

TỦ SÁCH KHUYẾN NÔNG PHỤC VỤ NGƯỜI LAO ĐỘNG

Phòng trừ sâu hại bằng công nghệ vì sinh



NHÀ XUẤT BẢN LAO ĐỘNG

TỦ SÁCH KHUYẾN NÔNG PHỤC VỤ NGƯỜI LAO ĐỘNG
CHU THỊ THƠM, PHAN THỊ LÀI, NGUYỄN VĂN TÓ
(Biên soạn)

PHÒNG TRỪ SÂU HẠI BẰNG CÔNG NGHỆ VI SINH

NHÀ XUẤT BẢN LAO ĐỘNG

HÀ NỘI - 2006

LỜI NÓI ĐẦU

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, nguyên sinh...). Những tác động của con người, chẳng hạn như 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.

"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.

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 phải nắm được cơ sở lý luận và kỹ thuật ứng dụng vi sinh vật gây bệnh côn trùng trong phòng trừ. Sự chuyển hoá vật gây bệnh và vật chủ là hai mặt đối lập mâu thuẫn, nhưng những mâu thuẫn đó sẽ bị chuyển hoá trong điều kiện nhất định.

Cuốn sách "Phòng trừ sâu hại bằng công nghệ vi sinh" trình bày các phương pháp phòng sâu hại bằng vi sinh vật gây bệnh côn trùng bao gồm nấm, vi khuẩn, virus, riketsia, động vật nguyên sinh, tuyến trùng nhằm giúp người nông dân phòng trừ được sâu hại, trồng cây cho năng suất cao.

CÁC TÁC GIẢ

I. VÀI NÉT VỀ SỬ DỤNG VI SINH VẬT GÂY BỆNH CHO SÂU HẠI

1. Sơ lược về sử dụng vi sinh vật chống côn trùng sâu hại

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 sự phát triển của chúng trong tự nhiên.

Những năm cuối thế kỷ 19, nhiều nhà khoa học châu Âu đã sử dụng nấm *Beauveria spp.* để phòng trừ các loài sâu như ngài độc *Portheria monocha*, bọ hung *Melolotha spp.* ong ăn lá *Diprion hercyniac...*

Theo thống kê nấm bạch cương bào tử cầu có phạm vi ký sinh rất rộng, có thể gây bệnh cho hơn 700 loài thuộc 149 họ của 15 bộ côn trùng sâu hại,

hơn 10 loài nhện. Nấm tựa mốc xanh 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 mầm, nấm que ruột, vi khuẩn đơn bào giả. 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 từ mầm (*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 không 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 kích thước của chúng biến đổi từ 0,5-15 μ m nhưng 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 hoá 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 sẽ 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, Steinernenmatidae.

2. Tác động gây bệnh của vi sinh vật

a. Tác động

Khả năng gây bệnh của vi sinh vật là thường làm cho sâu chết. Khả năng gây bệnh chính của chúng là 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, 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 vi sinh vật trải qua một thời kỳ sinh sản, phát triển và thành thục. 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.

Sự xâm nhiễm và gây bệnh được phân chia như sau:

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

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

- 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).

- Căn cứ vào nguồn vi sinh vật gây bệnh mà chia ra: bệnh từ ngoài vào, bệnh từ trong cơ thể.

- Căn cứ vào chủng loại vi sinh vật gây bệnh

chia ra: bệnh vi khuẩn, bệnh nấm, bệnh virus, bệnh động vật nguyên sinh.

- 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.

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

- 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. Sâu hại bị nhiễm bệnh

Sau khi ủ bệnh là giai đoạn biểu hiện bệnh ở sâu. 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 nhà khoa học hợp nhất triệu

chứng và bệnh trạng với một tên chung là triệu chứng tổng hợp (Syndrome) bao gồm các hiện tượng sau:

- Phát dục không bình thường

Biểu hiện ở chỗ côn trùng phát dục kéo dài, thân sau gầy 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.

- 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.

- Tiêu hoá 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.

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.

- 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 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 hoá làm cho sâu ngừng ăn và quá trình biến đổi đó càng nhanh, lúc này chúng chỉ dựa vào năng lượng tự có.

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...

Vật gây bệnh từ ngoài vào cơ thể côn trùng bằng một số con đường sau:

- 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 hoá 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 tầng biểu bì kitin nên vật gây bệnh thường xâm nhập qua màng này để vào cơ thể.

- 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 nấm 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.

- Thông qua trứng côn trùng

Virus xâm nhập và lây lan thông qua trứng côn trùng rồi truyền cho các lứa sau. Phương thức lây lan thường có 2 loại: virus thông qua bên trong trứng để truyền cho thế hệ sau (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 (*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 virus xâm nhập các tuyến phụ của bộ máy sinh dục, cho nên thông qua giao phối côn trùng cũng bị lây bệnh.

c. Cơ chế gây bệnh

Trong vật chủ, vi sinh vật tiến hành trao đổi chất theo hướng nhất định, bao gồm sự hấp thu vật gây bệnh, đồng hoá 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 vi sinh vật gây bệnh bịt chặt các cơ quan và ảnh hưởng đến tác dụng hô hấp của côn trùng.

Một số cơ chế gây bệnh như sau:

+ Ảnh hưởng đến hô hấp

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

+ Ảnh hưởng đến trao đổi chất

Hoạt động trao đổi chất của vi sinh 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 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 virus đa diện nhân - NPV là AND, virus đa diện tế bào chất - CPV là ARN, sinh sản của chúng là sự tổng hợp và tái tổ hợp AND hoặc ARN, cho nên việc gây ảnh hưởng của chúng đến

sự tổng hợp AND và ARN là làm thay đổi AND và ARN trong tế bào vật chủ.

+ 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 là vật chủ đã bị chết. Khi bào tử nấm bạch cương vào trong máu, bọ xít đã bị tê liệt, sau khi bọ xít chết thể nấm mới hình thành, sợi nấm xâm nhập vào thể mỡ, thịt và khí quản. Các đốt thần kinh của côn trùng khoẻ có màu lục nhưng ở những con bị bệnh lại biến thành màu tím, thậm chí có màu đỏ sẫm, chứng tỏ sự tê liệt và chết của bọ xít là do nấm tiết ra chất độc.

Chất độc ảnh hưởng tùy theo sự nhạy cảm của từng loài côn trùng. Chất độc có thể là một loại enzym hoặc chất ức chế enzym. Enzim là chất có lượng phân tử cao. Vật gây bệnh tiết enzym vào cơ thể vật chủ tác dụng rất mạnh đến ruột hoặc máu côn trùng.

Theo quan niệm của các nhà khoa học, những vật gây bệnh lý tưởng là các vi sinh vật 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 có tính chuyển hoá mạnh, còn nấm bạch cương và nấm lục cương có tính chuyên hoá 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 hoá khác nhau, ví dụ loài nấm lục cương bào tử ngắn 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 lại có tác dụng gây bệnh mạnh trên bộ hung cánh cam.

Theo nhiều nghiên cứu 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 từng loài côn trùng có sự khác nhau rất lớn. Vi khuẩn có thể có hiệu quả đối với loài côn trùng này nhưng lại có hiệu quả thấp đối với côn trùng khác cho nên trong quá trình phòng trừ cần tiến hành chọn và tạo chế phẩm.

Vi sinh vật gây bệnh có khả năng phá hoại đối

với côn trùng. Tính gây bệnh của chúng 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 của vi sinh vật bị giảm hoặc bị thoái hoá.

Sự giảm tính gây bệnh của vi sinh vật có thể do 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 tinh thể độc và mất khả năng gây bệnh.

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

Biện pháp làm tăng tính gây bệnh của vi sinh vật là:

+ Chuyển vật chủ, ví dụ vi khuẩn que dạng sáp qua đông rồi chuyển vào ngài cuốn lá táo tới lần thứ tám thì khả năng gây bệnh của chúng tăng lên 50 lần. Điều này cho thấy chuyển vật chủ 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 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 người ta 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 có thể tìm

ra giống nấm mới có khả năng gây bệnh mạnh hơn và cải tiến được phổ phạm vì vật chủ.

d. Tính chống chịu của côn trùng

Côn trùng là loại biến đổi nhiệt độ, cá thể nhỏ, tuổi thọ ngắn, hệ tuần hoàn mở. Đặc điểm sinh lý của côn trùng là ngủ nghỉ, biến thái, lột xác không như động vật có xương sống. Cho nên tính chống chịu của chúng cũng có những đặc điểm riêng. Côn trùng có tính miễn dịch yếu, nói chung sự phòng ngự của côn trùng chủ yếu là ở 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 chủ yếu là phản ứng phòng ngự của bạch cầu trong máu. Bạch cầu có thể sản sinh ra khả năng miễn dịch. Mặc dù thể hệ sau số lượng của bạch cầu ít nhưng tác dụng miễn dịch lại rất mạnh nên động vật có thể kéo dài tuổi thọ, quần thể loài cũng kéo dài. Do côn trùng không có bạch cầu, nên hiệu ứng phòng ngự của chúng rất thấp. Sau khi vật gây bệnh xâm nhập, chúng thường làm cho côn trùng chết, nhưng do lượng cá thể của thể hệ côn trùng tiếp theo rất nhiều nên quần thể loài côn trùng vẫn có thể tồn tại.

Khả năng phòng ngự của côn trùng có thể chia

ra phòng ngự của da, phòng ngự của hệ tiêu hoá và phòng ngự của xoang máu. Da và đường tiêu hoá là tuyến phòng ngự đầu tiên. Khi vi sinh vật xâm nhiễm vào đây đều bị ngăn cản hoặc bị tiêu diệt.

Khả năng đề kháng của da và ruột côn trùng chủ yếu là chất kitin và tầng biểu bì. Phản ứng đề kháng của chúng được thể hiện ở nhiều mặt. Thành phần hoá học của chất kitin là đa đường và protein, còn thành phần của tầng biểu bì là protein và lipid. Trong dịch tiêu hoá côn trùng có thể tiết ra một số chất màu đỏ đề kháng với virus xâm nhiễm. Thay đổi pH trong các loài côn trùng chính là 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.

e. Điều kiện môi trường để vi sinh vật gây bệnh

Khả năng gây bệnh của vi sinh vật với côn trùng phải có những điều kiện nhất định. 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

tổ 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 hoá học, nhân tố sinh vật và hoạt động của con người.

Ảnh hưởng của môi trường thể hiện ở 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 là 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 nên 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 của côn trùng tăng nhanh tạo điều kiện cho vật gây bệnh xâm nhiễm qua đường thức ăn (trừ nấm). *Do đó sử dụng vi khuẩn trong điều kiện nhiệt độ cao hàng ngày, mỗi ngày vài giờ với nhiệt độ trên 15°C sẽ mang lại hiệu quả phòng trừ côn trùng.* Nhưng khi nhiệt độ dưới 10°C sâu non ngừng ăn thì việc 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

rất cần được bổ sung nước nên chúng thường qua đông nơi ẩm ướt và đó là nơi nấm sinh trưởng phát triển. Vì vậy, người ta sử dụng nấm để phòng trừ sâu trong thời gian qua đông.

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

Một số chất kích thích như nhiệt độ cao, nhiệt độ thấp, các chất hoá học, formalin, EDTA... gây "cảm ứng căng thẳng" đối với côn trùng đều làm cho sinh lý côn trùng rối loạn, xúc tiến sự phát bệnh và sự xâm nhiễm của bệnh.

Môi trường có thể trực tiếp ảnh hưởng đến vi sinh vật gây bệnh làm cho chúng chết, nhưng môi trường cũng làm cho vi sinh 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, nên trong quá trình tạo chế phẩm vi sinh vật, cần

chú ý tránh 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 cũng ảnh hưởng đến vi sinh vật. Trường hợp này ít xảy ra nhưng khi sử dụng 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 phải nhờ độ ẩm cao. Tương tự như vậy sự xâm nhiễm vào côn trùng của tuyến trùng thường xảy ra trong các khu vực ẩm ướt.

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. Hơn nữa những lá mới ra sẽ 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 chế phẩm vi sinh, đồng thời tăng lượng thuốc mới để bù lại sự giảm hiệu quả của vi sinh vật với côn trùng ở nhiệt độ thấp.

Đất là môi trường sống của nấm, vi khuẩn, virus. Virus có thể tồn tại và có sức sống trong đất

mấy năm, 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, ở đất có độ pH thấp vi khuẩn que có thể diệt bọ hung.

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.

Mối quan hệ giữa vật gây bệnh và sinh vật khác khá phức tạp. Quan hệ giữa chúng có thể biểu hiện sự cùng tồn tại, hỗ sinh hoặc đề kháng. Sự hỗ sinh 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 gây bệnh có thể tăng hoặc giảm. Đối với động thực vật cũng vậy khi gặp nhiệt độ cao chúng cũng có thể đề kháng được một số bệnh do vi sinh vật, nên người ta thường dùng nhiệt để chữa bệnh. Do đó trong mùa hè oi bức các quần thể sâu hại trong thiên nhiên khi bị phun chế phẩm vi sinh vật có thể sẽ không sao do khả năng ủ bệnh của vật gây bệnh trên cơ thể côn trùng gây ra. Trong điều kiện khác

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 dần 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.

II. CÁC PHƯƠNG PHÁP ỨNG DỤNG CÔNG NGHỆ SINH HỌC ĐỂ TRỪ SÂU HẠI

1. Sử 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 diệt lục, có sự phân hoá tế bào hữu tính. Ngoài một số nấm có đơn bào, hầu hết nấm là thể sợi phân nhánh hoặc không phân nhánh, bao gồm nấm hoại sinh và nấm ký sinh, trong điều kiện nào đó có thể biến thành kiết ký sinh. Người ta đã phát hiện được 750 loài nấm gây bệnh côn trùng.

Phần lớn nấm gây bệnh côn trùng thuộc các bộ nấm mốc sâu trong ngành phụ nấm tiếp hợp và các bộ trong lớp nấm sợi, ngành phụ nấm bất toàn.

a. Nấm mốc sâu

**** Hình thái***

Nấm mốc sâu có đặc trưng hình thái khá phức tạp, bao gồm:

+ 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 bại 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. 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 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, hoặc 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 hoá 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.

*** Đặc tính sinh vật học**

+ Phần lớn nấm mốc sâu có tính chuyên hoá 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.

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

+ 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 nấm 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, nên nó trở thành nguồn xâm nhiễm của nấm mốc sâu với côn trùng.

Nấm mốc sâu muốn gây hại cho sâu cần có mấy điều kiện:

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 sự tích trữ năng lượng và hoạt tính hóa học.

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

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

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

- Nấm mốc ruồi
- Nấm mốc ngài đèn
- Nấm mốc dịch bọ hung
- Nấm mốc dịch hình cầu
- Nấm mốc rận

b) Nấm bất toàn

Nấm bất toàn có rất nhiều loài, phân bố rộng. Người ta có thể sử dụng nhiều loại dinh dưỡng, để nuôi cấy và sản xuất chế phẩm, nên nấm này đã được ứng dụng rộng rãi trong thực tế sản xuất.

Hầu hết nấm này thường ký sinh trên sâu non làm cho thân sâu cứng lại, trên thân mọc đầy sợi nấm và bào tử phân sinh tạo nên các màu.

*** Các loài nấm bất toàn**

Nấm bất toàn có thể sợi phân nhánh và có vách ngăn.

Trong ngành phụ nấm bất toàn có các lớp bào mêm, lớp bào tử sợi và lớp bào tử xoang. Hầu hết các loài nấm gây bệnh côn trùng thuộc lớp bào tử sợi. Chúng không có cơ quan bao bọc, chỉ có cuống bào tử và bào tử trần. Phần lớn chúng thuộc các họ cuống chùm. Một số loài thuộc bộ vỏ cầu và bộ vỏ đỏ đậm. Cụ thể:

+ Nấm bào tử hình thoi

Nấm bào tử hình thoi, chất đệm mêm, màu nhạt, bào tử phân sinh mọc trên cuống ngắn, đơn bào hình thoi, không màu, có nhiều vách ngăn. Phần lớn nấm ký sinh trên các loài côn trùng. Ta thường gặp nấm ký sinh trên rận phấn hại cam quýt. Việc sử dụng nấm này để phòng trừ rận phấn cam quýt rất có hiệu quả.

+ Nấm bạch cương

Nấm bạch cương còn gọi là nấm cứng trắng, nấm tầm voi, 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 tính cả sâu hại nông nghiệp chúng có thể ký sinh trên gần 200 loài.

Đặc điểm cơ bản của loại nấm này là thể sợi màu trắng, dạng lông, sợi nấm mảnh đường kính 1,5-2 μ 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.

Nấm bạch cương được chia 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 hai loài này, loài *B.bassiana* phân bố rộng nhất xâm nhiễm nhiều loài côn trùng nhất được 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.

Tại Việt Nam việc 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

Cũng như nấm bạch cương, nấm lục cương (nấm cứng xanh) ký sinh trên nhiều loài sâu hại. Nấm có 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.

+ Nấm tựa mốc xanh

Nấm này phân lập trên thân côn trùng ngủ nghỉ trong đất. Chi nấm này tựa như nấm mốc xanh và nấm chổi

Nấm có khuẩn lạc dạng thảm nhung, dạng bó sợi, màu trắng, hồng nhạt, màu tím đình 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.

Việc nghiên cứu loài nấm này cho thấy, 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 nấm này để phòng trừ sâu róm thông.

+ Nấm hoang dã

Năm 1983 người ta phát hiện ra một loài nấm ký sinh trên côn trùng họ ngài đêm ở Bắc Mỹ tên là *Botrytis rileyi* và *Spicaria rileyi*. Ở châu Á các nhà khoa học cũng tìm ra nấm ký sinh trên họ ngài đêm là *Botrytis prasina* và *Spicaria prasina*.

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 nấm còn được dùng để phòng trừ sâu hại bông, ngài đêm vằn lạch, sâu cuốn lá lúa, sâu đục thân ngô, hiệu quả phòng trừ rất tốt.

+ Nấm nhiều lông

Nấm *Hirsutella* thuộc bộ họ nấm cuống bó, lớp nấm bào tử sợi trần. Đặc điểm cơ bản của loại 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.

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. Sâu bị bệnh do nấm thường có màu vàng, chết thành đám.

+ Nấm bào tử bao đầu

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 nấm này để phòng trừ rệp và rệp sáp.

** Ảnh hưởng của môi trường đến nấm bất toàn*

Khác với loài nấm trên, nấm bất toàn diệt sâu thuộc loại kiêm 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 ảnh hưởng đến nấm bất toàn là chất dinh dưỡng, nhiệt độ, độ ẩm, pH và ánh sáng.

+ Ảnh hưởng của chất dinh dưỡng đến nấm biểu hiện ở khả năng nảy mầm của bào tử, sinh trưởng của sợi nấm và sự hình thành bào tử. Trong khi các bào tử nấm mốc sâu không cần chất dinh dưỡng để nảy mầm thì 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. Giống như sự nảy mầm của hạt giống, trước khi nảy mầm cần tích dinh dưỡng, bào tử nấm nảy mầm cũng cần có một hoặc nhiều chất dinh dưỡng. Về mặt sinh thái chất dinh dưỡng có ý nghĩa đặc biệt, vì thế 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 song 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. Nấm 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 của nấm bạch cương yêu cầu nitơ hữu cơ và vô cơ, trong nitơ vô cơ chúng sử dụng NO_3^- tốt hơn là NH_4^+ . Đối với nấm lục cương trong môi trường Czapek có nguồn nitơ NO_3 chúng chỉ sinh trưởng sợi nấm mà không hình thành bào tử, nhưng trong môi trường đó nếu thêm vào 1% pepton là nấm bạch cương có thể hình thành bào tử.

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

Chất dinh dưỡng cũng liên quan mật thiết với khả năng gây bệnh của nấm. Chẳng hạn nấm

Paelomyces tenuipes khi thêm vào 15% bột ngô thì tỷ lệ ký sinh bào tử *P. papillata* tăng lên đến 92%, trong khi đó nếu 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 lá 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 của nấm là 25-30°C, trên 30°C, sự sinh trưởng giảm dần, trên 35°C nấm ngừng sinh trưởng.

Nhiệt độ cũng ảnh hưởng đến sự hình thành bào tử, nhiệt độ 15°C có lợi cho sự hình thành bào tử hơn là nhiệt độ 24°C. Với nấm *P. papillata*, nhiệt độ thích hợp nhất là 24-26°C, nhưng ở nhiệt độ 18°C tỷ lệ ký sinh của nấm cao hơn 18% so với nhiệt độ 25°C.

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 và nấm tựa mốc xanh khi ở độ ẩm

0% và 34% có khả năng sống lâu hơn khi ở độ ẩm 75%. Nấm lục cương khi độ ẩm rất cao và rất thấp đều có khả năng kéo dài sự sống nhưng ở độ ẩm 45% sự sống của chúng ngắn nhất.

+ Nấm thích hợp với điều kiện hơi chua đến trung tính. Chúng nảy mầm tốt nhất ở độ 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 pH từ 6,9-7,2.

+ 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. Do đó cần chú ý vấn đề này khi phòng trừ sâu hại. Nên dùng nấm phòng trừ bệnh lúc sáng sớm, chiều tối hoặc lúc trời râm mát. 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 nấm 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 *Paelomyces*, nhưng dưới ánh sáng trực xạ nấm lục cường lại rất khó nảy mầm.

*** Tác dụng gây bệnh của nấm**

Tác dụng gây bệnh của nấm trên côn trùng bằng cách 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.

Nhờ gió, mưa bào tử nấm lây lan đến sâu khỏe, gặp điều kiện độ ẩm và nhiệt độ thích hợp nó 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 côn trùng lột xác nấm lại hình thành vôi bám mới để tiến hành tái xâm nhiễm.

Nấm thông qua áp lực cơ giới để xâm nhập vào trong cơ thể côn trùng và nhờ tác dụng của enzim

phân giải mà chọc thủng biểu bì. Những enzym phân giải là proteaza, lipoaza và 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 sinh sản của nấm trong cơ thể côn trùng làm cho hoạt động trao đổi chất, các cơ quan mô của côn trùng bị phá hoại, mất chức năng sinh lý và phát sinh sự rối loạn.

Trước hết 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 của chúng.

Nấm xâm nhập vào cơ thể côn trùng khiến 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 tiết ra.

Sự sinh sản của nấm trước hết là sự biến đổi thành phân dịch thể làm giảm tác dụng oxy hoá khử limfa trong máu côn trùng. Do sinh sản nhiều nấm sẽ làm tắc hệ tuần hoàn côn trùng; gây rối sinh lý tế bào vật chủ; Chất độc do nấm sinh ra làm thay đổi sinh hoá cơ thể và làm tê liệt thần kinh, từ đó làm mất đi và rối loạn cơ năng sinh lý côn trùng. Từ đó côn trùng sẽ biểu hiện hô hấp thất thường, giảm sức sinh sản, ức chế sự lột xác.

Chẳng hạn, sâu non bọ lá khoai tây sau khi bị bệnh nấm bạch cương thì cường độ hô hấp tăng lên nhiều lần. Phần lớn sự hô hấp này là do tác dụng phản ứng của vật chủ (sâu) đối với vật gây bệnh (nấm).

Sau khi tiêm chất độc của nấm cho sâu non, nấm làm 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, làm giảm sức sinh sản rõ rệt của sâu. Ngài 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

Muốn sản xuất một chế phẩm nấm diệt sâu trước hết cần tính đến hiệu quả của chúng, khả

năng cất trữ, sử dụng an toàn, sau đó thông qua nghiên cứu thực nghiệm, sản xuất thử rồi mới sản xuất trong nhà máy.

Ngày nay trong việc sản xuất chế phẩm nấm 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.

Nói chung nấm thường phát triển trong điều kiện nhiệt độ thấp và không ảnh hưởng đến động vật máu nóng. Ở 35°C , dù ở điều kiện độ ẩm nào nấm đều ngừng phát triển và sau 28 ngày nấm mất khả năng sống, cho nên chúng rất an toàn đối với con người. Riêng đối với nấm mốc sâu nhiệt độ thích hợp cho nó khá cao, $27-36^{\circ}\text{C}$, nên cho đến nay nó 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 loại nấm này cũng 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 cần chú ý khi sử dụng.

Thực tế cho thấy nấm bạch cương không có ảnh hưởng xấu đối với người và động vật máu nóng.

Chúng có độ độc rất thấp. 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 sự mệt mỏi, nhức đầu, chóng mặt, ho, nhưng biểu hiện này chỉ xảy ra trong thời gian rất ngắn. Mặc áo blouse và mang găng tay, khẩu trang là 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 rồi khỏi hiện trường trong thời gian ngắn là có thể khôi phục sức khỏe. Ngoài ra giữ nồng độ bào tử dưới $1\text{mg}/\text{m}^3$ 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. Sau một thời gian 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 nấm 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 tác động của nấm bạch cương nên không ảnh hưởng đến khả năng sinh trưởng phát triển.

Cách làm

Chế phẩm nấm phải được bắt nguồn từ giống tốt. Giống tốt phải có độ độc mạnh, hiệu quả diệt sâu mạnh, dễ sản xuất và có thể bảo quản trong thời gian lâu dài. Giống nấm không nên cấy truyền nhiều lứa bởi vì trong cùng một điều kiện, những giống nấm khác nhau, hàm lượng bột nấm và độ độc khác nhau rất lớn. Do đó cần tiến hành chọn ngoài tự nhiên, kịp thời làm khoẻ giống nấm, áp dụng đột biến bằng kích thích ánh sáng, chọn ra một loại 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.

Nhiều nghiên cứu cho thấy dùng máy kích thích chiếu sáng hiệu quả của nấm 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

tiền chứng minh đột biến ánh sáng trong 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.

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 thì 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. Sự hình thành bào tử được quyết định bởi thành phần dinh dưỡng và kỹ thuật lên men, nhưng chế phẩm này khó bảo quản. Một số loài nấm có thể sử dụng loại bào tử nảy mầm nên người ta đã dùng axit glutamic trộn với một số dầu paraffin, glycerin để bảo vệ bào tử nảy mầm chống chịu được khô hạn, từ đó tạo ra 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 nên dễ bảo quản và sản xuất được khối lượng lớn. Nhưng do bào tử ngủ nảy

mầm không đều, kéo dài quá lâu vì thế không thể đáp ứng được yêu cầu sản xuất. Cho nên người ta không dùng sợi nấm để sản xuất chế phẩm. 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.

Công nghệ sản xuất

Sản xuất chế phẩm nấm trừ sâu như sau:

Không 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, chú ý 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 nấm ở môi trường cấp III cần chú ý vi khuẩn que mầm, 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.

Do yêu cầu dinh dưỡng của nấm bạch cương không cao, 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 nấm.

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. 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.

Có thể dùng vại 500 lít để 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 nấm theo hai cách:

Cách 1: lấy bào tử nuôi trong dịch thể cấy lên mặt cám vào hạt gạo, sẽ thu được sợi nấm và hình thành bào tử nhanh hơn.

Cách 2: 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. Phương pháp dùng nấm phòng trừ sâu hại

Nấm gây bệnh là một loại thiên địch của sâu, trong điều kiện thích hợp nấm có thể tồn tại. Do nấm được sản xuất bằng nhân tạo nên cần nấm vững thời cơ, trong một thời gian ngắn tăng nhanh số lượng nấm trong tự nhiên. Phòng trừ sâu hại bằng nấm gây bệnh thông thường có 3 phương pháp:

**** Dẫn giống nấm***

Trong các điều kiện môi trường địa lý sinh thái tương tự 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.

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 chế phẩm nấm vào sâu mới, sau 5 ngày sâu chết mới thả vào rừng, như vậy sẽ thu được hiệu quả cao.

**** Cải thiện điều kiện môi trường, làm khoẻ hoá 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 sẽ chuyển hoá thành bệnh dịch, từ đó kết thúc được dịch sâu hại. Thông qua cải thiện điều kiện môi trường là có thể xúc tiến sự chuyển hoá này; làm tăng độ ẩm và nước là biện pháp có thể làm khoẻ hoá nấm địa phương như việc dẫn nước vào đồng ruộng làm cho bệnh tăng lên.

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 lưỡi liềm, nấm mốc khúc, mốc xanh... Mùa đông nên phun nấm bạch cương, nấm tựa mốc xanh lên đất dưới các tầng lá rụng hoặc đóng gạch trong rừng. Mùa đông dưới các đóng gạch không phun nấm có thể rải một ít cám sau mùa đông 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. Như vậy, nếu có chất dinh dưỡng trong điều kiện rừng cải thiện độ ẩm có thể làm khoẻ hoá 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.

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

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

**** Sử dụng chế phẩm nấm diệt sâu***

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, nên nếu nấm 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.

Ở một số vùng khô hạn việc phòng trừ sâu hại bằng chế phẩm nấm thường gặp khó khăn vì nấm ưa ẩm, song chỉ cần điều kiện đất đai thích hợp cho cây sinh trưởng, tổng hàm lượng nước thoả mãn nhu cầu của nấm thì nấm sẽ phát triển. Vì vậy trong vùng khô hạn công tác phòng trừ sâu hại trong đất cũng vẫn 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 hoá 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 nên có thể dùng nấm để phòng trừ. Những nấm đó mọc tốt trong các đường lỗ mọt. Do đó nghiên cứu tiểu khí hậu để phát triển sử dụng nấm phòng trừ sâu là việc làm cần thiết.

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. Có thể phun nấm bằng thả pháo. Mỗi túi pháo chứa 0,5kg bột nấm, có thể khống chế một diện tích là 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 10-15 kg bột, có thể phòng trừ được sâu trên 1-1,5ha rừng.

Ngoài ra có thể thả sâu bị bệnh nấm (dùng dịch nấm tẩm sâu rồi thả vào cây rừng), chúng có thể lây bệnh hoặc 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 người ta thường dùng chế phẩm rắc lên mặt đất. Sau 4 năm số lượng quần thể sâu hại giảm xuống rõ rệt.

Nhiều nước có diện tích rừng thông rất lớn. Có thể sử dụng máy bay phun chế phẩm nấm Boverin.

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

- Hàm lượng bào tử phải cao: mỗi gam chế phẩm phải đạt 10.10^9 bào tử, sau khi phun chế phẩm 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 hiệu quả cao hơn phun bột. Lượng bào tử liên quan chặt chẽ với tỷ lệ chết của sâu róm thông.

2. 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.

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 poliliae*, *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 đó vào trong ống tiêu hoá, 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.

+ 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 chúng 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 chúng có thể sinh sản gây ra bệnh bại huyết cho côn trùng. Số loài côn trùng chết theo kiểu này rất nhiều.

Trong 3 loại vi khuẩn trên 2 loại đầu đã được ứng dụng để phòng trừ sâu hại ngoài đồng ruộng. Những loài vi khuẩn không có mầm trong tự nhiên khi bệnh bùng phát, chúng có thể tiêu diệt hàng loạt sâu hại.

Trong tự nhiên những loài vi khuẩn gây bệnh không phải đều có thể tạo thành chế phẩm trừ sâu vì 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

**** Vi khuẩn sữa***

Có một loài vi khuẩn hình que nẩy 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 là quan trọng nhất. Có khoảng 53 loài bộ hung bị bệnh này.

Đặc trưng hình thái

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 nối 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

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, nếu 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 của vi khuẩn.

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 thơm, 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.

Vi khuẩn B.p sinh trưởng tốt trên môi trường dịch thể hoặc môi trường rắn có cao men và glucoza. Vi khuẩn sinh trưởng 16-20 giờ là hình thành hàng loạt bào tử với số lượng 2×10^9 . Sau khi phát triển tới đỉnh cao, số lượng vi khuẩn sống giảm xuống, nhưng không xuất hiện tác dụng hoà tan tế bào, dù có oxy hoặc không có oxy đều không hình thành bào mầm.

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

Bệnh lý vi khuẩn B.p

Trong tự nhiên vi khuẩn này thông qua đường tiêu hoá của bộ hung để xâm nhiễm. Sau khi bộ hung ăn rễ, vật hoại sinh trong đất, bào mầm nảy mầm thành thể dinh dưỡng xuyên qua vách ruột vào trong xoang cơ thể bộ hung. 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 biến thành màu trắng sữa, hoạt động của chúng giảm dần, phản ứng rất chậm.

Mỗi con sâu non mỗi giai đoạn có số bào mầm là 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 côn 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.

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. Phương pháp gây bệnh nhân tạo cho sâu non bộ hung như sau:

+ Dùng limfa máu sâu non đã nhiễm bệnh bảo quản trên lam làm giống, nung nóng ở nhiệt độ $50-60^{\circ}\text{C}$ 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 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 cắn 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 bọ hung là biện pháp phòng trừ sinh học có hiệu quả. Sau khi sâu non bọ hung chết số lượng bào mầm trong đất tăng hiệu quả khống chế sâu non bọ hung rất 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

Vi khuẩn hình thoi là loại chuyên ký sinh trong sâu róm. Vi khuẩn này có phản ứng Gram âm, kích thước 3-13x0,9-1,3 μm , có thể vận động, bào tử hình thành là 1,6x3=3,3 μm . Tế bào dinh dưỡng nếu dùng dịch ép lá táo sẽ cho số lượng vi khuẩn 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 sâu 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 bọ 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 *Bacillus thuringiensis* (B.t) được phát hiện năm 1911 tại 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.

Đặc trưng hình thái

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 $1,2-1,5 \times 3-5 \mu\text{m}$. Lông roi mọc xung quanh, hơi động hoặc không động. Chúng

thường tồn tại 1 cá thể hoặc 2 cá thể liên 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 liên nhau thành chuỗi. Lúc này vi khuẩn 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 để nhuộm 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.

Đặc tính sinh vật học

+ 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.

Trong quá trình phát triển của vi khuẩn chúng

trải qua rất nhiều biến đổi về sinh lý sinh hoá. Sự hình thành bào mầm trải qua 7 giai đoạn.

Sợi trục hình thành nhiễm sắc thể.

Phát sinh màng tế bào hoàn thành vách tiền bào tử.

Tiền bào tử tách ra từ trong tế bào mẹ.

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 6 dần dần lớn lên, bên ngoài là thể 8 mặt.

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 27-37°C, ở 35-40°C vi khuẩn 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 vi khuẩn 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 nó sẽ không hình thành bào mầm hoặc hình thành chậm.

Phân loại vi khuẩn B.t

Vi khuẩn *Bacillus thuringiensis* cũng tương tự như *B.cereus*. Có người cho rằng vi khuẩn B.t chính là vi khuẩn *B.cereus*, nhưng có người cho rằng đó là hai loài độc lập.

Trong công tác phân loại vi khuẩn B.t, phản ứng sinh hoá là sự sai khác giữa các biến loài. Xem xét sự sai khác dựa trên việc chúng 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 sinh hoá, kiểu chất độc ngoài của vi khuẩn, phản ứng các enzym....

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

Nhiều chứng minh cho biết các biến loài khác nhau thì có độ độc khác nhau. Trong sản xuất chế phẩm vi khuẩn 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.

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 chính là tinh thể và chất độc ngoài 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.

- 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.

Hiệu quả của chất độc phụ thuộc vào lượng tiêm vào hay sâu ăn phải. Độ độc của vi khuẩn biểu hiện ở chỗ lúc lột xác hoặc biến thái, sâu không hoá nhộng bình thường mà biến dạng. Độ độc của vi khuẩn 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.

- Độ độc của tinh thể khác nhau theo các biến loài. Tinh thể có hình dạng khác nhau thì độ độc của chúng cũng khác nhau. Những tinh thể gần tròn có hiệu quả đối với các loài sâu bọ 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, nó 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, sau 55 phút là vách ruột côn trùng 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 vào máu, sâu non sẽ chết.

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 tầm nhà, tầm sồi, ngài trời thuốc lá.

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 bọ cánh vẩy thuộc loại này.

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

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 sâu lột xác và biến thái mới nhìn thấy. Khi một lượng nhỏ vi khuẩn vào cơ thể sâu non phát dục hoá nhộng, tuy sâu không vũ hoá nhưng vẫn có một số biến thành sâu trưởng thành có cánh không đầy đủ. Nếu lượng vi khuẩn cao sâu hoá nhộng không bình thường, nếu cao nữa thì sâu non lột xác đã bị chết.

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

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

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 lác, ưu điểm của phương pháp này là đơn giản, không cần phải có 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

Bao gồm các giai đoạn sau:

1. 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. 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 hoá và thu được một số lượng vi khuẩn nhất định.

Giống vi khuẩn trên mặt nghiêng bình phải giữ độ thuần 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 tác động tích cực đến sự hình thành bào mầm và tinh thể.

5. Nén lọc. Sau khi dịch lên men đổ vào vại, theo thể tích dịch lên men mà thêm 8-10% CaCO_3 , số khuẩn trong dịch lên men lớn hơn $2 \times 10^9/\text{ml}$, sau khi trộn đều lọc qua khung lọc, nước lọc phải trong, lượng khuẩn không thấp hơn $0,2 \times 10^8/\text{ml}$.

6. Phun mù sấy khô. Dựa theo lượng CaCO_3 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 tầng giữa là $60-65^\circ\text{C}$, lưu lượng phun mù là 400-500l/h.

7. Xử lý sản phẩm. Sau khi lọc nén sấy khô 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.

Đặc điểm của phương pháp này là nguyên liệu

vỏ trấu, sấy môi trường và vật nuôi đều bỏ vào thùng lên men sấy. 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 160ml. 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 quản. 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 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.

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 rồi thêm vào đó một số chất bám dính và phòng thối. Thông thường dùng xà phòng, bột bánh sô, 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 hoá sữa, trộn đều mà thành. Chế phẩm dạng dầu là trộn chất hoá sữa vào nước rồi thấm nước chế phẩm vi khuẩn khô, sau đó thêm dầu luyn pha loãng. Nhưng chế phẩm dầu tường 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 chất 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.

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 B.t cũng đã được sử dụng để phòng trừ, hiệu quả rất tốt.

- Hiệu quả phòng trừ

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.

- 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 thì cũng phải theo 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 hoá học. Thuốc hoá học có thể phá hoại tình 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 nâng cao tính nhạy cảm của vi khuẩn; đồng thời 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 hoá học của sâu giảm xuống là đạt được mục đích phòng trừ. Tăng thêm một ít thuốc hoá học còn có thể kiêm 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

** Loại hình và chất lượng chế phẩm*

Cùng một loại chế phẩm phòng trừ các loài sâu khác nhau, hiệu quả sẽ khác nhau và ngược lại. 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 hoá 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 nào nên ảnh hưởng đến hiệu quả.

** Điều kiện môi trường*

Ánh sáng ảnh hưởng rất lớn đến sự tồn tại của vi khuẩn, chiếu sáng mạnh trong nửa giờ đã làm chết mất 50% vi khuẩn, 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.

3. Sử dụng virus gây bệnh côn trùng

a) Khái niệm 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 nó.

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

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.

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 một virion. Một virion có thể là rất đơn giản cũng có thể là rất phức tạp.

b) Phân loại virus gây bệnh côn trùng

Virus côn trùng bao gồm các họ, nhóm và chi như sau:

- Họ virus dạng que.
- Họ (nhóm) virus β ngoài trời thông.
- Họ virus đồng ruộng chi Nodavirus, loài Nodamura virus.
- Họ virus vàng.
- Họ virus bệnh đậu, các chi Entomopoxvirus A, En, B, En, C.

- Họ virus ARN nhỏ.
- Họ virus ruột.
- Họ virus dạng xoắn.
- Họ virus nhỏ.

c. Những virus quan trọng gây bệnh côn trùng

Theo các nhà khoa học thông báo 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).

**** 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, nó 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.

+ 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.

+ Thể đa diện nhân (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 quy mô tổ chức khác nhau cũng khác nhau.

Kích thước của NPB cũng khác nhau theo loài vật chủ côn trùng, nói chung chúng biến động

trong khoảng 05-15 μ m, đa số là 3 μ m. Tế bào khác nhau cùng một tổ chức cũng có kích thước khác nhau, của sâu róm thông đuôi ngựa là 250-380nm x 40-60nm. Số lượng virion trong thể vùi cũng khác nhau ngài độc là 21, sâu cuốn lá là 12.

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. Các thành phần acid amin trong protein của NPB cũng khác nhau tùy theo vật chủ.

*** *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 250-380nm x 40-80nm. NPV của ngài độc là 100-140 x 300-330nm. Dưới kính hiển vi điện tử ta thường thấy bé hơn 1/3 lần. Một số mảnh cắt 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 hoặc màng liên thân. Nhân tuỷ do AND 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 NPV. Mỗi NPV có thể vùi một hoặc nhiều virion nhưng cũng có loại trong màng ngoài sắp xếp nhiều hạt virion thành bó, nên được gọi là "bó virus".

+ Thành phần hoá học của NPV chủ yếu có AND và protein. Hàm lượng của AND biến động từ 7,9-16% khác nhau tuỳ theo loài. Protein bao gồm 16 loại acid amin. Chất lipid và hợp chất cacbon đều ở trong màng túi.

Tác động gây bệnh của NPV

+ 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 sâu mới chết, một số kéo dài đến 24 ngày.

Đối với ong ăn lá có những đặc trưng tương tự như bộ cánh vảy. Triệu chứng rõ nhất là đốt 3 đến đốt 5 của ong 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.

+ 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 NPV sâu non không bị bệnh, chứng tỏ nhân tố gây bệnh không phải NPV mà là virion.

Sau khi sâu non ăn phải NPV, bị hệ tiêu hoá 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.

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, nhiệt 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.

*** 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 chết.

+ Bệnh lý học của bệnh virus GV

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 nho sau khi bị bệnh GV, thân nhỏ lại, nhưng ngài đốm bị GV thân dài ra, thô hơn, màu vàng sữa, da cứng dần.

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.

- 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 bị nhiễm ở mô ruột giữa. Sâu non đục quả 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.

*** Virus da diện kiểu chất (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, ngải độc... Theo thông báo CPV xâm nhiễm 168 loài thuộc bộ cánh vẩy, 2 loài thuộc bộ cánh mạch, 3 loài thuộc 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 côn 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.

d. Phương thức lây lan và tính chuyên hoá 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 hoá 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 thuỷ, 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 thuỷ.

Trong quần thể virus gây bệnh khác nhau tính chuyên hoá 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, thậm chí trên các bộ. Ví dụ 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. 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 hoá 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 *Rhinôcrus 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 ngoài độc thông qua nước mưa đưa xác sâu bị bệnh té ra xung quanh.

d. 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 côn 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 x 90 cm, đồng thời bỏ 100 con 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 hoá → tạo chế phẩm*. Nuôi sâu xám hại bông dùng 5% để sản xuất tiếp 95% sau đó sản xuất chế phẩm. Trong một đợt sản xuất virus tăng sản lên 5.000-10.000 lần.

Trong quá trình sản xuất sâu nhiễm bệnh cần chú ý:

- Phải có điều kiện nuôi hàng loạt vừa tiện lợi vừa kinh tế, nghiên cứu phương pháp nuôi rộng rãi trong nhân dân.

- 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 hoá 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:

- Phải phân lập hệ tế bào dễ nuôi có sức sinh sản mạnh, mới có thể sản xuất lớn.

- Phải cải tiến và đơn giản hoá dịch nuôi để giảm giá thành.

- 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 có thể thu được tế bào mô côn trùng dùng để sản xuất hàng loạt virus.

Cùng với sự phát triển nghiên cứu và ứng dụng công nghệ sinh học di truyền, người ta đã tạo ra được nhóm gien virus rồi xâm nhiễm vào tế bào. Có người nghĩ đến dùng một số enzym cắt AND của NPV để tiến hành trao đổi đoạn AND 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 virus diệt sâu 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 một 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.

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:

- 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 độ độc và dị ứng.

- Tiện cho việc khống chế nồng độ.

- 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 mì...) 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 một 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 hoá 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 này sẽ được giải quyết.

e. Ứng dụng virus côn trùng trong phòng trừ sâu hại

Virus côn trùng thường có 7 loài, 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 quần 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 Hoá 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 lúa 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 chế phẩm để phòng trừ cho lúa 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 trứng đẻ 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 Kon Tum 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 sau: 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 hoá 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* Coli. ở các tỉnh miền Bắc nước ta. Áp dụng phương pháp phòng trừ trên có thể thu được hiệu quả.

4. Sử dụng tuyến trùng phòng trừ sâu hại

a. Đặc điểm

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 lớp tuyến trùng. 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 hoá 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 hoá và da xâm nhập vào 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 hoá; 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: họ Mermithidae, họ Spherruarridae, họ Steinernematidae.

Đặc trưng chủ yếu của 3 họ đó như sau:

+ Họ Mermithidae

Thân dài 5-300mm. Trục 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 để trứng, khi tuyến trùng chui qua da làm cho côn trùng chết. Họ này xâm nhiễm vào 15 họ côn trùng nhưng thường thấy là châu chấu, ngài độc, sâu róm, kiến.

+ Họ Spherruarridae

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 0,2-6mm, có khoảng 200 ngàn con trên một con sâu non. Trong đàn có một 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 *Neoaplectana* và *Heterorhabditis*. Người ta phát hiện tuyến trùng có loài vi khuẩn cộng sinh, vi khuẩn này 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.

- Nghiền thành tương tuyến trùng xâm nhiễm bề mặt.

- 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 cần bỏ vào điều kiện nhiệt độ thấp. Lấy 0,5ml cấy vào môi trường thạch và thịt lợn 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% NaSHg, 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 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. Môi trường tốt nhất cho tuyến trùng thuộc chi *Neoaplectana* là 70% thịt lợn vai, 10% mỡ bò và 20% nước; đối với tuyến trùng chi *Heterorhabditis* 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.

Mới đầu cấy vi khuẩn vào môi trường dịch men hoặc nước thịt bò, nuôi ở 20-30°C, mỗi bình khoảng 10ml, lắ 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 ngọt 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 như: mối, sâu đo chè, 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 (*Neoaplectana 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 chết đều đạt 80-90% đối với nhiều loại sâu hại.

Tuyến trùng (*Deladenus spp.*) ký sinh ở 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 hoá 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 đực. Tuyến trùng này có khả năng làm cho sâu bất 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.

5. 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 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 một 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 với 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, có 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 nhầy (*Myxospora*) và trùng vi bào tử (*Microspora*), loại lông roi lại thuộc về trùng roi (*Ciliophora*). Trong những ngành phụ này trùng roi 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 nhầy 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 lồi ra ngoài vỏ, cuối cùng làm cho các sợi cực lật ngược lại. Do áp lực trong bào tử tầng màng hình thành bào tử hình thành hút nước và phình lên. Sợi cực sau khi lật ngược dài $20-400\mu\text{m}$.

- 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 tỷ lệ. 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 bằng cách nuôi trên sâu sống. Thông thường người ta sản xuất loài *Vairimorpha necatrix* (V.n).

Loài V.n được sử dụng nhiều, bởi 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 người ta 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 hoá bằng máy ly tâm. Pha loãng 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 x 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 hoá 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 HgCl₂ 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 hoá bào tử. Để thu được bào tử thuần

chúng cần phải dùng cách lọc 4 tầng vải thô rồi qua máy ly tâm lại 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 thế 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*, *hyphaniviridae*, *Nosema melolothae*, *Glugea pyraustae*, *Glugae gasii*, *Haplosporidium tyographi*.

III. TĂNG HIỆU QUẢ PHÒNG TRỪ SÂU BẰNG VI SINH VẬT

1. Tăng cường 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 lúa này sang lúa 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 sấu 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 mồi sấu bò lên ngọn cây nhờ mưa gió mà lây cho sấu 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 hoá 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 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 thường gặp sâu bị chết do virus.

2. 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, tuyến trùng thường có vỏ bao ngủ nghỉ trong nhiều năm vẫn không bị phá hoại. Vỏ 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

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 chết 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 thuyên đốm trắng *Clostera* có tiềm ẩn trong tấm nhà, 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. 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.

3. Gây dịch bệnh côn trùng

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

- + 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 dài, 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 lan 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. Có thể lợi dụng phối hợp chúng với nhau để tạo ra điều kiện có lợi nhất cho phòng trừ. 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 có thể xây dựng mô hình dịch bệnh. 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, luôn luôn phụ thuộc vào mật độ sâu và điều kiện môi trường. Ví dụ nấm mốc sâu bọ hung xâm nhiễm vào bọ hung cổ ngắn 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.

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 này mật độ cao không những gây hại cho cây, mà thậm chí gây ra hiện tượng thiếu thức ăn, do tự trao đổi chất nhiều và phá huỷ môi trường sống của bản thân chúng. Vì sinh vật gây bệnh côn trùng càng bé sinh sản càng nhanh, ví dụ vi khuẩn 20 phút sinh sản một 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 virus nhiều, sinh sản nhanh là nguyên nhân khống chế quần thể sâu hại.

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 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 hoá học nào đó diệt chúng trước khi phát dịch sâu, mật độ sâu giảm xuống, dịch bệnh cũng ngừng lại.

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 một lần ở mức cao, nếu điều kiện thức ăn đầy đủ sâu vẫn 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 là đã trở thành nguồn lây bệnh.

Vật gây bệnh sinh sản trên cơ sở 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.

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 giảm đến mức rất thấp. Những côn trùng ký sinh thường phát huy tác dụng khi mật độ sâu ở mức trung bình hoặc mức thấp, nhưng tác dụng của chúng chậm, chỉ khống chế sâu ở mức nhất định. Điều này rất quan trọng để sử dụng thiên địch sâu hại. Tuy nhiên trong tự nhiên các loài thường bổ sung hỗ trợ cho nhau, thông thường sau mật độ sâu cao là bệnh côn trùng và sau đó là côn trùng ký sinh. Động vật thiên địch cũng có tác dụng khống chế khi mật độ sâu hại thấp.

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.

Vi khuẩn B.t có khả năng hình thành các 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 khống chế quần thể bộ hung lâu dài. Nếu tính chống chịu bệnh của côn trùng yếu, sau khi sâu bị bệnh chết, tế bào dinh dưỡng của vi khuẩn trong côn trùng không kịp hình thành bào mầm sẽ chết rất nhanh. Trong điều kiện nào đó, có thể là nguyên nhân không gây thành dịch bệnh.

Quần thể côn trùng bị bệnh dịch có thể nhanh chóng hồi phục 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, kiểu hình đa dạng sẽ làm tăng thêm phạm vi chịu đựng của quần thể.

Sử dụng thuốc hoá học có thể diệt hàng loạt côn trùng, nhưng về 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.

+ Diễn biến chất lượng quần thể và dịch bệnh

Thực tế cho thấy 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 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.

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 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 xâm nhiễm rất nhanh. Kết quả là sâu cái chết nhiều hơn sâu đực và làm cho số lượng quần thể ong ăn lá thông giảm xuống.

+ 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. Kiểu sinh thái 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.

+ Vi sinh vật gây bệnh tồn tại lâu dài trong

quần thể côn trùng cũng ảnh hưởng đến chất lượng quần thể.

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 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: phải dùng những biện pháp ít ảnh hưởng đến môi trường tự nhiên, ức chế sự tăng trưởng sâu hại.

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 vôn sam từ châu Mỹ sang châu Âu và cứu

vẫn được rừng vân sam bị hại. Nhập nội NPV, GV vào các đảo dừa Ấn Độ phòng trừ sâu non bọ sừng đục ngọn dừa cứu được 2.600 ha 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.

Vật gây bệnh có thể thu được thành công hay không phải 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 của chúng*.

Ngoài ra phương thức kéo dài vật gây bệnh không phải tiêu diệt nhanh hàng loạt vật chủ làm sao để vật chủ tồn tại để vật gây bệnh tồn tại.

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 có 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 nhậy

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 phòng trừ dịch hại đối với sâu hại.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Tủ sách khuyến nông phục vụ người lao động

1. Mai Phương Anh, Trần Khắc Thi, Trần Văn Lài: *Rau và trồng rau*. Nxb Nông nghiệp - 1996.
2. Bùi Chí Bửu - Nguyễn Thị Lang: *Ứng dụng công nghệ sinh học trong cải tiến giống lúa* - Nxb Nông nghiệp - 1995.
3. Luyện Hữu Chỉ và cộng sự. 1997. *Giáo trình giống cây trồng*.
4. *Công nghệ sinh học và một số ứng dụng ở Việt Nam*. Tập II. Nxb Nông nghiệp - 1994.
5. G.V. Guliaeb, IU.L. Guljop. *Chọn giống và công tác giống cây trồng* (bản dịch) Nxb Nông nghiệp - 1978.
6. Cục Môi trường. *Hiện trạng môi trường Việt Nam và định hướng trong thời gian tới*. Tuyển tập Công nghệ môi trường, Hà Nội, 1998.
7. Lê Văn Cát. *Cơ sở hóa học và kỹ thuật xử lý nước*. Nxb Thanh Niên, Hà Nội, 1999.
8. Chương trình KT-02, *Bảo vệ môi trường và phát triển bền vững*, Tuyển tập các báo cáo khoa học tại Hội nghị khoa học về Bảo vệ môi trường và PTBV, Hà Nội, 1995.
9. *Dự báo thế kỷ XXI*, Nxb Thống Kê, 6/1998.
10. Lê Văn Khoa và Trần Thị Lành, *Môi trường và phát triển bền vững ở miền núi*, Nxb Giáo dục, 1997.
11. *Luật Tài nguyên nước*, Nxb Chính trị quốc gia, 1998.
12. Lê Văn Nãi, *Bảo vệ môi trường trong xây dựng cơ bản*, Nxb Khoa học kỹ thuật, Hà Nội, 1999.

MỤC LỤC

	Trang
<i>Lời nói đầu</i>	5
I. VÀI NÉT VỀ SỬ DỤNG VI SINH VẬT GÂY BỆNH CHO SÂU HẠI	7
II. CÁC PHƯƠNG PHÁP ỨNG DỤNG CÔNG NGHỆ SINH HỌC ĐỂ TRỪ SÂU HẠI	28
III. TĂNG HIỆU QUẢ PHÒNG TRỪ SÂU BẰNG VI SINH VẬT	117
<i>Tài liệu tham khảo</i>	134

PHÒNG TRỪ SÂU HẠI BẰNG CÔNG NGHỆ VI SINH

NHÀ XUẤT BẢN LAO ĐỘNG - 175 GIẢNG VÕ - HÀ NỘI

ĐT: 8439543 - 7366932 - 8515380 Fax: 8515381

Chịu trách nhiệm xuất bản:

PHAN ĐÀO NGUYỄN

Chịu trách nhiệm bản thảo:

TRẦN DŨNG

Biên tập:

LÊ THỊ NHƯỜNG

Vẽ bìa:

TRƯỜNG GIANG

Sửa bản in:

LÊ NGÀ

In 3000 cuốn, khổ 13 x 19 cm, tại nhà in Công ty Hữu Nghị.
Giấy phép xuất bản số: 70-2006/CXB/49-03/LĐ.
Cấp ngày 08 tháng 03 năm 2006.
In xong và nộp lưu chiểu Quý II năm 2006.

TỦ SÁCH KHUYẾN NÔNG PHỤC VỤ NGƯỜI LAO ĐỘNG

Phòng trừ sâu hại bằng công nghệ vì sinh



NHÀ XUẤT BẢN LAO ĐỘNG

phương pháp phòng chống



1

006050

400158

14.000 VNĐ

GIÁ: 14.000