

3. Oliveira, M.R.V.; Henneberry, T.J.; Anderson, P. History, current status and collaborative research projects for Bemisia tabaci. Crop Prot. 2001, 20, 709–723.

4. Jones, D.R. Plant viruses transmitted by whiteflies. Eur. J. Plant Pathol. 2003, 109, 195–219.

5. Navas-Castillo, J.; Fiallo-Olive, E.; Sanchez-Campos, S. Emerging virus diseases transmitted by whiteflies. Annu. Rev. Phytopathol. 2011, 49, 219–248.

Phản biện: TS. Lê Thị Tuyết Nhung

XÁC ĐỊNH NGUỒN THỨC ĂN PHÙ HỢP PHỤC VỤ NHÂN NUÔI SỐ LƯỢNG LỚN NHỆN NHỎ BẮT MỒI *Neoseiulus longispinosus* TRONG PHÒNG TRỪ SINH HỌC NHỆN ĐỎ HẠI CÂY TRỒNG

Determining a Suitable Food Sources for Mass Rearing Predatory Mite *Neoseiulus longispinosus* in Biological Control Red Mite

Lê Thị Tuyết Nhung, Lê Xuân Vị, Kim Thị Hiền, Nguyễn Thị Hoa, Nguyễn Tiến Quân, Nguyễn Thị Hồng Vân, Phạm Nguyễn Thu Huyền

Viện Bảo vệ thực vật

Ngày nhận bài: 04.01.2023

Ngày chấp nhận: 13.02.2023

Abstract

The use of an artificial diet or alternative food sources for rearing predatory mites may be more cost-effective than using natural food sources. Five artificial diets (AD-AD4) based on a basic artificial diet (AD) that consisted of 5% honey, 5% sucrose, 5% tryptone, 5% yeast extract, 10% fresh egg yolk and 70% distilled water were made and two alternatives (AD5 and AD6) food sources for rearing predatory mite *Neoseiulus longispinosus* were carried out under laboratory condition, at $27\pm 1^\circ\text{C}$, RH $70\pm 10\%$ and 16:8 (L:D). The results show that *N. longispinosus* cannot complete its life cycle on all of above food sources. Almost of them died at the end of larva or early protonymph.

The lifecycle of two spotted spider mite *Tetranychus urticae* is not different when fed on cassava, green bean, black bean and *Mallotus apelta*. But its fecundity on these foods are not staying the same. On the nursery green bean, *T. urticae* laid the most number of eggs with an average 85.87 eggs/female. When using this plant feed up *T. urticae* then use it to serve *N. longispinosus*, the initial population of *N. longispinosus* was 0.03-0.2 individuals/plant then increased 1.05-3.27 individuals/plant after 8-10 days infested, raised up 15.0-63.50 folds. So that, nursery green bean is a suitable food source for mass rearing of both *T. urticae* and *N. longispinosus*.

Keywords: *Neoseiulus longispinosus*, artificial diet, nursery green bean, food sources.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Nhóm nhện đỏ thuộc họ Tetranychidae ghi nhận được ở nước ta tuy không nhiều nhưng chúng đều là những sâu hại quan trọng trên nhiều loại cây trồng có giá trị kinh tế lớn như chè, cà phê, điều, cây ăn quả có múi, các loại dưa, cà, đậu đỗ... Khi nghiên cứu về tính kháng thuốc của một số loài nhện hại Nguyễn Thị Nhung và cs (2017) đã nhận định việc phòng chống nhện hại cây trồng ở nước ta tuy có đi theo hướng phòng trừ tổng hợp nhưng biện pháp hóa học vẫn đóng vai trò chủ đạo và nhiều quần thể nhện hại trong cả nước như nhện đỏ chè, nhện đỏ cam chanh đã hình thành tính kháng thuốc ở các mức độ rất

khác nhau. Sự kháng thuốc ở nhện hại đã và đang gây khó khăn cho việc phòng chống chúng đồng thời ảnh hưởng đến tính an toàn của nông sản phẩm cũng như sức khỏe con người và môi trường. Để khắc phục tình trạng trên, nhiều nhà khoa học trong nước đã đi theo hướng nhập nội, nghiên cứu sử dụng một số loài nhện nhỏ bắt mồi *Neoseiulus californicus*, *N. longispinosus*, *Amblyseius swirskii*, *Phytoseiulus persimilis* trong phòng chống nhện đỏ hại cây trồng trong điều kiện nhà lưới cũng như ngoài đồng ruộng. Từ các nghiên cứu của Nguyễn Văn Đĩnh và cs (2006, 2017, 2020), Lương Thị Huyền và cs. (2017, 2018), Nguyễn Đức Tùng (2009) và một số tác giả

khác đã cho thấy nhện nhỏ bắt mồi hoàn toàn có thể khống chế một cách hiệu quả một số loài nhện hại. Theo Nguyễn Văn Đĩnh và cs (2020), loài nhện bắt mồi bản địa như *Neoseiulus longispinosus* hoàn toàn có thể thay thế thuốc bảo vệ thực vật trong việc phòng chống nhện đỏ. Trước thực trạng trên, việc tìm ra nguồn thức ăn phù hợp để nhân nuôi số lượng lớn nhện nhỏ bắt mồi *N. longispinosus* trong điều kiện nhân tạo là điều cấp thiết. Trên cơ sở này, từng bước hoàn thiện quy trình nhân nuôi nhện nhỏ bắt mồi *N. longispinosus* trên quy mô lớn-sản xuất nhện nhỏ bắt mồi hàng loạt phục vụ sản xuất nông sản phẩm an toàn, theo hướng hữu cơ bền vững đồng thời góp phần quản lý tính kháng thuốc ở nhện đỏ thành công.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1 Nguồn nhện vật mồi, nhện bắt mồi và thức ăn thay thế

Nguồn nhện đỏ hai chấm cũng như nhện nhỏ bắt mồi *N. longispinosus* được thu thập trên các cây trồng khác nhau như các loại rau đậu đỗ, bầu bí, dưa chuột, dưa lê, dưa lưới, sẵn tại các vườn nhà và vùng trồng rau tập trung tại huyện Mê Linh, Bắc Từ Liêm-Hà Nội. Những lá có nhện hại của mỗi loại cây trồng sẽ được đặt riêng vào trong túi giấy sau đó gấp mép nhiều lần để tránh nhện thoát ra ngoài. Những túi này được đặt vào trong thùng xốp đã chứa sẵn đá gel làm mát nhằm làm giảm mọi hoạt động của nhện cũng như thiên địch của chúng trước khi chúng được chuyển về phòng thí nghiệm. Tại phòng thí nghiệm, nguồn nhện đỏ hai chấm được nuôi bằng phương pháp đĩa lá: lá ba bét bánh tẻ đã được viền xung quanh bằng lớp bông ẩm sau đó đặt trên lớp xốp thấm nước nhằm giữ ẩm cho lá và hạn chế loài khác xâm nhập cũng như nhện bỏ đi. Sau khi chuẩn bị xong thức ăn cho nhện hại, dùng bút lông ẩm nhẹ nhàng bắt nhện từ lá thu được sang lá ba bét. Mỗi lá ba bét nhiễm 30-40 nhện non hoặc nhện trưởng thành. Hai ngày một lần kiểm tra sự phát triển quần thể của nhện đỏ hai chấm. Sau 5-7 ngày lây nhiễm, khi lá ba bét bị nhện hại gần hết, hoặc lá kém chất lượng, bắt trưởng thành sang lá mới hoặc cắt lá đã bị nhiễm đặt sang lá mới.

Khi nguồn nhện đỏ hai chấm đã phát triển ổn định trên lá ba bét, hoặc trên lá đã có khá dày trứng nhện đỏ hai chấm thì bắt đầu nhiễm nhện nhỏ bắt mồi *N. longispinosus* lên quần thể nhện

đỏ hai chấm. Tùy theo mức độ quần thể nhện đỏ hai chấm mà nhiễm nhiều hay ít nhện nhỏ bắt mồi. Khi quần thể nhện đỏ hai chấm bị tiêu diệt gần hết hoặc lá kém chất lượng thì tiến hành cắt lá cần thay đặt lên lá mới đã có sẵn thức ăn cho nhện nhỏ bắt mồi phát triển.

Ngài sáp ong *Galleria mellonella*, ngài gạo *Corcyra cephalonica* được cung cấp bởi Phòng Côn trùng học thực nghiệm-Viện sinh thái tài nguyên sinh vật và duy trì tại bộ môn Côn trùng và tuyến trùng. Hàng ngày thu trứng của trưởng thành để cung cấp cho nhện nhỏ bắt mồi *N. longispinosus*.

Đối với nhện hại kho *Carpoglyphus lactis*: trước khi thực hiện thí nghiệm 2-3 tháng, cám gạo, cám ngô được trộn với tỷ lệ 3:7 để trong hộp nhựa có kích thước 30 x22 cm với nắp đậy được cắt ô thông khí và dán bằng lớp lưới thép chống côn trùng nhưng vẫn đảm bảo nhện *C. lactis* có thể xâm nhập được vào nguồn thức ăn. Nhện *C. lactis* được nhận dạng thông qua tài liệu của Gary and Barry 2002.

2.2 Thí nghiệm đánh giá ảnh hưởng của thức ăn nhân tạo, thức ăn thay thế đến nhện bắt mồi *N. longispinosus*

Nguồn thức ăn nhân tạo (AD) cho nhện nhỏ bắt mồi đã được thiết kế cơ bản theo Nguyen et al. (2013) cho loài *Amblyseius swirskii*. Thí nghiệm được bố trí theo các công thức sau:

AD: 5% mật ong + 5% đường + 5% tryptone + 5% yeast extract + 10% lòng đỏ trứng gà + 70% nước cất

AD1: 80% AD+ 20% trứng ngài sáp ong *Galleria mellonella*

AD2: 80%AD + 20% trứng ngài gạo *Corcyra cephalonica*

AD3: 80% AD + 20% nhện đỏ hai chấm

AD4: 80% AD + 20% Phần ngô

AD5: Phần ngô

AD6: nhện hại kho *Carpoglyphus lactis*

Mật ong, đường và trypton được hòa tan trong nước sau đó cho thêm yeast extract, lòng đỏ trứng gà và một trong các thành phần ở các công thức AD1-AD4 để làm nên các loại thức ăn AD1-AD4. Sau khi đủ các thành phần, mỗi loại hỗn hợp thức ăn được cho vào ống tuýp 10ml bằng nhựa có nắp và ly tâm với tốc độ 1200 vòng/phút ở nhiệt độ 5°C trong thời gian 15 phút. Thức ăn được bảo quản ở nhiệt độ 4°C trong vòng 1 tuần.

Do phần ngô khô cứng vì có hàm lượng nước rất thấp, nhện nhỏ bắt mồi không thể sử dụng trực tiếp, cho nên phân ngô ngâm trong nước cất, cho nở tạo thành dung dịch sệt sệt đến hơi lỏng và thấm trên giấy thấm để cung cấp cho nhện nhỏ bắt mồi.

Nhện nhỏ bắt mồi *N. longispinosus* được nuôi trong hộp nhựa kích thước 8,5 x 6 cm, đáy hộp được lót 1 lớp giấy ẩm sau đó đặt lá ba bét đã được viền xung quanh bởi lớp bông ẩm nhằm giữ ẩm cho lá và để hạn chế nhện bỏ đi hoặc loài khác xâm nhập. Sau khi chuẩn bị xong các bước trên, dùng bút lông ẩm chuyển trứng nhện mới được để sang hộp nuôi. Mỗi hộp đặt 2 trứng, khi trứng nở chuyển bớt nhện non sang hộp khác đảm bảo mỗi hộp nuôi còn 1 nhện/hộp. Phương pháp nuôi nhện được thực hiện theo Nguyen et al. (2013). Thức ăn cho nhện được tằm vào tấm giấy lọc cất nhỏ (2mm x 2mm) sao cho có 1 lớp nước mỏng viền ở xung quanh mép giấy để nhện có thể tiếp cận và ăn. Hàng ngày, thay thức ăn mới, quan sát sự phát triển, chuyển tuổi, sự sống sót của nhện nhỏ bắt mồi. Số lượng cá thể theo dõi ban đầu trong mỗi thí nghiệm 60 trứng.

Đối với nhện hại kho: cách làm tương tự như trên nhưng thức ăn nhân tạo được thay thế bằng nhện hại kho. Hàng ngày cung cấp 7-10 trứng và 3-5 nhện trưởng thành nhện hại kho cho nhện nhỏ bắt mồi.

Thức ăn mới được thay 1-2 ngày/lần, tùy thuộc vào loại thức ăn, hàng ngày kiểm tra thức ăn và sự phát triển của nhện nhỏ bắt mồi.

2.3 Lựa chọn cây thức ăn phù hợp để nhân nuôi nhện đỏ hai chấm *T. urticae* làm nguồn thức ăn cho nhện nhỏ bắt mồi *N. longispinosus*

CT1: Cây đậu xanh giai đoạn hai lá mầm

CT2: Cây đậu đen giai đoạn hai lá mầm

CT3: Lá sắn

CT4: Lá ba bét

Đậu xanh, đậu đen được rửa sạch, ngâm no nước trong vòng 6-12 tiếng sau đó đem gieo trên những khay nhựa kích thước 11x 16 cm với mật độ 140 hạt/khay trong lớp đất TRIBAT dày 3-4cm. Hai ngày một lần tưới nước giữ ẩm để cho đậu mọc mầm. Sau gieo 5-7 ngày, hai lá mầm đã mở hoàn toàn, thời điểm này có thể dùng lá để nuôi nhện đỏ hai chấm.

Thức ăn là lá sắn: Hom sắn được cắt dài khoảng 25-30cm sao cho mỗi hom sắn có từ 4-6 mắt. Đặt hom vào cốc nhựa dung tích 330-400ml

đã chứa sẵn nước, 5-7 ngày/lần kiểm tra sự nảy mầm của hom và bổ sung nước cho hom phát triển. Khi cây sắn có 3-4 lá là có thể sử dụng cho nhện đỏ hai chấm. Thời gian từ trồng đến khi cây sắn có 3-4 cành lá khoảng 25-35 ngày, tùy thuộc vào điều kiện nhiệt độ.

Cây ba bét *Mallotus apelta* (Lour.): rễ hoặc thân của cây ba bét được chặt thành từng đoạn nhỏ dài 20-30cm sau đó giâm vào bầu đất 12x16cm cho đến khi rễ/thân mọc mầm. Khi cây được 3-5 lá tiến hành trồng cây, lá sử dụng trong thí nghiệm là những lá bánh tẻ đã phát triển thành thực. Phương pháp nuôi nhện đỏ hai chấm trên lá đậu, lá sắn, lá ba bét bằng phương pháp đĩa lá tương tự như nuôi duy trì nguồn nhện đỏ hai chấm nhưng mỗi đĩa lá được nuôi 1 cá thể riêng rẽ. Hàng ngày vào một thời điểm nhất định, theo dõi sự phát triển của nhện.

Tất cả các thí nghiệm được bố trí ở điều kiện phòng thí nghiệm với nhiệt độ 27±1°C, ẩm độ 70±10%.

Các chỉ tiêu sinh học theo dõi bao gồm:

+ Thời gian phát dục các pha và vòng đời của nhện đỏ hai chấm

+ Nhịp điệu đẻ trứng của nhện đỏ hai chấm.

- Thời gian phát dục trung bình của mỗi cá thể:

$$X_{tb} = \frac{\sum X_i n_i}{n}$$

X_{tb} là thời gian phát dục trung bình của mỗi cá thể

X_i là thời gian phát dục của cá thể thứ i

n_i là số cá thể cùng thời phát dục

n : tổng số cá thể theo dõi

Nhân nuôi nhện đỏ hai chấm: Để đánh giá khả năng nhân quần thể của nhện đỏ hai chấm trên cây đậu xanh giai đoạn hai lá mầm, đậu xanh được gieo trong các hộp nhựa kích thước 27cm x 17cm với mật độ 350 hạt/hộp và lây nhiễm trưởng thành cái nhện đỏ hai chấm với mật độ 1 con/cây khi hai lá mầm đã mở hoàn toàn, các hộp được đặt trên khay nhựa có cách ly nước để tránh sự xâm nhập của các loài khác. Thí nghiệm được lặp lại 3 lần. Mật độ nhện non, trưởng thành và trứng được đánh giá vào ngày thứ 5, 7 và 10 sau lây nhiễm nhện.

2.4 Đánh giá khả năng nhân nuôi nhện nhỏ bắt mồi *N. longispinosus* bằng nguồn nhện đỏ hai chấm *T. urticae* trên cây đậu xanh hai lá mầm

Nhân nuôi nhện đỏ hai chấm và nhện nhỏ bắt

mồi *N. longispinosus*: Hạt đậu xanh được gieo trong khay nhựa kích thước 11x 16cm với mật độ 140 hạt/khay trong lớp đất TRIBAT dày 3-4cm. Hai ngày một lần tưới nước giữ ẩm để cho đậu mọc mầm. Sau gieo 5-7 ngày, khi hai lá mầm đã mở hoàn toàn tiến hành lây nhiễm trưởng thành cái nhện đốm hai chấm với mật độ 1,0 con/cây. Vào ngày thứ 7, sau lây nhiễm nhện đốm hai chấm lá đậu bị bạc lấm tấm hay 1/5 diện tích lá bị bạc thì nhiễm nhện nhỏ bắt mồi *N. longispinosus* với mật độ 0,03-0,05 con/cây tương đương với tỷ lệ nhện bắt mồi:nhện vật mồi lây nhiễm ban đầu 1:5; 1:10; 1:30 và 1:20. Mỗi thí nghiệm được lặp lại 4 lần. Các khay nuôi nhện được đặt riêng rẽ và đặt cách ly trong các khay nước để tránh nhện bỏ đi, bỏ từ khay này sang khay khác cũng như sự xâm nhập của loài khác.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1 Ảnh hưởng của thức ăn nhân tạo và thức ăn thay thế đến nhện nhỏ bắt mồi *N. longispinosus*

Quá trình theo dõi thí nghiệm đã cho thấy nhện non sau khi nở vài giờ ít di chuyển hoặc di chuyển rất chậm chạp, đến cuối tuổi 1 chúng mới trở nên nhanh nhẹn và có xu hướng tìm kiếm thức ăn. Bước sang tuổi 2, nhện di chuyển rất nhanh để tìm kiếm thức ăn nhưng hầu hết nhện non không tiếp cận thức ăn được cung cấp,

chúng ko đến gần mà có xu hướng lảng tránh, nhện non thường bò ra mép viền bằng và chết ở gần đó, hoặc chết đói. Hành vi tương tự cũng được quan sát thấy trên nhện trưởng thành, nhện thường bỏ đi rất nhanh sau khi tìm kiếm không thấy con mồi hoặc chết đói vào ngày thứ 2 sau khi cho tiếp xúc với thức ăn nhân tạo. Việc không tiếp cận hay lảng tránh thức ăn này của nhện nhỏ bắt mồi khác hẳn với tập tính bình thường của loài (khi thả nhện nhỏ bắt mồi vào quần thể nhện đốm hai chấm, rất nhanh chúng thường bò đến vị trí có con mồi, tiếp cận, thăm dò một vài con sau đó tấn công con mồi).



Hình 1. Thức ăn nhân tạo được thiết kế cho nhện nhỏ bắt mồi

Bảng 1. Khả năng sống sót và hoàn thành vòng đời của nhện nhỏ bắt mồi trên các nguồn thức ăn khác nhau

STT	Công thức	Số cá thể thí nghiệm/lần	Số lần thí nghiệm	Khả năng sống sót	Hoàn thành vòng đời
1	AD	60	3	Đầu tuổi 2	Không
2	AD1= AD + trứng ngài sáp ong	60	2	Đầu tuổi 2	
3	AD2= AD + trứng ngài gạo	60	2	Đầu tuổi 2	
4	AD3= 80%AD + 20% nhện đốm hai chấm	60	1	Cuối tuổi 1	
5	AD4= 80%AD + 20% phần ngô	60	1	Cuối tuổi 1	
6	Phần ngô	60	1	Cuối tuổi 1	
7	Nhện hại kho <i>Carpoglyphus lactis</i>	40	1	Đầu tuổi 2	

Ở điều kiện nhiệt độ nuôi, nhện non tuổi 1 có thời gian phát triển rất ngắn (xấp xỉ 24 giờ), trong khoảng thời gian này nhện non hầu như không ăn. Bước sang tuổi 2 chúng mới tấn công con mồi. Như vậy, các công thức thức ăn như trong bảng 1 đã cho thấy, các loại thức ăn nhân tạo hay thức ăn thay thế nhện hại không phù hợp cho nhện non nhện nhỏ bắt mồi phát triển. Thậm chí 80%AD +20% trứng nhện và nhện trưởng thành nhện đốm hai chấm cũng không phải là thức

ăn phù hợp cho nhện non sống sót và tồn tại. Thí nghiệm trên một lần nữa khẳng định nhận định của Murtry et al. (2013), *N. longispinosus* không hoàn thành vòng đời trên thức ăn thay thế hay thức ăn nhân tạo, chúng chỉ ăn thức ăn tự nhiên là nhóm nhện hại Tetranychidae. Điều này khác biệt so với một số loài nhện nhỏ bắt mồi khác như *Neoseiulus californicus* hay *Amblyseius swirskii*. Hai loài nhện kể trên có thể hoàn thành vòng đời và sinh sản tốt trên nguồn thức ăn AD

hoặc AD + phần ngô, AD + máu nhộng ngài tầm sồi *Antheraea pernyi*, trứng ngài bột Địa Trung Hải *Ephestia kuehniella* (Khanamani *et al.*, 2017; Nguyen *et al.*, 2013).

3.2 Lựa chọn cây thức ăn phù hợp để nhân nuôi nhện đỏ hai chấm *T. urticae* làm nguồn thức ăn cho nhện nhỏ bắt mồi *N. longispinosus*

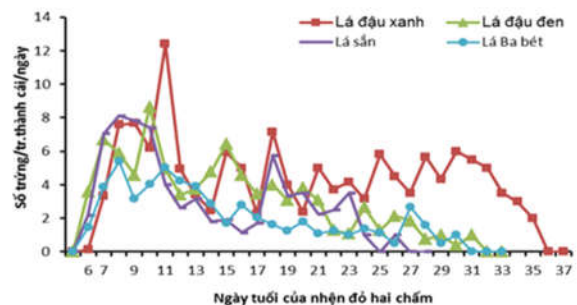
Vì *N. longispinosus* không thể hoàn thành vòng đời bằng nguồn thức ăn như đã trình bày ở bảng 1 hay nói cách khác chúng không thể sống sót và sinh sản khi sử dụng thức ăn thay thế hay thức ăn nhân tạo. Cho nên để nhân nuôi số lượng lớn nhện nhỏ bắt mồi *N. longispinosus* thì cần phải nhân nuôi con mồi tự nhiên cho chúng. Trong quá trình tìm hiểu đã cho thấy nhện đỏ hai chấm có thể nhân nuôi hàng loạt bởi chúng có vòng đời ngắn, khả năng sinh sản tốt, chúng tồn tại và phát

triển quanh năm trên nhiều loại cây trồng với mật độ cao như cây họ đậu, họ cà dưa chuột, sắn... Vì vậy, lá của các cây đậu xanh, đậu đen hai lá mầm, lá sắn lá ba bét được sử dụng làm thức ăn cho nhện đỏ hai chấm. Kết quả cho thấy, vòng đời của nhện đỏ hai chấm trên các nguồn thức ăn kể trên khác nhau không nhiều (biến động từ 7,89 – 8,14 ngày). Tuy nhiên, sức đẻ trứng của nhện trưởng thành cái trên các nguồn thức ăn lại rất khác nhau. Trên cây đậu xanh thời gian đẻ trứng của nhện tuy không dài (14,53 ngày), nhưng số trứng trung bình/nhện cái lại cao nhất (85,87 quả). Tiếp đến là cây đậu đen hai lá mầm, với số lượng trứng trung bình/nhện cái là 77,71 quả, thời gian đẻ trứng của trứng thành cái kéo dài nhất và tới 19,24 ngày. Số lượng trứng được đẻ/trưởng thành cái thấp nhất trên lá ba bét (43,30 trứng) và thời gian đẻ trứng ngắn nhất trên lá sắn (10,53 ngày).

Bảng 2. Một số đặc điểm sinh học của nhện đỏ hai chấm *T. urticae* trên các nguồn thức ăn khác nhau

Ký chủ	Thời gian vòng đời (ngày)	Lượng trứng được đẻ/trưởng thành cái)	Thời gian đẻ trứng	Số trứng TB/ngày
Lá đậu xanh 2 lá mầm	8,14±0,17	85,87±12,30	14,53±1,87	5,91±0,37
Lá đậu đen 2 lá mầm	8,03±0,12	77,71±5,78	19,24±1,06	4,04±0,42
Lá sắn	7,89±0,18	49,63±4,73	10,53±0,84	4,71±0,43
Lá ba bét	8,00±0,15	43,30±3,60	15,39±1,08	2,81±0,25

Khi xem xét về nhịp điệu đẻ trứng của nhện đỏ hai chấm trên các nguồn thức ăn khác nhau đã cho thấy nhện đỏ hai chấm đẻ trứng không đều giữa các ngày nhưng nhìn chung trứng được đẻ tập trung vào ngày tuổi thứ 9 cho đến ngày tuổi thứ 14 tức là ngày đẻ trứng thứ 2 cho đến ngày tuổi thứ 8. Đặc biệt trên cây đậu xanh và đậu đen số ngày đẻ trứng tập trung của nhện cái kéo dài đến ngày tuổi thứ 19 tức là ngày đẻ trứng thứ 13, dài hơn 5 ngày so với các nguồn thức ăn còn lại. Đồng thời, cũng thuộc vào từng loại thức ăn, số lượng trứng được đẻ trong thời gian này chiếm 62,49-80,99% tổng số trứng mà trưởng thành cái đẻ trong đời. Khi nguồn thức ăn là lá đậu xanh, số trứng được đẻ ở thời gian đẻ trứng tập trung của trưởng thành chiếm đến 79,63% tổng số trứng được đẻ, trong khi đó trên lá đậu đen con số này thấp hơn và chỉ chiếm 62,49%. Khi nguồn thức ăn là lá sắn thời gian đẻ trứng tập trung của trưởng thành cao nhất và chiếm 80,99% lượng trứng được đẻ. Còn nguồn thức ăn là lá ba bét, số lượng trứng được đẻ tập trung chỉ chiếm 68,56% so với tổng số trứng được đẻ (hình 2).



Hình 2. Nhịp điệu đẻ trứng của nhện đỏ hai chấm trên các nguồn thức ăn khác nhau.

Khi sử dụng các loại cây trồng trên làm thức ăn cho nhện đỏ hai chấm đã cho thấy, cây đậu xanh giai đoạn hai lá mầm có ưu điểm vượt trội hơn so với các cây thức ăn khác: cây đậu xanh có thể gieo trồng quanh năm, tùy thuộc vào điều kiện nhiệt độ mùa đông hay mùa hè, thời gian phát triển của cây đậu xanh từ khi gieo đến khi cây mọc ra 2 lá mầm và có thể lây nhiễm nhện đỏ hai chấm khá ngắn chỉ khoảng 5 đến 7 ngày. Quần thể nhện đỏ 2 chấm nhân lên khá nhanh

trên cây đậu xanh, nếu lây nhiễm nhện trưởng thành lên cây, sau lây nhiễm khoảng 5-7 ngày mặt dưới lá đậu đã dày đặc trứng, nhện non. Đối với cây đậu xanh, khi lây nhiễm nhện đỏ hai chấm, bằng mắt thường có thể nhìn thấy triệu chứng gây hại cũng như mật độ nhện trưởng thành một cách dễ dàng ở cả 2 mặt lá. Còn đối với cây đậu đen giai đoạn 2 lá mầm, do lá có màu xanh đậm thường lẫn với màu nhện non, kết hợp với màu đỏ đậm của trường thành và chúng thường chỉ sống ở mặt dưới lá cây nên bằng mắt thường khó quan sát hơn so với cây đậu xanh. Thêm vào đó, khả năng đẻ trứng của trường thành nhện đỏ hai chấm trên cây đậu đen kém hơn so với cây đậu xanh, đồng thời thể hệ sau nhiều trường thành đẻ hơn trường thành cái cho nên khả năng nhân quần thể của chúng kém hơn trên cây đậu xanh. Còn cây sắn được trồng thủy canh, tốc độ sinh trưởng của cây nhanh hơn trồng trong đất nhưng chất lượng nguồn thức ăn cho nhện kém hơn so với cây trồng trong đất do lá mỏng, lá xanh nhạt, nhanh tàn, cần rất nhiều hom giống khi nhân nuôi số lượng lớn nhện đỏ hai chấm.

Với nguồn thức ăn là lá ba bét, nhện đỏ hai chấm phát triển kém hơn các cây khác, tuy nhiên lá ba bét cũng là một lựa chọn phù hợp để quản lý, nhân nguồn nhện đỏ hai chấm, nhện nhỏ bắt

mồi *N. longispinosus* ban đầu do bản lá khá to và tươi lâu. Bằng phương pháp nuôi đĩa lá, có thể kiểm soát được sự lẫn tạp loài khá tốt trong quá trình nhân nuôi. Tuy nhiên, quần thể nhện đỏ hai chấm chỉ phát triển tốt trên lá bánh tẻ, tốc độ ra lá của cây ba bét không nhanh, chất lượng lá không đồng đều, phụ thuộc nhiều vào điều kiện thời tiết dẫn đến chất lượng lá kém, lá thường bị hỏng nhanh vào các thời điểm mưa. Thêm vào đó, khi mùa đông đến cây ba bét sinh trưởng rất chậm. Do đó nguồn thức ăn này không thể dùng nhân nuôi nhện đỏ hai chấm hoặc nhện nhỏ bắt mối với số lượng lớn vì tốn nhiều diện tích để trồng cây đồng thời tính ổn định, tính liên tục của nguồn thức ăn này kém hơn so với cây đậu xanh giai đoạn hai lá mầm.

Với mật độ lây nhiễm ban đầu là 1 trường thành cái nhện đỏ hai chấm/cây. Sau 5 ngày quần thể nhện hại thu được số lượng trứng là cao nhất, với trung bình 42,71 quả/cây và mật độ nhện hại bao gồm nhện non và trường thành tăng lên gấp 3,88 lần tương ứng với 3,88 con/cây. Sau ngày này, số lượng trứng giảm dần, mật độ nhện đỏ hai chấm gia tăng và đạt mật độ cao nhất vào ngày thứ 10 sau lây nhiễm (22,01 con/cây), tăng lên 22,01 lần so với ban đầu và lượng trứng thu được là 18,23 quả/cây (bảng 3).

Bảng 3. Khả năng nhân quần thể nhện đỏ hai chấm trên cây đậu xanh hai lá mầm

Ngày sau lây nhiễm	Trung bình số trứng và nhện non, nhện trưởng thành thu được sau lây nhiễm/cây		Tăng lên so với ban đầu (lần)
	Trứng	Nhện non và trường thành	
5 ngày	42,71±10,56	3,88±0,62	3,88
7 ngày	25,64±1,70	9,56±3,33	9,56
10 ngày	18,23±3,25	22,01±8,21	22,01

2.3 Đánh giá khả năng nhân nuôi nhện nhỏ bắt mồi *N. longispinosus* bằng nguồn nhện đỏ hai chấm *T. urticae* trên cây đậu xanh hai lá mầm

Sau 7 ngày lây nhiễm nhện đỏ hai chấm với mật độ 1 trường thành cái/cây, tiến hành lây nhiễm nhện nhỏ bắt mồi *N. longispinosus*. Chỉ với

mật độ nhện nhỏ bắt mồi *N. longispinosus* ban đầu là 0,03-0,2 con trường thành cái/cây thì sau 8-10 ngày mật độ nhện bắt mồi đã tăng lên 1,05-3,27 con/cây và lượng trứng thu được cũng khá lớn 1,05-4,68 trứng/cây, tùy thuộc vào độ dồi dào của nhện đỏ hai chấm (bảng 4).

Bảng 4. Ảnh hưởng của tỷ lệ NBM: NVM và thời gian sau thả đến mật độ nhện bắt mồi *N. Longispinosus* (Viện Bảo vệ thực vật, 2022)

Tỷ lệ NBM:NVM	Mật độ trung bình <i>N. longispinosus</i> con/cây			
	Ban đầu	5 ngày	8 ngày	10 ngày
1:5	0,2	0,88±0,22	3,00±0,35	3,11±0,21
1:10	0,1	0,58±0,12	2,45±0,35	3,27±0,39
1:20	0,05	0,25±0,09	1,78±0,41	2,70±0,48
1:30	0,03	0,15±0,09	1,05±0,10	2,12±0,56

Bảng 5. Tỷ lệ nhân quần thể của *N. longispinosus* trên nhện đỏ hai chấm ở các tỷ lệ NBM:NVM và các khoảng thời gian sau thả khác nhau
(Viện Bảo vệ thực vật, 2022)

Tỷ lệ NBM:NVM	Quần thể <i>N. longispinosus</i> tăng lên so với ban đầu (lần)		
	5 ngày	8 ngày	10 ngày
1:05	4,42	15,00	15,55
1:10	5,83	24,50	32,67
1:20	5,00	35,67	54,00
1:30	4,50	31,50	63,50

Khi kiểm tra ngẫu nhiên số lượng nhện nhỏ bắt mỗi *N. longispinosus* trên 20 cây đậu xanh đã cho thấy nhện nhỏ bắt mỗi phân bố không đều trên cây mà phụ thuộc vào nguồn thức ăn, cây nào nhiều nhện đỏ hai chấm, cây đó có nhiều pha phát dục khác nhau của nhện nhỏ bắt mỗi. Từ những cá thể nhện nhỏ bắt mỗi ban đầu (7-40 trứng thành cái), sau 5 ngày quần thể nhện nhỏ bắt mỗi ở các tỷ lệ lây nhiễm tăng lên không nhiều và ít biến động (4,42-5,38 lần). Sau 8-10 ngày, quần thể nhện nhỏ bắt mỗi gia tăng nhanh chóng 15,0-63,50 lần (bảng 5). Như vậy, tùy từng tỷ lệ lây nhiễm nhện nhỏ bắt mỗi ban đầu, sau 8-10 ngày thu được khoảng 220-690 nhện nhỏ bắt mỗi chưa kể trứng. Với tỷ lệ nhện bắt mỗi: nhện vật mỗi 1:5 và 1:10 vào ngày thứ 8, số lượng nhện nhỏ bắt mỗi đã tăng lần lượt là 15,0 và 24,50 lần, lúc này lượng vật mỗi trên cây không còn nhiều trung bình 1-2 nhện non và nhện trưởng thành cùng 5-7 trứng/cây. Do vậy đến ngày thứ 10, quần thể nhện nhỏ bắt mỗi tăng lên khá chậm (<10 lần) đồng thời trên cây gần như hết nhện vật mỗi. Ở các tỷ lệ 1:20 và 1:30 đến ngày thứ 10 quần thể nhện nhỏ bắt mỗi tăng lên rất nhanh 54,0-63,50 lần, lúc này quần thể nhện vật mỗi chỉ còn sót lại rất ít trứng và một số nhện trưởng thành khá yếu ớt. Thời điểm này, lá đậu xanh cũng bị bạc đến 4/5 và cây đậu xanh cũng bắt đầu rụng lá hoặc lá khô héo vì nhện hại. Thí nghiệm trên cho thấy, cây đậu xanh giai đoạn hai lá mầm có thể nhân nuôi nhện đỏ hai chấm trong vòng 13-17 ngày. Đồng thời đây cũng là nguồn cung cấp thức ăn cho nhện nhỏ bắt mỗi *N. longispinosus* trong vòng 8-10 ngày khi nguồn nhện đỏ hai chấm tương đối dồi dào.

4. KẾT LUẬN

Nguồn thức ăn nhân tạo và thức ăn thay thế không phù hợp cho nhện nhỏ bắt mỗi *N. longispinosus* tồn tại và phát triển, chúng không thể hoàn thành vòng đời trên các nguồn thức ăn này.

Thời gian vòng đời của nhện đỏ hai chấm trên các cây thức ăn tự nhiên khác nhau không nhiều (7,89-8,14 ngày). Nhưng lượng trứng được đẻ trên các cây thức ăn lại khác nhau khá rõ nét, số lượng trứng biến động 43,30-85,87 quả/nhện cái. Nhện đỏ hai chấm đẻ khỏe nhất trên cây đậu xanh giai đoạn hai lá mầm, với 85,87 trứng/nhện cái. Trên cây đậu xanh 2 lá mầm, sau 5-10 ngày lây nhiễm, mật độ nhện đỏ hai chấm tăng lên 3,88-22,01 lần so với ban đầu, lượng trứng thu được biến động 18,23-42,71 quả/cây. Bằng nguồn thức ăn nhện đỏ hai chấm trên cây đậu xanh hai lá mầm, quần thể nhện nhỏ bắt mỗi *N. longispinosus* ban đầu 0,03-0,2 con/cây đã tăng lên 15,0-63,50 lần sau 8-10 ngày lây nhiễm với mật độ nhện nhỏ bắt mỗi trung bình 1,05-3,27 con/cây chưa kể trứng (trung bình 1,05-4,68 quả/cây). Cây đậu xanh giai đoạn hai lá mầm phù hợp cho việc nhân nuôi số lượng lớn con mỗi cũng như nhện nhỏ bắt mỗi *N. longispinosus*.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nguyễn Văn Đĩnh, 2002. "Nhện hại cây trồng và biện pháp phòng chống". Sách chuyên khảo, NXB Nông nghiệp, Hà Nội.
2. Nguyễn Văn Đĩnh, 2006. Nghiên cứu khả năng phát triển quần thể của nhện bắt mỗi *Amblyseius* sp. (Phytoseiidae: Acarina) nuôi trên nhện đỏ *Tetranychus cinnabarinus*. Hội thảo quốc gia lần thứ nhất về Sinh thái và Tài nguyên sinh vật 5/2006: 703-709.
3. Lương Thị Huyền, Cao Văn Chí và Nguyễn Văn Đĩnh, 2018. "Nhện bắt mỗi *Neoseiulus longispinosus* Evans và khả năng sử dụng chúng trong phòng chống sinh học trên cây ăn quả có múi ở Việt Nam". Sách chuyên khảo, Nhà xuất bản Nông nghiệp Hà Nội Hà Nội.
4. Nguyễn Thị Nhung, Nguyễn Thị Hồng Vân, Phạm Nguyễn Thu Huyền, Quyền Ngọc Dung, Nguyễn Minh Đức, Nguyễn Thị Thủy, Nguyễn Bá Huy, Phạm Thị Vương, 2017. Nghiên cứu tính kháng thuốc của nhện đỏ hại cây ăn quả có múi, chè và biện pháp quản lý ở Việt Nam. Báo cáo tổng kết, 49 trang.
5. Nguyễn Đức Tùng, 2009. Nghiên cứu đặc điểm sinh vật học và khả năng khống chế nhện hai chấm *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) của nhện bắt mỗi *Neoseiulus longispinosus* (Evans) (Acari: Phytoseiidae). Hội nghị khoa học toàn quốc về sinh học và tài nguyên sinh vật lần thứ 3, tháng 10-2009. NXB Nông nghiệp, Hà Nội: 1745-1750.
6. Gary R.M., Barry M.O., 2002. Mites (Acari) at <https://www.sciencedirect.com/topics/agricultural-and-biological-sciences/carpoglyphus-lactis>.
7. Murtry J.A., G.J.D. Moraes and N.F. Sourassou, 2013. Revision of the lifestyles of phytoseiid mites (Acari: Phytoseiidae) and implications for biological control strategies. Systematic & Applied Acarology 18(4): 297-320. ISSN 1362-1971.
8. Nguyen D. T., Vangansbeke, D. Lũ X. và De Clercq P., 2013. Development and reproduction of the predatory mite *Amblyseius swirskii* on artificial diets. BioControl. 58(3): 369-377.
9. Nguyen, D. T., Vangansbeke, D. và De Clercq,

P., 2014a. Artificial and factitious foods support the development and reproduction of the predatory mite *Amblyseius swirskii*. Experimental and applied acarology. 62(2): 181-194.

10. Nguyen, D. T., Vangansbeke, D. và De

Clercq, P., 2014b. Solid artificial diets for the phytoseiid predator *Amblyseius swirskii*. BioControl. 59(6): 719-727.

Phản biện: PGS.TS. Nguyễn Đức Tùng

ĐÁNH GIÁ HIỆU QUẢ PHÒNG TRỪ BỆNH VÀNG LÁ THỐI RỄ CÂY CÀ PHÊ Ở VIỆT NAM CỦA CÁC CHẾ PHẨM SINH HỌC MỚI TRONG ĐIỀU KIỆN NHÀ LƯỚI

Assessment of The Effectiveness of Newly Experiment Biological Products in Nethouse Conditions in Prevention Yellow Leaf and Root Rot Disease of Coffee Plant in Vietnam

Lê Thị Thanh Tâm^{1*}, Phạm Thị Lương¹, Lê Thị Phương Thảo¹, Hà Minh Thanh¹, Lê Mai Nhật¹, Trịnh Xuân Hoạt¹, Nguyễn Văn Liêm¹, Phạm Công Hoạt², Đoàn Thị Thanh³, Jennifer Jähne⁴, Peter Lasch & Rainer Borriss⁵

Ngày nhận bài: 02.12.2022

Ngày chấp nhận: 22.12.2022

Abstract

Coffee is an important industrial plant in Vietnam, bringing a great source of income for the country. However, in recent years, coffee plants have been seriously damaged by yellow leaf and rot root (YLRR) disease of coffee plant, mainly caused by the fungus *Fusarium oxysporum* and the knot root nematode *Meloidogyne* sp. causing a decrease in exports. Currently, in Vietnam, there are not many biological products (BPs) to prevent disease safely and effectively. This study was conducted in order to contribute to finding the experimental BPs that are effective in preventing YLRR disease of coffee plant in Vietnam under net house conditions. The results of the study showed that BP ENDOBICA from endogenous bacterium (EB) *Bacillus velezensis* TL7 transformed with *cry6A* gene had the highest efficiency in reducing YLRR disease of coffee plant by 85,05% while BPs including ENDOBICA1 from EB *B. velezensis* TL7, BIORHIZO1 from plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) *B. velezensis* S1, BIONA2 from plantazolicin biological compound (BC) with nematocide activity were all effective in reducing YLRR disease of coffee plant to the same extent high 72,58%-75,91%. Simultaneous processing of the two BPs including BIONA1&BIONA2 also gives similar high efficiency. Meanwhile, BP BIONA1 from the biological compound fengycin has fungicidal activity, effectively reducing YLRR disease of coffee plant by 63,43%.

Keywords: *Fusarium oxysporum*, *Meloidogyne* sp., endogenous bacterium, *cry6A*, *Bacillus velezensis*, plantazolicin, fengycin, bioproducts, coffee plant

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cà phê là cây công nghiệp quan trọng ở Việt Nam được xuất khẩu đứng thứ 2 trên thế giới chỉ sau Brazil. Tuy nhiên theo số liệu của Tổng Cục

Thống kê, mặc dù tháng 5 năm 2015 sản xuất cà phê đạt 1.600.000 tấn thu về 2.6 tỷ đô la Mỹ nhưng thực chất đã bị sụt giảm 20% sản lượng tương đương với sụt giảm giá trị kim ngạch xuất khẩu 13 % so với 2014. Thiệt hại gây ra chủ yếu bởi nấm bệnh *Fusarium oxysporum* và tuyến trùng nốt sưng *Meloidogyne* sp. khiến cây bị vàng lá thối rễ (VL-TR) mất năng suất. Bộ Nông nghiệp và PTNT đã ban hành quy trình tái canh cây cà phê với năm 2010, 2013 [1]. và 2016 phục vụ sản xuất cà phê ở vùng Tây nguyên. Quy trình phòng chống bệnh vàng lá, thối rễ cà phê và quy trình sản xuất cây giống cà phê sạch bệnh đã được công nhận cấp cơ sở của Viện Khoa học Nông nghiệp Việt nam. Quy trình bao gồm nhiều biện pháp tổng hợp được đưa ra góp phần

1. Viện Bảo vệ thực vật, Đức Thắng, Bắc Từ Liêm, Hà Nội, Việt Nam.

2. Bộ Khoa học và Công nghệ. Số 113 Trần Duy Hưng, Trung Hòa, Cầu Giấy, Hà Nội

3. Hội Khoa học Kỹ thuật Bảo vệ thực vật Việt Nam. Số 149 Hồ Đắc Di, Đống Đa, Hà Nội

4. Proteomics and Spectroscopy Unit (ZBS6), Centre for Biological Threats and Special Pathogens, Robert Koch Institute, Berlin, Germany

5. Institute of Marine Biotechnology e.V., Greifswald, Germany.

*Tác giả liên hệ:

Email: Lethithanhtam.bvtv@gmail.com