NGHIÊN CỨU KHẢ NĂNG TIÊU DIỆT VÀ GÂY NGÁN ĂN ĐỐI VỚI SÂU XANH BƯỚM TRẮNG (*PIERIS RAPAE*) CỦA DỊCH CHIẾT TỪ MỘT SỐ THỰC VẬT TIỀM NĂNG

Investigation of Killing and Antifeedant Effects on *Pieris rapae* Larva of Extracts from Some Potential Plant Species

Nguyễn Ngọc Hòa, Đinh Thị Phương, Nguyễn Văn Du, Lưu Thị Phương, Nguyễn Thị Cẩm Châu, Nguyễn Văn Giang, Nguyễn Thị Phương Thảo, Đặng Xuân Nghiêm*

Khoa Công nghệ sinh học, Trường Đại học Nông nghiệp Hà Nội
*Địa chỉ email tác giả liên lạc: *dxnghiem@hua.edu.vn*
Ngày gửi đăng: 07.04.2011; Ngày chấp nhận: 10.08.2011

TÓM TẮT

Nghiên cứu khả năng phòng trừ sâu xanh bướm trắng (*Pieris rapae*) được tiến hành với các mẫu dịch chiết từ 10 loài thực vật khác nhau. Dịch chiết từ lá và quả xoan non, hạt gấc, hạt hòe già và quả ớt có hoạt tính gây ngán ăn rất mạnh đối với sâu. Dịch chiết từ lá kinh giới, hạt hòe non, húng quế cũng có hoạt tính mạnh. Hoạt tính gây ngán ăn cho sâu của hạt gấc và hạt hòe được xác định có thể do protein ức chế trypsin (TIs). Dịch chiết từ quả ớt có hoạt tính diệt sâu rất mạnh. Hoạt tính diệt sâu của dịch chiết hạt hòe già, lá xoan và hạt gấc khá cao và tăng mạnh khi phun cho sâu đã bị phun dịch ớt loãng.

Từ khóa: Hoạt tính diệt sâu, hoạt tính ức chế trypsin, *Pieris rapae*, thuốc trừ sâu sinh học.

SUMMARY

An investigation on killing and antifeedant effects on *Pieris rapae* larvae of extracts from 10 different potential plant species was carried out. The extracts from leaves and immature fruits of *Melia azedarach*, mature *Momordica cochinchinensis* seeds, mature *Sophora japonica* seeds, *Capsicum annuum* fruits were found to have very strong antifeedant activities. The extracts from leaves of *Elsholtzia ciliate*, *Ocimum bacilicum* and young seeds of *Sophora japonica* exhibited a moderate antifeedant activities. Antifeedant activities of seeds of *Momordica cochinchinensis* and *Sophora japonica* might be attributable to trypsin inhibitors. The extracts from fruits of *Capsicum annuum* had a very strong killing effect on the insect. *Pieris rapae* - killing effects of extracts from *Sophora japonica* mature seeds, *Melia azedarach* leaves, and *Momordica cochinchinensis* seeds were quite strong, and the activities were enhanced when the 3 extracts were applied on *Pieris rapae* larva previously sprayed with the diluted *Capsicum annuum* fruit extracts.

Key words: Antifeedant activities, bio-pesticide, *Pieris rapae*, plant extracts, trypsin inhibitory activity.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Sâu và các sinh vật gây hại là những tác nhân hạn chế đáng kể năng suất cây trồng trên khắp thế giới. Các nhà khoa học ước tính, hàng năm thiệt hại mùa màng do sâu hại lên đến 30% và còn cao hơn ở các nước đang phát triển (Thomas và Waage, 1996). Sâu xanh bướm trắng (*Pieris rapae* L.) cùng với sâu tơ (*Plutella xylostella* L.) và sâu khoang (*Spodoptera litura* F.) là những sâu hại rau họ hoa thập tự (cruciferous vegetables) chủ yếu trên toàn thế giới, chúng có thể gây ra tổn thất từ 90-100% mùa màng (Talekar và Shelton, 1993). Việc sử dụng thuốc trừ sâu hoá học thường gây tác hại lớn đến sức khoẻ con người, phá vỡ cân bằng sinh thái; và đặc biệt, nó còn thúc đẩy quá trình tiến hoá theo hướng kháng thuốc trừ sâu ở các loài sâu bệnh (Roush, 1997). Chính vì vậy, việc tìm ra các thuốc trừ sâu sinh học thân thiện với môi trường, ít ảnh hưởng đến

hệ sinh thái, không có tác hại đến sức khoẻ của con người đã được đặt ra.

Các nghiên cứu nhằm kiểm soát sâu hại tập trung vào 3 hướng chính: nghiên cứu sử dụng các vi khuẩn, virút, nấm bệnh là thiên địch của mỗi loài sâu bệnh; nghiên cứu sản xuất các protein độc cho sâu hại và côn trùng từ vi khuẩn, như Bt từ *Bacillus thuringensis* (Tabashnik, 1994); nghiên cứu tạo ra các thuốc trừ sâu hại từ protein và các hợp chất thứ sinh của thực vật như các protein ức chế enzyme tiêu hoá (PPIs) từ một số loại hạt (Phạm Thị Trân Châu và cs., 2000) hay azadirachtin và các chất có trong dịch chiết lá và hạt cây xoan Ấn Độ (*Azadirachta indica*) (Amadioha, 2000; Dương Anh Tuấn, 2002; Montes-Molina và cs., 2008). Nước ta có nguồn tài nguyên thực vật phong phú và đa dạng, nhiều loại cây đã được dùng làm thuốc chữa bệnh (Đỗ Tất Lợi, 2006). Khả năng kháng khuẩn và kháng sâu bệnh của một số cây thuốc cũng đã được các nhà khoa học nước ta khảo sát và nghiên cứu (Lê Doãn Liên và cs., 2000; Lê Thị Lan Oanh và cs., 2000; Đặng Xuân Nghiêm, 2002). Tuy nhiên, số lượng những nghiên cứu đó còn rất ít ỏi so với tiềm năng ứng dụng thực vật làm thuốc trừ sâu sinh học ở nước ta.

Nghiên cứu này được thực hiện để khảo sát hiệu lực diệt và gây ngán ăn của một số dịch chiết từ các thực vật tiềm năng, những thực vật ít bị sâu hại, đối với sâu xanh bướm trắng (*Pieris rapae*), sâu hại họ rau thập tự phổ biến hiện nay.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu

Các mẫu thực vật gồm lá bạch đàn, húng quế, kinh giới, trầu không, tía tô, xoan; hoa cúc vạn thọ; quả ớt, xoan non; hạt gấc, hạt hoè già và non được thu hái từ các địa phương ở ngoại thành Hà Nội (Bảng 1). Rau cải các loại được mua từ các vườn rau sạch không phun thuốc trừ sâu. Sâu xanh bướm trắng (*Pieris rapae*) trong khoảng độ tuổi 2 - 4 được thu mua từ các chủ vườn rau sạch tại Vân Nội, Đông Anh, Hà Nội.

2.2. Chuẩn bị dịch chiết từ thực vật

Mẫu lá, hoa và quả của thực vật được rửa sạch và nghiền nhỏ bằng máy xay sinh tố còn mẫu hạt già được sấy khô ở 30°C và nghiền thành bột bằng cối chày sứ. Sau đó các mẫu đã nghiền được bổ sung nước (hoặc đệm Sorensen 0,133M, pH 7,6 với mẫu hạt) theo tỉ lệ về khối lượng là 1 mẫu: 3 nước/đệm. Phần bã thực vật được loại bỏ khỏi dung dịch bằng ly tâm ở 4°C, tốc độ 12.000 vòng/phút. Dung môi khác được bổ sung theo tỉ lệ như trên và được làm bay hơi hoàn toàn bằng máy minvac (Genevac, Ipswich, England) ở 30°C. Sau đó các chất không bay hơi được hòa tan lại trong nước theo tỉ lệ 1:3 như ban đầu.

2.3. Khảo sát hiệu lực tiêu diệt và gây ngán ăn cho sâu

Hiệu lực gây ngán ăn của các dịch chiết đối với sâu được xác định theo phương pháp cải tiến từ phương pháp "leaf disc no-choice" (Kubo và Nakanishi, 1977). Diện tích lá bị ăn trong ảnh chụp được tính bằng phần mềm Compu Eye (Bakr, 2005). Lá bắp cải (*Brassica oleracea*) cùng độ tuổi được cắt thành miếng hình chữ nhật với kích thước bằng nhau (5 x 7 cm). Lá dùng để cho sâu ăn được nhúng vào các mẫu dịch chiết (mẫu đối chứng nhúng vào nước) và để ráo trước khi cho vào trong các hộp có lót giấy ẩm và thả 10 cá thể sâu vào mỗi hộp. Hiệu lực gây ngán ăn sau 24 giờ được tính bằng công thức cải tiến của Bently và cs. (1984): hiệu lực gây ngán ăn = [(C-T)/C]x100, trong đó C là diện tích lá bị ăn ở mẫu đối chứng còn T là diện tích lá bị ăn ở mẫu đã xử lý dịch chiết. Mỗi mẫu thí nghiệm được lặp lại 5 lần.

Hiệu lực diệt sâu của các dịch chiết được xác định sau 12 giờ của mỗi lần trong 4 lần phun các dịch chiết lên cả sâu và lá cải bắp,

mỗi lần cách nhau 12 giờ. Lượng dịch phun mỗi lần cho một đĩa lá có chứa sâu 10 cá thể sâu có diện tích (6 x 10 cm) là 2 ml. Mỗi mẫu thí nghiệm được lặp lại 3 lần.

2.4. Khảo sát khả năng ức chế trypsin của các mẫu dịch chiết

Khảo sát hoạt tính ức chế trypsin của các mẫu nghiên cứu bằng phương pháp khuyếch tán đĩa thạch agar 1,5% với cơ chất là casein 0,1%.

Dung dịch cần nghiên cứu và dung dịch trypsin 0,025 mg/ml được hòa tan với nhau theo tỷ lệ 1:1, ủ 10 phút ở nhiệt độ phòng, nhỏ 20 µl dung dịch này vào mỗi giếng thạch, ủ ở 35,5°C trong 4 giờ. Ở giếng đối chứng, thay mẫu bằng nước cất. Nhuộm màu bằng amido black 10B 0,1% trong dung dịch methanol, acid acetic, nước cất theo tỷ lệ 3: 1: 6. Tẩy bằng dung dịch pha amino black.

2.5. Tách phân đoạn protein trong hạt bằng sắc ký trao đổi ion, thẩm tích và điện di SDS-PAGE

Protein trong hạt được tách phân đoạn bằng sắc ký trao đổi ion DEAE sephadex A25 hoặc thẩm tích qua màng Spectra/por4 với kích thước lỗ từ 10 đến 12 kDa. Các mẫu protein hạt hòe tổng số và trong các đỉnh sắc ký được điện di SDS-PAGE 3 lớp (4, 10 và 16,5%) theo phương pháp của Schgger và von Jagow (1987).

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Hiệu lực gây ngán ăn cho sâu

Kết quả khảo sát hiệu lực gây ngán ăn của các mẫu dịch chiết từ 10 loài thực vật được thể hiện trong bảng 1. Hầu hết các mẫu dịch chiết đều làm giảm đáng kể sức ăn lá bắp cải của sâu xanh. Các mẫu dịch chiết từ quả non và lá xoan, hạt hòe già, hạt gấc (chiết bằng đệm Sorensen) và quả ớt có hoạt tính gây ngán ăn rất mạnh (lớn hơn 80%). Mẫu dịch chiết từ hạt gấc (chiết bằng dầu đậu nành) hạt hòe non, lá kinh giới và hung quế gây ngán ăn khá mạnh (trên 50%), và các mẫu còn lại có hoạt tính yếu (dưới 50%).

Bảng 1. Hiệu lực gây ngán ăn với sâu xanh bướm trắng của các mẫu dịch chiết từ thực vật

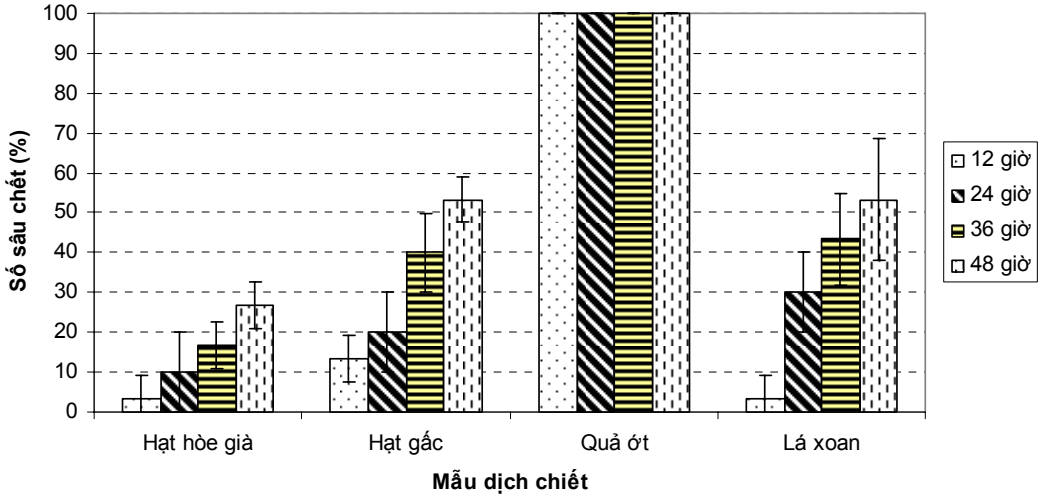
TT	Loài thực vật			Dung môi/đệm được dùng	Hiệu lực gây ngán ăn (%)
	Tên Việt	Tên la tinh	Bộ phận		
1	Bạch đàn	*Eucalyptus tereticornis*	Lá	H_2O	22,2±5,4
2	Cúc vạn thọ	*Tagetes patula* L.	Hoa	H_2O	37,8±7,6
3 (a,b)	Gấc	*Momordica cochinchinensis* (Spreng)	Hạt	(a) Đệm Sorensen/ (b) dầu đậu nành	94,0±2,5/ 75,4±7,2
4	Hòe	*Sophora japonica* L.	Hạt non	Đệm Sorensen	65,6±6,2
5			Hạt già	Đệm Sorensen	82,4±5,1
6	Húng quế	*Ocimum bacilicum* L.	Lá	H_2O	64.0±6,7
7	Kinh giới	*Elsholtzia ciliate* (Thunb.)	Lá	H_2O	65,8±8,2
8 (a,b)	Ớt	*Capsicum annuum* L.	Quả	(a) H_2O/ (b) dầu đậu nành	86,0±6,0/ 3,5±2,2
9	Tía tô	*Perilla frustescens* L.	Lá	H_2O	6,6±2,7
10	Trầu không	*Piper betle* L.	Lá	H_2O	7,2±1,9
11	Xoan	*Melia azedarach* L.	Quả non	H_2O	98,8±1,3
12 (a,b,c,d)			Lá	(a) H_2O/ (b) acetone/ (c) cồn tuyệt đối/ (d) dầu đậu nành	99,0±0,7/ 94,4±2,3/ 93,4±2,1/ 81,6±5,0

Các chất ngăn cản côn trùng nói chung và sâu xanh nói riêng ăn thực vật có trong tất cả các nhóm hợp chất thứ sinh chính từ thực vật như các alkaloid, phenolics và terpenoid, trong đó được biết đến nhiều nhất là các triterpene từ cây neem (*Azadirachta indica*) (Frazier, 1986; Isman, 2002). Xoan ta có họ hàng gần gũi với cây neem, đã được sử dụng rộng rãi để bào chế thuốc trừ sâu sinh học, nên có thể phỏng đoán tác dụng gây ngán ăn mạnh của nó cũng do họ hợp chất thứ sinh terpenoid. Phỏng đoán này phù hợp với kết quả gây ngán ăn của dịch chiết xoan bằng nhiều dung môi khác nhau bởi vì các terpenoid vừa có thể tan trong nước lại vừa có thể tan tốt trong dầu và các dung môi không phân cực khác. Tuy vậy, chất gây ngán ăn cho sâu xanh trong mẫu dịch chiết ớt lại có bản chất là chất thứ sinh không tan trong chất béo mà tan tốt trong nước. Hoạt tính gây ngán ăn của dịch chiết hạt hòe và hạt gấc đều rất cao và có thể do các chất ức chế proteinase (PPI) gây ra (Phạm Thị Trân Châu và cs., 2000; Đặng Xuân Nghiêm, 2002). Hạt non thường có hàm lượng PPI thấp hơn hạt già nên có thể hạt hòe già có hoạt tính gây ngán ăn mạnh hơn. Tuy nhiên, vai trò của các hợp chất thứ sinh khác trong dịch chiết hai loại hạt này cần được khảo sát riêng.

3.2. Hiệu lực diệt sâu xanh

Căn cứ vào kết quả của thí nghiệm xác định khả năng gây ngán ăn, hiệu lực diệt sâu xanh được xác định trong những thí nghiệm riêng rẽ 3 lần lặp lại song song cho mỗi mẫu dịch chiết tiềm năng nhất. Tất cả các mẫu trong thí nghiệm này đều được chiết bằng nước cất hoặc đệm Sorensen như trong bảng 1 và được pha loãng 5 lần (Hình 1).

Kết quả cho thấy, dịch chiết từ quả ớt có khả năng diệt sâu xanh mạnh nhất, đạt 100% chỉ sau 12 giờ phun, trong khi chỉ có khoảng 27% sâu bị diệt sau 48 tiếng với 4 lần phun bằng dịch chiết từ hạt hòe già. Dịch chiết từ lá xoan tươi và từ hạt gấc có khả năng diệt sâu tương đương nhau, đạt khoảng 53% sau 4 lần phun. Kết quả đối với dịch chiết từ hạt gấc phù hợp với nghiên cứu của Phạm Thị Trân Châu (2000). Thử nghiệm tiếp với dịch chiết từ quả ớt cho thấy với nồng độ pha loãng 30 lần thì chỉ khoảng 30% sâu xanh chết trong 48 giờ. Số sâu 70% sống sót sẽ hồi phục nếu cho ăn rau bắp cải không phun thuốc, nhưng nếu cho chúng ăn lá rau đã phun một trong 3 dịch chiết còn lại đã pha loãng 5 lần thì tất cả sẽ chết sau 24 giờ. Kết quả này gợi ý về một tác dụng cộng hưởng trong việc diệt trừ sâu xanh khi phối trộn các dịch chiết nói trên.

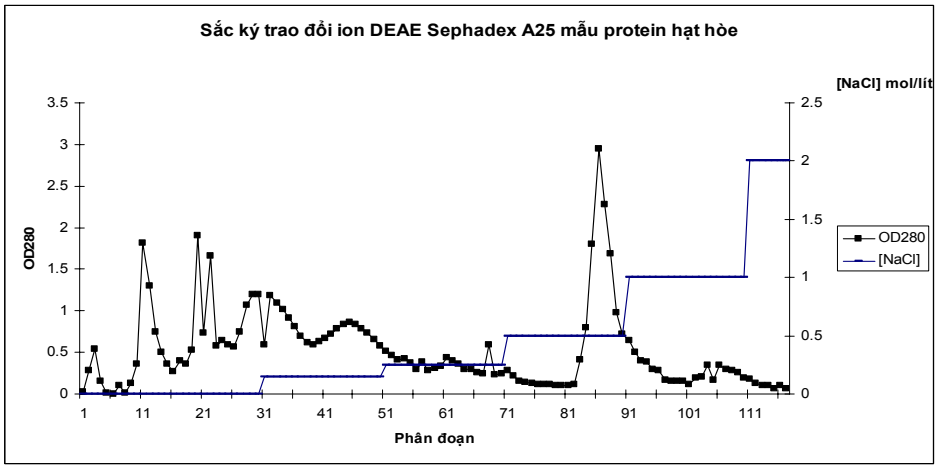


Hình 1. Hiệu lực diệt sâu xanh bướm trắng của bốn dịch chiết

3.3. Hoạt tính ức chế trypsin

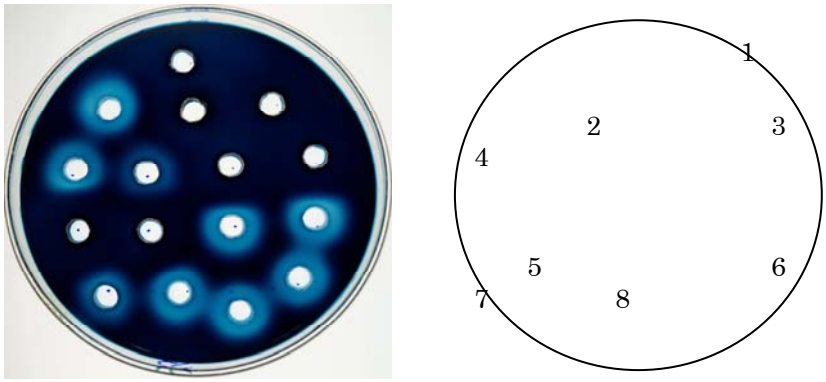
Nhằm nghiên cứu mối liên hệ giữa hoạt tính ức chế trypsin của các mẫu dịch chiết với khả năng gây ngán ăn và tiêu diệt đối với sâu xanh, thí nghiệm đã được tiến hành với tất cả các mẫu dịch chiết. Kết quả cho thấy chỉ có 2 mẫu dịch chiết từ hạt hòe (non và già) và dịch chiết từ hạt gấc ức chế hoàn toàn hoạt tính phân giải casein của trypsin (Hình 3).

Dịch thẩm tích đã phân tách các phân tử nhỏ hơn 10 kDa khỏi các phân tử lớn hơn được thử hoạt tính ức chế trypsin và hoạt tính gây ngán ăn cho sâu xanh thì kết quả chỉ phần dịch chiết có hoạt tính ức chế trypsin mới gây ngán ăn cho sâu. Kết quả sắc ký trao đổi ion DEAE Sephadex A25, điện di SDS_PAGE và thẩm tích với cả hai mẫu dịch chiết cho thấy chất ức chế trypsin (TI) ở hạt hòe có kích thước lớn hơn 10 kDa (Hình 2, 3, 4) còn TI trong hạt gấc có kích thước nhỏ hơn 10 kDa như đã được công bố (Phạm Thị Trân Châu, 2000; Lê Trọng Quang và cs., 2003).



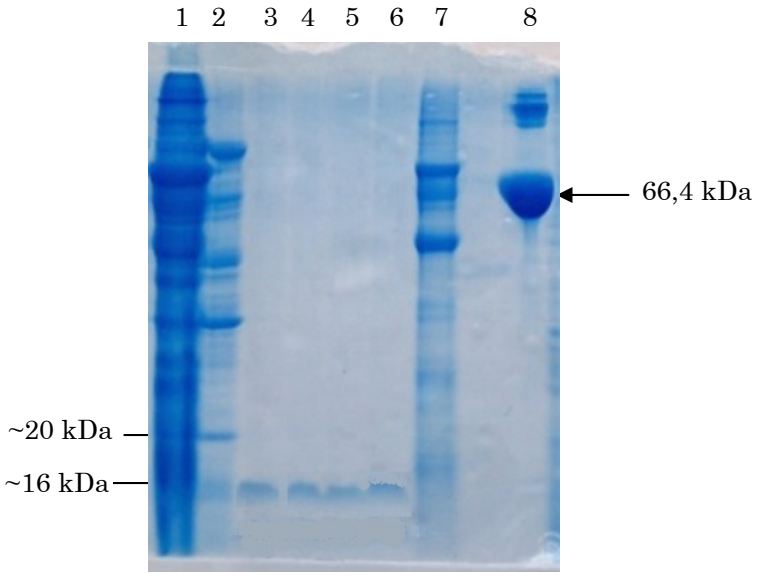
Hình 2. Đồ thị sắc ký trao đổi ion DEAE Sephadex A25 mẫu protein tổng số của hạt hòe già

Cột gel có kích thước 1,3 x 25 cm. Mẫu lên cột là 2 ml. Thể tích mỗi phân đoạn là 2 ml. Tốc độ chảy ra của đệm mẫu là 0,3 ml/phút. Các protein bám trên cột được đẩy ra bằng đệm có nồng độ NaCl tăng dần



Hình 3. Khảo sát hoạt tính ức chế trypsin bằng phương pháp khuyếch tán đĩa thạch

Tất cả các giếng đều có nhỏ trypsin cùng với: 1- dịch chiết hạt hòe non; 2- đệm Sorensen; 3- dịch chiết hạt hòe già; 4- dịch chiết hạt gấc và các đỉnh protein sau khi qua cột DEAE Sephadex A25; 5- phân đoạn 3; 6- phân đoạn 12; 7- phân đoạn 20; 8- phân đoạn 22; 9- phân đoạn 30; 10- phân đoạn 32; 11- phân đoạn 45; 12- phân đoạn 62; 13- phân đoạn 68; 14- phân đoạn 72; 15- phân đoạn 86; 16- phân đoạn 104



Hình 4. Điện di SDS-PAGE

1- protein tổng số hạt hòe , 2- phần tan của protein hạt hòe gia nhiệt ở 85°C trong 1 giờ, 3- phân đoạn 20, 4- phân đoạn 22, 5- phân đoạn 30, 6- phân đoạn 32, 7- phân đoạn 86, 8- BSA

Kết quả điện di SDS-PAGE (Hình 4) và kết quả khảo sát hoạt tính ức chế trypsin (Hình 3) cho thấy 4 đỉnh TI có thể đã được phân tách tốt ngay ban đầu, khi chưa cho NaCl, khỏi những protein còn lại của hạt hòe mà phần lớn chỉ bị đẩy ra bởi nồng độ NaCl 0,5 M. Việc có 4 đỉnh TI (Hình 2) với cùng tốc độ di động điện di đã củng cố khả năng có nhiều hơn một TI cùng khối lượng phân tử trong hạt hòe như kết quả công bố của Lê Trọng Quang và cs. (2003).

4. KẾT LUẬN

Dịch chiết từ lá và quả xoan non, hạt gấc, và hạt hòe già có hoạt tính gây ngán ăn rất mạnh (trên 80%) đối với sâu xanh bướm trắng. Dịch chiết từ lá kinh giới, hạt hòe non, húng quế có hoạt tính gây ngán ăn mạnh trên 50%.

Có thể tinh sạch các TI từ hạt hòe chỉ bằng sắc ký trao đổi ion DEAE Sephadex A25.

Hoạt tính gây ngán ăn cho sâu xanh của hạt gấc và hạt hòe có thể là do các protein ức chế proteinase tạo ra.

Dịch chiết từ quả ớt có hoạt tính diệt sâu rất mạnh. Hoạt tính diệt sâu của dịch chiết hạt hòe già, lá xoan và hạt gấc khá cao và tăng mạnh khi phun cho sâu đã bị phun dịch ớt loãng.

Lời cảm ơn

Công trình này được thực hiện nhờ kinh phí của Dự án Việt-Bỉ (CUI Project) cấp cho hai đề tài có liên quan do TS. Đặng Xuân Nghiêm làm chủ nhiệm.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Amadioha, A.C. (2000). Controlling rice blast *in vitro* and *in vivo* with extracts of *Zadirachta indica*. *Crop Protection*. 19, 287-290.

Ashouri, S. and N. Shayesteh (2009). Insecticidal activities of black pepper and red pepper in powder form on adults of *Rhyzopertha dominica* (F.) and *Sitophilus granarious* (L.). *Pak. Entomol*. Vol. 31, No.2, 2009.

Bakr, E. M. (2005). A new software for measuring leaf area, and area damaged by Tetranychus urticae Koch. *Journal of Applied Entomology*. 129 (3), 173-175.

Bentley, M.D., D.E.Leonard, W.F.Stoddard, L.H.Zalkow (1984). Pyrrolizidine alkaloids as larval feeding deterrents for spruce budworm, Choristoneura fumiferana (Lepidoptera: Tortricidae). *Annal. Entomol. Soc. America*. 77, 393–397.

Dương Anh Tuấn (2002). Azadirachtin và các phân đoạn dầu neem trong hạt cây neem (*Azadirachta indica*), họ Meliaceae di thực vào Việt Nam có hoạt tính gây ngán ăn mạnh đối với sâu khoang. Báo cáo khoa học hội nghị côn trùng học toàn quốc (Lần thứ 4). - tr. 504-509.

Đặng Xuân Nghiêm (2002). Khảo sát hoạt tính kháng khuẩn của các cây thuốc Nam và nghiên cứu đặc điểm của protein ức chế proteinase (PPI) ở hạt hoè *(Sophora japonica)*. Luận văn tốt nghiệp đại học chuyên ngành Hoá sinh: Khoa Sinh học - Đại học KHTN, Đại học Quốc gia Hà Nội.

Đỗ Tất Lợi (2006). Các cây thuốc và vị thuốc Việt Nam. Tái bản lần thứ 6. NXB. Y học.

Frazier J.L. (1986). The perception of plant allelochemicals that inhibit feeding. *In* Molecular Aspects of Insect-Plant Associafions (Edited by Brattsten L. B. and Ahmad S.), pp. 142. Plenum Press, New York.

Isman, M.B. (2002). Antifeedants. *Pesticide Outlook* 13, 152-157.

Kubo, I., K.Nakanishi (1977). *In* Host Plant Resistance to Pests. Hedin, P. A. (Ed.) American Chemical Society: Washington, DC, A.C.S. Symp. Ser. 62, p 165.

Lê Doãn Liên, Phan Quốc Kinh, Nguyễn Linh Chi, Lê Văn Tứ (2000). Nghiên cứu thuốc trừ sâu hại kho - bacna từ cây na và cây bách bộ. *Tạp chí Khoa học:* Khoa học tự nhiên (Đại học Quốc gia Hà Nội). No.1. Tập 16. tr. 20-29.

Lê Thị Lan Oanh, Hoa Thị Hằng, Trần Thị Thơm, Nguyễn Hoàng Tỉnh, Nguyễn Văn Thiết, Nguyễn Xuân Thụ (2000). Nghiên cứu sử dụng một số loài thảo mộc làm thuốc trừ sâu MT1. *Tạp chí Khoa học:* Khoa học tự nhiên (Đại học Quốc gia Hà Nội). No.1 . Tập 16. tr. 12-19.

Lê Trọng Quang, Nguyễn Phương Nam, Phan Thị Hà, Phạm Trân Châu (2003). Tinh sạch và nghiên cứu một số tính chất của các chất kìm hãm tripxin và kimotripxin ở hạt hoè *Sophora japonica* L. f. *Tạp chí Sinh học*. No. 3. Tập 25. tr. 59-65.

Montes - Molina, J.A., M.L. Luna - Guido, N. Espinoza-Paz, B. Govaerts, F.A. Gutierrez - Miceli, L. Dendooven (2008). Are extracts of neem (*Azadirachta indica A. Juss. (L.)*) and *Gliricidia sepium* (Jacquin) an alternative to control pests on maize (*Zea mays L.*)? *Crop Protection*. 27, 763–774.

Phạm Thị Trân Châu (2000). Protein ức chế proteinaz (PPI) của hạt gấc (*Momordica cochinchinensis*). Những vấn đề nghiên cứu cơ bản trong sinh học- Báo cáo khoa học Hội nghị Sinh học quốc gia. Tr. 197 -201.

Phạm Thị Trân Châu, Phan Thị Hà, Mai Ngọc Toàn, Trịnh Hồng Thái, Trần Quang Tấn, Hoàng Thị Việt, Nguyễn Đậu Toàn, Phạm Thị Hạnh (2000). Tác dụng trừ sâu hại rau của chế phẩm momosertatin tách từ hạt gấc (*momordica cochinchinensis*). *Tạp chí Khoa học*: Khoa học tự nhiên (Đại học Quốc gia Hà Nội). No.1. Tập 16. tr.1-11.

Roush, R.T. (1997). Insecticide resistance management in diamondback moth: *quo vadis*? The management of diamondback moth and other crucifer pests. *In:* Proceedings of the third international workshop, October 1996, Kuala Lumpar, Malaysia, pp. 21–25.

Schgger, H., G. von Jagow (1987). "Tricine-sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis for the separation of proteins in the range from 1 to 100 kDa". *Anal Biochem* 166 (2): 368–379.

Tabashnik, B.E. (1994). Evolution of resistance to *Bacillus thuringiensis*. *Annual Review of Entomology*. 39, 47–79.

Talekar, N.S., A.M. Shelton (1993). Biology, ecology, and management of the diamondback moth. *Annual Review of Entomology*. 38, 275–301.

Thomas, M., J. Waage (1996). Integration of Biological Control and Host Plant Resistance Breeding. ICTA Wageningen, Netherlands.