

CÔNG NGHỆ SẢN XUẤT THUỐC TRỪ SÂU SINH HỌC TỪ VI KHUẨN *Bacillus thuringiensis* (Bt): CƠ SỞ KHOA HỌC, QUY TRÌNH VÀ TRIỂN VỌNG ỨNG DỤNG

TECHNOLOGY FOR PRODUCING BACILLUS THURINGIENSIS (Bt)-BASED BIOINSECTICIDES: SCIENTIFIC BASIS, PROCESS AND APPLICATION PROSPECTS

**TS. Lưu Ngọc Sinh, ThS. Ngô Thanh Sơn, ThS. Phạm Ngọc Bằng,
TS. Nguyễn Như Toàn, TS. Nguyễn Thị Bình**

Trường Đại học Thủ đô Hà Nội

E-mail: lnsinh@daihocthuo.edu.vn

TÓM TẮT

Bacillus thuringiensis (Bt) là vi khuẩn tạo bào tử có khả năng tổng hợp các protein diệt côn trùng, đặc biệt là Cry và Cyt hình thành dưới dạng tinh thể cạnh bào tử. Nhờ tính đặc hiệu đối với nhiều nhóm côn trùng mục tiêu và khả năng sản xuất bằng công nghệ lên men, Bt là một trong những tác nhân quan trọng của thuốc trừ sâu vi sinh. Bài viết tổng hợp cơ sở khoa học và các công đoạn chính của công nghệ sản xuất thuốc trừ sâu Bt, gồm tuyển chọn và bảo quản chủng, chuẩn bị giống, lên men, tạo bào tử–tinh thể độc tố, thu hồi, tạo dạng chế phẩm và kiểm soát chất lượng. Các nghiên cứu cho thấy hiệu quả sản xuất không chỉ phụ thuộc vào sinh khối hay số lượng bào tử mà còn chịu ảnh hưởng của đặc tính chủng, thành phần môi trường, pH, nhiệt độ, oxy hòa tan, khuấy–sục khí, hiệu suất tạo độc tố và công nghệ sau lên men. Trong điều kiện Việt Nam, khai thác nguồn Bt bản địa, phát triển môi trường lên men giá thành thấp, chuẩn hóa hoạt lực sinh học và nâng cao độ bền của chế phẩm ngoài đồng ruộng là các hướng có ý nghĩa đối với phát triển thuốc bảo vệ thực vật sinh học trong nước.

Từ khóa: Bacillus thuringiensis; Bt; thuốc trừ sâu sinh học; lên men; Cry; bào tử; chế phẩm vi sinh.

ABSTRACT

Bacillus thuringiensis (Bt) is a spore-forming bacterium capable of producing insecticidal proteins, particularly Cry and Cyt proteins associated with parasporal crystals. Owing to its target specificity and suitability for fermentation-based production, Bt is among the most important microbial agents used in bioinsecticides. This review summarizes the scientific basis and major technological stages of Bt bioinsecticide production, including strain selection and preservation, inoculum preparation, fermentation, spore–crystal formation, downstream recovery, formulation and quality control. Production performance depends not only on biomass or spore counts but also on strain properties, medium composition, pH, temperature, dissolved oxygen, agitation–aeration, toxin yield and downstream processing. For Vietnam, exploiting indigenous Bt resources, developing low-cost fermentation media, standardizing biological potency and improving formulation persistence under field conditions are important research priorities.

Keywords: Bacillus thuringiensis; bioinsecticide; fermentation; Cry protein; spores; microbial formulation.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Nhu cầu giảm phụ thuộc vào thuốc bảo vệ thực vật hóa học và phát triển quản lý dịch hại tổng hợp đã thúc đẩy nghiên cứu các tác nhân kiểm soát sinh học. Trong nhóm thuốc trừ sâu vi sinh, *Bacillus thuringiensis* (Bt) có vị trí nổi bật nhờ khả năng tạo bào tử và protein diệt côn trùng, lịch sử ứng dụng lâu dài và khả năng sản xuất bằng công nghệ lên men. Các protein tinh thể của Bt có quan hệ chặt chẽ với cấu trúc, cơ chế tác động và phổ vật chủ; đây là nền tảng sinh học của việc khai thác Bt làm thuốc trừ sâu (Schnepf et al., 1998; Bravo et al., 2007).

Công nghệ sản xuất Bt không đơn thuần là nhân sinh khối vi khuẩn. Một quy trình có giá trị công nghiệp phải đồng thời tạo được sinh khối thích hợp, bào tử, protein độc tố có hoạt lực, thu hồi hiệu quả và chế phẩm ổn định. Tổng quan về công nghệ *B. thuringiensis* var. *kurstaki* cho thấy các yêu cầu dinh dưỡng, môi trường nuôi và chế độ vận hành thiết bị ảnh hưởng đồng thời đến sinh trưởng, tạo bào tử và hình thành độc tố (Jallouli et al., 2020). Trong khi đó, chi phí thu hồi và formulation có thể trở thành nút thắt thương mại ngay cả khi lên men đạt hiệu suất tốt (Brar et al., 2006).

Ở Việt Nam, nghiên cứu Bt đã được triển khai theo hướng khảo sát đa dạng, phân lập, tuyển chọn chủng và đánh giá hoạt tính trên sâu hại. Nguyễn Thị Hoài Hà và Ngô Giang Liên (2003) đã tuyển chọn các chủng Bt có khả năng diệt sâu tơ và sâu xanh. Dương Kim Hà (2022) khảo sát 616 mẫu đất tại 22 tỉnh, thành, phân lập 1.337 khuẩn lạc và xác định 261 chủng sinh tinh thể; nghiên cứu đồng thời hướng tới xây dựng nguồn chủng *B. thuringiensis* var. *kurstaki* có độc tính cao và nghiên cứu điều kiện lên men. Những kết quả này cho thấy Việt Nam có nguồn vật liệu Bt đáng quan tâm cho phát triển chế phẩm trong nước.

2. CƠ SỞ KHOA HỌC CỦA SẢN XUẤT THUỐC TRỪ SÂU Bt

Bt là vi khuẩn Gram dương, hình que và tạo nội bào tử. Trong quá trình tạo bào tử, nhiều chủng tổng hợp protein Cry và Cyt tích lũy thành tinh thể cạnh bào tử. Các protein này có hoạt tính đối với những nhóm động vật không xương sống khác nhau; đối với nhiều Cry ba miền, tác động chính liên quan đến tổn thương biểu mô ruột giữa của côn trùng mẫn cảm (Schnepf et al., 1998; Bravo et al., 2007). Do thành phần protein độc tố phụ thuộc chủng, bước tuyển chọn giống quyết định trực tiếp phổ tác động và tiềm năng của sản phẩm.

Cơ chế tác động cũng giải thích vì sao hoạt lực sinh học phải là chỉ tiêu trung tâm của kiểm soát chất lượng. Sau khi côn trùng ăn phải tinh thể, protein được hòa tan và hoạt hóa trong đường tiêu hóa, tương tác với các thành phần trên màng tế bào ruột giữa và có thể hình thành lỗ trên màng, làm mất tính toàn vẹn của biểu mô. Cyt có cơ chế tương tác màng khác và trong một số hệ có thể hiệp đồng với Cry (Bravo et al., 2007; Gómez et al., 2007). Vì vậy, hai mẻ sản xuất có số lượng bào tử tương đương chưa chắc có độc lực tương đương nếu lượng và chất lượng protein độc tố khác nhau.

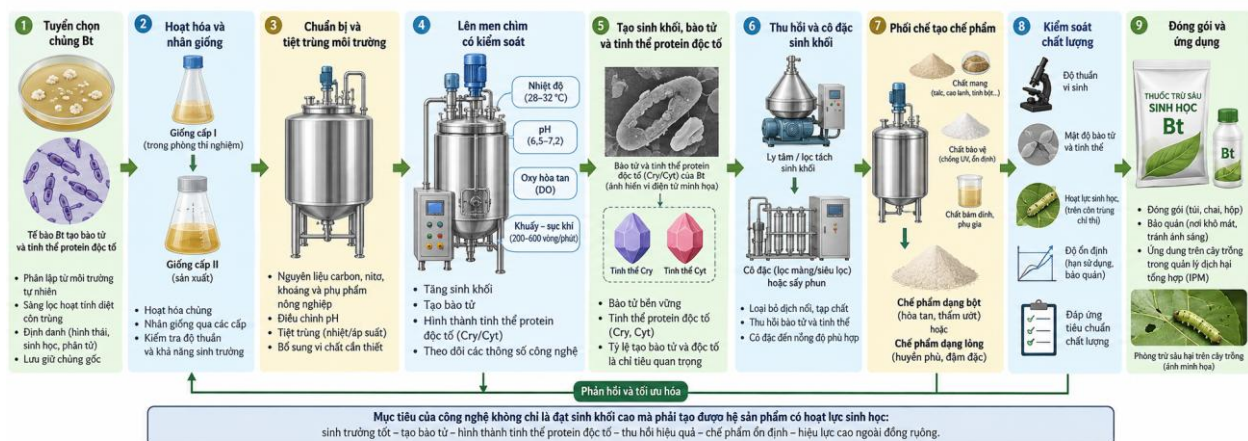
Nhóm chỉ tiêu	Nội dung cần kiểm soát	Ý nghĩa công nghệ
Chủng giống	Độ thuần, ổn định, phổ độc tố, độc lực	Quyết định tiềm năng sinh học ban đầu
Lên men	Sinh trưởng, bào tử, tinh thể/độc tố, pH, DO	Quyết định năng suất và hoạt lực mẻ nuôi
Sau lên men	Hiệu suất thu hồi, độ ổn định hoạt chất	Hạn chế tổn thất hoạt lực
Chế phẩm	Độ ổn định, phân tán/bám dính, bảo vệ UV	Quyết định bảo quản và hiệu lực ngoài đồng
Thành phẩm	Độ thuần, mật độ, hoạt lực sinh học	Cơ sở tiêu chuẩn hóa và xuất xưởng

Bảng 1. Các nhóm chỉ tiêu chính trong công nghệ sản xuất thuốc trừ sâu Bt.

3. QUY TRÌNH CÔNG NGHỆ SẢN XUẤT

Về nguyên tắc, quy trình sản xuất gồm chuỗi liên tục: tuyển chọn chủng → hoạt hóa và nhân giống → chuẩn bị và tiệt trùng môi trường → lên men chìm có kiểm soát → tạo bào tử-tinh thể → thu hồi/cô đặc → phối chế → kiểm soát chất lượng → đóng gói, bảo quản và sử dụng. Đây là khung chung được mô tả trong các nghiên cứu về sản xuất thương mại Bt và các tổng quan về công nghệ sau lên men (Bryant, 1994; Brar et al., 2006; Jallouli et al., 2020).

SƠ ĐỒ CÔNG NGHỆ TỔNG QUÁT SẢN XUẤT THUỐC TRỪ SÂU SINH HỌC TỪ VI KHUẨN *Bacillus thuringiensis* (Bt)



Hình 1. Sơ đồ công nghệ tổng quát sản xuất thuốc trừ sâu sinh học Bt (tác giả thiết kế).

Hình 1. Sơ đồ công nghệ tổng quát sản xuất thuốc trừ sâu sinh học từ Bt. Nguồn: tác giả thiết kế trên cơ sở tổng hợp tài liệu; các thông số trên hình mang tính minh họa, cần tối ưu cho từng chủng và thiết bị.

3.1. Tuyển chọn, bảo quản và chuẩn bị giống

Chủng sản xuất cần có nguồn gốc rõ ràng, ổn định qua bảo quản và cấy chuyển, có khả năng sinh trưởng trong điều kiện lên men, tạo bào tử–tinh thể tốt và đặc biệt phải có độc lực phù hợp với sâu mục tiêu (loại sâu hại muốn phòng trừ). Việc sàng lọc, tuyển chọn nên kết hợp đặc điểm hình thái, bào tử/tinh thể, đặc trưng sinh hóa hoặc phân tử khi cần thiết và phép thử sinh học. Nguồn chủng bản địa có ý nghĩa vì mở rộng đa dạng di truyền và có thể cung cấp các tổ hợp độc tố phù hợp với đối tượng sâu hại tại địa phương. Nghiên cứu tại Việt Nam đã chứng minh khả năng tuyển chọn các chủng Bt có hoạt tính trên sâu tơ và sâu xanh (Nguyễn Thị Hoài Hà & Ngô Giang Liên, 2003).

Sau khi lựa chọn, chủng gốc phải được bảo quản theo quy trình hạn chế biến đổi đặc tính. Trước lên men sản xuất, chủng được hoạt hóa và nhân qua các cấp giống. Mục tiêu của hệ giống không chỉ là đạt lượng tế bào đủ lớn mà còn bảo đảm độ thuần và trạng thái sinh lý thích hợp để rút ngắn pha thích nghi khi chuyển sang thiết bị lên men.

3.2. Môi trường và quá trình lên men

Môi trường phải cung cấp nguồn carbon, nitơ, khoáng và các yếu tố cần thiết cho sinh trưởng, đồng thời tạo điều kiện thuận lợi cho sporulation và tổng hợp protein độc tố. Jallouli et al. (2020) nhấn mạnh rằng nghiên cứu bioprocess Bt phải xem xét đồng thời tăng trưởng, tạo bào tử và năng suất độc tố. Việc chỉ tối đa hóa sinh khối có thể không tương ứng với hoạt lực diệt sâu cao. Các nguồn nguyên liệu nông nghiệp hoặc phụ phẩm có thể giúp giảm giá thành, nhưng tính biến động thành phần, khả năng tiết trùng và ảnh hưởng đến downstream processing phải được đánh giá. El-Bendary (2006) cho thấy phụ phẩm nông–công nghiệp đã được nghiên cứu như nguồn nguyên liệu cho sản xuất Bt và các *Bacillus* diệt côn trùng.

Lên men chìm có kiểm soát là phương thức quan trọng trong sản xuất Bt. Các biến công nghệ chính gồm nhiệt độ, pH, oxy hòa tan, khuấy, sục khí, thành phần môi trường và thời gian lên men. Khi tăng quy mô, truyền oxy và truyền khối trở thành vấn đề đặc biệt quan trọng; điều kiện tối ưu ở bình lắc không thể chuyển nguyên trạng sang fermenter lớn. Yang và Wang (1998) lưu ý rằng nhiều nghiên cứu trước đây tập trung vào số lượng bào tử trong khi năng suất protein độc tố mới là biến cần được chú ý hơn trong phát triển quy trình.

Điểm kết thúc lên men nên được xác định theo trạng thái sinh lý và hoạt lực của hệ bào tử–tinh thể thay vì chỉ theo thời gian cố định. Theo dõi đồng thời sinh khối, tỷ lệ tạo bào tử, hình thái tinh thể và bioassay cho phép lựa chọn thời điểm thu hoạch phù hợp hơn.

3.3. Thu hồi, cô đặc và tạo chế phẩm

Dịch lên men chứa bào tử, tinh thể protein, tế bào còn lại, thành phần môi trường và các chất chuyển hóa. Tùy dạng sản phẩm, hệ hoạt tính có thể được cô đặc bằng ly tâm, lọc hoặc các kỹ thuật tách thích hợp trước khi phối chế. Đây là khâu có ảnh hưởng lớn đến chi phí và hoạt lực. Brar et al. (2006) cho rằng hiệu quả thu hồi quyết định đáng kể tính thương mại của sản phẩm vì vừa ảnh hưởng potency vừa chi phối các bước formulation tiếp theo.

Formulation là cầu nối giữa quá trình sản xuất và ứng dụng. Chất mang, chất phân tán, chất bám dính và các thành phần bảo vệ có thể được lựa chọn để cải thiện khả năng bảo quản và hiệu lực ngoài đồng. Bức xạ tử ngoại, mưa, nhiệt độ, pH và đặc điểm bề mặt lá là các yếu tố có thể làm giảm hiệu quả của chế phẩm Bt; vì vậy phát triển hệ bảo vệ UV và các dạng chế phẩm bền hơn là hướng nghiên cứu quan trọng (Brar et al., 2006). Dạng bột thấm nước, huyền phù hoặc các hệ bao vi nang có thể được lựa chọn tùy đối tượng và điều kiện sử dụng, nhưng phải đánh giá ảnh hưởng của quá trình sấy và phụ gia đến hoạt lực protein.

4. KIỂM SOÁT CHẤT LƯỢNG VÀ NHỮNG NÚT THẮT CÔNG NGHỆ

Kiểm soát chất lượng cần kết hợp chỉ tiêu vi sinh, lý–hóa và sinh học. Độ thuần, mật độ bào tử/tế bào, đặc tính chế phẩm và độ ổn định bảo quản là cần thiết, nhưng hoạt lực sinh học trên côn trùng chỉ thị vẫn là tiêu chí kết nối trực tiếp sản phẩm với mục đích sử dụng. Một sản phẩm có CFU cao không mặc nhiên là sản phẩm có hiệu lực cao. Vì vậy, cần xây dựng phép thử sinh học chuẩn hóa, quy định tuổi sâu, liều, điều kiện nuôi, thời điểm đọc kết quả và phương pháp xử lý số liệu.

Các nút thắt chính của công nghệ Bt gồm: duy trì ổn định đặc tính chủng; cân bằng giữa sinh khối, sporulation và độc tố; chi phí môi trường; truyền oxy khi scale-up; tổn thất hoạt lực trong thu hồi; độ bền hạn chế của protein dưới UV; và biến động hiệu lực ngoài đồng. Bryant (1994) đã chỉ ra từ sớm rằng sản xuất thương mại phải giải quyết đồng thời lên men, thu hồi hoạt chất protein để bị ảnh hưởng và formulation để tạo sản phẩm ổn định, dễ sử dụng. Những vấn đề này vẫn còn giá trị trong thiết kế quy trình hiện đại.

TRIỂN VỌNG Ở VIỆT NAM

Việt Nam có lợi thế về đa dạng sinh thái và nguồn nguyên liệu nông nghiệp, tạo điều kiện cho hai hướng nghiên cứu song song: khai thác nguồn Bt bản địa và phát triển môi trường lên men giá thành thấp. Luận án Dương Kim Hà (2022) cho thấy nguồn Bt thu từ nhiều vùng sinh thái của Việt Nam có sự đa dạng về khả năng sinh tinh thể và gen độc tố; đây là nền tảng để xây dựng bộ chủng phục vụ phát triển chế phẩm. Các công trình trong nước trước đó về tuyển chọn chủng diệt sâu tơ, sâu xanh cũng cho thấy tiềm năng chủ động nguồn giống.

Trong giai đoạn tới, nghiên cứu nên chuyển từ “phân lập được Bt” sang “xây dựng được chuỗi công nghệ có hoạt lực ổn định”. Điều này đòi hỏi liên kết giữa đặc trưng chủng, bioassay, tối ưu lên men, thu hồi, formulation và thử nghiệm thực tế. Cần ưu tiên các chỉ tiêu hoạt lực thay vì chỉ báo cáo CFU; sử dụng thiết kế thực nghiệm để tối ưu đa yếu tố; nghiên cứu phụ phẩm địa phương nhưng phải chuẩn hóa chất lượng; và phát triển formulation tăng khả năng chống UV, bám dính và ổn định trong bảo quản. Khi được tích hợp với IPM, sản phẩm Bt có thể góp phần giảm áp lực sử dụng thuốc hóa học và hỗ trợ sản xuất nông nghiệp xanh.

KẾT LUẬN

Sản xuất thuốc trừ sâu sinh học từ Bt là một chuỗi công nghệ sinh học tích hợp, trong đó chất lượng sản phẩm được quyết định từ chủng giống đến formulation. Mục tiêu công nghệ không phải đơn thuần đạt sinh khối hoặc số bào tử cao mà phải tạo được hệ bào tử–protein độc tố có hoạt lực, thu hồi hiệu quả và duy trì ổn định đến khi sử dụng. Các tiến bộ về tuyển chọn chủng, hiểu biết cơ chế Cry/Cyt, điều khiển lên men và công nghệ formulation đã tạo nền tảng vững chắc cho sản xuất Bt. Đối với Việt Nam, khai thác chủng bản địa, tối ưu bioprocess theo hoạt lực, tận dụng hợp lý nguyên liệu địa phương và chuẩn hóa kiểm soát chất lượng là các hướng then chốt để nâng cao khả năng chủ động sản xuất và thương mại hóa thuốc trừ sâu Bt.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bravo, A., Gill, S. S., & Soberón, M. (2007). Mode of action of *Bacillus thuringiensis* Cry and Cyt toxins and their potential for insect control. *Toxicon*, 49(4), 423–435. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2006.11.022>
2. Brar, S. K., Verma, M., Tyagi, R. D., & Valéro, J. R. (2006). Recent advances in downstream processing and formulations of *Bacillus thuringiensis* based biopesticides. *Process Biochemistry*, 41(2), 323–342. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2005.07.015>
3. Bryant, J. E. (1994). Commercial production and formulation of *Bacillus thuringiensis*. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 49(1), 31–35. [https://doi.org/10.1016/0167-8809\(94\)90018-3](https://doi.org/10.1016/0167-8809(94)90018-3)
4. Dương Kim Hà. (2022). Nghiên cứu sự đa dạng và độc tính của vi khuẩn *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* trên sâu ăn lá hại rau ở Việt Nam. Luận án Tiến sĩ Bảo vệ thực vật, Trường Đại học Nông Lâm Thành phố Hồ Chí Minh.
5. El-Bendary, M. A. (2006). *Bacillus thuringiensis* and *Bacillus sphaericus* biopesticides production. *Journal of Basic Microbiology*, 46(2), 158–170. <https://doi.org/10.1002/jobm.200510585>
6. Gómez, I., Pardo-López, L., Muñoz-Garay, C., Fernández, L. E., Pérez, C., Sánchez, J., Soberón, M., & Bravo, A. (2007). Role of receptor interaction in the mode of action of insecticidal Cry and Cyt toxins produced by *Bacillus thuringiensis*. *Peptides*, 28(1), 169–173. <https://doi.org/10.1016/j.peptides.2006.06.013>
7. Jallouli, W., Driss, F., Fillaudeau, L., & Rouis, S. (2020). Review on biopesticide production by *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* since 1990: Focus on bioprocess parameters. *Process Biochemistry*, 98, 224–232. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2020.07.023>
8. Nguyễn Thị Hoài Hà & Ngô Giang Liên. (2003). Tuyển chọn các chủng *Bacillus thuringiensis* có khả năng diệt sâu tơ và sâu xanh. *Tạp chí Khoa học Kỹ thuật Nông nghiệp*, 1(4), 261–264.
9. Schnepf, E., Crickmore, N., Van Rie, J., Lereclus, D., Baum, J., Feitelson, J., Zeigler, D. R., & Dean, D. H. (1998). *Bacillus thuringiensis* and its pesticidal crystal proteins. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 62(3), 775–806. <https://doi.org/10.1128/MMBR.62.3.775-806.1998>
10. Yang, X. M., & Wang, S. S. (1998). Development of *Bacillus thuringiensis* fermentation and process control from a practical perspective. *Biotechnology and Applied Biochemistry*, 28(2), 95–98.