

**NGHIÊN CỨU SẢN XUẤT CÁC CHẾ PHẨM SINH HỌC  
PHÒNG TRỪ NẤM GÂY BỆNH THỐI XÁM (*Botrytis cinerea*)  
VÀ BỆNH THÁN THƯ (*Colletotrichum gloeosporioides*)  
TRÊN MỘT SỐ LOẠI HOA, RAU, QUẢ**

**ThS. Đặng Đức Quyết**  
Viện Bảo vệ thực vật

**SUMMARY**

**Study on botanical product for controlling Anthracnose  
(*Colletotrichum gloeosporioides*) and gray mold (*Botrytis cinerea*)  
on on vegetables, flowers and fruit**

In the present study, we used bio-products extracted from different botanicals for analysis of their effectiveness on the anthracnose and gray mold diseases of chili, strawberry, cabbage and rose in the field condition in Hanoi, Vinhphuc and Laocai Provinces. Among the tested products, the CP7.8 (Curcumin, main compound isolated from *Curcuma longa*) at 5000ppm, showed high effective on the disease and higher than that by TP-ZEP 18EC and similar to that by Daconil 75WP. Its effectivity on the disease is more than 75%. Product CP7.8 is group less toxic and safe in the experiment doses (4000, 5000, 6000mg/kg) is not lethal to mice and unable to determine the LD<sub>50</sub>. After 4 days, Curcumin completely degraded in the strawberry, cabbage, pepper, and rose samples.

**Keywords:** Botanical products, *Colletotrichum gloeosporioides*, *Botrytis cinerea*.

**I. ĐẶT VẤN ĐỀ\***

Điều kiện khí hậu và trồng trọt ở nước ta rất phù hợp cho nấm *Botrytis cinerea* và *Colletotrichum gloeosporioides* phát sinh gây hại. Nấm gây hại trên các cây rau, cây cảnh, cây ăn quả, cây rừng... Nấm gây các triệu chứng thối hoa, thối quả, chết cây con, đốm lá, u bướu hay thối thân, thối rễ v.v. Nấm không những gây hại trên cây trồng trước thu hoạch mà còn là một yếu tố hạn chế đến khả năng bảo quản và chuyên chở của các loại nông sản sau thu hoạch.

Để phòng trừ bệnh thối xám và thán thư trên các loại rau, quả... người ta dùng Thiram, Benomyl, Iprodione... Nhưng một số dòng *Botrytis* đã xuất hiện khả năng kháng các loại thuốc Benomyl, Iprodione trên nhiều loại cây trồng gây khó khăn cho việc phòng trừ bệnh.

Trên thế giới đã có một số nghiên cứu, sử dụng các sản phẩm chiết tách từ cây *Achyranthes japonica* và rễ *Rumex crispus* để trừ bệnh phấn trắng dưa chuột do nấm *Podosphaera xanthii* gây ra trong nhà lưới (Kim *et al.*, 2004). Các dịch chiết từ hành tỏi *Allium* spp., ớt *Capsicum* và các loại tinh dầu của Palmarosa, Thyme, Cinnamon có hiệu quả

cao trong phòng trừ *Botrytis cinerea* (Choi *et al.*, 2004). Sử dụng các dịch chiết từ củ, thân và lá của cây xương bồ (*Acorus calamus* L.), dẫu cây sả hồng (*Cymbopogon martinii*), lá cây hương nhu tía (*Ocimum sanctum*), lá cây sấu đầu (*Azadirachia indica*) có thể hạn chế phát triển của nấm bệnh thán thư trên ớt (Jeyalakshmi *et al.*, 1998). Dịch chiết của cây *Acorus calamus* và *Peper betel* có thể trừ nấm *Colletotrichum* spp. gây bệnh thán thư trên ớt (Nalinee Charigkapakorn, 2000). Dịch chiết từ quả cây *Jatropha curcas* có khả năng ức chế sự phát triển của nấm *C. gloeosporioides* trên môi trường PDA (Mukleur Rahman *et al.*, 2011).

Việc tìm ra và ứng dụng được những chất trừ nấm chiết tách từ thực vật an toàn với con người và thân thiện với môi trường để phòng trừ nấm *B. cinerea* và nấm *C. gloeosporioides* không những là một điều cần thiết cho việc phát triển sản xuất rau, hoa quả mà còn là một yếu tố cần thiết để góp phần phát triển các nghề trồng rau, hoa cây cảnh, cây ăn quả và phát triển nông nghiệp bền vững ở Việt Nam, chúng tôi được Chương trình Công nghệ sinh học nông nghiệp của Bộ Nông nghiệp thực hiện đề tài “*Nghiên cứu sản xuất các chế phẩm sinh học phòng trừ nấm gây bệnh thối xám (Botrytis cinerea) và bệnh thán thư (Colletotrichum gloeosporioides) trên một số loại hoa, rau, quả*”.

Người phản biện: PGS.TS. Lê Văn Trinh.

## II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Vật liệu

Cây thí nghiệm: cải bắp, dâu tây, hoa hồng, ớt.

Cận dịch chiết từ củ nghệ vàng thu hái tại các vùng ở Việt nam

Dung môi chiết xuất: cồn, axeton.

Chế phẩm CP 7.8 có thành phần chính là hoạt chất Curcumin chiết xuất từ củ nghệ vàng thu hái tại các vùng ở Việt nam.

Thuốc thảo mộc TP-ZEP 18EC

Thuốc hóa học Daconil 75WP

### 2.2. Phương pháp nghiên cứu

- **Phương pháp chiết xuất:** Nguyên liệu củ nghệ được thu hái, sơ chế, sấy, nghiền nhỏ rồi được ngâm chiết 24 giờ trong cồn 96%, có gia nhiệt và sử dụng cánh khuấy. Phần dịch chiết được lọc rồi quay cô chân không dưới áp suất thấp để loại dung môi. Quá trình chiết được lặp lại 4 lần như vậy để thu được cận dịch chiết cồn tổng. Từ cận dịch chiết này được chiết phân lớp để loại dầu, nhựa và bã thu được chế phẩm thô.

- **Phương pháp gia công chế phẩm:** Chế phẩm CP7.8 được gia công từ nguyên liệu cận chiết thô bằng cách kết hợp với các phụ gia theo tỉ lệ thích hợp.

- **Thí nghiệm đồng ruộng:** Thí nghiệm đánh giá hiệu quả trừ nấm *C. gloeosporioides* hại ớt và nấm *B. cinerea* hại dâu tây, cải bắp và hoa hồng được bố trí theo khối ngẫu nhiên, nhắc lại 3 lần, diện tích ô thí nghiệm là 25m<sup>2</sup>.

*Công thức thí nghiệm:*

CT1: Chế phẩm CP 7.8 nồng độ 5000ppm: 80 ml/bình 8 lít

CT2: TP-ZEP 18EC 8 ml/8 lít

CT3: Daconil 75WP 15 g/bình 8 lít

CT4: Đối chứng phun nước lã

Phun chế phẩm ướt đều toàn bộ cây, chia làm 02 lần. Lần 1, khi bệnh mới xuất hiện (hoặc tỷ lệ bệnh trên đồng ruộng < 10%). Phun lần 2 cách lần một 05 ngày. Liều lượng nước thuốc phun: dâu tây, ớt, cải bắp 500 lít/ha; hoa hồng 1000 lít/ha.

Chỉ tiêu theo dõi: Điều tra tỷ lệ bệnh và chỉ số bệnh trước phun và sau phun 3, 5, 10 ngày.

Tính hiệu quả phòng trừ bệnh theo công thức Henderson Tilton

- **Đánh giá độc tính của chế phẩm trên chuột bạch:**

*\*Độc tính cấp:*

Thí nghiệm tiến hành trên chuột bạch bằng đường uống. Chuột bạch có trọng lượng 20 ± 2g được nuôi ổn định trong 3 ngày, được đánh dấu và chia ngẫu nhiên mỗi lô 10 con. Cho chuột uống chế phẩm, liều duy nhất, uống theo liều tăng dần ở các lô. Theo dõi các triệu chứng bất thường của chuột và đếm số chuột chết trong vòng 24 giờ. Xác định LD<sub>50</sub> theo công thức Karber - Behrens.

$$LD_{50} = LD_{100} - \frac{\Sigma (a \times b)}{N}$$

LD<sub>100</sub>: Liều làm chết 100% chuột

n: Số chuột ở mỗi nồng độ

a: Hiệu số giữa 2 liều kế tiếp

b: Trị số trung bình của tổng số chuột chết ở 2 liều kế tiếp

Cho chuột uống chế phẩm với liều như sau: 4000, 5000 và 6000 ppm, công thức đối chứng thay chế phẩm bằng nước.

*Độc tính bán trường diễn:*

Thí nghiệm tiến hành trên chuột bạch có trọng lượng 20 ± 2g được nuôi ổn định trong 3 ngày, sau đó đánh dấu và cân xác định trọng lượng, chuột được chia ngẫu nhiên thành 2 lô, mỗi lô 5 con.

Công thức 1: uống chế phẩm với liều lượng 4000 mg/kg

Công thức 2 đối chứng: uống nước cất

Cho chuột uống chế phẩm hàng ngày vào buổi sáng liên tục trong một tháng, sau đó cân kiểm tra trọng lượng của chuột.

- **Xác định thời gian cách ly qua phân tích dư lượng của chế phẩm trên dâu tây, hoa hồng, cải bắp và ớt:**

+ *Phương pháp lấy mẫu phân tích*

Mẫu được lấy đồng loạt cùng một thời điểm ở cùng địa điểm theo các thời gian: Ngay sau khi phun chế phẩm, cách thời điểm phun chế phẩm một ngày, hai ngày, ba ngày, bốn ngày,...

+ Phương pháp chạy mẫu phân tích

Xây dựng đường chuẩn: Mẫu hoạt chất tinh khiết được pha ở các nồng độ 1mg/ml; 0,8mg/ml; 0,5 mg/ml; 0,4mg/ml; 0,2mg/ml; 0,1mg/ml; và 0,05mg/ml. Tất cả các nồng độ trên được bơm lên cột RPC-18 với lượng giống nhau là 5 microgam/ml lần bơm mẫu. Hai giá trị lượng hoạt chất bơm mẫu và diện tích pic được biểu diễn dưới dạng đường thẳng tuyến tính  $y = ax + b$ .

Chuẩn bị mẫu phân tích: Cân chính xác mẫu cần phân tích rồi hoà tan vào 1ml MeOH rồi đem li tâm loại cặn sau đó bơm trực tiếp mẫu (5 microlit/lần bơm mẫu) trên máy HPLC/MS. Hàm lượng của hoạt chất trong mẫu được xác định dựa vào giá trị diện tích pic thu.

- Số liệu được phân tích thống kê theo chương trình Excel và IRRISTAT 4.0.

### III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

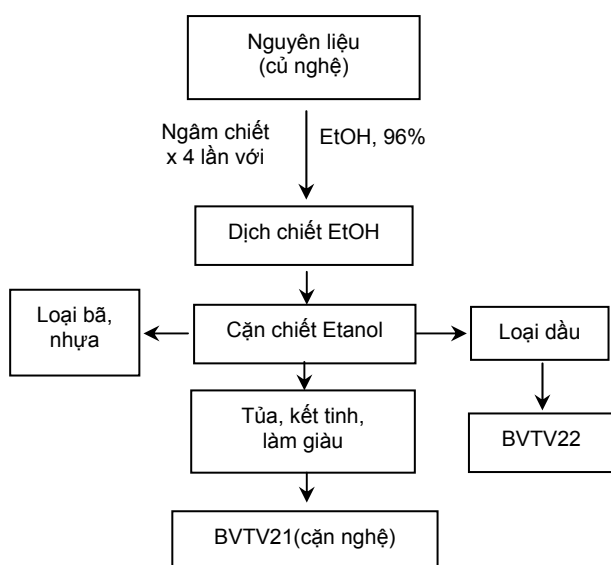
#### 3.1. Nghiên cứu sản xuất chế phẩm CP 7.8 có thành phần chính là hoạt chất Curcumin chiết xuất từ củ nghệ vàng

Đã tiến hành thu thập 41 loài thực vật, chiết tách được 92 mẫu dịch chiết và các phân đoạn, xác định được các mẫu dịch chiết từ cây bạch hoa xà, nghệ vàng, hồ tiêu, tỏi, tràu không, gừng có khả năng ức chế nấm gây bệnh thối

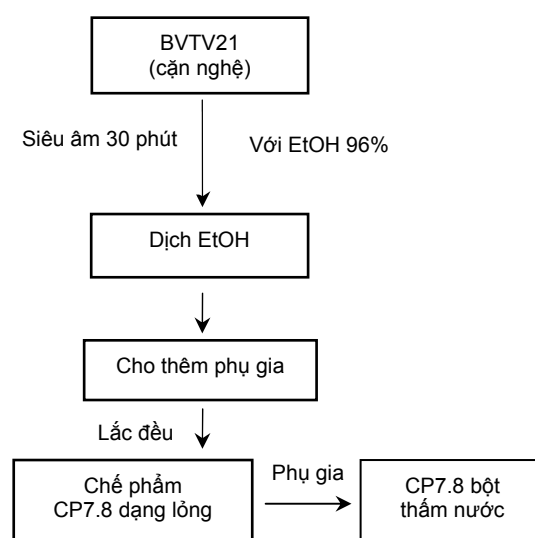
xám và thán thư (trên môi trường). Nghiên cứu khả năng hỗn hợp của các loại dịch chiết trên đã tạo được 15 dạng tổ hợp. Thử nghiệm đánh giá hiệu quả của các tổ hợp trong các điều kiện phòng thí nghiệm, nhà lưới, xác định được tổ hợp (ký hiệu là BVTV21 - Curcumin) chiết tách từ củ nghệ vàng (*Curcuma longa*) có khả năng phòng trừ bệnh thối xám và thán thư gây hại trên dâu tây, hoa hồng, cải bắp và ớt, hiệu quả phòng trừ đạt trên 75%. Đây là cơ sở cho phép tiếp tục nghiên cứu quy trình sản xuất chế phẩm từ dịch chiết củ nghệ vàng để phòng trừ bệnh thối xám và thán thư.

Đã nghiên cứu Quy trình tách chiết hoạt chất Curcumin từ củ nghệ vàng (*Curcuma longa*) để sản xuất chế phẩm CP7.8.

Củ nghệ vàng trồng ở các vùng tại Việt Nam được tiến hành thu hoạch, sơ chế, sấy, nghiền nhỏ. Ngâm chiết 24 giờ trong cồn 96%, có gia nhiệt và sử dụng cánh khuấy. Phần dịch chiết được lọc rồi đem quay cô chân không để loại dung môi. Quá trình chiết được lặp lại 4 lần thu được cặn dịch chiết cồn (Dịch chiết EtOH). Từ dịch chiết này tiếp tục chiết phân lớp để loại dầu, nhựa và bã để thu được chế phẩm thô BVTV21. Phần dầu sẽ được cô đặc lại để làm chế phẩm thô BVTV22. Quy trình sản xuất chế phẩm CP7.8 từ dịch chiết củ nghệ vàng (*Curcuma longa*), được tổng hợp tại hình 1 và 2.



Hình 1. Sơ đồ chiết xuất hoạt chất để gia công chế phẩm từ mẫu nghệ



Hình 2. Quy trình sản xuất chế phẩm CP7.8 từ mẫu BVTV21

Nghiên cứu đánh giá hiệu quả của chế phẩm CP7.8 ở cả hai dạng bột thấm nước và lỏng với bệnh thán thư trên ớt và thối xám trên dâu tây. Kết quả cho thấy, hiệu quả phòng trừ có sự khác nhau rõ rệt. Trên ớt chế phẩm CP7.8 dạng lỏng sau 10 ngày đạt 76,55% còn chế phẩm CP7.8 dạng bột thấm nước chỉ đạt 42,79%, trên dâu tây chế phẩm CP7.8 dạng lỏng sau 10 ngày đạt 77,65% còn chế phẩm CP7.8 dạng bột thấm nước chỉ đạt 39,13%. Kết quả này có thể được lý giải do chế phẩm CP7.8 dạng bột thấm nước khi pha với nước không hòa tan hoàn toàn, một phần bị lắng đọng, thậm chí còn làm tắc vòi khi phun. Điều này làm cho độc tính của chế phẩm bị giảm. Do vậy, có thể nhận xét rằng, sản xuất chế phẩm CP7.8 dạng lỏng là phù hợp hơn cả.

Đánh giá hiệu quả chế phẩm CP7.8 với bệnh thán thư và thối xám được thực hiện tại Mê Linh - Hà Nội, Yên Lạc-Vĩnh Phúc, Sa Pa - Lào Cai.

### 3.2. Hiệu quả phòng trừ của phẩm CP7.8 với bệnh thán thư *C. gloeosporioides* hại ớt và bệnh thối xám *B. cinerea* hại dâu tây, cải bắp và hoa hồng

Thí nghiệm sử dụng chế phẩm CP7.8 phòng trừ bệnh thán thư *C. gloeosporioides* hại ớt được tiến hành tại Mê Linh - Hà Nội (bảng 1), cho thấy chế phẩm CP 7.8 có khả năng hạn chế bệnh so với đối chứng, từ 5 ngày sau phun chỉ số bệnh ở công thức CP 7.8 là 1,55%, công thức đối chứng 4,46%, 10 ngày sau phun chỉ số bệnh ở công thức CP 7.8 là 1,74% trong khi đó ở công thức đối chứng là 6,66%. Hiệu quả phòng trừ sau 10 ngày phun của chế phẩm CP 7.8 đạt 76,34% tương đương với công thức phun thuốc Daconil 75WP và cao hơn công thức phun thuốc thảo mộc TP-Zep 18EC.

Bảng 1. Hiệu quả phòng trừ bệnh thán thư *C. gloeosporioides* hại ớt của chế phẩm CP 7.8 tại Mê Linh - Hà Nội, tháng 6 - 2012

CT	Trước phun		Thời gian sau phun thuốc								
			3 NSP			5 NSP			10 NSP		
	TLB	CSB	TLB	CSB	HQPT	TLB	CSB	HQPT	TLB	CSB	HQPT
CP7.8 80ml/bình 8 lít	2,30	0,66	3,56	1,11	56,05 <sup>ab</sup>	4,23	1,55	68,56 <sup>ab</sup>	4,92	1,74	76,34 <sup>a</sup>
TP-ZEP 18 EC 8 ml/8 lít	2,31	0,65	3,71	1,16	48,83 <sup>b</sup>	5,12	1,93	55,79 <sup>b</sup>	6,52	2,49	61,95 <sup>b</sup>
Daconil 75W15 g/bình 8 lít	2,38	0,61	3,01	0,89	61,25 <sup>ab</sup>	3,25	0,96	78,77 <sup>ab</sup>	4,54	1,50	77,63 <sup>a</sup>
Đối chứng phun nước lã	2,13	0,59	5,69	2,25		9,27	4,46		14,51	6,66	
CV (%)					8,6			11,8			9,1
LSD <sub>05</sub>					9,53			15,98			13,11

Ghi chú: Ngày phun thuốc: 04/6 và 09/6/2012, NSP: Ngày sau phun; TLB%: Tỷ lệ bệnh; CSB%: Chỉ số bệnh; HQPT%: Hiệu quả phòng trừ

Thí nghiệm sử dụng chế phẩm CP7.8 phòng trừ bệnh thối xám *B. cinerea* hại dâu tây được tiến hành tại Sa Pa - Lào Cai (bảng 2), cũng cho thấy chế phẩm CP 7.8 có khả năng hạn chế bệnh so với đối chứng, từ 5 ngày sau phun chỉ số bệnh ở công thức CP 7.8 là 5,00%, công thức đối

chứng 16,39%, 10 ngày sau phun chỉ số bệnh ở công thức CP 7.8 là 5,45% trong khi đó ở công thức đối chứng đã là 24,94%. Hiệu quả phòng trừ ở 10 ngày sau phun của chế phẩm CP 7.8 đạt 77,65% tương đương với công thức phun thuốc Daconil 75WP.

Bảng 2. Hiệu quả phòng trừ bệnh thối xám *B. cinerea* hại dâu tây của chế phẩm CP 7.8 tại Sa Pa - Lào Cai, tháng 3 - 2012

CT	Trước phun		Thời gian sau phun thuốc								
			3 NSP			5 NSP lần 1			10 NSP lần 2		
	TLB	CSB	TLB	CSB	HQPT	TLB	CSB	HQPT	TLB	CSB	HQPT
CP7.8 80ml/bình 8 lít	7,95	3,39	10,21	4,47	49,32 <sup>a</sup>	11,01	5,00	68,63 <sup>a</sup>	11,38	5,45	77,65 <sup>a</sup>
TP-ZEP 18 EC 8 ml/8 lít	7,16	3,43	11,62	5,95	35,94 <sup>b</sup>	14,75	7,41	50,57 <sup>b</sup>	15,51	8,20	60,05 <sup>b</sup>
Daconil75WP 15 g/bình 8 lít	7,57	3,48	10,14	4,33	55,34 <sup>a</sup>	10,36	4,67	73,20 <sup>a</sup>	11,29	5,17	80,34 <sup>a</sup>
Đối chứng phun nước lã	7,63	3,37	16,53	9,21		29,45	16,39		39,13	24,94	
CV (%)					14,2			12,5			11,2
LSD <sub>5%</sub>					13,29			16,06			16,30

Ghi chú: Ngày phun thuốc: 27/3 và 01/04/2012; NSP: Ngày sau phun; TLB%: Tỷ lệ bệnh; CSB%: Chỉ số bệnh; HQPT%: Hiệu quả phòng trừ

Thí nghiệm sử dụng chế phẩm CP7.8 phòng trừ bệnh thối xám *B. cinerea* hại cải bắp được tiến hành tại Mê Linh - Hà Nội, kết quả khi xử lý chế phẩm CP 7.8 trên cây cải bắp, bệnh thối xám giảm rõ rệt so với đối chứng. Ở 10 ngày sau phun, công

thức xử lý CP 7.8 có chỉ số bệnh là 4,41% còn công thức đối chứng chỉ số bệnh là 20,09 %. Hiệu quả phòng trừ ở 10 ngày sau phun của chế phẩm CP 7.8 đạt 76,09% tương đương với công thức phun thuốc Daconil 75WP (bảng 3).

Bảng 3. Hiệu quả phòng trừ bệnh thối xám *B. cinerea* hại cải bắp của chế phẩm CP 7.8 tại Mê Linh - Hà Nội, tháng 4 - 2012

CT	Trước phun		Thời gian sau phun thuốc								
			3 NSP			5 NSP lần 1			10 NSP lần 2		
	TLB	CSB	TLB	CSB	HQPT	TLB	CSB	HQPT	TLB	CSB	HQPT
CP7.8 80ml/bình 8 lít	7,78	1,87	9,91	2,41	57,19 <sup>a</sup>	12,35	3,89	70,47 <sup>a</sup>	13,42	4,41	76,09 <sup>a</sup>
TP-ZEP 18 EC 8 ml/8 lít	8,14	2,06	16,56	4,56	28,88 <sup>b</sup>	26,54	9,08	39,94 <sup>b</sup>	26,68	9,73	54,02 <sup>b</sup>
Daconil 75WP 15 g/bình 8 lít	8,79	2,00	9,37	2,23	64,32 <sup>a</sup>	15,20	3,60	75,43 <sup>a</sup>	15,33	4,15	79,65 <sup>a</sup>
Đối chứng phun nước lã	8,46	1,95	22,11	6,12		38,08	14,37		43,45	20,09	
CV (%)					14,3			10,6			10,3
LSD <sub>05</sub>					14,38			13,15			14,34

Ghi chú: Ngày phun thuốc: 06/4 và 11/4/2012; NSP: Ngày sau phun; TLB%: Tỷ lệ bệnh; CSB%: Chỉ số bệnh; HQPT%: Hiệu quả phòng trừ

Bảng 4. Hiệu quả phòng trừ bệnh thối xám *B. cinerea* hại hoa hồng của chế phẩm CP 7.8 tại Sa Pa - Lào Cai, tháng 6 - 2012

CT	Trước phun		Thời gian sau phun thuốc								
			3 NSP			5 NSP lần 1			10 NSP lần 2		
	TLB	CSB	TLB	CSB	HQPT	TLB	CSB	HQPT	TLB	CSB	HQPT
CP7.8 80ml/bình8lít	2,65	0,53	2,91	0,74	30,81 <sup>b</sup>	3,36	0,91	52,66 <sup>a</sup>	4,62	1,72	76,73 <sup>a</sup>
TP-ZEP18EC 8 ml/8 lít	2,30	0,46	2,65	0,58	44,82 <sup>a</sup>	3,67	0,96	48,82 <sup>a</sup>	6,97	2,91	59,17 <sup>b</sup>
Daconil75WP 15 g/bình 8 lít	1,82	0,36	2,14	0,48	52,75 <sup>a</sup>	3,38	0,97	49,12 <sup>a</sup>	4,03	1,42	80,01 <sup>a</sup>
Đối chứng phun nước lã	3,44	0,69	3,99	1,05		6,64	1,90		17,37	7,31	
CV (%)					12,1			9,3			10,2
LSD <sub>5%</sub>					10,34			9,38			14,67

Ghi chú: Ngày phun thuốc: 08/6 và 13/6/2012, NSP: Ngày sau phun; TLB%: Tỷ lệ bệnh; CSB%: Chỉ số bệnh; HQPT%: Hiệu quả phòng trừ

Thí nghiệm sử dụng chế phẩm CP7.8 phòng trừ bệnh thối xám *B. cinerea* hại hoa hồng được tiến hành tại Sa Pa - Lào Cai. Chế phẩm CP 7.8 cũng có tác dụng hạn chế bệnh thối xám phát triển và gây hại trên hoa. Ở 10 ngày sau phun, công thức xử lý CP 7.8 có chỉ số bệnh là 1,72% còn công thức đối chứng chỉ số bệnh là 7,31 %. Hiệu quả phòng trừ ở 10 ngày sau phun của chế phẩm CP 7.8 đạt 76,73% tương đương với công thức phun thuốc Daconil 75WP (bảng 4).

### 3.3. Đánh giá độc tính của chế phẩm trên chuột bạch

#### 3.3.1. Độc tính cấp

Tiến hành cho chuột uống chế phẩm theo các liều lượng tăng dần 4000, 5000 và 6000 mg/kg, sau 24 giờ theo dõi, trong tất cả các liều thí nghiệm đều không thấy chuột chết. Ở các liều lượng thí nghiệm, chuột ăn uống và hoạt động bình thường, không có biểu hiện bất thường nào

so với công thức đối chứng. Do ở các liều lượng không có chuột chết nên không xác định được LD<sub>50</sub>. Theo tiêu chuẩn của WHO, thuốc ở thể lỏng có giá trị LD<sub>50</sub> > 3000 mg/kg không có biểu thị trong nhóm độc. Như vậy, chế phẩm CP 7.8 an toàn với động vật máu nóng và con người.

#### 3.3.2. Độc tính bán trường diễn

Chuột được đánh dấu và cân xác định trọng lượng trước khi thí nghiệm. Cho chuột uống chế phẩm hàng ngày vào buổi sáng liên tục trong một tháng với liều lượng 4000 mg/kg, sau đó cân kiểm tra trọng lượng (bảng 5). Kết quả theo dõi trọng lượng sau 4 tuần thí nghiệm cho thấy chuột đều tăng cân so với trước khi thí nghiệm. Sự sai khác của trọng lượng chuột thí nghiệm về mặt thống kê giữa công thức thí nghiệm với công thức đối chứng là có ý nghĩa ( $F < F_{crit}$ ). Như vậy, chế phẩm không ảnh hưởng đến trọng lượng của chuột (bảng 5).

Bảng 5. Trọng lượng chuột sau khi thí nghiệm của chế phẩm CP7.8 trên chuột bạch (Viện Bảo vệ thực vật 2012)

Công thức	Trọng lượng chuột		
	Trước khi thí nghiệm	Sau thí nghiệm 2 tuần	Sau thí nghiệm 4 tuần
Chế phẩm CP7.8	24,1 ± 1,1	31,1 ± 1,9	40,2 ± 1,5
Đối chứng	24,5 ± 1,0	31,7 ± 0,9	42,0 ± 1,8
	F < Fcrit	F < Fcrit	F < Fcrit

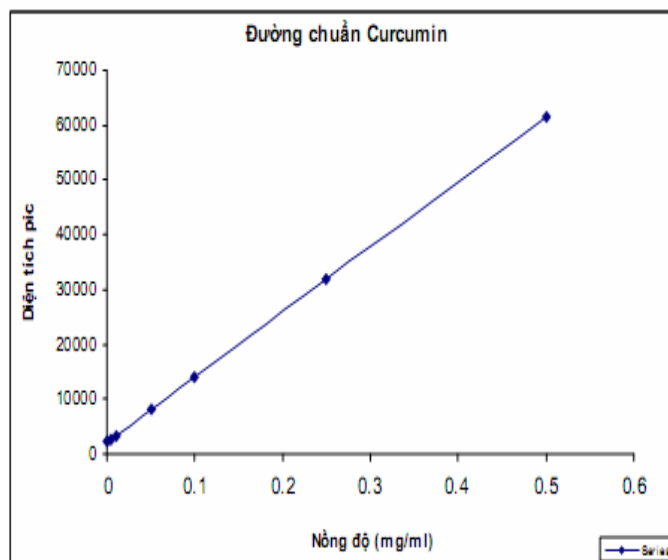
### 3.4. Xác định thời gian cách ly qua phân tích dư lượng của chế phẩm trên dâu tây, hoa hồng, cải bắp và ớt

**\*Xây dựng đường chuẩn:**

Kết quả đo dung dịch chuẩn hoạt chất curcumin (bảng 6)

Bảng 6. Kết quả đo dung dịch chuẩn Curcumin

TT	Nồng độ (mg/ml)	Diện tích pic	RT
1	0.0005	8643	22.17
2	0.005	682330	22.17
3	0.01	1920709	22.17
4	0.05	10995405	22.17
5	0.1	15413762	22.17
6	0.25	35358870	22.17
7	0.5	59443806	22.17



Hình 3. Đường chuẩn Curcumin

**\*Kết quả đo hàm lượng hoạt chất trong mẫu**

Mẫu được lấy đồng loạt cùng một thời điểm ở cùng địa điểm theo các thời gian: Ngay sau khi phun chế phẩm, cách thời điểm phun chế phẩm 1 ngày, 2 ngày, 3 ngày, 4 ngày... Cây ớt và dâu tây

phân tích trên quả, hoa hồng và cải bắp phân tích trên lá.

Kết quả phân tích trên quả ớt, Curcumin giảm dần theo các ngày phân tích, sau 3 ngày hàm lượng Curcumin lại khoảng 5%, sau 4 ngày không phát hiện thấy Curcumin trên quả ớt bảng 7.

Bảng 7. Kết quả phân tích dư lượng của Curcumin ngoài đồng ruộng của chế phẩm CP7.8 trên ớt (Viện Hóa học 2011)

Mẫu	Thời gian	Lượng dịch chiết đem đo(g)	Tổng khối lượng dịch chiết(g)	Thể tích (µl MeOH)	Diện tích pik	Lượng Curcumin (mg/ml)	Tổng lượng Curcumin/10 quả (mg/14g)
Mẫu 1	10/10/2011	0.0423	0.0838	1000	603210	0,004886	2.115946
Mẫu 2	12/10/2011	0.0620	0.1292	1000	50267	0,000407	0.176329
Mẫu 3	13/10/2011	0.0649	0.1336	1000	30161	0,000244	0.105797
Mẫu 4	14/10/2011	0.0624	0.1253	1000	N/A	-	-
Mẫu 5	15/10/2011	0.0343	0.0615	1000	N/A	-	-
Mẫu 6	16/10/2011	0.0220	0.0438	1000	N/A	-	-

Kết quả phân tích trên lá cải bắp, Curcumin ngày không phát hiện thấy Curcumin trên quả ớt giảm dần theo các ngày phân tích, sau 2 ngày hàm lượng Curcumin lại khoảng 4,5%, sau 3

bảng 8.

Bảng 8. Kết quả phân tích dư lượng của Curcumin ngoài đồng ruộng của chế phẩm CP7.8 trên cải bắp (Viện Hóa học 2011)

Mẫu	Thời gian	Lượng dịch chiết đem đo (g)	Tổng khối lượng dịch chiết(g)	Thể tích (µl MeOH)	Diện tích pik	Lượng Curcumin (µg/10 µl)	Tổng lượng Curcumin/g cải bắp (mg/500g)
BC1	12/12/2011	0.0997	0.0997	990	28.08	0.74	139.11
BC2	13/12/2011	0.0547	0.0547	990	5.15	0.14	33.16
BC3	14/12/2011	0.0460	0.0460	990	4.32	0.11	6.16
BC4	15/12/2011	0.0412	0.0412	990	-	-	-
BC5	16/12/2011	0.0661	0.0661	990	-	-	-
BC6	17/12/2011	0.0102	0.0102	990	-	-	-
BC7	18/12/2011	0.3259	0.3259	990	-	-	-

Kết quả phân tích trên quả dâu tây, Curcumin giảm dần theo các ngày phân tích, sau 2 ngày hàm lượng Curcumin lại khoảng 4,9%,

sau 3 ngày không phát hiện thấy Curcumin trên quả ớt bảng 9.

Bảng 9. Kết quả phân tích dư lượng của Curcumin ngoài đồng ruộng của chế phẩm CP7.8 trên dâu tây, (Viện Hóa học 2012)

Mẫu	Thời gian	Lượng dịch chiết đem đo(g)	Tổng khối lượng dịch chiết(g)	Thể tích (µl MeOH)	Diện tích pik	Lượng Curcumin (mg/ml)	Tổng lượng Curcumin/quả (mg/10g)
Mẫu 1	16/9/2012	0.6140	1.3627	1000	456638	0,003813	1,6017
Mẫu 2	17/9/2012	0.5	0.9082	1000	380532	0,003178	0,1335
Mẫu 3	18/9/2012	0.4250	0.8674	1000	22832	0,000191	0,0801
Mẫu 4	19/9/2012	0.0322	0.0636	1000	N/A	-	-
Mẫu 5	20/9/2012	0.0273	0.0538	1000	N/A	-	-
Mẫu 6	21/9/2012	0.0246	0.0578	1000	N/A	-	-
Mẫu 7	22/9/2012	0.0233	0.0566	1000	N/A	-	-

Kết quả phân tích trên lá hoa hồng, Curcumin giảm dần theo các ngày phân tích, sau 2 ngày hàm lượng Curcumin lại khoảng 7,9%,

sau 3 ngày không phát hiện thấy Curcumin trên quả ớt bảng 10.

Bảng 10. Kết quả phân tích dư lượng của Curcumin ngoài đồng ruộng của chế phẩm CP7.8 trên hoa hồng (Viện Hóa học 2012)

Mẫu	Thời gian	Lượng dịch chiết đem đo (g)	Tổng khối lượng dịch chiết (g)	Thể tích (μl MeOH)	Diện tích pik	Lượng Curcumin (mg/ml)	Tổng lượng Curcumin/lá (mg/m <sup>2</sup> )
Mẫu 1	16/9/2012	0.6229	1.864	1000	355674	0.002808	1.2476
Mẫu 2	17/9/2012	0.5899	1.8245	1000	108376	0.000733	0.2267
Mẫu 3	18/9/2012	0.7754	1.8206	1000	70971	0.000419	0.0984
Mẫu 4	19/9/2012	0.0320	0.0750	1000	N/A	-	-
Mẫu 5	20/9/2012	0.0432	0.0842	1000	N/A	-	-
Mẫu 6	21/9/2012	0.0261	0.0577	1000	N/A	-	-
Mẫu 7	22/9/2012	0.0283	0.0574	1000	N/A	-	-

Như vậy, hàm lượng Cucurmin trên ớt, dâu tây, hoa hồng và cải bắp đều giảm dần sau các ngày phân tích. Sau 4 ngày không phát hiện thấy Curcumin trên các mẫu phân tích.

#### IV. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

##### 4.1. Kết luận

Đã thu thập được 41 loài thực vật, chiết tách được 92 mẫu dịch chiết và các phân đoạn, xác định được mẫu dịch chiết (BVTV21) từ củ nghệ vàng (*Curcuma longa*) có khả năng hạn chế bệnh thán thư hại ớt, bệnh thối xám hại dâu tây, cải bắp và hoa hồng. Đã nghiên cứu, xây dựng quy trình tách chiết hoạt chất Curcumin từ củ nghệ vàng để sản xuất chế phẩm CP7.8 trừ bệnh thán thư và thối xám. Chế phẩm CP7.8 có thể sản xuất được cả hai dạng lỏng và bột thấm nước, nhưng dạng lỏng được đánh giá là khả thi hơn, do khả năng hòa tan tốt hơn dạng bột thấm nước.

Hiệu quả phòng trừ bệnh thối xám và thán thư của chế phẩm CP 7.8 trên dâu tây, cải bắp, hoa hồng và ớt tại Mê Linh - Hà Nội, Yên Lạc-Vĩnh Phúc và Sa Pa - Lào Cai trong điều kiện diện hẹp cho thấy, chế phẩm CP 7.8 nồng độ 5000 ppm với liều lượng 80ml/binh 8 lít, có khả năng hạn chế bệnh thán thư và thối xám cao hơn thuốc thảo mộc TP-Zep 18EC, tương đương với thuốc hóa học Daconil 75WP, hiệu quả phòng trừ đạt từ 76,09 - 77,65 %.

Ở các liều lượng thí nghiệm (4000, 5000, 6000mg/kg), chế phẩm CP7.8 không gây chết cho chuột, không xác định được LD<sub>50</sub>, chế phẩm thuộc nhóm ít độc và an toàn

Sau 4 ngày hàm lượng Curcumin không phát hiện được trên các mẫu dâu tây, cải bắp, hoa hồng và ớt.

##### 4.2. Đề nghị

Chế phẩm CP7.8 có hiệu quả trừ bệnh, đề nghị chương trình Công nghệ sinh học tiếp tục cho sản xuất thử nghiệm chế phẩm CP 7.8

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Ahmed Intijai., M. Shah Alam., A.K.M.Rafiul Islam., Shahidul Alam., Tae Soo Lee (2007). "In vitro studies on *Colletotrichum falcatum* the causal of red rot disease of Sugarcane", American-Eurasian J.Agric.& Environ. Sci, 2(5), pp.511-517.
- Choi GJ, Lee SW, Jang KS, Kim JS, Cho KY and Kim JC (2004). Effects of chrysophanol, parietin, and nepodin of *Rumex crispus* on barley and cucumber powdery mildews. *Crop Protection* 23, 1215-1221.
- Kim JC, Choi GJ, Lee SW, Kim JS, Chung KY and Cho KY (2004). Screening extracts of *Achyranthes japonica* and *Rumex crispus* for activity against various plant pathogenic fungi and control of powdery mildew. *Pest Management Science* 60, 803-808.
- Muklesur rahman., Siti Hajar Ahmad., Mahmud Tengku Muda Mohamed and Mohamad Zaki Ab. Rahman (2011). "Extraction of *Jatropha curcas* fruits for antifungal activity against anthranose (*Colletotrichum gloeosporioides*) of papaya". *African Journal of Biotechnology*, 10 (48), pp.9796-9799.
- Nalinee Charigkapakorn (2000). *Control chili anthracnose by difference biofungicides*. Report 2000 Karsetsart University Nakhon Pathom Thailand.