

ỦY BAN NHÂN DÂN TỈNH BẾN TRE
SỞ KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ TỈNH BẾN TRE

BÁO CÁO TÓM TẮT
NHIỆM VỤ KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ CẤP TỈNH

Đề tài: “Nghiên cứu quy trình phòng trừ sâu đục thân cây xoài bằng biện pháp sinh học trên địa bàn tỉnh Bến Tre”

Cơ quan chủ trì đề tài : Viện Di truyền Nông nghiệp
Chủ nhiệm đề tài : Ths. Nguyễn Thị Hồng Minh
Thời gian thực hiện : 27 tháng (từ tháng 4/2020 tháng 7/2022)

BẾN TRE - NĂM 2022

Thông tin chung

Tên nhiệm vụ: Nghiên cứu quy trình phòng trừ sâu đục thân cây xoài bằng biện pháp sinh học trên địa bàn tỉnh Bến Tre

Cấp quản lý nhiệm vụ: Cấp tỉnh

Tổ chức chủ trì nhiệm vụ: Viện Di truyền Nông nghiệp

Địa chỉ: Km2, đường Phạm Văn Đồng, phường Cổ Nhuế 1, quận Bắc Từ Liêm, Hà Nội

Điện thoại: 024. 37543198

Cơ quan cấp trên trực tiếp của tổ chức chủ trì: Viện Khoa học Nông nghiệp Việt Nam

Địa chỉ: Vĩnh Quỳnh, Thanh Trì, Hà Nội

Chủ nhiệm nhiệm vụ: ThS. Nguyễn Thị Hồng Minh

Thời gian thực hiện: 27 tháng (từ ngày 03/04/2020 đến ngày 31/07/2022)

Tổng kinh phí: 899.356.425 đồng

Trong đó kinh phí từ ngân sách: 899.356.425 đồng

Danh sách cá nhân tham gia nhiệm vụ (ghi họ tên, chức danh khoa học và học vị)

STT	Họ và tên, học hàm học vị	Tổ chức công tác
1	ThS. Nguyễn Thị Hồng Minh	Viện Di truyền Nông nghiệp
2	KS. Trịnh Quốc Bình	Viện Di truyền Nông nghiệp
3	TS. Nguyễn Đức Thành	Viện Di truyền Nông nghiệp
4	CN. Đào Thị Thu Hằng	Viện Di truyền Nông nghiệp
5	ThS. Lê Sĩ Dũng	Viện Di truyền Nông nghiệp
6	CN. Nguyễn Thế Quyết	Viện Di truyền Nông nghiệp
7	ThS. Lê Thị Thanh Nga	Viện Di truyền Nông nghiệp
8	CN. Trịnh Quốc Lộc	Viện Di truyền Nông nghiệp
9	CN. Nguyễn Ngọc Tân	UBND huyện Thạnh Phú
10	ThS. Phạm Thị Kim Lan	Trung tâm KH&CN Bến Tre
11	KS. Võ Thanh Tùng	Chi cục trồng trọt và bảo vệ thực vật Bến Tre
12	ThS. Đỗ Công Trứ	Sở Khoa học và Công nghệ Bến Tre

CHƯƠNG 1. MỞ ĐẦU

1.1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Việt Nam, xoài được trồng từ Nam chí Bắc, vùng trồng xoài tập trung từ Bình Định trở vào, và được trồng nhiều nhất ở các tỉnh Đồng bằng sông Cửu Long (ĐBSCL) như Tiền Giang, An Giang, Đồng Tháp, Vĩnh Long, Cần Thơ, Bến Tre... Ngoài ra, xoài còn được trồng ở Khánh Hoà, Đồng Nai, Bà Rịa Vũng Tàu, Sơn La, Lạng Sơn và khu vực Đồng bằng sông Hồng. Diện tích trồng xoài của cả nước khoảng 87.000 ha, sản lượng hơn 969.000 tấn/năm. Việt Nam đứng thứ 13 về sản xuất xoài trên thế giới nhưng số lượng xuất khẩu thì còn khiêm tốn và nằm ngoài top 10 nước xuất khẩu xoài (Thương vụ Việt Nam tại Úc, 2018).

Việt Nam là nước trồng xoài từ lâu đời và trồng được trên nhiều vùng sinh thái khác nhau, nhưng phân bố chủ yếu vẫn là các tỉnh phía Nam. Năm 2017, Việt Nam có 92.746 ha và sản lượng 788.233 tấn, trong đó ĐBSCL là vùng sản xuất xoài lớn nhất, chiếm đến 46,1% diện tích và 64,4% sản lượng xoài của cả nước; tiếp theo là vùng Đông Nam Bộ (chiếm 19,2% diện tích và 16,4% sản lượng xoài cả nước) (Cục Trồng trọt, 2018).

Tại khu vực các tỉnh thuộc vùng ĐBSCL của Việt Nam, Đồng Tháp là tỉnh có diện tích và sản lượng xoài lớn nhất, chiếm đến 21,4% diện tích và 28,5% sản lượng xoài cả vùng ĐBSCL.

Trong các loài côn trùng gây hại cây ăn trái và cây lâu năm, sâu đục thân một trong những đối tượng gây hại vào bậc nhất nhì, thảm họa do chúng gây ra trên vườn cây ăn trái thật khó lường.

Sâu đục thân xoài (còn gọi là bù xòe) phổ biến ở vùng ĐBSCL như Vĩnh Long, Tiền Giang, Bến Tre, ... Loài này đục trên thân chính hoặc nhánh lớn thường làm chết nhánh hoặc suy yếu cả cây xoài.

Theo Huỳnh Thanh Lộc (2015), trên cây xoài ghi nhận được 5 loài sâu đục thân cây xoài gồm *Plocaederus ruficornis*, *Rhytidodera simulans*, *Batocera rufomaculata*, *Stromatium longicorne*. Trong đó, loài *Plocaederus ruficornis* là loài có mức độ phổ biến cao nhất.

Biện pháp truyền thống phòng trừ sâu đục thân là sử dụng một số loại thuốc hóa học có phổ tác động rộng. Tuy nhiên, biện pháp này cũng không đem lại hiệu quả cao vì ấu trùng của xén tóc sống và gây hại bên trong thân, cành cây xoài nên không bị tác động trực tiếp của thuốc hóa học. Mặt khác, việc sử dụng thuốc hóa học ở giai đoạn gần thu hoạch sẽ để lại dư lượng thuốc trên quả, không an toàn cho người tiêu dùng và gây ô nhiễm môi trường.

Việc nghiên cứu sử dụng vi sinh vật phòng trừ sâu đục thân hại xoài điều cấp bách và cần thiết. Xuất phát từ những vấn đề trên chúng tôi tiến hành thực hiện đề tài: **“Nghiên cứu quy trình phòng trừ sâu đục thân cây xoài bằng biện pháp sinh học trên địa bàn tỉnh Bến Tre”**. Đề tài thực hiện trong 24 tháng, từ tháng 4/2020 đến 4/2022.

1.2. MỤC TIÊU NGHIÊN CỨU

Mục tiêu tổng quát:

Tạo được chế phẩm sinh học có hiệu quả phòng trừ sâu đục thân gây hại cây xoài tại tỉnh Bến Tre. Áp dụng quy trình phòng trừ dịch hại tổng hợp trong canh tác xoài giúp sản xuất sạch, an toàn và nâng cao chất lượng đạt hiệu quả kinh tế cao.

Mục tiêu cụ thể:

- a, Phân lập, tuyển chọn được 02-03 chủng nấm *Metarhizium* spp. và chủng vi khuẩn *Bacillus* spp vi sinh vật có hiệu lực phòng trừ sâu đục thân trên cây xoài.
- b, Xây dựng được quy trình sản xuất chế phẩm trừ sâu sinh học quy mô thử nghiệm (pilot).
- c, Xây dựng được quy trình sử dụng chế phẩm sinh học trừ sâu đục thân trên cây xoài.
- d, Xây dựng mô hình sử dụng chế phẩm sinh học phòng trừ sâu đục thân trên cây xoài tỉnh Bến Tre.

1.3. NỘI DUNG ĐỀ TÀI:

- 1, Nghiên cứu tình hình, mức độ gây hại của sâu đục thân trên cây xoài tại tỉnh Bến Tre
- 2, Phân lập, xác định danh tính và đặc điểm sinh học các chủng nấm *Metarhizium* spp và chủng *Bacillus* spp ký sinh sâu đục thân trên cây xoài
- 3, Nghiên cứu kỹ thuật và quy trình sản xuất chế phẩm sinh học quy mô thử nghiệm (pilot) phòng trừ sâu đục thân xoài
- 4, Xây dựng mô hình tổng hợp sử dụng chế phẩm sinh học trong phòng trừ sâu đục thân trên cây xoài tại tỉnh Bến Tre

CHƯƠNG 2. TỔNG QUAN TÀI LIỆU

2.1. CƠ SỞ KHOA HỌC CỦA ĐỀ TÀI

Khái niệm “Nấm ký sinh côn trùng” (entomopathogenic fungi, EPF) được các nhà khoa học sử dụng như là thuật ngữ đồng nghĩa, đề cập về nhóm nấm ký sinh gây bệnh cho côn trùng. Nấm ký sinh côn trùng dùng để mô tả hiện tượng nấm ký sinh trên hoặc trong cơ thể côn trùng. Nấm ký sinh nguyên phát thường nhiễm vào ký chủ côn trùng khỏe mạnh gây bệnh và sau đó giết chết côn trùng. Trong khi đó, nấm ký sinh thứ phát chỉ có thể ký sinh trên côn trùng đã bị suy yếu bởi một loại bệnh nào đó hoặc côn trùng bị thương.

Nấm là nhóm vi sinh vật đầu tiên được chứng minh về khả năng lây nhiễm từ vật chủ này sang vật chủ khác. Trong các tác nhân gây bệnh, nấm ký sinh côn trùng thường có vai trò quan trọng nhất. Nấm ký sinh côn trùng có thể xâm nhiễm vào cơ thể côn trùng qua con đường tiêu hóa (miệng côn trùng), hô hấp (lỗ thở), qua cơ quan sinh dục, nhưng phần lớn là qua lớp vỏ, tức là phải có khả năng tiếp xúc, bám dính của bào tử nấm trên bề mặt vỏ cơ thể côn trùng; sự xâm nhập qua lớp vỏ cơ thể của côn trùng gồm giai đoạn bám dính, hình thành cấu trúc xâm nhập và sản sinh các enzyme. Bào tử nấm xâm nhập qua lớp vỏ cơ thể là sự tổ hợp của sức ép cơ học và sự tác động của enzyme phân giải tầng cuticun. Sau đó là quá trình sinh trưởng bên trong xoang cơ thể vật chủ và sự sinh sản của bào tử dính làm vật chủ bị chết. Các loài côn trùng có thể phản ứng lại sự xâm nhiễm này của nấm bằng cả hai phương thức là tế bào và thể dịch. Các loài nấm nói chung đều có hai phương thức để chiến thắng các phản ứng tự vệ của vật chủ: Sự phát triển của các dạng sinh trưởng giai đoạn tiềm ẩn là sự nguy trang hữu hiệu từ các phản ứng tự vệ của côn trùng và sự sản xuất ra các chất miễn dịch phân hóa thuận nghịch của bộ phận ức chế hệ thống bảo vệ.

Trên bề mặt vỏ cơ thể sâu hại bị nhiễm nấm thường xuất hiện các vết chấm đen. Đây có thể là vị trí mà bào tử nấm tiếp xúc, mọc mầm và xâm nhiễm vào bên trong cơ thể vật chủ. Cơ thể sâu bị bệnh ngày càng trở nên hóa cứng. Cơ thể côn trùng bị chết do nấm côn trùng không bị nát mà thường giữ nguyên hình dạng như khi còn sống. Toàn bộ bên trong cơ thể côn trùng chứa đầy sợi nấm. Sau đó, các sợi nấm này mọc ra ngoài qua vỏ cơ thể và bao phủ toàn bộ bề mặt ngoài của cơ thể. Đây là đặc điểm rất đặc trưng để phân biệt sâu chết bệnh do nấm côn trùng với các bệnh khác (Phạm Văn Lâm, 2000).

Các loài nấm ký sinh côn trùng như nấm xanh *Metarhizium anisopliae*, *Metarhizium guizhouense*, nấm trắng *Beauveria bassiana*, *Isaria* spp., nấm tím *Paecilomyces* spp.,... đã được phân lập thành công trên các pha phát dục của các loài côn trùng thuộc bộ hai cánh Diptera: Tephritidae như loài ruồi đục trái *Bactrocera dorsalis*, *B. latifrons*, *Bactrocera* spp., *Ceratitis capitata* Wiedemann, *Zeugodacus cucurbitae*,.... (Qazzaz *et al.*, 2015; Thaochan and Ngampongsai, 2018; Onsongo *et al.*, 2019; Zhao *et al.*, 2020). Các chủng nấm ký sinh này đã được chứng tỏ có hiệu quả phòng trừ các loài ruồi đục trái gây hại trên nhiều loại cây ăn trái khác nhau ở điều kiện in vitro và đã được ứng dụng để sản xuất chế phẩm sinh học phòng trừ các loài ruồi đục trái ở ngoài đồng. Sử dụng các chế phẩm sinh học này có tác dụng làm giảm mật độ quần thể của các loài ruồi đục trái trên đồng ruộng, qua đó làm giảm mức độ gây hại của chúng trên cây các loại cây ăn trái, cây rau màu; tạo ra các sản phẩm an toàn, giúp góp phần chống lại khả năng kháng thuốc bảo vệ thực vật của các loài ruồi đục trái.

2.2. CÂY XOÀI

Xoài (danh pháp khoa học: *Mangifera indica* L.) thuộc họ Đào lộn hột (*Anacardiaceae*) là cây vùng nhiệt đới, nguồn gốc cây xoài ở miền Đông Ấn Độ và các vùng giáp ranh như Miến Điện, Việt Nam và Malaysia.

Cây xoài có thể cao đến 40 m, nhưng thông thường khoảng 10-15 m, có tán lớn và có thể sống đến 100 năm. Ở vùng đất cao hay đồi núi rễ có thể mọc sâu đến 9 m. Ở vùng đất thấp, rễ mọc đến mực thủy cấp. Xoài trồng từ hạt, sau 6-8 năm sẽ cho trái. Cây thấp chỉ trồng sau 3-5 năm sẽ cho trái.

Năm 2017, sản lượng xoài trên toàn thế giới đạt 50,6 triệu tấn. Các nước có sản lượng xoài cao nhất gồm Ấn Độ (19,5 triệu tấn), Trung Quốc (4,8 triệu tấn), Thái Lan (3,8 triệu tấn), Indonesia (2,6 triệu tấn) và Mexico (2,0 triệu tấn) (FAOSTAT, 2018)

Giá trị dinh dưỡng của xoài: Xoài là loại quả được mệnh danh là “vua của các loại trái cây” do xoài không chỉ thơm ngon mà còn bổ dưỡng nhờ giàu nguồn axit amino, vitamin E, B1, B2, flavonoid, flavine, acid folic, calci, phosphor, sắt, beta caroten,... Theo Alexis Mucumbitsi, chuyên gia phụ trách dinh dưỡng tại Bộ Y tế Rwanda cho biết: "Trong xoài rất giàu sắt, vitamin A và C, chứa hơn 80% lượng magie và canxi cần thiết hằng ngày, rất quan trọng trong việc phòng nhiều loại bệnh khác nhau".

Công dụng của xoài: Các hợp chất phenolic được tìm thấy trong xoài như quercetin, isoquercitrin, astragalin, fisetin và methylgallat đã được chứng minh là có đặc tính chống oxy hóa và chống ung thư. Trong xoài có chứa các enzyme giúp phá vỡ protein, tạo điều kiện thuận lợi cho sự hấp thụ vào cơ thể, chất xơ có trong xoài cũng giúp tiêu hóa tốt. Xoài cũng rất giàu vitamin B6, đóng vai trò quan trọng trong việc đề phòng bệnh tim bằng cách giảm mức độ homocysteine (Homocysteine là một axit amin trong máu gây tổn thương mạch máu),...

CHƯƠNG 3. NỘI DUNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

3.1. VẬT LIỆU NGHIÊN CỨU

a. Bộ chủng giống vi sinh vật

Chủng nấm xanh *Metarhizium anisopliae* AS2

Chủng nấm trắng *Beauveria bassiana* AS1

Chủng vi khuẩn *Bacillus thuringiensis* Ba3

b. Môi trường nuôi cấy vi sinh vật

- Môi trường PDA: khoai tây 200g, đường destrose 20 g và nước cất 1000ml

- Môi trường King B (KB): Yeast extract 5 g; pepton 20 g; glycerin 5 ml;

K₂HPO₄ (12,5 %) 12 ml; MgSO₄.7H₂O (6,25 %) 25 ml; nước cất 1000 ml; pH = 7,0.

- Môi trường LB: tryptone 10 g; yeast extract 5 g; NaCl 5 g; nước cất 1000 ml;

pH = 7,0.

- Môi trường PSA: Saccharoza 20 g; Pepton 5,0 g; K_2HPO_4 0,5g; $MgSO_4.7H_2O$ 0,25 g; Nước cất 1000 ml; pH = 6,8 – 7,1
- Môi trường NA : nutrient agar 23g, nước cất 1000ml
- Môi trường Czapek (Czapek agar): Saccharose: 30 g; $NaNO_3$: 3 g; K_2HPO_4 : 1 g; $MgSO_4.7H_2O$: 0,5 g; KCl: 0,5 g; $FeSO_4.7H_2O$: 0,01 g; Agar: 15 g; nước cất 1000 ml; pH = 7,0
- Môi trường T3: Trypton: 3g; Cao nấm men: 1,5g; Tryptose: 2g; $MnCl_2$: 0,005g; NaH_2PO_4 : 6,9g; Na_2HPO_4 : 8,9g; Agar: 15 g; nước cất 1000 ml; pH = 7,0
- Môi trường phân giải Chitinase: $NaNO_3$: 3,5g; K_2HPO_4 : 1,5 g; $MgSO_4.7H_2O$: 0,5 g; KCl: 0,5 g; $FeSO_4.7H_2O$: 0,1 g; bột chitin: 10g, Agar: 15 g; nước cất 1000 ml; pH = 7,0
- Môi trường phân đánh giá khả năng phân giải Lipid: Cao thịt: 5g; Pepton: 10 g; NaCl: 5g; Glucose: 2g; dầu olive: 5ml; Agar: 15 g; nước cất 1000 ml; pH = 7,0
- Môi trường phân giải cellulose: CMC: 20g; $NaNO_3$: 3,5g; ; K_2HPO_4 : 1,5 g; $MgSO_4.7H_2O$: 0,5 g; KCl: 0,5 g; $FeSO_4.7H_2O$: 0,1 g; Agar: 15 g; nước cất 1000 ml; pH = 7,0

c. *Trang thiết bị và dụng cụ*: Trang thiết bị sử dụng trong nghiên cứu là các trang thiết bị, dụng cụ sử dụng phổ biến trong các phòng thí nghiệm vi sinh vật, gồm kính hiển vi quang học, tủ sấy, tủ ẩm, tủ lạnh, tủ lạnh sâu, tủ định ôn, buồng cấy, máy lắc nhu động, máy đo pH, máy khuấy từ, máy lắc tròn, máy lắc ổn nhiệt, máy ly tâm, cân phân tích, cân kỹ thuật, nồi lên men 1, 3, 5 lít, nồi hấp khử trùng, máy sấy, máy nghiền.... và một số dụng cụ thông dụng khác.

d. *Chế phẩm sinh học tạo được trong nghiên cứu*

3.2. ĐỊA ĐIỂM VÀ THỜI GIAN THỰC HIỆN

3.2.1. Địa điểm nghiên cứu

Điều tra, thu mẫu được thực hiện tại tỉnh Bến Tre.

Các thí nghiệm trong phòng được thực hiện tại Viện Di truyền Nông nghiệp.

Thí nghiệm đồng ruộng và mô hình được thực hiện tại tỉnh Bến Tre.

3.2.2. Thời gian nghiên cứu

Từ tháng 4/2020 đến tháng 4/2022.

3.3. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

+ Phương pháp điều tra và đánh giá mức độ gây hại của sâu đục thân trên cây xoài tại tỉnh Bến Tre: Sử dụng phương pháp điều tra chung về điều tra phát hiện sâu bệnh hại cây trồng theo QCVN 01-38:2010/BNNPTNT về phương pháp điều tra phát hiện dịch hại cây trồng

Phương pháp phân lập các chủng vi sinh vật được thực hiện bằng phương pháp pha loãng đất, mẫu sâu, sử dụng các môi trường đặc hiệu.

Đánh giá hoạt tính phân giải chitin, lipid và cellulose dựa theo tài liệu mô tả của Bai *et al.* (2012)

Dựa vào các đặc điểm hình thái, sinh lý sinh hoá và khoá phân loại của Bergey (Niall *et al.*, 2009) đối với nấm ký sinh côn trùng; khóa phân loại Bergey (Stanley *et al.*, 1989; Holt *et al.*, 1994, 2000) đối với vi khuẩn

Phương pháp nhuộm màu và quan sát hình thái nấm ký sinh côn trùng dựa theo tài liệu mô tả của Nguyễn Xuân Thành và ctv. (2007), Lê Xuân Phương (2008).

Phương pháp xác định các điều kiện phù hợp cho sinh trưởng, phát triển của các vi sinh vật tuyển chọn, gồm môi trường nuôi cấy, nhiệt độ, pH, nhu cầu oxy được xác định theo phương pháp của Lê Văn Nhung và cộng sự (2009).

Phương pháp tạo chế phẩm theo phương pháp của H.D. Burges, (1998),

Phương pháp đánh giá hoạt lực và tỷ lệ ký sinh, diệt trừ sâu đục thân trên cây xoài của chế phẩm được đánh giá theo phương pháp của Trần Văn Hai và cộng sự (2009) theo tỷ lệ phần trăm số sâu non bị chết trên số sâu non thử nghiệm

Phương pháp xây dựng xây dựng mô hình thử nghiệm theo qui định của Bộ NN & PTNT về khảo nghiệm diện rộng đối với thuốc bảo vệ thực vật

Các số liệu được phân tích thống kê dùng phần mềm IRRISTAT 5.0 và Microsoft Excel.

CHƯƠNG 4. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

4.1. Điều tra và đánh giá mức độ gây hại của sâu đục thân trên cây xoài tại tỉnh Bến Tre

Đề tài đã tiến hành điều tra mật độ sâu đục thân gây hại trên cây xoài tại 2 xã Thạnh Phong và xã Thạnh Hải của huyện Thạnh Phú theo phương pháp điều tra 5 điểm theo 2 đường chéo góc, mỗi 1 điểm điều tra tổng cộng 30 cây. Kết quả điều tra được trình bày ở bảng 1.

Bảng 1. Mật độ sâu, tỷ lệ pha phát đục và tỷ lệ pha phát đục sâu thân xoài bị ký sinh ở các điểm điều tra (Bến Tre, năm 2020)

STT	Chỉ tiêu đánh giá	Xã Thạnh Phong	Xã Thạnh Hải	Trung bình (%)
1	Mật độ sâu đục thân gây hại trên giống cây xoài (con/cây):			
	Xoài Tứ Quý	9,0	7,7	8,3
	Xoài cát Hòa Lộc	14,7	12,0	13,3
2	Tỷ lệ pha phát đục gây hại (%):			
	Sâu non	100,0	100,0	100,0

STT	Chỉ tiêu đánh giá	Xã Thạnh Phong	Xã Thạnh Hải	Trung bình (%)
	Nhộng	0,0	0,0	0,0
	Trưởng thành	0,0	0,0	0,0

Kết quả điều tra cho thấy, mật độ sâu đục thân trên giống xoài cát Hòa Lộc (trung bình 13,3 con/cây) cao hơn so với giống xoài Tứ Quý (trung bình 8,3 con/cây).

Trong đó, pha sâu non được ghi nhận gây hại chủ yếu ở trên cây xoài trên đồng ruộng ở các giai đoạn sinh trưởng khác nhau. Tỷ lệ pha phát đục gây hại đều là sâu non (trung bình 100%) ở 2 xã điều tra, chưa phát hiện thấy pha nhộng hay pha trưởng thành gây hại trực tiếp trên thân cây xoài.

4.2. Phân lập, xác định danh tính và đặc điểm sinh học các chủng nấm *Metarhizium* spp., *Beauveria* spp. và chủng *Ballicilus* spp. ký sinh sâu đục thân trên cây xoài

4.2.1. Phân lập và tuyển chọn các chủng vi sinh vật ký sinh trên sâu đục thân hại xoài

Khuẩn lạc của chủng nấm trắng *Beauveria* spp. AS1: có dạng bông xốp, màu trắng sau 7 ngày nuôi cấy, xốp mịn, khuẩn lạc kết chặt phát triển theo vòng đồng tâm đôi khi có tiết dịch trên bề mặt khuẩn lạc. Cuống bào tử đính phồng lên ở phía dưới có dạng hình bình với chiều dài không đều nhau, dạng đơn hoặc phân nhánh. Bào tử có dạng đơn bào trong suốt, không có vách ngăn, dạng bào tử đính có hình trứng với kích thước từ 1,4 - 3,5 μm , bào tử mọc trên cuống sinh bào tử hướng gốc. Đặc điểm khuẩn lạc được mô tả ở trên phù hợp với mô tả của Phạm Thị Thùy (2004) và Võ Thị Thu Oanh (2010) về nấm *Beauveria* spp.

Khuẩn lạc của chủng nấm trắng *Metarhizium* spp. AS2: Sợi nấm phát triển trên bề mặt môi trường có màu từ màu trắng đến màu xanh, cuống sinh bào tử ngắn mọc tỏa tròn trên đám sợi nấm dày đặc. Bào tử trần hình trụ có kích thước 3,5 x 5,0 μm , màu từ lục xám đến oliu - lục, bào tử xếp thành chuỗi khá chặt chẽ và nhìn bằng mắt thường người ta có thể thấy bào tử được tạo ra trên bề mặt cơ thể côn trùng một lớp phân khá rõ màu xanh lục. Sợi nấm khi phát triển bên trong côn trùng có chiều rộng khoảng 3 - 4 μm , dài khoảng 20 μm , chia thành nhiều tế bào ngắn, trong tế bào có thể thấy rõ nhiều giọt mỡ. Nấm *Metarhizium* spp. AS2 phát triển tốt trong điều kiện nhiệt độ 25°C sau 7 - 10 ngày nuôi cấy thì khuẩn lạc có đường kính 4 - 6 cm

Chủng Ba3 *Bacillus* spp. Ba3: trực khuẩn hình que, Gram dương, đồng hóa nitrate và oxidase dương tính, sinh nội bào tử, di động. Bào tử chủng Ba3 hình trụ có kích thước 0,9x1,8 μm , tinh thể độc hình thoi

Bằng kỹ thuật sinh học phân tử đã xác định trình tự gen rARN vùng ITS4/ITS5 và 28S của chủng AS2 tương đồng 99% với *Metarhizium anisopliae*, chủng AS1 tương đồng 94 % với *Beauveria bassiana*, trình tự gen rARN 16S của chủng Ba3 tương đồng 99,9% với *Bacillus thuringiensis*. Cả 3 chủng vi sinh vật tuyển chọn đều thuộc nhóm vi sinh vật an toàn sinh học cấp độ 1.

Bảng 2. Tổng hợp định danh tên loài và mức độ an toàn sinh học của các mẫu nấm tuyển chọn

Mẫu vi sinh vật	Tên loài	Mức độ an toàn sinh học	Hoạt tính sinh học
AS2	Họ: Clavicipitaceae Chi: <i>Metarhizium</i> Loài: <i>Metarhizium anisopliae</i>	1	* Hiệu lực trừ sâu đục thân: >80% * Hoạt tính phân giải lipid: 2,23cm * Hoạt tính phân giải chitin: 2,85cm * Hoạt tính phân giải cellulose: 2,76cm
AS1	Họ: Cordycipitaceae Chi: <i>Beauveria</i> Loài: <i>Beauveria bassiana</i>	1	* Hiệu lực trừ sâu đục thân: >80% * Hoạt tính phân giải lipid: 2,0cm * Hoạt tính phân giải chitin: 2,67cm * Hoạt tính phân giải cellulose: 2,52cm
Ba3	Họ: Bacillaceae Chi: <i>Bacillus</i> Loài: <i>Bacillus thuringiensis</i>	1	Hiệu lực trừ sâu đục thân: >80% * Hoạt tính phân giải lipid: 2,47cm * Hoạt tính phân giải chitin: 2,81 cm * Hoạt tính phân giải cellulose: 2,45cm

Cả 3 mẫu vi sinh vật tuyển chọn có mức độ an toàn cấp 1, so sánh với danh mục vi sinh vật theo các cấp độ an toàn theo tài liệu của Chosewood & Wilson (2009), Reimer *et al.* (2019) để xác định mức độ an toàn sinh học của các chủng nấm ký sinh côn trùng và vi khuẩn Bt đã tuyển chọn. Điều đó cho thấy chủng nấm xanh *M. anisopliae* AS2 và chủng nấm trắng *B. bassiana* AS1 và *B. thuringiensis* Ba3 có mức độ an toàn sinh học cấp 1, đáp ứng được yêu cầu để sử dụng sản xuất chế phẩm sinh học.

4.2.2. Quan hệ tương tác giữa các chủng *Metarhizium anisopliae* AS2, *Beauveria bassiana* AS1 và chủng *Bacillus thuringiensis* Ba3 đã tuyển chọn

Các chủng vi khuẩn và chủng nấm đối kháng cần nghiên cứu được cấy trên môi trường hỗn hợp PDAKB theo phương pháp cấy vạch đồng thời cho các chủng trên đĩa petri, kết quả được thể hiện sau các khoảng thời gian theo dõi như sau:

Bảng 3. Khả năng tương tác của các chủng vi sinh vật hữu ích tuyển chọn

Chủng nền	Chủng cấy điểm
-----------	----------------

	<i>Beauveria bassiana</i> AS1	<i>Metarhizium anisopliae</i> AS2	<i>Bacillus thuringiensis</i> Ba3
<i>Beauveria bassiana</i> AS1	-	-	-
<i>Metarhizium anisopliae</i> AS2	-	-	-
<i>Bacillus thuringiensis</i> Ba3	-	-	-

Chú thích: - : không ức chế

+ : vòng đối kháng : <5mm

++: vòng đối kháng : >5mm

Tổ hợp các chủng vi sinh vật được cấy vạch đồng thời trên đĩa petri, quan sát thí nghiệm nhận thấy các chủng vi sinh vật không gây ức chế lẫn nhau. Các chủng vi sinh vật ký sinh và diệt sâu đục thân được tổ hợp để nghiên cứu tạo chế phẩm sinh học có nguồn gốc vi sinh vật đa chủng đa chức năng có hiệu quả cao trong phòng trừ sâu hại ứng dụng trong nền sản xuất nông nghiệp hữu cơ.

Từ các kết quả nghiên cứu, đề tài đã nghiên cứu được các điều kiện nhân sinh khối các chủng vi sinh vật ký sinh

4.3. Nghiên cứu kỹ thuật và quy trình sản xuất chế phẩm sinh học quy mô thử nghiệm (pilot) phòng trừ sâu đục thân xoài

4.3.1. Các thông số kỹ thuật cho nhân sinh khối các chủng vi sinh vật để sản xuất chế phẩm vi sinh vật

Trên cơ sở các nghiên cứu trong phòng thí nghiệm về điều kiện nhân sinh khối các vi sinh vật bằng kỹ thuật lên men chìm đề tài xác định môi trường phù hợp cho nhân sinh khối chủng vi khuẩn *Bacillus thuringiensis* Ba3 là môi trường T3, đối với nấm *Beauveria bassiana* AS1 (*B. bassiana* AS1), *Metarhizium anisopliae* AS2 (*M. anisopliae* AS2) là nước chiết khoai tây Dextrose - PDB. Cả 3 chủng vi sinh vật tuyển chọn đều thuộc nhóm vi sinh vật ưa ấm và hiếu khí. Tổng hợp các thông số kỹ thuật lên men chìm các vi sinh vật tuyển chọn được trình bày trong bảng 4.

Bằng các thực nghiệm trong phòng thí nghiệm đề tài cũng xác định được giá thể lên men xốp phù hợp cho các chủng vi sinh vật tuyển chọn là tinh bột biến tính đối với vi khuẩn *Bacillus thuringiensis* Ba3, gạo lứt đồ đối với đối với nấm *Beauveria bassiana* AS1 (*B. bassiana* AS1), *Metarhizium anisopliae* AS2 (*M. anisopliae* AS2). Cơ chất lên men xốp được khử trùng bằng phương pháp khử trùng ngưng đoạn. Thông số kỹ thuật lên men xốp các vi sinh vật tuyển chọn được trình bày trong bảng 5.

Bảng 4. Thông số kỹ thuật lên men chìm các chủng vi sinh vật tuyển chọn sử dụng cho sản xuất chế phẩm sinh học phòng trừ sâu đục thân

pH	Nhiệt độ (°C)	Môi trường	Lưu lượng cấp không khí (lít KK/lít MT/phút)	Tỷ lệ giống cấp I (%)	Thời gian nhân sinh khối (giờ)
----	---------------	------------	--	-----------------------	--------------------------------

<i>Bacillus thuringiensis</i> Ba3					
7,0	30,0 ± 2	T3	0,7	10	48
<i>Beauveria bassiana</i> AS1					
6,5	28,0 ± 2	PDA	0,7	10	72
<i>Metarhizium anisopliae</i> AS2					
7,0	28,0 ± 2	PDA	0,7	10	72

Sinh khối các vi sinh vật tuyển chọn sau lên men chìm đạt 10^9 CFU/ml được tiếp tục lên men xộp trong thời gian 5-10 ngày tạo sinh khối các vi sinh vật riêng lẻ sau đó phối trộn tạo chế phẩm sinh học tổng hợp.

Bảng 5. Thông số kỹ thuật lên men xộp các chủng vi sinh vật tuyển chọn sử dụng cho sản xuất chế phẩm sinh học phòng trừ sâu đục thân

pH	Nhiệt độ (°C)	Môi trường	Chế độ khuấy đảo	Tỷ lệ tiếp giống (%)	Thời gian nhân sinh khối (ngày)
<i>Bacillus thuringiensis</i> Ba3					
7,0	30,0	Tinh bột biến tính	12giờ/ lần	10	07
<i>Beauveria bassiana</i> AS1					
6,5	28,0	Gạo lứt đồ	12giờ/ lần	10	10
<i>Metarhizium anisopliae</i> AS2					
7,0	28,0	Gạo lứt đồ	12giờ/ lần	10	10

4.3.2. Nghiên cứu thành phần chất mang phục vụ sản xuất chế phẩm sinh học phòng trừ sâu đục thân

a. Nghiên cứu thành phần chất mang dạng bột phục vụ sản xuất chế phẩm sinh học

Trong nghiên cứu sản xuất chế phẩm vi sinh vật, việc nghiên cứu lựa chọn chất mang là hết sức quan trọng bởi chất mang tốt sẽ giúp vi sinh vật phát triển tốt, không làm suy giảm hoạt tính sinh học và kéo dài được thời gian bảo quản. Chất mang được lựa chọn phải đảm bảo đủ dinh dưỡng để vi sinh vật có thể tồn tại và duy trì mật độ tế bào theo thời gian bảo quản, đồng thời chi sản xuất thấp. Khả năng tồn tại của các chủng vi sinh vật trong chất mang sau quá trình bảo quản là chỉ tiêu đánh giá chất mang đó có phù hợp cho sản xuất chế phẩm vi sinh vật hay không. Dựa trên phân tích thành phần các chất mang, đề tài nghiên cứu định lượng các thành phần chất mang dùng để tạo chế phẩm vi sinh vật. Các công thức chất mang bao gồm:

- CT1: 60% bột talc + 10% sinh khối VSV +30 % phụ gia, chất bám dính (KCl, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, KH_2PO_4 , FeSO_4 , Tween 20, sodium carboxymethyl cellulose-CMC..)
- CT2: 65% bột talc + 10% sinh khối VSV + 25 % phụ gia, chất bám dính (KCl, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, KH_2PO_4 , FeSO_4 , Tween 20, sodium carboxymethyl cellulose - CMC...)
- CT3: 70% bột talc +10% sinh khối VSV +20 % phụ gia, chất bám dính (KCl, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, KH_2PO_4 , FeSO_4 , Tween 20, sodium carboxymethyl cellulose – CMC...)
- CT4: 75% bột talc + 10% sinh khối VSV + 15 % phụ gia, chất bám dính (KCl, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, KH_2PO_4 , FeSO_4 , Tween 20, sodium carboxymethyl cellulose – CMC...)

Với tỷ lệ tiếp giống ban đầu là 10% hỗn hợp giống vi sinh vật (nấm AS1, AS2 và vi khuẩn Ba3) vào các công thức chất mang chế phẩm dạng bột tương ứng. Mật độ vi sinh vật có trong chế phẩm được kiểm tra ngay sau khi phối trộn, sau 1 tháng, 3 tháng bảo quản chế phẩm nhằm tìm ra công thức chất mang dạng bột tối ưu nhất cho sản xuất chế phẩm.

Kết quả nghiên cứu cho thấy, hỗn hợp dịch các chủng vi sinh vật có ích khi được phối trộn vào các chất mang đều tạo dạng bột có màu đặc trưng cho từng chất mang, mùi hắc nhẹ, không vón cục. Tuy nhiên, chất lượng của chế phẩm vi sinh còn phụ thuộc vào mật độ vi sinh vật có ích có tồn tại hay không và có duy trì được hoạt tính sinh học.

Thành phần chất mang được thay đổi ở các công thức tương ứng. Các công thức chất mang chế phẩm được phối trộn theo đúng tỷ lệ và chất lượng thu được phải đảm bảo có độ tơi xốp, màu sắc đặc trưng, không vón cục, không có mùi lạ hoặc nhiễm nấm mốc.

Mật độ bào tử vi sinh vật tại các công thức chất mang được tiến hành ngay tại thời điểm sản xuất chế phẩm dạng lỏng thành công. Mật độ ban đầu của chế phẩm được thể hiện qua bảng 6.

Bảng 6. Mật độ vi sinh vật trên các công thức chất mang dạng bột khác nhau dùng để tạo chế phẩm vi sinh vật

STT	Công thức thí nghiệm	Mật độ vi sinh vật (CFU/ml)		
		<i>Beauveria bassiana</i> AS1	<i>Metarhizium anisopliae</i> AS2	<i>Bacillus thuringiensis</i> Ba3
1	CT1	$3,9 \times 10^8$	$4,3 \times 10^8$	$5,4 \times 10^8$
2	CT2	$5,2 \times 10^8$	$6,1 \times 10^8$	$6,4 \times 10^8$
3	CT3	$7,0 \times 10^8$	$7,3 \times 10^8$	$7,6 \times 10^8$
4	CT4	$3,6 \times 10^8$	$4,1 \times 10^8$	$5,2 \times 10^8$

Kết quả thu được cho thấy, về cảm quan chất lượng chế phẩm đảm bảo độ chuẩn về màu sắc, chế phẩm tơi xốp không vón cục và nhanh tan khi hòa tưới. Về mật độ các

chủng vi sinh vật đều đạt ở mức 10^8 cfu/ml. Công thức 3 có công thức 70% bột talc cùng 20% khoáng chất và axitxamin, bổ sung 10% giống có tỷ lệ mật độ các chủng vi sinh vật đối kháng cao nhất, đạt $7,0-7,6 \times 10^8$ cfu/g. Tiếp đến là công thức 2 với 65% bột talc và 25% chất phụ gia cũng cho mật độ bào tử khá cao. Mật độ bào tử thu được ở các công thức thí nghiệm còn lại gần như có sự sai khác nhau không đáng kể, điều đó nhận thấy tinh bột talc có độ mịn, tơi xốp và bám dính tốt nên rất phù hợp cho sản xuất chế phẩm sinh học phòng trừ bệnh dạng bột

Chế phẩm thu được tại các công thức thí nghiệm được đựng trong túi thiếc hàn kín với trọng lượng 500g/túi và được bảo quản ở điều kiện nhiệt độ phòng, tránh ánh nắng trực tiếp. Tiếp tục đánh giá mật độ vi sinh vật có trong chế phẩm sau 1 tháng và 3 tháng bảo quản

Bảng 7. Mật độ vi sinh vật trên các công thức chất mang dạng bột khác nhau dùng để tạo chế phẩm vi sinh vật sau 1 đến 3 tháng bảo quản

STT	Công thức thí nghiệm	Mật độ vi sinh vật (CFU/g) sau 1 tháng bảo quản			Mật độ vi sinh vật (CFU/g) sau 3 tháng bảo quản		
		<i>Beauveria bassiana</i>	<i>Metarhizium anisopliae</i>	<i>Bacillus thuringiensis</i>	<i>Beauveria bassiana</i>	<i>Metarhizium anisopliae</i>	<i>Bacillus thuringiensis</i>
		AS1	AS2	Ba3	AS1	AS2	Ba3
1	CT1	$2,8 \times 10^8$	$3,2 \times 10^8$	$4,3 \times 10^8$	$2,0 \times 10^8$	$2,5 \times 10^8$	$2,6 \times 10^8$
2	CT2	$4,1 \times 10^8$	$4,9 \times 10^8$	$5,0 \times 10^8$	$2,8 \times 10^8$	$2,9 \times 10^8$	$3,8 \times 10^8$
3	CT3	$6,2 \times 10^8$	$6,5 \times 10^8$	$6,7 \times 10^8$	$5,0 \times 10^8$	$5,2 \times 10^8$	$5,4 \times 10^8$
4	CT4	$2,5 \times 10^8$	$3,0 \times 10^8$	$3,9 \times 10^8$	$1,8 \times 10^8$	$2,1 \times 10^8$	$2,3 \times 10^8$

Tỷ lệ bổ sung giống hỗn hợp chủng vi sinh vật đối kháng ở các công thức chất mang chế phẩm là như nhau, trong thí nghiệm này các chất mang ở các công thức là khác nhau để nhằm tìm ra tỷ lệ phối trộn chất mang có mật độ vi sinh vật tồn tại cao nhất và đặc biệt là mật độ đó có sự suy giảm ít nhất sau các khoảng thời gian bảo quản và sử dụng.

Kết quả thu được cho thấy, sau 1 tháng theo dõi, mật độ vi sinh vật ở các công thức thí nghiệm có tỷ lệ các chất mang khác nhau có sự thay đổi rõ rệt. Ở công thức 3 có mật độ vi sinh vật vẫn đạt cao nhất và sự suy giảm mật độ vi sinh vật so với thời điểm ban đầu là thấp nhất. Sau 3 tháng theo dõi, bột chế phẩm ở công thức 3 không bị tạt nhiễm, vẫn giữ màu sắc đặc trưng của bột talc (màu xám trắng), chế phẩm không bị vón cục, tơi xốp, không bị nhiễm vi sinh vật ngoại lai, vẫn đảm bảo độ tan hoàn toàn khi hòa tan trong nước

Do đó, công thức 3 gồm: 70% bột talc +10% sinh khối VSV +20 % phụ gia, chất bám dính (KCl, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, KH_2PO_4 , $FeSO_4$, Tween 20, sodium carboxymethyl cellulose – CMC...) được lựa chọn để làm chất mang sản xuất chế phẩm sinh học dạng

bột phòng trừ sâu đục thân trên cây xoài

b. Nghiên cứu thành phần chất mang dạng lỏng phục vụ sản xuất chế phẩm sinh học

Các công thức thí nghiệm, gồm:

- CT1: 10% sinh khối VSV + 20% mật rỉ đường + 10% phụ gia, chất bám dính (KCl, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, KH_2PO_4 , FeSO_4 , Tween 20, sodium carboxymethyl cellulose - CMC...) + 20% dầu thực vật chiết xuất từ đậu tương + 40% nước cất vô trùng.

- CT2: 10% sinh khối VSV + 15% mật rỉ đường + 5% phụ gia, chất bám dính (KCl, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, KH_2PO_4 , FeSO_4 , Tween 20, sodium carboxymethyl cellulose - CMC...) + 20% dầu thực vật chiết xuất từ đậu tương + 50% nước cất vô trùng.

- CT3: 10% sinh khối VSV + 15% mật rỉ đường + 15% dầu thực vật chiết xuất từ đậu tương + 60% nước cất vô trùng

- CT4: 10% sinh khối VSV + 20% dầu thực vật chiết xuất từ đậu tương + 70% nước cất vô trùng

Kết quả nghiên cứu cho thấy, hỗn hợp dịch các chủng vi sinh vật có ích khi được phối trộn vào các chất mang đều tạo dạng lỏng có màu nâu đậm, mùi hắc nhẹ, không kết tủa hay phân tầng. Tuy nhiên, chất lượng của chế phẩm vi sinh còn phụ thuộc vào mật độ vi sinh vật có ích có tồn tại hay không và có duy trì được hoạt tính sinh học.

Thành phần chất mang được thay đổi ở các công thức tương ứng. Công thức 1 và công thức 2, ngoài thành phần giống vi sinh vật, nước cất vô trùng còn bổ sung đầy đủ chất phụ gia bao gồm dầu thực vật, axit amin và rỉ đường theo các tỷ lệ khác nhau. Công thức 3 và công thức 4 thành phần các chất phụ gia có lược bỏ axitamin hoặc rỉ đường theo các tỷ lệ tương ứng.

Các công thức chất mang chế phẩm được phối trộn theo đúng tỷ lệ và chất lượng thu được phải đảm bảo có màu nâu đậm, mùi hắc nhẹ, không kết tủa hay phân tầng.

Mật độ bào tử vi sinh vật tại các công thức chất mang được tiến hành ngay tại thời điểm sản xuất chế phẩm dạng lỏng thành công. Mật độ ban đầu của chế phẩm được thể hiện qua bảng 8

Bảng 8. Mật độ vi sinh vật trên các loại chất mang dạng lỏng khác nhau dùng để tạo chế phẩm vi sinh vật

STT	Công thức thí nghiệm	Mật độ vi sinh vật (CFU/ml)		
		<i>Beauveria bassiana</i> AS1	<i>Metarhizium anisopliae</i> AS2	<i>Bacillus thuringiensis</i> Ba3
1	CT1	$6,5 \times 10^8$	$7,0 \times 10^8$	$7,4 \times 10^8$
2	CT2	$5,0 \times 10^8$	$5,6 \times 10^8$	$6,1 \times 10^8$
3	CT3	$4,1 \times 10^8$	$4,5 \times 10^8$	$4,9 \times 10^8$
4	CT4	$3,6 \times 10^8$	$4,2 \times 10^8$	$3,8 \times 10^8$

Kết quả thu được cho thấy, về cảm quan chất lượng chế phẩm đảm bảo độ chuẩn về màu sắc, chế phẩm không bị phân tầng hay tạp nhiễm vi sinh vật gây hại. Về mật

độ các chủng vi sinh vật đều đạt ở mức 10^8 cfu/ml. Công thức 1 có tỷ lệ mật độ các chủng vi sinh vật đối kháng cao nhất, đạt $6,5-7,4 \times 10^8$ cfu/ml.

Chế phẩm thu được tại các công thức thí nghiệm được đựng trong chai nhựa, dung tích 500ml/chai có nắp đậy và được bảo quản ở điều kiện nhiệt độ phòng, tránh ánh nắng trực tiếp. Tiếp tục đánh giá mật độ vi sinh vật có trong chế phẩm sau 1 tháng và 3 tháng bảo quản

Bảng 9. Mật độ vi sinh vật trên các công thức chất mang dạng lỏng khác nhau dùng để tạo chế phẩm vi sinh vật sau 1 đến 3 tháng bảo quản

STT	Công thức thí nghiệm	Mật độ vi sinh vật (CFU/g) sau 1 tháng bảo quản			Mật độ vi sinh vật (CFU/g) sau 3 tháng bảo quản		
		<i>Beauveria bassiana</i> AS1	<i>Metarhizium anisopliae</i> AS2	<i>Bacillus thuringiensis</i> Ba3	<i>Beauveria bassiana</i> AS1	<i>Metarhizium anisopliae</i> AS2	<i>Bacillus thuringiensis</i> Ba3
1	CT1	$5,9 \times 10^8$	$6,1 \times 10^8$	$6,2 \times 10^8$	$4,7 \times 10^8$	$5,0 \times 10^8$	$5,2 \times 10^8$
2	CT2	$3,9 \times 10^8$	$4,2 \times 10^8$	$4,3 \times 10^8$	$2,5 \times 10^8$	$2,9 \times 10^8$	$3,1 \times 10^8$
3	CT3	$2,4 \times 10^8$	$2,6 \times 10^8$	$2,7 \times 10^8$	$1,6 \times 10^8$	$2,0 \times 10^8$	$1,9 \times 10^8$
4	CT4	$2,1 \times 10^8$	$2,3 \times 10^8$	$2,5 \times 10^8$	$1,3 \times 10^8$	$1,8 \times 10^8$	$2,0 \times 10^8$

4.6. Xây dựng quy trình công nghệ sản xuất chế phẩm sinh học

Sau 3 tháng bảo quản, mật độ vi sinh vật đối kháng thu được ở tất cả các công thức vẫn đạt 10^8 cfu/ml, tuy nhiên ở công thức 3 và công thức 4 không bổ sung chất phụ gia như chất khoáng hoặc rỉ đường nên mật độ vi sinh vật đối kháng thu được giảm hơn hẳn so với công thức 1.

Sau 3 tháng theo dõi, dịch chế phẩm ở công thức 1 không bị tạp nhiễm, dung dịch vẫn như ban đầu theo dõi, màu nâu đậm, mùi hắc nhẹ, không kết tủa hay phân tầng và không bị thối hỏng hay bị nấm mốc gây hại.

Do đó, công thức 1 gồm: 10% sinh khối VSV + 20% mật rỉ đường + 10% phụ gia, chất bám dính (KCl, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, KH_2PO_4 , $FeSO_4$, Tween 20, sodium carboxymethyl cellulose - CMC...) + 20% dầu thực vật chiết xuất từ đậu tương + 40% nước cất vô trùng được lựa chọn để làm chất mang sản xuất chế phẩm sinh học dạng lỏng phòng trừ sâu đục thân cây xoài.

Đáp ứng yêu cầu về qui mô sản xuất chế phẩm sinh học (50kg/mẻ), yêu cầu số lượng các sản phẩm trung gian cho từng công đoạn sản xuất được tổng hợp trong bảng 10.

Bảng 10. Yêu cầu số lượng các sản phẩm trung gian trong sản xuất chế phẩm sinh học phòng trừ sâu đục thân (qui mô 50kg/mẻ)

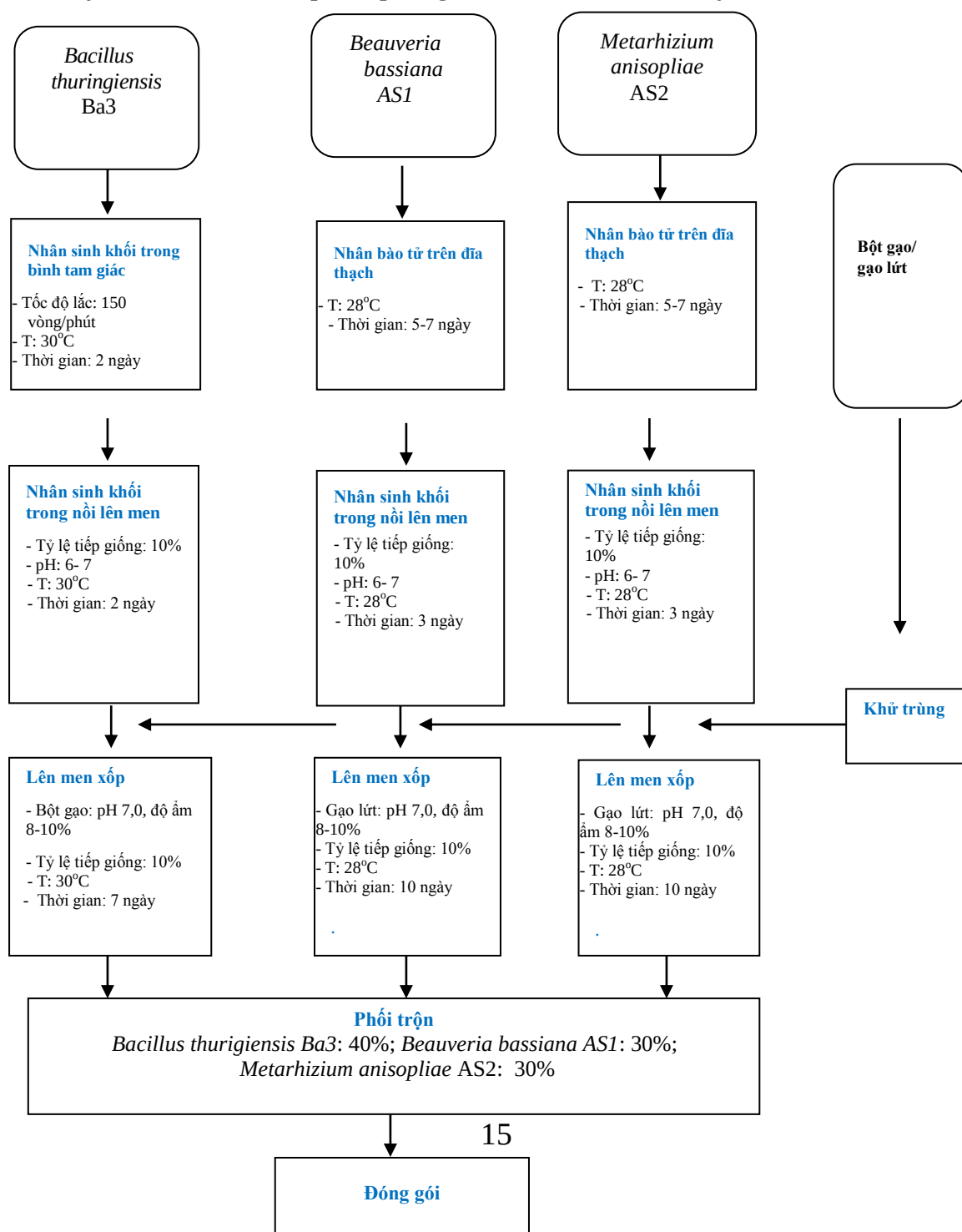
Sản phẩm	Đơn vị tính	<i>Bacillus thuringiensis</i>	<i>Beauveria bassiana</i>	<i>Metarhizium anisopliae</i>
----------	-------------	-------------------------------	---------------------------	-------------------------------

		Ba3	AS1	AS2
Giống gốc	hộp petri	-	10	10
Giống gốc (150ml/bình tam giác)	Bình	5	-	-
Sinh khối cấp 1	Lít	1,0	1,0	1,0
Sinh khối cấp 2	Lít	6	4,5	4,5
Sinh khối lên men xốp (độ ẩm 45%)	kg	60	45	45
Sinh khối sau xử lý (độ ẩm 15%)	kg	20	15	15

Kết quả kiểm tra chất lượng chế phẩm được xác định sau 12 tháng bảo quản trong túi thiếc, chế phẩm có mật độ vi sinh vật tuyển chọn đạt $\geq 1,0 \times 10^8$ CFU/g

Từ các kết quả thu được, chúng tôi xây dựng được quy trình sản xuất chế phẩm sinh học phòng trừ sâu đục thân trên cây xoài như sau:

Quy trình sản xuất chế phẩm phòng trừ sâu đục thân trên cây xoài



Giải thích quy trình:

1. Chuẩn bị giống sản xuất

Giống sử dụng cho sản xuất chế phẩm được cấy truyền từ giống gốc được phân lập và tuyển chọn từ những mẫu sâu đục thân thu tại Bến Tre. Giống gốc được hoạt hóa và cấy truyền vào ống thạch nghiêng chứa môi trường nước chiết khoai tây Dextrose (PDA) đối với nấm *Beauveria bassiana* AS1, *Metarhizium anisopliae* AS2, môi trường T3 đối với *Bacillus thuringiensis* Ba3. Nuôi trong tủ ẩm ở nhiệt độ $28^{\circ}\text{C} \pm 2$ đối với nấm AS1; nấm AS2 và $30^{\circ}\text{C} \pm 2$ đối với vi khuẩn Ba3 đến khi sinh khối vi sinh vật mọc kín bề mặt ống thạch nghiêng, sau đó bảo quản ở 4°C .

2. Chuẩn bị sinh khối cấp 1

a) Nấm *Beauveria bassiana* AS1, *Metarhizium anisopliae* AS2

Chuẩn bị thạch đĩa khử trùng chứa môi trường PDA, cấy truyền giống sản xuất đã chuẩn bị ở trên trong điều kiện vô trùng và nuôi trong tủ định ôn ở nhiệt độ 28°C đến khi sinh khối vi sinh vật mọc kín bề mặt đĩa thạch (khoảng 3-5 ngày).

b) Vi khuẩn *Bacillus thuringiensis* Ba3

Chuẩn bị môi trường T3 đối với vi khuẩn *Bacillus* trong bình tam giác, khử trùng hơi nước bão hoà trong thời gian 20 phút ở nhiệt độ 121°C . Cấy truyền toàn bộ sinh khối vi khuẩn từ ống giống sản xuất vào bình tam giác chứa môi trường dạng lỏng đã chuẩn bị ở trên (1 ống giống/bình tam giác chứa 150 ml môi trường) trong điều kiện vô trùng. Chuyển các bình tam giác đã cấy vi sinh vật lên giàn máy lắc. Nhân sinh khối ở tốc độ lắc 150 vòng/phút, nhiệt độ $30^{\circ}\text{C} \pm 2$ đối với vi khuẩn trong thời gian 48 giờ.

3. Chuẩn bị sinh khối cấp 2

Môi trường nhân sinh khối (T3 vi khuẩn *Bacillus thuringiensis* Ba3, nước chiết khoai tây PDA đối với nấm *Beauveria bassiana* AS1, *Metarhizium anisopliae* AS2 dạng lỏng được chuẩn bị trong nồi lên men (dung tích 5 lít/nồi). Sau khi khử trùng, để nguội và cấy truyền 10% sinh khối giống cấp 1 so với thể tích môi trường đối với vi khuẩn hoặc chuyển toàn bộ sinh khối nấm AS1 và AS2 từ đĩa petri vào nồi lên men

với liều lượng 10 đĩa petri/200 ml môi trường vào nồi lên men trong điều kiện vô trùng. Nhân sinh khối riêng rẽ các vi sinh vật trong nồi lên men với các thông số kỹ thuật: pH 6- 7, $30^{\circ}\text{C} \pm 2$ đối với vi khuẩn Ba3, $28^{\circ}\text{C} \pm 2$ đối với nấm kí sinh AS1, AS2. Cài đặt các thông số kỹ thuật. Thiết bị lên men sục khí có kiểm soát lượng không khí sục vào dao động trong khoảng từ 0,7 lít không khí/lít môi trường, thời gian lên men 72 giờ. Sản phẩm nhân sinh khối lỏng được ly tâm ở loại bỏ bớt phần nước, 1500 vòng/phút trong thời gian 10 phút. Loại bỏ phần dịch nổi, thu lấy phần lắng cặn có chứa bào tử và sợi nấm.

4. Nhân sinh khối bằng kỹ thuật lên men xốp

a) Chuẩn bị cơ chất (giá thể)

Cơ chất lên men xốp là tinh bột gạo, pH 7,0 độ ẩm 45% đối với vi khuẩn Ba3, gạo lứt đồ đối với AS1 và AS2. Cơ chất lên men xốp được khử trùng bằng phương pháp khử trùng ngưng đoạn.

b) Tiếp giống vi sinh vật và lên men xốp

Cơ chất lên men xốp sau khử trùng được để nguội đến nhiệt độ môi trường và được tiếp giống vi sinh vật là sinh khối cấp 2 đã chuẩn bị ở trên với tỷ lệ 10:1 (w/w), sau đó chuyển sang các khay lên men với chiều cao cơ chất không quá 10 cm trong điều kiện vô trùng. Lên men xốp sinh khối các vi sinh vật trong điều kiện vô trùng với các thông số kỹ thuật: khuấy đảo 12h/ lần, 7 ngày lên men ở nhiệt độ $30^{\circ}\text{C} \pm 2$ đối với vi khuẩn và 10 ngày lên men ở nhiệt độ $28^{\circ}\text{C} \pm 2$ đối với nấm AS1 và AS2

5. Thu hồi sinh khối tạo chế phẩm

a) Xử lý độ ẩm

Sinh khối các vi sinh vật được sấy khô ở nhiệt độ 40°C đạt độ ẩm $\leq 15\%$.

b) Phối trộn

+ Trộn đều sinh khối thành phẩm chứa 3 chủng vi sinh vật đã sấy khô với tỷ lệ *Bacillus thuringiensis* Ba3: *Beauveria bassiana* AS1: *Metarhizium anisopliae* AS2 là 40% : 30% : 30% (w/w) trên thiết bị trộn

c) Bao gói và bảo quản

Đóng hỗn hợp dạng bột các túi PE bạc, khối lượng 500g/túi, hút chân không và bảo quản trong kho mát.

Đóng hỗn hợp dạng lỏng vào các chai nhựa, dung tích 500ml/chai, gắn màng seal và bảo quản trong kho mát

4.3.3. Xác định liều lượng phòng trừ sâu đục thân trên cây xoài của chế phẩm sinh học Bio-XBT trong điều kiện phòng thí nghiệm

4.3.3.1. Đánh giá hiệu lực diệt trừ sâu của chế phẩm sinh học Bio-XBT trên sâu non đục thân xoài trong điều kiện phòng thí nghiệm

Sâu đục thân (ấu trùng xén tóc) được cho vào hộp nhựa kích thước 10x20 cm với nhiều lỗ nhỏ trên nắp để tạo sự thông thoáng bên trong hộp có bổ sung mùn gỗ, vỏ, thân xoài cùng thức ăn phía đáy hộp. Pha chế phẩm theo nồng độ các công thức tương ứng, phun ướt đều bằng bình xịt tay và đậy nắp hộp nhựa lại. Thí nghiệm được bố trí theo thể thức hoàn toàn ngẫu nhiên với 10 con sâu/ 1 công thức và 3 lần lặp lại. Công thức thí nghiệm bao gồm:

- CT1 (đối chứng): Không xử lý chế phẩm.
- CT2: pha loãng mật độ chế phẩm 5mg/10ml nước
- CT3: pha loãng mật độ chế phẩm 15mg/10ml nước
- CT4: pha loãng mật độ chế phẩm 25mg/10ml nước
- CT5: pha loãng mật độ chế phẩm 35mg/10ml nước

Tiến hành quan sát và ghi nhận số lượng cá thể sâu bị diệt và ký sinh gây chết ở thời điểm 3, 5, 7, 10 ngày sau khi phun. Điều kiện ngoại cảnh lúc tiến hành thí nghiệm có nhiệt độ là 28 ± 1 °C và độ ẩm 68–80%.

Bảng 11 . Hoạt lực diệt sâu non đục thân xoài của chế phẩm sinh học trong điều kiện phòng thí nghiệm

Công thức	Số sâu ban đầu (con)	Hiệu lực phòng trừ ở các thời điểm theo dõi (Hiệu lực %)							
		Sau 3 ngày		Sau 5 ngày		Sau 7 ngày		Sau 10 ngày	
		Mật độ sâu hại	Hiệu lực phòng trừ	Mật độ sâu hại	Hiệu lực phòng trừ	Mật độ sâu hại	Hiệu lực phòng trừ	Mật độ sâu hại	Hiệu lực phòng trừ
CT1	30	30	-	30	-	30	-	30	-
CT2	30	14,3	52,32	11,86	60,46	9,45	68,51	8,50	71,68
CT3	30	11,83	60,57	9,89	67,04	8,21	72,63	7,09	76,37
CT4	30	8,81	70,61	7,08	76,41	6,26	79,15	4,98	83,39
CT5	30	8,62	71,25	6,81	77,31	6,19	79,36	4,93	83,57
CV (%)		8,6	-	5,7	-	7,9	-	5,2	-
LSD 0.05		3,22	-	1,41	-	3,14	-	1,19	-

Sau 10 ngày theo dõi thí nghiệm, hiệu lực diệt sâu của chế phẩm sinh học đạt trên 70% và khi bổ sung liều lượng cao thì hiệu quả đạt được tăng hơn rõ rệt, nhưng ở ngưỡng 25mg chế phẩm/10ml nước có sự sai khác không rõ rệt so với liều lượng 35mg chế phẩm/10ml nước. Do vậy để vừa có hiệu lực phòng trừ cao lại tăng hiệu quả kinh tế nên sử dụng chế phẩm ở nồng độ bổ sung 25mg/10ml chế phẩm. Từ hiệu lực phòng trừ tối ưu trong điều kiện phòng thí nghiệm dữ tạo cơ sở để đưa ra nồng độ sử dụng trong điều kiện thực tế

4.3.3.2. Đánh giá hiệu lực diệt trừ sâu của chế phẩm sinh học Bio-XBT trên xén tóc đục thân xoài trong điều kiện phòng thí nghiệm

Xén tóc đục thân xoài được nuôi trong các bình trụ nhựa (thể tích 600ml), thức ăn bổ sung các cành xoài dài 10cm có tằm mật ong. Pha chế phẩm theo nồng độ các công thức tương ứng, phun ướt đều bằng bình xịt tay và đậy nắp hộp nhựa lại. Thí nghiệm được bố trí theo thể thức hoàn toàn ngẫu nhiên với 10 xén tóc/ 1 công thức. Công thức thí nghiệm bao gồm:

- CT1 (đối chứng): Không xử lý chế phẩm.
- CT2: pha loãng mật độ chế phẩm 5mg/10ml nước
- CT3: pha loãng mật độ chế phẩm 15mg/10ml nước
- CT4: pha loãng mật độ chế phẩm 25mg/10ml nước
- CT5: pha loãng mật độ chế phẩm 35mg/10ml nước

Tiến hành quan sát và ghi nhận số lượng cá thể sâu bị diệt và ký sinh gây chết ở thời điểm 3, 5, 7, 10 ngày sau khi phun. Điều kiện ngoại cảnh lúc tiến hành thí nghiệm có nhiệt độ là 28 ± 1 °C và độ ẩm 68–80%.

Bảng 12. Hoạt lực diệt xén tóc đục thân xoài của chế phẩm sinh học trong điều kiện phòng thí nghiệm

Công thức	Số xén tóc ban đầu (con)	Hiệu lực phòng trừ ở các thời điểm theo dõi (Hiệu lực %)							
		Sau 3 ngày		Sau 5 ngày		Sau 7 ngày		Sau 10 ngày	
		Mật độ sâu hại	Hiệu lực phòng trừ	Mật độ sâu hại	Hiệu lực phòng trừ	Mật độ sâu hại	Hiệu lực phòng trừ	Mật độ sâu hại	Hiệu lực phòng trừ
CT1	10	10	-	10	-	10	-	10	-
CT2	10	6,77	32,31	6,25	37,54	5,18	48,21	4,09	59,08
CT3	10	6,49	35,07	5,78	42,16	4,56	54,39	3,47	65,35
CT4	10	6,16	38,45	5,16	48,37	3,98	60,21	2,54	74,62
CT5	10	5,98	40,18	5,26	47,45	3,77	62,27	2,49	75,07
CV (%)		7,9	-	4,2	-	5,7	-	7,6	-
LSD 0.05		2,38	-	2,95	-	1,21	-	1,67	-

Do xén tóc có lớp vỏ kitin cứng bao phủ toàn thân nên sau 3 ngày lây nhiễm chế phẩm tỷ lệ xén tóc trưởng thành bị nhiễm bệnh không đáng kể, trung bình mỗi công thức thí nghiệm chỉ có 1 con có biểu hiện bị nấm ký sinh. Nhưng sau 7 ngày lây nhiễm thì hiệu quả của chế phẩm sinh học đã rõ rệt, sau 10 ngày tỷ lệ xén tóc chết và nhiễm bệnh đã tăng tới >70% ở công thức 4 và công thức 5. Khi sử dụng chế phẩm sinh học có tỷ lệ sâu hại không giảm nhanh như dùng thuốc hóa học nhưng chúng có hiệu quả lâu dài và an toàn với người, vật nuôi và môi trường sống.

4.3.3.3. Nghiên cứu phương pháp lây nhiễm chế phẩm Bio-XBT phòng trừ sâu đục thân xoài lên sâu non trong điều kiện phòng thí nghiệm

Sâu non tuổi 2 được nuôi trong các hộp nhựa hình chữ nhật (thể tích 500ml), thức ăn bổ sung là các mảnh vỏ thân xoài tươi có kích thước 1cmx1cm, mỗi hộp nuôi 10 cá thể sâu.

Phương pháp lây nhiễm chế phẩm lây nhiễm trên sâu gồm các công thức

Công thức 1: Đối chứng (không lây nhiễm chế phẩm)

Công thức 2: Lây nhiễm chế phẩm vào thức ăn

Công thức 3: Lây nhiễm chế phẩm trực tiếp lên sâu

Công thức 4: Lây nhiễm chế phẩm vào thức ăn và lây nhiễm trực tiếp trên sâu

Thí nghiệm bố trí theo kiểu hoàn toàn ngẫu nhiên (CRD), mỗi công thức nhắc lại 3 lần, mỗi lần nhắc 10 sâu non tuổi 1-2 trong 1 bình tam giác, phun chế phẩm sinh học bằng bình phun cầm tay, phun 10 ml/lần nhắc lại.

Bảng 13 . Ảnh hưởng của phương pháp lây nhiễm chế phẩm trên sâu non đục thân xoài của chế phẩm sinh học trong điều kiện phòng thí nghiệm

Công thức	Số sâu ban đầu (con)	Hiệu lực phòng trừ ở các thời điểm theo dõi (Hiệu lực %)							
		Sau 3 ngày		Sau 5 ngày		Sau 7 ngày		Sau 10 ngày	
		Mật độ sâu hại	Hiệu lực phòng trừ	Mật độ sâu hại	Hiệu lực phòng trừ	Mật độ sâu hại	Hiệu lực phòng trừ	Mật độ sâu hại	Hiệu lực phòng trừ
CT1	30	30	-	30	-	30	-	30	-
CT2	30	13,57	54,76	9,22	69,27	8,09	73,03	6,56	78,14
CT3	30	9,26	69,15	7,70	74,32	7,33	75,56	5,51	81,62
CT4	30	8,09	73,05	6,58	78,07	5,99	80,02	4,72	84,27
CV (%)		5,3	-	9,6	-	6,5	-	5,8	-
LSD 0.05		1,9	-	2,57	-	2,95	-	2,74	-

Trước khi cho ăn sâu được bỏ đói 1 ngày, lây nhiễm chế phẩm theo liều lượng 25mg/10ml nước theo các công thức thí nghiệm ở trên. Kết quả cho thấy khi lây nhiễm chế phẩm bằng các tưới trực tiếp trên sâu và trộn vào cùng thức ăn cho hiệu lực diệt trừ sâu cao nhất. Đây cũng là cơ sở tiền đề để áp dụng bổ sung chế phẩm trong điều kiện thực tế. Tại các vườn canh tác xoài, có thể hòa loãng chế phẩm phun đẫm vào các vết đục của sâu trên thân, bên cạnh đó có thể hòa chế phẩm thành dạng bột trét kín miệng vết đục (do thành phần nhân nuôi vi sinh vật đối kháng gồm gạo lứt đỏ và tinh bột nên có thể sử dụng làm thức ăn) dẫn dụ sâu đục thân làm chúng bị diệt do vi khuẩn Bt và nhiễm nấm ký sinh có trong chế phẩm sinh học

4.3.4. Xây dựng quy trình sử dụng chế phẩm Bio-XBT phòng trừ sâu đục thân trên cây xoài

4.3.4.1. Đánh giá hiệu lực phòng trừ sâu đục thân trên cây xoài của chế phẩm sinh học tại các giai đoạn sử dụng

a. Xác định liều lượng sử dụng chế phẩm sinh học phòng trừ sâu đục thân trên cây xoài giai đoạn kiến thiết cơ bản

Chọn khu vực có tỷ lệ cây nhiễm bệnh đồng đều trong vườn xoài <3 năm tuổi, cây đang trong giai đoạn kiến thiết cơ bản, mật độ sâu đục thân đạt trung bình từ 1-2 con/cây, phân chia theo lớp thí nghiệm. Công thức thí nghiệm được bố trí:

- CT1 (đối chứng): Lớp cây đối chứng gồm 15 cây, cây không xử lý chế phẩm (0g (ml)/cây).

- CT2: Lớp cây thí nghiệm gồm 15 cây được bổ sung chế phẩm với liều lượng 5g (ml)/ cây

- CT3: Lớp cây thí nghiệm gồm 15 cây được bổ sung chế phẩm với liều lượng 15g(ml)/ cây

- CT4: Lớp cây thí nghiệm gồm 15 cây được bổ sung chế phẩm với liều lượng 25g(ml)/ cây

Chế phẩm được bổ sung theo hình thức: Tưới 3 đợt đầu, mỗi đợt cách nhau 7 ngày, sau đó 30 ngày tưới/lần

Tiến hành quan sát và ghi nhận số lượng cá thể sâu bị diệt và ký sinh gây chết ở thời điểm 1 tháng, 3 tháng và 6 tháng sau khi phun. Điều kiện ngoại cảnh lúc tiến hành thí nghiệm có nhiệt độ là $28 \pm 1^\circ\text{C}$ và độ ẩm 68–80%.

Bảng 14 . Hoạt lực diệt sâu non đục thân xoài của chế phẩm sinh học trong giai đoạn vườn kiến thiết cơ bản

Công thức	Số sâu ban đầu (con/cây)	Hiệu lực phòng trừ ở các thời điểm theo dõi					
		Sau 1 tháng		Sau 2 tháng		Sau 3 tháng	
		Mật độ sâu hại (con/cây)	Hiệu lực phòng trừ (%)	Mật độ sâu hại (con/cây)	Hiệu lực phòng trừ %	Mật độ sâu hại (con/cây)	Hiệu lực phòng trừ (%)
CT1	3,65	4,43	-	5,07	-	5,81	-
CT2	3,34	2,26	49,09	2,01	60,41	1,98	65,71
CT3	3,81	1,99	55,12	1,68	66,83	1,43	75,31
CT4	4,05	1,94	56,31	1,65	67,24	1,39	76,08
CV (%)		5,4	-	6,5	-	4,2	-
LSD 0.05		2,07	-	1,64	-	1,18	-

Sau 3 tháng theo dõi hiệu quả chế phẩm cho thấy cây xoài được bổ sung chế phẩm sinh học giảm tỷ lệ sâu hại rõ rệt, cơi đọt ra nhiều, bộ tán lá xanh tốt hơn hẳn so với công thức không bổ sung chế phẩm. So sánh sự sai khác giữa các công thức bổ sung chế phẩm nhận thấy, sau 3 tháng xử lý chế phẩm với liều lượng 5g/ml/cây hiệu

lực đạt 65,71%, hiệu lực tăng đáng kể khi sử dụng liều lượng 15g/ml/cây đạt 75,31% và 25g/ml chế phẩm/ cây đạt 76,08%. Tuy nhiên kết quả phòng trừ sâu giữa công thức 3 và công thức 4 gần như không có sự sai khác thống kê sinh học, vì vậy để phòng trừ sâu hại có hiệu quả cao và cũng đem lại hiệu quả kinh tế cho người sử dụng nên sử dụng chế phẩm sinh học với liều lượng 15g(ml)/cây cho vườn xoài giai đoạn kiến thiết cơ bản.

b. Xác định liều lượng sử dụng chế phẩm sinh học phòng trừ sâu đục thân trên cây xoài giai đoạn kinh doanh

Chọn khu vực có tỷ lệ cây nhiễm bệnh đồng đều trong vườn xoài giai đoạn kinh doanh, mật độ sâu đục thân đạt trung bình từ 2 con/cây, phân chia theo lớp thí nghiệm. Công thức thí nghiệm được bố trí:

- CT1 (đối chứng): Lớp cây đối chứng gồm 15 cây, cây không xử lý chế phẩm (0g(ml)/cây).
- CT2: Lớp cây thí nghiệm gồm 15 cây được bổ sung chế phẩm với liều lượng 15g(ml)/ cây
- CT3: Lớp cây thí nghiệm gồm 15 cây được bổ sung chế phẩm với liều lượng 25g(ml)/ cây
- CT4: Lớp cây thí nghiệm gồm 15 cây được bổ sung chế phẩm với liều lượng 35g(ml)/ cây

Tiến hành quan sát và ghi nhận số lượng cá thể sâu bị diệt và ký sinh gây chết ở thời điểm 1 tháng, 3 tháng và 6 tháng sau khi phun. Điều kiện ngoại cảnh lúc tiến hành thí nghiệm có nhiệt độ là 28 ± 1 °C và độ ẩm 68–80%.

Bảng 15 . Hoạt lực diệt sâu non đục thân xoài của chế phẩm sinh học trong giai đoạn vườn kinh doanh

Công thức	Số sâu ban đầu (con/cây)	Hiệu lực phòng trừ ở các thời điểm theo dõi					
		Sau 1 tháng		Sau 2 tháng		Sau 3 tháng	
		Mật độ sâu hại (con/cây)	Hiệu lực phòng trừ (%)	Mật độ sâu hại (con/cây)	Hiệu lực phòng trừ %	Mật độ sâu hại (con/cây)	Hiệu lực phòng trừ (%)
CT1	5,15	5,93	-	6,17	-	6,92	-
CT2	5,34	3,05	48,57	2,53	58,92	2,12	69,38
CT3	5,57	2,69	54,71	2,14	65,41	1,76	74,62
CT4	5,05	2,66	55,21	2,06	66,54	1,72	75,08
CV (%)		5,6	-	4,2	-	4,7	-
LSD 0.05		1,67	-	1,02	-	1,19	-

Cây xoài được lựa chọn có tỷ lệ sâu hại đồng đều nhau, trung bình mật độ sâu đục thân khoảng 2 con/cây, trên cây có 2-3 vết sâu đục, cây vẫn phát triển bình thường. Hiệu lực phòng trừ sâu hại của liều lượng 15g (ml)/cây thấp hơn rõ rệt so với hai công thức còn lại. So sánh hiệu lực phòng bệnh thu được của liều lượng 25g (ml)/cây và 35g/cây

có sự sai khác không rõ rệt, nhưng với liều lượng sử dụng 25g (ml) chế phẩm/cây không những mang lại hiệu quả phòng trừ cao mà lại giảm được giá thành cho người sử dụng. Do vậy chế phẩm sinh học phòng trừ sâu đục thân trên cây xoài với liều lượng 25g(ml)/cây được khuyến cáo sử dụng cho các vườn canh tác xoài.

4.3.4.2. Xác định phương pháp sử dụng chế phẩm sinh học phòng trừ sâu đục thân trên cây xoài

Khu vườn triển khai thí nghiệm có tỷ lệ cây nhiễm bệnh đồng đều trong vườn xoài giai đoạn kinh doanh, mật độ sâu đục thân đạt trung bình từ 1- 2 con/cây, phân chia theo lớp thí nghiệm. Công thức thí nghiệm được bố trí:

- CT1 (đối chứng): Lớp cây đối chứng gồm 15 cây, cây không xử lý chế phẩm (0g/cây).
- CT2: Lớp cây thí nghiệm gồm 15 cây được bổ sung chế phẩm 25g (ml) chế phẩm /cây bằng phương pháp dùng bông gòn thấm chế phẩm sinh học nhét sâu vào lỗ đục và dùng đất sét trám kín thân cây từ chằng 3 trở xuống (hoặc từ mặt đất lên 3 mét), phải trám dày miệng lỗ đục.
- CT3: Lớp cây thí nghiệm gồm 15 cây được bổ sung chế phẩm 25g (ml) chế phẩm/cây bằng phương pháp pha chế phẩm sinh học, quét hoặc phun ướt đều vỏ thân cây từ mặt đất lên cao 2 - 3m (tùy tuổi cây, chiều cao cây)
- CT4: Lớp cây thí nghiệm gồm 15 cây được bổ sung chế phẩm 25g (ml) chế phẩm/cây bằng phương pháp pha chế phẩm sinh học quét hoặc phun ướt đều vỏ thân cây từ mặt đất lên cao 2 - 3m, kết hợp dùng bơm tiêm trực tiếp chế phẩm vào vết thương miệng lỗ đục, trét đất sét kín miệng lỗ đục

Tiến hành quan sát và ghi nhận số lượng cá thể sâu bị diệt và ký sinh gây chết ở thời điểm 1 tháng, 3 tháng và 6 tháng sau khi phun.

Bảng 16. Ảnh hưởng của phương pháp sử dụng chế phẩm phòng trừ sâu đục thân trên cây xoài trong điều kiện vườn kinh doanh

Công thức	Số sâu ban đầu (con/cây)	Hiệu lực phòng trừ ở các thời điểm theo dõi					
		Sau 1 tháng		Sau 2 tháng		Sau 3 tháng	
		Mật độ sâu hại (con/cây)	Hiệu lực phòng trừ (%)	Mật độ sâu hại (con/cây)	Hiệu lực phòng trừ %	Mật độ sâu hại (con/cây)	Hiệu lực phòng trừ (%)
CT1	5,07	5,58	-	6,51	-	6,82	-
CT2	4,92	2,70	51,67	2,52	61,31	1,88	72,38
CT3	5,16	2,56	54,14	2,25	65,38	1,72	74,82
CT4	5,02	2,30	58,71	1,96	69,85	1,60	76,59

Công thức	Số sâu ban đầu (con/cây)	Hiệu lực phòng trừ ở các thời điểm theo dõi					
		Sau 1 tháng		Sau 2 tháng		Sau 3 tháng	
		Mật độ sâu hại (con/cây)	Hiệu lực phòng trừ (%)	Mật độ sâu hại (con/cây)	Hiệu lực phòng trừ %	Mật độ sâu hại (con/cây)	Hiệu lực phòng trừ (%)
CV (%)		4,1	-	3,3	-	4,8	-
LSD 0.05		1,43	-	0,94	-	1,02	-

Chế phẩm sinh học phòng trừ sâu đục thân Bio-XBT được bổ sung với liều lượng 25g (ml)/cây theo 3 cách bổ sung đã nêu trên. Kết quả thu được sau 3 tháng sử dụng chế phẩm cho thấy: với phương pháp bổ sung chế phẩm thứ nhất: bông gòn thấm dấm chế phẩm, nhét sâu vào trong vết đục và dùng đất sét trám kín có hiệu lực diệt trừ sâu thấp nhất và tốn nhiều công lao động. Phương pháp sử dụng chế phẩm bằng cách quét và phun đều thân, cành cây dễ sử dụng và có hiệu quả đáng kể. Phương pháp bổ sung chế phẩm bằng cách pha chế phẩm sinh học quét hoặc phun ướt đều vỏ thân cây từ mặt đất lên cao 2 - 3m, kết hợp dùng bơm tiêm trực tiếp chế phẩm vào vết thương miệng lỗ đục, trét đất sét kín miệng lỗ đục, có hiệu quả tối ưu nhất. Phương pháp bổ sung này còn kết hợp tiêm sâu chế phẩm vào vết đục sau đó trám miệng vết đục lại sẽ có hiệu lực diệt trừ sâu hại kéo dài, hiệu lực diệt trừ sâu đục thân của phương pháp này sau 3 tháng lên tới 76,59% so với cây xoài tại công thức không bổ sung chế phẩm.

4.3.4.3. Quy trình sử dụng chế phẩm sinh học Bio-XBT phòng trừ sâu đục thân trên cây xoài

A A. Phạm vi áp dụng

Quy trình sử dụng chế phẩm được xây dựng dựa trên cơ sở tiêu chuẩn ngành TCN 487:2001 về quy trình trồng, chăm sóc và thu hoạch cây xoài tại các tỉnh phía Nam và kết quả nghiên cứu của đề tài “*Nghiên cứu quy trình phòng trừ sâu đục thân cây xoài bằng biện pháp sinh học trên địa bàn tỉnh Bến Tre*” thuộc đề tài cấp tỉnh do Viện Di truyền Nông nghiệp chủ trì.

B. Nội dung quy trình

1. Vật dụng chính

Một số vật dụng chính: Ống đong loại 500 ml. Bình phun đeo vai động cơ điện, 20 lít.

2. Quy trình chi tiết

Bước 1: Cách pha chế phẩm sinh học

Cách pha chế phẩm sinh học phòng trừ sâu đục thân trên cây xoài thực hiện như sau:

Lắc đều chế phẩm sinh học trong thời gian 1 - 2 phút trước khi mở nắp. Sau đó, đổ chế phẩm vào bình phun, rồi đổ thêm nước vào từ từ cho đến khi đầy phuy theo liều lượng cần thiết: pha 50 ml chế phẩm sinh học cho bình phun 20 lít nước (tương đương 500 ml chế phẩm vi sinh vật cho phuy 200 lít nước).

Bước 2: Thời điểm phun

Cần điều tra, xử lý sớm trên cây xoài ở giai đoạn vườn kiến thiết cơ bản và vườn kinh doanh khi mật độ sâu đục thân thấp.

Bước 3: Liều lượng sử dụng

* Với vườn xoài giai đoạn kiến thiết cơ bản

Bổ sung chế phẩm: Liều lượng: 15g (ml)/ cây

* Vườn xoài giai đoạn kinh doanh

Bổ sung chế phẩm Bio-XBT: Liều lượng: 25g (ml)/cây

Lưu ý: Sau khi cắt tỉa cành, tạo tán xoài kết hợp sử dụng chế phẩm sinh học Bio- XBT với liều lượng 25g (ml)/ cây để phòng trừ sâu đục thân nói riêng và các loại sâu hại khác nói chung, phun định kỳ 7-15 ngày/ lần.

Xử lý 3 lần liên tiếp nhau, mỗi lần cách nhau 7 ngày. Sau đó, dùng định kỳ 15 ngày/lần.

Bước 4: Cách sử dụng

a. Phòng trừ thành trùng, trứng và kén của sâu đục thân (bề mặt thân)

-Hòa 100gr sản phẩm với 20 lít nước cho 4-6 cây (15- 25g/cây tùy độ lớn của cây), quét hoặc phun ướt đều vỏ thân cây từ mặt đất lên cao 2 - 3m.

-Phun định kỳ 10 – 15 ngày/ lần (tập trung vào mùa mưa áp lực sâu cao) và 30 - 40ngày/lần để phòng sâu đục thân và sâu hại khác giai đoạn áp lực thấp

b. Phòng trừ ấu trùng đục sâu vào thân

Do đặc thù ấu trùng đã đục sâu vào trong thân, tiến hành tìm vết đục, khoét miệng vết đục

Dùng bơm tiêm bơm dung dịch chế phẩm đã pha ở trên trực tiếp vào vết thương miệng lỗ đục, dùng đất sét bít kín miệng lỗ đục

c. Lưu ý:

- Khi phun vào lúc chiều mát
- Pha thêm chất hỗ trợ bám dính
- Không xử lý các loại thuốc hóa học lên cây sau khi xử lý chế phẩm, chăm sóc theo quy trình chăm sóc của người dân. Trong quá trình cắt tỉa tạo tán, hoặc tìm phá lỗ đục của sâu sẽ gây vết thương cơ giới nên sử dụng chế phẩm Bio-XBT liều lượng 25g/cây

kết hợp cùng chế phẩm Ketomium, chế phẩm Nano Cu để phòng trừ sâu hại và bệnh hại xoài. Thường xuyên kiểm tra vườn cây để phát hiện kịp thời các cây bị bệnh để có biện pháp xử lý sớm và hợp lý. Trường hợp vườn cây mới bị nhiễm sâu hại nhẹ, chặt bỏ cành bệnh, sử dụng chế phẩm Bio-XBT liều lượng 25g/cây, phun định kỳ 7-15 ngày/ lần

4.4. Xây dựng mô hình thử nghiệm chế phẩm Bio-XBT phòng trừ sâu đục thân trên cây xoài

4.4.1. Khảo sát lựa chọn mô hình thử nghiệm chế phẩm sinh học Bio-XBT phòng trừ sâu đục thân trên cây xoài huyện Thạnh Phú – tỉnh Bến Tre

Mô hình 01: Mô hình xoài Tứ Quý

Chủ hộ: Nguyễn Văn Đèo

Địa chỉ: Địa chỉ: số 67/2, ấp Thạnh Phước, xã Thạnh Phong, huyện Thạnh Phú, tỉnh Bến Tre

Giống cây: Xoài Tứ Quý, tuổi cây: 6 năm

Diện tích: 0,5ha, tổng số cây: 150 cây

Lịch sử chăm sóc, quản lý sâu bệnh hại và năng suất cây trồng trước khi áp dụng mô hình: Cây xoài Tứ quý được trồng và chăm sóc theo khuyến cáo của Sở Nông nghiệp và phát triển Nông thôn, tỉnh Bến Tre.

Mô hình thử nghiệm chế phẩm được bố trí:

Công thức 1(công thức thí nghiệm): Từ hàng số 1 đến hàng số 7: 75 cây, được bổ sung chế phẩm Bio-XBT

- Liều lượng sử dụng: 25g (ml)/cây

- Cách xử lý: pha chế phẩm sinh học quét hoặc phun ướt đều vỏ thân cây từ mặt đất lên cao 2 - 3m, kết hợp dùng bơm tiêm trực tiếp chế phẩm vào vết thương miệng lỗ đục, trét đất sét kín miệng lỗ đục. Tưới 3 đợt đầu, mỗi đợt cách nhau 7 ngày, sau đó 30 ngày tưới/lần

- Không xử lý các loại thuốc hóa học lên cây sau khi xử lý chế phẩm, chăm sóc theo quy trình chăm sóc của người dân.

Công thức 2 (công thức đối chứng): Từ hàng số 8 đến hàng số 15: 75 cây.

Chăm sóc theo quy trình thông thường của nông hộ

- Khi cây xoài có dấu hiệu bị sâu đục thân gây hại có thể sử dụng thuốc hóa học:

Thuốc trừ sâu: Basudin 10H, Regent 800WG, Furadan 3H, Padan 50SP, Mappy 48EC, Basudin 50ND, Marshal 200SC, Pyrinex 20EC, Pegasus 500SC...với liều lượng sử dụng theo hướng dẫn in trên bao bì để phòng trừ sâu hại

Mô hình 02: Mô hình xoài Cát Hòa Lộc

Chủ hộ: Lê Thị Bé

Địa chỉ: 71/1 ấp thanh hoà, xã Thạnh phong, huyện Thạnh phú, tỉnh Bến Tre

Giống cây: Xoài Cát Hòa Lộc, tuổi cây: 8-9 năm

Diện tích: 0,7ha, tổng số cây: 140 cây

Lịch sử chăm sóc, quản lý sâu bệnh hại và năng suất cây trồng trước khi áp dụng mô hình: Cây xoài cát Hòa Lộc được trồng và chăm sóc

theo khuyến cáo của Sở Nông nghiệp và phát triển Nông thôn, tỉnh Bến Tre.

Mô hình thử nghiệm chế phẩm được bố trí:

Công thức 1(công thức thí nghiệm): Từ hàng số 1 đến hàng số 8: 70 cây, được bổ sung chế phẩm Bio-XBT

- Liều lượng sử dụng: 25g (ml)/cây

- Cách xử lý: pha chế phẩm sinh học quét hoặc phun ướt đều vỏ thân cây từ mặt đất lên cao 2 - 3m, kết hợp dùng bơm tiêm trực tiếp chế phẩm vào vết thương miệng lỗ đục, trét đất sét kín miệng lỗ đục. Tưới 3 đợt đầu, mỗi đợt cách nhau 7 ngày, sau đó 30 ngày tưới/lần

- Không xử lý các loại thuốc hóa học lên cây sau khi xử lý chế phẩm, chăm sóc theo quy trình chăm sóc của người dân.

Công thức 2 (công thức đối chứng): Từ hàng số 9 đến hàng số 16: 70 cây.

Chăm sóc theo quy trình thông thường của nông hộ

- Khi cây xoài có dấu hiệu bị sâu đục thân gây hại có thể sử dụng thuốc hóa học:

Thuốc trừ sâu: Basudin 10H, Regent 800WG, Furadan 3H, Padan 50SP, Mappy 48EC, Basudin 50ND, Marshal 200SC, Pyrinex 20EC, Pegasus 500SC...với liều lượng sử dụng theo hướng dẫn in trên bao bì để phòng trừ sâu hại

4.4.2. Đánh giá hiệu lực phòng trừ sâu đục thân của chế phẩm Bio - XBT trên cây xoài tại các mô hình thí nghiệm huyện Thạnh Phú - tỉnh Bến Tre

Tình trạng cây ban đầu tại các công thức thí nghiệm có tỉ lệ sâu hại và sinh trưởng phát triển đồng đều nhau.

Mô hình được xây dựng theo qui định của Bộ NNPTNT về khảo nghiệm diện rộng đối với thuốc bảo vệ thực vật. Tiến hành quan sát và ghi nhận số lượng cá thể sâu bị diệt và ký sinh gây chết ở thời điểm 1 tháng, 3 tháng, 6 tháng và 9 tháng sau khi phun chế phẩm. Điều kiện ngoại cảnh lúc tiến hành thí nghiệm có nhiệt độ là $30 \pm 1^{\circ}\text{C}$ và độ ẩm 68–80%.

Bảng 17. Hoạt lực diệt sâu non đục thân xoài của chế phẩm sinh học tại mô hình xoài Tứ Quý

Công thức	Số sâu ban đầu (con/cây)	Hiệu lực phòng trừ ở các thời điểm theo dõi							
		Sau 1 tháng		Sau 3 tháng		Sau 6 tháng		Sau 9 tháng	
		Mật độ sâu hại (con/cây)	Hiệu lực phòng trừ (%)	Mật độ sâu hại (con/cây)	Hiệu lực phòng trừ (%)	Mật độ sâu hại (con/cây)	Hiệu lực phòng trừ (%)	Mật độ sâu hại (con/cây)	Hiệu lực phòng trừ (%)
CT1	5,31	5,65	-	5,94	-	6,18	-	6,83	
CT2	5,58	2,67	52,71	2,06	65,35	1,58	74,41	1,48	78,32

<i>CV (%)</i>	8,0	-	9,1	-	5,6	-	6,1	-
<i>LSD 0.05</i>	2,42	-	2,14	-	2,31	-	2,07	-

Cây xoài trong mô hình thí nghiệm được lựa chọn có tỷ lệ sâu hại đồng đều nhau, trung bình mật độ sâu đục thân khoảng 2 con/cây, trên cây có 2-3 vết sâu đục, cây vẫn phát triển bình thường. Sau 1 tháng theo dõi thí nghiệm, mật độ sâu hại của các công thức được bổ sung chế phẩm đã giảm rõ rệt so với công thức đối chứng (công thức không sử dụng chế phẩm và chăm sóc thông thường theo quy trình canh tác của chủ vườn). Sau 3 đến 6 tháng hiệu lực của chế phẩm sinh học càng rõ rệt, điều đó cho thấy các chủng nấm ký sinh và chủng Bt có trong chế phẩm phát huy được độc tính, giúp phòng trừ sâu đục thân gây hại. Sau 9 tháng sử dụng chế phẩm trên cây xoài, hiệu lực diệt trừ sâu đục thân trên cây xoài Tứ quý lên tới 78% so với cây không bổ sung chế phẩm bên cạnh đó cây xoài xanh tốt, cảnh đột ngột những yếu tố này sẽ dẫn đến năng suất thu hoạch cao hơn so với cây xoài được chăm sóc thông thường.

Bảng 18. Hoạt lực diệt sâu non đục thân xoài của chế phẩm sinh học tại mô hình xoài Cát Hòa lộc

Công thức	Số sâu ban đầu (con/cây)	Hiệu lực phòng trừ ở các thời điểm theo dõi							
		Sau 1 tháng		Sau 3 tháng		Sau 6 tháng		Sau 9 tháng	
		Mật độ sâu hại (con/cây)	Hiệu lực phòng trừ (%)	Mật độ sâu hại (con/cây)	Hiệu lực phòng trừ (%)	Mật độ sâu hại (con/cây)	Hiệu lực phòng trừ (%)	Mật độ sâu hại (con/cây)	Hiệu lực phòng trừ (%)
CT1	7,23	7,52	-	7,83	-	8,27	-	8,85	-
CT2	7,41	3,74	50,21	2,93	62,54	2,31	72,08	2,19	75,27
<i>CV (%)</i>		8,0	-	7,1	-	9,3	-	8,4	-
<i>LSD 0.05</i>		2,42	-	2,04	-	2,56	-	2,07	-

Vườn xoài cát hòa lộc có tỷ lệ nhiễm sâu đục thân cao hơn so với xoài tứ quý, cao điểm có những cây xoài có đến 4 con sâu đục thân/ cây. Sau 1 tháng sử dụng với liều lượng 25g (ml) chế phẩm sinh học/cây và bổ sung liên tục 1 tuần/lần, hiệu lực phòng trừ

sâu đục thân của cây trong mô hình tăng 50% so với cây đối chứng. Hiệu lực tăng dần sau các khoảng thời gian bổ sung chế phẩm và sau 9 tháng sử dụng, hiệu lực phòng trừ sâu đục thân tăng tới 75% so với cây xoài không sử dụng chế phẩm sinh học.

4.4.3. Đánh giá khả năng sinh trưởng phát triển trên cây xoài của chế phẩm sinh học Bio -XBT ở các mô hình thí nghiệm

Bên cạnh theo dõi hiệu lực phòng trừ sâu đục thân trên cây xoài ở các mô hình thí nghiệm, chúng tôi tiến hành theo dõi khả năng sinh trưởng của cây xoài khi được bổ sung chế phẩm Bio-XBT. Kết quả thể hiện qua bảng 19

Bảng 19. Các chỉ tiêu sinh trưởng phát triển cây xoài của chế phẩm BT laqua ở các mô hình thí nghiệm

STT	Công thức thí nghiệm	Các chỉ tiêu theo dõi sinh trưởng và năng suất trên cây xoài								
		Chiều cao cây (m)	Đường kính gốc (cm)	Đường kính tán (m)	Đường kính cành lộc (cm)	Đường kính quả (cm)	Chiều cao quả (cm)	Khối lượng trung bình quả (g)	Số quả/cây/vụ (quả)	Năng suất (kg/cây)
Mô hình 01: xoài Tứ Quý										
1	ĐC	3,62	15,65	2,64	0,95	8,30	17,76	631,77	38,09	20,22
2	Bổ sung chế phẩm	3,70	17,54	2,84	1,13	9,40	19,67	597,47	41,31	23,47
CV(%)		4,5	8,2	3,1	5,1	7,4	7,6	5,4	5,8	4,8
LSD0.05		0,57	4,71	0,29	0,18	4,42	4,95	10,47	4,0	0,62
Mô hình 02: xoài Cát hòa lộc										
1	ĐC	5,87	23,60	4,97	2,11	7,74	17,03	508,24	66,82	34,09
2	Bổ sung chế phẩm	6,07	24,18	5,19	2,27	8,67	18,58	560,45	72,25	39,12
CV(%)		6,7	7,1	6,3	8,6	9,7	9,0	6,1	3,9	5,7
LSD0.05		1,39	0,87	0,48	0,65	2,76	5,58	9,45	4,19	1,43

Tại mô hình xoài Tứ quý, cây trồng được 5-6 năm tuổi nên hiệu lực của chế phẩm đến sinh trưởng phát triển cây trồng được thể hiện rõ rệt. Dựa vào kết luận của chủ vườn cho thấy, cây có bổ sung chế phẩm có tán lá xanh, cây phát triển tốt, cành lộc khỏe và mập, giảm tỷ lệ sâu hại những điều đó dẫn đến năng suất thu hoạch cao hơn so với cây xoài được chăm sóc thông thường. Số liệu chỉ tiêu năng suất/ cây cho thấy năng suất ở công thức có bổ sung chế phẩm tăng cao hơn 16% so với công thức đối chứng.

Mô hình xoài cát Hòa lộc cây xoài cát hòa lộc trồng được 8-9 năm tuổi, cây cao, tán rộng, năng suất ổn định. Ở công thức có bổ sung chế phẩm, tán lá xanh mượt, tỷ lệ nhiễm sâu bệnh giảm, tăng tỷ lệ đậu quả, năng suất thu hoạch tăng 15% so với công thức đối chứng.

4.4.4. Đánh giá hiệu quả kinh tế của mô hình thử nghiệm chế phẩm sinh học Bio-XBT trên cây xoài tại các mô hình thí nghiệm

Mô hình cây xoài cát hòa lộc với diện tích 0,5 ha, được thử nghiệm tại xã Thạnh Phong, huyện Thạnh Phú, tỉnh Bến Tre

Chế phẩm sinh học sử dụng trong là sản phẩm thuộc đề tài, phân bón được tính theo phần tiền hỗ trợ cho nông dân, bước đầu tính hiệu quả kinh tế sơ bộ thu được như sau

Bảng 20. Hiệu quả kinh tế của chế phẩm sinh học trên 1 ha cây xoài cát hòa lộc tại Thạnh Phú- Bến Tre

Đơn vị tính: nghìn đồng

TT	Hạng mục	Đối chứng	Sử dụng chế phẩm	Chênh lệch so với đối chứng
I	Vật tư	62,000	60,000	
	Thuốc BVTV phòng trừ sâu đục thân	28,000	7,000	
	Chế phẩm sinh học	-	18,000	
	Bao trái	14,000	15,000	
	vật tư phân bón	20,000	20,000	
II	Công lao động	25,000	25,000	
III	Tổng chi (= I + II)	87,000	85,000	
IV	Năng suất	7.63	8.75	15%
V	Tổng thu	267,050	306,250	
	Lợi nhuận (=IV - III)	180,050	221,250	41,200
	% so với đối chứng		41,200	23%

Ghi chú: giá xoài cát hòa lộc: 35.000 đ/kg

Với các mục chi đầu tư cho 1 ha trồng xoài cát hòa lộc tương đương nhau, cây xoài trong mô hình sử dụng chế phẩm nên năng suất trái thu được tăng 15% so với cây đối chứng (cây ngoài mô hình) và lợi nhuận thu được khi sử dụng chế phẩm trong quy trình canh tác tăng 23% so với cây không sử dụng chế phẩm.

Bảng 21. Hiệu quả kinh tế của chế phẩm sinh học trên 1 ha cây xoài Tứ Quý tại Thạnh Phú – Bến Tre

Đơn vị tính: nghìn đồng

TT	Hạng mục	Đối chứng	Sử dụng chế phẩm	Chênh lệch so với đối chứng
----	----------	-----------	------------------	-----------------------------

TT	Hạng mục	Đối chứng	Sử dụng chế phẩm	Chênh lệch so với đối chứng
I	Vật tư	49,000	54,000	
	Thuốc BVTV phòng trừ sâu đục thân	20,000	7,000	
	Chế phẩm sinh học	-	16,000	
II	Bao trái	12,000	14,000	
III	vật tư phân bón	17,000	17,000	
	Công lao động	20,000	20,000	
	Tổng chi (= I + II)	69,000	74,000	
IV	Năng suất	8.36	9.67	16%
V	Tổng thu	125,400	145,050	
	Lợi nhuận (=IV - III)	56,400	71,050	14,650
	% so với đối chứng		14,650.00	26%

Ghi chú: giá xoài Tứ quý: 15.000 đ/kg

Tại mô hình trồng xoài Tứ quý tại Thạnh Phú Bến Tre, cây xoài có hiệu quả rõ rệt hơn, kết quả thu được cho thấy, sử dụng chế phẩm sinh học Bio-XBT phòng sâu đục thân trên cây xoài giúp tăng hiệu quả kinh tế lên 26% so với điều kiện canh tác cây xoài không sử dụng chế phẩm sinh học.

CHƯƠNG 5. KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

5.1. KẾT LUẬN

Đề tài đã hoàn thành đầy đủ các nội dung nghiên cứu theo Thuyết minh phê duyệt. Các kết quả chính đạt được như sau:

1) Đã thực hiện điều tra tình hình, mức độ gây hại của sâu đục thân trên cây xoài huyện Thạnh Phú, tỉnh Bến Tre.

2) Tuyển chọn được 3 chủng vi sinh vật bao gồm *Bacillus* spp. Ba3, nấm xanh *Metarhizium* spp. AS2 và chủng nấm bạch cương *Beauveria* spp. AS1 có hoạt tính sinh enzym ngoại bào như lipase, chitinase và cellulose mạnh. Bằng kỹ thuật định danh truyền thống và định danh bằng sinh học phân tử nhận dạng chủng nấm lục cương AS2 thuộc loài *Metarhizium anisopliae*; nấm bạch cương AS1 thuộc loài *Beauveria bassiana* và chủng vi khuẩn Ba3 thuộc loài *Bacillus thuringiensis* đều thuộc nhóm vi sinh vật an toàn sinh học cấp độ 1

3) Đã xây dựng được 01 quy trình sản xuất chế phẩm sinh học quy mô sản xuất thử (pilot) phòng trừ sâu đục thân trên cây xoài, quy mô 50 (kg)lít/mẻ.

4) Đã sản xuất được 200kg chế phẩm sinh học dạng bột và 200 lít chế phẩm sinh học dạng lỏng để phòng trừ sâu đục thân trên cây xoài

5) Đã xây dựng được 01 quy trình hướng dẫn sử dụng chế phẩm sinh học phòng trừ sâu đục thân trên cây xoài.

6) Đã xây dựng được 02 mô hình trình diễn sử dụng chế phẩm sinh học phòng trừ sâu đục thân, bao gồm:

01 mô hình trên cây xoài Tứ quý: Quy mô: 5.000 m²/mô hình tại ấp Thạnh Phước, xã Thạnh Phong, huyện Thạnh Phú, tỉnh Bến Tre. Hiệu quả phòng trừ sâu đục thân: 78% so với đối chứng. Năng suất trái tăng 16% và tăng hiệu quả kinh tế 26% so với đối chứng (không sử dụng chế phẩm)

01 mô hình trên cây xoài cát Hòa Lộc: Quy mô: 7.000 m²/mô hình tại ấp Thạnh Hoà, xã Thạnh Phong, huyện Thạnh Phú, tỉnh Bến Tre. Hiệu quả phòng trừ sâu đục thân: 75% so với đối chứng. Năng suất trái tăng 15% và tăng hiệu quả kinh tế 23% so với đối chứng (không sử dụng chế phẩm)

7) Đã công bố 01 bài báo liên quan đến nội dung và kết quả nghiên cứu của đề tài trên Tạp chí Khoa học và Công nghệ Nông nghiệp Việt Nam.

5.2. Đề nghị

Sau 2 năm thực hiện nghiên cứu tại các vườn xoài thuộc xã Thạnh Phong, huyện Thạnh Phú, tỉnh Bến Tre, đề tài đã thu được các kết quả khả quan và đáng tin cậy. Các nông hộ canh tác xoài tại địa phương áp dụng mô hình đều đánh giá cao chất lượng của chế phẩm. Tại các buổi tập huấn hướng dẫn sử dụng chế phẩm đều được bà con nông dân nhiệt tình hưởng ứng và đề nghị nhóm đề tài tiếp tục mở rộng diện tích sử dụng chế phẩm phòng trừ sâu đục thân trên cây xoài tại địa phương. Vì vậy, nhóm thực hiện đề tài xin được đề nghị được tiếp tục nghiên cứu ứng dụng rộng rãi chế phẩm sinh học Bio-XBT tại các vùng trồng xoài của Bến Tre. Nhóm đề tài sẽ tiếp tục nghiên cứu để nâng cao quy mô sản xuất chế phẩm, đưa lượng chế phẩm vào ứng dụng trong thực tế cao hơn nhiều lần so với trước, đồng thời xây dựng cụ thể quy trình sử dụng chế phẩm trên đối tượng cây xoài Tứ quý và cây xoài cát Hòa Lộc. Bên cạnh đó nhóm đề tài sẽ mở rộng triển khai mô hình sử dụng chế phẩm trên cây xoài Tứ quý, xoài cát Hòa Lộc các vùng canh tác xoài trọng điểm của Bến Tre.

TỔNG HỢP CÁC SẢN PHẨM CỦA ĐỀ TÀI

Tổng hợp các sản phẩm của đề tài về mức độ hoàn thành về số lượng, khối lượng, chủng loại các sản phẩm theo đơn đặt hàng và thực tế thực hiện.

Sản phẩm đề tài:

Sản phẩm dạng 1:

Tên sản phẩm cụ thể và chỉ tiêu chất lượng chủ yếu của sản phẩm	Đơn vị đo	Mức chất lượng cần đạt	Dự kiến số lượng/quy mô sản phẩm tạo ra
Chế phẩm sinh học phòng trừ sâu đục thân trên cây xoài tại Bến Tre - Mật độ vi sinh vật; - Hiệu quả phòng trừ sâu đục thân trên cây xoài	CFU/g hoặc CFU/ml	$\geq 10^8$ CFU/g hoặc CFU/ml. $\geq 70\%$ so với đối chứng.	200kg dạng bột và 200l dạng lỏng

Sản phẩm dạng 2

Tên sản phẩm	Yêu cầu khoa học cần đạt	Ghi chú
Quy trình sản xuất chế phẩm sinh học quy mô sản xuất thử (pilot)	Quy mô 50 kg/mẻ có mật độ vi sinh vật hữu ích đạt $\geq 10^8$ cfu/g (ml)	01 qui trình
Quy trình hướng dẫn sử dụng chế phẩm sinh học	Được áp dụng trên ít nhất 2 mô hình quy mô 0,5 ha/mô hình tại Bến Tre	01 qui trình
Mô hình trình diễn sử dụng chế phẩm sinh học	2 mô hình tại Bến Tre, quy mô 0,5 ha/mô hình đạt hiệu quả phòng trừ $\geq 70\%$ và tăng hiệu quả kinh tế 15-20% so với đối chứng không sử dụng chế phẩm	02 mô hình

Sản phẩm dạng 3

STT	Tên sản phẩm	Yêu cầu khoa học cần đạt	Dự kiến nơi công bố (Tạp chí, Nhà xuất bản)	
1	Bài báo khoa học	Bài báo công bố về tổ hợp các chủng nấm ký sinh và vi khuẩn <i>Bacillus thuringiensis</i> diệt trừ sâu đục thân trên cây xoài	Tạp chí Khoa học và công nghệ nông nghiệp Việt Nam, số 03 năm 2022, pp 87-91	1 bài