



DOI:10.22144/ctu.jvn.2021.098

HIỆU QUẢ CỦA CÁC CHỦNG VIRUS *Spodoptera exigua* Nucleopolyhedrovirus (SeNPV) TRÊN SÂU XANH DA LÁNG, *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae) TRONG ĐIỀU KIỆN PHÒNG THÍ NGHIỆM

Trịnh Thị Xuân^{1*}, Trương Thanh Xuân Liên², Dương Thị Thu Nhi³ và Trần Văn Hai⁴

¹Bộ môn bảo vệ Thực vật, Khoa Nông nghiệp, Trường Đại học Cần Thơ

²Viện Cây ăn quả Miền Nam

³Phòng Nông nghiệp huyện Châu Phú, Tỉnh An Giang

⁴Hội Côn trùng học Việt Nam

*Người chịu trách nhiệm về bài viết: Trịnh Thị Xuân (email: trinhthixuan@ctu.edu.vn)

Thông tin chung:

Ngày nhận bài: 07/10/2020

Ngày nhận bài sửa: 25/02/2021

Ngày duyệt đăng: 25/06/2021

Title:

Efficacy of *Spodoptera exigua* Nucleopolyhedrovirus (SeNPV) for controlling on beet armyworm, *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae) under laboratory conditions

Từ khóa:

Baculoviridae, sâu xanh da láng, *Spodoptera exigua*, *Spodoptera exigua* nucleopolyhedrovirus (SeNPV), thể vùi

Keywords:

Baculoviridae, beet armyworm, *Spodoptera exigua*, *Spodoptera exigua* nucleopolyhedrovirus (SeNPV), occlusion bodies

ABSTRACT

The beet armyworm, *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae) is the key pest threatening the production of vegetables in the Mekong Delta. Chemical insecticides have failed to control of this pest as this has developed resistance to almost all synthetic insecticides available. The insect pathogen, *Spodoptera exigua* nucleopolyherovirus (SeNPV) has been developed as a commercial biopesticides for control of beet armyworm. Studies were carried out to determine LC_{50} and LT_{50} values under laboratory conditions by using the first to fifth instars larvae with droplet feeding method. The lethal concentration (LC_{50}) values of SeNPV against 1st, 2nd and 3rd instars larvae indicated $(2.0-8.6) \times 10^1$ OBS/ml; $(0.22-20) \times 10^2$ OBS/ml; $(17-0.31) \times 10^3$ OBS/ml; $(0.14-7.8) \times 10^5$ OBS/ml and $(1.5-0.32) \times 10^7$ OBS/ml; respectively. The lethal time required to cause 50% mortality (LT_{50}) for the larvae at the first to fifth instars ranges from 62.26 to 69.00 hours post inoculation (h.p.i); 102.00 to 113.26 h.p.i; 123.24 to 127.99 h.p.i; 139.51 to 152.50 h.p.i and 163.51 to 180.50 h.p.i; respectively.

TÓM TẮT

Sâu xanh da láng, tên khoa học là *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae) là đối tượng gây hại chủ yếu trên nhiều loại rau màu tại ĐBSCL. Sử dụng thuốc hóa học hầu như không hiệu quả vì sâu đã phát triển tính kháng thuốc. Tác nhân gây bệnh côn trùng, *Spodoptera exigua* nucleopolyhedrovirus (SeNPV) đã được phát triển như một loại thuốc trừ sâu sinh học thương mại để kiểm soát đối tượng này. Nghiên cứu được thực hiện nhằm xác định giá trị LC_{50} và LT_{50} của virus SeNPV chống lại ấu trùng sâu từ tuổi 1 đến tuổi 5 với phương pháp nhỏ giọt thức ăn. Kết quả cho thấy giá trị LC_{50} (nồng độ gây chết 50% cá thể) của virus SeNPV đối với sâu tuổi 1, 2, 3, 4 và 5 lần lượt là $(2,0-8,6) \times 10^1$ OBS/ml; $(0,22-20) \times 10^2$ OBS/ml; $(17-0,31) \times 10^3$ OBS/ml; $(0,14-7,8) \times 10^5$ OBS/ml và $(1,5-0,32) \times 10^7$ OBS/ml. Thời gian gây chết 50% cá thể (LT_{50}) của sâu từ tuổi 1 đến tuổi 5 dao động lần lượt từ 62,26 tới 69,00 giờ sau khi lây nhiễm (h.p.i); 102,00 tới 113,26 h.p.i; 123,24 tới 127,99 h.p.i; 139,51 tới 152,50 h.p.i và 163,51 tới 180,50 h.p.i.

1. MỞ ĐẦU

Sâu xanh da láng có tên khoa học là *Spodoptera exigua* được ghi nhận lần đầu tiên tại Hoa Kỳ năm 1876, sau đó lan rộng ra Trung và Nam Mỹ, *Spodoptera exigua* có thể gây hại trên 200 loài cây trồng, thuộc 40 họ khác nhau đặc biệt là nhóm cây rau màu như cây hành, cây thuộc họ đậu, họ bầu bí, họ thập tự, họ cà, cây bông vải, cây bắp, cây nho,.... *Spodoptera exigua* hiện diện khắp nơi trên thế giới và gây hại phổ biến ở vùng khí hậu ôn đới và nhiệt đới như miền Nam châu Á và châu Phi, Nam Âu và Trung Âu, châu Úc và Nam Mỹ (Nguyễn Văn Huỳnh & Lê Thị Sen, 2013). Tại Hoa Kỳ, *Spodoptera exigua* là dịch hại chính trên cây bông vải và xuất hiện hàng năm tại Alabama, Georgia, Mississippi và Texas. Tại Việt Nam, *Spodoptera exigua* xuất hiện từ Bắc đến Nam, tuy nhiên ở vùng nóng phía Nam, sâu xuất hiện phổ biến và gây hại nghiêm trọng hơn các vùng khác. Cho đến nay, thuốc bảo vệ thực vật luôn luôn được người dân sử dụng để quản lý hai loại sâu hại này, nhiều nơi nông dân đã phun từ 10 – 15 lần thuốc hóa học/vụ.

Siêu vi khuẩn thiên địch Nucleopolyhedrovirus (NPV) thuộc họ Baculoviridae là loại virus ký sinh côn trùng được xem là có triển vọng trong việc kiểm soát côn trùng thuộc bộ Lepidoptera đặc biệt là côn trùng thuộc chi *Spodoptera*. Có rất nhiều các công trình nghiên cứu đã phân lập được chủng virus điển hình tại Đồng bằng sông Cửu Long đã thu thập và định danh được 20 chủng virus *SeNPV* gây bệnh trên sâu xanh da láng, *Spodoptera exigua* và 28 chủng virus *SpltNPV* trên sâu ăn tạp, *Spodoptera litura* (Trịnh Thị Xuân và ctv., 2014; Trịnh Thị Xuân và ctv., 2016b). Đây là một đối tượng vi sinh vật đã được nghiên cứu và phát triển sản xuất theo phương pháp công nghiệp thành dạng thuốc trừ sâu thương mại như Gemstar, Virin-HS, Spod-X, Ness-A, Ness-E, Spodopterin, Capex 2.... được bán ra thị trường để phòng trừ các loại sâu hại cây trồng phổ biến như sâu ăn tạp, *Spodoptera litura*, sâu đo *Trichoplusia ni*, sâu xanh da láng *Spodoptera exigua*, sâu xanh bông *Heliothis armigera*, sâu tơ *Plutella xylostella*, sâu cuốn lá trà *Adoxophyes orana*, sâu xếp lá trà *Honoma magnanima* (Kunimi, 2005; Kunimi, 2007; Huỳnh Nguyễn Quang Tuấn và ctv., 2014; Trịnh Thị Xuân và ctv., 2016c).

Trong báo cáo này trình bày các kết quả nghiên cứu về nồng độ, thời gian cũng như năng suất thu hồi của virus NPV trên các giai đoạn của sâu xanh da láng trong điều kiện phòng thí nghiệm.

2. PHƯƠNG TIỆN VÀ PHƯƠNG PHÁP

Nguồn sâu: tiến hành thu mẫu ấu trùng *S. litura* ngoài đồng trên những ruộng rau màu sau đó chuyển về phòng thí nghiệm Phòng trừ sinh học, Khoa Nông nghiệp, trường Đại học Cần Thơ. Trong điều kiện phòng thí nghiệm, ấu trùng sâu được nhân nuôi trong các hộp nhựa (10 x 20 x 20 cm) có nắp đậy thông gió với thức ăn nhân tạo (Trịnh Thị Xuân và ctv., 2016a). Khi sâu hóa nhộng, vũ hóa thành trùng, phân biệt nhộng đực cái và chuyển sang bọc giấy có bổ sung 10% nước đường, để thành trùng đẻ trứng, cất những ổ trứng và khử bề mặt trứng bằng formalin 3% trong 5 phút, rửa ổ trứng dưới nước cất. Làm khô ráo và đặt ổ trứng vào đĩa petri nhựa có đường kính 9cm đến khi trứng nở sâu non phục vụ thí nghiệm.

Nguồn virus *SeNPV*: bốn chủng virus *SeNPV* được chọn lựa từ 20 chủng virus phân lập được tại ĐBSCL (Trịnh Thị Xuân và ctv., 2016b) đại diện cho 4 địa điểm thu mẫu là Vĩnh Long, Cần Thơ, Đồng Tháp và An Giang ký hiệu lần lượt là *SeNPV-VL*₅; *SeNPV-CT*₃; *SeNPV-ĐT*₂ và *SeNPV-AG*₁. Tiến hành nhân nguồn để phục vụ các thí nghiệm, với mỗi chủng virus lây nhiễm trên ấu trùng của *S. exigua* tuổi 4 qua phương pháp droplet – feeding (Hughes & Wood, 1981; Hughes *et al.*, 1986) ở nồng độ 5 x 10⁵ OBs/ấu trùng, nuôi riêng lẻ trong hộp nhựa trong điều kiện phòng thí nghiệm và bổ sung thức ăn nhân tạo hàng ngày. Sau khi lây nhiễm virus 4 ngày ngừng cho ăn và thu xác sâu đưng vào ống Falcon 50 mL và ly tâm theo quy trình đã được mô tả của Hunter-Fujita *et al.* (1998) để thu virus tinh khiết làm dung dịch gốc (stock). Nồng độ thể vùi (OBs – Oclusions bodies) của virus được xác định bằng buồng đếm hồng cầu, sau đó trữ ở điều kiện -20°C để phục vụ các nội dung nghiên cứu.

Xác định giá trị LC₅₀ của các chủng virus *SeNPV* ở các giai đoạn tuổi sâu

Thí nghiệm được thực hiện trên các giai đoạn phát triển của *S. litura* từ tuổi 1 đến tuổi 5; chín dãy nồng độ sử dụng trong thí nghiệm là từ 10¹ đến 10⁹ Obs/ml. Ở mỗi giai đoạn tuổi sâu sử dụng 120 ấu trùng/nồng độ, trước khi lây nhiễm, cân trọng lượng của mỗi giai đoạn tuổi sâu để xác định độ đồng đều khi thực hiện thí nghiệm. Sử dụng phương pháp droplet – feeding có chứa thể vùi virus, bổ sung thêm 20% nước đường + 2% phẩm màu đỏ (Kyoritou Food Co. Ltd., Tokyo); liều lượng virus trên mỗi ấu trùng sâu là 1,0; 1,5; 2,5; 3,0; và 5,0 μL (tương ứng với sâu tuổi 1; 2; 3; 4 và 5).

Ghi nhận chỉ tiêu: quan sát, ghi nhận số sâu chết hàng ngày và phân tích kết quả probit bằng chương trình POLO (Russell *et al.*, 1977), từ đó xác định

được LC₅₀ của mỗi chủng virus tương ứng với từng giai đoạn tuổi của sâu.

Xác định giá trị LT₅₀ của các chủng virus SeNPV ở các giai đoạn tuổi sâu

Thí nghiệm xác định giá trị LT₅₀ (Lethal time – thời gian gây chết 50% cá thể sâu thí nghiệm): Dựa vào kết quả của thí nghiệm LC₅₀ và tham khảo kết quả của Sun (2005) chọn ra được 01 nồng độ phù hợp cho từng giai đoạn tuổi của *S. exigua* để xác định LT₅₀. Thí nghiệm được thực hiện trên sâu tuổi 1 đến tuổi 5, ở mỗi giai đoạn cân đo trọng lượng của từng giai đoạn tuổi để tạo sự đồng đều của sâu, mỗi giai đoạn tương ứng với từng nồng độ virus thích hợp là 2,5 x 10¹; 2,5 x 10²; 2,5 x 10³; 2,5 x 10⁴ và 2,5 x 10⁵ Obs/mL (tương ứng từ tuổi 1 đến tuổi 5).

Ghi nhận chỉ tiêu: quan sát thời gian sâu chết hàng ngày, từ đó tính thời gian trung bình sâu chết bằng sử dụng ước lượng Kaplan – Meier (Collett, 1994; Kalbfleisch & Prentice, 1980;).

Năng suất thu hồi thể vùi của các chủng virus SeNPV đối với sâu xanh da láng

Trong nghiên cứu về virus gây bệnh côn trùng, chỉ tiêu về năng suất thu hồi của virus rất quan trọng bởi vì tác nhân virus không thể nhân nuôi trên môi trường nhân tạo mà chỉ có thể được nhân nuôi trên chính ký chủ mà ở đó virus được xác định (Ignoffo & Couch, 1981). Vì vậy, việc xác định năng suất của virus SeNPV cũng là bước đầu để tính toán lượng virus đạt được trên mỗi giai đoạn tuổi sâu cao nhất, từ đó lựa chọn nồng độ, độ tuổi phù hợp cho sản xuất virus tạo chế phẩm sinh học.

*** Năng suất thể vùi/100 ấu trùng:** Thí nghiệm được thực hiện bằng phương pháp lây nhiễm bề mặt thức ăn (Shorey & Hale, 1965). Phương pháp thực hiện như sau sử dụng 1,0 mL dung dịch huyền phù virus SeNPV ở các nồng độ tương ứng trộn đều với thức ăn nhân tạo (mỗi giai đoạn sâu tương ứng với trọng lượng, kích thước của thức ăn phù hợp). Sau đó thả 100 ấu trùng/tuổi/chủng virus cho tiếp xúc với thức ăn đã bị nhiễm virus, sau khi lây nhiễm 5 ngày tiến hành ngừng cho ăn, thu sâu cho vào ống Falcon 50 mL và trữ lạnh -20°C và nghiền nhỏ để tính toán năng suất thể vùi.

Cách tính năng suất thể vùi virus như sau: nghiền tất cả xác sâu với 10 mL (sâu tuổi 1 và 2), 100 mL (sâu tuổi 3, 4 và 5) nước cất thanh trùng, lọc dung dịch với vải lọc hai lần và máy ly tâm theo quy trình của Kunimi and Nakai, 200. Mật số thể vùi được xác định bằng buồng đếm hồng cầu dưới kính hiển vi tương phản pha.

*** Năng suất virus/1 ấu trùng:** thí nghiệm được thực hiện bằng phương pháp droplet – feeding (Hughes and Wood, 1981; Hughes *et al.*, 1986; Kunimi & Nakai, 2001) với 3 lần lặp lại, mỗi lặp lại tương ứng với 20 ấu trùng/tuổi/chủng virus, nồng độ và liều lượng mỗi giai đoạn tương ứng với từng nồng độ virus thích hợp là 1,0 x 10³; 1,0 x 10⁴; 1,0 x 10⁵; 1,0 x 10⁶ và 1,0 x 10⁷Obs/mL (tương ứng từ tuổi 1 đến tuổi 5). Sau khi lây nhiễm 5 ngày, tiến hành ngừng cho ăn và chuyển từng cá thể sâu vào ống eppendorf 1 mL. Tiến hành nghiền xác sâu và sử dụng buồng đếm hồng cầu dưới kính hiển vi tương phản pha để tính toán lượng thể vùi trong một ấu trùng.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

*** Nồng độ gây chết (LC₅₀) chủng virus SeNPV đối với các giai đoạn tuổi của *S. exigua* trong điều kiện phòng thí nghiệm**

Bốn chủng virus SeNPV thu thập được khảo sát để xác định nồng độ LC₅₀ thông qua sự tính toán số liệu sâu chết ở mỗi độ tuổi của sâu. Kết quả (Bảng 1) đã xác định được chủng virus SeNPV-VL₅ có giá trị LC₅₀ từ tuổi 1 đến tuổi 5 lần lượt đạt 2,0 x 10¹; 2,2 x 10¹; 1,6 x 10³; 3,3 x 10⁵ và 1,7 x 10⁷ OBS/mL. Chủng SeNPV-CT₃ cho kết quả giá trị LC₅₀ là 5,2 x 10¹; 2,0 x 10³; 3,1 x 10⁴; 8,8 x 10⁴ và 3,4 x 10⁷ OBS/mL. Chủng SeNPV-ĐT₂ cho kết quả giá trị LC₅₀ là 8,6 x 10¹; 1,3 x 10²; 5,0 x 10²; 7,8 x 10⁵ và 3,2 x 10⁸ OBS/mL. Đối với chủng SeNPV-AG₁ cho kết quả LC₅₀ là 2,2 x 10¹; 3,3 x 10¹; 1,7 x 10²; 1,4 x 10⁴ và 1,5 x 10⁷ OBS/mL.

Bên cạnh đó, thí nghiệm cũng xác định được ở mỗi giai đoạn độ tuổi của sâu sẽ tương ứng với nồng độ (độc lực) cao nhất, ở sâu tuổi 1 thể hiện chủng virus SeNPV-VL₅ có độc lực cao nhất (LC₅₀ = 2,0 x 10¹ OBS/mL). Đối với giai đoạn sâu tuổi 2 thì chủng virus SeNPV-VL₅ thể hiện độc lực cao nhất (LC₅₀ = 2,2 x 10¹ OBS/mL) và chủng SeNPV-CT₃ (LC₅₀ = 2,0 x 10³ OBS/mL) có độ độc thấp nhất. Tương tự giai đoạn sâu tuổi 3, kết quả cho thấy chủng SeNPV-AG₁ thể hiện độc lực cao nhất (LC₅₀ = 1,7 x 10² OBS/mL) và chủng SeNPV-CT₃ cho độc lực thấp nhất (LC₅₀ = 3,1 x 10⁴ OBS/mL). Đến giai đoạn sâu tuổi 4 thì đã chọn ra được chủng SeNPV-AG₁ thể hiện độc lực cao nhất (LC₅₀ = 1,4 x 10⁴ OBS/mL), chủng SeNPV-ĐT₂ thể hiện độc lực thấp nhất (LC₅₀ = 7,8 x 10⁵ OBS/mL). Ở giai đoạn sâu tuổi 5 chủng SeNPV-AG₁ thể hiện độc lực cao nhất (LC₅₀ = 1,5 x 10⁷ OBS/mL) trong khi chủng SeNPV-ĐT₂ thể hiện độc lực thấp nhất (LC₅₀ = 3,2 x 10⁸ OBS/mL).

Như vậy, nồng độ gây chết sâu thể hiện bằng số lượng thể vùi đi vào cơ thể và gây chết sâu, kết quả nghiên cứu này cho thấy giá trị LC₅₀ ở các môi giai đoạn tuổi sâu khác nhau. Tuổi ấu trùng càng nhỏ thì nồng độ gây chết sâu càng thấp và thể hiện độ miễn cảm của ấu trùng đối với virus *SeNPV* càng cao. Tương tự như vậy, các báo cáo trước đây khi nghiên cứu về tính độc của NPV trên ký chủ như *S. littoralis* MNPV (McKinley, 1979), *H. zea* SNPV (Allen & Ignoffo, 1969), *H. armigera* SNPV và MNPV, *H. virescens* SNPV (Hughes *et al.*, 1986) đều gây chết sâu ở độ tuổi nhỏ nhất với nồng độ thấp nhất. Ngoài ra, Takatsuka *et al.* (2002) cũng xác định được giá

trị LC₅₀ của virus *SeNPV* đối với *S. exigua* tuổi 2 là 3,0 OBS/ấu trùng. Bên cạnh nồng độ đã được xác định, kết quả nghiên cứu cũng ghi nhận độ dốc của 4 chủng virus *SeNPV* thử nghiệm không có sự chênh lệch đáng kể dao động trong khoảng 0,2 – 0,8 điều này thể hiện ấu trùng *S. exigua* ở các giai đoạn rất miễn cảm đối với các chủng virus *SeNPV* thử nghiệm do đó virus *SeNPV* có khả năng gây chết ấu trùng trong thời gian ngắn với nồng độ thấp. Độ dốc càng thấp từ 0,1 – 0,9 thì tính miễn cảm của ấu trùng đối với mầm bệnh càng cao, độ dốc càng cao từ 1,0 – 2,0 thì tính miễn cảm của ấu trùng đối với mầm bệnh càng thấp.

Bảng 1: Nồng độ gây chết trung bình 50% cá thể của *S. exigua* trong điều kiện PTN, Bộ môn BVTV – ĐHCT

T= 28,3⁰C ± 2; H= 63,8% ± 3,7

Tuổi sâu	Trọng lượng (mg±SE)	Chủng virus	Độ dốc	Giá trị Y	LC ₅₀	Giới hạn mức 95%		X ²	df
						Giới hạn trên	Giới hạn dưới		
1	0,28 ± 0,12	<i>SeNPV</i> -VL ₅	0,3	0,5	2,0 x 10 ¹	1,3 x 10 ²	0,8 x 10 ⁰	1,6	3
	0,31 ± 0,12	<i>SeNPV</i> -CT ₃	0,5	0,8	5,2 x 10 ¹	4,7 x 10 ²	5,8 x 10 ¹	2,3	3
	0,32 ± 0,11	<i>SeNPV</i> -ĐT ₂	0,4	1,5	8,6 x 10 ¹	1,2 x 10 ²	0,6 x 10 ⁰	4,5	3
	0,29 ± 0,28	<i>SeNPV</i> -AG ₁	0,4	1,6	2,2 x 10 ¹	1,3 x 10 ²	0,3 x 10 ⁰	4,8	3
2	2,14 ± 0,29	<i>SeNPV</i> -VL ₅	0,3	0,5	2,2 x 10 ¹	2,7 x 10 ²	1,8 x 10 ¹	1,4	3
	2,27 ± 0,23	<i>SeNPV</i> -CT ₃	0,6	2,5	2,0 x 10 ³	6,7 x 10 ³	9,7 x 10 ²	7,4	3
	2,65 ± 0,19	<i>SeNPV</i> -ĐT ₂	0,4	1,5	1,3 x 10 ²	1,7 x 10 ²	0,91 x 10	4,5	3
	2,43 ± 0,12	<i>SeNPV</i> -AG ₁	0,4	2,0	3,3 x 10 ¹	1,9 x 10 ²	0,41 x 10	5,9	3
3	3,53 ± 0,42	<i>SeNPV</i> -VL ₅	0,5	0,7	1,6 x 10 ³	2,8 x 10 ³	3,1 x 10 ²	2,0	3
	3,34 ± 0,61	<i>SeNPV</i> -CT ₃	0,8	3,8	3,1 x 10 ⁴	7,6 x 10 ⁴	1,3 x 10 ⁴	1,3	3
	3,56 ± 0,32	<i>SeNPV</i> -ĐT ₂	0,3	0,5	5,0 x 10 ²	1,8 x 10 ³	1,4 x 10 ²	1,6	3
	3,49 ± 0,48	<i>SeNPV</i> -AG ₁	0,4	1,3	1,7 x 10 ²	3,7 x 10 ²	0,9 x 10 ¹	3,9	3
4	20,45 ± 1,34	<i>SeNPV</i> -VL ₅	0,2	0,1	3,3 x 10 ⁵	1,0 x 10 ⁶	1,9 x 10 ⁷	0,5	3
	20,82 ± 1,30	<i>SeNPV</i> -CT ₃	0,3	1,1	8,8 x 10 ⁴	3,4 x 10 ⁴	2,3 x 10 ⁵	5,3	3
	20,72 ± 1,98	<i>SeNPV</i> -ĐT ₂	0,2	0,2	7,8 x 10 ⁵	1,1 x 10 ⁶	9,2 x 10 ⁴	0,5	3
	20,42 ± 1,62	<i>SeNPV</i> -AG ₁	0,4	2,5	1,4 x 10 ⁴	2,6 x 10 ³	5,7 x 10 ⁴	2,5	3
5	116,64 ± 14,3	<i>SeNPV</i> -VL ₅	0,2	0,3	1,7 x 10 ⁷	4,0 x 10 ⁷	1,4 x 10 ⁹	1,4	3
	115,74 ± 13,6	<i>SeNPV</i> -CT ₃	0,2	0,1	3,4 x 10 ⁷	1,0 x 10 ⁷	1,9 x 10 ⁸	0,5	3
	116,16 ± 17,2	<i>SeNPV</i> -ĐT ₂	0,4	0,3	3,2 x 10 ⁸	8,3 x 10 ⁷	2,4 x 10 ⁹	1,5	3
	119,76 ± 16,7	<i>SeNPV</i> -AG ₁	0,2	0,9	1,5 x 10 ⁷	4,3 x 10 ⁶	9,1 x 10 ⁷	4,3	3

Các số liệu được xử lý theo chương trình POLO – PC

*** Thời gian gây chết (LT₅₀) của các chủng virus *SeNPV* đối với các giai đoạn tuổi của *S. exigua* trong điều kiện phòng thí nghiệm**

Kết quả thí nghiệm xác định thời gian trung bình gây chết của 4 chủng virus *SeNPV* ở các giai đoạn

tuổi khác nhau của *S. exigua* được tính theo giờ và ngày sau khi lây nhiễm thể hiện ở Bảng 2. Ở giai đoạn tuổi 1, tất cả các chủng virus *SeNPV* đều có thời gian gây chết tương đương qua phân tích thống kê từ 62,26 đến 69,0 giờ (tương đương với 2,59 đến 2,89 ngày sau khi lây nhiễm).

Bảng 2. Thời gian gây chết trung bình (LT₅₀) của *S. exigua* ở các giai đoạn tuổi khác nhau trong điều kiện phòng thí nghiệm

T = 25,3⁰C ± 2,0; H = 65,8% ± 3,0

Tuổi sâu	Trọng lượng (mg ±SE)	Nồng độ (OBs/mL)	Chủng virus	LT ₅₀ (GSLN)	LT ₅₀ (NSLN)	Giới hạn mức 95%		SE
						Trên	Dưới	
1	0,29 ± 0,09	2,5 x 10 ¹	<i>SeNPV-VL₅</i>	69,00	2,88	2,68	3,07	0,10
	0,34 ± 0,03	2,5 x 10 ¹	<i>SeNPV-CT₃</i>	67,99	2,83	2,65	3,02	0,09
	0,37 ± 0,06	2,5 x 10 ¹	<i>SeNPV-ĐT₂</i>	64,25	2,68	2,49	2,86	0,09
	0,54 ± 0,32	2,5 x 10 ¹	<i>SeNPV-AG₁</i>	62,26	2,59	2,47	2,72	0,06
	CV (%)			7,91 (ns)				
2	2,22 ± 0,36	2,5 x 10 ²	<i>SeNPV-VL₅</i>	102,00 ^c	4,25	3,91	4,59	0,17
	2,28 ± 0,31	2,5 x 10 ²	<i>SeNPV-CT₃</i>	113,26 ^a	4,72	4,41	5,03	0,16
	2,74 ± 0,26	2,5 x 10 ²	<i>SeNPV-ĐT₂</i>	109,25 ^b	4,55	4,25	4,85	0,15
	2,10 ± 0,17	2,5 x 10 ²	<i>SeNPV-AG₁</i>	113,26 ^a	4,72	4,43	5,01	0,15
	CV (%)			2,08 (**)				
3	3,44 ± 0,39	2,5 x 10 ³	<i>SeNPV-VL₅</i>	123,24	5,14	4,81	5,47	0,17
	3,12 ± 0,71	2,5 x 10 ³	<i>SeNPV-CT₃</i>	123,50	5,15	4,81	5,49	0,17
	3,48 ± 0,46	2,5 x 10 ³	<i>SeNPV-ĐT₂</i>	124,75	5,19	4,84	5,56	0,18
	3,41 ± 0,55	2,5 x 10 ³	<i>SeNPV-AG₁</i>	127,99	5,33	5,04	5,63	0,15
	CV (%)			3,99 (ns)				
4	20,96 ± 1,14	2,5 x 10 ⁴	<i>SeNPV-VL₅</i>	139,51 ^c	5,81	5,45	6,19	0,19
	21,68 ± 1,26	2,5 x 10 ³	<i>SeNPV-CT₃</i>	149,50 ^{ab}	6,22	5,92	6,54	0,16
	19,93 ± 2,28	2,5 x 10 ³	<i>SeNPV-ĐT₂</i>	144,00 ^{bc}	6,00	5,65	6,35	0,18
	20,02 ± 1,30	2,5 x 10 ³	<i>SeNPV-AG₁</i>	152,50 ^a	6,35	6,03	6,68	0,17
	CV (%)			3,22 (*)				
5	112,64 ± 15,9	2,5 x 10 ⁵	<i>SeNPV-VL₅</i>	171,24 ^{bc}	7,14	6,79	7,49	0,18
	117,74 ± 12,54	2,5 x 10 ⁵	<i>SeNPV-CT₃</i>	163,51 ^c	6,81	6,40	7,22	0,21
	116,16 ± 13,19	2,5 x 10 ⁵	<i>SeNPV-ĐT₂</i>	177,24 ^{ab}	7,39	6,99	7,78	0,20
	121,76 ± 15,52	2,5 x 10 ⁵	<i>SeNPV-AG₁</i>	180,50 ^a	7,52	7,17	7,88	0,18
	CV (%)			4,34 (*)				

Giá trị LT được phân tích bằng phần mềm Kaplan Meier Estimator, Kalbfleisch and Prentices, 1990; Collett, 1994. NSLN: ngày sau lây nhiễm; GSLN: Giờ sau lây nhiễm; ns: không khác biệt; *: khác biệt ở mức ý nghĩa 5%; **: khác biệt ở mức ý nghĩa 1%

Đối với giai đoạn ấu trùng tuổi 2, có sự gia tăng về thời gian gây chết, chủng *SeNPV-VL₅* có thời gian gây chết nhanh nhất (102,00 giờ) và khác biệt với ba chủng còn lại qua phân tích thống kê. Thời gian gây chết trung bình của các chủng virus tiếp tục gia tăng ở giai đoạn sâu tuổi 3, 4 và 5. Chủng *SeNPV-VL₅* có thời gian gây chết sâu lần lượt đạt 123,24; 139,51 và 171,24 giờ, chủng *SeNPV-CT₃* đạt 123,50; 149,50 và 163,51 giờ, chủng *SeNPV-ĐT₂* đạt 124,75; 144,00 và 177,24 giờ; chủng *SeNPV-AG₁* đạt 127,99; 152,50 và 180,50 giờ.

Như vậy, thời gian trung bình gây chết *S. exigua* tăng lên tỷ lệ thuận với tuổi của sâu, tuổi sâu càng

cao thì thời gian gây chết sâu càng kéo dài và tùy vào mỗi chủng virus mà thời gian gây chết cũng khác nhau. Một báo cáo tương tự của Gelernter and Federici (1986) khi nghiên cứu thời gian gây chết sâu xanh da láng được thực hiện bằng phương pháp nhỏ giọt thức ăn cho kết quả sâu tuổi 1 có giá trị LT₅₀ từ 2,5 đến 3,2 ngày sau khi lây nhiễm.

*** Năng suất thể vùi virus thu được trên ấu trùng *S. exigua***

Hiệu suất thể vùi của virus *SeNPV* thu được trên ấu trùng *S. exigua* được trình bày ở Bảng 3 và Bảng 4.

Bảng 3. Năng suất thể vùi của virus SeNPV đạt được trên 100 ấu trùng *S. exigua* trong điều kiện phòng thí nghiệm

Chủng virus	Năng suất thể vùi (OBs/100 ấu trùng)				
	Tuổi 1	Tuổi 2	Tuổi 3	Tuổi 4	Tuổi 5
SeNPV-VL ₅	8,9 x 10 ⁷	8,6 x 10 ⁸	7,1 x 10 ¹¹	9,2 x 10 ¹¹	9,7 x 10 ¹¹
SeNPV-CT ₃	4,6 x 10 ⁸	5,7 x 10 ⁹	3,2 x 10 ¹⁰	4,6 x 10 ¹¹	9,5 x 10 ¹¹
SeNPV-ĐT ₂	2,7 x 10 ⁸	2,6 x 10 ⁹	3,9 x 10 ¹⁰	6,3 x 10 ¹²	4,1 x 10 ¹²
SeNPV-AG ₁	5,6 x 10 ⁸	4,7 x 10 ⁹	3,2 x 10 ¹⁰	7,5 x 10 ¹²	6,9 x 10 ¹²

Số liệu từ Bảng 3 cho thấy có sự khác biệt về năng suất thể vùi thu được giữa các giai đoạn tuổi ở mỗi chủng virus. Đối với giai đoạn ấu trùng *S. exigua* tuổi 1 và tuổi 2 nồng độ lây nhiễm ban đầu là 1 x 10⁴ OBs/2,5 g trộn vào thức ăn nhân tạo cho kết quả thể năng suất vùi thu từ 8,9 x 10⁷ đến 5,7 x 10⁹ OBs/100 ấu trùng. Tuổi sâu càng lớn thì năng suất thể vùi virus thu được càng cao, trong đó giai đoạn tuổi 4 lượng virus thu được ở các chủng đạt được từ 4,6 x 10¹¹ đến 7,5 x 10¹² OBs/100 ấu trùng. Như vậy, kết quả này có thể rút kết luận để sản xuất virus SeNPV trên *S. exigua* đạt năng suất cao thì giai đoạn sâu tuổi 4 là thích hợp nhất cho khả năng tạo mật số của virus và hai chủng SeNPV-ĐT₂ và SeNPV-AG₁ được xem là thích hợp dùng nhân nhanh mật số thể vùi.

Kết quả năng suất thể vùi của virus SeNPV được tính trên mỗi cá thể ấu trùng *S. exigua* ở Bảng 4 cho thấy, tất cả các chủng virus không có sự khác biệt qua phân tích thống kê giữa lượng virus thu được của 4 chủng virus ở giai đoạn ấu trùng *S. exigua* tuổi 1, 3 và 4. Đối với giai đoạn sâu tuổi 1 mật số đạt được từ (4,0 - 4,8) x 10⁵ OBs/ấu trùng, giai đoạn ấu trùng tuổi 3 và 4 thì mật số thể vùi thu được trên 1,3 x 10⁷ OBs/ấu trùng. Sự khác biệt về mật số thể vùi ở giai đoạn sâu tuổi 5 cho kết quả chủng SeNPV-AG₁ và SeNPV-CT₃ đạt năng suất thể vùi đạt cao nhất tương đương nhau lần lượt là 3,2 x 10⁸ và 2,8 x 10⁸ OBs/ấu trùng *S. exigua*.

Bảng 4. Năng suất thể vùi của virus SeNPV đạt được trên 1 ấu trùng *S. exigua* ở các giai đoạn tuổi khác nhau trong điều kiện phòng thí nghiệm

T = 25,3°C ± 2,0; H = 65,8% ± 3,0

Tuổi sâu	Năng suất thể vùi (OBs/ấu trùng)				
	Tuổi 1	Tuổi 2	Tuổi 3	Tuổi 4	Tuổi 5
SeNPV-VL ₅	4,0 x 10 ⁵	1,9 x 10 ^{6c}	3,2 x 10 ⁷	6,3 x 10 ⁷	1,4 x 10 ^{8c}
SeNPV-CT ₃	4,3 x 10 ⁵	7,7 x 10 ^{6a}	1,8 x 10 ⁷	6,2 x 10 ⁸	2,8 x 10 ^{8ab}
SeNPV-ĐT ₂	4,8 x 10 ⁵	5,3 x 10 ^{6ab}	1,3 x 10 ⁷	6,2 x 10 ⁷	2,0 x 10 ^{8b}
SeNPV-AG ₁	4,6 x 10 ⁵	4,1 x 10 ^{6b}	1,4 x 10 ⁷	6,9 x 10 ⁷	3,2 x 10 ^{8a}
Mức ý nghĩa	ns	**	ns	ns	*
CV(%)	1,93	3,27	3,69	2,34	3,58

Trong cùng một cột các số trung bình có cùng chữ theo sau giống nhau thì không khác biệt nhau qua phép thử DUNCAN. *: Khác biệt có ý nghĩa mức 5%; **: Khác biệt có ý nghĩa mức 5%; ns: không khác biệt

Như vậy, nghiên cứu xác định hiệu suất của virus SeNPV trên các giai đoạn tuổi *S. exigua* cho thấy tuổi sâu càng cao (tuổi 4 và 5) thì hiệu suất virus thu được càng lớn do sâu cần một thời gian ủ bệnh và sản sinh lượng virus, sâu tuổi nhỏ thì rất miễn cảm với virus NPV nên năng suất thu hồi không nhiều. Chính vì thế rất nhiều nghiên cứu đã được thực hiện nhằm tối ưu hóa giữa chủng virus và độ tuổi sinh học của sâu để làm sao thu được lượng virus nhiều nhất (Jayaraj et al., 1980). Một nghiên cứu của Cherry et al. (1997) đã báo cáo năng suất virus của virus SeNPV đạt được từ 0,28 đến 1,40 x 10⁹ OBs/ấu trùng sâu tuổi 5.

4. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

Nồng độ gây chết (LC₅₀) của bốn chủng SeNPV thu thập tại Đồng bằng sông Cửu Long đối với sâu xanh da láng càng cao ứng với tuổi sâu càng lớn. Thời gian gây chết (LT₅₀) cho thấy, tuổi của sâu càng cao thì thời gian gây chết sâu càng kéo dài, trong đó sâu tuổi 2 và tuổi 3 và tuổi 5 cần lần lượt là 78,5 – 115,75 giờ; 78,74-118,51 giờ; 198,75 – 199,75 giờ sau khi lây nhiễm.

Tiếp tục nghiên cứu thêm về các yếu tố ảnh hưởng đến hiệu quả của virus SeNPV trên sâu xanh

da láng như nhiệt độ, ẩm độ, điều kiện bảo quản virus.

LỜI CẢM ƠN

Đề tài này được tài trợ bởi Dự án Hợp tác kỹ thuật “Tăng cường năng lực Trường Đại học Cần Thơ thành trường xuất sắc về đào tạo, nghiên cứu và chuyển giao công nghệ” của Cơ quan Hợp tác Quốc tế Nhật Bản (JICA).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Allen, G. E. and Ignoffo, C. M. (1969). The nucleopolyhedrosis virus of *Heliothis*: quantitative in vivo estimates of virulence. *Journal of Invertebrate Pathology*, 13, 378-381.

Cherry, A. J., Parnell, M., Grzywacz, D., Brown, M., and Jones, K. A. (1997). The optimization of in vitro nuclear polyhedrosis virus production of *Spodoptera eximpta* (Walker) and *Spodoptera exigua* (Hubner). *Journal of Invertebrate Pathology*, 70, 50-58.

Collett, D. (1994). Modelling survival data in medical research. Chapman and Hall, London, 347

Gelernter, U. D. and Federici, B. A. (1986). Isolation, identification and determination of virulence of a nuclear polyhedrosis virus from the beet armyworm, *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae). *Environmental Entomology*, 15, 240-245.

Hughes, P. R., Gettig, R. R., and McCarthy, W. J. (1986). A synchronous peroral technique for the bioassay on insect virus. *Journal of Invertebrate Pathology*, 41, 256-261.

Huỳnh Nguyễn Quang Tuấn, Trần Văn Hai & Trịnh Thị Xuân. (2014). Ảnh hưởng của Tinopal UNDP-GX và axit boric trong sản xuất chế phẩm Nucleopolyhedrovirus để phòng trừ sâu ăn tạp *Spodoptera litura* Fabricius (Lepidoptera: Noctuidae). *Tạp chí Nông nghiệp và phát triển nông thôn*, (12), 44-49.

Jayaraj, S., Santharam, S., Narayan, K., Soundararajan, K. and Balagurunathan, R. (1980). Effectiveness of the nuclear polyhedral virus against field populations of the tobacco caterpillar, *Spodoptera litura* on cotton. *The Andhra Agricultural Journal*, 27, 26-29.

Kalbfleisch, J. D. and Prentice, R. D. (1980). The statistical analysis of failure time data. Wiley, New York, 321-322.

Kunimi, Y. (2005). Current status and prospects on the use of insect pathogens as bio control agents. *Agrochemicals Japan*, 86, 2-6.

Kunimi, Y. (2007). Current status and prospects on microbial control Japan. *Journal of Invertebrate Pathology*, 95, 181-186.

Takatsuka, J. and Kunimi, Y. (2002). Lethal effects of *Spodoptera exigua* nucleopolyhedrovirus isolated in Shiga Prefecture, Japan, on Larvae of the beet armyworm, *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae). *Applied Entomology and Zoology*, 37(1), 93-101.

Trịnh Thị Xuân, Trương Thanh Xuân Liên & Trần Văn Hai. (2016a). So sánh thức ăn nhân tạo và lá hành lên sự sinh trưởng, phát triển và khả năng sinh sản của sâu xanh da láng *Spodoptera exigua* Hubner (Lepidoptera: Noctuidae). *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*, 3, 226-232.

Trịnh Thị Xuân, Trương Thanh Xuân Liên, Dương Thu Nhi & Trần Văn Hai. (2016b). Phân lập vi rút SeNPV từ sâu xanh da láng (*Spodoptera exigua* Hubner) tại Đồng Bằng Sông Cửu Long. *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*, 3, 233-240.

Trịnh Thị Xuân, Trương Thanh Xuân Liên, Dương Thu Nhi & Trần Văn Hai. (2016c). Tiềm năng của virus SeNPV (*Spodoptera exigua* Nucleopolyhedrovirus) đối với sâu keo da láng *Spodoptera exigua* Hubner (Lepidoptera: Noctuidae) tại Đồng bằng Sông Cửu Long. *Tạp chí chuyên ngành Bảo vệ Thực vật*, 3(266), 26-35.