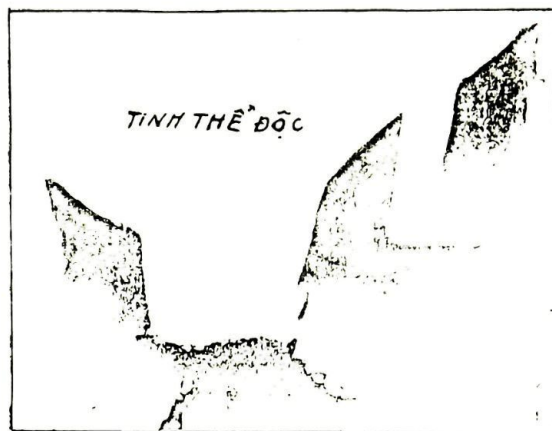
Để chế phẩm Bt có hoạt lực diệt sâu cao thì môi trường nhân giống phải tốt, giống phải thuần khiết và luôn được cải tiến.

1. Nhân giống cho sản xuất

Các chủng BT1 và BC1 được cấy vào các chai nhân giống rồi nuôi cấy lắc 24 giờ ở 30°C ta được giống cấp 2.

2. Lên men

Các chủng vi khuẩn trên (giống cấp 2) được cấy vào nồi lên men chuẩn và lên men tự tạo bằng phương pháp sục khí liên tục từ 48- 72 giờ. Khi kết thúc lên men chế phẩm được kiểm tra lại bằng cách lấy dịch lên men nhuộm rồi soi kính hiển vi quang học hoặc soi kính hiển vi điện tử. Kết quả thể hiện ở hình 1.



Hình 1: Tinh thể độc của vi khuẩn sau khi lên men dưới kính hiển vi điện tử Chế phẩm Bt có nhiều tinh thể độc là chế phẩm có chất lượng tốt.

3. Sản xuất chế phẩm Bt dạng nước và dạng bột khô

- Chế phẩm Bt dạng nước: Sau khi kết thúc lên men, kiểm tra và chỉnh lại pH để có pH=7,5. Sau đó cho chất bảo quản và đóng chai. Kiểm tra nhanh chất lượng của chế phẩm Bt bằng phương pháp nhuộm và soi kính.

- Sản xuất chế phẩm Bt dạng bột khô: Chỉnh pH rồi cho chất mang theo tỷ lệ, sau đó sấy khô ở 50°C, nghiền và đóng túi nilông, mỗi túi 50g. Chế phẩm khi dùng cho thêm 1 chút xà phòng để tăng sự hòa tan của tinh thể và tăng khả năng bám dính của chế phẩm vào cây trồng.

4. Thử tác dụng diệt sâu của chế phẩm trong phòng thí nghiệm +

Tác dụng diệt sâu của chế phẩm Bt chúng tôi đã thử trên sâu xanh, sâu tơ, sâu cuốn lá nhỏ, sâu xanh đục quả. Tỷ lệ sâu chết thể hiện ở bảng 1:

Bảng 1. Khả năng diệt một số sâu hại của chế phẩm Bt

Chủng Bt	Loại sâu hại TN 20 con/lô	Số lượng bào tử x 10 ⁹ /ml	Tỷ lệ sâu chết (%) Thời gian (ngày)			Tổng số sâu chết (%)
			1	2	3	
BT1	Sâu xanh hại cải	13	18	32	90	90
BC1		12	20	50	96	96
BT1	Sâu tơ	11,3	5	50	100	100
BC1		13,2	12	58	100	100
BT1	Sâu cuốn lá nhỏ	13	13	50	96	96
BC1		12	20	65	100	100
BT1	Sâu xanh đục quả	13	20	38	87	87
BC1		12	18	40	84	84

Qua kết quả trên cho thấy trong phòng thí nghiệm sau 3 ngày cả hai chủng BT1 và BC1 diệt 100% sâu tơ, 84-87% sâu xanh đục quả. Đối với sâu cuốn lá nhỏ chủng BT1 diệt 96%, chủng BC1 diệt 100%. Đối với sâu xanh hại cải chủng BT1 diệt 90%, chủng BC1 diệt 96%.

5. Ứng dụng thuốc trừ sâu sinh học Bt ngoài đồng ruộng

- Thử chế phẩm Bt diệt sâu ngoài đồng ruộng tại 1 số cơ sở như: Mai Dịch-Từ Liêm (Hà Nội), Tiên Sơn (Bắc Ninh)...thử trên rau bắp cải và rau cải xanh đối với sâu tơ và sâu xanh. Kết quả cho thấy chế phẩm Bt chỉ phun 1 lần đạt kết quả tốt, số sâu chết đạt 84-90%. Sau 2 ngày phun, số sâu chết đạt 55-60%. Ngoài ra chế phẩm Bt của chúng tôi còn cung cấp gần 1000 lít cho VBVTV để cung cấp cho các chi cục BVTV của các tỉnh. Theo các báo cáo của chi cục BVTV của các tỉnh tại hội thảo cho thấy thuốc Bt sinh học đã có tác dụng tốt đối với sâu tơ, sâu xanh và tác dụng nhanh trên sâu hại không kém so với việc sử dụng thuốc trừ sâu hoá học.

- Gần đây, chúng tôi có áp dụng thử tại 2 điểm thuộc Hoà Lạc: Nông trường 1A thuộc ĐHQG và một chỗ thuộc cơ sở tư nhân với 10ha đất trồng cây ăn quả, chè và rau. Kết quả cho thấy chế phẩm Bt có tác dụng tốt với 1 số sâu: sâu tơ, sâu xanh, sâu cuốn lá. Hiện nay chúng tôi vẫn đang tiếp tục thử hoạt lực diệt sâu của chế phẩm tại các điểm trên với diện tích lớn hơn.

6. Công nghệ sản xuất và ứng dụng chế phẩm phòng trừ bệnh thối thân, thối rễ ở thực vật

Như phần phương pháp đã nêu, chế phẩm này sản xuất chủ yếu ở dạng dịch thể (đóng chai 500ml). Sau khi kết thúc lên men chúng tôi cho chất bảo quản rồi đóng chai. Khi sử dụng pha loãng 100 lần.

- Thử chế phẩm trong phòng thí nghiệm với các chủng nấm mốc gây bệnh đối với thực vật (*Rhizoctonia solani*, *Pyricularia oryzae*, *Fusarium oxysporum*). Theo dõi khả năng ức chế nấm bệnh, đo vòng ức chế. Qua thí nghiệm chúng tôi nhận thấy chế phẩm có khả năng ức chế cả 3 loại nấm mốc trên.

- Thử chế phẩm đối với hạt lúa CR203 trước lúc gieo vì loại lúa này dễ bị nhiễm bệnh đạo ôn, khô vằn. Theo dõi khả năng nảy mầm của hạt và sự phát triển của lúa theo các công thức:

+ Công thức 1: Nước lã + hạt thóc.

+ Công thức 2: Chế phẩm + hạt thóc.

+ Công thức 3: Chế phẩm + Nấm bệnh + Hạt thóc.

+ Công thức 4: Nấm bệnh + hạt thóc.

Kết quả cho thấy chế phẩm đã ức chế được nấm bệnh và ảnh hưởng tốt đến sự nảy mầm của hạt đạt 84%, đối chứng hạt không được xử lý bằng chế phẩm nảy mầm đạt 64%. Nếu hạt bị nhiễm nấm bệnh mà có chế phẩm thì tỷ lệ hạt nảy mầm vẫn bình thường, cây mạ phát triển nhanh hơn so với đối chứng.

7. Sử dụng hỗn hợp 2 chế phẩm sinh học

Đối với cây trồng không phải chỉ có sâu phá hoại mà còn nhiều loại côn trùng khác và vi sinh vật gây bệnh thực vật. Để trừ hại được các bệnh trên chúng tôi đã dùng phối hợp cả 2 chế phẩm phun cho một số loại cây trồng tại nông trường 1A theo tỷ lệ Bt 3%, chế phẩm Fluorescent 1%, pha loãng chế phẩm với nước sạch rồi phun lên chè, dưa và lúa. Kết quả cho thấy:

Tỷ lệ bệnh giảm hẳn so với đối chứng. Chè phát triển tốt.

Ở lúa bệnh đạo ôn, khô vằn không phát triển được.

Dưa đã héo xanh dần trở lại.

Theo đánh giá của nông trường 1A cho thấy thuốc có tác dụng rất tốt, chè xanh tươi trở lại. Nông trường 1A đã có công văn đề nghị cho thử tiếp chế phẩm này và đánh giá tốt các loại chế phẩm trên.

IV. Kết luận

Qua kết quả nghiên cứu chúng tôi rút ra một số kết luận sau:

Đã có công nghệ sản xuất chế phẩm thuốc trừ sâu sinh học Bt dạng nước và dạng bột khô từ 2 chủng vi khuẩn *Bacillus thuringiensis* (BT1 và BC1) ở hệ thống lên men sục khí đơn giản để áp dụng tại địa phương.

Chế phẩm Bt có tác dụng tốt đối với sâu tơ, sâu xanh đục quả, sâu xanh hại cải và sâu cuốn lá nhỏ. Tỷ lệ diệt sâu cao nhất vào ngày thứ 3 đạt 90-100%. Riêng đối với sâu xanh đục quả đạt 84-87%.

Chế phẩm Bt thử ngoài đồng ruộng chỉ cần phun 1 lần, tỷ lệ sâu chết sau 3 ngày là 84-90% đối với sâu tơ, sâu xanh. Chế phẩm không gây độc hại đối với người sử dụng.

Chế phẩm Fluorescent sản xuất được từ vi khuẩn *Pseudomonas fluorescens* dạng dịch thể khi sử dụng là 1%. Chế phẩm có thể sản xuất được ở nồi lên men chuẩn, lên men sục khí đơn giản.

Chế phẩm Fluorescent có khả năng ức chế sự sinh trưởng và phát triển của 3 chủng nấm mốc *Rhizoctonia solani* gây bệnh khô vằn ở lúa, *Pyricularia oryzae* gây bệnh đạo ôn ở lúa, *Fusarium*

oxysporum gây bệnh thối thân và thối rễ ở nhiều loại thực vật khác nhưng không ảnh hưởng xấu tới sự phát triển của cây trồng.

Sử dụng hỗn hợp cả 2 loại chế phẩm trên có tác dụng tốt đồng thời với sâu hại và 1 số bệnh do nấm mốc gây nên đối với cây trồng ngoài đồng ruộng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Nguyễn Thị Chính và ctv. *Nghiên cứu công nghệ sản xuất chế phẩm hoá sinh học phòng trừ bệnh thối thân, thối rễ ở thực vật*. Báo cáo nghiệm thu nhánh đề tài 2/1999.
- [2] Nguyễn Thị Chính và ctv. *Nghiên cứu sản xuất thuốc trừ sâu sinh học Bt trong phòng trừ sâu hại cây trồng*. Báo cáo của nhánh đề tài năm 1996-1998.
- [3] Lê Lương Tề, Bemchabane, M. *Hoạt tính đối kháng của vi khuẩn Pseudomonas fluorescens đối với nấm Fusarium oxysporum gây bệnh héo vàng*. Tạp chí Bảo Vệ Thực Vật 2/1995.
- [4] Viện BVTV. *Nghiên cứu và ứng dụng kỹ thuật vi sinh vật để sản xuất và sử dụng chế phẩm sinh học trong phòng trừ dịch hại một số cây trồng*. NXBNN - 1996.
- [5] M. A. Barbosa, G. Michereff. *Biocontrol of Rhizoctonia solany in cowpea by seed treatment with Pseudomonas fluorescens*. ISR. Brasil, 1995.