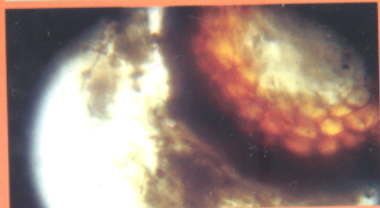


GS.TS. TRẦN VĂN MÃO



Sử dụng **VI SINH VẬT** **CÓ ÍCH**

Tập II

Ứng dụng nấm cộng sinh
và sinh vật phòng trừ sâu hại



NHÀ XUẤT BẢN NÔNG NGHIỆP

GS.TS. TRẦN VĂN MÃO

SỬ DỤNG VI SINH VẬT CÓ ÍCH

TẬP II

ỨNG DỤNG NẤM CỘNG SINH VÀ SINH VẬT PHÒNG TRỪ SÂU HẠI

NHÀ XUẤT BẢN NÔNG NGHIỆP

HÀ NỘI - 2004

LỜI NÓI ĐẦU

“Sử dụng vi sinh vật có ích” có thể giúp con người không chỉ biết quản lý nguồn tài nguyên vi sinh vật mà còn biết phát triển và sử dụng-chúng trong sản xuất nông lâm nghiệp. Tất cả chúng đều tồn tại trong tự nhiên, là thành viên của các hệ sinh thái. Chúng biến đổi theo quy luật và giữ vai trò quan trọng trong sự chuyển hoá vật chất và năng lượng của hệ sinh thái.

Tuy nhiên sử dụng vi sinh vật có ích không nêu lên những quy luật biến đổi đó mà chỉ nêu lên việc bảo vệ và phát triển chúng như thế nào cho phù hợp với lợi ích của con người.

“Sử dụng vi sinh vật có ích” chỉ giới thiệu công nghệ sản xuất nấm ăn, nấm làm thuốc chữa bệnh, nấm rễ cộng sinh, sản xuất các loài vi sinh vật diệt sâu hại và những biện pháp kỹ thuật phát triển chúng trong tự nhiên giúp ta biết nuôi trồng, gia công, chế biến, bảo vệ tạo ra một nguồn tài nguyên quý giá tăng thêm thu nhập, xoá đói giảm nghèo, tận dụng phế thải, bảo vệ môi trường...

Sử dụng vi sinh vật có ích được chia làm 2 tập:

Tập I giới thiệu công nghệ sản xuất nấm ăn và nấm làm thuốc chữa bệnh. Trong đó giới thiệu một số bài thuốc chữa bệnh thông thường bằng các loài nấm thường gặp;

Tập II giới thiệu sản xuất nấm rễ cộng sinh và một số vi sinh vật diệt sâu hại.

Trong quá trình biên soạn chúng tôi nhận được những ý kiến và sự cổ vũ nhiệt tình của các giáo sư, tiến sỹ, cán bộ lãnh đạo Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn, Hội Khoa học Lâm nghiệp Việt Nam, Nhà Xuất bản Nông nghiệp, Cục Kiểm lâm, Cục Lâm nghiệp, Cục Khuyến nông, Trường Đại học Lâm nghiệp, Viện Khoa học Lâm nghiệp Việt Nam. Chúng tôi xin chân thành cảm ơn.

Do thời gian và trình độ có hạn cuốn sách không sao tránh khỏi những thiếu sót và sai lầm. Rất mong bạn đọc góp ý kiến để lần xuất bản sau được hoàn chỉnh hơn.

Tác giả

I. ỨNG DỤNG NẤM RỄ CỘNG SINH

1. KHÁI NIỆM VỀ NẤM RỄ CỘNG SINH

Trong các loại đất có nhiều loài vi sinh vật như nấm, vi khuẩn, xạ khuẩn, nấm men. Ngoài ra còn có tảo, thể phage, tuyến trùng... Người ta tính rằng trong mỗi kg đất có khoảng $10^6 - 10^8$ vi khuẩn, 10^5 xạ khuẩn và mấy ngàn đến mấy vạn nấm. Chúng phân bố theo các điều kiện địa lý, thực bì, đất đai, loài cây khác nhau thậm chí còn theo mùa khác nhau. Chúng thường tụ tập quanh rễ và tạo điều kiện cho các vi sinh vật sinh sản phát triển.

Nấm có 100.000 loài trong đó phần lớn tập trung ở tầng đất canh tác, nấm có rễ nấm nhưng chỉ là một bộ phận của chúng.

Nấm rễ là một thuật ngữ được Frank sử dụng lần đầu tiên vào năm 1885 khi phát hiện mối liên hệ giữa sợi nấm và rễ cây trên cây thông và một số cây lá rộng, được lấy tên từ chữ Hy Lạp "Mykes" và "Rhiza". Sau đó ghép từ tiếng Anh "Myco" vào mà thành từ Mycorrhiza, nghĩa là nấm rễ. Về sau nấm của rễ nấm gọi tắt là nấm rễ, rễ có nấm cộng sinh gọi là rễ nấm.

Thực ra trong các cây hóa thạch người ta đã phát hiện rễ cây có nấm cộng sinh cách đây 370 triệu năm trong các cây họ quyết. Những cây trồng hiện nay là sự diễn biến dần từ thực vật sống trong nước khi lên cạn, gặp điều kiện không

thuận lợi, nhiều cây đã bị chết, nhưng một số cây có nấm và rễ cộng sinh ở những nơi có điều kiện sống khắc nghiệt, chúng có thể bảo tồn được. Vì vậy hiện tượng cộng sinh giữa nấm và rễ cây đã có mối liên hệ khăng khít với nhau.

Việc tìm hiểu nấm rễ cộng sinh nhất là giữa thế kỷ 20 càng rộng rãi và sâu sắc hơn. Các nhà khoa học chuyên ngành đều nhận thức rằng, tuyệt đại bộ phận thực vật đều có nấm rễ cộng sinh và là một hiện tượng phổ biến trong giới tự nhiên.

Người ta dự đoán, trên thế giới ngày nay có 1000 chi 200 họ thực vật có nấm rễ. Theo thống kê của Trappe (1962) có 535 loài nấm thuộc 81 chi 30 họ 10 bộ nấm có thể cộng sinh với trên 1500 loài cây gỗ khác nhau.

Các loại nấm cộng sinh phần lớn thuộc các bộ nấm tán (Agaricales), nấm tán 'đỏ' (Russulales), nấm gan bò (Boletales), nấm mỡ (Tricholomatales), nấm bụng (Hymenogastales), nấm cổ ngựa vỏ cứng (Sclerodermatales), nấm bụng cao (Gautieriales) và nấm phi phiến (Aphyllorphorales) trong ngành phụ nấm đảm (Basidiomycotina); các bộ nấm màng mềm (Helotiales), nấm đĩa (Pezizales), nấm cục (Tuberales) trong ngành phụ nấm túi (Ascomycotina). Những bộ nấm này hình thành nấm ngoại cộng sinh, còn một số loài nấm bộ túi trong (Endogonales) trong ngành phụ nấm tiếp hợp (Zygomycotina) có thể hình thành nấm nội cộng sinh.

Trong tự nhiên có hai loài hoặc một trong hai loài trong điều kiện nhất định, cùng chung sống với nhau, hỗ trợ cho

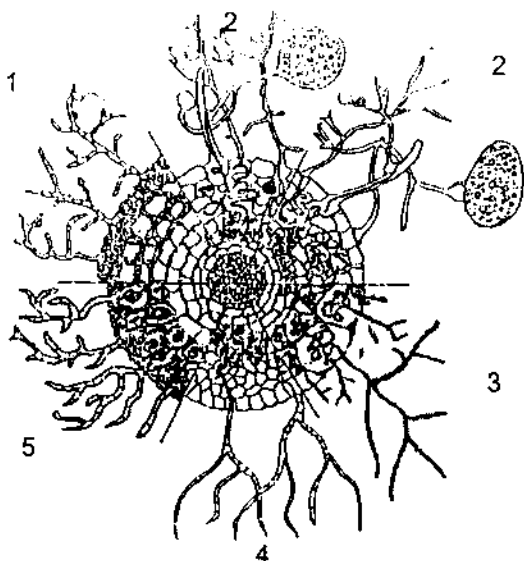
nhau và gọi là cộng sinh (symbiosis), nấm cộng sinh với sinh vật khác gọi là nấm cộng sinh (symbiotic fungi).

Rễ nấm là hiện tượng cộng sinh thực vật phổ biến trong tự nhiên. Nấm cộng sinh nhận được từ cơ thể thực vật hợp chất cacbon và các chất dinh dưỡng mà thực vật cũng nhận được dinh dưỡng và nước cần thiết, chúng giúp nhau cùng có lợi. Nó vừa có đặc trưng của bộ rễ cây thông thường lại vừa có đặc tính của nấm chuyên tính. Rễ và nấm cùng tồn tại là kết quả tiến hóa chung. Sự tồn tại của chúng có lợi cho sự sống còn của cây, có lợi cho khả năng đề kháng với điều kiện bất lợi, xúc tiến sinh trưởng và cũng có lợi cho sự sống của nấm. Mối quan hệ này phát triển đến mức rất khó phân biệt, cây thiếu nấm rễ thì không thể tồn tại, mà nấm thiếu rễ cây cũng không thể hoàn thành một vòng đời và không tiếp tục sinh sản được.

Điều lý thú là một số loài nấm cộng sinh với cây, nhưng loài khác lại ký sinh. Ví dụ nấm vòng mặt (*Armillariella*) và nấm sợi hạch (*Rhizoctonia*) cộng sinh với cây họ Lan nhưng lại gây bệnh đối với cây gỗ. Cho nên có người cho rằng hiện tượng cộng sinh của rễ nấm là một hiện tượng ký sinh đặc biệt đạt đến mức thống nhất và cân bằng cao độ của nấm trên cây.

2. CÁC LOẠI RỄ NẤM

Người ta chia rễ nấm ra làm 3 loại ngoại sinh, nội sinh và nội ngoại sinh (hình 1).



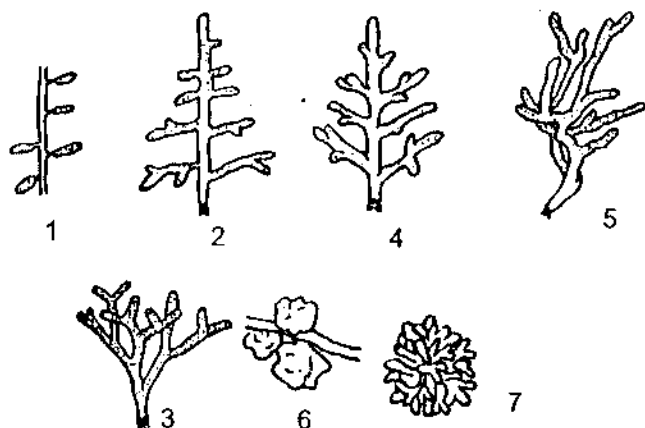
Hình 1. Mặt cắt ngang các kiểu nấm rễ

1. Nấm rễ ngoại sinh; 2. Nấm rễ bao chùm nội sinh không vách ngăn;
- 3, 4. Nấm rễ nội sinh có vách ngăn của Đỗ quyên và Lan;
5. Nấm rễ nội ngoại cộng sinh

a) Rễ nấm ngoại cộng sinh (*Ectomycorrhiza* hoặc *Ectotrophic mycorrhiza*)

Rễ nấm ngoại cộng sinh là sợi nấm bao quanh rễ dinh dưỡng chưa hóa gỗ, không xuyên qua mô tế bào mà chỉ kéo dài giữa các vách tế bào. Đặc trưng cơ bản của chúng là: (1) Trên bề mặt rễ dinh dưỡng hình thành một màng nấm (mantle) do các sợi đan chéo nhau; (2) Giữa các tế bào tầng vỏ rễ hình thành một mạng lưới do thể sợi nấm sinh trưởng mà thành và được gọi là lưới Hartig (Hartig net); (3) Do tác dụng của nấm rễ, bộ rễ ngắn, to, giòn và có màu sắc khác nhau, tán rễ và biểu bì không có lông hút, bề mặt màng có nhiều sợi nấm kéo dài ra.

Rễ nấm ngoại cộng sinh nói chung không có hình dạng và màu sắc nhất định rất dễ nhận biết bằng mắt thường. Tính đa dạng thể hiện trên loài cây chủ và nấm rễ khác nhau.



Hình 2. Hình thái rễ nấm ngoại sinh

1. Dạng đơn trực; 2. Dạng lông chim; 3. Dạng chia nạng; 4. Dạng tháp; 5. Dạng không quy tắc; 6. Dạng củ; 7. Dạng sần sùi

b) Rễ nấm nội cộng sinh (*Endomycorrhiza*)

Rễ nấm nội cộng sinh là thể sợi nấm có thể xuyên qua tế bào và rễ cây chủ, không biến đổi hình thái, bề mặt rễ không hình thành màng nấm chỉ có các sợi lúa thừa, lông hút vẫn giữ nguyên, tuy nhiên thể sợi nấm vẫn kéo dài giữa gian bào, nhưng không hình thành mạng lưới Hartig. Sợi nấm xuyên qua vách tế bào vào trong hình thành vôi hút. Những loại này rất khó nhận biết bằng mắt thường.

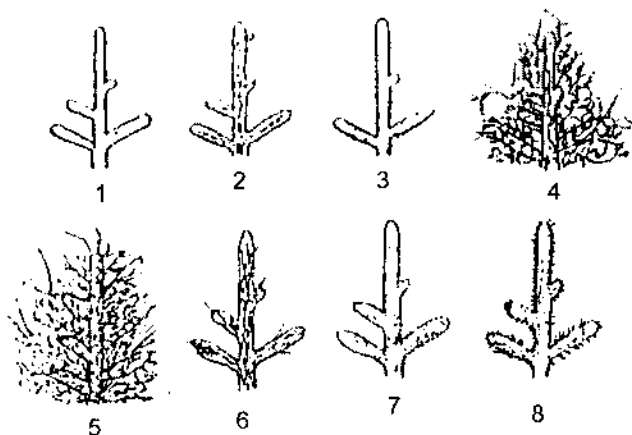
Căn cứ vào kết cấu sợi nấm có vách ngăn và vôi hút, người ta chia ra 2 loại: không có vách ngăn (*Aseptate - endotrophic mycorrhiza*) và có vách ngăn (*Septate - endotrophic mycorrhiza*).

Loại không có vách ngăn thường có dạng túi bóng (Vesicular) và dạng chùm (Arbuscular), gọi là rễ nấm dạng túi chùm (*Vesicular-Arbuscular mycorrhiza*) và gọi tắt là VA.

Loại có vách ngăn lại căn cứ vào cây chủ và hình dạng sợi nấm trong tế bào mà chia ra: rễ nấm loại đỗ quyên (*Ericaceous mycorrhiza*) sợi nấm trong tế bào xoắn vòng (Coil), rễ nấm loại họ Lan (*Orchidaceous mycorrhiza*), sợi nấm trong tế bào dạng kết thắt nút (knot) hoặc cục (peloton)

c) Rễ nấm nội ngoại cộng sinh (*Ectoendo mycorrhiza*)

Rễ nấm nội ngoại cộng sinh có đặc trưng của cả hai loại trên. Chúng thường có ở rễ các cây thông (Pinaceae), cây lòn (Betulaceae), đỗ quyên quả mọng (*Arbutus*) và cây thuộc họ lan thủy tinh (*Monotropaceae*) (Hình 3).



Hình 3. Đặc trưng bề ngoài của rễ có nấm cộng sinh thể sợi nấm và bào tử ngoài rễ

1. Nấm; 2. Dạng lưới; 3. Dạng hạt; 4. Dạng lông nhung;
5. Dạng bông; 6. Dạng lông; 7. Dạng gai ngắn; 8. Dạng gai dài

d) Các loại khác

(1) *Rễ nấm hỗn hợp (Dual mycorrhiza)*: trên cùng một loài cây có nhiều loại rễ nấm, bạch đàn, liễu, phi lao thường có rễ nấm hỗn hợp.

(2) Rễ nấm giả (Pseudo mycorrhiza)

Rễ nấm giả thường xuất hiện ở cây lá kim, đặc biệt là các cây con vàng yếu, hoặc vườn ươm thiếu ánh sáng, có lúc trên cây có phân bón nhiều. Loại này không có lưới Hartig và màng nấm nhưng trong tế bào rễ vẫn có sợi nấm nội sinh. Người ta cho rằng sự hình thành sợi nấm giả là do rễ nấm ngoại cộng sinh thoái hóa dần rồi do nấm gây bệnh xâm nhiễm mà hình thành. Những nấm gây bệnh này không ảnh hưởng lớn đến cây.

(3) Rễ nấm ngoại vị (Peritrophic mycorrhiza)

Tầng ngoài chỉ phủ một lớp lưới sợi thưa nhưng không xâm nhiễm rễ cây hoặc xâm nhiễm không nặng. Marks và Foster (1973) cho rằng đó là giai đoạn đầu của lưới Hartig. Theo Piche (1982) từ khi có lưới thưa đến khi có lưới Hartig chỉ mất 5-14 ngày. Hiện tượng này không ảnh hưởng gì đến cây.

Trên thế giới đã biết trên cây có hoa nấm ngoại cộng sinh chỉ chiếm 10%, phần lớn thuộc họ Thông (Pinaceae), họ Dẻ (Fagaceae), họ Cánh lòn (Betulaceae), họ Trám, họ Long não (Dipterocarpaceae) và họ Phi lao (Casuarinaceae); còn VA lại có mặt trên hầu hết các loài cây, khoảng 270. 000 loài, 1000 chi, 200 họ. VA có hầu hết các loài cây cỏ và một số loài cây gỗ.

Về phân bố địa lý, đa số nấm nội cộng sinh trên các loài cây gỗ nhiệt đới, các nước ôn đới và hàn đới phần nhiều là nấm ngoại sinh, trên sa mạc nấm ngoại cộng sinh khá nhiều, tuy nhiên, cũng có cây cá biệt không phải như vậy.

3. SỰ HÌNH THÀNH NẤM RỄ

a) Sự hình thành nấm rễ ngoại cộng sinh

Rất khó xác định trên thế giới có bao nhiêu loài nấm rễ ngoại sinh. Gần 20 năm nay đã có nhiều người điều tra. Guo xiuzhen đã phát hiện 59 loài, Lei Zengfu phát hiện 362 loài, 73 chi 28 họ. Tài nguyên nấm rễ cộng sinh sẽ còn được phát hiện và phong phú thêm.

Có những loài nấm chỉ hình thành thể quả dưới đất, khó phát hiện trên mặt đất. Nấm bụng râu (*Rhizopogon*), nấm mỡ đất (*Terfezia*), nấm cục (*Tuber*), nấm túi khối (*Elaphomyces*). Còn hầu hết các loài nấm ngoại sinh thường hình thành thể quả trên mặt đất như nấm gan bò (*Boletus*), nấm bao ngỗng (*Amanita*), nấm tán đỏ (*Russula*), nấm da (*Thelephora*), nấm cổ ngựa vỏ cứng (*Scleroderma*), nấm cổ ngựa đậu màu (*Pisolithus*)...

Nấm ngoại cộng sinh có nhiều loài nấm ăn được. Ở Trung Quốc có 500 loài nấm ăn trong đó nấm ngoại cộng sinh có thể ăn được chiếm 352 loài chiếm 53, 6%. Cho nên nấm rễ ngoại sinh không những là tài nguyên cộng sinh mà còn là tài nguyên nấm ăn quan trọng.

Trong cây có hoa như cây gỗ, cây bụi có 3% cây có nấm cộng sinh, hầu hết là nấm ngoại cộng sinh như họ Long não nhiệt đới (Dipterocarpaceae). Một số loài có cả nấm ngoại cộng sinh lẫn nội sinh VA, chúng có khoảng 58 loài (Abeyanake, 1980).

Theo quan điểm bệnh lý học, quá trình hình thành nấm cộng sinh cũng như quá trình xâm nhiễm, chia ra tiếp xúc, xâm nhập, ủ bệnh hay phát triển và xuất hiện. Trong đất hình thành nhiều bào tử nấm, sợi nấm, xâm nhiễm vào bộ rễ, làm cho rễ cây ngừng tăng trưởng, phình lên và hình thành bao nấm, sau đó sợi nấm phân nhánh thành bao và rễ cây phân nhánh rất khác nhau. Sợi nấm xâm nhiễm vào tầng vỏ của rễ dinh dưỡng, giữa tế bào hình thành mạng lưới gọi là lưới Hartig.

Trong một số trường hợp chúng không theo trình tự như trên mà hình thành ngay lưới Hartig rồi hình thành bao sợi nấm, hoặc có lúc không hình thành cả hai loại. Rễ nấm cây thông thường có hiện tượng này.

Phần lớn nấm rễ chỉ hình thành rễ nấm với rễ dinh dưỡng, bởi vì chỉ có nấm lấy dinh dưỡng từ rễ dinh dưỡng và trong điều kiện tự nhiên bộ rễ hình thành nấm rễ thường rất non. Nói chung, từ hạt nảy mầm ra lá thật, cây con sinh trưởng nhờ dinh dưỡng được cung cấp từ hạt, còn sau đó cây cần dinh dưỡng trong đất. Giai đoạn này nếu bộ rễ tiếp xúc với nấm rễ, thì sự hình thành rễ nấm rất nhanh và rất có lợi. Cho nên mấy năm nay, nhiều người dùng phương pháp cấy nấm vào lúc cây con mới nảy mầm ra lá thật và có thể đạt được mục đích rễ nấm hóa cây mầm.

b) Sự hình thành nấm rễ VA

Nấm VA thuộc ngành phụ nấm tiếp hợp (Zygomycotina), lớp nấm tiếp hợp (Zygomycetes).

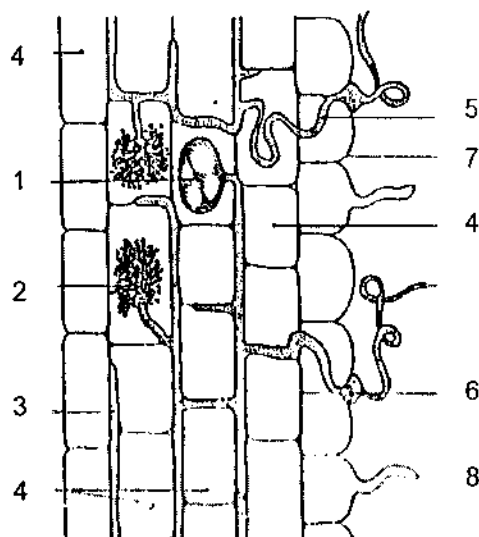
So với nấm ngoại sinh, nấm nội sinh có rất ít loài. Năm 1989 mới chỉ phát hiện 133 loài VA.

Cũng như nấm ngoại sinh, sơ xâm nhiễm của nấm rễ VA đến từ bào tử, sợi nấm ngoài rễ hoặc rễ cây đã bị nhiễm nấm. Bào tử VA trong đất, trong điều kiện thích hợp nảy mầm sinh trưởng, mọc ra ống mầm, rồi hình thành sợi nấm vách dày có đường kính 20 - 30 μ m, còn sợi nấm sau khi tiếp xúc hình thành sợi nấm vách mỏng, đường kính chỉ 2-7 μ m, do bộ rễ tiết ra mà kích thích sinh trưởng nấm rễ và hướng về rễ cây, tiếp xúc nhanh với rễ cây. Sau khi tiếp xúc chúng hình thành vôi bám tạo thành điểm xâm nhiễm và thành "dùi sợi nấm" chọc thủng vỏ rễ. Điểm xâm nhập thường cách đuôi rễ 0,5 - 1cm, còn phần đuôi rễ không bị nhiễm rồi liên tục hình thành VA mới. Nói chung điểm xâm nhiễm nấm VA là vỏ rễ cây hoặc qua lông hút mà nhiễm vào.

Khả năng xâm nhập của VA phụ thuộc rất lớn vào mức độ già, non của lông hút và loài cây chủ. Rễ cỏ 3 lá (*Trifolium repens*) thường phải sau 3 tuần, bạch đàn và cam quýt thường phải sau 1 tháng mới bắt đầu xâm nhiễm. Về tỷ lệ xâm nhiễm người ta thường lấy ngô làm đối chứng, sau 2 tuần tỷ lệ xâm nhiễm là 23-27%.

Cơ chế sợi nấm xuyên qua vách tế bào tầng vỏ rễ đến nay vẫn chưa rõ. Nhiều người cho rằng sợi nấm hình thành dùi (Holley, 1979), có người cho rằng sợi nấm hình thành

enzim (Kaspari, 1962). Nói chung, sợi nấm không xuyên qua tế bào phân sinh, cũng không qua rễ cây có nốt sần cây họ đậu.



Hình 4. *Kết cấu bao chùm của nấm rễ*

1. Bao; 2. Chùm; 3. Sợi nấm gian bào; 4. Tế bào vỏ rễ;
5. Sợi nấm trong tế bào; 6. Điểm xâm nhiễm; 7. Tế bào biểu bì; 8.
Lông hút rễ cây

Thể sợi nấm sau khi xâm nhập vào rễ có thể sinh trưởng nhanh len lỏi giữa các tế bào rồi mới vào trong tế bào, cũng có thể phát triển giữa các tế bào, nhưng không hình thành lưới Hartig như nấm ngoại sinh.

Sợi nấm sau khi vào trong tế bào liền bao lấy nguyên sinh chất, phân nhánh hình thành vòi hút, nhưng màng tế bào vẫn bao lấy nhánh sợi nấm và nguyên sinh chất. Cuộc sống sợi nấm trong tế bào rất ngắn chỉ mấy ngày đến mười

mấy ngày là bị phân giải, nhưng tế bào bị nhiễm vẫn sống và bị nhánh sợi nấm khác tạo ra nhánh sợi mới. Cho nên trong tế bào ta phát hiện cả sợi nhánh, cả xác sợi nấm.

Có lúc sợi nấm xâm nhập vào tầng vỏ ngoài không phân nhánh mà cuộn. Chúng chỉ phân nhánh ở tầng giữa và tầng trong của vỏ cây. Nhánh sợi nấm trong tế bào rất nhỏ chỉ 0,5-1,0 μ m. Chỗ nhánh phân là nơi trao đổi dinh dưỡng giữa nấm và rễ. Bởi vì ở gốc nhánh sợi nấm người ta phát hiện nhiều hạt đường và giọt dầu, và trong dịch bào phát hiện có hạt muối photphorat và một số hợp chất hoà tan. Nhánh phân ra bị phân giải lại cung cấp cho rễ cây lợi dụng.

Sự hình thành bào nang có thể có hai con đường, (1) giữa gian bào đỉnh sợi nấm phình lên mà thành, (2) trong tế bào cũng có đỉnh sợi phình lên mà thành. Cũng có một số rễ nấm rất ít hoặc không hình thành bào nang.

Sự hình thành bào nang, nhánh sợi hoặc sợi nấm nội sinh thể hiện chúng đã hoàn thành quá trình xâm nhiễm của VA, mỗi giai đoạn rất khó phân biệt, có lúc trùng lặp và giao nhau làm cho nấm rễ trong rễ không ngừng phát triển.

4. ĐIỀU KIỆN VÀ CÁC NHÂN TỐ HÌNH THÀNH RỄ NẤM

a) Tính chuyên hóa của nấm rễ

Do sự chọn lọc và tính thích nghi khác nhau, phạm vi tồn tại cây chủ khác nhau. Một số loài nấm hình thành trên nhiều loài cây. Một số loài chỉ cộng sinh trên mấy loài cây.

Wu renjian (1983) chia những loài sống trên 5 loài cây gồm 10 loài thuộc *Amanita*, *Cantharellus*; những loài sống trên 2-3 loài cây như *Boletus*, *Ramaria*; chỉ sống trên 1 loài cây có *Suillus*, *Russula*.

Có loài như *Pisolithus tinctorius* sống trên 72 loài cây, nấm cục rỗng mọc đất (*Cenococcum geophyllum*) mọc trên 75 loài cây hạt trần.

Cùng một loài nấm nhưng chủng khác nhau cũng có tính chuyên hóa khác nhau. Nấm *Lactarius deliciosus* có 3 kiểu chuyên hóa khác nhau (thông, vân sam và lãnh sam). Nhưng có loài phạm vi cây chủ rất hẹp như nấm bụng màu trắng (*Hymenogaster albellus*) chỉ có ở cây bạch đàn.

Ngoài việc chọn loài cây thích hợp, loài cây khác nhau có lúc cũng phải chọn nấm thích hợp. Một số loài cây có thể dùng nhiều loài nấm khác nhau để hình thành rễ nấm, thậm chí trên rễ của một loài cây có rất nhiều loài nấm cộng sinh. Có nhiều loài cây như thông 5 lá, dương, bạch đàn không có tính chuyên hóa đối với nấm rễ. Bạch đàn Úc tự nhiên người ta đã thu thập được 400 loài nấm cộng sinh trên 81 chi bạch đàn (Malajczuk, 1993).

Ngược lại có nhiều loài nấm rễ có tính chuyên hóa rất mạnh, như nấm ngoại cộng sinh trên họ cây long não. Như nấm cổ ngựa hạt đậu cây lên cây con giâm hom không hình thành nấm cộng sinh.

Mấy năm gia súc, các nước Đông Nam á như Indonesia, Malaysia, Philippin, Thái lan, Srilanca đều mở rộng nghiên cứu rễ nấm cộng sinh với họ cây long não -

loài cây tượng trưng cho rừng mưa nhiệt đới. Chủ yếu là nấm mỡ sấp (*Laccaria laccata*) và nấm cổ ngựa vỏ cứng (*Scleroderma*), nấm cổ ngựa đậu màu (Suhardi, 1994). Thái lan có 68 loài, Calimantan có 60 loài, Philippin có 14 loài...

Những loài cây khác nhau, các giai đoạn phát triển khác nhau loài nấm cộng sinh cũng không hoàn toàn như nhau, nói chung những cây rừng non lượng rễ nấm rất ít, rừng trưởng thành số loài chiếm nhiều nhất, nhưng rừng quá già lại rất ít. Tổ thành quần thể nấm rễ thường thay đổi nấm *Boletus* và *Amanita* thay thế dần nấm cổ ngựa vỏ cứng và chiếm dần ưu thế (Suhardi, 1994). Không những thế chúng biểu hiện sự giao thoa nhau ví dụ trên cây bạch đàn và cây dương, lúc cây còn non sự xuất hiện VA là chính, nhưng đến tuổi lớn nấm ngoại sinh chiếm ưu thế, cuối cùng là nấm ngoại cộng sinh thay thế.

Nguyên nhân của hiện tượng này có thể là do đặc tính sinh lý của cây ở các giai đoạn khác nhau.

b) Đặc tính sinh lý nấm rễ

Nấm cần nhiều hợp chất cacbon để hình thành tế bào và trong quá trình trao đổi chất để cung cấp năng lượng. Nhưng nấm là sinh vật dị dưỡng hợp chất cacbon phải từ ngoài vào, một số nấm ngoại sinh có thể nuôi cấy. Nhưng nấm nội sinh thì đến nay vẫn không có cách nào nuôi cấy cả, nên việc nghiên cứu nấm nội sinh rất khó. Song từ nhận thức về sinh lý nấm rễ, không chỉ giới hạn điều kiện nuôi cấy mà đặc tính sinh lý nấm cộng sinh cũng khó khăn hơn.

(1) Đặc tính sinh lý nấm ngoại cộng sinh

+ Nguồn cacbon

Nguồn cacbon chủ yếu là lignin và xenlulose. Những loài nấm khác nhau nhu cầu cacbon không như nhau. Phần lớn nấm ngoại sinh cần đường đơn như glucoza, fructoza, một số loài cần đường đôi như sacharoza, maltoza, xenluloza, một số ít loài cần đa đường như cồn, tinh bột.

Cùng trong một chi nấm nhu cầu về hợp chất cacbon cũng không như nhau ví dụ *Tricholoma* cần đường đơn, nhưng *Tricholoma fumosum* cần lignin và xenlulua; *Tricholoma decorum* lại cần xenluloza; *Tricholoma matsutake* cần glucoza, tinh bột và pectin.

Nấm cổ ngựa đầu màu là loài nấm rễ được ứng dụng rộng rãi nhất, hầu hết chúng cần glucoza và maltoza nhưng việc sử dụng các hợp chất đó cũng khác nhau, nguồn tinh bột hầu như không được lợi dụng. Trên đường maltoza 2, 5% có lúc sinh trưởng nhanh có lúc sinh trưởng chậm.

Không những thế, cùng một loài nấm giai đoạn sinh trưởng khác nhau, nhu cầu dinh dưỡng cũng khác nhau. Ví dụ nấm gan bò (*Boletus edulis*) ở giai đoạn sinh trưởng cần glucoza, tinh bột, và pectin nhưng đến giai đoạn sinh sản lại cần cồn và pectin.

Nấm ngoại cộng sinh nhờ dinh dưỡng cacbon của bộ rễ cung cấp; một số loài tiết ra enzym để phân giải đường. Cho nên hợp chất cacbon trong rễ có hay không, nhiều hay ít cũng quan hệ đến sinh trưởng phát triển của nấm rễ.

+ Nguồn Nito

Nói chung nấm đảm không lợi dụng nito vô cơ. Nhưng trong một số trường hợp có thể lợi dụng nito vô cơ để tổng hợp thành chất hữu cơ. Nấm rễ ngoại sinh về cơ bản cũng như vậy.

Phần lớn các loài nấm rễ đảm amon dễ hấp thu hơn đạm nitrat. Guo Xiuzhen (1989) thí nghiệm 14 loài nấm cộng sinh trên môi trường MMN cho rằng bột men, cao thịt bò và pepton nấm dễ lợi dụng, sợi nấm sinh trưởng rất tốt, nhưng đối với đạm urê thì không lợi dụng.

Loài nấm khác nhau nhu cầu nguồn nito khác nhau ví dụ, nấm *Scleroderma* và *Hebeloma* cần cao thịt bò, cao men, pepton, nhưng nấm *Pisolethus* lại không lợi dụng được. Cùng một loài nấm giai đoạn phát dục khác nhau nhu cầu dinh dưỡng cũng không giống nhau như nấm gan bò (*Boletus edulis*), giai đoạn sinh trưởng cần acid glutamic mà giai đoạn sinh sản lại cần serin.

Một số tác giả cho rằng nấm cộng sinh có tác dụng cố định nito nhưng chưa xác định được hoạt tính cố định nito rõ rệt.

+ Dinh dưỡng khoáng

Trong dinh dưỡng khoáng P là thành phần quan trọng nhất. Trong đó nucleotide và nucleoside phosphiride là thành phần quan trọng không thể thiếu được. Nhu cầu về P quan trọng hơn cả các chất khác, không chỉ vậy nấm rễ có thể làm cho cây hấp thu P ở không gian mà rễ không thể hấp thu được, nó tham gia vào vòng tuần hoàn P trong cơ

thể thực vật. Vì vậy P là một loại dinh dưỡng vô cùng quan trọng để hình thành rễ nấm.

Trong môi trường tổng hợp P vô cơ làm nguồn P như KH_2PO_4 , K_2HPO_4 , phần lớn P hữu cơ trong đất là nguồn dinh dưỡng P cho nấm rễ. Một số loài nấm có màu vàng như nấm bụng râu vàng, nấm gan bò sữa nâu là do hoạt tính của P. Chúng có thể lợi dụng muối phosphat phân giải, tích lại, vận chuyển và lợi dụng. Một số loài nấm do giai đoạn sinh trưởng khác nhau nên nhu cầu về P cũng khác nhau.

Phần lớn các loài nấm ngoại cộng sinh hấp thu P tích lại trong bao màng nấm. Jennings (1964) cho rằng P vô cơ hay hữu cơ được tích lại trong dịch bào của sợi nấm và trao đổi với tế bào chất, chỉ có một số ít tích vào trong tế bào chất. Các loài nấm bụng râu vàng, nấm gan bò sữa vàng nuôi trong dịch môi trường có $3 \times 10^{-5}\text{M}$ khoảng 3 tuần thì có khoảng 70-90% tích vào dịch bào sợi nấm.

Có điều lạ là khi P di chuyển vào dịch bào thì lượng P trong tế bào chất của bộ rễ cây giảm xuống, thể sợi nấm tiếp tục hấp thu P, khi P trong rễ cây phong phú thì sự hấp thu của nấm lại bị ngừng lại. Morsom phát hiện, tốc độ vận chuyển P của thông con có rễ nấm khá chậm, nhưng duy trì thời gian dài, cho nên tổng lượng muối P vận chuyển trên thân và lá thông nhiều hơn gấp nhiều lần so với cây không có rễ nấm.

Lượng các chất khác như Ca, S, K, Mg rễ nấm cần không nhiều lắm. Tổng nồng độ là 11, 4-3, 4M/1000 lít. Các chất vi lượng như Cu, Zn, Fe, Mn, B, Mo có thể cung

cấp cho rễ nấm hấp thu nhưng nhu cầu một lượng rất bé, khoảng 0,001-7mg/lít.

+ Các chất sinh trưởng

Trong quá trình sinh trưởng phát triển nấm rễ yêu cầu chất sinh trưởng như vitamin, chất kích thích và nhân tố sinh trưởng khác. Các chất đó nhận được từ môi trường mà nấm không tổng hợp được.

Vitamin B₁ là nhân tố sinh trưởng cần thiết cho nấm rễ, các vitamin pp, B₂, B₆ đều cần cho nấm nảy mầm và hình thành thể quả. B₂, B₆ rất cần cho sợi nấm sinh trưởng và phát triển.

(2) Đặc tính sinh lý của rễ nấm nội cộng sinh

+ Hợp chất cacbon

Nấm VA cần dinh dưỡng từ ngoài vào, như nấm ngoại cộng sinh, nhận được hợp chất cacbon từ bộ rễ. Thông qua nguyên tử đánh dấu C¹⁴ chứng minh nấm lấy hợp chất cacbon do quang hợp của cây chủ yếu là tập trung vào giọt dầu, vách tế bào và trong protein, acid hữu cơ và acid amin của tế bào nấm rễ. Người ta còn chứng minh rằng rễ VA trong cỏ 3 lá hoạt tính của nấm ngoại cộng sinh gấp 4 lần hoạt tính của rễ cây.

Trên thực tế nấm rễ sinh trưởng phát triển cần hợp chất cacbon, bộ rễ non cũng cần hợp chất dinh dưỡng. Cho nên thời kỳ đầu xâm nhiễm nấm VA rễ nấm và cây tranh dành nhau hợp chất cacbon, do không đủ dinh dưỡng cacbon nấm rễ tạm thời ngừng lại. Nhưng khi hai bên đã sinh trưởng, hiện tượng tranh giành này được dần dần giải quyết, sự tích

lũy cacbon trong cây dần tăng lên xúc tiến cả hai cùng sinh trưởng. Cho nên, Harley cho rằng sự sinh trưởng của cây có VA quyết định bởi sự tăng dinh dưỡng cho cây chủ và sự cân bằng mức tiêu hao hợp chất cacbon đã được cung cấp (Guo, 1989).

Sau khi hấp thu hợp chất cacbon do cây quang hợp sợi nấm biến chúng thành loại esterza hoặc acid hữu cơ. Những chất này cây khó hấp thu, nhưng có thể dẫn đến bậc thang nồng độ hợp chất cacbon giữa cây và nấm từ đó làm cho hợp chất cacbon không ngừng từ rễ cây đi vào cơ thể nấm tăng tác dụng trao đổi của bản thân nấm rễ, làm cho nấm và cây chủ cùng phát triển.

+ Dinh dưỡng P

VA cũng như nấm ngoại sinh đều có thể hút P trực tiếp từ đất, sau khi chuyển hóa cung cấp cho cây. Mặc dù các quan điểm lợi dụng chất P khó tan trong đất vẫn chưa đồng nhất, nhưng cây có rễ nấm hút P ở những khu vực mà rễ không hút được là không thể không thừa nhận. Hoạt tính của enzym phosphoraza tăng cao rõ rệt (Allen, 1981), thể sợi nấm cũng chứa phosphoesteraza đều lấy chất hữu cơ trực tiếp từ đất. Tốc độ hút P của sợi nấm hơn lông hút của rễ gấp 6 lần (Sander 1923).

5. TÁC DỤNG CÓ ÍCH CỦA RỄ NẤM ĐỐI VỚI CÂY TRỒNG

Rễ nấm và nấm rễ cộng sinh hay cùng sống với nhau hỗ trợ cho nhau, làm bạn với nhau, cung cấp dinh dưỡng cho

nhau. Sự giúp đỡ nhau đó làm cho cả hai đều có lợi. Đối với cây trồng phải thông qua giai đoạn cộng sinh mới hoàn thành được vòng đời hoặc chu kỳ sống của mình. Vì vậy hiện tượng cộng sinh là giai đoạn phát triển không thể thiếu được để chúng sinh tồn và sinh sản, ngoài ra chúng còn có nhiều lợi ích khác.

a) Mở rộng diện tích hấp thu của rễ cây

Sợi nấm cộng sinh là cơ quan hấp thu chủ yếu của rễ nấm, đặc biệt là khu thiếu P. Sợi nấm ngoại cộng sinh có thể kéo dài ra xung quanh rễ làm tăng tốc độ hút P lên gấp 6 lần. Tuổi thọ của thể sợi nấm trong đất cũng vượt xa lông hút của rễ cây. Thể sợi nấm trong đất rừng cũng vượt xa số lượng lông hút của rễ cây.

Nhiều chứng minh cho biết sợi nấm ngoại cộng sinh và bó nấm hình rễ của nấm cổ ngựa vô cùng có thể kéo dài 5-10cm, trong 1 g đất rừng tổng chiều dài của sợi nấm có thể đến 40m. Cho nên trong giới tự nhiên sự đan chéo nhau của thể sợi nấm hình thành mạng lưới, hợp chất cacbon của cây nhờ đó mà có sự phân phối lại, sự hấp thu P cũng thông qua sợi nấm mà phân phối đều cho cây rừng.

b) Tăng khả năng hấp thu P và dinh dưỡng của cây chủ

Trong đất đều có lượng P nhất định, những gốc phosphorat khó di động, kết hợp với Fe, Na, Al cố định trong đất mà thành các P không tan, cây không thể hấp thu chúng. Số P đó có đến 1/2-1/3 thậm chí đến 95-99%, chỉ có một lượng rất ít P hoà tan được cây lợi dụng. Lông hút của rễ chỉ hút một ít P hoà tan quanh rễ và xuất hiện hiện tượng thiếu P giả.

Nấm rễ ngoại cộng sinh làm nhiệm vụ sản sinh enzym phosphoraza chuyển P không tan thành P hoà tan, cung cấp cho cây trồng. Hoạt tính của enzym tăng gấp mấy lần so với cây không có rễ nấm. Ngoài ra, nấm rễ ngoại cộng sinh có thể sản sinh muối oxalat kết hợp với Fe, Al, muối P không tan trong đất, từ đó mà làm tăng khả năng hút P của rễ cây.

c) Sự hình thành chất kích thích sinh trưởng của nấm rễ

Trong quá trình cộng sinh với rễ cây nấm hình thành nhiều chất kích thích sinh trưởng như chất sinh trưởng tế bào (auxin), chất phân chia tế bào (cytodinin) chất mốc đỏ (gibberellin) vitamin B₁, indole-3-acetic acid (IAA). Nhiều loài nấm cộng sinh đều tiết ra trước và sau khi cộng sinh với cây.

d) Nấm rễ nâng cao sức chống chịu của cây

Nhiều nghiên cứu đều chứng minh, sau khi nhiễm nấm cho cây, cây chủ có khả năng chống khô hạn, chống chịu mặn, nhiệt độ, độ ẩm và pH cực đoan, chống lại với điều kiện kim loại nặng.

Khi trồng rừng trên núi đá vôi tỷ lệ sống của cây con nhiễm nấm cộng sinh tăng 14% trong điều kiện khô hạn tuyệt đối. Khả năng chống chịu các điều kiện khác cũng tăng lên.

e) Nấm rễ cải thiện môi trường quanh rễ

Nhiều nghiên cứu thăm dò điện tử chứng minh xung quanh rễ những cây thông xuất hiện tầng kết dính rộng gấp

nhiều lần so với cây không có nấm rễ, tăng đó tạo ra khu trao đổi ion bộ rễ tăng khả năng hấp thu và vận chuyển cây chủ, có lợi cho sinh trưởng phát triển của cây trồng.

g) Nấm rễ làm tăng khả năng kháng bệnh của cây trồng

Năm 1942 Davis phát hiện nấm rễ ngoại cộng sinh có thể làm giảm bớt bệnh hại rễ. Các năm 1968, 1982, 1994 nhiều tác giả đều đề cập đến nấm cộng sinh có thể giảm bệnh thối cổ rễ thông xuống 25%, chúng không chỉ phòng trừ bệnh mà còn xúc tiến sinh trưởng cây con. Tang Ming (1994) phát hiện sau khi bón nấm cộng sinh cho cây bạch đàn bệnh khô xanh do vi khuẩn (*Pseudomonas solanacerum* E. F. Smith) ít phát sinh, trong khi đó cây không có nấm cộng sinh tỷ lệ bệnh lên tới 25%. Các bệnh tuyến trùng, bệnh mốc sương, bệnh bướu rễ đều giảm đi rõ rệt.

6. RỄ NẤM MỘT SỐ LOÀI CÂY TRỒNG Ở NƯỚC TA

a) Rễ nấm cây bạch đàn

Theo thống kê chưa đầy đủ, bạch đàn có 700 loài, phân bố ở nhiều nơi trên thế giới.

Cây bạch đàn không chỉ là loài cây dinh dưỡng rễ nấm mà còn là loài cây có rễ nấm ngoại sinh và rễ nấm nội sinh. Năm 1956 Pryor phát hiện khi lấy đất tầng mặt của rừng bạch đàn để nuôi cây con hoặc dùng bột bào tử nấm cổ ngựa vỏ cứng vàng (*Scleroderma flavidum*) rắc vào luống đều có thể xúc tiến sinh trưởng cây con. Về sau Reddell (1988) Garbaye (1988), Malacuck (1993) Bougher

(1994) đều tiến hành nghiên cứu về nấm cây bạch đàn, không chỉ chứng minh sự tồn tại các loại nấm về bạch đàn mà còn chứng minh tác dụng xúc tiến sinh trưởng của về nấm bạch đàn.

Việc nghiên cứu về nấm bạch đàn khá muộn, bắt đầu từ thập kỷ 80 của thế kỷ 20. Trong đó Gong Mingqin (1991, 1992, 1994, 1995) nghiên cứu tương đối hệ thống, đã tiến hành điều tra nguồn về nấm ngoại cộng sinh, nội cộng sinh bạch đàn ở vùng Hoa Nam, phân lập giống nấm, kỹ thuật tiếp nấm cho cây con vườn ươm trên diện rộng và thu được hiệu quả nhất định.

(1) Nguồn nấm về cây bạch đàn

Do tính thích ứng lâu đời trong rừng nguyên thủy Úc có nguồn về nấm bạch đàn phong phú nhất Malauck (1993) báo cáo đã thu thập được 400 loài thuộc 81 chi nấm về bạch đàn, trong đó các chi *Hysterangium*, *Hy-menogaster* và *Zelleromyces*, *Macowanites*, *Martellia* khá nhiều. Các nước như Irắc (Pryor, 1956) Thái lan (Aniwant, 1994), Philippin (Aggangan, 1994) đều có thông báo tương tự.

ở Thái lan có 19 loài nấm ngoại cộng sinh thuộc 10 chi 9 họ, chủ yếu là chi nấm cổ ngựa vỏ cứng (*Scleroderma*), nấm mỡ đỏ (*Russula*), phân bố số lượng loài chủ yếu là *Typopilus robrobunneus*, *Thelephora ramarioides*, *Amanita sp.* Theo Gong ở 4 tỉnh Nam Trung Quốc có 22 loài *Pisolithus tinctorius*, nấm cổ ngựa nhiều về (*Scleroderma polyrhizum*), nấm cổ ngựa vỏ cứng nhẵn (*S.cepa*), nấm đầu gà (*Cantharellus minor*) và nấm mỡ sấp

tím (*Laccaria amethystea*), Vân Nam có nấm bụng râu vàng (*Rhizopogon luteolus*).

Rễ nấm nội sinh cũng thường thấy ở bạch đàn và được phát hiện sớm nhất (Asai, 1934), Maeda (1954). Malaczuck (1981) đã mô tả rễ nấm VA bạch đàn. Do nhiều nguyên nhân, rễ nấm nội sinh không thể bằng ngoại sinh nên người ta ít nghiên cứu đến. Xuling (1985) chỉ rõ rễ nấm VA có trên bạch đàn, Gong Mingqin phát hiện trong đất có 26 loài nấm rễ nội cộng sinh tất cả là rễ nấm VA.

Tỉnh Quảng Đông có 17 loài thuộc các chi nấm mốc túi cầu (*Glomus*), có 4 loài thuộc 2 chi *Acaulospora* và *Sclerocystis* và 1 loài thuộc chi *Scutellospora*. Trong đó có 2 loài *Glomus formosanum* và *G. geospoum* chiếm ưu thế. Điều này chứng tỏ nguồn nấm rễ VA của bạch đàn rất phong phú.

(2) Tình hình ứng dụng nấm rễ bạch đàn

Từ năm 1980 Monila và Trappe (1982) đã tổng kết thí nghiệm nuôi thuần chủng, phát hiện rễ nấm và nấm rễ có quan hệ theo 3 kiểu (1) *Kiểu rộng*, chúng ký sinh trên nhiều loài cây, phân bố rất rộng, như nấm cổ ngựa đậu màu (*Pisolithus tinctorius*) (2) *Kiểu hẹp* chỉ phân bố trên mấy loài cây như nấm gan bò (*Boletus*), nấm bụng râu (*Rhizopogon*) chỉ cộng sinh với cây lá kim ở Bắc bán cầu (3) *Kiểu chuyên hóa* chỉ trên một loài hoặc một ít loài như nấm bao xám (*Podaxis*) nấm bụng (*Hymenogaster*) chỉ trong rừng bạch đàn nguyên thủy Úc.

Rất nhiều loài nấm cộng sinh kiểu rộng, đó là cộng sinh với nhiều loài cây nhưng rất khác nhau về mức độ xâm nhiễm. Malajczuck chỉ rõ vật phân lập nấm cổ ngựa đậu màu phân lập ra có thể cộng sinh với cây, nhưng khi tiến hành cấy chéo sang cây chủ loài khác thì lại mọc chậm hơn loài cây cộng sinh trong điều kiện tự nhiên, nhưng khi cấy trở về cây chủ của nó thì sinh trưởng nhanh hơn.

Khi nghiên cứu mối quan hệ rễ nấm và dinh dưỡng, đều thấy rằng, nấm rễ trong điều kiện ở mức P thấp có thể phát huy tác dụng xúc tiến phân giải P, nhưng trong điều kiện P nhiều tác dụng này rất khó phát huy. XuDaping (1995) chỉ rõ khi P ở mức 5mg/kg đất phần lớn nấm *Pisolithus tinctorius* và *Scleroderma cepa*, đều có thể nâng cao tích lũy dinh dưỡng cây con; hàm lượng P vượt quá 20mg/kg, rễ nấm rất khó phát huy tác dụng, thậm chí còn làm cho cây sinh trưởng chậm hơn. Grove cho rằng nấm rễ khác nhau có kết quả phản ứng đối với hàm lượng P trong đất khác nhau sẽ là không giống nhau, có loài nấm có thể trong điều kiện P tương đối cao có tác dụng xúc tiến nhất định. Cùng một loài nấm nếu cây chủ khác nhau, phản ứng cũng không như nhau. Cùng một giống cây hệ vô tính, nguồn giống có quan hệ cộng sinh rất lớn. Gong Mingqing cho biết loài *Eucalyptus urophylla* vùng Hoa Nam cấy nấm mốc túi cầu (*Glomus caledonius*) 90068, kết quả tốt nhất chỉ có 1 loài nấm. Cho nên ngoài việc chọn loài nấm tốt còn phải chú ý chọn và nuôi loài nấm cộng sinh tốt nhất.

Mấy năm nay chế phẩm nấm đã phát triển đến mức dùng viên nấm (con nhộng). Kuek (1992) đã thành công sản xuất chế phẩm dạng viên bọc cho nấm cộng sinh bạch đàn, rất thích hợp cho việc dùng ở vườn ươm. Căn cứ nguyên lý này viện nghiên cứu lâm nghiệp nhiệt đới đã dùng viên bọc đất và thu được thành công. Ngoài ra Gong Mingqing (1993) đã dùng phương pháp tiêm dung dịch bào tử nấm loại TM₁ đã thu được hiệu quả tốt.

Phương pháp cấy trực tiếp vào bình nuôi cấy mô bạch đàn là hình thức tốt nhất thực hiện rễ nấm hóa cây con, không chỉ giải quyết trực tiếp vấn đề kỹ thuật sản xuất mà còn đơn giản hóa sản xuất nấm và cấy nấm. Kỹ thuật nuôi cấy mô và kỹ thuật nấm rễ kết hợp với nhau có thể làm tăng sản lượng cây con và rễ nấm. Phương pháp này đã mở rộng công tác trồng rừng và thu được hiệu quả tốt.

Sau khi cấy nấm, gặp điều kiện thích hợp bộ rễ sẽ hình thành rễ nấm và sau đó hình thành thể quả. Đó là quá trình quan trọng của sản xuất nấm ăn cũng là cách kiểm tra kết quả tồn tại và phát triển nấm cộng sinh. Mlajczus (1992, 1994) đã cấy nấm *Hebeloma westraliense* vào bạch đàn *E. grandis* và hoàn thành việc tạo rễ nấm. Năm 1994 cấy vào cây con *E. urophylla* và *E. globulus* loài nấm *Laccaria laccata* và *Setchelliogaster* đã thu được thể quả. Gong Mingqin (1995) thông báo đã tổng hợp thành công nấm *Hebeloma australiense*. Dùng *Pisolithus* H4111 cấy lên bạch đàn *E. grandis* × *E. urophylla* và cây con *E. urophylla* sau 1-1,5 năm nhiều khu đất rừng thu được thể quả nấm này.

Một vấn đề cần chú ý là trên cây bạch đàn người ta phát hiện rễ nấm VA có quan hệ rất kỳ lạ với nấm ngoại cộng sinh. Khi Chilvers (1987) cấy lên cây con bạch đàn bụi (*E. dumosa*), thời kỳ đầu VA xâm nhiễm mạnh vào cây con, về sau dần dần nấm ngoại cộng sinh không ngừng sinh trưởng và nhiễm vào cây con bạch đàn, từ đó dẫn đến trên bộ rễ có VA lại hình thành nấm ngoại cộng sinh, cuối cùng nấm ngoại cộng sinh thay thế.

Gong phát hiện tỷ lệ cây con có nấm ngoại cộng sinh trên bạch đàn lai *E. grandis* × *E. urophylla* sau 1 năm trồng trên bộ rễ có nấm ngoại cộng sinh đều có VA, thí nghiệm cấy VA trên đất vườn ươm lại tự nhiên nhiễm nấm ngoại cộng sinh. Cho nên giữa rễ nấm nội sinh và ngoại sinh có nhiều vấn đề cần được nghiên cứu. Chen Yinglong đã nghiên cứu điều kiện hình thành rễ nấm hỗn hợp và ảnh hưởng sinh lý và sinh trưởng bạch đàn chứng minh rằng rễ nấm hỗn hợp có hiệu quả đến sinh trưởng và sinh lý cây bạch đàn và đều tốt hơn cây đơn độc một loại ngoại cộng sinh hay nội cộng sinh.

Mấy năm nay kỹ thuật rễ nấm bạch đàn được nhiều nước chú ý, ngoài việc nuôi cấy, ứng dụng trên diện rộng ở Quảng Đông và Vân Nam đã thu được thành công (Gong, 1994). Tuy tài nguyên nấm rễ rất phong phú, nhưng mới chỉ sử dụng ít loài, chủ yếu là nấm cổ ngựa đậu (*Pisolithus*) và nấm cổ ngựa vỏ cứng (*Scleroderma*). Bởi vì chúng phân bố rộng, dễ phân lập, nuôi và tạo chế phẩm, ở ngoài ra loài nấm mỡ sáp (*Laccaria*) và nấm mỡ nhẵn nhậy (*Hebeloma*)

cũng được ứng dụng. Ở Vân Nam dùng loài nấm bụng râu vàng (*Rhizopogon luteolus*) cũng rất có tiền đồ. Những loài nấm đó ứng dụng trong sản xuất lâm nghiệp để xúc tiến sản xuất nhân tạo cây bạch đàn sẽ có tác dụng rất quan trọng.

Garbaye (1988) thử nghiệm cấy 6 loài nấm rễ trên bạch đàn sau 4 năm lượng tăng trưởng tăng lên 26-30%, sản lượng cũng tăng lên. Theo Bougher (1990) trong điều kiện đất chứa P thấp sau khi cấy *Laccaria laccate* và bạch đàn *E. diversicolor* trọng lượng khô bình quân tăng lên 21 lần so với đối chứng, chiều cao tăng 14,3%, đường kính tăng 13,6%, sản lượng rừng trồng tăng lên 3,12m³/ha. Ji dagan (1994) dùng nấm *R. luteolus* K80, cấy vào cây con bạch đàn xanh *E. globulus* sau 4 tháng tăng chiều cao 124%, đường kính 150%.

Nghiên cứu về VA chưa nhiều. Rải rác có những thông báo Ribxson (1993) và Zhang Meixing cấy VA vào cây con mọc trên đất mỏ than phế thải loài bạch đàn trắng (*E. camaldulensis*) và bạch đàn lá lưỡi liềm (*E. drepanophylla*) sinh trưởng cây con tăng lên 3 đến 5 lần. Gong thí nghiệm dùng nấm mốc túi cầu (*Glomus caledonium*) cấy lên cây con bạch đàn *E. urophylla*, sau 10 tháng sinh trưởng cây tăng lên 22,7-33,4%.

Ứng dụng rễ nấm cộng sinh đối với bạch đàn cần chú ý mấy điểm sau: (1) Thời kỳ hữu hiệu của chế phẩm nấm cấy lên, (2) Thể tích của chế phẩm, thể nấm sản xuất hàng loạt thì vấn đề bảo quản rất quan trọng vì trong quá trình bảo

quản sức sống của nấm sẽ giảm xuống, cho nên thời gian bảo quản dài hay ngắn ảnh hưởng trực tiếp đến sức sống và ảnh hưởng đến hiệu quả cấy. Nói chung nên bảo đảm sức sống cho nấm, thể tích chế phẩm quá lớn vận chuyển khó khăn không tiết kiệm tiền, nhưng thể tích quá nhỏ cũng khó bảo đảm sức sống tốc độ sinh sản và cộng sinh của nấm.

Trong sản xuất viên nấm (Mycobead) ở Úc đã áp dụng một số kỹ thuật, bảo quản trong nhiệt độ 4°C sau 6 tháng không mất sức sống (Kuek, 1992).

Việc nghiên cứu rễ nấm bạch đàn còn đang tiếp tục, do diện tích trồng bạch đàn càng mở rộng, nhiều vấn đề cần được làm sáng tỏ, kỹ thuật rễ nấm bạch đàn sẽ phát huy tác dụng lớn hơn trong thực tiễn sản xuất.

b) Rễ nấm cây thông

(1) Tài nguyên nấm rễ cây thông

Theo thống kê chưa đầy đủ miền Nam Trung Quốc có 7 loài thông: *Pinus massoniana*, *P. caribaeae*, *P. elliottii*, *P. taeda*, *P. yunnanensis*, *P. kesiya* var *langbianensis* và *P. densata* và đã có 168 loài nấm rễ ngoại cộng sinh thuộc 34 chi, 16 họ. Các chi nấm mỡ đỏ (*Russula*) nấm mỡ sữa (*Lactarius*), nấm gan bò (*Boletus*), nấm gan bò sữa (*Suillus*) và nấm màng sợi (*Cortinarius*). Trong đó có một số nấm cùng tồn tại trên cây lá rộng, không ít loài ăn được nhưng cũng có loài nấm độc. Một số loài nấm làm thuốc chữa bệnh. Theo nhiều tài liệu nấm cộng sinh ở miền Nam Trung Quốc gấp nhiều lần so với miền Bắc.

Tuy nhiên trong các loài trên chỉ có các loài *Pisolithus*, *Scleroderma* và *Rhizopogon* là chủ yếu, độ cao mặt biển khác nhau ảnh hưởng nhất định đến phân bố của chúng. Vùng núi cao thường có nhiều loài hơn vùng đồng bằng. Tuổi cây khác nhau cũng có nấm rế khác nhau. Thông trồng 5 năm nấm rế đơn thuần hơn, thường có 3 loài trên; đến 5-10 năm vẫn có loài trên nhưng ít hơn và bắt đầu xuất hiện loài *Suillus spp*; đến 11 - 20 năm số loài tăng lên rõ rệt gồm các loài thuộc các chi *Russula*, *Lactarius*, *Amanita* và họ Boletaceae, có loài trở thành ưu thế dưới rừng. Đến trên 20 năm thực bì, độ tàn che thay đổi số lượng nấm rế giảm xuống, thời kỳ đầu chỉ có nấm cổ ngựa các loài khác ít thấy xuất hiện.

Các nhà khoa học Nhật Bản nghiên cứu *Tricholoma matsutake* phát hiện nấm xuất hiện ở rừng thông trong vòng 20-40 năm nhưng trong 20 năm ít, 30 - 40 năm là thời kỳ sinh sản mạnh, 60 năm lại giảm xuống (Xiao, 1980).

(2) Tình hình ứng dụng nấm rế thông

Về sinh thái nấm rế, Wei Liao (1990), Bi Guochang (1989), ChenKeke (1986) rất chú ý đến sinh thái nấm rế đã nghiên cứu phân bố độ cao, loài cây và nhận xét nấm ngoại cộng sinh vùng núi cao có 7 loại: loại nhánh đơn (Uniramified ramification), loại nhánh lông chim đơn trục (Monopodial-pinnate ramification), loại phân nhánh dạng tháp đơn trục (Monopodial-pyramidal ramification), loại phân nhánh chia nạng (Dichotomous ramification), loại phân nhánh chia nạng dạng tháp không quy tắc (Irregular-

pinnate with dicholomus ramification), loại phân nhánh dạng san hô (Coralloid ramification) và loại phân nhánh dạng u (Tuberde-like ramification type).

Trong điều kiện độ cao mặt biển khác nhau tình hình phân bố nấm cũng khác nhau, theo Wei Liao (1990) trong khu rừng núi cao vùng Đông Himalaya, phân bố nấm rất không như nhau. Độ cao khác nhau, độ ẩm và nhiệt độ khác nhau số loài nấm cũng không như nhau.

Thể sợi nấm và thể quả nấm có đặc điểm khác nhau về phương thức mọc có thể được chia ra 4 loại: (1) vòng đồng tâm, (2) cụm không quy tắc, (3) phân nhánh rải rác, (4) phân nhánh đơn hướng.

Trên thế giới ứng dụng rễ nấm cây thông nhiều nhất, có lịch sử lâu đời, phạm vi rộng nhất. Trong đó thông đuôi ngựa là nhiều nhất. Hua Xiaomei (1995) đã nghiên cứu sinh thái nấm cổ ngựa đậu màu có 20 kiểu sinh thái khác nhau và chỉ rõ loài nấm tốt không phải là nấm địa phương. Cho nên nhập nội hoặc chọn loài ưu việt đối với loài cây và vùng khác nhau là rất cần thiết. Trong 118 chủng của 20 kiểu sinh thái đã chọn ra 13 chủng tốt. Loài nấm cổ ngựa đậu màu có chủng RG9019 có nguồn nitơ tốt nhất, thể sợi nấm tăng lên 860 lần, dùng phương pháp hồ rễ thông mã vĩ không chỉ xúc tiến sinh trưởng bộ rễ mà còn nâng cao tỷ lệ nhiễm nấm.

Chen Lianxing (1992) chọn ra chủng nấm cổ ngựa đậu màu tiến hành cấy cây con, sau 2 năm trồng rừng chiều cao tăng lên 179,7%, đường kính tăng 145,2% so với đối chứng,

tỷ lệ sống nâng cao 2-4 lần, trọng lượng khô tăng 4-9 lần. Trong điều kiện đất nghèo kiệt, trồng rừng núi đá dùng biện pháp kỹ thuật rễ nấm hóa là biện pháp quan trọng để phủ xanh đất trống đồi núi trọc. Lợi dụng kỹ thuật nấm rễ nuôi cây con thông đuôi ngựa có hiệu quả rõ rệt, chiều cao tăng 109,7%, đường kính tăng 66,7%, trọng lượng khô tăng 4 lần. Không những thế chất gỗ cây con cũng xốp hơn, lượng nước nhiều hơn, hàm lượng P và chất hữu cơ đều tăng lên, tổng lượng vi sinh vật bộ rễ tăng lên rất nhiều, cải thiện môi trường đất.

Ji Dagan (1995) đã nghiên cứu sâu về rễ nấm thông Vân Nam chọn 2 chủng nấm cổ ngựa đậu màu (*Pisolithus tinctorius*) và nấm bụng râu vàng (*Rhizopogon luteolus*) sản xuất 6-7 tấn /năm, cấy lên cây con thông Vân Nam thu được hiệu quả tốt. Rễ nấm hóa cây con vùng ven biển và đồi trọc đất nghèo dinh dưỡng không chỉ tỷ lệ sống cao hiệu quả tăng trưởng cũng rõ rệt, sau 1,5 năm có 40-50% bộ rễ cây con mọc thể quả nấm. Kinh nghiệm cho thấy cấy nấm không chỉ hình thành rễ nấm mà có thể phát triển nấm ăn.

Kỹ thuật ứng dụng nhiều loài nấm rễ thông đã thu được hiệu quả rõ rệt và có tác dụng vô cùng quan trọng trong việc thúc đẩy phát triển kỹ thuật rễ nấm cây rừng ở nước ta.

c) Nấm rễ trên một số loài cây khác

(1) Nấm rễ trên cây họ Lan

Họ Lan có 17.000 loài thuộc 450 chi. Trong công nghệ nuôi cấy mô và phát triển cây họ Lan, người ta nhận thấy

rằng nếu không có nấm cộng sinh việc nuôi trồng khó thành công. Hầu hết các loài nấm rễ đều thuộc ngành phụ nấm bất toàn và nấm đảm như *Corticium*, *Ceratobacidium*, *Sebacina*, *Marasmius*, *Hemmochaete*, *Armillaria*, *Fomes*, *Rhizoctonia*. Trong đó có 65 loài nấm mục gỗ. Vì vậy dùng gỗ mục để nuôi phong lan là có cơ sở khoa học.

(2) Nấm rễ cây Đỗ quyên

Nấm rễ trên cây Đỗ quyên cũng rất nhiều, trong đó hầu hết là loài nấm ngoại cộng sinh, chỉ có 1 loài nấm nội cộng sinh. Các loài nấm thuộc các chi *Peziza*, *Clavaria* cộng sinh với Đỗ quyên thường không hình thành thể quả, nên việc nghiên cứu ứng dụng chưa nhiều.

(3) Nấm rễ cây họ Long não

Nấm rễ trên cây long não rất phong phú như các chi nấm *Russula*, *Scleroderma*, *Tricholoma*, *Pisolithus*, *Strobilomyces*. Nhất là loài nấm cổ ngựa vỏ cứng phân bố rộng rãi ở nước ta cần được ứng dụng trong sản xuất.

(4) Nấm rễ cây Phi lao

Họ Phi lao có 4 chi trong đó có chi Phi lao đã được nghiên cứu áp dụng nấm rễ nhiều nhất ở các nước nhiệt đới như Indonesia, Philippin, Malaysia, Australia, Nam Trung Quốc. Các loài thuộc các chi nấm được ứng dụng tiếp cho cây Phi lao là *Pisolithus*, *Clavaria*, *Inocybe*, *Gigaspora*, *Glomus*, *Acaulospora*, *Scutellospora*.

Chi xạ khuẩn *Frankia* tuy không phải là nấm cộng sinh, nhưng là loài cố định Nitơ rất quan trọng. Chúng cùng tồn

tại và phát triển cùng với nấm rễ VA. Cùng thúc đẩy cho cây phi lao sinh trưởng phát triển. Nhất là ứng dụng loài nấm *Glomus* sẽ thúc đẩy cả 2 loại cùng phát triển.

(5) Nấm rễ cây Keo

Keo trên thế giới có khoảng 600 loài, chỉ có 60 loài keo thuộc cây gỗ mọc nhanh. Nhiều nước Đông Nam Á trong đó có Việt Nam cũng đang phát triển ở nhiều vùng.

Các loài nấm cộng sinh được ứng dụng là *Glomus*, *Gigaspora*, *Scutellospora*, *Pisolithus*, *Laccaria*, *Thelephora*.

Trên cây keo cũng hình thành vi khuẩn nốt sần *Rhizobium*, nếu có nấm cộng sinh, chúng cùng tồn tại và thúc đẩy lẫn nhau phát triển.

(6) Nấm rễ cây Mây

Năm 1991 nhiều người chứng minh trên cây mây có nấm cộng sinh *Glomus mosseae*. Nếu tiếp nấm cộng sinh đó sinh trưởng của chúng sẽ tăng lên gấp 2 lần. Về sau người ta còn tìm được các loài nấm khác như *Acaulospora*, *Sclerocytis*, *Scutellospora*...

(7) Nấm rễ cây rừng ngập mặn

Trên thế giới rừng ngập mặn có 53 loài thuộc 23 chi 16 họ, phân bố ở 40° vĩ độ Nam đến 35° vĩ độ Bắc.

Rừng ngập mặn nước ta hình thành một hệ sinh thái đặc biệt, do điều kiện lập địa, tổ thành sinh vật, kết cấu hình thái, và phương thức sinh sản lây lan đều có những đặc điểm khác nhau và rất kỳ lạ. Môi trường sinh thái xấu dần,

diện tích rừng ngập mặn càng giảm xuống nên việc bảo vệ và phát triển rừng ngập mặn càng được thế giới quan tâm.

Khi nghiên cứu ứng dụng nấm cộng sinh cho rừng ngập mặn, người ta thường dùng khoảng 13 loài thuộc chi nấm *Glomus*, 2 loài thuộc chi *Acaulospora*. Hiện nay việc nghiên cứu ứng dụng chưa nhiều, kỹ thuật gây trồng còn nhiều khó khăn. Cần được tiếp tục nghiên cứu thêm.

(8) Nấm rễ tre trúc

Nấm rễ tre trúc đã được nghiên cứu ứng dụng năm 1983, đến nay đã có khoảng 15 loài thuộc 5 chi sau: *Acaulospora*, *Entrophospora*, *Gegaspora*, *Glomus*, *Sclerocystis*. Chủ yếu trên các loài trúc mọc tản như trúc sào (*Phyllostachys pubescens*).

II. SỬ DỤNG VI SINH VẬT GÂY BỆNH CÔN TRÙNG

1. KHÁI NIỆM

Vi sinh vật gây bệnh côn trùng bao gồm nấm, vi khuẩn, virus, riketsia, động vật nguyên sinh, tuyến trùng, động vật đa bào.

Nấm là một loại vi sinh vật gây bệnh có thể làm cho côn trùng chết, thuộc các chi trong bộ mốc sâu, ngành phụ nấm tiếp hợp và các chi trong các bộ của ngành phụ nấm bất toàn. Trong đó nhiều loài thuộc các chi *Beauveria*, *Metarrhizium*, *Entomophthora*, *Coelomyces* có thể gây dịch bệnh cho sâu hại và có tác dụng khống chế tự nhiên.

Theo thống kê gần đây nấm bạch cương bào tử cầu (*Beauveria bassiana*) có phạm vi ký sinh rất rộng, có thể gây bệnh cho hơn 700 loài thuộc 149 họ 15 bộ côn trùng, hơn 10 loài nhện (Zhang, 1999). Nấm tựa mốc xanh (*Paecilomyces*) được nhiều nhà khoa học coi trọng. Chúng có thể làm cho sâu róm thông và sâu cuốn lá thông chết 90-100%.

Vi khuẩn gây bệnh côn trùng bao gồm các loài trong các họ vi khuẩn que bào mằm (Bacillaceae), nấm que ruột (Enterobacteriaceae), vi khuẩn đơn bào giả (Pseudomonadaceae). Trong các loài đó có loài chuyên ký sinh, có loài kiêm ký sinh. Chúng được sử dụng nhiều nhất là các loài thuộc chi vi khuẩn que bào tử mằm (*Bacillus*).

Vi khuẩn sản sinh ra chất độc dạng tinh thể có khả năng tiêu diệt côn trùng rất nhanh, hiệu quả phòng trừ có thể lên tới trên 90%.

Virus gây bệnh côn trùng đã được phát hiện và nghiên cứu khá lâu. Vào những năm cuối thế kỷ 20 người ta đã lợi dụng virus khống chế sâu hại. Năm 1975 người ta phát hiện chúng ký sinh trên 700 loài côn trùng và nhện u. Chúng tập trung vào các loài thuộc bộ cánh vẩy. Trong lâm nghiệp thường sử dụng virus dạng que, virus đa diện tế bào chất (CPV), gần đây người ta đã sử dụng các loại virus đa diện nhân (NPV) và virus dạng cầu (GV). Virus dạng que là virus không đẳng trục. Virus dạng đa diện là thể có nhiều mặt đối xứng nhau, có loại 12 mặt có loại 4 mặt có loại 3 mặt hoặc hình lập phương và hình không có quy tắc. Hình dạng của chúng khác nhau tùy theo các loài côn trùng. Độ lớn của virus cũng khác nhau tùy theo loài côn trùng, nói chung biến đổi từ 0,5-15 μ m, phần lớn chỉ 3 μ m.

Tuyến trùng thuộc lớp tuyến trùng (Nematoda) ngành động vật hình sợi (Nematelminthes) động vật không xương sống. Tuyến trùng hình sợi, bề mặt có lớp kitin không chia ra các đốt. Trong vòng đời có hiện tượng lột xác, có xoang và hậu môn, đường tiêu hóa được chia ra ruột trước, ruột giữa và ruột sau. Tuyến trùng ký sinh sau khi xâm nhập vào thể xoang của sâu non, nhộng và sâu trưởng thành và giết chết nhiều loài sâu hại. Tuyến trùng gây bệnh cho côn trùng có 3142 loài thuộc 27 họ. Trong phòng trừ người ta chú ý đến các họ Mermithidae, Neotylenchidae, Steinernematidae.

Những năm cuối thế kỷ 19, nhiều nhà khoa học châu Âu được Metchnikoff cổ vũ đã sử dụng nấm *Beauveria spp.*

để phòng trừ các loài sâu như ngài độc *Portheria monacha*, bọ hung *Melolontha spp.*, ong ăn lá *Diprion hercyniae*...

Muốn phòng trừ sâu hại rừng bằng vi sinh vật có hiệu quả chúng ta phải có cơ sở lý luận về hệ sinh thái và quy luật động thái quần thể loài. "Khống chế tự nhiên" hay "điều chỉnh tự nhiên" là cơ sở sinh thái học phòng trừ sâu hại bằng sinh vật học. Các loài côn trùng trong hệ sinh thái rừng tuy nhiều nhưng không gây ra dịch. Nhưng mỗi khi hệ sinh thái bị phá hoại, sẽ làm mất đi sự cân bằng sinh thái, các loài côn trùng cũng theo đó mà biến động thậm chí có thể gây dịch. Sự phát triển khoa học sinh thái và nhiều bài học kinh nghiệm thất bại đã làm cho ta phát hiện nhiều vấn đề nguy hại cần phải giải quyết, cần xuất phát từ góc độ khôi phục cân bằng sinh thái, thực hiện quản lý tổng hợp vật gây hại (IPM) mới thu được hiệu quả.

2. GÂY BỆNH TRUYỀN NHIỄM CÔN TRÙNG

Phòng trừ sâu hại thường có nhiều phương pháp. Phòng trừ bằng sinh vật học là phương pháp được chú ý nhiều hơn cả. Khi phòng trừ sâu hại người ta nhấn mạnh đến khả năng khống chế tự nhiên bởi các thiên địch như côn trùng ký sinh, côn trùng ăn thịt, vi sinh vật gây bệnh (nấm, vi khuẩn, virus, động vật nguyên sinh...). Những tác động của con người như chặt phá rừng bừa bãi, dùng thuốc trừ sâu... không chỉ ảnh hưởng đến môi trường sinh thái mà còn ảnh hưởng lớn đến khả năng phát dịch của sâu hại.

Mục đích của việc phòng trừ sâu hại bằng vi sinh vật là gây tạo nên bệnh truyền nhiễm trên cơ thể côn trùng, giảm

nhẹ mật độ sâu hại, từ đó có thể khống chế mật độ quần thể loài. Muốn thực hiện được mục đích trên ta phải tìm hiểu cơ sở lý luận và kỹ thuật ứng dụng vì sinh vật gây bệnh côn trùng trong phòng trừ. Sự chuyển hóa vật gây bệnh và vật chủ là hai mặt đối lập mâu thuẫn, nhưng những mâu thuẫn đó sẽ bị chuyển hóa trong điều kiện nhất định. Muốn tìm hiểu sinh vật gây bệnh đối với côn trùng, khả năng đề kháng của côn trùng đối vật gây bệnh cần phải phân tích mối quan hệ giữa vật gây bệnh, vật chủ trong điều kiện môi trường nhất định.

a) Sự xâm nhiễm và khả năng gây bệnh côn trùng của vi sinh vật

Quá trình từ khi vật gây bệnh lập quan hệ ký sinh với côn trùng là một quá trình nhiễm bệnh. Quá trình đó bao gồm vật gây bệnh xâm nhập vào xoang cơ thể, tồn tại và ổn định trong thể xoang. Khả năng nhiễm bệnh là khả năng lập quan hệ ký sinh. Mặt khác nhiễm bệnh chưa chắc đã gây bệnh, cũng có trường hợp nhiễm bệnh một thời gian dài côn trùng vẫn không bị bệnh. Vì vậy sự xâm nhiễm và khả năng gây bệnh là hai vấn đề khác nhau có liên quan với nhau. Khả năng gây bệnh thường là làm cho sâu chết. Một số người cho rằng khả năng gây bệnh chính là độ độc, dùng chỉ số gây chết để đánh giá. Nhưng thực ra độ độc dùng để chỉ khả năng gây bệnh đối với động vật, còn đối với côn trùng *độ độc là khả năng tổng hợp của sự phá hoại chức năng sinh lý và các cơ quan của các thể côn trùng*. Quá trình gây bệnh trước hết là sự xâm nhiễm của vi sinh vật đối với côn trùng vật chủ, đó là thời kỳ xâm nhiễm, tiếp đến là

thời kỳ ủ bệnh, rồi đến thời kỳ biến đổi bệnh, triệu chứng của các loại bệnh dần dần được thể hiện ra. Kết quả của việc tạo ra bệnh truyền nhiễm là làm cho côn trùng chết. Sau đó vì sinh vật trải qua một thời kỳ sinh sản, phát triển và thành thực. Giai đoạn này được gọi là kỳ sinh trưởng phát triển hoại sinh của vật gây bệnh, là thời kỳ cung cấp triệu chứng bệnh giúp ta chẩn đoán chính xác làm cơ sở cho việc nghiên cứu quan sát vật gây bệnh côn trùng.

Căn cứ vào nghiên cứu bệnh côn trùng, do nhu cầu lý luận và thực tiễn từ các góc độ khác nhau người ta phân chia sự xâm nhiễm và gây bệnh như sau:

(1) Căn cứ vào mức độ xâm nhiễm và gây bệnh mà chia ra: xâm nhiễm cục bộ, xâm nhiễm bộ phận và xâm nhiễm toàn thân.

(2) Căn cứ vào bộ phận bị bệnh chia ra: bệnh đường ruột, bệnh cơ quan, bệnh máu, bệnh toàn thân.

(3) Căn cứ vào tốc độ tiến triển của bệnh chia ra: bệnh cấp tính, bệnh thứ cấp, bệnh mãn tính và bệnh tiềm ẩn (ủ).

(4) Căn cứ vào nguồn vì sinh vật gây bệnh mà chia ra: bệnh từ ngoài vào, bệnh từ trong cơ thể.

(5) Căn cứ vào chủng loại vì sinh vật gây bệnh chia ra: bệnh vi khuẩn, bệnh nấm, bệnh virus, bệnh động vật nguyên sinh.

(6) Căn cứ vào phạm vi phân bố của bệnh trong quần thể côn trùng mà chia ra: bệnh phát sinh ngẫu nhiên, bệnh địa phương, bệnh dịch.

(7) Căn cứ vào phương thức lây lan mà chia ra: bệnh lây do thức ăn, bệnh lây nhờ nước, bệnh lây do tiếp xúc trực tiếp, bệnh lây do các sản phẩm khác.

(8) Căn cứ vào con đường xâm nhập mà chia ra: bệnh xâm nhập qua miệng (vi khuẩn, virus và động vật nguyên sinh), bệnh xâm nhập qua da (nấm và tuyến trùng), bệnh xâm nhập qua trứng (virus và động vật nguyên sinh).

b) Những biểu hiện bệnh côn trùng

Sau khi ủ bệnh là giai đoạn biểu hiện bệnh. Triệu chứng và bệnh trạng đều là hình thức biểu hiện của bệnh. Triệu chứng là hiện tượng không bình thường biểu hiện ra do sự tồn tại của vật gây bệnh và thay đổi kết cấu vật chủ; bệnh trạng là những phản ứng khác thường về hành vi và chức năng của vật chủ đối với vật gây bệnh. Quan sát và hiểu biết về triệu chứng và bệnh trạng là rất quan trọng để chẩn đoán và nghiên cứu chức năng bệnh lý. Nhiều người hợp nhất triệu chứng và bệnh trạng với một tên chung triệu chứng tổng hợp (Syndrome). Cũng có người tách ra. Nhưng điều quan trọng là ghi chép được các hiện tượng bệnh.

Triệu chứng bệnh bao gồm các hiện tượng sau:

(1) Phát dục không bình thường

Biểu hiện ở chỗ phát dục kéo dài, thân sâu gây yếu, đầu to, thân nhỏ. Một bộ phận trong quần thể côn trùng bị bệnh, do phát dục không như nhau mà biểu hiện tuổi sâu không đồng đều.

(2) Hành vi không bình thường

Khi bị bệnh côn trùng thường bị kích động. Sau khi bị bệnh côn trùng bước vào ngủ nghỉ sớm, thiếu phản ứng với

môi trường ngoài hoặc có thể côn trùng bị bệnh di chuyển từ nơi nghỉ đến một nơi khác, như bò lên trên cao để chết.

(3) Tiêu hóa không bình thường

Côn trùng bị bệnh thường ăn ít, hoặc ngán ăn, có lúc biểu hiện nôn ra hoặc tiết dịch thể từ hậu môn, cũng có khi phân khô, thành các viên nhỏ dính vào hậu môn, màu phân khác thường.

(4) Màu sắc khác thường

Sự biến màu thân sâu thường do nhiều nguyên nhân: (1) Do tồn tại các vật gây bệnh trên thân côn trùng, như nấm vi khuẩn chứa đầy bào tử trên cơ thể như vi khuẩn có màu trắng sữa, nấm bạch cương có màu trắng, nấm lục cương có màu xanh, nấm hồng cương có màu đỏ... (2) Do vi sinh vật tạo ra các sắc tố làm cho côn trùng biến màu, như nấm *Serratia marcescens* sinh ra sắc tố màu đỏ làm cho xác sâu biến màu đỏ. (3) Do phản ứng phòng ngự của côn trùng tạo ra sắc tố đen, thường trên thân sâu bị bệnh có các đốm đen.

(5) Biến đổi bệnh trong mô và tế bào

Do vật gây bệnh khác nhau, các cơ quan mô côn trùng và bộ phận tế bào biểu hiện không bình thường. Cho nên khi chẩn đoán bệnh, giải phẫu thân côn trùng cần giải phẫu các bộ phận khác nhau để xác định nguyên nhân; ví dụ nấm mốc sâu (*Entomophthora aulicae*) khi xâm nhiễm ban đầu phá hoại thể lipit của côn trùng, làm cho thể lipit trong tế bào bị khô và bị phân giải, nhưng khi chúng bị virus NPV xâm nhiễm các mô nhạy cảm là mô mỡ, tế bào da và tế bào gốc khí quản, nhân tế bào phình lên trong đó chứa nhiều

NPV. CPV xâm nhiễm vào ruột giữa cơ thể côn trùng làm cho ruột giữa phình lên, virus hình thành trong tế bào chất. Những biến đổi trong tế bào côn trùng có lúc không phải do ảnh hưởng trực tiếp, có lúc do tế bào thể mỡ bị biến đổi ảnh hưởng đến đường tiêu hóa làm cho sâu ngừng ăn và quá trình biến đổi đó càng nhanh, lúc này chúng chỉ dựa vào năng lượng tự có.

(6) Những triệu chứng khác

Ngoài những triệu chứng trên, côn trùng còn biểu hiện một số triệu chứng khác như hệ thống sinh dục bị ảnh hưởng làm cho lượng trứng giảm, biến đổi màu sắc làm cứng thân (như nấm bạch cương) hoặc mềm nhũn (như vi khuẩn và virus), có mùi hôi thối...

c) Đường xâm nhập

Vật gây bệnh từ ngoài vào cơ thể côn trùng bằng một số con đường, ta có thể chia ra 3 loại:

(1) Xâm nhập qua đường tiêu hoá

Trong ruột côn trùng, ruột giữa là hệ thống yếu nhất của cơ thể phòng ngự, nhiều vật gây bệnh đều thông qua ruột giữa để xâm nhập vào trong cơ thể, vi khuẩn, virus, động vật nguyên sinh, riketsia và một số tuyến trùng thường qua con đường này. Sự hình thành đường tiêu hóa là do tầng phôi ngoài của hai đoạn đầu và sau của phôi lõm vào trong thành dạng ống mà thành về sau mới phát dục thành ruột trước, ruột giữa và ruột sau. Vì vậy đoạn trước và sau của ruột có tầng biểu bì kitin hoá, khả năng phòng ngự mạnh, còn đoạn ruột giữa bắt nguồn từ tầng phôi trong thiếu mất

tăng biểu bì kitin, vật gây bệnh thường xâm nhập qua màng này để vào cơ thể.

(2) Xâm nhập qua da

Bào tử nấm sau khi nảy mầm thành ống mầm nhờ tác dụng của enzym và áp lực cơ giới xuyên qua da côn trùng. Các loài có da mỏng mềm như ruồi, muỗi, nhện nấm có thể xâm nhập trực tiếp. Một số loài có da dày, nhưng giữa các đốt lại rất mỏng nên chúng chỉ có thể thông qua các nơi này để xâm nhập. Các lỗ thở của côn trùng cũng là nơi sợi nấm có thể xâm nhập vào cơ thể côn trùng.

(3) Thông qua trứng côn trùng

Ngày xưa đã từng tranh luận, virus gây bệnh bằng cách nào. Ngày nay hầu hết đều chứng minh virus xâm nhập và lây lan thông qua trứng côn trùng rồi truyền cho các lứa sau gọi là lây truyền thẳng đứng. Phương thức lây lan thường có 2 loại: virus thông qua bên trong trứng để truyền cho thế hệ sau gọi là *lây truyền trong phôi*; virus dính vào trứng côn trùng khi trứng nở sâu non ăn vỏ trứng nuốt phải virus rồi bị nhiễm bệnh gọi là *lây nhiễm bề mặt trứng*. Virus lây qua trứng có tính tiềm ẩn trong cơ thể côn trùng cho đến khi sâu trưởng thành đẻ trứng, rồi xâm nhập các tuyến phụ của bộ máy sinh dục, cho nên thông qua giao phối côn trùng cũng bị lây bệnh.

d) Cơ chế gây bệnh

Không phải như thuốc hóa học, vi sinh vật gây bệnh phải trải qua một quá trình sinh lý phức tạp, trong vật chủ

chúng tiến hành trao đổi chất theo hướng nhất định, bao gồm sự hấp thu vật gây bệnh đồng hóa trong dịch thể vật chủ, phân giải và phá hoại các mô cơ quan, sản sinh chất độc gây ảnh hưởng cơ năng sinh lý, phần lớn các vật gây bệnh bịt chặt các cơ quan và ảnh hưởng đến tác dụng hô hấp côn trùng.

(1) Ảnh hưởng đến tác dụng hô hấp

Hầu hết vật gây bệnh sinh sản dựa vào năng lượng của tế bào vật chủ. Những côn trùng bị bệnh lượng oxy tiêu hao mất nhiều làm cho hô hấp vật chủ phải tăng nhanh, sự sinh sản của vật gây bệnh cũng tăng lên. Sự tiêu hao oxy là dấu hiệu của sự trao đổi chất, là nhu cầu tổng hợp của tế bào vật gây bệnh.

(2) Ảnh hưởng của tác dụng trao đổi chất của vật gây bệnh

Hoạt động trao đổi chất của vật gây bệnh trong vật chủ đương nhiên ảnh hưởng rõ rệt đến sự trao đổi chất của vật chủ. Vi khuẩn que trong bộ hung không thể hiện sinh ra chất độc mà tác dụng gây chết của chúng là làm cho côn trùng đói và bịt các mô cơ quan côn trùng.

Bản thân NPV là ADN, CPV là ARN, sinh sản của chúng là sự tổng hợp và tái tổ hợp ADN hoặc ARN, cho nên việc gây ảnh hưởng đến sự tổng hợp ADN và ARN là làm thay đổi ADN và ARN trong tế bào vật chủ. Khi nghiên cứu ARN trong ruột tằm nhà, Lin Chuanlai (1965) phát hiện ARN trong lạp thể chiếm 20% nhưng tằm bị bệnh CPV chỉ chiếm 10%.

(3) Tác dụng của chất độc

Chất độc là một trong những cơ chế quan trọng để gây bệnh. Nhiều loài nấm xâm nhập vào da chỉ dừng lại ở tầng đáy vật chủ đã bị chết. Khi bào tử nấm bạch cương trong máu, bọt xít đã bị tê liệt, sau khi chết thể nấm mới hình thành sợi nấm xâm nhập vào thể mỡ, thịt và khí quản. Khi giải phẫu côn trùng người ta thấy các đốt thần kinh của côn trùng khoẻ màu lục nhưng ở những con bị bệnh lại biến màu tím, thậm chí có màu đỏ sẫm. Rõ ràng sự tê liệt và chết của bọt xít là do nấm tiết ra chất độc.

Chất độc thực chất là chất trao đổi độ độc của nó tùy theo sự nhạy cảm của từng loài côn trùng. Có lúc chất độc là một loại ezym hoặc chất ức chế enzym. Enzym là chất có lượng phân tử cao. Vật gây bệnh tiết enzym vào cơ thể có tác dụng rất mạnh đến ruột hoặc máu côn trùng. Tìm hiểu vấn đề này thuộc lĩnh vực chuyên môn của bệnh lý côn trùng.

e) Tính chuyên hóa và tính gây bệnh côn trùng

(1) Tính chuyên hoá

Tính chuyên hóa chỉ phạm vi vật chủ rộng hay hẹp, nghĩa là khả năng gây bệnh trên các loài côn trùng khác nhau. Những vật gây bệnh lý tưởng là làm sao gây bệnh được trên nhiều loài côn trùng gây hại mà không ảnh hưởng đến côn trùng có ích, động thực vật và con người.

Nói chung trong các loài nấm, nấm mốc sâu (*E. sphaerosperma*) có tính chuyên hóa mạnh, còn nấm bạch

cương (*Beauveria*) và nấm lục cương (*Metarrhizum*) có tính chuyên hóa yếu, có thể gây bệnh cho 200 loài sâu khác nhau. Các biến loài khác nhau đối với các loài sâu khác nhau cũng có tính chuyên hóa khác nhau, ví dụ loài nấm lục cương bào tử ngắn (*M. anisopliae* var *anisopliae*) gây bệnh mạnh trên bộ hung vai nhọn nhưng đối với bộ hung cánh cam lại ít tác dụng. Nấm lục cương bào tử dài (*M. anisopliae* var *major*) lại có tác dụng gây bệnh mạnh trên bộ hung cánh cam.

Theo nhiều nghiên cứu cho biết virus NPV có tính chuyên hóa mạnh, còn CPV có tính chuyên hóa yếu, có thể gây bệnh cho 11 loài 4 họ của bộ cánh vẩy.

Vi khuẩn là loại có tính chuyên hóa yếu, gây bệnh cho rất nhiều loài sâu hại thuộc bộ cánh vẩy, bộ cánh cứng, bộ cánh màng, bộ hai cánh, bộ cánh thẳng. Người ta thường dùng 5 loài biến chủng của vi khuẩn *Bacillus thuringiensis* phòng trừ sâu hại rừng và hiệu quả trên 1 loài côn trùng có sự khác nhau rất lớn. Có thể có hiệu quả cao đối với loài côn trùng này nhưng lại có hiệu quả thấp đối với côn trùng khác. Cho nên trong quá trình phòng trừ ta cần tiến hành chọn và tạo chế phẩm.

(2) Tính gây bệnh

Tính gây bệnh côn trùng là khả năng phá hoại của vật gây bệnh đối với côn trùng. Tính gây bệnh cũng thường thay đổi do phương pháp sử dụng và con đường phòng trừ khác nhau thậm chí có thể làm cho khả năng gây bệnh bị giảm hoặc bị thoái hoá.

+ Sự giảm tính gây bệnh

Sự giảm tính gây bệnh có thể có 4 nguyên nhân:

- Do điều kiện môi trường không bình thường. Ví dụ khi nuôi vi khuẩn nếu $\text{pH} = 9$ thì vi khuẩn không thành tính thể độc và mất khả năng gây bệnh.

- Do nuôi trong môi trường nhân tạo liên tục kéo dài. Ví dụ loài mốc rệp (*erynia aphidis*) chỉ nuôi trong 1 năm tính gây bệnh đã giảm xuống. Năm bạch cương nuôi chuyển trong môi trường nhiều lần tính gây bệnh cũng giảm, sau 15 ngày diệt bọ lá là 75-100%, đến lượt cấy 3- 16 tỷ lệ chết 100%, nhưng đến lần cấy 30 tỷ lệ chết chỉ 50%.

- Trong điều kiện nhiệt độ cao không bình thường cũng làm cho loài biến dị, từ đó làm mất tính gây bệnh.

- Phòng trừ không đúng đối tượng cũng làm giảm và mất tính gây bệnh.

+ Các phương pháp làm tăng tính gây bệnh

- Biện pháp chuyển vật chủ, ví dụ vi khuẩn que dạng sáp (*Bacillus cereus*) qua đông rồi chuyển vào ngài cuốn lá tảo 8 lần khả năng gây bệnh của chúng tăng lên 50 lần, có thể làm tăng khả năng gây độc đối với vật chủ mới. NPV của ong cắn lá thông cấy vào sâu non của ngài độc ta sẽ thu được giống mới, độ độc có thể tăng gấp 12 lần.

- Khi sản xuất chế phẩm cần chú ý bảo quản giống nguyên thủy, cố gắng tránh cấy chuyển nhiều lần qua nhiều thế hệ.

- Thông qua phương pháp chọn lọc trong tự nhiên cố gắng chọn những giống có khả năng gây bệnh mạnh hoặc biến những giống có khả năng gây bệnh yếu thành những giống gây bệnh mạnh rồi chọn lọc chúng.

- Dùng đột biến trong vi sinh vật là phương pháp khá phổ biến, thông thường dùng tia tử ngoại, tia X, tia phóng xạ CO^{60} và ánh sáng kích thích. Nhưng trong việc dùng đột biến đối với nấm gây bệnh còn gặp nhiều khó khăn. Trong công nghệ tế bào dùng phương pháp lai tạo giống mới ta có thể tìm ra giống nấm mới có khả năng gây bệnh mạnh hơn và cải tiến được phổ phạm vi vật chủ.

g) Tính chống chịu của côn trùng với vật gây bệnh

Do sự phát triển sản xuất, sức chống chịu bệnh của côn trùng đối với vật gây bệnh càng được chú ý, cơ năng chống chịu của chúng để bảo vệ các côn trùng có ích phòng trừ côn trùng gây hại có ý nghĩa rất quan trọng.

Côn trùng là loại biến đổi nhiệt độ, cá thể nhỏ, tuổi thọ ngắn, hệ tuần hoàn mở. Đặc điểm sinh lý của ngủ nghỉ, biến thái, lột xác không như động vật có xương sống. Cho nên tính chống chịu cũng có những đặc điểm riêng. Côn trùng có tính miễn dịch yếu, nói chung sự phòng ngự của côn trùng chủ yếu là bộ phận bên ngoài và phản ứng phòng ngự tự nhiên trong xoang máu. Phản ứng phòng ngự bên trong của động vật có xương sống rất mạnh, phản ứng phòng ngự các vật xâm nhập chủ yếu là bạch cầu trong máu. Chúng có thể sản sinh ra khả năng miễn dịch. Mặc dù thể hệ sau có số lượng ít nhưng có tác dụng miễn dịch rất

manh để kéo dài tuổi thọ, quần thể loài cũng được kéo dài. Côn trùng không có bạch cầu, nên hiệu ứng phòng ngự rất thấp, sau khi vật gây bệnh xâm nhập thường làm cho côn trùng chết, nhưng do lượng cá thể của thế hệ sau rất nhiều nên quần thể loài côn trùng có thể tồn tại.

Khả năng phòng ngự của côn trùng có thể chia ra phòng ngự của da, phòng ngự của hệ tiêu hóa và phòng ngự của xoang máu. Da và đường tiêu hóa là tuyến phòng ngự đầu tiên. Sau khi vi sinh vật xâm nhiễm vào đây đều bị ngăn cản hoặc bị tiêu diệt. Vượt qua phòng tuyến này vi sinh vật nằm trong xoang dịch thể enzym hoà tan vi khuẩn hoặc nấm, hệ thống enzym phenoxydaza hình thành có tác dụng hình thành sắc tố đen và tế bào nuốt tránh được sự xâm nhiễm của vi sinh vật.

Khả năng đề kháng của da và ruột chủ yếu là chất kitin và tầng biểu bì. Phản ứng đề kháng được thể hiện nhiều mặt. Thành phần hóa học của chất kitin là đa đường và protein, còn thành phần của tầng biểu bì là protein và lipit. Hiện tượng lột xác sớm hoặc ở ruột hình thành chất nhầy đẩy ra sau cùng với vật gây bệnh là một phản ứng đề kháng. Trong dịch tiêu hóa có thể tiết ra một số chất màu đỏ đề kháng với virus xâm nhiễm. Thay đổi pH trong các loài côn trùng thể hiện sự đề kháng với vật gây bệnh... Khả năng đề kháng của máu côn trùng chủ yếu là hình thành các dạng tế bào nuốt của côn trùng, hình thành sắc tố đen và hệ thống enzym, hình thành protein da cứng để chống lại vật gây bệnh.

h) Ảnh hưởng của điều kiện môi trường đến khả năng gây bệnh

Khả năng gây bệnh của vi sinh vật phải có điều kiện thuận lợi. Khi có vật gây bệnh và vật chủ nhưng không có điều kiện môi trường thuận lợi thì cũng không có khả năng xâm nhiễm. Hệ thống môi trường là tổng hợp các nhân tố có liên quan với nhau. Đối với vật gây bệnh, vật chủ là môi trường và ngược lại vật gây bệnh là môi trường của vật chủ. Các nhân tố môi trường bao gồm các nhân tố vật lý hóa học, nhân tố sinh vật và hoạt động của con người.

Ảnh hưởng của môi trường thể hiện 2 mặt, một mặt là tập tính sinh vật của côn trùng vật chủ, tìm thức ăn, di chuyển, hoạt động giới tính từ đó mà ảnh hưởng đến sự xâm nhiễm của vật gây bệnh; mặt khác điều kiện môi trường thay đổi phá hoại chức năng sinh lý bình thường của côn trùng làm giảm sức đề kháng của chúng.

Do côn trùng là loại biến đổi nhiệt độ, sự thay đổi nhiệt độ môi trường ảnh hưởng trực tiếp đến biến đổi nhiệt độ cơ thể côn trùng. Trong phạm vi nhất định, nhiệt độ cao sức ăn tăng nhanh. Do vật gây bệnh xâm nhiễm qua đường thức ăn (trừ nấm). Nhiệt độ cao đã tạo điều kiện cho sự xâm nhiễm. *Sử dụng vì khuẩn trong điều kiện nhiệt độ cao hàng ngày, mỗi ngày vài giờ có nhiệt độ trên 15°C là có thể thoả mãn hiệu quả phòng trừ.* Nhưng khi nhiệt độ dưới 10°C sâu non ngừng ăn phòng trừ sẽ không hiệu quả.

Côn trùng không ngừng lấy nước của môi trường và không ngừng thải nước ra. Côn trùng qua đông cũng cần

được bổ sung nước nên thường qua đông nơi ẩm ướt, là nơi nấm sinh trưởng phát triển. Vì vậy, *sử dụng nấm phòng trừ sâu trong thời gian qua đông rất có hiệu quả.*

Khi mật độ quần thể loài côn trùng cao sẽ gây ra thiếu thức ăn và trao đổi chất mạnh vì vậy phá hoại môi trường tốt của nó, giảm tính đề kháng và dễ gây ra bệnh.

Một số chất kích thích gây "cảm ứng căng thẳng" (stress) đối với côn trùng (như nhiệt độ cao, nhiệt độ thấp, các chất hóa học, formalin, EDTA...) đều làm cho sinh lý côn trùng bị rối loạn, xúc tiến sự phát bệnh và sự xâm nhiễm của bệnh. Khả năng đó có thể tăng lên hàng ngàn vạn lần. Ngày nay vấn đề này càng được chú ý hơn. Nhân tố kích thích này trong tự nhiên được giải thích các hiện tượng dịch bệnh côn trùng do một số ít virus tồn tại trong tự nhiên có điều kiện nhân tố kích thích làm số lượng côn trùng bị giảm và mất hẳn.

Môi trường có thể trực tiếp ảnh hưởng đến vật gây bệnh làm cho chúng chết, nhưng môi trường cũng làm cho vật gây bệnh sinh trưởng, phát triển, sinh sản, xâm nhiễm, lây lan. Các nhân tố nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng, cây trồng, đất, tiểu khí hậu và tiểu sinh cảnh đều ảnh hưởng đến vật gây bệnh và vật chủ côn trùng.

Nhiệt độ cao không có lợi cho sự bảo tồn vật gây bệnh, cũng không có lợi cho vật chủ tồn tại trong tự nhiên. Nhiệt độ cao có thể gây chết vật gây bệnh, nói chung rất ít phát sinh, nhưng trong quá trình tạo chế phẩm vi sinh vật cần

chú ý tránh để tổn hại chúng khi nuôi dưỡng, sấy khô, nghiền bột.

Ảnh hưởng của ánh sáng chủ yếu là sự phá hoại của tia tử ngoại và nhiệt độ của tia hồng ngoại. Trường hợp này ít xảy ra nhưng khi sử dụng ta cần chú ý.

Độ ẩm là nhân tố quan trọng để nấm xâm nhiễm vào côn trùng. Sự xâm nhiễm và lây lan của nấm gây bệnh đều phải nhờ độ ẩm cao. Sự xâm nhiễm vào côn trùng của tuyến trùng thường xảy ra trong các khu vực ẩm ướt. Ví dụ Tuyến trùng xâm nhiễm vào loài bọ xít thường được phát hiện trong các khu hoang mạc ẩm ướt không thoát nước.

Cây trồng là nhân tố quan trọng của sự xâm nhiễm của vật gây bệnh côn trùng. Nếu sử dụng chế phẩm vi khuẩn vào mùa xuân, cành lá của cây nhiều sẽ làm giảm bớt lượng lắng đọng của bào tử và tinh thể vi khuẩn. Những lá mới ra không có vi khuẩn. Cho nên sau khi xử lý nhiệt độ mấy ngày, mỗi ngày xử lý mấy giờ trên nhiệt độ khởi điểm hoạt động của côn trùng mới được sử dụng, tăng lượng thuốc mới để bù lại sự giảm hiệu quả của nhiệt độ thấp.

Đất là môi trường sống của nấm, vi khuẩn, virus. Virus có thể tồn tại trong đất mấy năm vẫn còn có sức sống, chúng tồn tại dưới mặt đất chỉ mấy cm. Hiệu quả phòng trừ sâu bằng chế phẩm Boverin cũng có liên quan với loại đất. Một số loại đất cũng có sức thu hút bào tử, pH thấp vi khuẩn que có thể diệt bọ hung.

Thông thường người ta coi nhẹ tiểu khí hậu khi phòng trừ sâu bằng vi sinh vật, nhưng chỉ có khi vật gây bệnh và

vật chủ thỏa mãn được yêu cầu mới có thể có điều kiện sinh trưởng và xâm nhiễm. Vi khuẩn và virus thường không ưa ăn thức ăn ở bề mặt vỏ cây, nhưng nấm lại ưa mọc ở lỗ đục của vỏ trong điều kiện ẩm ướt. Cho nên một có thể bị chết do nấm. Ngoài ra, trong điều kiện khô hạn vôi vôi dễ bị nhiễm bệnh bởi nấm bạch cương. Điều này có thể giải thích quanh da thân vôi vôi có tầng không khí độ ẩm khá cao.

Mối quan hệ giữa vật gây bệnh và sinh vật khác khá phức tạp, có thể biểu hiện cùng tồn tại, hỗ sinh hoặc đề kháng. Sự hỗ trợ có thể làm bệnh tăng lên, sự đề kháng có thể làm bệnh giảm xuống.

Thực ra rất khó phân biệt mối quan hệ giữa vật gây bệnh, côn trùng và môi trường. Ví dụ khi nhiệt độ cao sức đề kháng của côn trùng đối với virus tăng cao hoặc giảm bớt tính gây bệnh của virus. Đối với động thực vật khi gặp nhiệt độ cao cũng có thể đề kháng được một số bệnh do vi sinh vật nên người ta thường dùng nhiệt để chữa bệnh. Trong tầm ngủ nghỉ nhiệt độ tăng lên 37°C , tác dụng gây bệnh của virus CPV, SFV đều cho kết quả phòng trừ rõ rệt. Căn cứ vào tác dụng này, mùa hè oi bức các quần thể loài sâu hại trong thiên nhiên phun chế phẩm vi sinh vật có thể bị thất bại là do khả năng ủ bệnh của vật gây bệnh trên cơ thể côn trùng gây ra. Trong điều kiện khắc nghiệt những côn trùng đã ủ bệnh thường dễ bị chết hơn côn trùng khỏe.

Nói chung nhiệt độ cao có thể tăng nhanh quá trình phát triển bệnh vi khuẩn. Ví dụ sau khi xử lý loài sâu xám nuôi trong nhiệt độ 34°C có xử lý chế phẩm tỷ lệ sâu chết tăng

dẫn theo thời gian, sau 60 ngày số sâu chết đạt 100%, trong khi đó công thức xử lý ở nhiệt độ 27°C sau 21 ngày mới có sâu chết 33% và không xử lý ở 27°C và 34°C đều không có sâu chết.

3. ỨNG DỤNG NẤM TRONG PHÒNG TRỪ SÂU HẠI

Nấm là một quần thể vi sinh vật quan trọng, so với vi khuẩn và virus nấm là loại vi sinh vật cỡ lớn, nhân thật, không có chất diệp lục, có sự phân hóa tế bào hữu tính, ngoài một số có đơn bào, hầu hết là thể sợi nấm phân nhánh hoặc không phân nhánh. Chúng bao gồm nấm hoại sinh và nấm ký sinh, trong điều kiện nào đó có thể biến thành nấm ký sinh. Nấm gây bệnh côn trùng đã phát hiện được 750 loài, nhiều hơn động vật có xương sống (200 loài) và ít hơn nấm gây bệnh thực vật (1300 loài).

Phần lớn nấm gây bệnh côn trùng thuộc các bộ nấm mốc sâu (Entomophthorales) trong ngành phụ nấm tiếp hợp (Zygomycotina) và các bộ trong lớp nấm sợi (Hyphomycetes) ngành phụ nấm bất toàn (Deuteromycotina).

a) Nấm mốc sâu ký sinh côn trùng

(1) Hình thái nấm mốc sâu

So với nấm bất toàn, nấm mốc sâu có đặc trưng hình thái khá phức tạp. Chúng bao gồm các phần như sau:

+ *Thể sợi nấm*. Sợi thường rất thô, đường kính lớn ít phân nhánh hoặc phân nhánh nhiều, thể sợi đơn bào gọi là

thể nấm. Chúng thường tồn tại trong xoang máu côn trùng. Thể nấm hình cầu, hình bầu dục hoặc hình quả thận. Thể nấm nảy mầm thành sợi nấm, sợi nấm lại phân hóa thành cuống bào tử, thể dạng túi và rễ giả. Sợi nấm và thể nấm có thể chịu đựng được các điều kiện bất lợi.

+ *Cuống bào tử phân sinh*. Trong điều kiện thuận lợi sợi nấm xuyên qua da côn trùng và hình thành trên bề mặt một lớp cuống bào tử, cuống bào tử phân nhánh hoặc không phân nhánh, phía đỉnh hình thành tế bào sinh bào tử, 1 nhân hoặc nhiều nhân. Khi hình thành bào tử, chất nguyên sinh được vận chuyển đến đỉnh sau khi thất lại và hình thành vách ngăn hình thành bào tử phân sinh. Bào tử có thể bật ra xa mấy cm.

+ *Bào tử phân sinh*. Bào tử phân sinh của nấm mốc sâu có nhiều hình dạng như hình bầu dục, hình quả lê, hình cầu, hình chuông... có u nhỏ. Có sức bật ra xung quanh trên xác sâu thường có các văng bào tử. Đó là dạng đặc biệt của nấm mốc sâu. Bào tử có 2 loại: một vách và 2 vách tế bào; số lượng nhân tế bào cũng khác nhau theo loài. Bào tử phân sinh được chia ra sơ sinh và thứ sinh. Những bào tử từ cuống bật ra xung quanh gọi là bào tử sơ sinh. Loại bào tử này nếu không gặp vật chủ, sau khi nảy mầm và sợi nấm, sợi nấm sẽ hình thành dạng bào tử khác gọi là bào tử thứ sinh. Bào tử thứ sinh này nếu gặp vật chủ côn trùng vẫn có thể xâm nhiễm, cũng có thể hình thành bào tử thứ sinh lần 2, lần 3, lần 4...

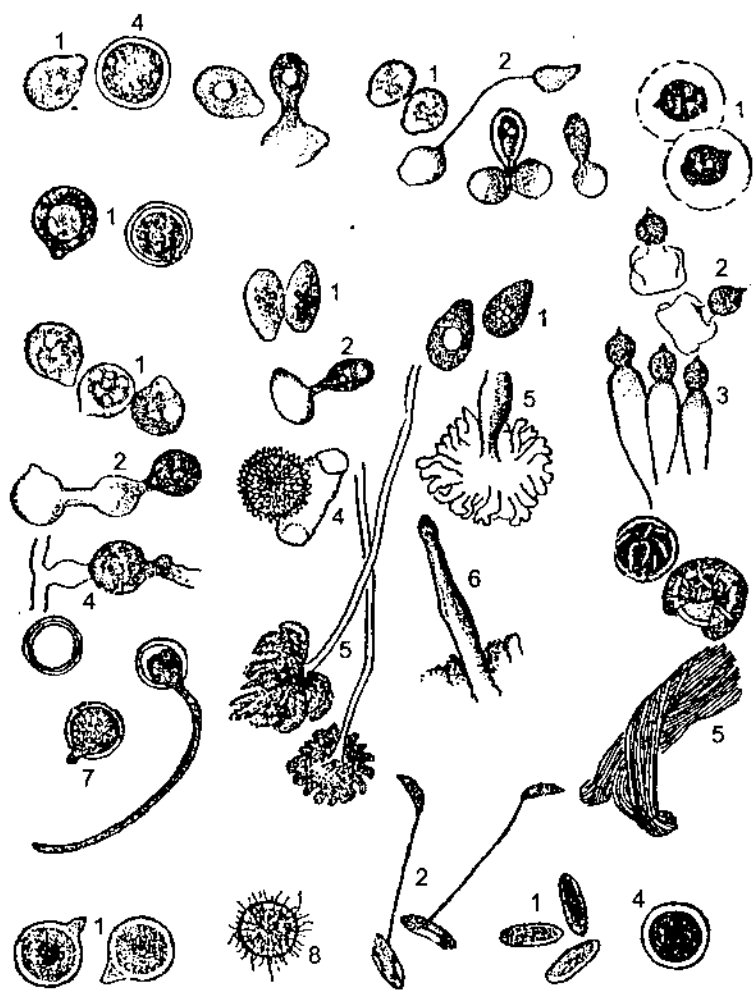
+ *Bào tử ngủ*. Bào tử ngủ là loại bào tử có vách dày, có thể chống lại các điều kiện không có lợi. Bào tử ngủ bao gồm bào tử tiếp hợp, bào tử vách dày. Bào tử tiếp hợp thường có 2 vách tế bào; bào tử vách dày chỉ có một vách tế bào.

+ *Rễ giả và thể dạng túi*. Khi hình thành cuống bào tử trên thân côn trùng một số sợi nấm phân hóa thành rễ giả và thể dạng túi. Rễ giả có tác dụng làm cho thân sâu bám vào giá thể. Rễ giả có rất nhiều dạng, phân nhánh, không phân nhánh, đỉnh sợi phình lên hoặc nứt ra thành dạng vòi bám. Rễ giả có thể phát triển từ một sợi hoặc bó sợi. Thể dạng túi là thể sợi nấm phình to ở giữa cuống bào tử, chúng là sợi bất thụ.

+ *Thể nguyên sinh chất*. Nguyên sinh chất được hình thành trong cơ thể côn trùng hoặc trong dịch nuôi mô côn trùng. Thể nguyên sinh chất có các dạng sợi, dạng trứng, dạng biến hình. Cũng có loại về sau thành dạng cầu. Thể nguyên sinh chất không có vách tế bào, sinh sản theo phương thức nảy mầm. Thể nguyên sinh chất sau khi tiêm vào cơ thể côn trùng sẽ làm tăng khả năng gây bệnh. Cho nên thể nguyên sinh chất cùng với thể nấm, thể sợi là một dạng hình thái sinh trưởng phát triển của thể nấm.

(2) *Đặc tính sinh vật học của nấm mốc sâu*

+ *Tính chuyên hóa và nuôi dưỡng*. Phần lớn nấm mốc sâu có tính chuyên hóa rất cao. Cao hơn nấm bạch cương và thấp hơn virus. Thông thường chúng xâm nhiễm đến những loài sâu có đặc tính gần giống nhau.



Hình 5. Hình thái một số loài nấm mốc

Trước đây rất khó phân lập nấm mốc sâu. Ngày nay người ta đã biết phân lập sản xuất được 10 loài. Môi trường chủ yếu là lòng đỏ trứng gà + maltoza + cao men + thạch.

Người ta chứng minh lòng đỏ trứng gà là môi trường cần thiết cho nấm mốc phát triển. Nhiều nghiên cứu chứng minh nấm mốc sâu không thể mọc trên môi trường có muối NO_3^- , hình thành kém trên môi trường NH_4^+ vô cơ, nhưng NH_4^+ hữu cơ hoặc vật phân giải protein chúng mọc rất tốt. Nguồn cacbon chủ yếu là đường glucoza, fructoza, maltoza, glycerin, không thể trao đổi chất với đường sacharoza.

+ *Vòng đời và dịch bệnh côn trùng.* So với nấm bất toàn, vòng đời của nấm mốc sâu khá phức tạp. Hầu hết chúng có giai đoạn (vòng) *bào tử phân sinh và bào tử ngủ*. Sau khi bào tử phân sinh nảy mầm, xâm nhập vào xoang côn trùng, hình thành thể nấm và sinh sản trong cơ thể côn trùng, có một số loài hình thành thể sợi nấm và cũng có một số loài phân chia tế bào hình thành thể nguyên sinh chất, về sau thể nguyên sinh chất hình thành vách tế bào biến thành thể nấm. Thể nấm nảy mầm hình thành cuống bào tử phân sinh và bào tử phân sinh. Đó là vòng *bào tử phân sinh*.

Trong một điều kiện khác thể nấm nảy mầm hình thành dạng bào tử tiếp hợp, cũng có thể nấm hình thành bào tử vách dày. Sau khi thân sâu nứt ra chúng phát tán trong tự nhiên, gặp điều kiện thuận lợi nảy mầm về sau hình thành bào tử phân sinh. Đó là vòng *bào tử ngủ*.

Trong mùa sinh trưởng vòng bào tử phân sinh thường xuất hiện nhiều lần và chu kỳ tái xâm nhiễm rất ngắn thông thường 5-10 ngày và có tác dụng quan trọng trong việc gây dịch. Bào tử ngủ chỉ ở trong cơ thể côn trùng, không lây lan nhưng do vách tế bào dày có sức đề kháng với điều kiện bất lợi và tồn tại nhiều năm trong tự nhiên, trở thành nguồn xâm nhiễm của nấm mốc sâu.

Nấm mốc sâu gây dịch cho côn trùng đã được nhiều thông báo như nấm mốc dịch (*Erynia anhuiensis*) gây dịch cho rệp đào (*Myzus persicae*) đến hàng trăm km ở vùng Trường Giang. Dịch bệnh châu chấu ở vùng đồng cỏ Tân Cương năm 1978-1979. Dịch bệnh bọ hung trong rừng hỗn giao dễ rộng 50ha. Rất nhiều bọ hung chết rụng dưới tán cây bụi. Mốc sâu ngài đèn (*E. aulicae*) đã gây dịch cho các loài sâu bộ cánh vẩy.

Đối với nấm mốc sâu, sự phát dịch cho sâu cần có mấy điều kiện sau:

(1) Bào tử phân sinh có sức bật và có gió nhẹ mang đi xa.

(2) Bào tử phân sinh sau khi dính vào cơ thể côn trùng không bị nước mưa và gió rửa trôi.

(3) Bào tử phân sinh lớn có chất dinh dưỡng nhiều có thể kéo dài tích trữ chất năng lượng và hoạt tính hóa học.

(4) Sự phát tán bào tử chủ yếu là vào ban đêm từ 11 giờ đến 2 giờ sáng. Thời gian này là lúc có nhiều sương nhiệt độ thấp phù hợp với bào tử nảy mầm và hình thành bào tử.

(5) Bào tử ngủ có sức đề kháng mạnh có thể kéo dài thời gian tồn tại trong tự nhiên để có thể tạo ra nguồn xâm nhiễm.

+ Những loài nấm mốc sâu thường gặp. Nước ta là một nước nhiệt đới, độ ẩm cao có điều kiện thuận lợi cho nấm mốc sâu phát triển. Trong tự nhiên ta thường gặp mấy loài nấm mốc sâu như sau:

- Nấm mốc ruồi *Entomophthora muscae*

- Nấm mốc ngài đèn *En. aulicae*
- Nấm mốc dịch bọ hung *Erynia brahmina*
- Nấm mốc dịch hình cầu *E. radicaus*
- Nấm mốc rận *E. delphacis*.

b) Nấm bất toàn ký sinh côn trùng

Nấm bất toàn ký sinh côn trùng có rất nhiều loài, phân bố rộng, lợi dụng nhiều loại dinh dưỡng, để nuôi cấy và sản xuất chế phẩm, nên đã được ứng dụng rộng rãi trong thực tế sản xuất.

Hầu hết nấm này thường ký sinh trên sâu non làm cho thân cứng lại, trên thân mọc đầy sợi nấm và bào tử phân sinh tạo nên các màu sắc. Chúng làm cơ sở cho việc định loại, như nấm bạch cương (chết cứng màu trắng *Beauveria*), lục cương (chết cứng màu xanh lá cây *Metarrhizium*) màu xanh xám dẫn đến bệnh chết cứng đỏ (*Paelomyces fumosa*), hoàng cương (chết cứng màu vàng *P. farinosa*). Tuy nhiên không thể căn cứ vào màu sắc để xác định ví dụ nấm màu xanh xám hồng lúc đầu màu trắng như nấm bạch cương, nấm bạch cương về sau lại có màu vàng, nấm lục cương về sau có màu đen.

(1) Các loài nấm bất toàn chủ yếu ký sinh côn trùng

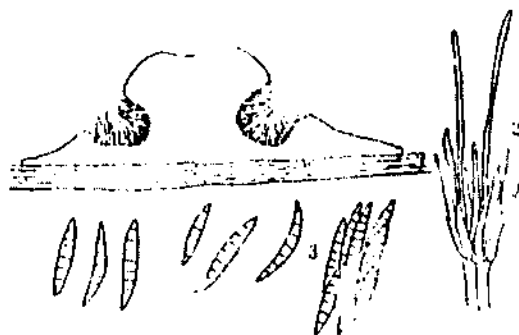
Nấm bất toàn có thể sợi phân nhánh và có vách ngăn, chưa phát hiện được giai đoạn hữu tính. Trong phân loại người ta chia ra các lớp, bộ, họ, chi và loài.

Trong ngành phụ nấm bất toàn có các lớp bào mấm (*Blastomycetes*), lớp bào tử sợi (*Hyphomycetes*) và lớp bào tử xoang (*Coelomycetes*). Hầu hết các loài nấm gây bệnh

côn trùng thuộc lớp bào tử sợi (Hyphomycetes). Chúng không có cơ quan bao bọc, chỉ có cuống bào tử và bào tử trần. Phần lớn chúng thuộc các họ cuống chùm (Moniliales). Một số loài thuộc bộ vỏ cầu (Sphaeropsidales) và bộ vỏ đỏ đậm (Nectrioidales). Sau đây là một số chi nấm quan trọng:

+ *Nấm bào tử hình thoi (Aschersonia Mont.)*.

Nấm bào tử hình thoi thuộc họ Nectrioidaceae, chất đậm mềm, màu nhạt, bào tử phân sinh mọc trên cuống ngắn, đơn bào hình thoi, không màu có nhiều vách ngăn. Phần lớn ký sinh trên các loài côn trùng. Ta thường gặp loài *A. aleyrodis* ký sinh trên rận phấn hại cam quýt. Loài này có giai đoạn hữu tính có tên là *Hypocrella libera*. Liên Xô đã nhập nội từ Việt Nam giống *A. placenta* và có khả năng gây bệnh rất mạnh đối với rận phấn cam và đạt tỷ lệ hiệu quả 90%. Ngày nay việc sử dụng nấm này để phòng trừ rận phấn cam quýt rất có hiệu quả.



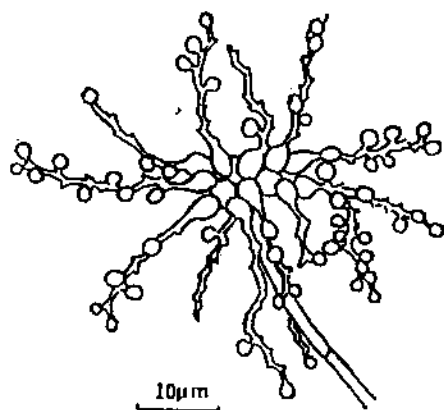
Hình 6. *Nấm Aschersonia aleyrodis (trên rận phấn)*

1. Chất đậm và vỏ bào tử; 2. Cuống bào tử và sợi nấm;
3. Bào tử phân sinh

+ *Nấm bạch cương (Beauveria Vuill.)*

Nấm bạch cương còn gọi là nấm cứng trắng, nấm tầm vôi, là loại thường gặp trên nhiều loài sâu hại. Riêng chúng có mặt trên 120 loài thuộc 45 họ 7 bộ côn trùng rừng. Nếu kể cả sâu hại nông nghiệp chúng có thể ký sinh gần 200 loài.

Đặc điểm cơ bản là thể sợi nấm màu trắng, dạng lông, sợi nấm mảnh đường kính $1,5-2\mu\text{m}$, cuống bào tử mọc đơn hoặc phân nhánh. Tế bào sinh bào tử hình bình, hình ống hoặc hình cầu, thẳng hoặc hơi uốn cong. Trục sợi uốn hình chữ “Z” bào tử mọc trên đầu góc chữ Z cùng với cuống rất nhỏ (Hình 7)



Hình 7. Hình thái nấm cứng trắng bào tử cầu (*Beauveria bassiana*)

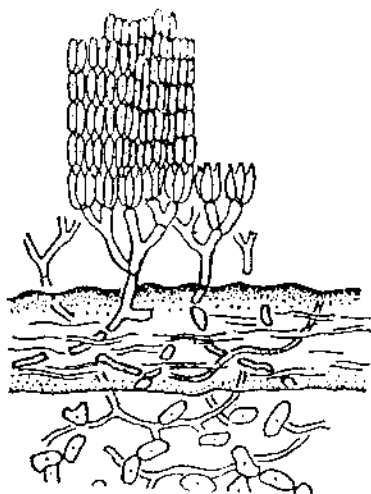
Năm 1954 Macleod phân nấm bạch cương ra 2 loài chính là *Beauveria bassiana* có bào tử hình cầu (hoặc trên 50% bào tử hình cầu) và *B.tenella* có bào tử hình trứng

(2% bào tử hình cầu). Trong đó loài *B. bassiana* phân bố rộng nhất xâm nhiễm nhiều loài côn trùng nhất dùng để phòng trừ sâu thuộc bộ cánh vẩy và cánh nửa. Nấm *B. tenella* còn có tên khác là *B. brongniartii*, thường phân bố trong đất và dùng để phòng trừ sâu non bộ hung. Năm 1975 Hoog lại công bố 2 loài nấm bạch cương không có tác dụng phòng trừ sâu là *B. alba* và *B. vermiconia*. Sau đó Carmichae (1980) và Samson (1982) lại công bố thêm 3 loài mới *B. felina*, *B. velata* và *B. amorpha*. Như vậy nấm bạch cương đã có đến 7 loài. Về sau năm 1984 ở Nhật bản đã phân lập được rất nhiều loài nấm bạch cương có bào tử hình ống và hình que ở giữa thắt lại và hơi uốn cong, tế bào sinh bào tử hình bình, đuôi hình chữ Z, kích thước bào tử $3,4-4,7 \times 1,2-1,8 \mu\text{m}$.

Tại Việt Nam sử dụng chế phẩm nấm *Beauveria bassiana* đã được tiến hành từ năm 1979, đến nay vẫn tỏ ra có tác dụng đối với sâu róm thông và một số loài sâu hại cây nông nghiệp.

+ Nấm lục cương (*Metarrhizium Sorokin.*)

Cũng như nấm bạch cương, nấm lục cương (nấm cứng xanh) ký sinh trên nhiều loài sâu hại. Cuống bào tử thẳng, đơn nhánh hoặc phân nhánh hoặc dạng cây, cuống nhỏ mọc bào tử dạng sợi hoặc dạng bình, mọc đơn hoặc vòng. Bào tử phân sinh đơn bào, mọc trên đỉnh cuống nhỏ, thành chuỗi, dính liền nhau bằng dịch nhầy, hình trứng hoặc hình bầu dục dài, một số loài có bó cuống bào tử hoặc chất đậm.



**Hình 8. Hình thái nấm cứng xanh (*Metarrhizium*)
trong và ngoài da sâu bọ hung**

Bảng tra các loài trong chi nấm này như sau:

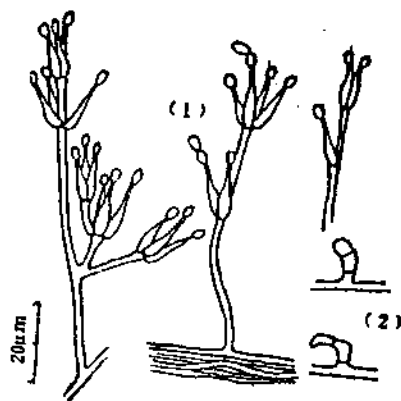
- | | | |
|----|---|---|
| 1 | Bào tử phân sinh hình ống hoặc trứng, giữa lõm, hai đầu bằng, khuẩn lạc màu xanh lá cây, màu đen nhạt hoặc xanh đồng thau | |
| 1' | Bào tử hình bầu dục, hai đầu tròn hoặc một đầu bằng, khuẩn lạc màu xanh vàng nhạt hoặc vàng nâu | Nấm lục cương lục vàng (<i>M. flavoviride</i>) |
| 2 | Bào tử phân sinh dài 3, 5-9 μ m | Nấm lục cương bộ hung bào tử ngắn (<i>M. anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i>) |
| 2' | Bào tử phân sinh dài 9-18 μ m | Nấm lục cương bộ hung bào tử dài (<i>M. anisopliae</i> var. <i>major</i>). |

+ Nấm tựa mốc xanh (*Paecilomyces* Bainier.)

Nấm này phân lập trên thân côn trùng ngủ nghỉ trong đất. Trên thế giới có rất nhiều loài, phân bố rộng. Chi nấm này tựa như nấm mốc xanh (*Penicillium*) và nấm chổi (*Gliocladium*).

Khuẩn lạc dạng thảm nhung, dạng bó sợi, màu trắng, hồng nhạt, màu tím đinh hương, màu nâu vàng và màu nâu xám, thỉnh thoảng có màu lục nhạt. Cuống bào tử phân sinh phân nhánh, mức độ phân nhánh lớn hơn nấm mốc xanh. Gốc cuống dạng bình phình to, phía trên nhỏ và uốn cong. Cuống bình sắp xếp thường dạng vòng hoặc không đồng đều. Bào tử phân sinh đơn bào, không màu, mọc thành chuỗi, hình bầu dục, bề mặt nhẵn hoặc có gai.

Năm 1981 Liang đã phân lập được 5 loài là *Paecilomyces cateniobliquus*, *P. cateniannulatus*, *P. tenuipes*, *P. farinosus* và *P...* (Hình 9).



Hình 9. Hình thái nấm tựa mốc xanh (*Paecilomyces*)

Việc nghiên cứu loài nấm này khá nhiều, chúng có thể ký sinh trên nhiều loài thuộc bộ cánh nửa, bộ cánh cứng, bộ cánh màng, bộ cánh vẩy và bộ hai cánh. Người ta đã sản xuất chế phẩm Pelomin phòng trừ ngài đục quả táo; hiệu quả cao hơn nấm bạch cương. Người ta còn dùng để phòng trừ sâu róm thông.

+ *Nấm hoang dã (Normuraea Maublane).*

Năm 1983 Riley phát hiện một loài nấm ký sinh trên côn trùng họ ngài đêm ở Bắc Mỹ và đặt tên là *Botrytis rileyi* và *Spicaria rileyi*. Ở châu Á cũng tìm ra nấm ký sinh trên họ ngài đêm là *Botrytis prasina* và *Spicaria prasina*. Năm 1903 Maublane cho rằng chúng không giống 2 chi trên và Nomura đặt tên mới là *Normuraea*. Ông chia ra 2 loài trong chi này là *N. rileyi* có khuẩn lạc màu xanh, cuống bào tử mọc đơn, bào tử hình bầu dục dài hoặc hình ống và loài *N. alypicota* có cuống bào tử đa bào, có khuẩn lạc màu tím. Bào tử hình ống hơi cong.

Nấm này có thể gây bệnh cho các loài côn trùng bộ cánh vẩy và thường gây ra dịch bệnh cho các loài sâu trên ruộng đậu. Ngoài ra còn dùng để phòng trừ sâu hại bông, ngài đêm vân lệch, sâu cuốn lá lúa, sâu đục thân ngô, hiệu quả phòng trừ rất tốt.

+ *Nấm nhiều lông (Hirsutella Pat.)*

Nấm *Hirsutella* thuộc bộ họ nấm cuống bó, lớp nấm bào tử sợi trần. Mỹ đã sử dụng loài *H. thompsonii* để phòng trừ nhện hại cam quýt. Đặc điểm cơ bản của nấm này là sợi nấm xếp thành bó. Cuống bào tử mọc bên bó sợi, phía trên

và dưới phình to. Cuống không màu. Bào tử mọc đơn trên cuống, đơn bào không màu hình thoi hơi uốn cong, có dịch nhầy che phủ.

Sâu bị bệnh thường màu vàng, chết thành đám, sợi nấm màu trắng, cuống bào tử mọc bên thẳng. Nấm có tác dụng ức chế rất mạnh các loài nhện u và rận hại cam quýt, vải, nhện đỏ hại cam quýt.

+ Nấm Bào tử bao đầu (*Cephalosporium Corda*)

Sợi nấm của chi nấm này dạng chùm nhỏ, xếp thành lớp. Cuống bào tử không phân nhánh, mọc phân tán trên sợi nấm, thẳng không có vách ngăn mọc không theo thứ tự. Bào tử đơn bào, hình bầu dục không màu hoặc trắng nhạt. Cuống bào tử liên tục hình thành bào tử và đẩy sang bên tụ lại thành dạng đầu.

Thông thường người ta dùng loài *Cephalosporium lecanii* (= *Verticillium lecanii*) để phòng trừ rệp và rệp sáp (họ Lecaniinae). Chúng phân bố nhiều ở các nước nhiệt đới và á nhiệt đới.

(2) Ảnh hưởng của môi trường đến nấm bất toàn ký sinh côn trùng

Khác với các loài nấm trên, nấm bất toàn diệt sâu thuộc loại ký sinh. Khi không có côn trùng chúng sống theo phương thức hoại sinh, hút các chất dinh dưỡng hữu cơ từ đất, nhiều nhân tố môi trường ảnh hưởng đến sinh trưởng và hoạt động ký sinh của chúng trong đó có cả nhân tố con người. Các nhân tố chủ yếu là chất dinh dưỡng, nhiệt độ, độ ẩm, pH và ánh sáng.

+ Chất dinh dưỡng

Ảnh hưởng của chất dinh dưỡng đến nấm biểu hiện ở khả năng nảy mầm của bào tử, sinh trưởng sợi nấm và sự hình thành bào tử. Các bào tử mốc sâu không cần chất dinh dưỡng để nảy mầm. Nhưng các loài nấm bất toàn như nấm bạch cương, nấm lục cương khi nảy mầm lại cần chất dinh dưỡng, nếu để trong nước cất thì chúng nảy mầm rất ít hoặc nảy mầm rất chậm. Nấm bạch cương nảy mầm rất tốt trong môi trường có đường mía và pepton, nấm lục cương lại nảy mầm tốt trong môi trường có pepton, dấm dầu (oleic acid) nước chiết rau cải, nước phân bón lót. Căn cứ vào sự nảy mầm của hạt giống thì hạt giống trước khi nảy mầm cần tích dinh dưỡng, bào tử nảy mầm cũng cần có 1 hoặc nhiều chất dinh dưỡng. Về mặt sinh thái nấm chúng có ý nghĩa đặc biệt, muốn bảo đảm cho bào tử nảy mầm không thể thiếu chất dinh dưỡng.

Trong các loại đường nói chung, đường glucoza luôn luôn là nguồn cacbon khá tốt cho các loài nấm, nấm bạch cương lợi dụng glucoza trong đường đơn rất tốt, nhưng lợi dụng xyloza lại rất kém; trong đường đôi chúng lợi dụng đường mía và đường maltoza khá tốt nhưng đường lactoza lại rất kém; trong đa đường chúng sử dụng tinh bột rất tốt, nhưng đường cúc lại rất kém; đối với xenluloza hầu như chúng không lợi dụng. Với acid lợi dụng acid hữu cơ (lactic) rất kém, nhưng lợi dụng glycerin (3 cacbon) và 6 cacbon lại rất tốt. Nếu so sánh với các loài nấm hoại sinh thì nhu cầu nitơ hữu cơ rất cao, chúng luôn luôn cung cấp ở dạng acid amin đơn độc hoặc tổng hợp (acid nucleic,

vitamin). Nấm bạch cương yêu cầu nitơ hữu cơ và vô cơ, trong nitơ vô cơ lợi dụng NO_3^- tốt hơn là NH_4^+ . Đối với nấm lục cương trong môi trường Czapek có nguồn nitơ NO_3 chỉ sinh trưởng sợi nấm mà không hình thành bào tử, nhưng trong môi trường đó thêm vào 1% pepton là có thể hình thành bào tử. Trong môi trường PDA thiếu pepton tuy chúng có thể sinh trưởng và hình thành bào tử, nhưng sau khi thêm 1% pepton sinh trưởng sẽ tốt hơn, lượng bào tử nhiều hơn, bào tử phủ kín mặt thạch.

P là nhân tố quan trọng làm tăng sản lượng nấm bạch cương, trong giai đoạn sinh trưởng hàng loạt sợi nấm, lợi dụng C, N rất rõ rệt, nhưng đến khi sợi nấm đứt ra hình thành bào tử đọt, nhu cầu C, N giảm dần còn P lại tăng lên.

Chất dinh dưỡng cũng liên quan mật thiết với khả năng gây bệnh. Liang (1981) thông báo nấm *Paelomyces tenuipes* khi thêm vào 15% bột ngô tỷ lệ ký sinh bào tử *P. papillata* tăng lên đến 92%, trong khi đó thêm maltoza 7% tỷ lệ sâu chết chỉ đạt 41% và chế phẩm có bột ngô để trong 7 tháng có thể làm tăng khả năng gây bệnh.

+ Nhiệt độ và độ ẩm

Nhiệt độ và độ ẩm là những nhân tố quan trọng cho nấm sinh trưởng. Nói chung phạm vi nhiệt độ của nấm khoảng 5-35°C, thích hợp nhất là 20-30°C, nếu nhiệt độ thấp chúng sinh trưởng chậm, nếu nhiệt độ cao chúng sinh trưởng nhanh, nấm chóng già yếu. Biểu sinh trưởng sợi nấm của nấm lục cương ở phạm vi nhiệt độ khác nhau cho thấy, nhiệt độ thích hợp nhất cho sinh trưởng là 25-30°C,

trên 30°C, sinh trưởng giảm dần, trên 35°C nấm ngừng sinh trưởng.

Nhiệt độ cũng ảnh hưởng đến sự hình thành bào tử, khi nuôi *Paelomyces farinosus* ở các điều kiện nhiệt độ khác nhau cho thấy nhiệt độ 15°C có lợi cho sự hình thành bào tử hơn là nhiệt độ 24°C. Nấm *P. papillata* nhiệt độ thích hợp nhất là 24-26°C, nhưng ở nhiệt độ 18°C tỷ lệ ký sinh cao hơn 18% so với nhiệt độ 25°C. Nguyên nhân này có thể là do nhiệt độ thấp làm giảm quá trình dị hóa làm tăng quá trình đồng hóa từ đó làm tăng hoạt chất cho cá thể.

Độ ẩm cao có lợi cho bào tử nảy mầm và sinh trưởng của sợi nấm, nhưng nhiệt độ thấp lại có lợi cho duy trì sự sống của nấm. Bào tử phân sinh của nấm bạch cương (*Beauveria*) và nấm tựa mốc xanh (*Paelomyces*) khi độ ẩm 0% và 34% có khả năng sống lâu hơn khi độ ẩm 75%. Nấm lục cương (*Metarrhizum*), khi độ ẩm rất cao và rất thấp để có khả năng kéo dài sự sống, ở 45% sự sống ngắn nhất.

+ Trị số pH

Nói chung nấm thích hợp với điều kiện hơi chua đến trung tính. Chúng nảy mầm tốt nhất là pH 4,5-6,5, phạm vi thích hợp là 3-8. Nấm bạch cương có tính thích nghi rộng, phạm vi nảy mầm là pH 3-9,4, nảy mầm nhiều nhất là pH 4,4, tốc độ nảy mầm cũng nhanh nhất. Sợi nấm sinh trưởng ở pH 4,5-5,0, hình thành bào tử tốt nhất ở pH 6. Nấm lục cương sinh trưởng trong phạm vi là pH từ 6,9-7,2. Nói chung lợi dụng hợp chất cacbon cần pH thấp nhưng lợi dụng protein lại cần pH cao. Vì vậy khi thử nghiệm không chỉ xác định pH ban đầu mà còn xác định lần cuối.

+ Ánh sáng

Ánh sáng có tác dụng xúc tiến bào tử nảy mầm và hình thành bào tử, mặt khác ánh sáng cũng có tác dụng ức chế và diệt nấm. Tia tử ngoại có thể giết chết bào tử. Nếu coi nhẹ vấn đề này khi phòng trừ có thể gặp thất bại. Phòng trừ lúc sáng sớm, chiều tối hoặc lúc trời râm mát có thể làm giảm nhẹ tác hại này. Bào tử nấm bạch cương có tính thích nghi khá mạnh. Bào tử nấm bạch cương sau 91 giờ dưới nắng mới mất khả năng sống. Ở nhiệt độ 32°C dưới nắng trong 5 giờ có thể mất sức sống, ánh sáng tán xạ có tác dụng kích thích bào tử nảy mầm, sinh trưởng sợi nấm và hình thành bào tử của nấm bạch cương. Trong tối sinh trưởng sợi nấm chậm nhưng khuẩn lạc dày hơn, qua một thời gian chiếu sáng bào tử sẽ hình thành hàng loạt. Ánh sáng là nhân tố không thể thiếu được để hình thành bào tử *Paeomyces*, nhưng dưới ánh sáng trực xạ nấm lục cương lại rất khó nảy mầm.

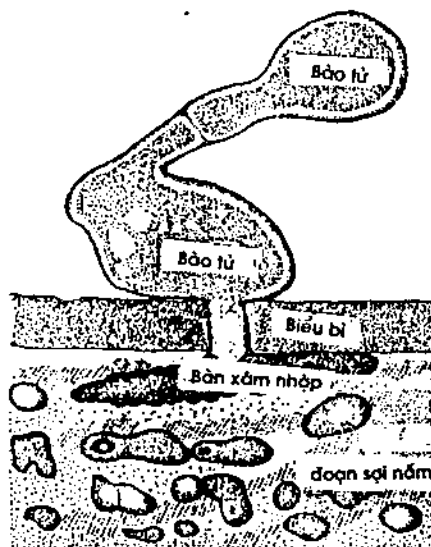
(3) Tác dụng gây bệnh của nấm ký sinh trên côn trùng

Tác dụng gây bệnh của nấm trên côn trùng là bào tử nảy mầm, xâm nhập vào cơ thể và sinh sản trong xoang làm yếu và phá hoại chức năng trao đổi chất của côn trùng.

+ Sự xâm nhiễm của nấm gây bệnh

Nhờ gió, mưa bào tử nấm lây lan đến sâu khỏe, gặp điều kiện độ ẩm và nhiệt độ thích hợp phình lên, nảy mầm thành ống mầm, ống mầm tiếp xúc với da côn trùng mà hình thành vôi bám. Vôi bám là một tế bào có kích thước gấp 2-3 lần bào tử, có dịch nhầy để dính vào da. Vôi bám hình

thành sợi nhỏ chọc thủng da. Sau khi xuyên qua da sợi nấm phình to thành dạng bàn, mép bàn mọc sợi nấm rồi hình thành các sợi ngắn. Sợi ngắn nhờ áp lực đẩy vào lớp trong cuối cùng đạt đến da thật. Nếu còn trùng lột xác chúng lại hình thành vôi bám mới để tiến hành tái xâm nhiễm.



Hình 10. *Xâm nhập của nấm lục cương*

Nấm thông qua áp lực cơ giới để xâm nhập vào trong cơ thể côn trùng và nhờ tác dụng của enzym phân giải mà chọc thủng biểu bì. Những enzym phân giải là proteaza, lipoaza và kitinaza. Muốn da phân giải hết trước hết là nhờ proteaza rồi lipoaza, cuối cùng mới có tác dụng của kitinaza.

Nấm gây bệnh cứng sâu tổng hợp rất nhiều enzym. Mỗi loài nấm khác nhau sẽ hình thành các enzym khác nhau nhưng chúng đều có thể tự tạo ra enzym kitinaza.

+ Sự thay đổi bệnh và sự rối loạn chức năng trong cơ thể côn trùng.

Sự sinh sản trong cơ thể côn trùng làm cho hoạt động trao đổi chất, các cơ quan mô bị phá hoại, mất chức năng sinh lý và phát sinh sự rối loạn.

Trước hết là sợi nấm trong xoang sinh trưởng phát triển. Khác với virus và động vật nguyên sinh, nấm phải tiết các chất độc và enzym để giết chết vật chủ rồi sinh trưởng phát triển trên xác côn trùng, hình thành các hạch nấm làm cho côn trùng cứng lại, một số loài nấm không tiết ra chất độc mà sinh sản hàng loạt trong cơ thể côn trùng và không xâm nhiễm vào các cơ quan của côn trùng mà sau khi sâu chết mới làm vỡ và biến dạng các cơ quan. Hầu hết chúng có tính xu mỡ, tập trung quanh cơ quan thể mỡ, sau khi sâu chết chúng mới làm biến đổi thể mỡ.

Nấm xâm nhập vào cơ thể côn trùng luôn luôn xuất hiện phản ứng biến màu đen, hình thành các đốm đen. Sự hình thành các đốm đen là do enzym phenoloxydaza trong dịch thể côn trùng.

Sự sinh sản của nấm trước hết là sự biến đổi thành phần dịch thể làm giảm tác dụng oxy hóa khử limfa trong máu. Do sinh sản nhiều nấm sẽ làm tắc hệ tuần hoàn côn trùng; gây rối sinh lý tế bào vật chủ; chất độc sinh ra làm thay đổi sinh hóa cơ thể và làm tê liệt thần kinh, từ đó làm mất đi và rối loạn cơ năng sinh lý. Chúng sẽ biểu hiện hô hấp thất thường, giảm sức sinh sản, ức chế sự lột xác. Nhộng ngài tằm trời sau khi bị bệnh nấm mốc sâu tiêu hao lượng oxy

xuống 7 lần; sâu non bỏ lá khoai tây sau khi bị bệnh nấm bạch cương cường độ hô hấp tăng lên nhiều lần. Phần lớn đều cho rằng sự hô hấp này là do tác dụng phản ứng của vật chủ đối với vật gây bệnh.

Sau khi tiêm chất độc của nấm cho sâu non chúng thường biểu hiện thay đổi biến thái của sâu và ức chế quá trình lột xác, cuối cùng làm cho sâu chết.

Sử dụng nấm bạch cương nhiễm vào nhiều loài sâu hại, chúng đều giảm sức sinh sản rất rõ rệt. Ngải đục táo, một cà phê sau khi phun chế phẩm nấm bạch cương tỷ lệ đẻ trứng của con cái giảm xuống 45-60%.

c) Sản xuất chế phẩm nấm gây bệnh côn trùng

Muốn sản xuất một chế phẩm nấm diệt sâu trước hết cần chọn hiệu quả của chúng, khả năng cất trữ, sử dụng an toàn, sau đó thông qua nghiên cứu thực nghiệm, sản xuất thử rồi đến sản xuất trong nhà máy.

(1) Tính an toàn của chế phẩm nấm

Ngày nay việc sản xuất chế phẩm nấm đã đến mức quy mô, cho nên việc nghiên cứu tính an toàn của nó là điều rất quan trọng. Một loài nấm trước khi đầu tư sản xuất cần phải có các số liệu về tính an toàn, thông qua một bộ phận có trách nhiệm phê chuẩn.

Nói chung nấm thường phát triển trong điều kiện nhiệt độ thấp và không ảnh hưởng đến động vật máu nóng. Pian đã nêu rõ, nấm bạch cương trong cơ thể sống ở nhiệt độ 35°C, dù ở điều kiện độ ẩm nào đều ngừng phát triển và sau

28 ngày là mất khả năng sống, cho nên chúng rất an toàn đối với con người. Nhiệt độ thích hợp cho nấm mốc sâu khá cao, 27-36°C, cho đến nay chúng là bộ nấm duy nhất gây bệnh cho động vật máu nóng (người và ngựa). Nấm mốc xám gây bệnh cho ong mật (*A.fumigalus*) sinh trưởng được ở nhiệt độ 45°C. Cho nên cũng là nấm gây bệnh cho người, chim và động vật có xương sống khác, dễ gây ra bệnh kết hạch phổi. Ngoài ra nấm mốc khức vàng (*Aspergillus flavus*) tiết ra chất độc aspergillin có thể gây ra bệnh ung thư, nên khi sử dụng ta cần chú ý.

Đối với nấm bạch cương, nhiều nhà khoa học đã thử nghiệm tiêm dung dịch bào tử lên chuột, lợn và cho chúng ăn, theo dõi sau 2 tháng vẫn không thấy chúng có phản ứng. Điều này chứng tỏ nấm bạch cương không có ảnh hưởng xấu đối với người và động vật máu nóng. Thí nghiệm độc lý cho thấy chúng có độ độc rất thấp $LD_{50} > 2500\text{mg/kg}$. Nhiều thí nghiệm đều chứng tỏ nấm bạch cương là loại an toàn. Tuy nhiên người sản xuất chế phẩm nấm bạch cương thường có phản ứng nhạy cảm thể hiện mệt mỏi, nhức đầu, chóng mặt, ho, nhưng chỉ xảy ra trong thời gian rất ngắn. Mặc áo blouse và mang găng tay, khẩu trang đều có thể đề phòng được. Cơ chế tác dụng của nó là protein của bào tử phân sinh kích thích cơ thể sinh ra sức đề kháng hình thành chất miễn dịch. Protein này có hại đối với cơ thể có thể gây viêm phổi, nhưng rời khỏi hiện trường trong thời gian ngắn có thể khôi phục sức khỏe. Ngoài ra trong không khí chỉ nên giữ nồng độ bào tử dưới 1mg/m^3 không khí là có thể tránh được hiện tượng dị ứng.

Các loài nấm khác như *Nomurata*, *Hirsutella*, *Cephalosporium* cũng đều rất an toàn đối với động vật máu nóng.

Phần lớn các loài nấm trong môi trường không gây ô nhiễm bởi vì bản thân các sinh vật đó đã tồn tại trong tự nhiên, nếu lâu dài chúng sẽ tự phân giải và không ảnh hưởng đến cân bằng sinh thái.

Số loài nấm gây bệnh côn trùng không nhiều, đối với sâu có ích có tính an toàn ở mức độ nhất định. Một số loài nếu gặp nấm bạch cương khả năng bắt mồi có thể tăng lên. Nhiều loài côn trùng có ích không bị ảnh hưởng đến khả năng sinh trưởng phát triển.

(2) Chuẩn bị giống nấm

Chế phẩm nấm phải được bắt nguồn từ giống tốt, giống tốt phải là độ độc cao, hiệu quả diệt sâu cao, dễ sản xuất và có thể bảo quản trong thời gian lâu dài. Giống nấm không nên cấy truyền nhiều lứa. Nhiều thí nghiệm cho biết trong cùng một điều kiện giống nấm khác nhau hàm lượng bột nấm và độ độc khác nhau rất lớn, vì vậy cần tiến hành chọn ngoài tự nhiên và kịp thời làm khoẻ giống nấm áp dụng đột biến bằng kích thích ánh sáng, chọn ra một loạt các giống nấm tốt, lấy giống gần nơi sản xuất làm giống tin cậy để nâng cao chất lượng của giống nấm bảo đảm hiệu quả diệt sâu cao.

Theo nhiều nghiên cứu cho biết dùng máy kích thích ánh sáng CO_2 chiếu sáng hiệu quả sẽ rất cao. Thông qua kích thích ta có thể chọn được rất nhiều đặc tính tốt của

giống nấm, tốc độ mọc cũng nhanh hơn, số lượng bào tử cũng tăng gấp 2-4 lần, tính ưu việt đó có thể giữ được 3-4 thế hệ; hiệu quả diệt sâu tăng lên 20-40%, sâu cũng chết sớm hơn 2-3 ngày. Thực tiễn chứng minh đột biến ánh sáng chọn giống nấm là một biện pháp có thể làm tăng nhanh hiệu suất sản xuất chế phẩm, bảo đảm chất lượng và hiệu quả phòng trừ cao.

(3) Thu hái nấm có hình thái thích hợp

Khác với thuốc hóa học, chế phẩm vi sinh vật là một chế phẩm sinh vật sống, trải qua cất trữ vẫn không mất hoạt tính. Nấm bất toàn nói chung rất thích hợp với điều kiện cất trữ. Do sự lên men tăng sâu dịch thể trên cơ sở sản xuất bằng công nghệ hiện đại nếu nuôi cấy tăng sâu thu được bào tử phân sinh việc sản xuất khối lượng lớn chế phẩm nấm sẽ có ý nghĩa lớn. Nhưng trong nuôi cấy tăng sâu nhiều loài nấm không hình thành bào tử thật mà hình thành nhiều bào tử mọc mầm (sợi nấm ngắn) và bào tử này rất khó bảo quản, dễ mất hoạt tính. Gần đây có nhiều thông báo trong thùng lên men có thể thu được 2×10^9 bào tử trong 1 ml chế phẩm. Sự hình thành bào tử được quyết định bởi thành phần dinh dưỡng và kỹ thuật lên men, nhưng chế phẩm này khi bảo quản còn một số vấn đề. Một số loài nấm có thể sử dụng loại bào tử nảy mầm để phòng trừ. Nhiều thí nghiệm của Mỹ, Pháp và Trung Quốc đều nhận thấy rằng dùng axit glutamic trộn với một số dầu paraffin, glycerin có thể bảo vệ được bào tử nảy mầm hoàn toàn chống chịu được khô hạn, từ đó chế tạo thành một chế phẩm nấm có hoạt tính cao.

Khi sản xuất nấm mốc sâu có thể dùng sợi nấm, bào tử phân sinh và bào tử ngủ. Bào tử ngủ có thể tồn tại lâu trong tự nhiên để bảo quản và sản xuất được khối lượng lớn. Nhưng do bào tử ngủ nảy mầm không đều, kéo dài quá lâu không thể đáp ứng được yêu cầu sản xuất. Dùng bào tử phân sinh để sản xuất thì tuổi thọ quá ngắn, khả năng chịu đựng thấp. Nói chung dùng bào tử phân sinh để sản xuất không mấy giá trị. Cho nên không thể không dùng sợi nấm để sản xuất chế phẩm nấm. Điều mấu chốt của sản xuất chế phẩm bằng sợi nấm là mức độ làm khô chế phẩm rất chậm, phức tạp, nếu không cẩn thận sẽ làm cho nấm chết hàng loạt.

(4) Công nghệ sản xuất

Sản xuất chế phẩm nấm trừ sâu có rất nhiều điểm giống nhau. Ví dụ công nghệ sản xuất chế phẩm nấm bạch cương (Boverin) như sau:

Quá trình sản xuất:

Chọn giống nấm → sản xuất môi trường cấp I (24-28°C, 7-12 ngày) → môi trường cấp II (24-28°C, 2-3 ngày) → Môi trường cấp III (24-28°C, 5-7 ngày) → Đào, hong khô (thông gió, 7-10 ngày) → sấy khô 30-35°C → nghiền bột rây nhỏ → tính số bào tử → đóng gói.

Khống chế nhiệt độ là điểm mấu chốt của quá trình sản xuất. Nhiệt độ sản xuất cấp I và II là 24-28°C, môi trường cấp III phải thấp hơn, một mặt phải tránh nấm tạp, một mặt phải có lợi cho sự hình thành bào tử. Khi sấy cần dùng tủ

sấy quạt gió và ở nhiệt độ 30-35°C, nhiệt độ quá cao sẽ làm cho bào tử chết, môi trường dịch thể cấp II phải thông khí, nếu dùng máy lắc phải có tốc độ 100 lần phút, nếu dùng máy lắc vòng thì 180-200 vòng phút. Trong kỳ nuôi ở môi trường cấp III cần chú ý vi khuẩn que nấm, các loại nấm mốc gây ô nhiễm. Nếu nhiệt độ lên cao quá 30°C cần tìm biện pháp quạt thông gió và đảo nấm.

Yêu cầu dinh dưỡng của nấm bạch cương không nghiêm khắc lắm, nên chọn các nông sản phụ có giá thành rẻ để sản xuất. Cấm là môi trường tốt để sản xuất chế phẩm. Trong khi sản xuất trên môi trường các cấp đều có thể dùng cám làm nguồn nguyên liệu chính, có thể thêm một ít dinh dưỡng khác. Cấp I, II có thể thêm một ít đường mía, pepton và cao thịt bò, khi nuôi ở môi trường cấp III cần thêm nhiều trấu để thông thoáng hơn, càng thông thoáng càng hình thành nhiều bào tử.

Sản xuất bột chế phẩm nấm, nên dùng vỏ pháo bột giấy và rải bột trên mặt đất nhưng không nên phun mù và phun bột bằng máy. Cho nên muốn sản xuất chế phẩm thành bột, lúc nghiền bột cần tránh làm máy nóng lên gây ảnh hưởng đến sức sống của bào tử, cũng cần tránh để bào tử nấm bay lung tung làm mất nhiều lượng bào tử. Lượng bào tử trong mỗi gam nên là 5.10^9 bào tử; hàm lượng nước không quá 10%.

Có thể dùng vại 500 lít sản xuất sau đó dùng máy lắc tạo hạt có đường kính 1-1,4mm. Những hạt đó có thể dùng để phòng trừ sâu đục thân ngô. Có thể sản xuất theo hai bước: bước 1 lấy bào tử nuôi trong dịch thể cấy lên mặt cám

vào hạt gạo, để thu được sợi nấm và hình thành bào tử nhanh hơn. Chế phẩm được sản xuất ra có thể biến thành thương phẩm Boverin.

Hiện nay viện Lâm nghiệp tỉnh Quảng Đông đã sản xuất chế phẩm Boverin thu được $12-15.10^{10}$ bào tử, rất tiện cho việc vận chuyển, tạo thành thuốc dầu để phun mù, giảm giá thành sản phẩm. Muốn sản xuất bột chế phẩm Boverin có chất lượng cần chọn giống tốt, cải tiến môi trường áp dụng sản xuất theo 2 quá trình. Loại 1 là: giống nấm thạch nghiêng → nuôi môi trường lỏng trên máy lắc → nuôi khuếch đại (thông khí) → nuôi trong môi trường rắn tầng nông → thu bào tử → sấy khô → kiểm tra chất lượng → đóng gói. Quá trình này có thể thu được 22.10^{10} bào tử/g.

Loại 2 là: dùng phương pháp *lên men trong thể rắn cho cả 3 cấp*, sau khi *sấy khô* dùng nguyên lý phân lập gió xoáy tiến hành *phân lập cơ giới*, bỏ bớt chất tạp. Phương pháp này có thể thu được 15.10^{10} bào tử/g. Hàng năm có thể sản xuất được 4-5 tấn chế phẩm có chất lượng 12.10^{10} bào tử/g.

d) Ứng dụng nấm phòng trừ sâu hại

Rừng là một quần thể sinh vật đa dạng có tính ổn định về sinh thái, cho nên cần có điều kiện mật độ khống chế sâu hại tự nhiên. Cần căn cứ vào đặc điểm của sinh thái rừng mà phòng trừ. Trước hết cần tìm hiểu toàn diện về hệ sinh thái rừng như loài cây, loài sâu hại, thiên địch... Nấm gây bệnh là một loại thiên địch của sâu, trong điều kiện thích hợp nấm có thể tồn tại, để cải thiện điều kiện môi trường xúc tiến sinh sản và phát triển của chúng. Do nấm được sản

xuất bằng nhân tạo nên cần nắm vững thời cơ, trong một thời gian ngắn làm thế nào tăng nhanh số lượng trong tự nhiên. Phòng trừ sâu hại bằng nấm gây bệnh thông thường có 3 phương pháp:

(1) Dẫn giống nấm

Trong các điều kiện môi trường địa lý sinh thái tương tự ta có thể dẫn giống nấm vào, để chúng tồn tại lâu dài trong quần thể loài sâu hại, làm cho sâu hại luôn luôn bị khống chế. Nấm thường có bào tử ngủ nghỉ để qua những điều kiện bất lợi. Trong điều kiện thiếu vật chủ, nấm có thể sống hoại sinh hoặc ký sinh vào vật chủ trung gian, trong điều kiện thích hợp cho nấm gây bệnh nhập nội sẽ dễ thu được thành công.

Ví dụ nhập nội vào khu nhiều muỗi *Aedes polynesiensis* và muỗi *Anopheles gambiae*, muỗi *A. pharcensis* chưa hề bị bệnh một loại nang bào tử nấm *Entomophthora muscae* có thể khống chế được trong 20 năm.

Nấm mốc sâu thường rất ổn định trong quần thể sâu hại trở thành một bệnh địa phương cho côn trùng. Thông qua thả nấm cục bộ tạo ra một trung tâm gây dịch nấm cho côn trùng là biện pháp rất quan trọng trong phòng trừ sâu hại.

Khi nhập một giống nấm có thể sử dụng phương pháp nuôi côn trùng đã bị bệnh hoặc dùng một vật nuôi nấm để lây nhiễm nhân tạo. Nhưng khi sử dụng cần chú ý xác sâu bị bệnh mốc sâu thường lây lan bào tử vào ban đêm hoặc sáng sớm, những xác sâu đã bay hết bào tử thì không thể có bào tử nữa nên không thể dùng để thả vào tự nhiên. Những

xác sâu có bào tử ngủ nghỉ cũng không có khả năng hình thành bào tử phân sinh nữa. Cho nên cần tiêm chúng vào sâu mới sau 5 ngày sâu chết mới thả vào rừng, như vậy sẽ thu được hiệu quả cao.

(2) Cải thiện điều kiện môi trường, làm khoẻ hóa nấm địa phương

Bệnh địa phương là bệnh truyền nhiễm phát sinh lâu dài, liên tục trên một loài quần thể vật chủ. Bệnh địa phương mang ý nghĩa khống chế sâu hại không chỉ có tính bền vững mà lúc có thời cơ thuận lợi thông qua lây lan để chuyển hóa thành bệnh dịch, từ đó để kết thúc được dịch sâu hại. Thông qua cải thiện điều kiện môi trường là có thể xúc tiến sự chuyển hóa này; làm tăng độ ẩm và nước là biện pháp có thể làm khoẻ hóa nấm địa phương như việc dẫn nước vào đồng ruộng làm cho bệnh tăng lên so với đối chứng.

Độ tàn che là nhân tố quan trọng ảnh hưởng đến độ ẩm của rừng. Li Yunrui (1984) cho rằng đóng cửa rừng, hạn chế nhật lá, tỉa cành, cắt cỏ làm tăng độ tàn che của rừng phát huy đầy đủ khả năng khống chế sâu róm thông của nấm bạch cương. Những vùng có nhiều nấm bạch cương gây dịch cho sâu róm thông là những vùng có độ tàn che từ 0,8-1,0.

Những sâu chết tự nhiên sau khi qua đông trong đất hoặc kẽ hở của cây nếu đem nuôi trong điều kiện giữ ẩm, hầu hết chúng đều mọc nấm. Vì vậy nguyên nhân chết chủ yếu là do sự ký sinh của các loài nấm tựa mốc xanh, nấm

bạch cương, nấm lười liềm, nấm mốc khúc, mốc xanh... Mùa đông phun nấm bạch cương, nấm tựa mốc xanh lên đất dưới các tầng lá rụng hoặc đồng gạch trong rừng trải qua 6 tháng kiểm tra số lượng bào tử nấm vẫn không mất khả năng nảy mầm. Mùa đông dưới các đồng gạch không phun nấm nhưng rải một ít cám sau mùa đông phát hiện thấy có 46% sâu chết, trong khi đó nơi không rải cám tỷ lệ sâu chết chỉ 17%. Những vùng xử lý trên xác sâu đều có nấm tựa mốc xanh và nấm bạch cương. Người ta nhận thấy rằng nếu có chất dinh dưỡng trong điều kiện rừng cải thiện độ ẩm có thể làm khoẻ hóa bệnh địa phương đối với sâu hại.

Nếu có một số lượng vật chủ nhất định trong rừng sẽ có ý nghĩa quan trọng trong việc kéo dài bệnh địa phương, vật chủ là một trong những điều kiện quan trọng nhất để lây bệnh. Những khu vực phát sinh sâu róm thông đầu tiên, những vùng núi vòng quanh rừng thông thuần loài hoặc vùng khe suối núi yên ngựa quanh hồ nước... là nơi phát sinh sâu róm thông, nơi tồn tại sâu róm thông liên tục, là điều kiện vật chủ cung cấp không ngừng cho thiên địch, nó không những là nơi làm khoẻ hóa bệnh địa phương mà còn là nơi dẫn nhập vật gây bệnh từ đó hình thành nơi cho bệnh địa phương phát triển.

Trong những vùng không có cây trồng duy trì vật chủ trung gian cây nấm mốc sâu cũng là một phương pháp làm khoẻ hóa bệnh côn trùng. Ví dụ trong vườn ươm trồng thêm các loài cây hấp dẫn rệp, những rệp đó có thể trước có khi rệp hại vườn ươm đạt đến đỉnh cao, kết quả thiên địch của

rệp hai cây trồng thêm sẽ chuyển dịch sang diệt rệp hại vườn ươm.

(3) Sử dụng chế phẩm nấm diệt sâu

+ Thời cơ và điều kiện

Độ ẩm là nhân tố mấu chốt cho nấm xâm nhiễm, phải nấm vững mùa có độ ẩm cao và môi trường độ ẩm cao để thả nấm. Ở nước ta sử dụng máy phun thuốc hoặc dùng máy bay phun nấm Boverin phòng trừ sâu róm thông phải được tiến hành vào tháng 1 đến tháng 3. Lúc này độ ẩm và nhiệt độ rất thích hợp. Sức đề kháng của sâu cũng thấp. Một số vùng có hai mùa mưa rất ngắn, chỉ sinh sản trong điều kiện tự nhiên thường; số lượng nấm gây bệnh côn trùng không đủ, mùa mưa qua đi không thể hình thành dịch bệnh. Cho nên cần phải nấm vững thời cơ, bổ sung nguồn nấm để tạo cho bệnh phát sinh gây dịch.

Một số vùng khô hạn việc phòng trừ sâu hại bằng chế phẩm nấm thường gặp khó khăn, song chỉ cần điều kiện đất đai thích hợp cho cây sinh trưởng, tổng hàm lượng nước thoả mãn nhu cầu của nấm, vì vậy trong vùng khô hạn công tác phòng trừ sâu hại trong đất cũng có những triển vọng. Côn trùng và đất thường có mối liên hệ chặt chẽ, một số loài côn trùng ngủ nghỉ trong đất, một số hóa nhộng trong đất, hầu hết chúng có quan hệ trực tiếp với điều kiện đất đai. Đó là thời cơ phòng trừ có hiệu quả. Ngoài ra một số loài mọt hại vỏ cây không ăn lá, khó nhiễm vi khuẩn và nấm có thể dùng nấm để phòng trừ. Những nấm đó mọc tốt

trong các đường lỗ mọt. Do đó nghiên cứu tiêu khí hậu để phát triển sử dụng nấm phòng trừ sâu là việc làm cần thiết.

+ Phương pháp thả nấm thường dùng

Phương pháp sử dụng nấm là phun bột và phun mù. Phun mù nấm xâm nhiễm nhanh, phát bệnh sớm, tỷ lệ chết cao, thích nghi với nơi có nguồn nước, những nơi có cây thấp. Phun bột thường cho khả năng khuếch tán lớn, thời gian giữ lại trong rừng lâu, tiết kiệm nhân lực, giá thành thấp hơn phun nước. Phun nấm bằng thả pháo. Mỗi túi pháo chứa 0,5kg bột nấm, có thể khống chế 700m². Cách đặt pháo có nhiều cách, treo, ném. Những vùng thích nghi với hướng gió có thể đào hố nổ mìn mỗi hố đặt 10-15kg bột, có thể phòng trừ được 1-1,5ha rừng.

Ở nước ta việc sản xuất chế phẩm Boverin đã được thực hiện ở nhiều tỉnh như Nghệ An, Thanh Hoá, Viện Bảo vệ thực vật, đã áp dụng phương pháp phòng trừ sâu róm thông cho hàng ngàn hecta bằng nổ pháo, nổ mìn, treo lên cây, phun mù, phun bột tại các tỉnh Nghệ An, Hà Tĩnh, Quảng Ninh, Ninh Bình, Bắc Giang từ năm 1980; hiệu quả diệt sâu đều đạt trên 80%. Ngày nay chế phẩm này vẫn còn được sản xuất và có tác dụng phòng trừ rõ rệt.

Ngoài ra có thể thả sâu bị bệnh nấm (dùng dịch nấm tẩm sâu rồi thả vào cây rừng) chúng có thể lây bệnh, là một biện pháp “thả hổ về rừng”. Cũng có người dùng rơm buộc cây lại rồi phun nấm Boverin, khi sâu non qua đông nhiễm nấm sẽ bị nhiễm bệnh. Một số vùng dùng chế phẩm Boverin phòng trừ sâu đục quả đậu bằng cách phun vào đất làm cho sâu non khi chui vào đất bị bào tử nấm xâm nhiễm,

tỷ lệ sâu chết lên tới 50-70%. Hầu hết các loài sâu qua đông sử dụng chế phẩm Boverin phòng trừ hiệu quả sẽ rất cao.

Đối với sâu dưới đất ta thường dùng chế phẩm rắc lên mặt đất. Sau 4 năm số lượng quần thể sâu hại giảm xuống rõ rệt.

+ Phun chế phẩm nấm bằng máy bay

Nhiều nước có diện tích rừng thông rất lớn. Có thể sử dụng máy bay phun chế phẩm nấm Boverin. Ví dụ tỉnh Quảng Đông đã dùng chế phẩm Boverin phun mù trên diện tích 6,5ha hiệu quả phòng trừ đạt 80%. Việc sử dụng chế phẩm Boverin phòng trừ sâu róm thông đã trở thành biện pháp phòng trừ quan trọng trong lâm nghiệp của các tỉnh phía Nam Trung Quốc.

Tuy nhiên việc phòng trừ sâu róm thông bằng máy bay cần một số yêu cầu sau:

- Hàm lượng bào tử phải cao: mỗi gam chế phẩm phải đạt $10 \cdot 10^9$ bào tử sau khi phun phải có độ bám tốt, độ ẩm của chế phẩm phải dưới 15%.

- Kỹ thuật phun phải cao: Thời cơ phun chế phẩm phải ở độ ẩm trên 80%, nhiệt độ phải trên 20°C, nói chung vào tháng 1-3 là thích hợp.

- Phun mù bằng thuốc dầu sữa cao hơn phun bột. Lượng bào tử liên quan chặt chẽ với tỷ lệ chết của sâu róm thông.

4. SỬ DỤNG VI KHUẨN GÂY BỆNH CÔN TRÙNG

Côn trùng chết trong tự nhiên chiếm 80-99%, trong đó hầu hết chết do vi sinh vật, mà vi khuẩn là loại vi sinh vật

chiếm đa số. Do đó, trong điều kiện tự nhiên, vi khuẩn có tác dụng không nhỏ trong việc điều chỉnh số lượng quần thể sâu hại. Trong đó một số quần thể vi khuẩn đã được sản xuất thành chế phẩm dùng để phòng trừ sâu hại rừng.

Người ta đã phát hiện hàng trăm loài vi khuẩn có quan hệ với côn trùng, trong đó có khoảng 90 loài gây bệnh. Hầu hết chúng thuộc họ nấm que (Bacillaceae) có phản ứng Gram dương, họ vi khuẩn que ruột (Enterobacteriaceae) có phản ứng Gram âm, trong bộ vi khuẩn thật (Eubacteriales) và họ vi khuẩn đơn bào giả (Pseudomonadaceae) trong bộ vi khuẩn đơn bào giả (Pseudomonadales). Trong phân loại còn loại vi khuẩn tựa hình que phản ứng Gram âm, gây bệnh cho côn trùng chưa được xác định và tạm xếp vào họ vi khuẩn tựa hình que (Bacteriaceae).

Dựa vào mức độ ký sinh của vi khuẩn trên vật chủ người ta chia ra vi khuẩn chuyên ký sinh, vi khuẩn kiêm ký sinh, vi khuẩn tiềm ẩn.

+ *Vi khuẩn chuyên ký sinh.* Trong tự nhiên chúng sinh sản trong cơ thể côn trùng. Muốn sinh sản cần có điều kiện đặc biệt. Do đó chúng rất khó mọc trên môi trường nhân tạo. Những loại này có phạm vi vật chủ hẹp, lây lan qua đường miệng. Ví dụ vi khuẩn bào tử mầm bọ hung *Bacillus popilliae*, *B. lentimorbus*.

+ *Vi khuẩn kiêm ký sinh.* Chúng sinh sản ngoài cơ thể côn trùng, không đòi hỏi những điều kiện đặc biệt, cho nên có thể nuôi cấy trong môi trường nhân tạo, sinh sản trong ống tiêu hoá, làm tổn thương các mô vật chủ, đồng thời hình thành chất độc trong xoang máu côn trùng. Nếu chất

độc đổ vào trong ống tiêu hóa, dù vi khuẩn không sinh sản cũng có thể làm cho côn trùng chết. Ví dụ vi khuẩn que hình thành mầm và tinh thể (*Bacillus thuringiensis*).

+ *Vi khuẩn tiềm ẩn*. Trong tự nhiên vi khuẩn sinh sản ngoài cơ thể côn trùng, có thể mọc trên môi trường nhân tạo giống như loại vi khuẩn trên. Tuy nhiên do chất độc và enzym rất ít không thể xâm nhập vào xoang máu để gây hại. Nếu thông qua một phương pháp tác động nào đó làm cho vi khuẩn vào được xoang máu là có thể sinh sản gây ra bệnh bại huyết. Số loài côn trùng chết theo kiểu này rất nhiều.

Trong 3 loại trên 2 loại đầu đã được ứng dụng để phòng trừ sâu hại ngoài đồng ruộng. Những loài không có mầm trong tự nhiên khi bệnh bùng phát, chúng có thể tiêu diệt hàng loạt sâu hại, nhưng trong điều kiện khô hạn ánh sáng nhạy cảm, sự thay đổi độ độc lớn; loại vi khuẩn này làm thế nào để sử dụng có hiệu quả là vấn đề cần được giải quyết. Nếu dùng cùng với thuốc trừ sâu, hiệu quả vẫn không được ổn định.

Trong tự nhiên những loài vi khuẩn gây bệnh không phải đều có thể tạo thành chế phẩm trừ sâu và cần có một số tính chất cơ bản về độ độc, tính ổn định, khả năng lây lan, tác dụng nhanh, chọn lọc tốt, có thể sản xuất hàng loạt, kinh tế và an toàn.

a) Vi khuẩn gây bệnh chuyên ký sinh

(1) Vi khuẩn sữa

Có một loài vi khuẩn hình que nảy mầm gây bệnh cho sâu non bọ hung. Căn cứ vào nhiều tài liệu trên thế giới, các

vùng khác nhau phân lập ra nhiều loài vi khuẩn gây bệnh dạng sữa, trong đó có vi khuẩn que Nhật Bản (*Bacillus popilliae* Dutky và *Bacillus lentimorbus* Dutky) là quan trọng nhất. Có khoảng 53 loài bọ hung bị bệnh này.

+ Phân loại vi khuẩn sữa

Năm 1973 sau khi Trung Quốc nhập vào loài vi khuẩn này đã diệt được 14 loài côn trùng tỷ lệ chết đạt 90%. Tuy nhiên đối với những vùng lạnh thì hiệu quả kém hơn. Sau năm 1978 ở Trung Quốc cũng phân lập được nhiều loài trên sâu non bọ hung và phát hiện bệnh sữa bọ hung có ở nhiều nơi. Rõ ràng vi khuẩn dạng sữa rất nhiều hiện nay ta biết được một số loài sau:

- *Bacillus popilliae* Dutky (viết tắt là B. p)
- *B. lentimorbus* Dutky
- *B. lentimorbus* var *australis* R. L.
- *B. uloomarchae* Beard. R. L.
- *B. fribourogensis* Wile. H.
- *B. popilliae* var *melolonthae*
- *B. popilliae* var *rhopaea* Milnee.

Ngoài ra người ta còn phát hiện loài *Oryctes* spp. gây bệnh sữa cho sâu non bọ hung. *Bacillus popilliae* var *pengleai* phát hiện ở Trung Quốc cũng gây bệnh sữa. Những bệnh sữa do *B. popilliae* gây ra gọi là bệnh sữa kiểu A, bệnh do *B. lentimorbus* gây ra gọi là bệnh sữa kiểu B. Sự khác nhau cơ bản 2 loài vi khuẩn này là ở triệu chứng và hình thái bào tử.

+ Đặc trưng hình thái của vi khuẩn sữa

Loài *Bacillus popilliae* (B. p) có bào tử dài, không vận động, mọc đơn, mọc chuỗi đôi, thỉnh thoảng có chuỗi 4. Thể dinh dưỡng vi khuẩn có kích thước $0,9 \times 5,2\mu\text{m}$, trong kỳ nảy mầm tế bào phình lên, khi bắt đầu phình lên bào tử mầm có không bào chiết quang, chồi càng phát triển khả năng chiết quang càng mạnh, cho đến khi nhìn rõ bào mầm. Lúc này tế bào hình thoi, bào mầm ở về một đầu, sau khi phát triển thành hình quả lê liền với bào mầm hình thành một thể chiết quang bằng nửa bào mầm sự sắp xếp bào mầm và tế bào trước giống như dấu chân voi. Phản ứng Gram dương.

+ Đặc tính sinh vật học của vi khuẩn sữa

- Đặc tính dinh dưỡng

Nói chung loài B. p trên môi trường dinh dưỡng bình thường không thể sinh trưởng, nhưng trong môi trường phức tạp có thể sinh trưởng. Môi trường dinh dưỡng này phần lớn có chất chiết cao men và tyramin. Trong tất cả các môi trường có nguồn đường. Hợp chất thường có tryptophan, thiamin. Glucoza và muối photphat, và có chất phân giải tyamin chúng sinh trưởng rất tốt. Tryptophan, thiamin rất cần cho sinh trưởng; biotin, nicotinic acid không cần thiết, nhưng có tác dụng kích thích đối với sinh trưởng.

Nguồn acid amin trong vi khuẩn B. p rất phong phú, chúng cần rất nhiều loại acid amin. Chúng không thể tự chế tạo acid amin trong serin và acid amin thom, cũng không thể tổng hợp thành; không cần propianin và acid glutamic; có thể tổng hợp thành aspartic acid, lysine, threonine. Nhưng sinh trưởng của thể dinh dưỡng rất cần asparaginate và

monothiamic acid để vi khuẩn tiếp tục sinh trưởng. Trong môi trường tổng hợp nhất thiết phải thêm barbituric acid, nhưng tác dụng của chúng vẫn chưa rõ. Vi khuẩn này có phản ứng tốt khi có trehaloza nồng độ cao. Khi dùng trehaloza tốc độ sinh trưởng hô hấp cao hơn lúc dùng glucoza.

- Đặc tính sinh trưởng của B. p

Như trên đã trình bày vi khuẩn B. p sinh trưởng tốt trên môi trường dịch thể hoặc môi trường rắn có cao men và glucoza. Sinh trưởng 16-20 giờ là hình thành hàng loạt bào tử với số lượng 2×10^9 . Sau khi xuất hiện đỉnh cao của sự sinh trưởng, số lượng vi khuẩn sống giảm xuống, nhưng không xuất hiện tác dụng vi khuẩn hoà tan tế bào, dù có oxy hoặc không có oxy đều không hình thành bào mầm. Nguyên nhân bào mầm bị chết vẫn chưa rõ.

Vi khuẩn B. p có tính ký sinh mạnh có thể sinh sản trong cơ thể bộ hung non. Bào mầm có thể sống lâu năm. Một sâu non bộ hung chết khô bảo quản bào mầm sau 42 tháng vẫn gây bệnh cho sâu non bộ hung mới.

+ Bệnh lý vi khuẩn B. p

Trong tự nhiên vi khuẩn này thông qua đường tiêu hóa của bộ hung để xâm nhiễm. Sau khi bộ hung ăn rế, vật hoại sinh trong đất, bào mầm nảy mầm thành thể dinh dưỡng xuyên qua vách ruột vào trong xoang cơ thể. Vi khuẩn sinh sản hàng loạt bào mầm trong xoang máu. Do sâu bị bệnh và chết trong cơ thể bào mầm làm cho limfa máu đục nên sâu non bộ hung thành màu trắng sữa, hoạt động của chúng giảm dần, phản ứng rất chậm, nếu bẻ chân ra vết thương sẽ chảy ra dịch màu trắng sữa, qua kính hiển vi thấy nhiều bào mầm của vi khuẩn.

Julian cho rằng quá trình xâm nhiễm của vi khuẩn được chia ra 4 giai đoạn. Giai đoạn đầu là kỳ sơ ủ bệnh, khoảng 2 ngày, có rất ít tế bào vi khuẩn. Giai đoạn 2 là giai đoạn sinh sản nhanh thể dinh dưỡng, khoảng 3 - 5 ngày ngoài tiền bào tử còn có bào mầm. Giai đoạn 3 là giai đoạn giữa khoảng 5-10 ngày, sinh trưởng dinh dưỡng chuyển sang hình thành tiền bào tử và bào mầm. Giai đoạn 4 là giai đoạn hình thành bào mầm, khoảng 14 - 21 ngày, trong cơ thể chứa đầy bào mầm, cuối cùng là sâu non chết. Mỗi con sâu non mỗi giai đoạn có số bào mầm là 20%, 20-30%, 40-80%, cuối cùng số lượng bào mầm có thể lên tới 5×10^9 (mỗi ml limfa máu chứa 5×10^{10} bào mầm), limfa của máu còn trùng thành dạng như sữa bò. Trong môi trường dinh dưỡng nuôi B. p cũng chia ra các giai đoạn, từ đó sự hình thành bào mầm trong cơ thể sâu non phát triển và tăng cường theo diễn biến của bệnh.

Cần bao nhiêu bào mầm mới có thể gây bệnh cho đến nay vẫn chưa rõ, nhưng chắc chắn một bào mầm không thể gây bệnh. Dutky quan sát 1 sâu non bắt đầu có phản ứng ở lượng bào mầm là 1×10^2 - 2×10^6 (tiêm vào cơ thể). Beard phát hiện mỗi g đất có 4×10^6 bào mầm mới có thể gây 96% sâu non ăn đất chết.

Nhiệt độ thích hợp cho B. p phát triển là 16-36°C. Khi sâu non ăn phải bào mầm, nhiệt độ thấp hơn 16°C sẽ không gây bệnh, có lúc sâu non bị bệnh sau khi qua đông mới bị chết. Trong điều kiện bên ngoài, phần lớn sâu non bị chết ở giai đoạn 2 và 3, đến giai đoạn 4 chỉ sống sót 30%.

+ Sản xuất vi khuẩn sữa

Vi khuẩn sữa đã được sản xuất thành thương phẩm, tên gọi của thương phẩm là "Doom". Chúng có hiệu quả phòng

trừ đối với sâu non bộ hung. Trong quá trình nuôi cấy rất khó thu được bào mầm. Cho nên phương pháp có hiệu quả gây bệnh nhân tạo cho sâu non bộ hung, phương pháp đó như sau:

Trước hết dùng limfa máu sâu non đã nhiễm bệnh bảo quản trên lam làm giống, nung nóng ở nhiệt độ 50-60°C sau 15-20 phút, dùng ống tiêm tiêm vào cơ thể sâu non bộ hung nuôi hoặc thu thập ngoài đồng ruộng một lượng rất ít mỗi con khoảng 10^3 bào mầm là có thể gây bệnh. Giống nấm bảo quản trên lam tiêm vào khoảng 10^4 bào mầm là có thể nhiễm bệnh. Khi tiêm chỉ cần tiêm vào giữa đốt bụng để dịch vi khuẩn vào xoang cơ thể sâu non. Tiêm xong nuôi trong hòm nuôi riêng, mỗi hòm chia ra 5 lớp, mỗi lớp có 100 buồng nhỏ. Mỗi hòm nuôi khoảng 500 con. Bỏ thêm đất và hạt giống nảy mầm để cung cấp thức ăn cho sâu non bộ hung. Giữ đất ẩm và nhiệt độ 30°C, thời gian nuôi là 12 ngày. Mỗi con sâu non chứa khoảng $2-5 \times 10^9$ bào mầm. Sau đó chọn những con sâu bị bệnh trong đất, rửa hết đất bám, bỏ vào chảo nước đóng băng, để giảm bớt sự cản nhau của các con sâu non và tổn thất đến bào mầm. Sau đó bảo quản ở trong tủ lạnh nhiệt độ 0-2°C. Khi có số sâu bị bệnh nhiều đạt đến số lượng nhất định, dùng máy xay thịt nghiền nhỏ, dùng nước chế thành dung dịch bào mầm, rồi thêm vào CaCO_3 thông qua xử lý khô chế tạo thành bột chế phẩm.

- Hiệu quả trừ sâu của vi khuẩn sữa.

Lợi dụng vi khuẩn phòng trừ sâu non bộ hung là biện pháp phòng trừ sinh học có hiệu quả. Ở Mỹ và Columbia đã dùng để phòng trừ bộ hung trên diện tích hàng trăm ngàn hecta hiệu quả đều đạt 60-80%. Sau khi sâu non bộ hung chết làm tăng số lượng bào mầm trong đất đạt được hiệu

quả khổng chế sâu non bộ hung rõ rệt, từ 20-60 con/m² giảm xuống còn 1-3 con và giữ mức như vậy trong 10 năm.

- Vi khuẩn hình thoi (*Clostridium brevifacieums*)

Vi khuẩn hình thoi là loại chuyên ký sinh trên sâu róm (*Malacosoma pluviale*). Vi khuẩn này có phản ứng Gram âm, kích thước 3-13×0,9-1,3μm, có thể vận động, bào tử hình thành là 1,6×3-3,3μm. Tế bào dinh dưỡng nếu dùng dịch ép lá táo sẽ có số lượng cao, nếu dùng K/Na nuôi có thể được nhưng không hình thành bào tử. Sâu non ăn phải vi khuẩn sau 1 ngày bào tử có thể nảy mầm thành tế bào dinh dưỡng. Do chúng là vi khuẩn yếm khí nên không xâm nhập vào xoang máu mà chỉ sinh sản trong ruột sâu non. Sau 3 ngày là thể hiện triệu chứng: ngừng ăn, tiết dịch, trao đổi nước không bình thường. Vì vậy pH giảm xuống, cơ các đốt co thắt lại, các chất bài tiết ra ngoài, trong đó chứa nhiều bào tử và trở thành nguồn lây bệnh. Sau 1 tuần sâu chết, thân cứng khô. Vi khuẩn hình thoi này có thể phát hiện trên một số loài sâu bộ cánh vẩy.

Hiện nay không thể nuôi cấy trên môi trường nhân tạo loài vi khuẩn này, nên sản xuất chế phẩm vẫn phải áp dụng phương pháp nuôi trên sâu sống.

b) Vi khuẩn kiêm ký sinh- vi khuẩn que *Bacillus thuringiensis*

Vi khuẩn *Bacillus thuringiensis* (B.t) được nhà côn trùng học người Đức phát hiện năm 1911 tại Thuringi vùng Địa Trung Hải sau khi phân lập trên loài sâu xám. Năm 1915 được gọi là *Bacillus thuringiensis*. B.t là loài vi khuẩn sản sinh tinh thể có tác dụng phòng trừ đối với nhiều loài sâu, là loài vi khuẩn kiêm ký sinh.

Trong thập kỷ 60 của thế kỷ 20 người ta còn phát hiện được nhiều biến loài trên sâu xám, sâu róm thông, sâu xanh... và đã chế tạo ra chế phẩm B.t.

(1) Đặc trưng hình thái vi khuẩn B.t

Hình thái cá thể vi khuẩn B.t rất đơn giản, quá trình sống có thể chia ra 3 giai đoạn: thể dinh dưỡng, nang bào tử, phóng bào mầm và tinh thể.

+ Thể dinh dưỡng

Thể dinh dưỡng dạng que hai đầu tù, tựa như lập xường, kích thước $1,2-1,8 \times 3-5\mu\text{m}$. Lông roi mọc xung quanh, hơi động hoặc không động. Chúng thường tồn tại 1 cá thể hoặc 2 cá thể liền nhau. Phản ứng Gram dương. Thể dinh dưỡng là giai đoạn sinh sản phân chia ngang. Trong thời kỳ sinh sản thường có 2, 4, 8... thể dinh dưỡng liền nhau thành chuỗi. Lúc này sinh trưởng nhanh, trao đổi chất nhiều để nuôi cấy trên môi trường.

- Nang bào tử

Khi các thể vi khuẩn già, một đầu nào đó trong cơ thể hình thành bào mầm hình bầu dục, còn đầu kia hình thành tinh thể hình thoi. Đó là giai đoạn nang bào tử. Nang bào tử hình trứng dài to hơn thể dinh dưỡng. Nếu dùng thuốc nhuộm fusin carboxin màu đỏ nhuộm màu, thì thể dinh dưỡng màu đỏ, tinh thể màu đỏ sẫm, bào mầm không màu, chỉ nhìn thấy một vầng chiết quang.

+ Bào mầm và tinh thể

Khi nang bào tử phát triển đến một giai đoạn nào đó, chúng nứt ra, phóng bào mầm và tinh thể. Kích thước bào mầm $0,8-0,9 \times 2\mu\text{m}$. Bào mầm ở dạng ngủ nghỉ có thể đề

kháng với các điều kiện môi trường bất lợi. Chế phẩm vi khuẩn thường được bảo quản ở dạng bào mầm. Tinh thể thường có kích thước thay đổi theo biến loài, thường vào khoảng $0,6 \times 2\mu\text{m}$; hình thoi, cũng có loại hình tròn, hình bầu dục, hình vuông theo biến loài và loại môi trường. Tinh thể là một loại chất độc chứa protein là chất diệt sâu có hiệu quả chủ yếu.

(2) Đặc tính sinh vật học của vi khuẩn B.t

+ Đặc trưng dinh dưỡng

Vi khuẩn B.t có thể mọc trên các loại môi trường nuôi cấy, trên môi trường khác nhau hình thái khuẩn lạc sẽ khác nhau.

Trên môi trường pepton, agar bề mặt khuẩn lạc rộng, hình tròn, nuôi trong 72 giờ đường kính có thể đạt 1cm; khuẩn lạc màu trắng sữa, bề mặt phẳng, mép hơi có dạng phóng xạ giống dạng thảm, có tuyến phóng xạ dạng sợi.

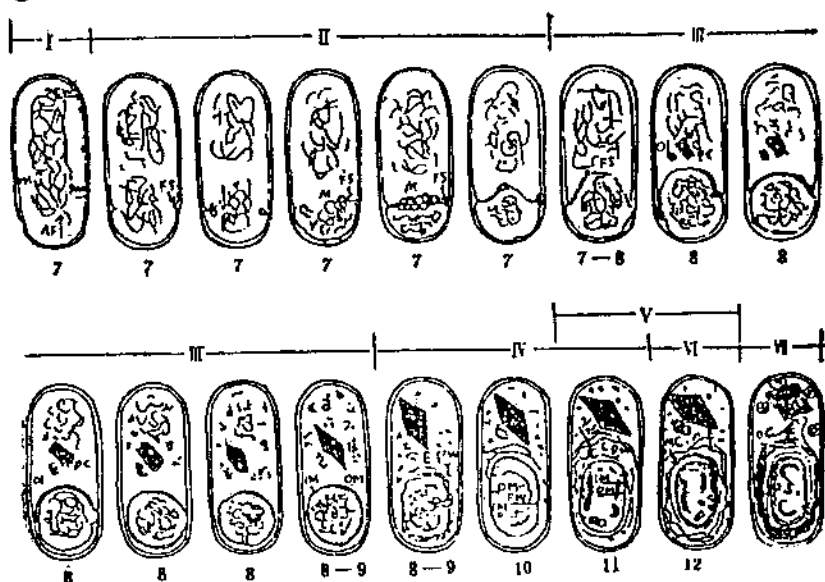
Trên môi trường glucoza 2,2%, agar nuôi ở nhiệt độ 30°C trong 24 giờ khuẩn lạc màu vàng, sau 48 giờ có hình vòng tròn dày, đường kính 3mm, giữa có vòng màu sẫm hơn, bề mặt màu trắng bóng, khô, thô mép uốn, sau 3 ngày đường kính đạt 2cm.

Cùng một loài B.t nhưng biến chủng khác nhau mọc trên cùng một môi trường thường như nhau nhưng cũng thể hiện những trạng thái không như nhau ví dụ những biến chủng sâu róm thông, sâu xám... trên môi trường dinh dưỡng có những biểu hiện về màu sắc, hình dạng, kích thước không như nhau.

+ Quá trình phát triển của vi khuẩn B.t

Trong quá trình phát triển của vi khuẩn chúng trải qua rất nhiều biến đổi về sinh lý sinh hóa. Nếu thông qua kính hiển vi quang học hoặc kính hiển vi điện tử ta thấy sự hình thành bào tử phải trải qua 7 giai đoạn: Sự biến đổi hình thái của vi khuẩn trong giai đoạn hình thành bào tử như sau:

(I) Sợi trục hình thành nhiễm sắc thể, (II) Phát sinh màng tế bào hoàn thành vách tiền bào tử, (III) Tiền bào tử tách ra từ trong tế bào mẹ, (IV-VI) Xung quanh bào tử hình thành vỏ bào tử, màng ngoài và bào tử được hình thành. Tinh thể xuất hiện vào đầu của kỳ VI dần dần lớn lên, bên ngoài là thể 8 mặt.



Hình 11. *Quá trình hình thành bào tử vi khuẩn B.t*

+ Đặc tính sinh lý của vi khuẩn B.t

Vi khuẩn B.t yêu cầu dinh dưỡng không cao, chất dinh dưỡng chủ yếu là protein động thực vật, có thể phát triển bình thường trong nhiều nguồn nitơ, nguồn cacbon và muối vô cơ. Thông thường dùng nguồn cacbon là tinh bột, maltoza, glucoza. Nguồn nitơ là nitơ hữu cơ như cao thịt bò, pepton, bột men, bột bánh lạc, bột bánh đậu, bột cá, bột ngô. Muối vô cơ thường dùng là K_2HPO_4 , $MgSO_4$, $CaCO_3$.

Vi khuẩn B.t có thể sinh trưởng trong điều kiện nhiệt độ 12 - 40°C, nhiệt độ thích hợp là 27 - 32°C, 35 - 40°C sinh trưởng nhanh nhưng chóng lão hoá, nhiệt độ thấp chúng sinh trưởng rất chậm.

Vi khuẩn thích hợp với điều kiện kiềm, pH thích hợp là 7,5, ở pH = 8,5 vẫn có thể hình thành bào mầm, nếu pH = 5 thì không hình thành bào mầm. Vi khuẩn là loại hiếu khí phải có đủ oxy mới sinh trưởng tốt, nhất là khi hình thành bào mầm. Nếu không đủ không khí sẽ không hình thành bào mầm hoặc hình thành chậm.

Phản ứng sinh lý sinh hóa của vi khuẩn B.t là: làm ngưng kết sữa, trong đường glucoza, fructoza, glycerin, tinh bột, maltoza, trehaloza sẽ hình thành acid; không hình thành indol; có phản ứng dương với methyl red; phản ứng VP dương (ethyl methyl methanol); có tác dụng hoà tan trong môi trường huyết ngựa agar; có thể mọc trên môi trường muối cianat, khử muối nitrat thành muối nitrit, không lợi dụng acid citric, không khử muối sunphat; sản sinh enzym phospholypase, không xuất hiện hạt màu đỏ.

(3) Phân loại vi khuẩn B.t

Vi khuẩn *Bacillus thuringiensis* cũng tương tự như *B. cereus*, cho nên trong phân loại còn nhiều tranh luận. Có người cho rằng vi khuẩn B.t chính là vi khuẩn *B. cereus*, nhưng có người cho nó là loài độc lập. Hai loài này khác nhau ở chỗ là hình thành tinh thể hay không, không lợi dụng muối citrat; muối photphat sót lại của bào mầm của B.t nhiều gấp 10 lần so với *B. cereus*. Với 3 đặc điểm khác biệt trên B.t là một loài và có nhiều biến loài. Tên la tinh của nó là: *Bacillus thuringiensis* var. *thuringiensis* Berliner. Vì vậy có thể gọi là loài B.t hoặc biến loài. Về sau Barjac và Bonnefoll (1962) đã nghiên cứu sinh hóa và huyết thanh học của 24 hệ tinh thể B.t và chia ra 8 biến loài. Norris (1964) chứng minh các biến loài khác nhau có sơ đồ điện esteraza khác nhau.

Năm 1974 Bergey căn cứ vào kiểu huyết thanh mà chia B.t ra làm 17 biến loài, 11 kiểu huyết thanh. Năm 1979 người ta lại phát hiện một số biến loài ở một số nước và địa phương như *thompsoni*, *kurstaki*, *pakistan*, *israelensis*, *decota*, *indiana*. Về sau một số biến loài khác đã được phát hiện trong đó có 4 biến loài ở Trung Quốc như *wuhanensis*, *ostriniae*, *yunnanensis* và *tianmensis*.

Trong công tác phân loại vi khuẩn B.t, phản ứng sinh hóa là sự sai khác giữa các biến loài. Xem xét có lợi dụng nguồn Cacbon và Nitơ, enzym và sản phẩm trao đổi chất hay không. Dùng phương pháp này đơn giản thuận tiện, nhưng do sự khác nhau của một số biến loài rất ít nên có thể nhầm lẫn. Dùng kháng nguyên và kháng thể có thể phân

biệt chúng, vì vậy phương pháp huyết thanh là phương pháp nhanh gọn hơn, nhưng phải có kháng nguyên của loài vi khuẩn chuẩn để xác định.

Ngoài ra, người ta còn dùng một số phương pháp khác như phản ứng VP, phản ứng sinh hoá, kiểu chất độc ngoài của vi khuẩn, phản ứng các enzym...

(4) Sự khác nhau về độ độc của các biến loài vi khuẩn B.t

Nhiều chứng minh đều cho biết các biến loài khác nhau thì có độ độc khác nhau. Cho nên trong sản xuất chế phẩm vi khuẩn ta cần chọn những biến loài có độ độc cao.

Tiêu chuẩn để chọn độ độc là kiểu huyết thanh, độ độc IU/mg, độ lớn của tinh thể.

(5) Cơ chế gây bệnh của vi khuẩn B.t

Tác dụng gây bệnh chủ yếu của vi khuẩn B.t đối với côn trùng là qua thức ăn vào cơ thể. Chế phẩm vi khuẩn bao gồm bào mầm và chất độc do vi khuẩn gây ra. Sự sinh sản của vi khuẩn có thể làm cho côn trùng chết, nhưng chất độc do vi khuẩn sinh ra làm cho chúng chết nhanh hơn. Tác dụng diệt sâu của vi khuẩn có quan hệ mật thiết với cơ chế gây bệnh và vật chủ.

+ Chất độc của vi khuẩn B.t

Chất độc của vi khuẩn B.t được chia ra 2 loại: chất độc trong (endotoxin) chính là tinh thể và chất độc ngoài (exotoxin) là sản phẩm trao đổi chất tiết ra ngoài cơ thể vi khuẩn trong quá trình sinh trưởng. Chúng bao gồm các loại sau:

- *Chất độc ngoài B.t.α* (còn gọi chất độc ngoài thể A) là protein bị nhiệt phá hoại (120°C trong 20 phút) chúng sinh ra trước khi hình thành bào mầm và tinh thể. Nhiều biến loài vi khuẩn đều hình thành loại chất độc này.

- *Chất độc ngoài B.t.β* (còn gọi là chất độc thể B) là chất độc ổn định trong nhiệt.

+ *Sự hình thành chất độc β*. Chất độc này được Meconne phát hiện đầu tiên vào năm 1959. Chúng có tính ổn định ở nhiệt độ cao 120°C trong 15 phút vẫn không bị mất hoạt tính, có thể tan trong nước, có thể chiết xạ không phải là protein mà là chất acid adenilic. Trong quá trình sinh trưởng của vi khuẩn chúng sinh ra trước khi hình thành bào mầm và tinh thể sau 24 giờ chúng đạt đến đỉnh cao nhất. Trong thời kỳ nuôi cấy không lắ cũng hình thành chất độc này. Với liều lượng thích hợp, tiêm vào cơ thể côn trùng hoặc côn trùng ăn phải đều có hiệu quả gây độc. Kết quả xác định sinh học cho biết sản sinh chất độc này bao gồm nhiều biến loài như *B.t. var. keniae*, *B.t. var. morrison*, *B.t. var. tolworthi* và *B.t. var. thuringiensis*. Sự hình thành chất độc β không phụ thuộc vào kiểu huyết thanh và đặc tính tế bào học. Cho nên không thể căn cứ vào kiểu huyết thanh để xác định sự hình thành chất độc này. Ngoài ra chúng còn phụ thuộc vào phương pháp nuôi cấy, thành phần chất dinh dưỡng của môi trường, thời gian nuôi cấy và trị số pH.

- *Cách chiết chất độc β*. Trước hết dùng máy ly tâm quay dịch môi trường, loại bỏ các tạp chất. Dùng một số loại muối Mg, Ca có thể làm cho chất độc lắng xuống. Thông qua phân tích tăng trao đổi, rây phân tử, phân tích

tăng giấy, lắng đọng trong côn có thể phân lập ra rồi tiến hành xác định mật độ bằng tia tử ngoại 260nm, thông qua thăng hoa chân không loại bỏ muối dư thừa rồi xác định độ độc với côn trùng.

Trong điều kiện sản xuất mỗi lít cần có 50mg chất độc ngoài.

- *Thành phần và kết cấu chất độc ngoài β .* Chất độc β là chất adenin. Phân tử lượng là 707 – 850. Hầu hết có gốc photphatic, tỷ lệ adenin/photphatic là 1: 1,06 hoặc 1:1,08; có một số nghiên cứu nhận thấy tỷ lệ đó là 1:1.

Chất độc ngoài dephotphorid, thông qua phân giải ($\text{N H}_2\text{SO}_4$, 100°C, 2 giờ) được mucic acid, phân giải trong thời gian dài hơn (14 giờ) được dextrose, chất độc dephotphorid qua phân giải acid ngoài việc hình thành adenin và mucic acid còn sản sinh đường trung tính. Đường này có lượng phân tử lớn, đó là đường 6 và đường 5 cacbon.

Kết cấu hóa học của chất độc ngoài bao gồm 2 loại adenilic acid có tên gọi là thuringiensin A và thuringiensin B. Cả hai đều có 1 adenin, 1 nucleose, 1 phosphoric acid và 1 hợp chất cacbon chưa xác định. Chất độc A là tự do mà chất độc B là kết hợp thành γ -endolipoides.

- *Phạm vi và hiệu quả diệt sâu của chất độc ngoài β .* Cho đến nay người ta nghiên cứu thấy rằng phạm vi diệt sâu của chất độc ngoài β rất rộng. Chúng có thể diệt được các loài thuộc bộ cánh vẩy, bộ hai cánh, bộ cánh cứng, bộ cánh màng, rệp và nhện. Theo thông báo của Heimpele (1967) chúng đã diệt được 24 loài trong các bộ trên.

Hiệu quả của chất độc phụ thuộc vào lượng tiêm vào hay sâu ăn phải. Độ độc của nó biểu hiện ở chỗ lúc lột xác hoặc biến thái, không hóa nhộng bình thường, biến dạng... Độ độc của nó gấp 160 lần so với DDT. Tuy nhiên khi sâu ăn phải độ độc của chất độc ngoài β bị giảm xuống.

+ *Chất độc ngoài B.t. γ* là một loại enzym chưa xác định

+ *Chất độc trong B.t. δ* , còn gọi là chất độc tinh thể, tinh thể protein.

- *Hình thái tinh thể*. Trong nang bào tử B.t một đầu là bào mầm một đầu là tinh thể. Tinh thể có độ độc cao đối với côn trùng. Nói chung tinh thể có dạng nhiều cạnh, cũng có loại tròn, bầu dục. Mỗi nang bào tử chỉ có 1 tinh thể, đôi khi có 2 tinh thể. Thành phần chủ yếu là protein. Dưới kính hiển vi điện tử có thể thấy một số biến loài hình nón, hình bát diện trên có nhiều vân.

- *Sự hình thành tinh thể*. Dùng chất đồng vị đánh dấu chứng minh protein của tinh thể là do protein của tế bào vi khuẩn cung cấp. Sự chuyển hóa đó là một quá trình, phát sinh vào thời kỳ đầu của hình thành bào mầm. Protein tinh thể được tổng hợp khi xuất hiện kháng nguyên tinh thể. Sự hình thành tinh thể liên hệ mật thiết với màng bào mầm (exosporium), nó được tổng hợp trên màng bào mầm, thậm chí người ta còn cho rằng sự hình thành tinh thể là do sự sản sinh quá lượng của màng bào mầm.

Sự hình thành bào mầm có quan hệ mật thiết với sự hình thành tinh thể. Nếu không có bào mầm sẽ không có tinh thể. Cơ chế của nó là ức chế hoạt động tổng hợp enzym phân giải guanylic acid vì thế mà ngăn cản sự lợi dụng

glucoza của vi khuẩn phân giải ra acetic acid và chất trao đổi acetic acid rất cần thiết cho sự hình thành tinh thể độc.

Vấn đề protein tổng hợp tinh thể như thế nào có người cho rằng do Si hình thành lưới để ngưng kết protein. Trong tinh thể của biến loài *B.t. var morrison* đã phân tích được 0,35%-0,43% Si. Sự thực nhiều nhà khoa học ủng hộ quan điểm này.

- *Thành phần chất độc của tinh thể.* Tinh thể không hoà tan trong nước hoặc các chất hữu cơ (clorofooc, acetol, ether), nhưng có thể hoà tan trong dung dịch kiềm. Tinh thể có thể ổn định trong các dung dịch có phạm vi pH rộng (4 - 12). Có thể gây ra biến đổi tính chất trong trichloacetic acid, chlorit thuỷ ngân. Tinh thể tuy nhạy cảm với nhiệt độ cao, nhưng có tính chịu nhiệt nhất định ở 65°C có thể giữ được 1 giờ, 80°C được 20 phút.

Tinh thể là protein có 18 loại acid amin tổ thành, hàm lượng acid amin của tinh thể các biến loài khác nhau đều có điểm chung là tỷ lệ các acid glutamic, asparagic, leucine là nhiều nhất, các acid methionic, tryptophane là ít nhất.

- *Hiệu suất gây độc sâu của tinh thể.* Protein tinh thể trải qua phân giải phân tử tách ra trở thành polypeptid có lượng phân tử nhỏ hơn. Người ta đã dùng dịch dạ dày côn trùng thêm vào muối cacbonat hoà tan dịch NaOH và các chất khác để xử lý tinh thể, sau đó dùng các phương pháp phân tích protein tinh thể, kết quả cho thấy lượng phân tử của polypeptid hoặc protein không như nhau. Do đó tính độc cũng không như nhau. Một số có lượng phân tử lớn hơn 200.000, một số lớn hơn 40.000, một số chỉ 5.000 - 10.000. Khi xác định độ độc của tinh thể, người ta phát hiện protein có lượng phân tử 200.000 cho côn trùng ăn sẽ gây độc,

nhưng tiêm lại không độc; lượng phân tử 5.000-10.000 dù tiêm hay ăn đều gây độc. Gần đây người ta nghiên cứu ngoài phân tử lượng ra tinh thể phải có nhiều polypeptid. Tuy thành phần acid amin không như nhau nhưng đoạn cuối phải có aspartic acid. Vì vậy xác định aspartic acid để tìm hiểu độ độc của tinh thể là rất quan trọng.

Độ độc của tinh thể khác nhau theo các biến loài. Tinh thể có hình dạng khác nhau độ độc cũng khác nhau. Những tinh thể gần tròn có hiệu quả đối với các loài sâu bộ cánh vẩy, những tinh thể nhiều cạnh ngắn độ độc không bằng loại tròn nhưng vẫn mạnh, còn những tinh thể nhiều cạnh dài độ độc rất kém đối với nhiều loài sâu.

- Cơ chế gây bệnh của chất độc tinh thể

Khi vi khuẩn vào ruột giữa côn trùng không hình thành các enzym mà gây độc chủ yếu là do chất độc tinh thể. Sau khi tinh thể hoà tan trong ruột côn trùng chỉ mấy phút là côn trùng tê liệt, chỉ 55 phút là vách ruột bị vỡ, làm cho các tế bào thượng bì ruột giữa rụng, để lộ màng đáy mỏng tạo điều kiện cho tế bào dinh dưỡng của vi khuẩn xâm nhập. Nghĩa là sau khi sâu ăn vi khuẩn bào mầm nảy mầm tế bào dinh dưỡng chui vào màng thực quản xâm nhập vào thượng bì ruột giữa bị phá hoại, cuối cùng tế bào dinh dưỡng chui vào màng đáy các chất trong ruột lẫn với máu sâu non sẽ chết.

Heimpel (1959) chỉ rõ ruột trước của sâu non có chứa proteaza có thể phân giải protein tinh thể. Cho nên tinh thể chính là một tiền độc tố, mà chất độc chính phải là protein phụ. Tinh thể tuy có thể bị hoà tan trong ruột các loài sâu xám nhưng không thể hình thành độc tố từ tiền độc tố. Tinh thể không hoà tan trong ruột ngài đêm rau cải nên không hình thành chất độc, cho nên loài sâu này không nhạy cảm

đối với vi khuẩn B.t. Có người phân tích trong ruột sâu xanh rau cải có nhiều loại enzym, cho nên người ta cho rằng proteaza làm cho tinh thể bị phân giải là phân tử có tác dụng gây độc.

Sau khi sâu non bộ cánh vẩy ăn chất độc tinh thể căn cứ vào các phản ứng khác nhau mà chia ra 4 loại:

a) Sau khi sâu non ăn chất độc chỉ mấy phút là ruột giữa tê liệt, 1-7 giờ màng ruột vỡ, các chất kiềm lẫn vào xoang làm pH tăng lên, làm cho toàn thân bại liệt. Những loại này bao gồm tằm nhà, tằm sồi, ngài trời thuốc lá.

b) Sau khi sâu non ăn chất độc sau mấy phút làm tê liệt ruột giữa, nhưng thức ăn không vào xoang, pH máu không đổi, thân không bị bại liệt, sau 2-4 ngày mới chết. Hầu hết sâu non bộ cánh vẩy thuộc loại này.

c) Sau khi ăn chất độc 2-4 ngày chết, không có hiện tượng bại liệt, nhưng phải ăn cùng với bào tử và tinh thể mới có thể chết. Sâu non sâu xám đốm phấn, ngài độc thuộc loại này.

d) Sâu non không nhạy cảm với chất độc tinh thể như ngài đêm rau cải, nhưng nếu tăng thêm số bào tử và tinh thể tỷ lệ chết có thể ở mức thấp 22-39%.

Cơ chế gây bệnh của chất độc ngoài β khá phức tạp và chậm chạp, chỉ khi lột xác và biến thái mới nhìn thấy. Khi một lượng nhỏ vi khuẩn vào cơ thể sâu non phát dục hóa nhộng tuy không vũ hóa nhưng vẫn có một số biến thành sâu trưởng thành có cánh không đầy đủ. Nếu lượng vi khuẩn cao hóa nhộng không bình thường, nếu cao nữa thì sâu non lột xác đã bị chết.

Ngoài ra chúng còn biểu hiện dị dạng nhộng hoặc sâu trưởng thành, biểu hiện rõ nhất là miệng co thắt lại, mất râu môi dưới, đỉnh lưỡi dài ra...

Khi lột xác hoặc biến thái côn trùng là thời kỳ đỉnh cao của sự tổng hợp RNA, cho nên lúc đó tác dụng RNA trong cơ thể côn trùng bị chất độc B.t.β gây nhiễu. Rõ ràng chất độc ngoài B.t.β đã có tác dụng ức chế enzym tổng hợp RNA. Tác dụng ức chế này là sự cạnh tranh ATP. Nếu thêm vào ATP thì sẽ có tác dụng ngược lại. Khi tiêm chất độc vào sâu đo lập tức miệng biến dạng, tiêm vào tế bào sâu xâm hại bông tế bào sinh trưởng rất chậm đó là do chúng ức chế sự tổng hợp RNA. Sau 4 - 6 giờ tỷ lệ ức chế đạt 50%.

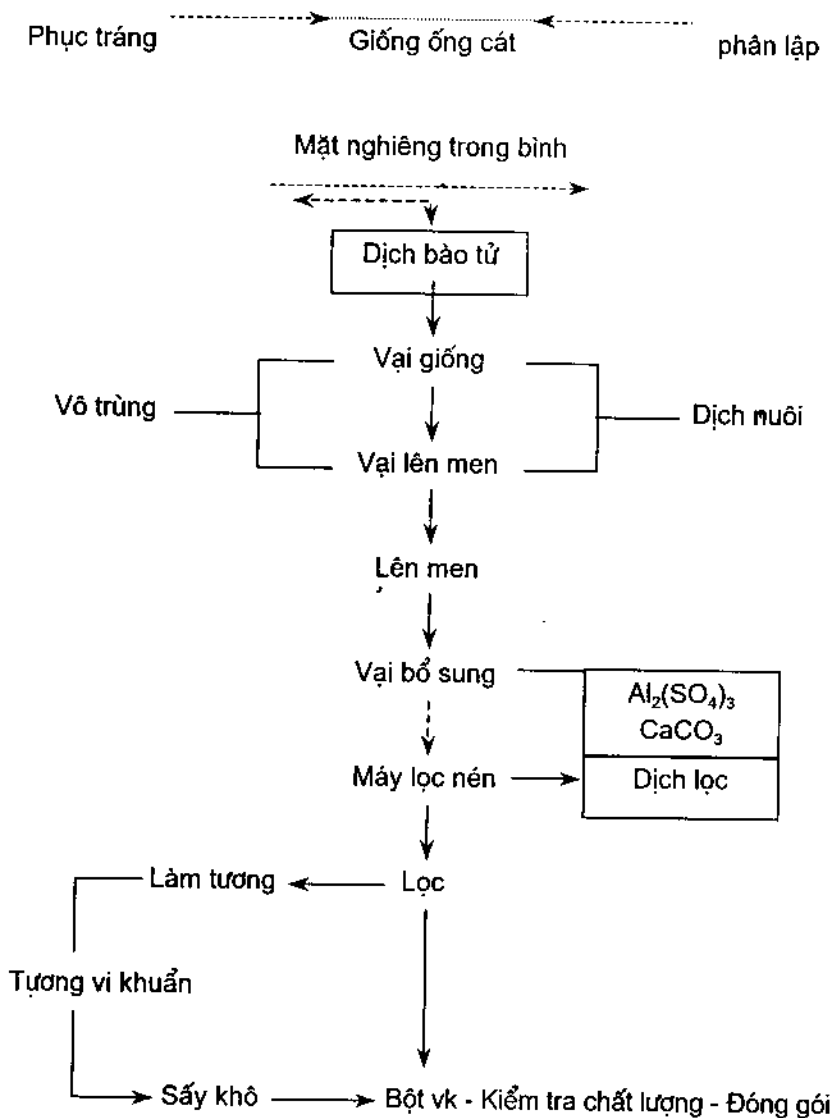
(6) Sản xuất chế phẩm *Bacillus thuringiensis* (B.t)

Phương pháp sản xuất chế phẩm B.t thường có 2 phương pháp lên men tăng sâu thể lỏng và lên men nửa thể rắn. Sản xuất công nghiệp thường dùng lên men tăng sâu thể lỏng. Ưu điểm của phương pháp sản xuất này là cho số lượng nhiều, chất lượng cao, ổn định, nhưng phải có những thiết bị phức tạp. Phương pháp sản xuất nửa thể rắn đã được áp dụng từ lâu có thể lợi dụng bột đậu, bột ngô, cám để tạo môi trường nửa thể rắn, lên men trên đĩa lắc, ưu điểm của phương pháp này là đơn giản, không cần phải thiết bị khử trùng nghiêm ngặt, dễ nắm vững kỹ thuật, có thể sản xuất tại nhiều địa phương. Nhưng các giai đoạn lên men khó khống chế, chất lượng sản phẩm không ổn định, hiệu suất lao động thấp, sản lượng không nhiều.

- Phương pháp lên men tăng sâu thể lỏng

Công nghệ sản xuất chế phẩm B.t và phương pháp pha chế môi trường có thể khác nhau, nhưng quá trình sản xuất về cơ bản giống nhau. Quá trình công nghệ đó thể hiện ở sơ đồ sau:

Sơ đồ quá trình công nghệ sản xuất B.t



Thuyết minh quá trình công nghệ sản xuất chế phẩm B.t

1. Công nghệ sản xuất công nghiệp

2. Điều kiện công nghệ

(1) *Giống B.t trong ống đất cát.* Giống vi khuẩn thường được bảo quản trong ống đất cát. Bào tử ở trạng thái ngủ nghỉ, nên có thể bảo quản rất lâu, cần dùng lúc nào lấy ra lúc đó, có thể tránh được giống B.t bị thoái hoá.

(2) *Giống vi khuẩn trên mặt nghiêng trong bình.* Lấy giống trong đất cát cấy chuyển lên mặt nghiêng của bình (0,3% cao thịt bò, 1% pepton, 2% thạch agar) nuôi ở nhiệt độ 28-30°C trong 2-3 ngày, làm cho bào mầm ngủ nghỉ hoạt hóa và thu được một số lượng vi khuẩn nhất định.

Giống vi khuẩn trên mặt nghiêng bình phải giữ độ thuận bề mặt thạch có màu trắng xám, không có đốm và nấm tạp, khuẩn lạc phải có trên 95% bào mầm và tinh thể, hình thái bình thường; cất vào tủ lạnh tốt nhất là không quá 7 ngày.

(3) *Nuôi trong vại giống.* Mục đích là mở rộng sản xuất những giống khoẻ đủ số lượng sinh sản, để cho vi khuẩn mọc đều, sau khi cấy vào vại lên men khi gặp điều kiện sinh trưởng thích ứng mới sẽ rút ngắn kỳ ngủ nghỉ, có điều kiện sinh trưởng phát triển đồng đều.

- *Cách pha chế môi trường:* Bột bánh đậu 0,1%, hồ tinh 0,4%, pepton 0,2%, K_2HPO_4 0,1%, $CaCO_3$ 0,4%, $MgSO_4$ 0,3%, $(NH_4)_2SO_4$ 0,03%, dầu đậu 0,2%. Trước khi khử trùng điều chỉnh pH từ 7-7,2, hấp ở 121°C trong 30 phút, môi trường trong vại để nguội đến 33°C là có thể cấy.

Thành phần dinh dưỡng có thể căn cứ vào kinh nghiệm và điều kiện cụ thể mà có cách pha chế khác nhau.

- *Gây cấy và nuôi*. Trong điều kiện vô trùng dùng 30ml nước cất đổ vào bình mặt thạch nghiêng, chế thành dung dịch rồi chuyển vào bình huyết thanh khử trùng, dưới ngọn lửa hút dịch trong bình huyết thanh cho vào vại giống, sau đó tiến hành lên men, khống chế nhiệt độ 30°C , nén vại $0,5\text{kg}/\text{cm}^2$. Lượng thông gió là 1:1 (thể tích/phút). Sau khi nuôi 2 giờ lượng thông gió cần tăng lên, tốc độ lắc là 200 vòng /phút, sau 6-8 giờ thể dinh dưỡng tăng lên kiểm tra không có vi khuẩn và nấm tạp là giống đạt tiêu chuẩn.

(4) *Nuôi vại lên men*. Là giai đoạn vi khuẩn sản sinh hàng loạt bào mầm và tinh thể, chất lượng giống, thành phần môi trường và điều kiện lên men là nhân tố quan trọng bảo đảm chất lượng và sản lượng chế phẩm.

Phương pháp pha chế môi trường như sau:

Tổng hàm lượng chất dinh dưỡng trong môi trường lên men nói chung khống chế ở 3 - 6%, tỷ lệ C/N là 4 - 5. Tùy theo tổng dinh dưỡng mà thay đổi tỷ lệ C/N, tỷ lệ thích hợp sẽ ảnh hưởng đến sự hình thành bào mầm và tinh thể. Về hàm lượng dinh dưỡng còn có 2 quan điểm, có người cho rằng nên ở 3 - 4%, có người lại cho rằng tỷ lệ đó phải trên 10%. Hàm lượng bào mầm trong dịch lên men sẽ là $2-5 \times 10^9$. và $14-15 \times 10^9$.

Cách pha chế môi trường lên men dịch thể nuôi cấy biến loài B.t như sau:

Môi trường lên men cho B.t

Mức độ dinh dưỡng	Biến loài	Thành phần dinh dưỡng (%)	Lượng bảo mẫu (×109)
Bình thường	Wuhamensis	Bột đậu 2, tương ngô 1,8; pepton 0,3, bột cá 0,5, đường 0,5, CaCO_3 0,1, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0,03, Na_2HPO_4 0,02, NaH_2PO_4 0,04	2,5 - 3,0
	Tienmenensis	Bột đậu 2, pepton 0,1, cao men 0,3, tinh bột 0,8, CaCO_3 0,1, MgSO_4 0,03	3,0
	Kurstaki	Bột hạt bông 1, pepton 0,2, mật 1,8, CaCO_3 0,1, NaH_2PO_4 0,01	3,0
	Dendrolimus	Bột đậu 1, tương ngô 3,5, đường mía 1,5, CaCO_3 0,1, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0,03, MgSO_4 0,3	2,0
	Thuringiensis	Bột hạt bông 1,4, tương ngô 1,7, bột cao men 0,2	2,0-3,0
Cao	Galleriae	Bột lạc 6, bột ngô 6, bột cao men 3, CaCO_3 0,4	10-15
	Wuhanensis	Bột đậu 5, bột ngô 5, bột nhộng tằm 2, CaCO_3 0,4	6-8
	Thuringiensis	Bột ngô 0,8, dịch chiết ngô 4,7, bột cao men 0,6, nước chiết tyroprotein 1,94, glucose 0,64, Na_2HPO_4 0,6, NaH_2PO_4 0,6	14-15

Các cách pha chế trên đều điều chỉnh pH từ 7,2 - 7,4, hấp ở 121°C trong 30 phút, để nguội 30°C rồi cấy, lượng cấy là 1 - 2% môi trường lên men.

Quản lý điều kiện lên men: nhiệt độ cần được khống chế 30°C, áp suất 0,3 - 0,5kg/cm², lượng thông khí là 1:1 (thể tích: thể tích/phút). Trong toàn bộ quá trình lên men cần phải định kỳ kiểm tra; xác định hàm lượng C, N, P và pH, nếu có hiện tượng quá cao hay thấp phải áp dụng các biện pháp điều chỉnh. Nuôi trong 20-30 giờ, nếu kiểm tra không có khuẩn tạp thể khuẩn có bào mầm và tinh thể (80-90%) trong đó có 10% bào mầm và tinh thể đã thoát ra ngoài là có thể đem phun.

(5) *Nén lọc.* Sau khi dịch lên men đổ vào vại, theo thể tích dịch lên men mà thêm 8-10% CaCO₃, số khuẩn trong dịch lên men lớn hơn 2×10^9 /ml, sau khi trộn đều lọc qua khung lọc, nước lọc phải trong, lượng khuẩn không thấp hơn $0,2 \times 10^8$ /ml.

(6) *Phun mù sấy khô.* Dựa theo lượng CaCO₃ 10% thêm vào chất trải dính, khuấy đều 30 phút, tạo thành dạng tương, đưa lên nồi cao hơn tiến hành phun mù, tháp phun mù phải ở nhiệt độ 140°C, nhiệt độ tăng giữa là 60-65°C, lưu lượng phun mù là 400-500l/h.

(7) *Xử lý sản phẩm.* Sau khi lọc nén sấy khô ta có bột chế phẩm, lấy mẫu kiểm tra chất lượng và kịp thời cho vào túi polyethilen gắn kín bỏ vào nơi râm mát, khô để bảo quản.

- Phương pháp lên men bán dịch thể (nửa thể rắn)

Lên men bán dịch thể thường là nuôi nhân (khuếch đại) cấp III và nuôi nhân bước 1.

+ Môi trường nhân cấp III

- *Quá trình công nghệ sản xuất như sau:* giống khuẩn ống đất cát → giống khuẩn mặt nghiêng → nuôi nhân giống dịch thể → nuôi nửa thể rắn → sấy khô → nghiền, đóng gói.

- *Môi trường nhân giống cũng giống như vại giống trong sản xuất công nghiệp, thường dùng môi trường lỏng lắc cũng có thể nuôi nửa thể rắn.*

Cách pha chế môi trường như sau:

- a) Cao thịt bò 0, 3%, pepton 1% nước 100%
- b) Đường mía 0, 5%, dịch ngâm trấu 100%
- c) Đường mía 0, 5% nước đậu phụ 100%
- d) Bột đậu tương 5%, nước 100%
- đ) Bột cá 2%, tinh bột 0, 5%, nước 100%

Cấy và nuôi: Trong điều kiện vô trùng mỗi ống mặt nghiêng nhỏ 3-5ml giống khuẩn, dùng que cấy cạo qua mặt, lắc đều, mỗi bình đổ vào 1ml dịch khuẩn giống, nuôi ở 28-32°C trong 6-8 giờ trong điều kiện lắc, hoặc nuôi tĩnh trong 12-16 giờ.

- *Lên men trên đĩa nửa thể rắn.* cũng tương tự như lên men trong vại. Phương pháp chế môi trường như sau:

- Trấu 70%, bột đậu 30%, NaOH 1,5%, nước 100%
- Trấu 50% bột đậu 25%, bột cá 2%, bột thân ngô 20% CaCO_3 1,5%, KH_2PO_4 0,3%, MgSO_4 0,1%, NaOH 1%, nước 150%.

- Trấu 47,2%, tro rơm rạ 47,2%, bột đậu 4,7%, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 1%, nước vừa phải.

Những môi trường trên phải được trộn đều, lượng nước không nhiều quá, để dễ đóng gói. Mỗi túi chứa 1,5-2,5kg, khử trùng hấp 121°C , trong 1 giờ; nếu dùng nồi hấp 100°C phải hấp trong 2 giờ.

Gây cấy và nuôi: môi trường sau khi khử trùng chuyển vào buồng lên men, hạ nhiệt độ xuống 40°C là có thể cấy. Trước khi cấy cần rửa dụng cụ bằng cồn 75% hoặc bằng nước Javel 2%. Khi cấy lấy dịch giống 20-50% đổ đều vào môi trường, trộn đều rồi phủ lên đĩa gỗ dày 16-33cm, tầng trên phủ lớp vải màn ướt hoặc báo ướt. Trong thời kỳ lên men cần giữ nhiệt độ $25-30^\circ\text{C}$, sau 10-20 giờ lượng khuẩn sẽ tăng lên, đảo lên 1 - 2 lần cho thông gió. Sau 36 giờ lại đảo để dày 6,5cm, để cho thể khuẩn già. Nói chung sau 2-3 ngày phân lớn thể khuẩn hình thành nang bào mầm và có khoảng 20% chứa bào mầm và tinh thể. Nếu sản phẩm có mùi hôi hoặc biến lỏng là đã bị nhiễm bẩn, chế phẩm bình thường là khi kiểm tra dưới kính hiển vi có thể nhìn thấy nang bào mầm, bào mầm và tinh thể rụng ra, thể dinh dưỡng và khuẩn tạp có rất ít.

- *Sấy khô và đóng gói.* Khi có chế phẩm nửa thể rắn mỗi gam có thể chứa 4×10^9 vi khuẩn cần phải xử lý sấy khô ở nhiệt độ 60°C trong tủ sấy thông gió, có thể phơi nhưng phải dầy tránh mặt trời chiếu vào. Sau khi sấy đảm bảo hàm lượng nước khoảng 5%, nghiền nhỏ và đóng vào túi polyethilen. Nói chung sản phẩm phải có $5 - 10 \times 10^9$ bào tử.

Phương pháp sản xuất này rất khó khống chế, dễ bị nhiễm bẩn.

Đặc điểm của phương pháp này là nguyên liệu vỏ trấu, sậy môi trường và vật nuôi đều bỏ vào thùng lên men sậy. Thành phần của môi trường là: 545g trấu, tro núi lửa 380g, bột đậu 62g, đường nho 36g, vôi 3,6g, muối ăn 0,6g, CaCl_2 0,29g, nước 160 ml. Trộn với dịch giống 40%, hàm lượng nước là 60%. Lần lượt bỏ vào thùng có nhiệt độ 30-34°C, độ ẩm 95-100%, 3 giờ đầu bỏ vào 0,4-0,6 đơn vị dung tích, sau đó 1-1,2 đơn vị dung tích sau 36 giờ nguyên liệu nuôi đã khô. Sau đó nghiền nhỏ rây thành bột. Chế phẩm có độ ẩm là 4%, pH = 7, lượng bào mầm sống là $3-17 \times 10^9$. Nhược điểm của phương pháp này là không khử trùng không khí, khó khống chế nhiệt độ.

+ Phương pháp nhân từng bước

Phương pháp nuôi nhân cấp III khá phiền phức và phải có thiết bị sản xuất dịch giống, chất lượng khó bảo đảm. Người ta có thể dùng phương pháp nuôi nhân từng bước đơn giản hơn là lấy bột khuẩn đã sản xuất công nghiệp làm giống (mỗi g có 10×10^9 bào tử) lấy lượng 1% để cấy (nhiệt độ có thể đến 80°C) trên môi trường nửa lỏng đã khử trùng, sau khi trộn đều dùng túi polyethilen bọc kín ủ 10 phút để giảm khuẩn tạp và thúc mầm, sau đó mở ra đem lên khay nuôi, các bước khác cũng giống như nuôi nhân cấp III.

(7) Những vấn đề trong sản xuất chế phẩm vi khuẩn B.t

+ Tác hại của thể phage

Trong quá trình sản xuất chế phẩm vi khuẩn diệt sâu B.t, ảnh hưởng của sự xâm nhiễm thể phage là một trong những vấn đề chủ yếu, thậm chí có thể phải ngừng sản xuất. Khuẩn lạc vi khuẩn trên đĩa bị thể phage xâm nhiễm có thể hình thành các đốm trong suốt, không mọc vi khuẩn, đốm có thể dạng tròn hoặc chấm kim. Hiện tượng bị nhiễm thể phage

như sau: pH, nhiệt độ lên cao, bào tử dài, dị dạng, giữa phình to hoặc khuyết cục bộ, sau 2-3 giờ tất cả bị hoà tan.

Nguyên nhân xuất hiện thể phage là do bản thân vi khuẩn có sẵn, hoặc do môi trường sản xuất hình thành hoặc do thiết bị lọc không khí không hợp lý, khử trùng không triệt để. Những biện pháp khắc phục tình trạng trên như sau:

- *Thuần hóa giống vi khuẩn.* Để ngăn chặn thể phage cần phân lập nhiều lần để thuần hoá, đồng thời dịch bào mầm được xử lý trong bể nước nhiệt độ 80-85°C trong 20-30 phút, sau khi diệt thể phage lại phân lập cho đến khi không còn đốm trên khuẩn lạc mới làm giống khuẩn.

- *Tăng cường quản lý vệ sinh môi trường.* Thể phage phải tăng cường quản lý môi trường để giảm tác hại, cần định kỳ khử trùng môi trường, không chế nghiêm khắc các dịch bẩn và nước thải, sau khi xử lý vô trùng mới chuyển.

- *Bảo đảm hiệu quả hệ thống lọc và kín hệ thống lên men.* Thiết bị lên men phải kín, mức độ tự động hóa càng cao càng tốt, như vậy sẽ giảm tác hại.

- *Chọn giống kháng thể phage.* Trong sản xuất có thể chọn giống đề kháng thể phage. Thể phage có tính chuyên hóa nhất định, có thể thông qua chọn giống để thay đổi giống vi khuẩn.

- *Các biện pháp khác.* Ngoài ra có thể dùng biện pháp phát hiện những dấu hiệu bị nhiễm bổ sung dinh dưỡng nhất là tương ngô và một số khuẩn đề kháng, xúc tiến sinh sản và thành thực của vi khuẩn.

+ Vấn đề tiêu chuẩn hóa sản phẩm

Mấy năm nay các chế phẩm vi khuẩn B.t chưa có tiêu chuẩn thống nhất. Các đơn vị sản xuất chưa có tiêu chuẩn

về độ độc của B.t, trong điều kiện sản xuất còn rất khác nhau, chất lượng không ổn định. Khi phòng trừ sâu còn gặp không ít khó khăn. Đây là vấn đề cần được giải quyết.

+ Vấn đề chất lượng và hạ giá thành sản phẩm

Hiện nay trình độ sản xuất công nghiệp chế phẩm B.t vẫn chưa cao, lượng vi khuẩn trong dịch lên men chỉ đạt 2.10^9 bào tử/ml, có lúc độ độc cao nhưng có lúc độ độc thấp. Chất lượng không ổn định, nên công nghệ sản xuất được cải tiến nâng cao hiệu quả phòng trừ đồng thời cần phải hạ giá thành gần ngang với giá của thuốc trừ sâu hóa học chi phí phòng trừ phải thấp hơn thuốc hóa học. Đó là mục tiêu của việc sản xuất chế phẩm vi khuẩn B.t.

(8) Các dạng chế phẩm vi khuẩn B.t

Hiệu quả phòng trừ bằng chế phẩm B.t không hoàn toàn quyết định bởi thành phần hoạt tính của chế phẩm mà dạng chế phẩm cũng là một nhân tố quan trọng. Dạng chế phẩm B.t bao gồm dạng nước, dạng bột, dạng bột thấm nước, dạng nang keo.

+ Chế phẩm dạng nước

Sau khi lên men ta thu được bào mầm và tinh thể được bảo quản trong dung dịch thêm vào đó một số chất bám dính và phòng thối. Thông thường dùng xà phòng, bột bánh sớ, keo... bột mỳ, bột dong, nhựa cây, pyroproein và một số tổng hợp thành chất dính như aminolipoid, keo sữa tổng hợp có thể dùng làm chất bám dính. Chế phẩm dạng lỏng ngoài nước ra còn có chế phẩm dạng sữa, dạng dầu. Chế phẩm dạng sữa là bào mầm, tinh thể qua nén ly tâm thêm vào chất hóa sữa, trộn đều mà thành. Chế phẩm dạng dầu là trộn chất hóa sữa vào nước rồi thấm nước chế phẩm vi

khuẩn khô, sau đó thêm dầu luyn pha loãng. Nhưng chế phẩm dầu thường gây hại cho cây cần hạn chế sử dụng.

+ *Chế phẩm dạng bột*

Trong chế phẩm có thể thêm các chất bổ sung dạng bột như bột đất sét, đất caolin, đất sét.

+ *Chế phẩm bột thấm nước*

Thêm vào chế phẩm một ít chất thấm nước, một số chất bám dính có thể làm chất thấm ướt tác dụng thấm ướt bao gồm các hạt có tính thấm nước.

+ *Chế phẩm dạng nang keo*

Có thể chế thành viên con nhộng để đề phòng ánh sáng trực xạ, nhiệt độ cao và khô nóng của môi trường. Như vậy tác dụng gây độc của chế phẩm sẽ được lâu hơn. Trong chế phẩm có thể thêm vào một số chất bảo vệ như natri huỳnh quang để đề phòng tác dụng bức xạ tia tử ngoại. Hiện nay một số nước mới chỉ sản xuất dạng nước, dạng bột và dạng sữa. Trong nghiên cứu cần phát triển dạng nang keo.

(9) *Ứng dụng chế phẩm vi khuẩn B.t trong phòng trừ sâu hại*

Trong nhiều năm nay chế phẩm vi khuẩn B.t phát triển rất nhanh. Nhiều nước đã có thuốc trừ sâu vi sinh vật. Phạm vi sử dụng chế phẩm B.t cũng rộng rãi hơn, bởi vì chúng làm cho sâu chết nhanh hơn, an toàn đối với người và gia súc, tác dụng đề kháng của sâu chậm, lây lan rộng phát huy lâu dài hiệu quả phòng trừ.

+ *Phạm vi diệt sâu*

Nói chung phạm vi diệt sâu của vi khuẩn B.t hẹp hơn thuốc trừ sâu. Theo thống kê các biến loài B.t có thể diệt

được 182 loài 32 họ trong các bộ cánh vẩy, bộ cánh màng, bộ cánh thẳng, bộ hai cánh, bộ cánh cứng. Tác dụng diệt sâu ở mức độ khác nhau, nhiều loài trong bộ cánh vẩy là nhạy cảm nhất. Đối với một số loài thuộc họ ngài độc, họ ngài đêm B.t đều có khả năng gây bệnh nhanh, đối với một số loài ruồi muỗi cũng đã được sử dụng để phòng trừ, hiệu quả rất tốt.

- Hiệu quả phòng trừ

Ta rất ít gặp vi khuẩn gây bệnh cho sâu hại ngoài tự nhiên, nguyên nhân chủ yếu là do trong cơ thể côn trùng còn rất nhiều dinh dưỡng nhưng bào mầm và tinh thể lại rất ít. Nói chung vi khuẩn B.t ít gây dịch cho sâu là do khả năng khuếch tán của chúng thấp. Vì vậy cần tìm cách phát huy tác dụng hiệu quả lâu dài sau khi dùng chế phẩm là vấn đề sinh thái học rừng cần được nghiên cứu. Tại Trung Quốc từ năm 1976 đã phòng trừ cho 21 loài sâu hại rừng trên 14 tỉnh với diện tích hàng chục ngàn hecta, hiệu quả đều đạt 90-100% trong đó có sâu róm thông, ngài độc, ngài thuyền, ngài trời, bọ nẹt, sâu đo, sâu cuốn lá, ong ăn lá, kim hoa trùng... Nước ta năm 1993 đã sử dụng chế phẩm B.t phòng trừ sâu róm thông ở Đô Lương Nghệ An, hiệu quả cũng đạt trên 90%.

- Phương pháp sử dụng chế phẩm vi khuẩn B.t

Về cơ bản cũng giống như phương pháp sử dụng thuốc trừ sâu, có thể phun mù, phun bột, tưới, rắc bột, phun bằng máy bay... Dùng phương pháp nào một nguyên tắc cơ bản là phải đều khắp, lượng dùng ít. Nếu dùng phương pháp phun hoặc rắc bột phải chọn lúc có độ ẩm cao, tưới thì phải chọn điểm để tiết kiệm thuốc.

Trong thực tiễn sản xuất để nâng cao hiệu quả phòng trừ người ta thường tìm cách làm tăng tính nhạy cảm của vi khuẩn, chủ yếu là để bảo vệ các loài thiên địch, có thể thêm một lượng rất ít thuốc trừ sâu hóa học. Thuốc hóa học có thể phá hoại tính trạng sinh lý bình thường của sâu. Giảm bớt sức đề kháng của sâu hại, tạo điều kiện cho vi khuẩn xâm nhập vào sâu từ đó mà nâng cao tính nhạy cảm của vi khuẩn; đồng thời nó cũng làm cho các vật gây bệnh khác tiềm ẩn trong côn trùng có điều kiện gây dịch, sau khi côn trùng đã nhiễm vi khuẩn tính chống thuốc hóa học của sâu cũng giảm xuống, đạt được mục đích phòng trừ. Tăng thêm một ít thuốc hóa học còn có thể kiểm soát phòng trừ một số loài sâu hại không phải thuộc bộ cánh vẩy bù đắp lại sự co hẹp phạm vi diệt sâu của vi khuẩn.

- Các nhân tố ảnh hưởng đến hiệu quả phòng trừ bằng chế phẩm B.t

(a) Loại hình và chất lượng chế phẩm

Cùng một loại chế phẩm phòng trừ các loài sâu khác nhau, hiệu quả sẽ khác nhau, loại chế phẩm của biến loài khác phòng trừ một loài sâu hại hiệu quả cũng không như nhau. Thậm chí cùng một biến chủng phòng trừ một loài sâu nhưng các mẻ cấy khác nhau hiệu quả không như nhau. Hiện nay vấn đề tiêu chuẩn hóa sản phẩm chưa được giải quyết, bội số pha loãng, hàm lượng bào mầm để biểu thị nồng độ và liều lượng thường không chính xác, một số nơi dùng không theo một quy định cụ thể nên ảnh hưởng đến hiệu quả.

(b) Điều kiện môi trường

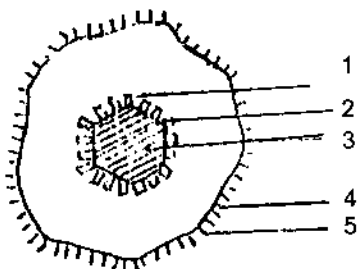
Ánh sáng ảnh hưởng rất lớn đến sự tồn tại vi khuẩn, chiếu sáng mạnh trong nửa giờ đã làm chết mất 50%, nhiệt độ cũng ảnh hưởng đến vật chủ côn trùng và vi khuẩn. Không khí trên 20°C là nhiệt độ lý tưởng để có thể phòng trừ có hiệu quả. Mưa nhỏ có thể làm cho vi khuẩn lây lan, nhưng mưa to có thể làm trôi vi khuẩn, nên cần phải phun lại.

5. SỬ DỤNG VIRUS GÂY BỆNH CÔN TRÙNG

Sử dụng virus phòng trừ sâu hại đầu tiên phải kể đến việc phòng trừ ong ăn lá vân sam (*Gilpinia (Diprion) hercyniae*) ở châu Âu, sau đó dịch ong ăn lá vân sam lan rộng sang châu Mỹ. Ba mươi năm sau người ta phát hiện trên ong đó có virus NPV. Nguồn gốc của virus này vẫn không rõ, nhưng nói chung đều cho rằng chúng nhập vào từ thiên địch hoặc loài ong châu Âu và lây lan rất nhanh, gây dịch bệnh cho ong ăn lá vân sam, đồng thời chúng cùng với các loài thiên địch ong ký sinh và ruồi ký sinh nhập vào đã làm giảm rõ rệt loài ong nguy hiểm này, cứu vãn được rừng vân sam. Loài virus này đã tồn tại lâu dài trong rừng vân sam trở thành một nhân tố khống chế lâu dài ong ăn lá. Năm 1977 người ta đã phân lập hơn 1.000 loài virus từ côn trùng, nhện và động vật chân đốt. Năm 1986 theo thông báo trên thế giới phân lập được 1.280 loài virus trên 900 loài côn trùng.

Do virus có thể phòng trừ có hiệu quả các loài sâu hại rừng, trong hệ sinh thái rừng chúng có tác dụng điều chỉnh số lượng sâu hại trong thời gian rất dài. Ví dụ CPV trên sâu

róm thông, NPV trên ngài độc hại thông, chúng đều có hiệu quả phòng trừ rất rõ rệt.



Hình 12. Các tên gọi của hạt virus

1. Hạt vỏ (capsomere); 2. Vỏ áo (capsid);
3. Nhân tủy (core nucleod) 4. Màng túi (envelope);
5. Hạt màng (peplomers) (1+2+3) Vỏ áo nhân (nucleocapsid)

a) Khái niệm về virus côn trùng

(1) Định nghĩa về virus côn trùng

Virus là một sinh vật ký sinh sống trong tế bào vật chủ, chúng dựa vào sự tổng hợp của tế bào để sinh ra các hạt virus gây bệnh.

Virus khác với các sinh vật khác chủ yếu ở 4 điểm:

- Chỉ có 1 ADN hoặc ARN (các sinh vật khác có cả hai loại).
- Virus thông qua quá trình tổng hợp phức tạp theo tái tổ hợp ADN hoặc ARN. Mà không qua giảm phân hoặc gián phân.
- Virus thiếu hệ thống enzym, không có ribosome, không có kết cấu tế bào, phải lợi dụng ribosome của tế bào vật chủ để tổng hợp protein cho tự nó.

- Virus không nhạy cảm với thuốc kháng sinh hoặc con đường trao đổi chất của vi sinh vật khác.

(2) Thể tích virus

Kích thước của virus chỉ vài nm đến 400nm. Virus lớn nhất cũng chỉ bằng vi khuẩn nhỏ nhất; virus nhỏ nhất chỉ bằng 1 phân tử protein. Ví dụ một phân tử protein hồng huyết cầu chỉ 5nm, hạt virus của NPV bằng 20nm. Độ dài của virus cũng dùng nm hoặc Å làm đơn vị (nm = 10^{-9} m, Å = 10^{-8} m)

Đơn vị chất lượng của virus dùng Dalton để biểu thị; nghĩa là nguyên tử lượng của O₂ bằng 2657×10^{-20} g, dùng 1/16 của phân tử lượng O₂ làm 1 đơn vị phân tử lượng là 1 Dalton; 1Dalton = $1,66 \times 10^{-24}$ g, số đảo ngược của nó là:

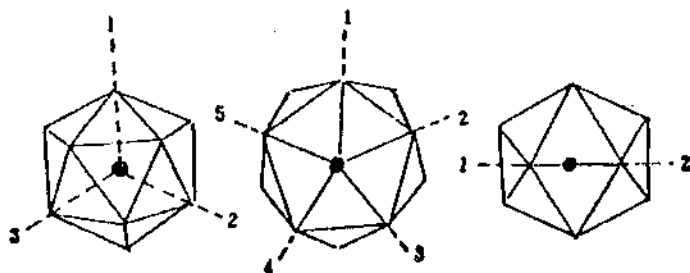
$$N = 1/\text{Dal} = 6,02 \times 10^{23}/\text{gam phân tử}.$$

(3) Cấu tạo chung của virus gây bệnh côn trùng

Virus là sinh vật nhỏ nhất không có kết cấu tế bào là một sinh vật nguyên thủy nhất, thành phần chủ yếu của nó là ARN hoặc ADN và protein. Một cá thể virus được gọi là 1 virion. Một virion có thể là rất đơn giản cũng có thể là rất phức tạp. Virion đơn giản chỉ có 2 loại: đẳng trục (isometric virions) hình cầu hoặc đa diện và bất đẳng trục (tubular virions) hoặc dạng sợi hoặc ống (rod-shaped virions).

Cấu tạo virion bao gồm 2 bộ phận: bên trong là nhân tử (core nucleod) do acid nucleic cấu tạo thành; bên ngoài là vỏ áo (capsid) thành phần của vỏ áo là protein. Hạt virion còn được gọi là vỏ nhân (nucleocapsid). Vỏ áo đơn giản nhất là 1 lớp protein. Chúng sắp xếp với nhau thành thể 20 mặt hoặc thành ống xoắn. Đơn vị kết cấu là hạt vỏ

(capsomere). Bên ngoài vỏ áo nhân có một màng bao gọi là màng túi (envelope). Màng túi cấu tạo bởi proteinlipoid và lipoid. Trong màng túi là những hạt màng (peplomers) do các phân tử protein cấu tạo thành. Virion có tính đối xứng thông thường có 3 loại: đối xứng lập thể, đối xứng xoắn ốc và đối xứng phức hợp. Đối xứng lập thể thường có 4 mặt, 12 mặt và 20 mặt. Loại 20 mặt có 20 mặt hình tam giác, 12 góc và 30 cạnh.



Hình 13. *Thể đa diện (20 mặt, 12 góc đỉnh, 30 cạnh) có 5, 3, 2 trục của virus*

Virus NPV ở dạng đối xứng xoắn ốc, virus gây bệnh đậu côn trùng có dạng đối xứng phức hợp.

b) Phân loại virus gây bệnh côn trùng

Dựa vào quy tắc phân loại của hội nghị uỷ ban phân loại virus lần thứ 4 năm 1980, virus côn trùng bao gồm các họ, nhóm và chi như sau:

- Họ virus dạng que (Baculoviridae)
- Họ (nhóm) virus β ngài trời thông (Nudavirus Nudarelia β virus)

- Họ virus đồng ruột (Nodaviridae), chi Nodavirus, loài Nodamura virus.

- Họ virus vàng (Iridoviridae)

- Họ virus bệnh đậu (Poxviridae), các chi Entomopoxvirus A, En. B. En. C.

- Họ virus ARN nhỏ (Picornaviridae)

- Họ Virus ruột (Reoviridae)

- Họ virus dạng xoắn (Rhabdoviridae)

- Họ virus nhỏ (Parvoviridae).

Hội nghị quy định về cách viết tắt như sau:

CF- tính kết hợp; CPI: tác dụng gây bệnh yếu, D: hệ số khuếch tán. DI: thiếu can thiệp; OS: chuỗi đôi; HI: ức chế đông tụ tế bào máu; MW: phân tử lượng; RI: sản vật trung gian tái tạo; RF: kiểu tái tạo; RNP: acid desoxynucleic, acid ribonucleic; SS: chuỗi đơn.

Ngoài ra trong sự tái tạo ARN của virus enzym tổ hợp có 1 danh từ chuyên dùng đã được thay bằng enzym tái tổ hợp ARN và enzym sao chép ARN.

c) Những virus quan trọng gây bệnh côn trùng

Năm 1986 các nhà khoa học thông báo rằng có hơn 900 loài thuộc 9 bộ côn trùng và nhện bị nhiễm 1280 chủng virus được phân lập. Tất cả chúng tập trung ở bộ cánh vẩy. Hầu hết tập trung vào virus hình que, virus đa diện tế bào chất (CPV) họ Reoviridae. Gần đây một số loài sâu hại

rừng cũng phát hiện nhiều loài thuộc họ Poxviridae. Những virus này đều có thể vùi, sau khi xâm nhập vào tế bào vật chủ đều sản sinh thể vùi, cho nên người ta gọi là virus thể vùi. Những loài virus quan trọng là virus đa diện kiểu nhân (*Nuclear polyhedrosis virus*, NPV), virus thể hạt (*Granule virus*, GV) và virus đa diện tế bào chất (*Cytoplasmic polyhedrosis virus*, CPV).

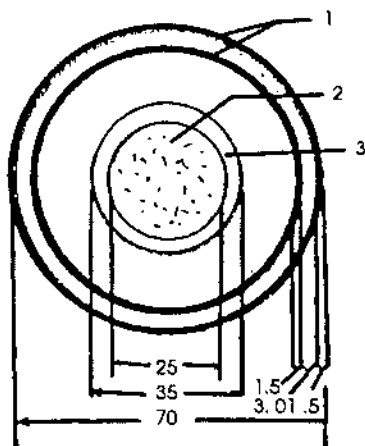
(1) Virus đa diện kiểu nhân (NPV)

NPV được phát hiện rất sớm và nghiên cứu khá kỹ lưỡng. Đặc điểm chủ yếu là sau khi virus xâm nhiễm vào côn trùng, ký sinh trong nhân tế bào côn trùng và sinh sản tái tạo trong nhân. Thể vùi có hình nhiều mặt hay đa diện vào trong tế bào, cho nên người ta gọi là virus đa diện nhân. Sau khi sâu chết chân và đuôi mọc trên cành cây. Thể vùi là kết tinh protein bao hạt virus (virion) hình que vào trong túi. Thể đa diện bao gồm thể vùi và hạt virus.

Từ thập kỷ 40 của thế kỷ 20 đến nay người ta đã nghiên cứu kết cấu hình thái, tính chất hóa học, phương thức sinh sản, cơ chế gây bệnh, điều kiện phát bệnh và vật chủ trong tự nhiên.

+ Các loài côn trùng bị nhiễm NPV

Theo thống kê chưa đầy đủ, trên thế giới có 284 loài côn trùng bị NPV xâm nhiễm, chiếm 40% số lượng côn trùng bị nhiễm virus, trong đó có 243 loài thuộc bộ cánh vẩy, 21 loài thuộc bộ cánh màng, 9 loài thuộc bộ hai cánh, 4 loài bộ cánh cứng, 4 loài bộ cánh thẳng, và 2 loài bộ cánh nửa.



Hình 14. *Một cắt ngang của virion của NPV ngài độc*

1. Màng túi; 2. Nhân tủy có ADN; 3. Vỏ áo

+ Thể đa diện nhân (nuclear polyhedrosis body, NPB)

- Hình dạng và kích thước NPB

Thể đa diện nhân là một kết tinh protein, do thể vùi là đa diện nên gọi là thể đa diện. Thể đa diện có 12 mặt, 4 mặt, hình lập phương hoặc hình không quy tắc, hình tam giác, hình 6 cạnh, 4 cạnh là tùy theo loài sống trên các vật chủ khác nhau, mô tổ chức khác nhau và thể hệ khác nhau. Cùng trên một vật chủ nhưng trên mô tổ chức khác nhau cũng khác nhau. Ví dụ virus trên tằm nhà là 6 cạnh chỉ trên mô mỡ, nhưng trong tế bào tuyến sợi lại có lúc hình thành hình tam giác và trên dịch lại hình 4 cạnh. Có lúc chúng phụ thuộc vào loài vật chủ, ví dụ trên tằm nhà là hình 6 cạnh, nhưng sau khi tiếp cho sâu non sâu xám (*Chilo*

suppressalis) lúa đầu thể đa diện 6 cạnh là 97%, lúa thứ 2 là 79%, đến lúa thứ 6 thể đa diện hình 4 cạnh chiếm 44% và đến lúa thứ 12 trở đi chúng lại chiếm 100%. Nhiệt độ cao hay thấp hình dạng NPB trong cơ thể côn trùng cũng bị ảnh hưởng. Ví dụ cấy virus NPB vào trong tằm nhà ở nhiệt độ 33-35°C hầu hết hình thành hình 4 cạnh, nhiệt độ 28°C trong 24 giờ rồi chuyển sang 35°C vẫn hình thành NPV 4 cạnh, nhưng nếu để 28°C trong 48-96 giờ rồi chuyển sang 35°C tất cả chúng chuyển sang NPV 6 cạnh. Sau khi cấy ở nhiệt độ 35°C trong 24-48 giờ, rồi chuyển sang 28°C hình thành NPB 6 cạnh, nhưng nếu để ở 35°C trong 72-96 giờ rồi chuyển sang 28°C, NPB lại hình thành 4 cạnh.

Kích thước của NPB cũng khác nhau theo loài vật chủ côn trùng, nói chung chúng biến động trong khoảng 0,5-15µm, đa số là 3µm. Tế bào khác nhau trong cùng một tổ chức cũng có kích thước khác nhau, của sâu róm thông đuôi ngựa là 250-380nm × 40-60nm. Số lượng virion trong thể vùi cũng khác nhau ngài độc là 21, sâu cuốn lá là 12.

- Đặc tính lý hóa của NPB

NPB do protein cấu tạo thành, hàm lượng protein trong ngài độc là 95,2% Phân tử lượng của protein NPV khác với protein tế bào vật chủ. NPB của tằm nhà là $0,38 \times 10^6$, trong ngài độc là $0,336 \times 10^6$. Các thành phần acid amin trong protein của NPB cũng khác nhau tùy theo vật chủ. Ví dụ bảng thành phần acid amin trong 3 loài ngài độc, tằm nhà và ong ăn lá như sau:

Biểu 2. Thành phần acid amin của protein NPB
(Bergold, 1963)

Loại acid amin	Ngài độc	Tầm nhà	Ong ăn lá
Asp	11,1	12,5	12,4
Glu	13,2	11,7	13,5
Gly	3,1	3,3	3,6
Ala	3,3	2,9	2,6
Val	6,0	5,7	5,7
Isdeu, leu	13,0	14,3	14,7
Ser	3,8	3,3	3,6
Thr	4,7	3,8	4,9
Met	1,7	3,0	3,3
Lys	8,5	10,5	6,6
Arg	9,2	10,8	6,3
His	3,7	2,8	3,6
Phe	7,5	6,9	9,2
Tyr	10,0	10,9	5,3
Pro	4,9	6,0	5,2

Phân tích các nguyên tố trong NPB sâu đục quả bông như sau: Ca 0,70%, Na 0,52%, Mg 0,43%, K 0,33%, Fe 0,18%, Si 0,16%, Al 0,13%, Cu 0,10%, Mn 0,01%, Ba < 0,01.

NPB không tan trong nước, cồn, ether, benzen, nhưng có thể tan trong 0,1M NaCO_3 . NPB cũng dễ hoà tan trong dung dịch nước và NaOH, KOH, H_2SO_4 và CH_3COOH nhưng mức độ hoà tan không như nhau tùy theo loài.

Ngoài NPB có màng sau khi qua dịch kiềm thường để lại kết cấu dạng màng, mạng kết tinh của protein NPB được xếp song song kiểu sợi, cự ly các mạng là $42,9\text{\AA}$. Khi nghiên cứu ngài đêm vằn lệch mạng protein dạng khối các mạng có cự ly là $20\text{\AA}$...

Tỷ trọng của NPB lớn hơn nước, mật độ NPB tầm nhà là 1,286, chiết quang mạnh, trong suốt, cất khô nhiều năm không đổi, ví dụ trong bình sấy khô dùng CaCl_2 để sấy, qua 37 năm tác dụng hoà tan trong Na_2CO_3 vẫn không thay đổi.

(2) *Virus đa diện nhân (NPV)*

+ *Hình dạng kích thước NPV*. Virion thành thực NPV thường là dạng que, hai bên song song, hai đầu bằng hoặc tù. Kích thước của NPV sâu róm thông đuôi ngựa là $250\text{-}380\text{nm} \times 40\text{-}80\text{nm}$. NPV của ngài độc là $100\text{-}140 \times 300\text{-}330\text{nm}$. Dưới kính hiển vi điện tử ta thường thấy bé hơn 1/3 lần. Một số mảnh cất siêu hiển vi NPV của một số loài có hình chữ "U", nhưng sau khi hoà tan trong kiềm chúng lại trải ra thành thẳng.

+ *Kết cấu siêu hiển vi NPV*. Virion của NPV có màng túi (envelop), màng túi còn được gọi là màng ngoài (outer membrane) hoặc màng phát triển (developmental membrane). Màng túi là màng chất lipid có cấu tạo màng đơn vị cấu tạo, mỗi một màng ngoài bao kín virion, virion cấu tạo bởi vỏ áo và nhân tuỷ. Vỏ áo thường được gọi là màng trong (inner membrane) hoặc màng liên thân (intimate membrane). Nhân tuỷ do ADN tổ thành có dạng xoắn ốc. Hạt virion có màng ngoài được bao trong thể vùi dạng tinh thể do protein cấu tạo thành, bên trong NPB. Mỗi NPB có thể vùi 1 hoặc nhiều virion nhưng cũng có loại trong màng ngoài sắp xếp nhiều hạt virion thành bó, nên được gọi là "bó virus" (virus bundles). Những hạt virion cài vào trong protein của NPB theo dạng bó, gọi là virus vùi

nhiều hạt (multiple embedded virus, MEV) nhưng virus chỉ có 1 hạt cài vào được gọi là virus đơn (single embedded virus, SEV). Chúng liên quan rất nhiều với phân lập virus ví dụ trong màng ngoài NPB của ngài độc có nhiều nhất là 19 virion, nhưng trong ngài sâu cuốn lá chỉ có 12 virion. Khả năng gây bệnh của MEV và SEV cũng khác nhau rất nhiều. Khả năng đề kháng với nhiệt độ cao của MEV cũng thường cao hơn SEV.

+ *Thành phần hóa học của NPV* chủ yếu có ADN và protein. Hàm lượng của ADN biến động từ 7,9-16%, khác nhau tùy theo loài. Protein bao gồm 16 loại acid amin. Chất lipid và hợp chất cacbon đều ở trong màng túi. Phân tích định lượng NPV tầm nhà cho thấy hàm lượng N, P, ADN, hợp chất cacbon chiếm 13,9%, 0,915%, 7,9% và 1,2%. Hàm lượng Fe, Mg rất ít, chỉ chiếm 0,015% và 0,03%. Phân tử lượng của NPV rất lớn kích thước nhóm gen di truyền của virus là $90-100 \times 10^6$ Dalton. NPV sâu róm thông là 80×10^6 Dalton.

(3) Bệnh lý học của bệnh NPV

+ *Triệu chứng bên ngoài*. Sau khi sâu non bộ cánh vẩy bị bệnh sức ăn giảm, động tác chậm, thường bò lên trên cao, thân trước lúc chết bị mềm, các mô trong cơ thể chứa nhiều nước, da dễ bị vỡ, chảy ra dịch màu trắng hoặc nâu, chưa có mùi hôi, cho đến khi có nấm mốc mọc mới thể hiện mùi. Sâu non bị chết thường có chân đuôi bám chặt vào cành cây, thân rũ xuống, dịch xuống dưới làm cho phía trước phình to lên. Dịch trong thân chứa nhiều NPV. Sâu

non ngài độc (*Lymantria monocha*) thường treo ngược trên cành, nhưng loài *L. dispa* lại bò xuống gốc cây. Sau khi nhiễm bệnh thường phải qua 4 ngày mới chết, một số kéo dài đến 24 ngày.

Đối với ong ăn lá có những đặc trưng tương tự như bộ cánh vẩy. Triệu chứng rõ nhất là đốt 3 đến đốt 5 biến thành màu vàng nhạt, dần dần giảm ăn, thân nhỏ, có khi sau hậu môn tiết ra dịch màu nâu sẫm, thân treo lên lá thông. Khi chuyển động chúng thường tiết ra dịch màu trắng sữa.

+ Những biến đổi bệnh trong mô sâu khi NPV xâm nhiễm

Con đường xâm nhiễm của NPV là qua da và thức ăn. Khi tiêm virus vào xoang cơ thể sâu non có thể bị bệnh, nhưng khi rửa sạch NPB sâu non không bị bệnh, chứng tỏ nhân tố gây bệnh không phải NPB mà là virion.

Sau khi sâu non ăn phải NPV, bị hệ tiêu hóa dịch vị phân tích ra hạt virion. Virion chui vào thượng bì của ruột giữa vào xoang, lúc đầu vào các tế bào máu, tế bào lipid, tế bào vách khí quản, tế bào da, về sau xâm nhập vào tế bào tuyến tơ, tế bào đốt thần kinh và tế bào mầm trưởng thành.

Những virus hình que (bao gồm NPV và GV) ban đầu xâm nhiễm vào tế bào ruột giữa, thông qua sinh sản tái tổ hợp mới xâm nhập vào xoang, vào các mô nhạy cảm khác.

+ Thời kỳ ủ bệnh (tiềm dục). Sau khi virus xâm nhập vào sâu non phải trải qua một giai đoạn mới thể hiện triệu chứng. Thời kỳ này gọi là thời kỳ ủ bệnh. Thời kỳ ủ bệnh dài hay ngắn phụ thuộc vào số lượng virus xâm nhiễm,

hiệt độ và giai đoạn phát dục của côn trùng. Nói chung số lượng virus càng lớn, nhiệt độ càng cao, tuổi sâu càng nhỏ thời kỳ ủ bệnh càng ngắn.

Để biểu thị thời gian nhanh hay chậm ngoài chỉ tiêu thời kỳ ủ bệnh còn tính thời gian gây chết một nửa số lượng sâu (LT_{50}). Hai trị số đó không như nhau nhưng có cùng một chiều. Ví dụ nồng độ virus của NPV ong ăn lá thông là 10^6 , 10^4 , 10^2 , PIB/ml, thì LT_{50} là 7 ngày, 8, 6 ngày và 10 ngày. Nếu lượng virus như nhau thì nhiệt độ là nhân tố khống chế thời gian ủ bệnh.

+ *Sự thay đổi bệnh trong tế bào.* Bộ phận làm tăng sinh sản của NPV phải ở trong nhân tế bào. Sự tăng sinh sản thực chất là sự tổng hợp sinh vật. Chỉ có sự tổng hợp đó mới sinh ra biến đổi trong tế bào, xuất hiện biến đổi bệnh và triệu chứng. Quá trình biến đổi về hình thái tế bào bị bệnh là:

+ *Sự biến đổi hấp phụ xâm nhập virus của tế bào.* Nhiều nhà khoa học cho rằng sự hấp phụ này chia ra 5 giai đoạn: Hấp phụ virion lên màng tế bào; Kết hợp màng túi của virion và màng tế bào chất; Thể dạng que virus tách khỏi màng túi vào trong tế bào; Đoạn đầu của thể hình que dính vào lỗ nhân thải, vào nhân chất nhân tuỷ (ADN) vỏ áo vẫn ở ngoài mặt màng nhân; Như vậy qua 2 lần tách vỏ mới hoàn thành quá trình xâm nhiễm của NPV.

+ *Sự biến đổi bệnh lý của tế bào*

- Sự hình thành giá thể phát sinh virus. Trong nhân tế bào bình thường chất nhiễm sắc phân bố đều thành các hạt nhỏ, có 1-2 hạch nhân. Khi virus xâm nhập vào tế bào chất

nhuộm sắc nhỏ lại số lượng tăng lên, nhân tế bào phình lên, hạch nhân mất đi, đồng thời xuất hiện kết cấu dạng lưới thô, đó chính là giá thể của virus; là một "nhà máy" hình thành virus.

- Sự phát sinh hình thái virion. Hạt virus (virion) NPV trong nhân tế bào thông thường nối với giá thể phát sinh virus. Sau đó virion được bao bởi màng túi là khi virion thành thực. Màng túi có thể do nhân sinh ra cũng có thể do màng nhân trong mọc ra, một phần vỏ áo nhân cũng thông qua lỗ nhân chui vào tế bào chất, màng tế bào nảy mầm mà có màng túi. Số lượng thể dạng que virus được bao trong mỗi màng túi tùy theo loài NPV khác nhau.

- Sự hình thành kết tinh protein thể đa diện. Khi sâu keo ăn phải NPV sau 48 giờ phần lớn hạt virion có màng túi bắt đầu vùi trong protein kết tinh thể đa diện bên cạnh giá thể phát sinh virus, màng túi và protein đa diện có lực kết hợp nhất định, trước khi vùi hạt virion bề mặt có rất nhiều hạt protein thể đa diện, về sau protein không ngừng lắng xuống kết tinh và lớn lên. Mới đầu là kết tinh không định hình chỉ 0,2-0,4 μ m, gọi là thể đa diện nguyên thủy, về sau chúng lớn dần lên khoảng 1 μ m và có dạng định hình. Lớn đến một độ nhất định, bề mặt hình thành màng protein gọi là màng thể đa diện.

Trong quá trình hình thành giá thể phát sinh virus thể tích nhân phình to lên 4, 6 lần, lúc hình thành thể đa diện chúng to lên 20 lần. Thời kỳ cuối tế bào bị thoái hoá, thể đa diện chứa đầy trong nhân tế bào. Cuối cùng màng nhân bị

phá vỡ, tế bào bị phân giải, thể đa điện, hạt virion và các chất trong tế bào cùng đổ vào xoang cơ thể, bình quân trong tế bào có thể hình thành 1800 thể đa điện, $1,25 \times 10^6$ virion. Protein thể đa điện bắt đầu chất đọng trong khu vực hạt virion trong nhân và không ngừng thu nhận virion có màng túi. Những hạt virion đó xen lẫn protein thể đa điện, thể đa điện không ngừng to lên cho đến khi hình thành màng thể đa điện. Cuối cùng nhân tế bào tăng lên đến mức bị vỡ màng nhân rồi đến tế bào bị phân giải.

- Sự hình thành và tính ổn định của NPV trong hệ sinh thái rừng. Virus mỗi khi tách khỏi vật chủ dưới tác dụng của các nhân tố vật lý hóa học sẽ dần dần mất đi khả năng gây bệnh. Tính đề kháng hoặc tính ổn định của virus có ý nghĩa rất quan trọng trong việc sử dụng chế phẩm virus phòng trừ sâu hại rừng, cho nên vấn đề tính ổn định là nội dung quan trọng trong nghiên cứu sinh thái học virus.

Sự hình thành NPV trong hệ sinh thái rừng

Lợi dụng virus NPV và vi khuẩn B.t làm cho ta có thể nhìn thấy một loạt bệnh dịch phát sinh trong tự nhiên. Từ năm 1979 Thompson và Scott đã nghiên cứu tốc độ dịch phát sinh trong tự nhiên số lượng và kỳ tuổi sâu non bị nhiễm bệnh NPV. Kết quả cho thấy trong thời kỳ bị bệnh virus sản lượng NPV không chỉ quyết định bởi số sâu bị bệnh mà còn quyết định bởi tuổi sâu và kích thước của sâu chết.

Tính ổn định của NPV trong hệ sinh thái rừng

+ Tính ổn định của nhiệt độ với NPV: NPV thường chịu được nhiệt độ thấp, như dịch NPV tầm nhà có thể tồn tại

trong nhiệt độ -13°C - -15°C , ở nhiệt độ $26-27^{\circ}\text{C}$ bị tan ra vẫn không mất khả năng lây bệnh. NPV ong ăn lá vắn sam trong xác sâu bị bệnh, ở nhiệt độ $4-5^{\circ}\text{C}$ hoạt tính của virus vẫn bảo tồn trong 10 năm.

NPV trong điều kiện nhiệt độ cao bị mất hoạt tính rất nhanh. NPV ngài độc ở 60°C chỉ tồn tại 18 giờ, ở 65°C , chỉ 40 phút là mất hoạt tính.

+ Tính ổn định của ánh sáng với NPV. Trong điều kiện tự nhiên, nhân tố chủ yếu làm mất hoạt tính của NPV là bức xạ ánh sáng. Nếu phun dung dịch NPV ngài đêm vắn lạch vào các lá che bóng thời gian hoạt tính sẽ kéo dài hơn những lá được chiếu sáng. Những lá che bóng sau 7 ngày NPV bị mất hoạt tính rất ít, những lá chiếu sáng sau 2 ngày đã mất 50%, sau 7 ngày đã bị mất hoạt tính hoàn toàn.

+ Tính ổn định của tia tử ngoại với NPV: Tác dụng diệt NPV liên quan với ánh sáng trực xạ và tia tử ngoại. Vì bức xạ mặt trời đến mặt đất không chỉ có ánh sáng gần tia tử ngoại, bước sóng $3000-3800\text{\AA}$ mà còn có ánh sáng xa tia tử ngoại, bước sóng $1900-3000\text{\AA}$. Staws (1975) đã làm thí nghiệm diệt sâu bằng NPV sâu xám khi chiếu loại tia có bước sóng này. Kết quả cho thấy đối với sâu non tuổi 1 thì 50% NPV bị mất trong thời gian 1,69 phút; nhưng sâu non tuổi 2 lại ở thời gian 4,37 phút (theo phương trình $LT_{50} = \log 0,228$). Chiếu trong 20 phút, sâu non tuổi 1 không thể hiện hoạt tính virus; sâu non tuổi 2 chiếu trong 60 phút vẫn giữ được hoạt tính 0,008% - 0,01%.

Trong điều kiện nhiệt độ cao chiếu tia tử ngoại nhân tạo có tác dụng diệt hoạt tính của virus.

+ Tính ổn định của pH với NPV: Sau khi xử lý dung dịch NPV ngoài đêm vẫn lệch ở pH 3,8-9,8 người ta phát hiện pH = 7 sâu chết nhanh, tỷ lệ chết đạt 100%, nếu hạ thấp hoặc tăng cao pH đều kéo dài thời gian bị bệnh. Nếu pH = 9-10 thì mất khả năng xâm nhiễm.

Thực tế này trong phòng trừ sâu hại rừng pH ảnh hưởng rõ rệt đến hiệu quả. Thông thường pH của đất rừng trong khoảng 4,83-7,17, pH càng thấp hiệu quả phòng trừ càng kém, số lượng NPV thu về được càng ít.

NPV ngoài độc sam trong tầng cành khô lá rụng và đất có thể tồn tại 11 năm. Sau đó 1 năm vẫn còn 1/3 số lượng bảo tồn trong cành khô lá rụng, nhưng trong đất sâu 2,54cm bảo tồn được nửa năm. Qua nhiều năm sẽ bị nước mưa rửa trôi hết mà không thấm sâu trong tầng dưới. Điều này cho ta nhận biết được vai trò bảo vệ tầng cành khô lá rụng và tầng đất mặt để bảo vệ NPV, hạn chế các loài sâu hại trong rừng.

+ Mối quan hệ NPV bảo tồn trong rừng với tuổi vật chủ. Sâu non các tuổi bị chết treo trên cành lá, bị ánh nắng chiếu sau hơn 1 năm là mất sức sống. Sâu chết ở tuổi 3, chân bám lâu trên cây tỷ lệ NPV sống sau 1 năm chỉ còn 0,07%, trong khi đó tuổi 5-6 sau khi chết xác rơi trên mặt đất hoặc chưa rơi hẳn trên mặt đất, xác sâu bị vỡ, dịch thể có virus chảy xuống đất.

Mặc dù thể đa diện dính vào cành lá, do chiếu xạ của ánh sáng sau 1 năm đã mất sức sống. Cho nên những khu

rừng bị sâu hại nặng ánh sáng trực xạ chiếu lên mặt đất không những làm tăng tốc độ NPV trên cây bị chết mà còn giết chết rất nhiều virus thể đa diện trên tầng cành khô lá rụng và mặt đất.

Do đó bảo vệ môi trường sinh thái rừng, không chặt phá rừng, bảo đảm độ tàn che rừng hợp lý, không chặt cành khô lá rụng, không chỉ bảo đảm cho các loài thiên địch hoạt động mà còn liên quan đến việc bảo tồn virus gây bệnh cho sâu hại.

+ Ảnh hưởng của cháy rừng đến việc bảo tồn NPV. Trong các khu thí nghiệm kết quả xác định sinh vật của 50 mẫu đất ở khu gốc chặt bị cháy đều không có virus NPV. Những khu vực lân cận có cây xanh cũng không có NPV tồn tại. Điều này chứng tỏ nạn cháy rừng đã đốt chết toàn bộ virus thể đa diện trên mặt đất.

+ Ảnh hưởng của thuốc trừ sâu đến sự bảo tồn virus NPV. Năm 1975, phân tích 4 khu thí nghiệm sử dụng và không sử dụng DDT trừ sâu, người ta phát hiện rằng những khu vực sử dụng thuốc trừ sâu do mất đi vật chủ 10 năm sau số lượng virus trong rừng có sự khác nhau rõ rệt so với khu không sử dụng thuốc trừ sâu. Khu dùng thuốc trừ sâu có số virus sống là $45/\text{cm}^3$ đất, khu không dùng thuốc trừ sâu là $5380/\text{cm}^3$ đất.

+ NPV ruột giũa. Khác với thể đa diện kiểu nhân khác, đặc điểm của loại virus này là thể đa diện kiểu nhân chỉ phát sinh trong nhân tế bào ruột giũa. NPV của ong ăn lá thông (*Neodiprion sertifer*) chỉ ký sinh trong nhân tế bào thượng bì của ruột giũa. Sâu bị bệnh chán ăn, vách ruột bị

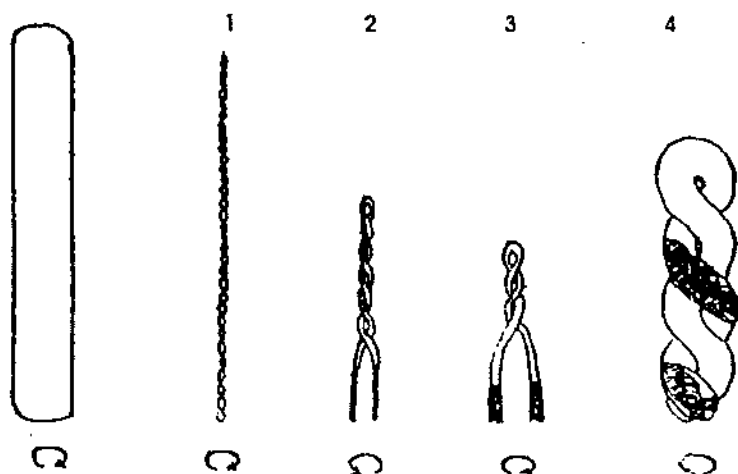
trắng, miệng tiết ra dịch trắng, hậu môn tiết ra dịch nâu đen. Mất thường dễ nhầm với CPV. Virion hình que, $50 \times 250\text{nm}$, thể vùi hình cầu, đường kính $1\mu\text{m}$, acid nucleic là ADN, tổ thành gốc kiềm là G:A:C:T = 19, 5:32,2: 17,9:30, 3. Thời gian bị bệnh là 4-5 ngày, sau đó 24-48 ngày là sâu chết.

(2) *Virus thể hạt (Granule virus, GV)*

Thể vùi của virus có dạng vỏ đậu, hình trứng, dưới kính hiển vi có các hạt nhỏ phát sáng nên được gọi là virus thể hạt. Kích thước thể vùi là $0,2-0,5\mu\text{m} \times 0,15-0,35\mu\text{m}$. Trong thể vùi có hạt virus (virion), chúng chỉ xâm nhiễm sâu non bộ cánh vẩy, vị trí xâm nhiễm là nhân tế bào và tế bào chất. Côn trùng bị bệnh nhanh là 4 ngày, chậm là 20-30 ngày mới hết. LT_{50} đối với ngài trắng Mỹ 2 tuổi là 4 ngày, 5 tuổi là 9 ngày; LC_{50} là $2,15 \times 10/\text{ml}$.

Đến nay người ta phát hiện GV gây bệnh cho bộ cánh vẩy có trên 80 loài. Về tính chất lý hóa của GV gần giống với NPV cho nên trong phân loại virus hiện nay người ta xếp vào họ virus hình que (Baculoviridae), nhóm B, mật mã là D/2;89-119/C; U/E: 1/1.

Trước đây năm 1926, nhà khoa học Pháp Paillot phát hiện GV trên sâu non bướm phấn. Về sau được phát hiện trên nhiều loài côn trùng. Năm 1947 Steinhauß mới xác định đó là GV. Năm 1948 Bergold phân lập trên sâu cuốn lá và quan sát dưới kính hiển vi điện tử hình thái thể vùi của GV là dạng vỏ quả đậu, nên trước đây gọi là virus vỏ đậu. Do chúng có thể hạt phát sáng nên về sau được gọi là virus thể hạt.



Hình 15. Cấu tạo ADN của virus thể hạt (GV)

+ Bệnh lý học của bệnh virus GV

- *Triệu chứng.* Sau khi sâu non bị bệnh virus GV, trước hết là sức ăn bị giảm, rồi ngừng ăn. Màu da biến thành màu trắng xám hoặc vàng sữa. Nhưng có màu khác nhau theo loài. Thân thể yếu dần. Bệnh tiếp tục phát triển máu lẫn dịch màu trắng sữa.

Cũng có loài côn trùng như ngài đốm nhỏ sau khi bị bệnh GV, thân nhỏ lại, nhưng ngài đêm bị GV thân dài ra thô hơn, màu vàng sữa, da cứng dần.

- *Thời kỳ ủ bệnh.* Hầu hết sâu bị bệnh GV chết ở thời kỳ sâu non, nhưng có một số chết ở thời kỳ tiền nhộng hoặc nhộng. Thời gian sâu chết khác nhau, nói chung là 4 ngày, chậm là 20-25 ngày. Thời gian gây chết liên quan với loài

sâu, tuổi sâu, nhiệt độ, lượng virus, độ độc của virus và tình hình sức khỏe của vật chủ. Ví dụ thời gian chết của sâu ngài trắng Mỹ phụ thuộc vào tuổi sâu và lượng GV, đối với sâu non tuổi 2 lượng virus là 10^9 /con, LT_{50} là 4 ngày, tuổi 5 phải là $5,2 \times 10^{19}$ /con LT_{50} là 9 ngày.

- Các mô bị xâm nhiễm. Cũng như NPV virus GV dễ xâm nhiễm nhất là mô mỡ (lipid) rồi đến tế bào da, màng da khí quản. Đối với sâu xám GV xâm nhiễm và sinh sản trong mô cơ. Ngài cuốn lá cây ăn quả (*Archis argyrospila*) bị nhiễm ở mô ruột giữa. Sâu non đục quả (*Carposina niponensis*) bị nhiễm trước hết là mô mỡ, rồi đến mô khí quản, mô da, thậm chí còn cả thượng bì ruột giữa và ống Malpigi.

- Sự biến đổi bệnh trong tế bào. Sự biến đổi của sâu bị bệnh GV trước hết là sự sản sinh hàng loạt nhờ tế bào thể mỡ tiến hành phân chia có sợi. Kết quả làm cho thể tích thể mỡ tăng lên. Đồng thời nhân tế bào cũng phình to lên, một phần chất nhiễm sắc do nhân nứt và phân giải mà phân bố bên cạnh màng nhân, hạch nhân bị tiêu đi. Nhân tế bào tiếp tục phình lên cho đến khi chiếm gần hết tế bào, bên ngoài nhân là có rất nhiều hạt lipid, virus phát sinh kết cấu mạng lưới. Cuối cùng màng tế bào nứt ra, vô số thể hạt và các chất khác chạy vào dịch máu. Sự biến đổi bệnh lý của tế bào da và tế bào màng khí quản cũng giống như vậy.

Hầu hết các tác giả đều công nhận bộ phận sinh sản của virus GV ở cả trong nhân lẫn tế bào chất. Cũng có tác giả

cho rằng GV trước hết sinh sản trong nhân tế bào, sau khi vỡ màng nhân mới tiếp tục sinh sản ở trong tế bào chất.

+ Sự phát sinh hình thái của GV

Kết quả quan sát dưới kính hiển vi điện tử GV ngoài cuốn lá thông cho thấy trong nhân phình to chất nhiễm sắc tụ lại thành sợi nhỏ, đồng thời màng nhân tiếp tục tái sinh, sản sinh nhiều màng mới. Chất nhiễm sắc bị màng mới bao vây vào trong tế bào chất; màng tiếp tục đông lại hình thành các sợi nhỏ xung quanh nhân. Những sợi nhỏ kéo dài các bộ phận của tế bào chất cùng với sợi nhỏ trong nhân hình thành kết cấu mạng lưới, đó là giá thể phát sinh virus. Về sau thể dạng que virus phóng ra từ bề mặt kết cấu dạng lưới. Quá trình hình thành thể hạt có thể thấy protein dựa vào một đầu, thể dạng que lắng xuống, hình thành một “mũ”, còn một đầu kéo dài cho đến khi hình thành thể hạt, thỉnh thoảng thấy 2 đầu lắng xuống thành 2 mũ. GV vùi trong thể hạt một bộ phận vỏ áo nhân thông qua nảy mầm mà hình thành màng túi, rồi từ tế bào phóng ra xâm nhiễm tế bào khác.

+ Tính chất của thể hạt là thể vùi của chất kết tinh protein.

Trong mỗi thể hạt thường có 1 hạt virus (virion) dạng que. Đôi khi gặp 2 hạt.

- Hình dạng và kích thước của thể hạt. Thể hạt thường là hình trứng hoặc hình bầu dục, có hạt dài, hình chữ nhật hoặc hình trứng dài.

Kích thước hạt cũng khác nhau theo loài. Nói chung vào khoảng $300-511\text{nm} \times 119-350\text{nm}$. GV ngài thuyền cây dương là $376 \times 207\text{nm}$, của ngài cuốn lá vắn sam là $350 \times 160\text{nm}$.

Cũng như NPV protein của thể hạt do khối phân tử tổ thành. Sự sắp xếp phân tử protein thành khối. Thể tích của thể hạt là $57 \times 57 \times 22\text{\AA}^3$.

- *Tính chất vật lý của thể hạt.* Thể hạt không tan trong nước, cồn, ether, benzen, xylen, nhưng tan trong dung dịch acid và kiềm, ví dụ có một ít nồng độ chất CaCO_3 , NaOH , KOH , NH_4OH , H_2SO_4 và acid acetic, thể hạt đều bị phân giải.

Thể hạt không hề bị điều kiện tự nhiên phá hoại, tỷ trọng của thể hạt nặng hơn nước, tỷ trọng của GV sâu cuốn lá thông là 1,279. Protein thể hạt có 2 bộ phận tổ thành bộ phận chủ yếu là hệ số lắng $S_{20} = 11,8$, lượng phân tử là 300.000 và bộ phận thứ yếu là hệ số lắng $S_{20} = 3,45$, lượng phân tử là 60.000.

- *Tổ thành hóa học của thể hạt.* Thông thường chúng có 2 protein cấu tạo thành, 1 loại là protein kết tinh thể hạt, 1 loại là protein màng ngoài thể hạt, thành phần chủ yếu của chúng là các acid amin. Năm 1954 Wellington đã xác định thành phần acid amin trong protein thể hạt và GV cho thấy nhiều nhất là argin, leuxin. Thành phần các acid amin trong thể hạt và GV sâu ngài cuốn lá thông như biểu sau:

Biểu 4. Thành phần acid amin của protein thể hạt và virus thể hạt (GV)(%)

Acid amin	Ngài cuốn lá thông	(Choristoneura
	Protein thể hạt	Protein GV
Alanin	2,8	3,6
Arginin	10,1	16,4
Asparagin	11,7	14,0
Cystin	1,3	0,6
Glutamin	12,9	7,0
Glycin	2,8	4,6
Histidin	1,7	1,9
Leucin	14,9	13,0
Lysin	6,3	3,4
Methionin	3,4	2,8
Phenylalanin	9,4	5,6
Prolin	5,4	5,3
Serin	3,4	9,8
Threonin	6,0	3,8
Tyrosin	7,2	5,0
Valin	5,2	3,6
Tryptophan	7,2	chưa xác định

Tanada (1975) phát hiện trong protein thể hạt sâu keo châu Mỹ có chất tăng hiệu quả, có thể làm tăng sức lây bệnh của NPV đối với sâu keo, tác dụng vào màng tế bào chất của ruột giữa, có tác dụng hấp phụ hạt virus NPV, từ đó làm tăng hiệu quả trừ sâu của NPV. Hiện nay người ta đều biết chất tăng hiệu quả đó là polypeptid và lipophosphat, phân tử lượng là 126.000, sự tồn tại của lipophosphat có ý nghĩa quyết định đến hoạt tính tăng hiệu. Ngoài ra người ta còn phát hiện thể hạt còn có 0,06% Si.

+ Đặc trưng hình thái của virus thể hạt (GV)

- *Hình dạng và kích thước*: GV có dạng sợi kích thước khác nhau theo loài, độ dài khoảng 200-441nm, đường kính 36-80nm.

- *Kết cấu*: Kết cấu của GV tương tự như NPV bên ngoài là màng túi. Giữa màng túi và vỏ áo có một khoảng trống. Vỏ áo gắn chặt với nhân tuỷ. Nếu xử lý bằng dung dịch kiềm vỏ áo thành ống rỗng thẳng và dẹt. Người ta nghiên cứu GV sâu róm thông rụng lá, phân tử lượng của ADN rất lớn (80×10^6) sợi xoắn đôi của ADN rất dài, có kết cấu xoắn vòng.

+ Tổ thành hóa học của GV

Cũng giống như thể hạt và NPV tổ thành acid nucleic của GV là ADN. Tổ thành gốc kiềm của chúng là A-G-T-C. Tỷ lệ AT/GC là 0,9.

ADN của GV là xoắn đôi, nhưng trong hạt virus (virion) lại có kết cấu xoắn ốc. Thông thường chúng có 3 kiểu kết cấu ngoài kết cấu xoắn, vòng kín, còn có kết cấu vòng hở và kết cấu sợi chuỗi đôi. Chúng có hệ số lắng đọng khác nhau, vòng kín là 90-95S, vòng hở là 78-80S và kiểu sợi là 60S.

Protein của GV về cơ bản cũng như protein của thể hạt gồm các acid amin

+ Tính ổn định của virus thể hạt (GV)

Virus thể hạt (GV) có sức chống chịu với điều kiện môi trường, để trong phòng thí nghiệm hoạt tính độc của virus

có thể đến mấy năm. Trong điều kiện nhiệt độ bình thường thể hạt virus bướm phấn rau có thể sống được 16 tháng. Thể hạt làm mẫu để 3 năm sâu non bướm phấn vẫn có thể gây bệnh. GV nhiều loài sâu đều có tính ổn định lâu trong môi trường bình thường. Nhiệt độ cao đến 75°C sau 10 phút là mất sức sống, 70°C trong 20 phút, 65°C trong 60 phút, 6°C trong 24 giờ, -20°C trong 6 tháng vẫn bảo đảm sức sống. GV ở trạng thái khô có thể bảo quản trong 4 năm.

GV dưới ánh nắng mặt trời mất khả năng sống theo thời gian khác nhau, nếu thêm 1% bột sữa degrease có thể bảo vệ và kéo dài thời gian sống ngoài đồng ruộng. Nếu trộn với mực đen có thể làm tăng hiệu quả phòng trừ. Dưới tia tử ngoại bước sóng ngắn (253nm) cường độ chiếu sáng 83mW/cm² thể hạt chưa lọc có thời gian sống lâu hơn thể hạt thuần. Người ta cho rằng tia tử ngoại và acid amin có tác dụng oxy hóa ánh sáng hình thành H₂O₂ có thể là nguyên nhân làm cho virus bị chết.

- Virus đa diện kiểu chất (Cytoplasmic polyhedrosis virus, CPV)

CPV được phát hiện vào năm 1934 trên tầm nhà Nhật Bản. Về sau người ta còn phát hiện cả trên sâu ăn lá thông. Khi việc nghiên cứu virus sâu hại rừng phát triển người ta đã tìm CPV trên sâu róm thông đuôi ngựa, thông nhựa, sâu róm chè, ngài độc... Theo thông báo CPV xâm nhiễm 168 loài thuộc bộ cánh vẩy, 2 loài thuộc bộ cánh mạch, 3 loài bộ 2 cánh, 1 loài bộ cánh màng.

+ Bệnh lý học của bệnh CPV

- *Đặc trưng bên ngoài.* Triệu chứng ban đầu của bệnh CPV rất ít thấy, tùy theo bệnh phát triển còn trùng sinh trưởng chậm dần, thân nhỏ lại, giảm ăn, đầu ngực bụng có tỷ lệ không bình thường, có lúc lông mọc dài ra xuất hiện sự biến màu. Ruột chứa nhiều CPV nên biến thành màu trắng hoặc vàng, chúng tiết ra ở miệng hoặc bài tiết ở hậu môn nhiều thể đa diện.

- *Thời kỳ ủ bệnh.* Thời kỳ này khá dài, tùy theo loài sâu, tuổi sâu, độ độc của CPV, lượng CPV mà có sự khác nhau. Tuổi non, độ độc cao, lượng nhiều thời kỳ ủ bệnh thường ngắn.

- *Mô bị xâm nhiễm.* Mô bị xâm nhiễm là các tế bào hình ống của thượng bì ruột giữa. Ruột trước và sau không phát hiện thấy CPV.

Sự xâm nhập của CPV được chia ra 3 giai đoạn: (1) Vật lõi virus hấp phụ bề mặt tế bào (2) Hạt virus hấp phụ bề mặt tế bào chặt hơn, vật lõi vùi trong bề mặt tế bào (3) Nhân tuy dạng sợi phóng ra chui vào trong tế bào chất, bề mặt tế bào chỉ còn hạt virus rỗng.

- *Biến đổi bệnh trong tế bào.* Khi nghiên cứu sự xâm nhiễm của CPV tầm nhà, Xiao Lin (1971) lập ra một sơ đồ xâm nhiễm của CPV. Chỗ bị bệnh protein và ARN nhiều hơn các tế bào khác, về sau xuất hiện hạt CPV. Tế bào đa diện bắt đầu hình thành bên giá thể phát sinh virus. Giá thể phát triển dần rồi dần dần thoái hóa, theo thời gian biến đổi hàm lượng protein và ARN cũng biến đổi theo. Hàm lượng CPB

trong tế bào tầm nhà là 10.000 virion CPV bị vùi trong thể đa diện nhưng số lượng không bằng số CPV tự do trong cơ thể. Căn cứ vào điều tra sâu róm thông hại rừng sau 10 ngày số lượng CPV tự do trong cơ thể nhiều hơn gấp 3 lần so với số CPV vùi trong thể đa diện.

+ Tính chất lý hóa của thể đa diện (CPB)

- *Hình dạng và kích thước.* Thể đa diện (CPB) mới đầu không có hình thái đặc biệt. Thông thường là 12 mặt 6 cạnh, về sau có một số có 18 mặt 6 hình vuông. Hai loại này lẫn lộn với nhau, và nếu tiêm vào tầm nhà lại xuất hiện thể đa diện 5 cạnh, 6 cạnh hoặc 8 cạnh đều. Thể đa diện thay đổi như vậy là một đặc trưng của CPB. Trên ngài trắng Mỹ sau khi nhiễm CPV hình thành nhiều loại thể vùi 6 cạnh, 4 cạnh, thậm chí có loại hình cầu. Cho nên nhiều người cho rằng chúng có một số biến chủng.

Kích thước biến động trong khoảng 0,5-10 μ m. Cùng trên một con sâu bị bệnh CPV có kích thước khác nhau. Người ta nhận thấy rằng kích thước CPV ở trước ruột giữa lớn nhất, sau đó là giữa ruột giữa và nhỏ nhất là sau ruột giữa. Dinh dưỡng của sâu cũng ảnh hưởng đến kích thước CPV. Những sâu bị đói CPV thường nhỏ và số lượng cũng ít.

- *Tính chất lý hoá.* CPB không tan trong nước nhưng để lâu trong nước cũng bị rửa. Trong chất kiềm yếu, không giống như NPV, sau khi hoà tan không để lại màng. Luôn luôn để lại giá thể dạng tổ ong. Giống với NPV, CPV do protein cấu tạo thành, thành phần của CPB bao gồm 20 acid amin như ở biểu sau:

Biểu 5. Thành phần CPB tằm nhà

Acid amin	CPB 6 mặt	CPB 20 mặt
Alanin	5,1	5,5
Arginin	6,2	6,1
Asparagin	13,4	13,6
Cystin	0,7	0,9
Glutamin	11,6	12,4
Glycin	3,1	3,5
Histidin	2,4	2,2
Leucin	7,8	8,6
Lysin	6,1	6,3
Methionin	1,5	1,3
Phenylalanin	6,5	4,8
Prolin	3,3	3,2
Serin	7,9	7,6
Threonin	2,5	3,0
Tyrosin	9,8	8,2
Valin	9,3	9,5
Tryptophan	2,3	2,2
NH ₃	3,5	4,2

+ Đặc trưng hình thái của CPV

- *Hình dạng và kích thước.* Virion của CPV là thể 20 mặt, đường kính 60nm, nhưng khác nhau theo loài côn trùng. Trọng lượng của CPV của tằm nhà (*Bombyx mori*) là 5,4-9, 7 $\times 10^7$, hệ số lắng đọng là 410-440S, mật độ nổi là 1,37. Hệ số lắng đọng của CPV ngài độc đốm trắng (*Orgyia leucostigma*) và sâu róm rừng (*Malacosoma distria*) là 380S.

- *Kết cấu siêu hiển vi của CPV.* Kết cấu của CPV tằm nhà là 20 mặt có vỏ 2 tầng gắn chặt. Mỗi vỏ có 12 góc mọc

ở 12 đoạn đầu của 20 mặt, đồng thời 12 gốc phụ nối với 12 ống. Gốc vỏ là hình lăng trụ 5 cạnh, từ đó chia ra một ống 4 đốt. Kích thước của hạt virus bình quân là 69nm.

Độ dài của ống lõi lên trên 20 mặt là 20nm. Trên ống còn có 1 vòng. Chức năng của vòng là hút tế bào màng da ruột giữa và giải phóng ARN tổ gen di truyền của CPV gây ra xâm nhiễm tế bào vật chủ.

+ Tính chất lý hóa của CPV

Acid nucleic của CPV là ARN. ARN của CPV tầm nhà là một chuỗi đôi. Tỷ lệ ARN khác nhau theo loài của sâu róm hại rừng (*Malacosoma distria*) là 23-30%, của ngài độc chấm trắng (*Orgyia leucostigma*) là 26-28%. Thành phần acid amin của CPV cũng giống như CPB nhưng hàm lượng các chất có sự khác nhau ví dụ hàm lượng glutamin, tyramin của CPV nhiều hơn CPB hàm lượng threonin, prolin, glycocoll lại ít hơn. Tổ thành gốc kiềm của ARN CPV là AGCU, Tỷ lệ AU/GC, A/U, GC/AU khác nhau.

+ Tính ổn định của CPV

Nói chung virus trong thể đa diện (CPB) có tính ổn định hơn virus tự do. CPV của sâu róm *Malacosoma distria* virus trong mô bệnh so với virus thể vùi phân lập trong CPB có tính ổn định khác nhau. Trong cồn hoặc cloroform ở 23°C sau 1,5 giờ hạt virion không bị phá hoại, nhưng ở 37°C virus tự do bị phá hoại, nhưng hạt virus tách ra trong CPB lại có tính ổn định cao có thể giữ được trong 3 năm. Các enzym R-Nase, D-Nase (enzym đông tụ ARN và ADN) hoặc lypophosphatase không bị ảnh hưởng khi xử lý trong 60 phút ở nhiệt độ 30°C.

Ở trạng thái khô hoạt tính dần dần giảm xuống. Trong điều kiện ánh sáng trực xạ mùa hè (nhiệt độ 43-47°C) sau 1 giờ virus hoàn toàn mất sức sống. Ngâm CPV trong dung dịch 20% formalin ở 22°C sau 4 giờ không hoàn toàn mất sức sống, ngâm trong nước Javel ở 23°C, chúng đã hoàn toàn mất sức sống, nhưng ngâm trong dung dịch HgCl sau 72 giờ vẫn còn sống.

(4) Phương thức lây lan và tính chuyên hóa của virus gây bệnh côn trùng

+ Phương thức xâm nhiễm

Phương thức xâm nhiễm của virus côn trùng thường có 3 loại: (1) Thông qua thức ăn qua đường miệng. (2) Thông qua vết thương ở da côn trùng (3) Thông qua trứng đây là phương thức lợi dụng khi phòng trừ.

+ Tính chuyên hóa hoặc phạm vi vật chủ

Nhiều nhà nghiên cứu bệnh virus côn trùng cho rằng mỗi loài virus côn trùng đều có vật chủ nguyên thủy, nhưng cũng có thể xâm nhiễm vật chủ thay thế. Nói chung vật chủ thay thế thường có mức độ bị bệnh thấp hơn vật chủ nguyên thủy.

Trong quần thể virus gây bệnh khác nhau tính chuyên hóa của chúng khác nhau. Nói chung GV có phạm vi vật chủ hẹp, NPV có vật chủ rộng. Cùng một loài virus gây bệnh trên các họ, hoặc thậm chí các bộ. Ví dụ Gershenson (1962) thông báo có 7 loài NPV xâm nhiễm trên 60 loài côn trùng thuộc 5 họ bộ cánh vẩy, 1 loài bộ cánh nửa.

Phạm vi vật chủ của CPV còn rộng hơn NPV rất nhiều. Ví dụ riêng CPV sâu đo có thể xâm nhiễm 11 loài, thuộc 4 họ của bộ cánh vẩy. Nghiên cứu phạm vi vật chủ hoặc tính chuyên hóa của virus có ý nghĩa lớn trong việc nghiên cứu phòng trừ, ví dụ có thể trộn hai loài virus để nâng cao tỷ lệ xâm nhiễm của chúng.

+ Phương thức lây lan của virus

Trong rừng côn trùng bị bệnh trưởng thành thường bay đi là một trong những phương thức truyền bá hữu hiệu nhất. Theo thông báo, ong ăn lá bị bệnh NPV hoặc kén bị bệnh sau mấy năm thông qua trứng truyền nhiễm làm cho quần thể ong bị ức chế ở mức độ nhất định, đồng thời thông qua sâu trưởng thành mang virus bay mà lây lan khuếch tán.

Thông qua côn trùng ký sinh có thể lây lan bệnh virus, như ruồi ký sinh trên sâu róm *Malacosoma* có thể lây bệnh NPV. Côn trùng bắt ong ăn lá thông *Rhinocorus annulatus* có thể truyền bệnh NPV.

Chim bắt sâu trong rừng là môi giới lây lan bệnh virus côn trùng. Người ta xác định rằng trong phân của 16 loài chim trong rừng có mang virus NPV. Dùng phân chim đó tưới lên cây cho sâu ăn tỷ lệ nhiễm bệnh lên tới 61,5%. Một số loài chim bay xa mang cả NPV và lây xa đến 6km. Hiện nay đã phát hiện được 16 loài thuộc 13 họ chim là môi giới lây bệnh.

Gió mưa cũng là một phương thức lây lan bệnh virus. NPV ngài độc thông qua nước mưa đưa xác sâu bị bệnh té ra xung quanh.

(5) Sản xuất chế phẩm virus

Virus là loại chuyên ký sinh cho đến nay vẫn chưa có nghiên cứu nào nuôi được virus trên môi trường nhân tạo, chỉ nhân lên trong tế bào sống. Cho nên chế phẩm virus còn trùng phòng trừ sâu hại chỉ có thể thông qua nuôi chúng trên sâu sống.

+ Virus sinh sản trong sâu sống

Dùng sâu sống để nhân giống virus là phương pháp đơn giản dễ làm. Có thể thực hiện theo 3 cách:

- Thu thập sâu chết ngoài rừng. Chọn thời cơ thuận lợi ở một khu rừng có mật độ sâu lớn nhất phun virus cho lây nhiễm trong tự nhiên, sau đó thu thập các sâu chết. Thường dùng cho ong ăn lá *Diprion*, những loài này khó nuôi trong phòng. Những quần thể sâu bị chết ngoài tự nhiên cũng có thể thu thập rồi thả vào rừng có mật độ sâu lớn.

- Gây nuôi sâu sống đã thu thập. Sâu sống thu thập về có thể tiếp virus và nuôi trong phòng hoặc một khu vực nhỏ. Thường dùng cho việc phòng trừ sâu róm thông *Dendrolimus spectabilis* bằng CPV, hoặc sâu róm trời *Malacosoma* bằng NPV.

- Nuôi sâu trong phòng rồi tiếp virus tạo chế phẩm. Dùng thức ăn tự nhiên hoặc thức ăn nhân tạo nuôi hàng loạt sâu rồi tiếp virus tạo ra chế phẩm. Thông thường ta có thể nuôi các loại NPV, CPV, GV để phát triển chúng. Các chế phẩm NPV ngài độc *Portheria dispar* của Gypchek, hoặc chế phẩm NPV ngài độc sam TM-Biocontrol-1. đều sản xuất theo phương pháp này.

Chế phẩm CPV sâu róm thông *Dendrolimus spectabilis* ở Nhật Bản được sản xuất như sau: dùng cành thông có lá khoảng 1kg, phun virus vào (100 cá thể/ml) sau đó bọc vào túi polyethilen $50 \times 90\text{cm}$, đồng thời bỏ 100con sâu non tuổi lớn nhất, rồi treo vào rừng sau 15-20 ngày thu thập sâu chết, thêm nước nghiền nhỏ, lọc qua vải màn, quay ly tâm, bảo quản trong nhiệt độ thấp, khi sử dụng chế thành dung dịch hoặc bột. Mỗi con sâu có thể thu được 5×10^8 CPB.

Phương pháp sản xuất chế phẩm NPV sâu hại bông Viron/H Bocontrol/VHZ là *phun thể đa diện lên mặt thức ăn, nuôi từng cá thể côn trùng trong bình nhựa, nuôi trong điều kiện 26°C trong 5-8 ngày virus tăng sản → thu thập sâu chết → nghiền nhỏ → lọc → ly tâm → tiêu chuẩn hóa → tạo chế phẩm*. Nuôi sâu xám hại bông dùng 5% để sản xuất tiếp 95% sau đó sản xuất chế phẩm. Trong 1 đợt sản xuất virus tăng sản lên 5.000-10.000 lần.

Trong quá trình sản xuất sâu nhiễm bệnh cần chú ý mấy vấn đề: (1) Phải có điều kiện nuôi hàng loạt vừa tiện lợi vừa kinh tế, nghiên cứu phương pháp nuôi rộng rãi trong nhân dân. (2) Chọn giống có tính độc cao và lượng nuôi cấy phải nhiều, kỳ tuổi sâu và điều kiện môi trường phải phù hợp, làm thế nào virus tăng sản nhiều, nên chọn tuổi sâu lớn để thu thập nâng cao sản lượng.

Trong quá trình sản xuất chế phẩm nên thực hiện cơ giới hóa để giảm giá thành là một biện pháp rất quan trọng.

+ Virus tăng sản hàng loạt trong hệ thống tế bào

Do virus là loại chuyên ký sinh không có hệ thống năng lượng tự tạo phải nhờ hệ thống năng lượng và ribosome của vật chủ để tăng sản, không nuôi cấy trên môi trường nhân tạo, đây là một khó khăn cho việc nhân giống. Trong hơn 20 năm nay người ta nghiên cứu, chọn một môi giới bằng tế bào sống để nuôi virus.

Giải quyết vấn đề dùng hệ tế bào nuôi virus phải có 3 điều kiện: (1) Phải phân lập hệ tế bào dễ nuôi có sức sinh sản mạnh, mới có thể sản xuất lớn. (2) Phải cải tiến và đơn giản hóa dịch nuôi để giảm giá thành. (3) Virus sản xuất ra không giảm tính độc mới có tác dụng, thông thường nuôi cấy qua nhiều hệ tế bào sẽ giảm tính độc, số lượng virion cũng giảm xuống. Từ nuôi cấy tế bào côn trùng ta có thể thu được tế bào mô côn trùng dùng để sản xuất hàng loạt virus. Thực tế vấn đề này còn gặp khó khăn làm cho sản lượng virus giảm xuống:

Cùng với sự phát triển nghiên cứu và ứng dụng công nghệ sinh học di truyền, người ta đã tạo ra được nhóm gen virus rồi xâm nhiễm vào tế bào. Có người nghĩ đến dùng một số enzym cắt ADN của NPV để tiến hành trao đổi đoạn ADN cũng tạo được chế phẩm virus hoặc sản xuất vi khuẩn cho nhiễm virus rồi chuyển sang côn trùng.

+ Dạng chế phẩm virus

Chế phẩm diệt sâu virus có thể được chia ra 2 loại: vật chuẩn bị và chế phẩm tinh. Vật chuẩn bị là các loại côn trùng đã chết được thu thập ngoài tự nhiên, nghiền ra mà thành. Ưu điểm của loại này là rẻ tiền, giá thành thấp, không cần thiết bị phức tạp, những nơi bị hạn chế thiết bị có

thể sử dụng loại này và có thể làm tăng hiệu lực diệt sâu so với loại chế phẩm nuôi thuần khiết. Lý do làm tăng hiệu quả có thể do 4 nguyên nhân: (1) Trong sâu chết có dịch côn trùng biến màu có thể hạn chế tác dụng của ánh nắng mặt trời, bảo vệ được tính độc. (2) Trong dịch thể côn trùng có thể có 1 loại enzym gây tác dụng tăng hiệu quả. (3) Trong dịch thể côn trùng có thể còn chất thực vật hấp dẫn côn trùng làm tăng khả năng ăn của chúng. (4) Trong dịch nghiền thân sâu còn tồn tại các tế bào gốc gây ra tác dụng xâm nhiễm hỗn hợp virus và vi khuẩn.

Có thể tạo ra chế phẩm virus tinh khiết hay không vẫn còn nhiều tranh luận. Piunock đã thông báo ở California từng phát hiện 3 loài virus lẫn trong NPV, trong đó có loài hình cầu gọi là virus chilici xuất hiện trong động vật có vú như người, dê, sơn dương và kiểm tra thấy chúng có tính đề kháng. Tuy chúng có thể tăng sản trong sâu non bộ cánh vẩy nhưng không gây bệnh. Do chế phẩm có lẫn loại virus này nên đã ngừng sản xuất. Để sử dụng an toàn người ta chủ trương chế phẩm virus nhất thiết phải thuần, mỗi một mẻ sản xuất cần được kiểm tra kỹ càng.

Ưu điểm của chế phẩm tinh là: (1) An toàn đối với người và gia súc, không có chất vật chủ côn trùng nên không làm ô nhiễm các vi sinh vật khác, không phát sinh độc độc và dị ứng. (2) Tiện cho việc khống chế nồng độ. (3) Tiện cho vận chuyển và cất trữ. Chế phẩm tinh có dạng sữa và dạng bột.

Để nâng cao chất lượng và hiệu quả phòng trừ của chế phẩm, thông thường người ta thêm vào chế phẩm các chất phụ gia như thuốc bả (oleic acid, xenlulose, bột mầm lúa

mỳ...) chất bảo vệ chống nắng (than hoàng liên hoạt tính) chất tăng hiệu (sunphat đồng, sevin) và chất bám dính (bột xà phòng).

Mấy năm nay nhiều nước đều nghiên cứu vấn đề chất tổng hợp virus trừ sâu. Bởi vì dùng virus trừ sâu thường chỉ diệt 1 loài côn trùng. Nhưng trong rừng bao gồm quần xã sinh vật tổ thành nhiều loài sâu hại nên khó đạt được mục đích phòng trừ. Vì vậy phải kết hợp nhiều loài virus với thuốc trừ sâu. Trộn thêm thuốc hóa học thường làm tăng hiệu quả và được gọi là “thuốc trừ sâu virus”. Tuy nhiên một loài virus ảnh hưởng đến loài virus khác, nhưng chỉ cần một tỷ lệ thích hợp vấn đề ức chế này sẽ được giải quyết. Tanada (1956) đã trộn NPV với GV phòng trừ sâu keo châu Mỹ *Spodoptera flagaterda* kết quả LD_{50} cao hơn NPV gấp 56 lần, đồng thời rút ngắn thời gian ủ bệnh. Hiện nay người ta biết được trong GV có gen tăng hiệu là 1 loại phospholypid (SF).

(6) Ứng dụng virus côn trùng trong phòng trừ sâu hại

Virus côn trùng thường có 7 loài, ít nhất có 6 loài có những chỗ gần giống với virus gây bệnh động vật có xương sống và một ít thực vật. Song duy chỉ có virus hình que chỉ gây bệnh cho động vật không xương. Với lý do đó, Liên Hợp Quốc đề nghị dùng virus hình que làm quân thể duy nhất ngoài đồng ruộng để hạn chế bớt nguy hiểm sinh thái.

Nói chung đối với sâu hại rừng sử dụng có hiệu quả nhất là NPV ngài độc và CPV sâu róm thông. Hiện nay nhiều nước sử dụng virus phòng trừ các loài sâu hại cây ăn quả và thu được những hiệu quả rõ rệt. Năm 1986 ở Hà

Trung Thanh Hóa cũng sử dụng phương pháp này để phòng trừ sâu róm thông.

+ Ứng dụng CPV sâu róm thông đuôi ngựa

Năm 1976 người ta phát hiện CPV trên sâu róm thông đuôi ngựa. Năm 1977 ở Quảng Đông đã tiến hành thí nghiệm phòng trừ. Dùng dung dịch sâu chết ngoài rừng pha loãng 100 lần phun lên lứa 1 của sâu róm thông, sau 18 ngày tỷ lệ chết đạt 84%, mà đối chứng chỉ chết 5,9%. Năm 1978 ở Quảng Đông dùng để phòng trừ cho lứa thứ 2 với liều lượng 5,25kg (chế phẩm ướt)/ha hiệu quả phòng trừ đạt 79%, tỷ lệ chết khu đối chứng là 28%, rất nhiều sâu chết ở thời kỳ nhộng. Lợi dụng CPV phòng trừ sâu róm thông qua đông có tác dụng khuếch tán nhất định. Sau khi phun 17 ngày ngoài khu vực 50 m có thể thu thập được sâu chết hiệu quả như khu phun, tỷ lệ chết đạt 60%, khu đối chứng là 30%. Nếu thêm 1% than hoạt tính tỷ lệ chết còn thêm hơn 14%.

+ Ứng dụng NPV phòng trừ bọ sừng hại cây cọ

Bọ sừng hại cây cọ (*oryctes rhinoceros*) là một loài sâu hại dừa, cọ nguy hiểm. Trước đây không có biện pháp nào phòng trừ. Năm 1963 ở Malaysia phát hiện loài virus NPV trên chúng và xếp vào nhóm phụ C trong virus dạng que. Kinh nghiệm ứng dụng thành công là rắc chế phẩm lên sâu trưởng thành. Virus có thể xâm nhiễm sâu trưởng thành. Sâu trưởng thành thông qua thức ăn tổng hợp ăn mùn cưa, bột nghiền và sâu non bị bệnh mà bị nhiễm bệnh. Bọ sừng bị bệnh thông qua giao phối tiếp xúc virus mà lây bệnh. Sâu trưởng thành bị bệnh thường có tuổi thọ ngắn, lượng đẻ

trúng ít. Cho nên không ngừng thả sâu đục bị bệnh sẽ làm cho số lượng quần thể loài giảm hẳn. Nhập chế phẩm virus phòng trừ bọ sừng hại dừa giảm tổn thất tới 72-79%.

+ Ứng dụng GV phòng trừ ngài trời *Cacothoe* sp

Ngài trời cây lá rộng là loài sâu hại phổ biến trên thế giới, thức ăn tạp, có thể ăn trên 300 loài cây, phân bố rất rộng. Ở nước ta chúng có mặt và gây dịch cho cây trắc ở KonTum năm 1997. Sau trận dịch người ta phát hiện sâu non chết hàng loạt treo trên cây đó là hiện tượng chết do virus GV. Tại Trung Quốc người ta điều tra trong điều kiện nhiệt độ 25°C độ độc của sâu non tuổi 3 LC_{50} là 10^{-8} sử dụng phương pháp phòng trừ như trên dùng chế phẩm virus với độ độc 5×10^{-3} và 5×10^{-4} phun lên sâu non tuổi 3, tỷ lệ chết lên tới 95%. Gần 10 năm nay ở khu rừng trên đến nay không có sâu ngài trời gây hại là nhờ kết quả tác dụng của GV. Triệu chứng của bệnh côn trùng do GV gây ra rất dễ nhận biết thông qua nuôi sâu sống để phục chế chế phẩm virus GV là vấn đề cần làm và thay thế thuốc hóa học thu được hiệu quả cao. Chúng ta có thể áp dụng phương pháp trên để phòng trừ.

+ Ứng dụng NPV phòng trừ ngài độc ăn lá *Lymantria dispar* L

Ngài độc ăn lá rừng là một loài sâu hại phổ biến nhất trên thế giới, thức ăn rất tạp, chúng có thể ăn trên 500 loài cây, gây ra tổn thất lớn cho ngành Lâm nghiệp. Sau trận dịch thường gặp loài virus NPV lúc phát dịch mật độ sâu giảm xuống rõ rệt. Thông thường ta hay gặp loài ngài độc hại thông *Daxyschira axantha* Coll. ở các tỉnh miền Bắc

nước ta. Cần áp dụng phương pháp phòng trừ trên có thể thu được hiệu quả.

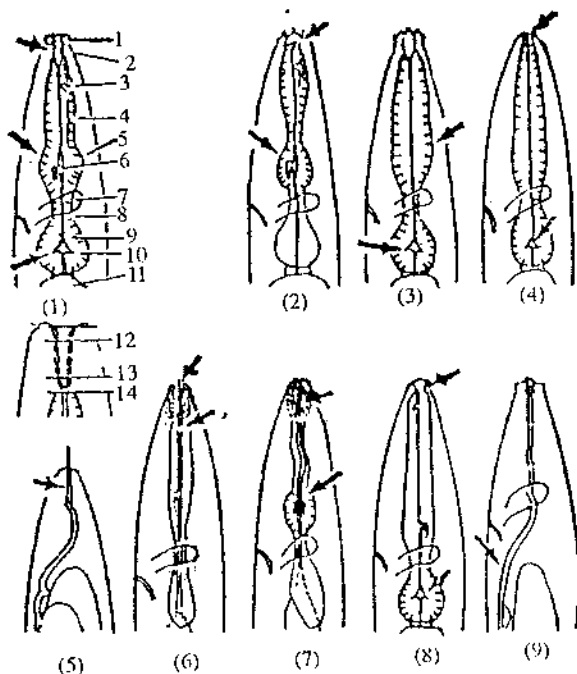
6. SỬ DỤNG TUYẾN TRÙNG KÝ SINH PHÒNG TRỪ SÂU HẠI

a) Đặc điểm chung

Năm 1972 Krieg đã phân lập được quần thể vi sinh vật tuyến trùng gây bệnh cho côn trùng. Tuyến trùng là một loại thiên địch quan trọng của sâu hại rừng. Tuyến trùng là một động vật thân mềm không phân đốt, thuộc ngành động vật hình sợi (Nematelminthes) lớp tuyến trùng (Nematoda). Thân hình sợi, bề mặt có màng kitin, không chia đốt, hai bên đối xứng (giun tròn), phần lớn đực cái khác nhau, chưa phát hiện được sinh sản vô tính. Trong vòng đời có hiện tượng lột xác, có xoang và hậu môn, đường tiêu hóa có ruột trước, ruột giữa và ruột sau; trong vòng đời có trứng, tuyến trùng non và tuyến trùng trưởng thành, tuyến trùng non qua 4 lần lột xác thành tuyến trùng trưởng thành. Quan hệ với côn trùng có 3 loại: ký sinh, cộng sinh và hợp cơ giới. Chúng thông qua đường tiêu hóa và da xâm nhập vào trong, trong máu hút acid amin và dinh dưỡng. Một số tuyến trùng mang vi khuẩn và virus vào côn trùng. Kích thước, hình dạng và số lượng tuyến trùng trong côn trùng khác nhau theo loài. Có thể chia ra 3 loại: tuyến trùng ký sinh trong đường tiêu hóa; tuyến trùng bán ký sinh và tuyến trùng ký sinh. Côn trùng bị tuyến trùng ký sinh thường biểu hiện mất màu hoặc phồng lên, sinh trưởng phát triển giảm, sinh sản giảm có lúc bên ngoài thay đổi hình dạng, như cánh ngắn lại.

b) Những loài chủ yếu

Tuyến trùng có 3142 loài thuộc 27 họ. Tuyến trùng liên quan với côn trùng có 5 tổng họ. Trong đó có 3 họ được sử dụng trong phòng trừ sâu hại là: Mermithidae, họ Spherularriidae, họ Steinernematidae.



Hình 16. Hình thái của các họ tuyến trùng

1. Rhavditidae; 2. Diplogasteridae; 3. Cephelobidae;
4. Streineruematidae; 5. Allantonemaridae; 6. Tylenchidae;
7. Aphaelenchodea; 8. Oxyuroidea; 9. Mermithidea

1. Mồm; 2. Xoang miệng; 3. Thực quản lưng; 4. Thực quản trước;
5. Thực quản sau; 6. Thực quản bụng; 7. Vòng thần kinh; 8. Thắt thực
quản; 9. Cầu thực quản; 10. Van; 11. Ruột; 12. Xoang miệng trước;
13. Xoang miệng giữa; 14. Xoang miệng sau

Đặc trưng chủ yếu của 3 họ đó như sau:

+ Họ Mermithidae

Thân dài 5-300mm. Trực tiếp xuyên qua da côn trùng vào cơ thể, sinh trưởng ở đó một thời gian chui qua da vật chủ rồi vào đất, phát dục thành tuyến trùng trưởng thành ở ngoài vật chủ, giao phối, đẻ trứng, khi tuyến trùng chui qua da làm cho côn trùng chết. Họ này xâm nhiễm 15 họ côn trùng thường thấy có châu chấu, ngài độc, sâu róm, kiến.

+ Họ Spherularridae

Trong xoang côn trùng phát hiện hàng ngàn vạn con tuyến trùng dài 0,5mm và 1 con dài 1-10mm. Tuyến trùng cái nở ngoài thân chui vào trong xoang để trứng tuyến trùng non thường phát triển ở trong mô sinh dục, làm cho vật chủ không đẻ trứng, sau một thời gian tuyến trùng non rời khỏi hậu môn vào trong đất biến thành tuyến trùng trưởng thành và giao phối. Vật chủ có bộ cánh màng, bộ 2 cánh, bộ cánh đều, bộ cánh vẩy.

+ Họ Steinernematidae

Loại tuyến trùng này thường mang theo vi khuẩn vào cơ thể côn trùng để gây bệnh, thân dài 0,2-6 mm, có khoảng 200 ngàn con trên một con sâu non. Trong đàn có 1 con dài 1-5mm. Tuyến trùng luôn luôn sinh sản trong xoang rồi nở thành tuyến trùng non trong xoang máu, sinh trưởng, giao phối, đẻ trứng.

c) Nuôi hàng loạt tuyến trùng ngoài cơ thể côn trùng

Nuôi hàng loạt tuyến trùng dùng để phòng trừ sâu hại là vấn đề quan trọng trong phòng trừ sâu hại rừng. Người ta đã

nuôi một số loài thuộc chi *Neoplectana* và *Heterorhabditis*. Bedding (1976) phát hiện tuyến trùng có loài vi khuẩn cộng sinh, vi khuẩn đó có thể làm môi trường nuôi tuyến trùng. Muốn phát triển hàng loạt phải có loài vi khuẩn đó.

+ Nuôi cá thể

Trong giống tuyến trùng nuôi thu được vi khuẩn cộng sinh (1) Phương pháp Boinar (1976) (2) Nghiền thành tương tuyến trùng xâm nhiễm bề mặt (3) Phân lập limfa máu côn trùng chọn vi khuẩn cộng sinh. Trong môi trường dinh dưỡng nuôi vi khuẩn trong dịch lên men chọn khuẩn lạc vi khuẩn cộng sinh đem nuôi ta được vi khuẩn thuần chủng, bảo quản trên mặt thạch nghiêng ống nghiệm ở nhiệt độ 12°C, mỗi tháng chuyển ống 1 lần. Để bảo đảm thuần chủng vi khuẩn nuôi cân bỏ vào điều kiện nhiệt độ thấp. Lấy 0, 5ml cấy vào môi trường thạch và thịt lợn lung nuôi trong thạch nghiêng. Nuôi trong 2 ngày ở nhiệt độ 20-30°C, chọn ra tuyến trùng rửa sạch chia ra cứ 50 con một đàn, ngâm vào dung dịch 0,1% Na S Hg, rửa sạch bằng nước cất, ngâm trong 0,1% dung dịch trên trong 2 giờ, rửa sạch 3 lần rồi bỏ vào ống nghiệm cho vi khuẩn xâm nhiễm cộng sinh, nuôi ở nhiệt độ 20-23°C. Khi tái sản xuất đến kết thúc mất khoảng 1 tháng, chỉ cần có tuyến trùng sống thì không cần bỏ vi khuẩn cộng sinh.

+ Nuôi dưỡng trong bình thủy tinh

- Chuẩn bị vật nuôi trong bình

Dùng mảnh xốp vụn kích thước 1-10cm³ dính môi trường nuôi, thả mẫn tuyến trùng di động. Môi trường tốt nhất cho tuyến trùng thuộc chi *Neoplectana* là 70% thịt lợn vai, 10% mỡ bò và 20% nước; đối với tuyến trùng chi *Heterorabditis* dùng 60% thịt lợn vai, 20% mỡ bò, 20% nước.

- Quá trình nuôi

Dùng thịt lợn nghiền nhỏ và 20% nước đảo đều thành tương, sau đó trộn với mỡ bò nóng chảy, đảo đều đổ vào các miếng xốp bỏ vào bình tam giác 500ml, mỗi bình 70g, nút bông, rồi bọc giấy Si, hấp khử trùng trong 1 giờ, để nguội dùng tay tách các miếng xốp.

Cấy môi trường có tuyến trùng vào bình, nuôi trong 4-6 tuần tuyến trùng sẽ sinh sản cho sản lượng cao.

Mồi đầu cấy vi khuẩn vào môi trường dịch men hoặc nước thịt bò, nuôi ở 20-30°C, mỗi bình khoảng 10ml lactic 1-2 ngày, sau đó cấy tuyến trùng lên miếng xốp, nuôi ở nhiệt độ 20-28°C, độ ẩm 90%, nuôi trong 2-3 tuần sẽ cho sản lượng cao.

- Thu hoạch tuyến trùng.

Thông qua phễu lọc Baerman để lắng đọng 2-3 lần tuyến trùng được chọn lọc có thể sử dụng hoặc cất trữ.

Môi trường nuôi có thể có nhiều loại. Viện nghiên cứu động vật Quảng Đông đã dùng môi trường: bột ngô 20%, cao thịt bò 0,25%, pepton 0,5%, xốp 5%, nước 74,5%. Cũng có thể dùng bã mía, trấu thay thế. Sản lượng tuyến trùng trên 1 gam môi trường lên tới 20.000 - 30.000 con. Một số loài như *N.glaseri*. *N.carpocaspae*... có thể lên tới 70.000-110.000 con.

d) Ứng dụng tuyến trùng phòng trừ sâu hại

Nhiều nơi đã sử dụng tuyến trùng phòng trừ sâu hại với các loài: mối, sâu đo chèn, sâu đục quả lê. Kết quả cho thấy chúng có tác dụng gây chết với nhiều loài sâu hại.

Trong phòng trừ sâu hại rừng còn ít thông tin về sử dụng tuyến trùng.

Tại nhiều nước như Mỹ, Australia, Trung Quốc đã nhập nội 11 loài tuyến trùng và thí nghiệm chứng minh các loài côn trùng đều thể hiện tính nhạy cảm khác nhau và hiệu quả rất ổn định.

Thông thường người ta đã sử dụng tuyến trùng DD-136 (*Neoplectana carpocapsae*) ký sinh trên 1000 loài côn trùng, cơ chế diệt sâu của chúng liên quan với loài vi khuẩn *Achromobacter nematophylus*. Chúng ở trong thân tuyến trùng, sau khi tuyến trùng chui vào sâu non tuổi 3, vi khuẩn cũng vào theo, khi tuyến trùng vào vách ruột để vào xoang máu, tuyến trùng bài tiết qua đường tiêu hóa vào máu côn trùng, trong 24 giờ vi khuẩn gây bệnh cho côn trùng. Tỷ lệ sâu chết đều đạt 80-90% đối với nhiều loài sâu hại.

Tuyến trùng (*Deladenus spp.*) ký sinh ong đục cây thuộc chi *Sirex* cũng đã được nghiên cứu để phòng trừ. Trên ong đục cây có 2 loài nấm cộng sinh (*Amylostereum spp.*) do ong đục cây mang đến. Mỗi khi ong bắt đầu hóa nhộng, hệ thống sinh dục bắt đầu chín muồi, mỗi tuyến trùng cái hình thành mấy ngàn trứng, mặc dù trứng nở trong cơ thể nhưng tuyến trùng non bò ra ngoài thân nhộng sâu, ở đó hoặc chúng ăn trứng của nhộng hoặc ăn dịch hoàn của nhộng đục. Tuyến trùng này có khả năng làm cho sâu bắt thụ. Tuy nhiên một số sâu còn sống sót mang theo nấm để nuôi tuyến trùng tiếp tục sinh trưởng phát triển thành tuyến trùng trưởng thành. Khi sâu non của ong tồn tại tuyến trùng non lại trở thành vật xâm nhiễm sâu non ong đục cây, bắt đầu một chu kỳ sống của lứa sau.

7. SỬ DỤNG ĐỘNG VẬT NGUYÊN SINH PHÒNG TRỪ SÂU HẠI

a) Đặc trưng và phân loại động vật nguyên sinh

+ Đặc trưng động vật nguyên sinh

Động vật nguyên sinh là vi sinh vật đơn bào, kết cấu tế bào giống như tế bào động vật bậc cao, như màng tế bào, tế bào chất và 1 hoặc nhiều nhân. Phương thức dinh dưỡng của động vật nguyên sinh có 3 loại: (1) Dinh dưỡng thực vật (2) Dinh dưỡng động vật (3) Dinh dưỡng hoại sinh. Nguyên sinh động vật ký sinh trong côn trùng phần lớn thuộc phương thức hoại sinh, nghĩa là dựa vào tác dụng thẩm thấu hút chất dinh dưỡng trong cơ thể côn trùng thông qua bề mặt của tế bào động vật nguyên sinh.

Sinh sản của động vật nguyên sinh bao gồm sinh sản vô tính và sinh sản hữu tính. Sinh sản vô tính có mấy hình thức: phân đôi, phân nhiều và mọc mầm. Phần lớn động vật nguyên sinh ký sinh sinh sản theo phân chia nhiều, nghĩa là nhân tế bào chia ra nhiều nhân mới sau đó phân chia tế bào, mỗi nhân mang tế bào chất, cuối cùng hình thành nhiều cá thể mới. Phương thức sinh sản hữu tính có hai loại: loại giao phối và loại tiếp hợp. Sinh sản giao phối là hai phôi đồng hình hoặc khác hình tiếp xúc nhau và phát triển thành cá thể hay hợp tử mới, hợp tử lại phân chia hình thành nhiều cá thể. Sinh sản tiếp hợp là hai phôi không tiếp xúc nhau mà chỉ trao đổi một phần nhân và tế bào chất, sau đó tách ra mà phân chia tế bào. Phần lớn động vật nguyên sinh gây bệnh côn trùng sinh sản hữu tính theo kiểu sinh sản giao phối, chỉ có trùng roi tiến hành sinh sản tiếp hợp.

Hầu hết động vật nguyên sinh ký sinh chỉ sống trong tế bào sống, thông qua miệng vào trong ruột, cổ lúc thông qua trứng để lây lan hoặc thông qua các côn trùng ký sinh hoặc ăn thịt để lây lan. Tác dụng của chúng đối với vật chủ khá chậm. Côn trùng chết nhanh thường là do sự xâm nhiễm cộng hưởng của các vi sinh vật khác. Cho nên nguyên sinh động vật gây bệnh côn trùng thường biểu hiện giảm sức sống, sức sinh sản, rút ngắn tuổi thọ và phản ứng kích thích đối với môi trường chậm chạp.

+ Phân loại động vật nguyên sinh

Ngành động vật nguyên sinh có khoảng 35.000 loài, được chia ra 5 ngành phụ. Nhóm trùng lông roi và chất thịt nhập vào loại trùng chân lông (*Sarcomastigophora*), trùng bào tử chia ra trùng bào tử thật (*Apicomplexa*) trùng bào tử nhậy (*Myxospora*) và trùng vi bào tử (*Microspora*), loại lông roi lại thuộc về trùng roi (*Ciliophora*). Trong những ngành phụ này trùng vi bào tử và trùng bào tử thật bao gồm các trùng nguyên thủy gây bệnh cho côn trùng. Trùng chân lông và trùng bào tử nhậy không gây bệnh cho côn trùng.

- Trùng vi bào tử gây bệnh côn trùng

Trùng vi bào tử (*Microspora*) là ngành phụ động vật nguyên sinh gây bệnh côn trùng quan trọng nhất, ứng dụng để phòng trừ sâu hại có nhiều triển vọng.

Trùng vi bào tử là ký sinh vật chuyên ký sinh trong tế bào, tổng số có 500 loài, ký sinh trên côn trùng chiếm 40%, phần lớn thuộc bộ cánh màng, bộ hai cánh, bộ cánh cứng.

Đặc điểm của trùng vi bào tử là hình thành bào tử đơn bào có sợi mảnh bên trong. Bào tử hình trứng, hình bầu dục

hoặc quả lê, kích thước $3-8 \times 1-3\mu\text{m}$, bên ngoài có 3 tầng vỏ bao bọc, tầng giữa dày có chất kitin; tầng ngoài có protein, tầng trong là màng chất nguyên thủy. Sợi cực là những ống dài cấu tạo thành dạng tán, gắn với vỏ bào tử. Khi bào tử nảy mầm, áp suất bên trong tăng cao, một phần lõi ra ngoài vỏ, cuối cùng làm cho các sợi cực lật ngược lại. Do áp lực trong bào tử tầng màng hình thành và bào tử hình thành hút nước và phình lên. Sợi cực sau khi lật ngược dài 20 - 400 μm .

- Vòng đời và phân loại trùng vi bào tử

Trùng vi bào tử bị sâu nuốt vào, nảy mầm trong ruột giữa. Bào tử có thể thông qua trứng sâu hoặc thông qua ống đẻ trứng của sâu ký sinh bộ cánh màng lây lan. Trước khi nảy mầm trong bào tử phải trải qua một loạt biến đổi. Sau khi xuyên qua thượng bì ruột giữa chui vào tế bào nhờ sợi cực của bào tử. Sau khi vào xoang máu thể mầm nhờ tác dụng nuốt tiến sâu vào tế bào rồi tiến hành sinh sản theo kiểu phân chia nhân và phân chia tế bào chất. Thể phân chia thường có hai loại tùy theo loài, có loại nhỏ và loại to. Trong tế bào chất thường không có ty thể. Nhân thuộc nhân thật hình cầu hoặc trứng tròn, cũng có một số loài hình bán cầu có 2 nhân.

Kết thúc kỳ sinh sản dinh dưỡng, bắt đầu hình thành bào tử, màng tế bào dày lên mà thành tế bào mẹ.

Vòng đời của trùng vi bào tử được chia ra 3 giai đoạn: bào tử, mầm bào tử và tế bào mẹ của mầm bào tử. Tiêu chuẩn phân loại trùng vi bào tử là quá trình hình thành bào tử khác nhau. Có loại phân chia nhân cùng với phân chia tế bào chất, nhưng hầu hết phân chia nhân nhiều lần thành

nhiều nhân rồi mới phân chia tế bào chất. Kết quả hình thành 4, 8, 16... bào tử. Dựa vào hình dạng bào tử, số bào tử hình thành, số nhân trong bào tử và số màng mầm bào tử mà chia ra nhiều chi khác nhau.

+ Sản xuất và bảo tồn trùng vi bào tử

- Phương pháp sản xuất trùng vi bào tử

Hiện nay phương pháp sản xuất trùng vi bào tử vẫn nuôi trên sâu sống. Thông thường người ta sản xuất loài *Vairimorpha necatrix* (V.n).

Loài V.n được sử dụng nhiều, bởi vì phạm vi vật chủ rộng trong mô mỡ vật chủ có thể sản xuất bào tử, hiệu quả sử dụng cao, năng lực hình thành bào tử lớn, có khả năng bảo tồn. Hiện nay ở Mỹ dùng sâu keo hại bông để sản xuất trùng vi bào tử V.n. Phương pháp sản xuất như sau:

Nuôi sâu hại bông trong nhiệt độ 27°C, trong cốc nhựa 30ml. Bào tử V.n thu được từ sâu hại bông, thuần hóa chúng bằng lọc qua bông rồi cho vào nước cất thuần hóa bằng máy ly tâm. Pha loãng dung dịch nước cốt với các nồng độ bào tử khác nhau. Mỗi một bình nhựa (có 1 sâu non) nuôi trực tiếp bằng dịch bào tử với lượng 0,05ml. Nếu dùng liều lượng 6,6 bào tử/mm² (0,06ml × 110 bào tử/ml) xử lý sâu non hại bông nuôi trong 15 - 20 ngày ta sẽ có lượng bào tử là $1,67 \times 10^{10}$ bào tử/ sâu non hoặc 3×10^{10} bào tử/g vật chủ. Những sâu này phình lên, tuy một số sâu non chết hoặc hóa nhộng ở tuổi 5, nhưng 50% sâu non bị nhũn đen nặng hơn đối chứng. Tạo ra chế phẩm phun lên cây có sâu ăn, thông thường dùng để trừ sâu non tuổi 3, nếu

dùng thêm HgCl_2 hiệu quả có thể đạt 100%, để thu được nhiều bào tử những sâu non được xử lý.

- Phương pháp bảo quản bào tử

+ Thuần hóa bào tử. Để thu được bào tử thuần chủng cần phải dùng cách lọc 4 tầng vải thô rồi qua máy ly tâm lại qua lọc qua máy ly tâm cao tốc.

+ Bảo quản bào tử. Dùng nước côn trùng nghiền xác, để trong tủ lạnh -15°C , qua 23 tháng, tỷ lệ bị bệnh vẫn đạt được 100%.

- Ứng dụng trùng vi bào tử trong phòng trừ sâu hại

Một số động vật nguyên sinh phát huy tác dụng phòng trừ sâu hại rất lớn, một số có tác dụng hạn chế số lượng sâu hại. Thực tiễn chứng minh nhân tố quan trọng để bảo đảm thành công là lây lan bệnh (bao gồm lây lan cho thể hệ sau và lây lan bào tử). Ngoài tác dụng làm cho côn trùng chết chúng còn có tác dụng làm giảm khả năng sinh sản của vật chủ. Những loài có tác động lớn trong phòng trừ sâu hại là: *Thelohania hyphanivillae*, *Nosema melolothae*, *Glugea pyraustae*, *Glugea gasii*, *Haplosporidium tyographi*.

Đối với sâu hại rừng rất ít tài liệu thông báo về lợi dụng động vật nguyên sinh. Một số loài được sử dụng là loài *Glugea fumiferanae* dùng để phòng trừ sâu cuốn lá vân sam (*Choristoneura fumifera*) vào năm 1963, tỷ lệ bị bệnh từ 37-56% đối với sâu non tuổi 2. Loài *Thelophania hyphantriae* dùng để phòng trừ ngài trắng Mỹ (*Hyphantria cunea* Drury) tỷ lệ sâu non chết sau 4 tuần đạt 100%.

Ngoài ra người ta dùng *Plistophora schubergi* phòng trừ ngài độc trước khi qua đông, hiệu quả tốt.

III. MỘT SỐ VẤN ĐỀ VỀ LÀM TĂNG HIỆU QUẢ PHÒNG TRỪ SÂU BẰNG VI SINH VẬT

1. SỰ LÂY LAN CỦA VẬT GÂY BỆNH

Sự lây lan là chỉ sự phân bố không gian của vật gây bệnh, sự kéo dài là chỉ sự phân bố theo thời gian của vật gây bệnh. Trong khoa học dịch bệnh nguồn bệnh truyền từ lứa này sang lứa khác được gọi là *lây lan thẳng đứng*, nguồn bệnh lây lan trong không khí, nước, thức ăn truyền từ côn trùng này sang côn trùng khác được gọi là *lây lan nằm ngang*.

Sự lây lan của vật gây bệnh được bắt đầu từ sự xâm nhiễm trên vật chủ rồi lan rộng trong quần thể.

+ Sự lây lan chủ động

Vi sinh vật gây bệnh côn trùng khác với côn trùng ký sinh và bắt mồi ở chỗ, chúng không chủ động đi tìm vật chủ, không lây lan chủ động. Dù tuyến trùng có thể tìm vật chủ nhưng bản thân tuyến trùng không biết côn trùng ở cách chúng bao xa, virus hoàn toàn không thể vận động được, nấm phải nhờ nước và gió để lây lan. Khác với bệnh hại thực vật sự lây lan thẳng đứng thường tiêu hao ít lượng vật gây bệnh và hiệu quả cao hơn lây lan nằm ngang.

+ Sự lây lan nhờ nhân tố khí tượng và vật lý

Nhiều loài nấm lây lan nhờ gió và dòng không khí ảnh hưởng của gió từ trung tâm phát bệnh khuếch tán đến vật chủ với tốc độ và phạm vi khác nhau. Ví dụ nấm bạch cương gây bệnh trên sâu róm thông muốn lan rộng 500m phải có lượng bào tử gấp 3-4 lần. Trong thời kỳ ủ bệnh côn trùng bay đi xa có thể lây xa NPV. Một số côn trùng khi bị bệnh virus và mốc sâu bò lên ngọn cây nhờ mưa gió mà lây cho sâu phía dưới.

+ Sự lây lan nhờ côn trùng

Sự vận động của côn trùng là điều kiện cho vật gây bệnh lây lan. Một con ong ăn lá, mỗi lần đẻ 1 trứng là bay đi, tạo điều kiện để lây nhiễm bệnh virus, làm nguồn lây nhiễm bệnh NPV đến các vùng khác. Vì vậy chỉ cần nhập virus đến một khu vực nhỏ có thể lây bệnh làm tăng hiệu quả phòng trừ. Tuy nhiên chỉ có ong cái lây bệnh và chỉ đẻ 1 trứng nên lây lan chậm. Thả ong bị bệnh là phương pháp đã được áp dụng thành công ở một số nước Nam Thái Bình Dương. Một số loài côn trùng mang nấm bệnh truyền đi xa mấy km. Nấm mốc ve sâu *Massospora cicadina* có thể mang bào tử đầy bụng chúng đi xa 3km. Sâu bị bệnh virus là vật lây lan có hiệu quả. Mật độ càng cao khả năng lây bệnh càng lớn. Ví dụ nấm bạch cương thường gây bệnh nhiều sau các trận dịch sâu hại.

+ Sự lây lan nhờ các sinh vật môi giới

Các côn trùng bắt mồi, côn trùng ăn xác sâu, chim và động vật có vú loại nhỏ phần lớn là không bị bệnh. Nhưng

sau khi ăn thông qua đường tiêu hóa tiết ra vật gây bệnh (virus, vi khuẩn, bào tử nấm). Các loài ruồi hút xác côn trùng thường mang theo nguồn bệnh. Người ta quan sát trong rừng cây lá rộng bị ong gây hại, có nhiều sâu non chết do virus, xuất hiện rất nhiều ruồi trong 1 giờ trên 1 lá cây có khoảng 50 con hút xác sâu bị bệnh. Trong rừng thông rất nhiều ruồi chủ động liếm xác sâu bị bệnh trong quần thể sâu róm thông khi có dịch bệnh NPV trong rừng có khoảng 55-85% bị nhiễm bệnh do ruồi ký sinh và ruồi ăn thịt. Ngoài ra người ta điều tra trong rừng có các loài chim làm môi giới lây lan NPV xa đến hàng chục kilomet.

+ Đặc điểm lây lan của các nguồn bệnh khác nhau

Phương thức lây lan và con đường lây lan của vật gây bệnh côn trùng rất khác nhau, từ đó ảnh hưởng đến sự phát sinh cường độ gây bệnh. Một số loài như vi khuẩn B.t, B. p không thể xâm nhiễm và ủ bệnh trong cơ thể côn trùng. Cho nên chúng không thể truyền cho thế hệ sau theo kiểu lây lan thẳng đứng, trong kỳ sống côn trùng không bài tiết vật gây bệnh, xác côn trùng trước lúc bị chết không thể truyền cho thế hệ sau. Cho nên trong tự nhiên chúng ta rất ít gặp dịch bệnh do vi khuẩn B.t.

Sự lây lan bệnh do nấm gây ra lây lan nhanh hơn vi khuẩn và virus. Thông qua gió và không khí đưa bào tử đến sâu khác nảy mầm xâm nhiễm rồi hình thành bào tử, tạo nên vòng xâm nhiễm kín lặp đi lặp lại mà thành dịch bệnh. Đặc điểm của virus số lượng hạt virus trên một con sâu nhiều hơn nhiều so với các vật gây bệnh khác thông qua

nhiều con đường để lây lan, nên trong tự nhiên ta thường gặp sâu bị chết do virus.

2. SỰ KÉO DÀI THỜI GIAN CỦA VẬT GÂY BỆNH

Vật gây bệnh tồn tại lâu dài để gây bệnh trong điều kiện thích hợp là cơ sở của việc gây dịch bệnh cho côn trùng. Đối với bản thân vật gây bệnh phải có 3 khả năng: (1) Có sức đề kháng với điều kiện bất lợi. (2) Có khả năng sinh sản không ngừng (3) Có khả năng xâm nhiễm. Điều kiện môi trường là nhân tố quan trọng ảnh hưởng đến sự kéo dài của vật gây bệnh.

+ Sức đề kháng của vật gây bệnh

Trong vòng đời của vật gây bệnh, nấm có kết cấu vách dày, hoặc bào tử ngủ, nảy mầm chậm... Vi khuẩn B.t có bào mầm để đề kháng và chúng có thể tồn tại trong tự nhiên mấy năm. Bào tử nấm sữa nảy mầm rất chậm trong điều kiện khô hạn vẫn còn sức sống. Động vật nguyên sinh thường có nang bào (cyst), tuyến trùng thường có vỏ bao ngủ nghỉ trong nhiều năm vẫn không bị phá hoại. Thể vùi của virus là một protein, nhưng trong đất lại có thể bảo tồn được nhiều năm, không hề bị các nhân tố vật lý hoặc vi khuẩn làm hỏng.

+ Sự tăng sản của vật gây bệnh

Nếu chỉ dựa vào sức đề kháng của vật gây bệnh để kéo dài thời gian vẫn chưa đủ, chúng phải liên tục sinh sản. Vật gây bệnh muốn sinh sản phải có các điều kiện về vật chủ, côn trùng và điều kiện môi trường. Phương thức kéo dài của

chúng thường có 3 loại: (1) Sau khi xâm nhiễm vào côn trùng lại có thể tái xâm nhiễm, qua đông, qua hạ trên cùng một lứa sâu (2) Sau khi sinh sản trên côn trùng nếu không gặp vật chủ có thể sống hoại sinh trong đất, chờ cơ hội xâm nhiễm vào côn trùng mới. (3) Sau khi sinh sản trên côn trùng nếu không gặp vật chủ thì phải có vật chủ trung gian. Ví dụ nấm *Coelomomyces* gây bệnh cho muỗi, sau đó gây bệnh cho vật chủ trung gian là loài động vật chân đốt (bọ chét nước) để hoàn thành vòng đời của nấm.

+ Xâm nhiễm có tính ủ bệnh lâu dài

Xâm nhiễm có tính ủ bệnh lâu dài là có thể kéo dài cuộc sống của chúng trong cơ thể côn trùng, là một phương thức kéo dài có hiệu quả. Bệnh virus và động vật nguyên sinh thường gây bệnh theo kiểu này. Chúng lập quan hệ ký sinh ổn định, cân bằng trong cơ thể côn trùng. Hiện tượng này khá phổ biến. Người ta phát hiện NPV đối với ngài may áo lưới, ngài thuyền đốm trắng *Clostera* có tính ẩn trong côn trùng một thời gian dài. CPV có thể tiềm ẩn trong tầm nhá, sâu đo vân trắng, sâu đo thông, bướm phấn. Một số loài virus gây hại cho côn trùng rất lớn, nhưng trong tự nhiên chúng phải lập quan hệ ký sinh với một số vật chủ khác không bị tổn hại mấy, như vậy mới có thể sinh tồn, có lúc chúng còn truyền qua trứng rồi đến thế hệ sau.

+ Ảnh hưởng của môi trường đến sự kéo dài thời gian của vật gây bệnh côn trùng

Điều kiện môi trường là nhân tố quan trọng ảnh hưởng đến sự kéo dài thời gian của vật gây bệnh. Tia tử ngoại có

thể diệt hết nhiều vật gây bệnh. Nhiệt độ cao của mùa hè có thể là nguyên nhân làm vật gây bệnh bị chết. Xác sâu bị bệnh thường là môi trường tốt để tồn tại. Có người thí nghiệm loài nấm *Nomuraea rileyi* gây bệnh cho côn trùng hình thành bào tử vào tháng 1; đến tháng 9 sau khi thu thập sâu sống về vẫn phát hiện thấy bào tử trên sâu. Virus gây bệnh trong cơ thể côn trùng không bị ánh nắng có thể bảo tồn lâu dài, nhiều thí nghiệm chứng minh pha loãng dịch nghiền sâu chết do virus vẫn có thể gây bệnh. Xác sâu là môi trường bảo tồn vật gây bệnh.

Có thông báo cho biết, nhện ăn phải bào tử phân sinh và bào tử ngủ của nấm bạch cương và nấm mốc sâu, nhưng vỏ bào tử của nấm *Melanospora parasitica* lại ký sinh lên nấm bạch cương, nấm mốc sâu và nấm trùng thảo (*Cordiceps militaris*). Những nấm này tồn tại ở các nước châu Âu. Như vậy nấm bạch cương và nấm mốc sâu có hiện tượng ký sinh lặp, ảnh hưởng đến sự kéo dài thời gian của các loài nấm gây bệnh côn trùng.

3. DỊCH BỆNH CÔN TRÙNG

a) Quá trình phát sinh phát triển của dịch bệnh côn trùng

Về hình thức biểu hiện, trong thời gian dịch có thể chia khu dịch ra làm 4 loại:

+ Sau khi tỷ lệ chết đến đỉnh cao, do tác dụng của sự kéo dài bệnh và tái xâm nhiễm dịch có thể kéo dài.

+ Một số bệnh dịch kéo rất dài lập quan hệ ký sinh chậm, sau đó ổn định và kéo dài, nhiều địa phương thường có hiện tượng này.

+ Khi côn trùng bị bệnh tỷ lệ sâu chết rất nhiều, dịch bệnh nhanh, chỉ trong vòng 1-2 tuần, sau đó giảm dần xuống.

+ Một số bệnh phải tích lũy bào tử mới gây dịch nên dịch lên chậm, nhưng khi dịch đã đạt đến đỉnh cao mật độ sâu hạ xuống dần.

Nguồn bệnh khác nhau thời gian biểu hiện dịch bệnh khác nhau. Ta có thể lợi dụng phối hợp chúng với nhau để tạo ra điều kiện có lợi nhất cho phòng trừ. Ví dụ virus NPV thể hiện cấp tính, còn CPV thể hiện mãn tính. Phối hợp 2 loài đó ta sẽ nâng cao tỷ lệ nhiễm bệnh cho sâu hại.

b) Tính chu kỳ của dịch bệnh

Trong rừng sự phát dịch của sâu hại và dịch bệnh luôn biến động, số lượng quần thể loài có tính chu kỳ. Nhận thức được tính chu kỳ này ta có thể xây dựng mô hình dịch bệnh. Bắc Mỹ có dịch ngài độc sam 7-10 năm một lần. Sau khi phát dịch 1-3 năm mật độ giảm xuống rất thấp, chứng tỏ NPV có tác dụng rất quan trọng. Tại Nhật Bản ngài độc trong rừng 6 -7 năm phát dịch sâu hại 1 lần và kéo dài 2-3 năm, mật độ sâu tăng lên đến đỉnh cao đồng thời là lúc xuất hiện NPV, dịch sâu giảm xuống. Dịch bệnh côn trùng có tính chu kỳ phải có mấy điều kiện sau:

- Luôn luôn tồn tại nguồn xâm nhiễm như nấm bạch cương, nấm mốc sâu, virus trong đất.

- Đường lây lan dễ thực hiện, ví dụ virus NPV trong đất thông qua bụi đất bay lên trong không khí mà lên trên cây.

- Có đủ mật độ sâu bị nhiễm bệnh. Ví dụ dịch sâu hại làm cho mật độ sâu tăng. Tạo ra môi trường thiếu thức ăn và tăng trao đổi chất, làm giảm khả năng miễn dịch của quần thể loài.

Dịch bệnh thường dễ được phát hiện, nhưng kỳ phát dịch và thời gian phát dịch có tần số thấp. Chúng luôn luôn phụ thuộc vào mật độ sâu và điều kiện môi trường. Ví dụ nấm mốc sâu bọ hung (*Erynia brahmia*) xâm nhiễm vào bọ hung cổ ngắn (*Heplophylla brevicollis*) trong mùa mưa chỉ thời gian ngắn đã hoàn thành 1 vòng đời và tránh được bệnh, nhưng qua mấy lần tái xâm nhiễm bọ hung có thể bị dịch bệnh.

Do kỳ dịch sâu hại và dịch bệnh của sâu hại có tính chu kỳ, nên khi áp dụng các biện pháp phòng trừ sâu hại không chỉ chú ý đến hiệu quả phòng trừ năm đó mà còn phải chú ý đến ảnh hưởng của tính chu kỳ. Ví dụ sâu ngài độc bụng đỏ *Euproctis chrysorrhoea* ở Nhật Bản có lịch trình phát dịch vào các năm 1930, 1937, 1943, 1950, 1957, 1963. Năm 1963 đã dùng thuốc 666 để phòng trừ, kết quả là mất quy luật chu kỳ, đáng lẽ phải đến năm 1970 sẽ có dịch, nhưng đến năm 1966 đã xảy ra trận dịch. Thuốc hóa học đã phá vỡ quy luật chu kỳ, làm cho sâu phát dịch sớm hơn.

c) Mật độ quần thể loài và dịch bệnh côn trùng

Mật độ quần thể sinh vật và điều kiện tồn tại của sinh vật thường liên quan chặt chẽ với nhau. Thân thể côn trùng

nhỏ, tuổi thọ ngắn, nhiều lứa, sức sinh sản mạnh. Những loài đó mật độ cao không những gây hại cho cây, thậm chí gây ra hiện tượng thiếu thức ăn, do tự trao đổi chất nhiều mà phá huỷ môi trường sống của bản thân chúng. Vi sinh vật gây bệnh côn trùng càng bé sinh sản càng nhanh, ví dụ vi khuẩn 20 phút sinh sản 1 lần, sau 10 giờ đã có số lượng mấy nghìn tỷ. Một con sâu non hại bông đã có thể chứa $1,67 \times 10^{10}$ bào tử. Số lượng virus càng nhiều hơn, trong thân một sâu non ong ăn lá thông virus có thể sinh sản $1,65 \times 10^{11}$ thể đa diện. Số lượng nhiều, sinh sản nhanh là nguyên nhân không chế quần thể sâu hại.

Một quần thể sinh vật trong môi trường có hạn thường tăng sản theo mô hình Logistic. Thực vật là môi trường thức ăn có hạn của côn trùng, côn trùng lại là môi trường có hạn của vi sinh vật.

Trong quá trình dịch bệnh vật gây bệnh thường phát sinh khi mật độ quần thể sâu hại cao, khả năng miễn dịch kém. Cho nên đường cong của vật gây bệnh thường muộn hơn đường cong của vật chủ. Cho nên trong điều kiện thích hợp sớm hay muộn quần thể sâu hại sẽ bị khống chế. Quần thể sâu bị bệnh là quần thể thứ 3 độc lập với sâu gây dịch và bệnh dịch sâu. Sự tăng trưởng của nó theo một số lượng nhất định.

Do vật gây bệnh không đi tìm vật chủ nên dịch bệnh côn trùng có xảy ra hay không phụ thuộc vào xác suất tiếp xúc giữa côn trùng và vật gây bệnh. Nói chung trong một khoảng không gian mật độ vật chủ càng cao, xác suất tiếp

xúc càng lớn, dịch bệnh có thể xảy ra. Ngược lại có khi người ta sử dụng một loại thuốc hóa học nào đó diệt chúng trước khi phát dịch sâu, mật độ sâu giảm xuống, dịch bệnh cũng ngừng lại.

Xác suất tiếp xúc cao hay thấp còn quyết định bởi kiểu phân bố trong không gian của quần thể vật chủ. Phân bố hạt nhân và phân bố nhị thức âm gây ra mật độ cao cục bộ, cho nên dịch bệnh dễ xảy ra hơn kiểu phân bố Poisson và phân bố đều. Soper và Macleod (1981) cho rằng kiểu phân bố quần thể loài có ảnh hưởng lớn hơn nhiều so với bản thân mật độ sâu. Nhiều nhà khoa học cho rằng đặc trưng của dịch bệnh côn trùng xảy ra trước hết là tính tụ đàn của côn trùng. Một sâu non sống đơn độc, sau khi dịch bệnh đã xảy ra có một lần ở đỉnh cao, trong điều kiện thức ăn đầy đủ cũng có thể bảo tồn với số lượng cao. Những nơi đó, dù cho về sau vẫn có sâu non các lứa tuổi bị chết, nhưng các lứa sau mật độ sâu vẫn cao.

Hiện tượng tụ đàn trong một giai đoạn sống của côn trùng là thời cơ tốt nhất để lây bệnh. Ví dụ loài sâu non sâu xám ngô tập trung 60-80% vào nhị hoa cái, nếu trong đó có 1 sâu non bị bệnh có bào tử trong xác phân tiếp xúc là đã trở thành nguồn lây bệnh.

Vật gây bệnh sinh sản trên cơ thể sâu nên phân bố của chúng phụ thuộc vào phân bố của côn trùng, ví dụ nấm bạch cương lây lan nhờ gió. Cho nên sâu hại lá và thân thường bị bệnh này. Những loại vật gây bệnh sống trong đất thường bị hạn chế lây lan. Sự lây lan vật gây bệnh không

liên quan với mật độ là những vật gây bệnh truyền qua ống sinh dục lây qua trứng sâu.

d) Mối quan hệ dịch bệnh sâu hại với côn trùng ký sinh

Dịch bệnh do vi sinh vật gây ra và tác dụng ký sinh của côn trùng ký sinh đều là nhân tố quan trọng làm giảm số lượng quần thể loài sâu hại. Dịch bệnh thường phát sinh khi mật độ sâu cao, xảy ra dịch nhanh và có thể khống chế rất mạnh làm cho mật độ sâu đến mức rất thấp. Nhưng côn trùng ký sinh thường phát huy tác dụng khi mật độ sâu ở mức trung bình hoặc mức thấp, tác dụng chậm, chỉ có tác dụng khống chế ở mức nhất định. Điều này rất quan trọng để sử dụng thiên địch sâu hại. Tuy nhiên trong tự nhiên chúng bổ sung hỗ trợ cho nhau, thông thường sau mật độ sâu cao là bệnh côn trùng sau đó là côn trùng ký sinh. Động vật thiên địch cũng có tác dụng khống chế khi mật độ sâu hại thấp. Khi phân tích nguyên nhân chủ yếu của sự biến động quần thể loài Varlay (1970) giải thích (1) Lúc đầu tỷ lệ chết không cao nhưng là một nhân tố khống chế nhạy cảm nhất, mật độ sâu tăng lên rồi giảm xuống; (2) Sau khi tỷ lệ chết do bệnh lên đến đỉnh cao rồi mới xuất hiện tỷ lệ chết do ký sinh.

Mối quan hệ dịch bệnh côn trùng và côn trùng ký sinh khá phức tạp.

Bệnh dịch côn trùng không chỉ có tác dụng diệt sâu hại mà không gây mâu thuẫn với côn trùng ký sinh. Thậm chí

người ta dự đoán năm sau sẽ làm tăng số lượng thiên địch ký sinh.

e) Chất lượng quần thể

Quần thể loài (population) là tập hợp nhiều cá thể. Clark nêu ra khái niệm về phân loại sinh vật cho rằng tổng thể của vật chất di truyền quần thể do kiểu gen cá thể tổ thành, dưới tác dụng của nhân tố môi trường cùng cấu tạo thành chất lượng quần thể (population quality). Chất lượng quần thể có những đặc trưng sau: số lượng (mật độ) và động thái số lượng, giới tính, độ tuổi, tỷ lệ sinh sản, tỷ lệ tử vong, sự khuếch tán và tụ đàn, đặc biệt là quần thể loài có khả năng tự điều chỉnh mật độ theo điều kiện môi trường. Chất lượng quần thể loài tốt hay xấu thể hiện mức độ sức khoẻ và khả năng chống chịu bệnh,

+ Đặc tính chống chịu bệnh của quần thể côn trùng

Tính chống chịu bệnh của quần thể côn trùng biểu hiện ở khả năng chống dịch bệnh và mật độ sâu phục hồi sau khi bị dịch bệnh. Dịch bệnh là bệnh của một quần thể. Không thể lấy tính miễn dịch của một cá thể để giải thích cho tính chống chịu dịch bệnh quần thể.

Khả năng gây bệnh và quần thể vật gây bệnh dẫn đến dịch là hai hàm nghĩa khác nhau. Vi khuẩn B.t có khả năng hình thành các loài chất độc để diệt côn trùng rất mạnh và nhanh, nhưng xác sâu chết rất khó lây lan, bào mầm rơi vào đất nảy mầm thành thể dinh dưỡng để kháng mạnh, rất khó thành dịch trong tự nhiên. Khác với B.t vi khuẩn B. p tiềm

ẩn trong bộ hung khá dài, số lượng bào mầm rất nhiều. Những bào mầm này sống lâu trong đất, cho nên có thể không chế quần thể bộ hung lâu dài. Nếu tính chống chịu bệnh của côn trùng yếu, sau khi bị bệnh sâu chết, tế bào dinh dưỡng của vi khuẩn trong côn trùng không kịp hình thành bào mầm và sẽ chết rất nhanh, Trong điều kiện nào đó, có thể là nguyên nhân không gây thành dịch bệnh. Do đó cá thể côn trùng kháng bệnh yếu, chết nhanh lại trở thành lực lượng bảo vệ của quần thể loài.

Quần thể côn trùng bị bệnh dịch có thể hồi phục nhanh quần thể như cũ hay không là một trong những tính chống chịu bệnh của côn trùng. Trong một quần thể có tính đa dạng của các cá thể kiểu hình (phenotyp). Kiểu hình đa dạng sẽ làm tăng thêm phạm vi chịu đựng của quần thể. Boer (1968) đưa ra khái niệm về "phân tán nguy hiểm" (preading of risk). Ông cho rằng hiệu ứng các nhân tố sự sống của loài và cơ hội sinh sản bị phân tán ra bởi sự khác nhau nhiều mặt của cá thể. Trong quá trình dịch hoặc thời kỳ phát triển cá thể sớm hay muộn và những tiểu sinh cảnh đặc thù cho cá thể tồn tại hoặc do khả năng đề kháng của cá thể sống sót làm kéo dài quần thể rồi lại tiếp tục sinh sản.

Sử dụng thuốc hóa học có thể diệt hàng loạt côn trùng, nhưng kết quả lâu dài, sự chọn thuốc đã thúc đẩy sinh ra quần thể loài. Do thay đổi tính di truyền hệ thống chống chịu thuốc được hình thành, làm cho chất lượng quần thể được nâng cao và phủ định các nhân tố gây chết. Nhưng cho đến nay vẫn chưa có những dẫn liệu về đặc tính này đối

với vi sinh vật gây bệnh. Đối với thuốc hóa học chúng có sự biến đổi về di truyền. Nhưng cuộc đấu tranh giữa vật gây bệnh và vật chủ cả hai đều có sự biến đổi.

Trong điều kiện tự nhiên chưa có căn cứ chứng minh do dịch bệnh mà làm tăng tính chống chịu. Nhưng ở điều kiện nuôi dưỡng trong phòng người ta nhận thấy chúng có sự chọn lọc như trong tổ hợp CPV tầm nhà, GV bướm cải, B.t trong ruồi có thể chọn ra hệ chống chịu.

+ Diễn biến chất lượng quần thể và dịch bệnh

Trong sự biến động quần thể loài theo chu kỳ, do tác dụng gây hại thấp, mật độ sâu nhỏ, quần thể mới đề kháng yếu với môi trường, dần dần chúng tăng lên, chất lượng quần thể tăng cao, khả năng đề kháng với môi trường cũng mạnh, trong tự nhiên rất ít gây dịch bệnh. Những quần thể già gây dịch, do mật độ quần thể cao, thức ăn thiếu sự trao đổi chất mạnh, chất lượng quần thể loài thấp, khả năng đề kháng với môi trường yếu, trong tự nhiên chúng dễ bị dịch bệnh.

Khi sử dụng chế phẩm virus trừ sâu róm thông cho thấy hiệu quả của nó có thể có 3 trường hợp. (1) Mật độ quần thể đang lên đến mức trung bình, do phun virus tỷ lệ sống sót rất thấp, hiệu quả tốt nhất. (2) Mật độ quần thể rất thấp, tuy có thể hiệu quả nhưng phải phun với lượng lớn (3) Quần thể sâu phát dịch, thường có bệnh chết nhũn ngoài tự nhiên, phun lúc này không có hiệu quả.

+ Tỷ lệ cái/đực và dịch bệnh côn trùng

Tỷ lệ giới tính côn trùng là một trong những nguyên nhân làm biến động số lượng quần thể. Trong phòng trừ sâu

bằng vi sinh vật người ta thường đề cập đến tỷ lệ đực cái. Ví dụ dùng virus phòng trừ sâu non ong ăn lá thông, con cái gặp virus xâm nhiễm khá dài, nhưng con đực lại rất nhanh. Kết quả là sâu cái chết nhiều hơn con đực và làm cho số lượng quần thể ong ăn lá thông giảm xuống.

+ Kiểu sinh thái côn trùng và dịch bệnh

Có một số loài côn trùng trong điều kiện khác nhau sản sinh ra các kiểu khác nhau về hình thái hoặc hành vi được gọi là kiểu sinh thái, ví dụ kiểu có cánh và không cánh của rệp, kiểu tụ đàn và phân tán của châu chấu. Kiểu sinh thái chiếm trong quần thể là một đặc tính quan trọng của kết cấu quần thể. Đặc tính này liên quan mật thiết với dịch bệnh côn trùng. Ví dụ sâu non sâu róm *Malacosoma pluviale* sống thành đàn trong tổ dạng lưới và chia ra đàn nhanh nhẹn (kiểu sinh thái) và đàn chậm chạp. Đàn chậm chạp thường tụ lại trong tổ lưới, dùng virus hoặc vi khuẩn phòng trừ dễ bị xâm nhiễm đến tuổi 3 đã chết hết. Đàn nhanh nhẹn thường ở ngoài và xuất hiện đầu năm khi mật độ còn thấp, nhưng dần dần mật độ tăng lên, đàn chậm chạp nhiều lên, tỷ lệ chết sẽ tăng dần, số lượng cá thể giảm xuống.

+ Ảnh hưởng của vật gây bệnh đến chất lượng quần thể

Vi sinh vật gây bệnh tồn tại lâu dài trong quần thể côn trùng cũng ảnh hưởng đến chất lượng quần thể. Có người cho rằng sự tiềm ẩn virus trong côn trùng cũng giống như thể phage của vi khuẩn. ADN của thể phage có thể có hành vi phụ hoặc là làm một bộ phận của tổ gen vật chủ trong tế bào. Hành vi của nó như một bộ phận vật chất di truyền vi

khuẩn. Mỗi lần vi khuẩn tăng sản lập tức ADN của phage tái chế đồng bộ với tế bào vật chủ. Căn cứ vào sinh lý học và di truyền học tế bào, virus cũng là một thành viên kho gen vật chủ. Ví dụ virus xâm nhiễm vào ruồi quả, thành phần cấu tạo bình thường trong tế bào, những virus đó khống chế số lượng quần thể phải có nguyên nhân bên trong, trong điều kiện “kích thích” (stress) đột nhiên biến thành hình thái virus, vật chủ phát bệnh.

Ngoài ra Varley cho rằng nguyên nhân biến đổi số lượng quần thể là tỷ lệ tử vong, nhân tố làm biến đổi tỷ lệ tử vong ngoài nhân tố ký sinh và bệnh còn sự thiếu thức ăn và chất lượng thấp của thực vật ảnh hưởng đến chất lượng quần thể. Sự xâm nhiễm ở dạng tiềm ẩn gây ra năng lực sinh sản và tỷ lệ giới tính, cũng ảnh hưởng chất lượng quần thể loài.

Sự làm giảm chất lượng quần thể sâu hại để bảo vệ thực vật có ý nghĩa sinh thái quan trọng, người ta thường dùng tỷ lệ chết của sâu để đánh giá, nhưng thực tế còn rất phiền diện, mặc dù một số bệnh không thể hiện tỷ lệ tử vong, nhưng đã làm cho tỷ lệ cái/đực giảm, lượng trứng giảm, gây ngán ăn, do đó xu thế phát triển số lượng quần thể loài có tác dụng quyết định. Vì vậy nhiều người nhận thấy rằng cần phải phòng trừ không phải toàn diện, mà phòng trừ những nơi có mật độ quần thể loài sâu hại cao. Cần cải thiện quan niệm tiêu diệt sâu hại đơn thuần: là phải dùng những biện pháp ít ảnh hưởng đến môi trường tự nhiên, ức chế sự tăng trưởng sâu hại. Làm cho nhận thức đánh giá hiệu quả phòng trừ phải xuất phát từ quan điểm mức quần thể.

4. NHẬP NỘI VẬT GÂY BỆNH VÀ ĐIỀU CHỈNH DỊCH BỆNH

Khoa học dịch bệnh côn trùng có địa vị rất quan trọng trong phòng trừ sinh vật học. Cần nắm vững quy luật dịch, con người có thể tạo ra dịch điều chỉnh dịch, từ đó đạt đến mục đích phòng trừ bảo vệ cây rừng.

a) Nhập nội vật gây bệnh côn trùng

Thông thường bệnh phát sinh và liên tục xảy ra ở một địa phương. Neison (1965) cho rằng "Về sâu hại cây rừng bất kỳ một nhân tố phòng trừ sinh vật đều ảnh hưởng đến mấy thế hệ số lượng quần thể loài vật chủ hiệu quả phòng trừ còn gấp mấy lần so với thuốc hóa học". Về mặt sinh thái học công tác nhập nội một sinh vật gây bệnh thường bị coi nhẹ, trong quá trình phát triển công tác này, việc nhập nội vi sinh vật gây bệnh sẽ được coi trọng hơn.

Do sự khuếch tán di cư của côn trùng rất rộng, sâu bị bệnh di chuyển chậm hơn sâu khỏe. Khi sâu hại lan rộng tốc độ khuếch tán của bệnh thường không theo kịp. Côn trùng có thể bỏ qua bệnh mà gây ra những trận dịch. Cho nên nhập nội một vật gây bệnh tạo lập lại bệnh địa phương cho sâu hại là điều rất cần thiết.

Người ta đã nhập nội virus NPV gây bệnh ong ăn lá vắn sam từ châu Mỹ sang châu Âu và cứu vãn được rừng vắn sam bị hại. Nhập nội NPV, GV vào các đảo dừa Ấn Độ phòng trừ sâu non bộ sừng đục ngọn dừa cứu được 2.600ha

rừng dừa. Nhập nội bào tử sâu nguyên sinh *Glugea pyraustae* và thả ngài cái sâu xám ngô bị sinh vật nguyên sinh gây hại này vào trong quần thể sâu và thu được hiệu quả cao...

Điều kiện nhập nội. Vật gây bệnh có thể thu được thành công hay không điều quan trọng là xem xét *sự tồn tại lâu dài của vật gây bệnh*. Ví dụ sâu róm thông thường có trung tâm phát sinh, *đưa vật gây bệnh vào trung tâm phát sinh là rất cần thiết là điều kiện để kéo dài sự tồn tại chúng*.

Ngoài ra phương thức kéo dài vật gây bệnh không phải tiêu diệt nhanh hàng loạt vật chủ mà làm sao vật chủ tồn tại để vật gây bệnh tồn tại. Để tiêu diệt loài thỏ đại Úc, người ta có kinh nghiệm dùng virus dịch nhầy (*Myxomatosis*) đưa vào đồng ruộng sau mấy năm lây bệnh, làm cho quần thể thỏ bị giảm xuống. Những chủng gây độc nhẹ thường thay thế những chủng gây độc mạnh để bảo đảm cho khả năng gây dịch kéo dài. Thông thường nhập nội một chủng vật gây bệnh về quan điểm kết cấu quần xã vật gây bệnh có khả năng kéo dài về mức độ nhất định không mâu thuẫn với khả năng gây bệnh.

b) Kích thích và điều chỉnh dịch bệnh côn trùng

Sau khi tìm hiểu quy luật phát dịch bệnh sâu, có thể thông qua ảnh hưởng của con người với một khâu nào đó mà thay đổi cường độ và tiến trình bệnh dịch. Ví dụ thông qua phun bột nấm *Nomuraea rileyi* phòng trừ ngài đêm cỏ

3 lá (*Plathypema scabra*) cuối tháng bắt đầu xuất hiện, đến tháng 9 lên đỉnh cao. Chế phẩm nấm phải dùng vào tháng 8 là có thể phòng trừ được. Ngoài ra có thể thêm vào sâu ngài đêm, một loài nhạy cảm với nấm để làm tăng khả năng lây nhiễm. Trộn chế phẩm CPV với vi khuẩn B.t phòng trừ sâu róm thông có thể nâng cao tỷ lệ chết của sâu róm thông. Ngoài ra NPV gây dịch nhanh, CPV gây dịch chậm, phối hợp 2 loại đó có thể kéo dài tiến trình gây dịch cho sâu hại. Đây là một trong những biện pháp IPM đối với sâu hại rừng.

MỤC LỤC

Lời nói đầu	3
I. Ứng dụng nấm rễ cộng sinh	5
1. Khái niệm về nấm rễ cộng sinh	5
2. Các loại rễ nấm	7
3. Sự hình thành nấm rễ	12
4. Điều kiện và các nhân tố hình thành rễ nấm	16
5. Tác dụng có ích của rễ nấm đối với cây trồng	23
6. Rễ nấm một số loài cây trồng ở nước ta	26
II. Sử dụng vi sinh vật gây bệnh côn trùng	40
1. Khái niệm	40
2. Gây bệnh truyền nhiễm côn trùng	42
3. ứng dụng nấm trong phòng trừ sâu hại	59
4. Sử dụng vi khuẩn gây bệnh côn trùng	91
5. Sử dụng virus gây bệnh côn trùng	126
6. Sử dụng tuyến trùng ký sinh phòng trừ sâu hại	165
7. Sử dụng động vật nguyên sinh phòng trừ sâu hại	171
III. Một số vấn đề về làm tăng hiệu quả phòng trừ sâu bằng vi sinh vật	176
1. Sự lây lan của vật gây bệnh	176
2. Sự kéo dài thời gian của vật gây bệnh	179
3. Dịch bệnh côn trùng	181
4. Nhập nội vật gây bệnh và điều chỉnh dịch bệnh	192
	195

Chịu trách nhiệm xuất bản
NGUYỄN CAO DOANH
Biên tập và sửa bản in
MẠNH HÀ - THANH HUYỀN
Trình bày bìa
LÊ THƯ

NHÀ XUẤT BẢN NÔNG NGHIỆP
6/167 Phương Mai, Đống Đa, Hà Nội
ĐT: 8525070 - 8521940 Fax: (04) 5760748

CHI NHÁNH NXB NÔNG NGHIỆP
58 Nguyễn Bình Khiêm, Quận I, TP Hồ Chí Minh
ĐT : 8297157 - 8294521 Fax: (08) 9101036

In 1000 bản, khổ 15 x 21 cm, tại Xưởng in NXB Nông nghiệp.
Giấy phép số 18/1111 XB-QLXB do Cục Xuất bản cấp ngày
10/8/2004. In xong và nộp lưu chiểu Quý IV/2004.

63 - 630

_____ - 18/1111 - 04

NN - 2004

trợ dụng vì sinh vật có ích t2



004121

700305

24.000 VND

Giá: 24.000 đ