

NGHIÊN CỨU QUY TRÌNH CHIẾT TÁCH CAO CHIẾT LÁ NGŨ SẮC (*Lantana camara* L.) VÀ ĐÁNH GIÁ HIỆU LỰC PHÒNG TRỪ SÂU CUỐN LÁ LÚA (*Cnaphalocrosis medinalis*)

Nguyễn Quốc Châu Thanh^{1*}, Nguyễn Thị Thạch Thảo¹, Đặng Thế Vinh¹, Nguyễn Thành Luân²

TÓM TẮT

Các sản phẩm thuốc bảo vệ thực vật có nguồn gốc sinh học là một trong những định hướng phát triển quan trọng của nền nông nghiệp hiện đại, góp phần giảm thiểu sự mất kiểm soát của các loại sâu hại kháng thuốc, thân thiện với môi trường và an toàn cho người sử dụng. Nghiên cứu này tiến hành khảo sát quy trình chiết tách cao chiết từ lá Ngũ sắc (*Lantana camara* L.) và đánh giá hiệu lực tiêu diệt sâu cuốn lá lúa (*Cnaphalocrosis medinalis*) trên đồng ruộng của chế phẩm sinh học dạng nhũ tương đậm đặc (EC) được phối chế. Kết quả cho thấy, quy trình chiết tách cao chiết lá Ngũ sắc bằng phương pháp ngâm trích được tối ưu với methanol sau 2 lần chiết, tỷ lệ bột nguyên liệu/thể tích dung môi ở mức 1: 5 (g/mL) trong 24 giờ. Sự hiện diện của các nhóm hợp chất flavonoid, alkaloid, saponin triterpene và coumarin trong cao chiết được xác định bằng phương pháp định tính. Đáng chú ý, hiệu lực tiêu diệt sâu cuốn lá lúa tốt nhất được ghi nhận ở chế phẩm EC từ cao chiết methanol so với các chế phẩm khác với hiệu quả kéo dài hơn 75% sau 7 ngày phun ở cả hai địa điểm khảo sát.

Từ khóa: Cao chiết lá Ngũ sắc, công thức Henderson-Tilton, hiệu lực tiêu diệt, sâu cuốn lá.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Sự phát triển của nền nông nghiệp trong khu vực chịu ảnh hưởng bởi nhiều yếu tố khác nhau, trong đó biến đổi khí hậu và sự phát triển không kiểm soát của các loại sâu hại là những vấn đề nghiêm trọng cần có hướng giải quyết. Đặc biệt, sâu cuốn lá (*Cnaphalocrosis medinalis*) là một loài sâu gây hại phổ biến trên diện rộng đối với cây lúa, làm giảm năng suất khi thu hoạch. Do đặc điểm sinh học có vòng đời kéo dài, khả năng thích nghi nhanh chóng tùy thuộc vào giống lúa, phân bón và sự thay đổi của thời tiết nên sâu cuốn lá nhỏ khó phòng trừ và tiêu diệt một cách triệt để [1]. Hiện nay, việc phòng trừ sâu cuốn lá lúa dựa vào việc sử dụng các loại thuốc hóa học như Abamectin, Permethrin hoặc Emamectin benzoate. Tuy nhiên, sự thích nghi nhanh chóng của sâu hại, cùng với việc lạm dụng các loại thuốc bảo vệ thực vật đã dẫn đến phát sinh nhanh chóng các loài sâu hại kháng thuốc, mất cân bằng sinh thái nông nghiệp, gây ảnh hưởng xấu đến môi trường và sức khỏe người sử dụng. Vì vậy,

nghiên cứu phát triển chế phẩm sinh học tiềm năng để phòng trừ sâu cuốn lá đang là mục tiêu phát triển của hầu hết các doanh nghiệp trong lĩnh vực thuốc bảo vệ thực vật.

Cây Ngũ sắc (*Lantana camara* L.), hay Trâm Ôi, thuộc họ roi ngựa (Verbenaceae), mọc hoang và phân bố rộng khắp ở đồi núi, ven biển. Cây được sử dụng trong các bài thuốc y học dân gian; tuy nhiên, những nghiên cứu gần đây đã cho thấy tiềm năng kháng nấm và diệt trừ sâu hại trong nông nghiệp đáng ghi nhận. Nguyễn Ngọc Bảo Châu và cs (2017) đã báo cáo tiềm năng phòng trừ sâu tơ từ dịch chiết thô lá cây Ngũ sắc (quy mô phòng thí nghiệm) thông qua ức chế quá trình hóa nhộng và vũ hóa, đồng thời gây chán ăn trên 90% ở nồng độ 30% dịch chiết [2]. Bên cạnh đó, một nghiên cứu khác đã cho thấy hiệu quả tiêu diệt ấu trùng sâu khoang ở quy mô phòng thí nghiệm của lá Ngũ sắc với giá trị $LD_{95} = 4,97$ mg/ấu trùng [3]. Ngoài ra, Nguyễn Phạm Tuấn và cs (2020) đã công bố hiệu quả phòng trừ sâu xanh da láng sau 8 ngày với hiệu quả cao nhất đạt 71,57% [4]. Đáng chú ý, hiệu quả diệt trừ sâu đục thân lúa từ dịch chiết nước cây Ngũ sắc đã được công bố bởi Josephine A. Gonzales (2020) [5]. Tuy nhiên, các nghiên cứu còn tập trung khảo sát ở quy mô phòng thí nghiệm, chưa đánh giá trực tiếp trên đồng ruộng

¹ Khoa Khoa học Tự nhiên, Trường Đại học Cần Thơ

² Phòng Nghiên cứu và Phát triển sản phẩm (R&D), Công ty CP Delta Cropcare

*Email: nqcthanh@ctu.edu.vn

có sự khác biệt ảnh hưởng lớn do điều kiện thực địa, khí hậu, sâu hại kháng thuốc và thiên địch. Vì vậy, nghiên cứu này tập trung khảo sát quy trình chiết tách cao chiết từ lá Ngũ sắc nhằm phối chế một chế phẩm sinh học dạng nhũ tương EC và đánh giá hiệu lực tiêu diệt sâu cuốn lá lúa trên đồng ruộng.

2. NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên liệu

Lá cây Ngũ sắc (*Lantana camara* L.) được thu hái tại khu vực tỉnh An Giang, được định danh và lưu trữ tại Phòng thí nghiệm Hóa sinh, Khoa Khoa học Tự nhiên, Trường Đại học Cần Thơ với mã số LC.SV-2022. Sau đó, nguyên liệu được rửa sạch và loại bỏ tạp chất, sấy khô ở nhiệt độ 50°C và xay thành bột. Bột nguyên liệu sẽ được trữ ở điều kiện nhiệt độ - 20°C đến khi sử dụng.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Quy trình chiết tách điều chế cao

20 g bột nguyên liệu khô được cho vào erlen 250 mL, ngâm chiết dung môi ở nhiệt độ phòng. Sau đó, dịch chiết thô được tiến hành cô đuổi dung môi ở áp suất thấp để thu được cao chiết. Cao chiết được trữ ở 4°C cho các thí nghiệm tiếp theo. Quy trình tối ưu hóa các điều kiện ảnh hưởng đến quá trình chiết tách được thực hiện lần lượt với các yếu tố, bao gồm: dung môi, số lần chiết, tỉ lệ nguyên liệu/thể tích dung môi (rắn - lỏng) và thời gian chiết.

2.2.2. Khảo sát quy trình

Dung môi tối ưu cho quá trình chiết: methanol, ethyl acetate, hexane. Sau đó, số lần chiết được khảo sát lần lượt trong cùng điều kiện với dung môi tối ưu sau 4 lần chiết. Các giá trị được giữ cố định, bao

gồm: khối lượng mẫu (20 g), thời gian (24 giờ), tỉ lệ nguyên liệu/thể tích dung môi (g/mL) (1: 4). Kết quả được đánh giá khối lượng cao chiết thu được và phân tích sắc ký lớp mỏng (TLC – *Thin layer chromatography*).

Tỉ lệ nguyên liệu/thể tích dung môi (g/mL) được tiến hành khảo sát với các tỉ lệ lần lượt là 1: 3, 1: 4, 1: 5, 1: 6, 1: 7 và 1: 8. Thời gian chiết tối ưu được khảo sát ở 3, 6, 12, 24, 48, 72 và 96 giờ. Khối lượng cao chiết được phân tích để đánh giá điều kiện tối ưu cho quy trình chiết tách [6].

2.2.3. Khảo sát thành phần hóa học

Các thành phần hóa học của cao chiết bao gồm: tanin, flavonoid, terpenoid, saponin, alkaloid, glycoside, coumarin được định tính dựa theo phương pháp được mô tả trong báo cáo của Manjulika Yadav và cs (2014) [7]. Sắc ký lớp mỏng: cao chiết được hòa tan vào methanol để tạo thành dung dịch mẫu. Dung dịch mẫu tiến hành sắc ký lớp mỏng với các hệ dung môi với tỉ lệ khác nhau theo chiều tăng dần độ phân cực là dichlormethane (DC), hexane:ethyl acetate (Hex: EA = 1: 1, v/v), ethyl acetate:acetone (EA: Ac = 9: 1, v/v). Kết quả TLC được ghi nhận bằng UV (365 nm) và thuốc thử PMA (Phosphomolybdic acid).

2.3. Đánh giá hiệu lực tiêu diệt sâu cuốn lá lúa

Phối chế các chế phẩm sinh học dạng nhũ tương (Emulsifiable concentrates, EC): cao chiết được hoà tan trong 10% DMF (Dimethylformamide, v/v), dầu cọ cùng các chất nhũ hóa sinh học thích hợp với tỉ lệ thành phần cao chiết 10% (w/w). Sau đó, sản phẩm sinh học sẽ được pha loãng với nước theo liều lượng được thể hiện quả bảng 1.

Bảng 1. Khảo nghiệm đánh giá hiệu lực tiêu diệt sâu cuốn lá của các chế phẩm EC từ cao chiết lá Ngũ sắc

STT	Nghiệm thức	Liều lượng (bình 25 lít)	Diện tích (m ²)	Ghi chú
1	CHX	80 ml	1.000	Chế phẩm cao hexane
2	CME	80 ml		Chế phẩm cao methanol
3	CEA	80 ml		Chế phẩm cao ethyl acetate
4	Glim 270SC	40 ml		Đối chứng dương
5	Đối chứng không xử lý	-		Đối chứng âm

Khảo nghiệm được thực hiện trên 2 ruộng lúa độc lập tại huyện Cờ Đỏ và Phong Điền, thành phố Cần Thơ với tổng diện tích lần lượt là 5.500 m² và 5.200 m², ngày thực hiện tương ứng là 4/7/2022 và

5/7/2022. Giống lúa trên ruộng khảo nghiệm là OM18.

Phương pháp thí nghiệm: bố trí nghiệm thức ngẫu nhiên với diện tích khung 0,5 m²/nghiệm thức

(n=12). Ghi nhận độ tuổi của sâu cùng mật số sâu cuốn lá còn sống ở các thời điểm trước khi phun, 3 ngày, 5 ngày và 7 ngày sau phun (NSP). Đối với mỗi nghiệm thức, thu toàn bộ bao lá trong khung và tiến hành đếm số sâu còn sống tương ứng trong mỗi khung [8]. Hiệu lực tiêu diệt sâu hại của thuốc được tính theo công thức Henderson-Tilton [9]. Đối chứng dương là Glim 270SC (Tanthanhco., Ltd); đối chứng âm là nghiệm thức không phun.

$$\text{Hiệu lực (\%)} = \left(1 - \frac{C_b \times T_a}{C_a \times T_b}\right) \times 100$$

Trong đó: C_b là số sâu cuốn lá sống ở nghiệm thức đối chứng trước khi phun; C_a là số sâu cuốn lá sống ở nghiệm thức đối chứng sau khi phun; T_b là số sâu cuốn lá sống ở nghiệm thức xử lý thuốc trước khi phun thuốc; T_a là số sâu cuốn lá sống ở nghiệm thức xử lý thuốc sau khi phun thuốc.

Bảng 2. Ảnh hưởng của dung môi đến quá trình chiết tách cao chiết lá Ngũ sắc

Dung môi	Khối lượng pha rắn (g)	Thời gian ngâm (giờ)	Số lần trích	Tỉ lệ rắn - lỏng (g/mL)	Khối lượng cao chiết (g)
Methanol	20	24	2	1: 4	1,82 ^a
Hexane	20	24	2	1: 4	0,38 ^b
Ethyl acetate	20	24	2	1: 4	0,70 ^c

Ghi chú: các chữ cái khác nhau trong cùng một cột thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê 5%

Kết quả cho thấy quá trình chiết với methanol cho khối lượng cao chiết lớn nhất 1,82 g và có sự khác biệt đáng kể so với các loại dung môi còn lại. Hiệu quả chiết được đánh giá dựa trên khối lượng cao chiết thu được cần cho quá trình phối chế các chế phẩm sinh học. Kết quả này tương đồng với một số nghiên cứu trước đây cho thấy các số lượng các phân tử hợp chất phenolic, saponin mang nhiều nhóm phân cực và có khả năng hòa tan tốt trong các dung môi phân cực mạnh, điển hình là methanol (độ phân cực: 5,1; hằng số điện môi: 32,63) [10]. Mặt khác, các dung môi ethyl acetate (độ phân cực: 4,4; hằng số điện môi: 6,0) và hexane (độ phân cực: 0; hằng số điện môi: 1,89) có độ phân cực giảm dần và có sự chọn lọc các hợp chất có thể hòa tan như flavonoid hay alkaloid [11]. Vì vậy, methanol là dung môi phù hợp nhất cho quá trình chiết tách cao chiết từ lá Ngũ sắc.

Số lần chiết là một trong những yếu tố cần khảo sát để tối ưu hóa quy trình chiết tách, nhằm mục đích giảm thiểu thời gian và chi phí tiêu hao cho dung môi chiết tách. Số lần chiết phù hợp được đánh giá dựa

2.4. Xử lý số liệu

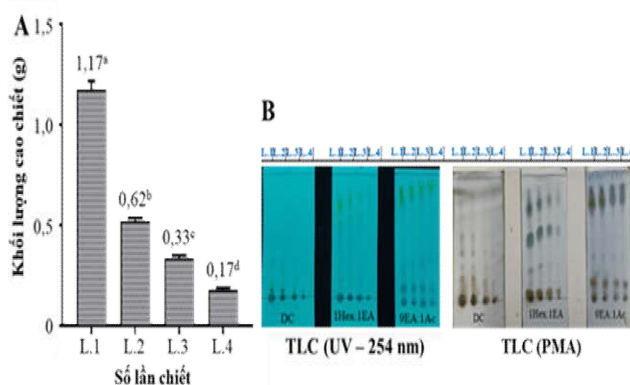
Số liệu được tính toán bằng Microsoft Excel và xử lý thống kê bằng phần mềm GraphPad Prism 7.04. Các nghiệm thức được lặp lại ít nhất 3 lần. Các giá trị được phân tích thống kê one-way ANOVA (Tukey), mức ý nghĩa $p < 0,05$.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Kết quả khảo sát quy trình chiết tách

Một trong những yếu tố tiên quyết ảnh hưởng đến quá trình chiết tách cũng như hoạt tính hay hiệu lực tiêu diệt sâu hại là dung môi chiết. Trong nghiên cứu này, 3 loại dung môi ly trích khác nhau được khảo sát dựa trên sự khác biệt về độ phân cực của dung môi với các nghiệm thức được cố định được trình bày ở bảng 2.

trên khối lượng cao chiết thu được sau 24 giờ cho 4 lần chiết độc lập. Ngoài ra, kết quả TLC cũng cho thấy độ đậm, nhạt của các vết tương ứng với hợp chất xuất hiện trong cao chiết ở các hệ dung môi có độ phân cực tăng dần.

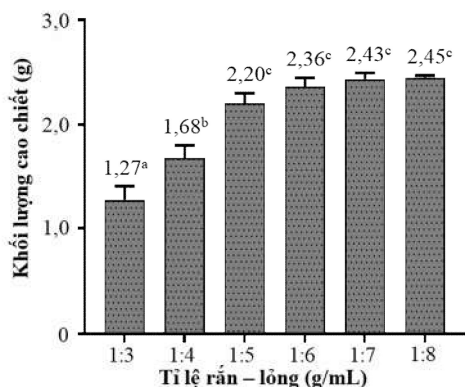


Hình 1. Ảnh hưởng của số lần chiết đến quá trình chiết tách cao chiết methanol lá Ngũ sắc

A. Khối lượng cao chiết; B. Kết quả TLC các lần chiết (UV-254 nm; PMA)

Ghi chú: các chữ cái khác nhau thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê 5%

Khối lượng cao chiết thu được nhiều nhất ở lần chiết đầu tiên (L.1) là 1,17 g, so với các lần chiết tiếp theo với khối lượng tương ứng lần lượt là 0,62 g, 0,33 g và 0,17 g (Hình 1.A). Bên cạnh đó, kết quả TLC cũng cho thấy các vết mờ dần sau mỗi lần chiết. Điều này giải thích rằng hàm lượng các hợp chất được ly trích giảm dần tương ứng với khối lượng cao chiết thu được, đặc biệt kể từ lần chiết thứ 3 (L.3). Dựa trên kết quả phân tích TLC ở các hệ dung môi phân cực khác nhau, các loại hợp chất terpen xuất hiện các hệ giải ly kém phân cực trong dung môi DC cho các vết có màu tím (Hình 1.B). Khi tăng dần độ phân cực dung môi của hệ giải ly (Hex: EA = 1: 1; EA: Ac = 9: 1), kết quả cho thấy có sự xuất hiện các vết màu vàng đặc trưng cho nhóm hợp chất flavonoid. Chính vì thế, sự bổ sung kết quả phân tích thường quy TLC cho quá trình khảo sát số lần chiết cho cái nhìn trực quan về nhận diện sự phân bố các nhóm hợp chất trong cao chiết và đánh giá hiệu quả ly trích của quá trình chiết tách [12]. Vì vậy, 2 lần chiết là phù hợp và được chọn để đảm bảo hiệu suất chiết lượng hoạt chất tương đối mà vẫn tiết kiệm được dung môi.

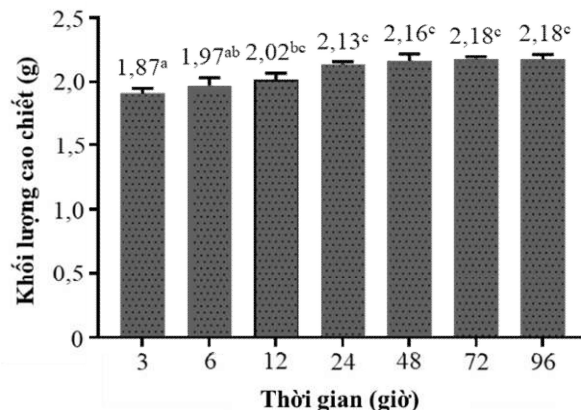


Hình 2. Ảnh hưởng của tỉ lệ rắn - lỏng đến khối lượng cao chiết

Ghi chú: các chữ cái khác nhau thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê 5%

Tỉ lệ rắn - lỏng cũng giữ vai trò quan trọng và ảnh hưởng trực tiếp đến hiệu quả chiết tách. Kết quả cho thấy khi tăng tỉ lệ rắn - lỏng, khối lượng cao chiết tăng lên rõ rệt có ý nghĩa thống kê ở mức 5% (Hình 3). Kết quả này được giải thích dựa trên sự chênh lệch nồng độ chất tan và dung môi trong cùng một khối lượng mẫu nhất định dẫn đến quá trình truyền khối từ pha rắn vào pha lỏng diễn ra nhanh chóng đạt được trạng thái cân bằng, làm tăng khối lượng cao chiết [6]. Tuy nhiên, kết quả khảo sát cho thấy ở tỉ lệ 1: 5 (2,20 g), 1: 6 (2,36 g), 1: 7 (2,43 g), 1: 8 (2,45

g), sự chênh lệch khối lượng cao chiết ở các tỉ lệ này khác biệt không có ý nghĩa thống kê. Điều này có thể giải thích cho sự bão hòa của tỉ lệ pha rắn - lỏng làm cho khối lượng cao chiết đến mức cực đại. Do đó, tỉ lệ 1: 5 được chọn là tỉ lệ tối ưu, tiết kiệm dung môi cho quá trình chiết tách và được dùng trong khảo nghiệm tiếp theo.



Hình 3. Ảnh hưởng của thời gian đến khối lượng cao chiết

Ghi chú: các chữ cái khác nhau thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê 5%

Thời gian là một trong những yếu tố quan trọng ảnh hưởng đến quá trình chiết tách cần thiết để tối ưu hóa nhằm tiết kiệm chi phí, đạt tối đa hiệu quả chiết tách. Kết quả khảo sát cho thấy, khối lượng cao chiết thu được tăng lên theo thời gian ngâm chiết (Hình 3). Điều này được giải thích dựa theo quá trình truyền khối, chất tan ở pha rắn hòa tan vào pha lỏng ở một thời gian nhất định để đạt được trạng thái cân bằng. Khi thời gian ngâm chiết tăng dần thì trạng thái đạt cân bằng giữa hai pha cũng tăng dần đến tăng khối lượng cao chiết. Đáng chú ý, kết quả khảo sát cũng cho thấy khi hệ đạt trạng thái cân bằng thì sự chênh lệch nồng độ giữa hai pha không thay đổi nhiều làm cho khối lượng cao chiết tăng thêm không có ý nghĩa thống kê, ở mốc thời gian 24 giờ. Vì vậy, thời gian 24 giờ được chọn là thời gian ngâm chiết tối ưu cho quá trình tách chiết cao từ lá Ngũ sắc.

Tóm lại, nghiên cứu đã khảo sát và tối ưu hóa từng nghiệm thức ảnh hưởng đến quy trình chiết tách cao chiết từ lá Ngũ sắc. Các thông số tối ưu bao gồm: dung môi methanol, 2 lần chiết, thời gian chiết là 24 giờ với tỉ lệ nguyên liệu/thể tích dung môi là 1: 5 (g/mL). Cao chiết thu được từ quy trình chiết tách được tiến hành định tính sự xuất hiện của các nhóm hợp chất hóa học chính, phối chế chế phẩm sinh học

và đánh giá hiệu lực tiêu diệt sâu cuốn lá lúa trên đồng ruộng.

3.2. Định tính thành phần hóa học

Kết quả định tính sơ bộ thành phần hóa học cho thấy trong cao chiết methanol lá Ngũ sắc có sự hiện

diện của các nhóm hợp chất: flavonoid, alkaloid, saponin triterpene và coumarin. Kết quả này tương ứng với nghiên cứu trước đó cho thấy sự xuất hiện của alkaloid trong dịch chiết thô của lá ngũ sắc với dung môi chiết là ethanol 80% [2].

Bảng 3. Kết quả định tính các nhóm hợp chất trong cao chiết methanol lá Ngũ sắc

Nhóm hợp chất	Thuốc thử	Hiện tượng	Kết luận
Tannin	Braymer's Test	Không hiện tượng	-
Flavonoid	1 mL cao chiết + 1 mL Pb(OAc) ₄ 10%	Xuất hiện kết tủa vàng	+
Terpenoid	2 mL cao chiết + 2 mL (CH ₃ CO) ₂ O + 2 giọt H ₂ SO ₄ đậm đặc	Không hiện tượng	-
Saponin	Phản ứng tạo bọt Fontan-Kaudel	Bọt bền ở cả hai ống nghiệm (Saponin triterpene)	+
Alkaloid	Wagner Mayer	Không hiện tượng Kết tủa trắng, dung dịch vàng nhạt	- +
Glycoside	Liebermann-Burchard	Không hiện tượng	-
Coumarin	2 mL cao chiết + 3 mL NaOH 10%	Chuyển sang màu vàng	+

3.3. Kết quả khảo sát hiệu lực tiêu diệt sâu cuốn lá lúa

Cao chiết methanol sau khi tối ưu hóa quy trình chiết tách được tiến hành phối chế chế phẩm sinh học dạng nhũ dầu (EC) để đánh giá hiệu lực tiêu diệt sâu cuốn lá lúa. Mặt khác, các loại cao chiết từ lá Ngũ sắc ngâm trích trong dung môi ethyl acetate và hexane cũng được thực hiện phối chế, nhằm so sánh

hiệu lực tiêu diệt sâu với cao chiết methanol dựa trên sự khác nhau về thành phần hóa học.

Các chế phẩm sinh học dạng nhũ tương được phối chế từ cao chiết lá Ngũ sắc với hàm lượng 10% (w/w) được tiến hành kiểm tra các thông số về độ tự nhũ, độ bền nhũ tương, độ tái nhũ và độ bọt theo TCVN 8050: 2016. Các mẫu đạt tiêu chuẩn sẽ được tiến hành đánh giá hiệu lực tiêu diệt sâu cuốn lá trên hai địa điểm được khảo nghiệm, kết quả được trình bày trong bảng 4a và 4b.

Bảng 4a. Kết quả khảo sát mật số sâu trung bình tại các thời điểm xử lý với chế phẩm sinh học từ cao chiết lá Ngũ sắc tại Phong Điền

Mật số sâu trung bình tại Phong Điền (con/m ²)						
Nghiệm thức	0 NSP	3 NSP	5 NSP	7 NSP	Tuổi sâu (1 - 2)	Tuổi sâu (3 - 5)
CHX	27,0 ^{ae}	15,7 ^{be}	12,7 ^{ce}	11,0 ^{cde}	1,3	23,7
CME	27,3 ^{ae}	13,7 ^{be}	9,4 ^{cf}	6,3 ^{df}		
CEA	27,0 ^{ae}	14,7 ^{be}	12,0 ^{ceg}	8,7 ^{dg}		
Glim 270SC	24,3 ^{ach}	2,3 ^{bh}	0,3 ^{bch}	0 ^{cdh}		
Đối chứng không xử lý	19,3 ^{ak}	20,0 ^{ak}	20,0 ^{ak}	21,0 ^{ak}		

Ghi chú: các chữ cái a, b, c, d thể hiện sự khác biệt theo hàng, e, f, g, h, k thể hiện sự khác biệt theo cột, mức ý nghĩa thống kê 5%

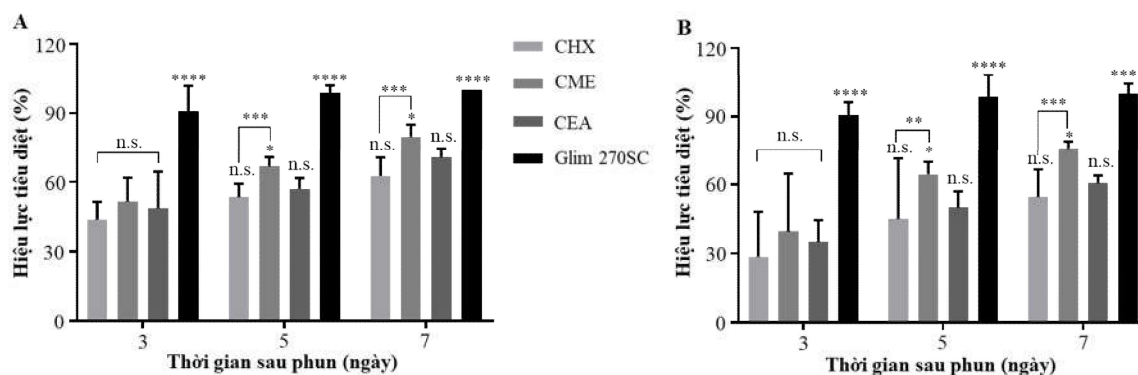
Bảng 4b. Kết quả khảo sát mật số sâu trung bình tại các thời điểm xử lý với chế phẩm sinh học từ cao chiết lá Ngũ sắc tại Cờ Đỏ

Mật số sâu trung bình tại Cờ Đỏ (con/m ²)						
Nghiem thức	0 NSP	3 NSP	5 NSP	7 NSP	Tuổi sâu (1 – 2)	Tuổi sâu (3 – 5)
CHX	23,3 ^{ae}	16,7 ^{be}	13,0 ^{ce}	11,3 ^{cde}	3,7	20,4
CME	26,0 ^{af}	15,7 ^{be}	9,3 ^{cf}	6,7 ^{df}		
CEA	23,7 ^{ae}	15,3 ^{be}	12,0 ^{ceg}	10,0 ^{cddeg}		
Glim 270SC	24,7 ^{ae}	4,3 ^{bh}	3,7 ^{bch}	1,0 ^{dh}		
Đối chứng không xử lý	22,7 ^{ae}	22,7 ^{ak}	23,0 ^{ak}	24,3 ^{ak}		

Ghi chú: các chữ cái a, b, c, d thể hiện sự khác biệt theo hàng, e, f, g, h, k thể hiện sự khác biệt theo cột, mức ý nghĩa thống kê 5%

Kết quả khảo sát cho thấy ở hai địa điểm Phong Điền và Cờ Đỏ có độ tuổi trung bình của sâu khoảng 3 - 5 tuổi, chiếm tỉ lệ 94,9% và 84,8%. Mật số sâu trung bình tại hai địa điểm khảo nghiệm có sự ổn định trước khi phun và tại các thời điểm khảo sát sau khi phun. Sản phẩm thương mại Glim 270SC được chọn làm đối chứng dương với thành phần bao gồm Clothianidin và Chlorfluazuron. Hiệu lực tiêu diệt sâu hại của thành phần hoạt chất theo vị độc, tác động lưu dẫn và ức chế sâu non lột xác đã được chứng minh [13, 14]. Khảo nghiệm trên hai địa điểm phun trong khoảng thời gian 3 - 5 ngày sau phun, mật số sâu trung bình giảm có ý nghĩa thống kê ở cả nghiệm thức CHX, CME, CEA, Glim 270SC (Bảng 4a, 4b). Giai đoạn 5 - 7 ngày sau phun, mật số sâu trung bình của nghiệm thức CHX tại 2 địa điểm cho kết quả không khác biệt có ý nghĩa thống kê. Bên

cạnh đó, kết quả tương ứng của CEA tại Cờ Đỏ mặc dù có giảm nhẹ trong giai đoạn 5 đến 7 ngày sau phun (12 xuống 10 con/m²) nhưng cũng không có sự khác biệt. Mặt khác, Glim 270SC cho thấy hiệu quả tiêu diệt sâu cuốn lá thông qua mật số sâu trung bình giảm mạnh thể hiện ở 3 ngày sau phun và ổn định qua các giai đoạn khảo sát. Kết quả trên cũng chỉ ra rằng CME cho kết quả tốt nhất trong 3 loại chế phẩm sinh học khảo sát với mật số sâu trung bình giảm đều có ý nghĩa thống kê. Đáng chú ý, mật số sâu trung bình của đối chứng không xử lý có sự ổn định nhưng số lượng sâu giảm đáng kể đối với các nghiệm thức khảo sát. Điều này chứng minh cho hiệu lực tiêu diệt sâu cuốn lá của các chế phẩm khảo sát không chỉ dừng lại ở việc tiêu diệt sâu trưởng thành mà còn ức chế sự sinh trưởng thành sâu non ở giai đoạn trứng.



Hình 4. Hiệu lực tiêu diệt sâu cuốn lá lúa tại các thời điểm xử lý với chế phẩm sinh học từ cao chiết lá Ngũ sắc
A. Phong Điền; B. Cờ Đỏ

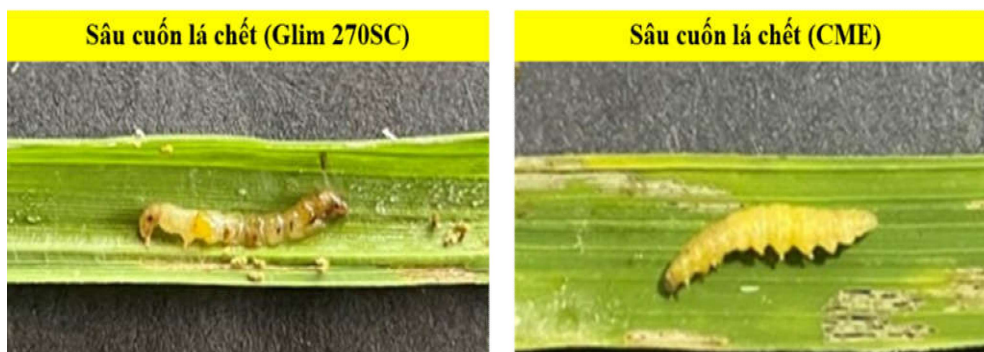
*Ghi chú: các dấu * thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê 5% (*: $p < 0,5$; **: $p < 0,1$; ***: $p < 0,01$; ****: $p < 0,001$; n.s.: không khác biệt)*

Hiệu lực tiêu diệt sâu cuốn lá lúa theo công thức Henderson-Tilton tương ứng với mật số sâu trung bình trên hai địa điểm khảo sát (Hình 4A, B). Như

vậy, khảo nghiệm với 3 mẫu chế phẩm sinh học EC với hàm lượng 10% (w/w) phối trộn từ 3 loại cao chiết hexane, methanol và ethyl acetate đều cho khả năng

tiêu diệt sâu ở các thời điểm khảo sát. Cụ thể, các nghiệm thức đều cho hiệu lực tiêu diệt sâu cuốn lá 3 ngày sau phun tương ứng (CHX: 43,9 – 28,6%; CME: 51,7 – 39,7%; CEA: 47,5 – 35,2%). Giai đoạn 5 – 7 ngày sau phun hiệu lực tiêu diệt tăng lên rõ rệt hơn 50% ở các nghiệm thức CME (66,8 – 79,8%, Phong Điền; 64,6 – 76,1%, Cờ Đỏ) và CEA (57 – 70,4%, Phong Điền; 50 – 60,6%, Cờ Đỏ), trong khi CHX cho kết quả thấp nhất sau 7 ngày sau phun (CHX: 62,5 – 54,8%). Tuy nhiên, nghiệm thức Glim 270SC thể hiện hiệu quả tiêu diệt sâu cuốn lá vượt trội so với các mẫu khảo nghiệm 3 ngày sau phun tương ứng ở hai địa điểm (90,7 – 84,2%). Điều này cho thấy tác dụng nhanh và tiêu diệt triệt để của thuốc hóa học đối với

sâu hại. Như vậy, kết quả khảo nghiệm chế phẩm sinh học EC từ cao chiết methanol cho hiệu quả tốt nhất so với các mẫu phối chế so sánh, tác dụng nhanh và kéo dài >75% sau 7 ngày phun. Kết quả cũng chỉ ra rằng, các chế phẩm sinh học thường có tác dụng kéo dài, thân thiện với môi trường hơn so với tác động nhanh và tiêu diệt mạnh của các loại thuốc hóa học. Bên cạnh đó, cao chiết methanol cũng có thấy số lượng hợp chất có hiệu quả sinh học nhiều hơn so với các cao chiết ở các loại dung môi khảo sát. Kết quả này tương đồng với nghiên cứu trước đây về thành phần hóa học có trong lá Ngũ sắc như alkaloid, flavonoid và triterpene có vai trò như thuốc phòng trừ sinh học [15].



Hình 5. Hình dạng sâu cuốn lá lúa chết ở nghiệm thức Glim 270SC và CME

Mặt khác, hình thái sâu chết ở cả hai nghiệm thức được ghi nhận có sự khác biệt (Hình 5). Glim 270SC tác dụng nhanh, trực tiếp nên hình thái sâu chết bị co lại và thân đen. Trong khi đó, các chế phẩm sinh học điển hình là CME với tác dụng kéo dài dẫn đến sâu chết dần nên hình thái sâu nguyên vẹn và thân vàng. Đáng chú ý, quá trình phun thuốc ghi nhận khả năng chọn lọc tiêu diệt sâu hại, không gây độc cho thiên địch như nhện và bọ cánh cứng so với các loại thuốc hóa học khác. Cơ chế gây độc chung của Glim 270SC và các chế phẩm sinh học theo cả hai hình thức vị độc và tiếp xúc đã được báo cáo trong các nghiên cứu trước đó. Cụ thể, cao chiết lá ngũ sắc có khả năng tiêu diệt, ức chế quá trình hóa nhộng của sâu non, vũ hóa ở ngài trưởng thành và gây chán ăn cho sâu tơ [2]. Ngoài ra, một nghiên cứu gần đây cũng đã chứng minh khả năng gây độc trực tiếp từ cao chiết Ngũ sắc đối với ruồi giấm và làm giảm khả năng tích trữ năng lượng như carbohydrate, lipid và protein cho quá trình nhộng hóa [16]. Vì vậy, kết quả của nghiên cứu đã chứng minh tiềm năng của cao chiết methanol từ lá Ngũ sắc để phối chế một chế phẩm sinh học đạt hiệu quả cao nhưng vẫn an toàn, thân thiện với môi trường.

4. KẾT LUẬN

Điều kiện tối ưu cho quy trình chiết tách cao chiết từ lá Ngũ sắc dựa trên phương pháp ngâm trích được thực hiện với dung môi methanol, sau 2 lần chiết trong 24 giờ với tỉ lệ nguyên liệu/thể tích dung môi là 1:5 (g/mL). Qua đó, phối chế thành công chế phẩm sinh học dạng EC hàm lượng 10% (w/w) cao chiết với hiệu lực tiêu diệt sâu cuốn lá lúa trên 75%, sau 7 ngày phun. Như vậy, kết quả nghiên cứu đã cho thấy tiềm năng của việc sử dụng dịch chiết thực vật trong phối chế và phát triển các sản phẩm sinh học đạt hiệu quả, an toàn cho người sử dụng và thân thiện với môi trường. Tuy nhiên, nghiên cứu cũng cần đánh giá các nồng độ khác nhau của dịch chiết và khảo sát nhiều khu vực có địa lý, khí hậu khác nhau nhằm phát triển một sản phẩm tiềm năng đưa ra thị trường.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được tài trợ từ đề tài khoa học và công nghệ cấp cơ sở của Trường Đại học Cần Thơ (mã số: TSV2022-52), phối hợp cùng Công ty CP Delta Cropcare, Công ty TNHH TM Tân Thành.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Quan, P., Li, M., Wang, G., Gu, L.; Liu, X. (2020). Comparative transcriptome analysis of the rice leaf folder (*Cnaphalocrocis medinalis*) to heat acclimation. *BMC Genomics*, 21, 450.
2. Nguyễn Ngọc Bảo Châu, Đặng Thanh Nghĩa, Nguyễn Minh Hoàng, Nguyễn Bảo Quốc (2016). Khảo sát hiệu lực phòng trừ sinh học sâu tơ (*Plutella xylostella* L.) hại rau ăn lá từ dịch chiết thô lá cây ngũ sắc (*Lantana camara* L.). *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*, 46, 54–60.
3. Trần Thanh Hùng, Lương Thị Mỹ Ngân, Bùi Văn Lệ, Trần Trung Hiếu (2020). Khảo sát hoạt tính kháng ăn và diệt ấu trùng của tinh dầu từ lá tía tô dại (*Hyptis suaveolens* (L.) Poit.), cỏ lào (*Chromolaena odorata* (L.) R. M. King & H. Rob) và Ngũ sắc (*Lantana camara* L.) lên sâu khoang *Spodoptera litura* Fab. (Lepidoptera: Noctuidae). *Sci. Tech. Dev. J. - Nat. Sci.*, 3, 244–251.
4. Nguyễn Phạm Tuấn, Nguyễn Công Kha, Nguyễn Hoài Vững, Nguyễn Huỳnh Hoa Lí, Nguyễn Phạm Tú (2020). Khảo sát hiệu lực phòng trừ sinh học sâu xanh da láng (*Spodoptera exigua*) từ dịch trích Trâm Ổi (*Lantana camara* L.). Kỷ yếu hội thảo khoa học – Ứng dụng công nghệ sinh học trong sản xuất nông nghiệp – Thủy sản bền vững, 26–32.
5. Gonzales, J. A. (2020). Effectiveness of Kantutay (*Lantana camara* Linn.) extract against rice stem borer. *Mindanao Journal of Science and Technology*, 18, 1–12.
6. Đặng Huỳnh Giao, Nguyễn Khởi Nghĩa, Nguyễn Trọng Danh, Nguyễn Công Hậu, Hồ Ngọc Tri Tân, Nguyễn Quốc Châu Thanh (2022). Nghiên cứu chiết tách cao chiết hạt củ Đậu (*Pachyrhizus erosus*) có chứa Rotenone và khảo sát hoạt tính kháng sâu ăn tạp (*Spodoptera litura*). *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*, 58, 1–8.
7. Manjulika Yadav, Sanjukta Chatterji, Sharad Kumar Gupta, Geeta Watal (2014). Preliminary phytochemical screening of six medicinal plants used as traditional medicine. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 6, 539–542.
8. Bùi Thị Bửu Huệ, Nguyễn Quốc Châu Thanh và Nguyễn Thị Phong Lan (2017). Điều chế chất hoạt động bề mặt diethanolamide từ mỡ cá tra, cá basa ứng dụng trong phối chế chế phẩm bảo vệ thực vật dạng huyền phù đậm đặc. *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*, 53, 74–81.
9. Saleem, M. S., Batool, T. S., Akbar, M. F., Raza, S., Shahzad, S. (2019). Efficiency of botanical pesticides against some pests infesting hydroponic cucumber, cultivated under greenhouse conditions. *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 29, 1–7.
10. Nguyễn Văn Tạng, Trần Thanh Giang, Trần Thị Mỹ Hạnh, Phạm Châu An, Phan Thị Bích Trâm, Huỳnh Quốc Trung (2020). Ảnh hưởng của dung môi và phương pháp trích ly đến khả năng chiết tách các hợp chất phenolics, saponins và alkaloids từ vỏ quả ca cao (*Theobroma cacao* L.). *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*, 56, 71.
11. Widyawati, P. S., Dwi, T., Budianta, W., Kusuma, F. A. (2014). Difference of solvent polarity to phytochemical content and antioxidant activity of *Pluchea indicia* Less leaves extracts. *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*, 6, 850–855.
12. Kupcová, E., Reiffová, K., Bazel, Y. (2018). Thin-Layer Chromatography: an efficient technique for the optimization of dispersive liquid-liquid microextraction. *Acta Chim. Slov.*, 65, 388–393.
13. Di, G., Cavaliere, V., Annoscia, D., Varricchio, P., Caprio, E., Nazzi, F. (2013). Neonicotinoid clothianidin adversely affects insect immunity and promotes replication of a viral pathogen in honey bees. *PNAS*, 110, 18466–18471.
14. Wan Ahmad Syahir Wan Umar, Abdul Hafiz Ab Majid (2020). Efficacy of Minimum Application of Chlorfluazuron Baiting to Control Urban Subterranean Termite Populations of *Coptotermes gestroi* (Wasmann) (Blattodea: Rhinotermitidae). *insects*, 11, 569.
15. Reddy, N. M. (2013). *Lantana Camara* Linn. Chemical Constituents and Medicinal Properties: A Review. *Scholars Academic Journal of Pharmacy*, 2, 445–448.
16. Tăng Huyền Cơ, Trần Thanh Mến (2022). Nghiên cứu hoạt tính gây độc của cao chiết ethanol từ Trâm Ổi (*Lantana camara* L.) trên ruồi giấm (*Drosophila melanogaster*). *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*, 58, 151–159.

STUDY ON EXTRACTION PROCESS FROM *Lantana camara* (L.) LEAVES AND EVALUATE EFFECTIVENESS AGAINST RICE LEAF ROLLER (*Cnaphalocrosis medinalis*)

**Nguyen Quoc Chau Thanh, Nguyen Thi Thach Thao,
Dang The Vinh, Nguyen Thanh Luan**

Summary

Biopesticides are one of the essential development orientations of modern agriculture, contributing to minimizing the loss of control of resistant pests, environmental friendliness, and safe for users. This study aimed to investigate a process of extraction from the *Lantana camara* L. leaves and evaluated effectiveness against rice leaf roller (*Cnaphalocrosis medinalis*) at the field from probiotics (formed emulsifiable concentrated; EC) produced using its extract. The results showed that the optimized-maceration process was extracted by methanol at 2 times extraction, with the sample powder to solvent volume ratio at 1: 5 (g/mL) for 24 hours. Besides, the presence of flavonoid, alkaloid, triterpene saponin, and coumarin compounds was assessed by qualitative analysis. Remarkably, the best efficiency of killing rice leaf rollers was recorded in probiotics using methanol extract compared to other probiotics, with a long-lasting effect lasting more than 75% after 7 days of spraying in both investigated sites.

Keywords: *Efficiency of pest-killing, Henderson-Tilton formula, Lantana camara extract, rice leaf roller.*

Người phản biện: PGS.TS. Lê Tiến Dũng

Ngày nhận bài: 19/9/2022

Ngày thông qua phản biện: 10/10/2022

Ngày duyệt đăng: 17/10/2022