

# NGHIÊN CỨU SỬ DỤNG CÂY THUỐC CÁ (*DERRIS ELIPTICA* BENTH), CÂY SẮN NƯỚC (*PACHYRHIZUS EROSUS* URBAN), CÂY CỐC KÈN (*DERRIS TRIFOLIA*), LÀM THUỐC TRỪ SÂU THIÊN NHIÊN

Phạm Thị Ánh Hồng

Khoa Sinh học, Trường ĐH Khoa học Tự nhiên – ĐHQG-HCM

(Bài nhận ngày 10 tháng 5 năm 2002)

**TÓM TẮT:** Rotenone được tách chiết từ cây thuốc cá và xác định hàm lượng bằng phương pháp Irwin Horntein. Acetone là dung môi được chọn để tách chiết rotenoid. Dung dịch tách chiết có tác dụng trừ sâu tơ. Chúng tôi đã chọn được nồng độ trừ sâu đạt hiệu quả cao cho thử nghiệm ngoài đồng ruộng.

## 1. GIỚI THIỆU

Ở thế kỷ XX, sự bùng nổ dân số diễn ra trên toàn thế giới kéo theo hàng loạt các cuộc đấu tranh khác nhau. Song song với cuộc đấu tranh tăng sản lượng lương thực là cuộc đấu tranh bảo vệ thực vật. Từ trước con người đã biết sử dụng cây cỏ có chất độc làm thuốc trừ côn trùng và những năm đầu của thế kỷ XX hướng trừ sâu từ thuốc trừ sâu thiên nhiên chiếm ưu thế. Nhưng kể từ sau chiến tranh thế giới thứ II, khoa học phát triển mạnh và thuốc trừ sâu tổng hợp bằng con đường hóa học chiếm ưu thế với những ưu điểm như hiệu lực trừ sâu mạnh, dập tắt kịp thời các nạn dịch côn trùng. Nhưng sự sử dụng thuốc trừ sâu hóa học quá nhiều, quá lâu, ồ ạt, không đúng kỹ thuật đã gây ra những tiêu cực như sâu chống thuốc (theo thống kê của FAO, trên thế giới có 500 loài sâu chống thuốc và từ năm 1954 trở lại đây mỗi năm có thêm 17 loài sâu mới chống thuốc (Andrew, 1984) ), sinh vật có ích bị tiêu diệt, mất cân bằng sinh thái, gây ô nhiễm môi trường gây hại cho sức khỏe con người vì để lại những dư lượng.

Từ những năm gần đây, vấn đề ô nhiễm môi trường được xem là vấn đề toàn cầu thì người ta quay trở lại sử dụng thuốc trừ sâu sinh học không gây ô nhiễm môi trường. Ở nước ta, thủ tướng Võ văn Kiệt đã ký quyết định phê duyệt các danh mục các chương trình Khoa học công nghệ và các nhiệm vụ Khoa học công nghệ trọng điểm giai đoạn 5 năm 1996 – 2000 vào năm 1996 trong đó có điều 1 mục 2.d có nêu: “Chương trình công nghệ sinh học phục vụ phát triển nông lâm ngư nghiệp bền vững, bảo vệ môi trường sống và sức khỏe con người bao gồm ... công nghệ sản xuất các loại chế phẩm sinh học trừ sâu bệnh hại cây trồng”. Thuốc trừ sâu từ cây cỏ có những ưu điểm như hiệu lực trừ sâu cao, hợp chất thiên nhiên dễ phân hủy, không dư lượng, không độc hại.

Ở nước ta, nguồn thực vật rất phong phú trong đó thực vật có chứa các hợp chất độc cũng rất nhiều nhưng chúng ta chưa khai hết, khai thác đúng vai trò của chúng. Cây thuốc cá (*Derris eliptica* Benth), cây sắn nước (*Pachyrhizus erosus* urban), cây cốc kèn (*Derris trifolia*), là các loại cây chứa các hợp chất độc có hiệu lực trừ sâu mạnh và có những ưu điểm để làm thuốc trừ sâu thiên nhiên như không gây hại cho môi trường, thiên địch và cho động vật máu nóng. Hợp chất rotenoid đã được nghiên cứu từ rất lâu trên thế giới và ở Việt Nam gần đây cũng có những công trình nghiên cứu trên cây thuốc cá <sup>[4]</sup>.

Đây là vấn đề rất lớn nhưng trong khuôn khổ thời gian hạn hẹp, chúng tôi chỉ tìm hiểu thành phần độc chính của cây thuốc cá làm cơ sở cho nghiên cứu trước mắt và chọn những phương pháp tối ưu để sử dụng khả năng trừ sâu với lượng hoạt chất độc lớn. Đề tài này cũng góp phần nhỏ vào việc làm giảm bớt tình hình sử dụng thuốc trừ sâu hóa học hiện nay và góp phần vào dự án sản xuất rau sạch cho thành phố.

Nội dung nghiên cứu của đề tài này là xác định hàm lượng hợp chất độc trong cây thuốc cá, cây sắn nước, cây cóc kèn, hiệu lực trừ sâu của hợp chất lên hai loại sâu tơ. Nghiên cứu phương pháp chế biến để có hiệu quả cao, đúng yêu cầu về kỹ thuật, kinh tế, vệ sinh môi trường.

## 2. ĐỐI TƯỢNG NGHIÊN CỨU

Cây thuốc cá (*Derris elliptica* Benth), Cây sắn nước (*Pachyrhizus erosus* urban), cây cóc kèn (*Derris trifolia*), đều thuộc họ Fabaceae [3].

Sâu tơ (*Pluella xylostella*) thuộc họ Yponomeutidae, bộ Lepidoptera [2].

## 3. VẬT LIỆU, PHƯƠNG PHÁP

### 3.1. Phương pháp xử lý mẫu [1]

Mẫu cây được thu hái và phân loại các bộ phận riêng, sấy ở nhiệt độ từ 45-55°C cho đến khi trọng lượng không đổi. Sau đó xay thành bột mịn với cỡ rây 0.125 mm, bảo quản nơi khô ráo tránh ánh sáng.

### 3.2. Phương pháp định tính rotenone [6,9]

Phương pháp Durham-Howard:

Cân chính xác 1g bột mẫu cho vào erlen 25ml cho tiếp vào 10ml CHCl<sub>3</sub> để yên 24 giờ, lắc trên máy lắc liên tục trong 4 giờ, lọc lấy dịch chiết. Lấy 3 ml dịch chiết cô cạn còn khoảng 0.5 ml cho lên mặt kính đồng hồ, nhỏ vào 2 giọt H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> đậm đặc. Nếu có rotenone xuất hiện màu vàng cam rất rõ. Thêm vào một hạt HNO<sub>3</sub> màu ngả sang đỏ tím.

### 3.3. Phương pháp định lượng rotenone [7]

Định lượng theo phương pháp chuẩn độ thể tích (Irwin Horntein).

### 3.4. Phương pháp thử độ độc của dịch chiết [11]

- Chuẩn bị dung dịch thử: Cân chính xác 50 gam bột mẫu cho vào erlen 500ml, thêm vào đó 250ml aceton để yên 24 giờ, lắc 4 giờ liên tục với máy lắc. Lọc qua giấy lọc lấy phần dung dịch có chứa các rotenoid (khoảng 200ml dịch thuốc thử).

- Cách thử trên sâu tơ: Bằng phương pháp của viện bảo vệ thực vật, theo cách thử ướt lá. Chọn lá cải non, tươi, đều, không bị sâu rửa sạch rồi hong khô bằng quạt. Pha thuốc thử với các nồng độ khác nhau phun đều lên lá. Bắt sâu tuổi 3 đồng đều chọn những con khỏe bố trí thí nghiệm mỗi công thức là 100 con. Điều kiện thí nghiệm trong phòng có nhiệt độ ổn định trung bình là 25°C. Thí nghiệm được bố trí theo kiểu khối đầy đủ hoàn toàn ngẫu nhiên, với 4 lần lặp lại. Mỗi công thức bố trí trong bốn chậu thủy tinh đường kính 14 cm, cao 10 cm, mỗi chậu thả 25 con sâu tuổi 3. Mỗi công thức đều có đối chứng không có thuốc thử và đối chứng nước+ aceton. Lá cải ngọt đã được phun thuốc thử đưa vào cho sâu ăn. Đếm số sâu sống sau 24 giờ, 48 giờ và tính hiệu quả bằng công thức ABBOTT:

$$Q\% = \left(1 - \frac{T_a}{C_a}\right) \times 100$$

Trong đó: T<sub>a</sub> là số sâu sống trong lô thí nghiệm sau xử lý

C<sub>a</sub> là số sâu sống trong lô đối chứng sau xử lý

Q% là chỉ số hiệu lực diệt sâu tính theo %.

## 4. KẾT QUẢ

### 4.1 Kết quả định tính rotenone

Bảng 1: Định tính rotenone có trong mẫu theo bộ phận của các cây

	Thân	Rễ	Lá	Hạt
Thuốc cá	+	+	+	0 <sup>a</sup>
Sấn nước	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	+	+
Cóc kèn	+	+	+	0 <sup>a</sup>

+ dương tính

<sup>a</sup> không thử nghiệm

### 4.2. Định lượng rotenone trong rễ cây thuốc cá bằng các dung môi chiết xuất

Xác định hàm lượng rotenone bằng phương pháp Irwin Horntein nhưng với các dung môi khác nhau. Chúng tôi sử dụng bốn loại dung môi thông thường là acetone, chloroform, ethanol, methanol. Mục đích của thí nghiệm này là chọn dung môi thích hợp để chiết xuất rotenone đạt hiệu quả cao nhất.

Bảng 2: Hàm lượng (%) rotenone theo các dung môi chiết xuất khác nhau

Dung môi	Hàm lượng rotenone (%)
Chloroform	6.81
Aceton	6.38
Ethanol	4.73
Methanol	4.15

Qua kết quả trên cho thấy, chloroform và acetone là hai dung môi có hiệu quả tách chiết rotenone cao nhất. Chúng tôi chọn acetone cho các thí nghiệm sau vì giá thành rẻ, ít độc.

### 4.3. Kết quả định lượng rotenone

Bảng 3: Hàm lượng (%) rotenone có trong các bộ phận của các cây

	Thân	Rễ	Lá	Hạt
Thuốc cá	1.77	6.81	1.27	0 <sup>b</sup>
Sấn nước	0 <sup>b</sup>	0 <sup>b</sup>	0.91	1.22
Cóc kèn	2.02	1.74	7.77	0 <sup>b</sup>

0<sup>b</sup>: không thử nghiệm

Kết quả cho thấy hàm lượng rotenone cao nhất là ở rễ cây thuốc cá và lá cây cóc kèn.

### 4.4. Hiệu quả trừ sâu của dịch chiết

Bảng 4: Thử nghiệm hiệu quả trừ sâu theo bộ phận cây cóc kèn

Công thức	Nồng độ (%) dịch chiết	Nồng độ (%) rotenone	Số sâu sống trước xử lý	24 giờ		48 giờ	
				Số sâu sống sau xử lý	Q%	Số sâu sống sau xử lý	Q%
CC1	Lá 6%	0.11655	100	100	0	98	2
CC2	Lá 10%	0.19425	100	96	4	92	8
CC3	Thân 6%	0.0303	100	36	64	24	76
CC4	Thân 10%	0.0505	100	20	80	10	90
CC5	Rễ 6%	0.0261	100	40	60	28	72
CC6	Rễ 10%	0.0435	100	22	78	14	86
ĐC1	Aceton	0	100	100		100	
ĐC2	Nước	0	100	100		100	

Trong đó

Công thức CC1: 6ml dịch chiết lá + 4ml aceton + 90ml nước  
 CC2: 10ml dịch chiết lá + 90ml nước  
 CC3: 6ml dịch chiết thân + 4ml aceton + 90ml nước  
 CC4: 10ml dịch chiết thân + 90ml nước  
 CC5: 6ml dịch chiết rễ + 4ml aceton + 90ml nước  
 CC6: 10ml dịch chiết lá + 90ml nước  
 ĐC1: 10 ml aceton + 90 ml nước  
 ĐC2: 100ml nước.

Mỗi công thức thử nghiệm bố trí 100 con sâu tơ tuổi 3 đồng đều trong 4 nghiệm thức (mỗi nghiệm thức 25 con). Sau 24 giờ, 48 giờ đếm số sâu sống, tính độ hiệu quả của thuốc thử bằng công thức ABBOTT và dùng phương pháp thống kê để tính sự sai biệt giữa các nghiệm thức, lần thí nghiệm.

Qua kết quả trên chúng tôi kết luận dịch chiết từ thân, lá, rễ cây cóc kèn có hiệu lực trừ sâu khác nhau nhưng ở thân có hiệu lực cao nhất cho dù hàm lượng rotenone thấp hơn ở lá.

Bảng 5: Thử nghiệm hiệu quả trừ sâu theo nồng độ dịch chiết rễ cây thuốc cá

Công thức	Nồng độ (%) dịch chiết	Nồng độ (%) rotenone	Số sâu sống trước xử lý	24 giờ		48 giờ	
				Số sâu sống sau xử lý	Q%	Số sâu sống sau xử lý	Q%
TC1	Rễ 1%	0.0170	100	36.67	59.33	23.33	76.67
TC2	Rễ 2%	0.034	100	30.67	69.33	18.33	81.67
TC3	Rễ 4%	0.068	100	23	7	6.33	93.67
ĐC1	Aceton	0	100	100		100	
ĐC2	Nước	0	100	100		100	

Trong đó, công thức TC1: 1ml dịch chiết rễ thuốc cá + 4ml aceton + 95ml nước  
 TC2: 2ml dịch chiết rễ thuốc cá + 3ml aceton + 95ml nước  
 TC3: 4ml dịch chiết rễ thuốc cá + 1ml aceton + 95ml nước  
 ĐC1: 5ml aceton + 95ml nước  
 ĐC2: 100ml nước.

Qua kết quả trên chúng tôi thấy ở các nồng độ dịch chiết càng tăng thì hiệu quả trừ sâu càng lớn.

Bảng 6: Thử tìm nồng độ thích hợp của dịch chiết để đưa ra thử nghiệm đồng ruộng

Công thức	Nồng độ (%) dịch chiết	Nồng độ (%) rotenone	Số sâu sống trước xử lý	24 giờ		48 giờ	
				Số sâu sống sau xử lý	Q%	Số sâu sống sau xử lý	Q%
CC4	Thân 10%	0.0505	100	20	80	10	90
CC6	Rễ 10%	0.0435	100	22	78	14	86
SN1	Hạt 20%	0.061	100	21	79	10	90
SN2	Lá 20%	0.0455	100	23	77	14	86
TC2	Rễ 2%	0.034	100	30.67	69.33	18.33	81.67
TC3	Rễ 4%	0.068	100	23	77	6.33	93.67
BT1			100	60	40	8	92
BT2			100	40	60	0	100
ĐC1			100	100		100	
ĐC2			100	100		100	

Trong đó, công thức: CC4: 10ml dịch chiết thân cây cóc kèn + 90ml nước  
 CC6: 10ml dịch chiết rễ cây cóc kèn + 90ml nước  
 SN1: 20ml dịch chiết hạt sắn nước + 80ml nước  
 SN2: 20ml dịch chiết lá sắn nước + 80ml nước  
 TC2: 2 ml dịch chiết rễ thuốc cá + 3ml aceton + 95ml nước  
 TC3: 4ml dịch chiết rễ thuốc cá + 1ml aceton + 95ml nước  
 BT1: Thuốc trừ sâu Bacillus thuringiensis nồng độ 1%  
 BT2: Thuốc trừ sâu Bacillus thuringiensis nồng độ 2%  
 ĐC1: 5ml aceton + 95ml nước  
 ĐC2: 100ml nước.

Qua kết quả trên chúng tôi chọn các dịch chiết có nồng độ như sau để thử nghiệm in vivo:

Dịch chiết thân cây cóc kèn 10%  
 Dịch chiết rễ cây cóc kèn 10%  
 Dịch chiết hạt cây sắn nước 20%  
 Dịch chiết lá cây sắn nước 20%  
 Dịch chiết rễ cây thuốc cá 2%  
 Dịch chiết rễ cây thuốc cá 4%

## 5. KẾT LUẬN

Trong hầu hết các bộ phận cây nghiên cứu đều có sự hiện diện của rotenone. Hàm lượng rotenone cao nhất là ở lá cây cóc kèn (7.77%) và rễ cây thuốc cá (6.81%).

Trong các bộ phận khác nhau có hiệu lực trừ sâu khác nhau, hiệu lực trừ sâu không phụ thuộc tuyến tính vào hàm lượng rotenone mà có thể phụ thuộc vào hàm lượng các rotenoid.

Khi nồng độ dịch chiết tăng thì hiệu lực trừ sâu tăng. Qua các thí nghiệm trên chúng tôi cũng chọn được các nồng độ dịch chiết thích hợp để thử nghiệm ngoài đồng ruộng.

## 6. ĐỀ NGHỊ:

Cần nghiên cứu sâu hơn về ảnh hưởng của dịch chiết trên các loại sâu hại khác, trên các loại cây trồng, sinh vật có ích, động vật máu nóng, nghiên cứu về dư lượng, cách bảo quản chế phẩm.

Cần thử nghiệm ngoài đồng ruộng và nghiên cứu cho một chế phẩm hoàn chỉnh.

Nên thử nghiệm thuốc trừ sâu này trên việc trồng rau sạch.

## STUDY ON THE EFFECTS OF PESTICIDE ACTIVE ROTENOID EXTRACTED FROM DERRIS (*DERRIS ELIPTICA* BENTH AND *DERRIS* *TRIFOLIA*) AND YAM BEEN TREE (*PACHYRHIZUS EROSUS* URBAN) ON DIAMOND-BACK MOTH (*PLUTELLA XYLOSTELLA*)

Pham Thi Anh Hong

Faculty of Biology, University of Natural Sciences, Vietnam National University – HCMC

**ABSTRACT:** By Irwin Hornstein's method, Rotenone from plant have been separated and determinated. Acetone was used as the solvent for extracting rotenoid. The dilute extract from root has expressed a pesticide activity to diamond-back moth (*Plutella xylostella*). We have studied on determination concentration of extracts that pesticide activity is high for in vivo testing.

### TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Phan Phước Hiền, Nguyễn Văn Luật, Nguyễn Công Hào, *Hoạt chất rotenone trừ sâu rau và cá dũ*, tạp chí Khoa học công nghệ và quản lý kinh tế tháng 1/1999.
2. Nguyễn Quý Hùng, Lê Trường, Lã Phạm Lâm, Dương Thành Tài, Huỳnh Công Hà, Trần Đức Văn, *Sâu tơ hại rau họ thập tự và biện pháp quản lý sâu tơ tổng hợp*, NXB Nông Nghiệp thành phố Hồ Chí Minh 1995.
3. Đỗ Tất Lợi, *Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam*, NXB Khoa học và kỹ thuật 1986.
4. Nguyễn Quốc Tuấn, Nguyễn Xuân Dũng, *Tách và xác định rotenone chiết từ rễ cây thuốc cá (*Derris elliptica* Benth)*, Tạp chí sinh học 16(4) 12/1994, tr 43-46.
5. Lê Trường, *Giáo trình hóa bảo vệ thực vật*, NXB Nông thôn 1975.
6. Guillaume and A. Proeschel, *Study of the rotenone plants*, Chemical Abstracts Vol. 32 (3892).
7. Irwin Hornstein (U.S.Dept. of Agi., Beltsville, Md), *Determination of rotenone by the use of mercuric acetate*, Analytica Chem.23, 1329,(1951).
8. Jacobson M and Crosby D.G, *Naturally occurring insecticides*, Marcel Dekker, Inc, New York, 1971.
9. Sankichi Takei, Shikiro Miyajima and Minoru Ono, *Rotenone, the active constituent of derris root*, Chemical Abstracts Vol. 28 (1039).
10. <http://pmep.cce.cornell.edu/>.
11. Pesticide dictionary Farm chemicals handbook 1999.