

Endophyte *Bacillus velezensis* OEE1 Counteracts Oomycete and Fungal Harmful Pathogens and Harbours a Large Repertoire of Secreted and Volatile Metabolites and Beneficial Functional Genes. *Journals Microorganisms*, 7 (9): 314.

Trang Le Vu Khanh, Le Nguyen Tan, Mai Le Thi, My Pham Thi, Trieu Ly Hai, 2020. *Selecting Bacillus* sp. Antagonist of fungal phytopathogen *Phytophthora infestans* causing tomato late blight. *Annual Research & Review in Biology* 35(12): 32-40.

Wang, L. T., Lee, F. L., Tai, C. J., & Kuo, H. P., 2008. *Bacillus velezensis* is a later heterotypic synonym of *Bacillus amyloliquefaciens*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 58 (3): 671-675.

Yuan, J., Raza, W., Huang, Q., and Shen, Q., 2012b. The ultrasound-assisted extraction and identification of antifungal substances from *B. amyloliquefaciens* strain NJN-6 suppressing *Fusarium oxysporum*. *J. Basic Microbiol.*, 52: 721-730.

Evaluation of inhibitory efficiency of *Bacillus velezensis* against fungal pathogen *Phytophthora* sp. causing late blight on tomato

Le Vu Khanh Trang, Le Thi Mai,
Vo Luong Y Nhi, Huynh Thi Ngoc Lan

Abstract

Bacillus velezensis has been paid much attention by researchers based on the potential application to prevent plant disease and increase crop yields. This study was performed to evaluate the ability to inhibit the growth of *Phytophthora* sp. causing late blight on tomato by different ingredients in *B. velezensis* culture medium with the aim of developing and diversifying biological control products. The results showed that the inhibitory efficiency against fungal pathogen *Phytophthora* sp. was observed at all components of *B. velezensis* culture medium, including biomass, extracellular fluid, extracellular enzymes and non-enzyme metabolites. Among them, the highest inhibitory efficiency was recorded at the biomass and extracellular fluid, making up 84.44% and 80%, respectively after 5 days. The inhibition of mycelial growth of the extracellular enzymes (72.59%) was 1.6 times higher than extracellular non-enzyme compounds (45.18%). The promising antagonistic activity demonstrated in this study will contribute to the diversification and improvement of the quality of biological control products *Bacillus velezensis* in Vietnam.

Keywords: *B. velezensis*, inhibitory efficiency, *Phytophthora* sp., late blight, tomato

Ngày nhận bài: 18/12/2020

Ngày phản biện: 27/12/2020

Người phản biện: TS. Đoàn Thị Thanh

Ngày duyệt đăng: 29/01/2021

NGHIÊN CỨU XỬ LÝ KIỂM DỊCH THỰC VẬT RUỒI ĐỤC QUẢ PHƯƠNG ĐÔNG (*Bactrocera dorsalis*) TRÊN QUẢ VÀI TƯƠI BẰNG BIỆN PHÁP XÔNG HƠI METHYL BROMIDE

Lê Nhật Thành¹, Hoàng Kim Thoa², Hà Thanh Hương³, Nguyễn Viết Hải¹, Hồ Thị Xuân Hương¹, Nguyễn Thị Thanh Hiền⁴, Lê Sơn Hà³, Nguyễn Mạnh Hiếu⁵, Nguyễn Quang Hiếu³, Nguyễn Thị Thu Hương³

TÓM TẮT

Kết quả kiểm tra mức độ mẫn cảm cho thấy pha trứng trưởng thành của ruồi đục quả phương đông có sức chống chịu cao hơn so với pha sâu non (tuổi 1, 2 và 3) và kết quả thí nghiệm xác định tỷ lệ chết khẳng định rằng tất cả 42.000 cá thể trứng trưởng thành của *B. dorsalis* đã chết hoàn toàn sau xông hơi bằng Methyl bromide (CH₃Br) ở liều 32 g/m³/2 h. Trong thí nghiệm quy mô lớn, xông hơi quả vải tươi bằng Methyl bromide đạt hiệu quả xử lý kiểm dịch thực vật ở liều lượng 32 g/m³/2 h với kích thước hộp carton (39 cm × 28,5 cm × 10,5 cm), khối lượng 5 kg/hộp và thể tích hàng hóa chiếm 70% thể tích buồng xử lý, nhiệt độ buồng xử lý được duy trì trong khoảng 27 - 30°C trong suốt thời gian xử lý.

Từ khóa: Quả vải tươi, ruồi đục quả Phương Đông (*Bactrocera dorsalis*), xử lý kiểm dịch, xông hơi methyl bromide

¹Trung tâm Kiểm dịch thực vật Sau nhập khẩu I, Cục Bảo vệ thực vật

²Trung tâm Giám định Kiểm dịch thực vật, Cục Bảo vệ thực vật; ³Cục Bảo vệ thực vật

⁴Viện Bảo vệ thực vật; ⁵Viện Cơ điện Nông nghiệp và Công nghệ sau thu hoạch

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Nhật Bản là thị trường tiềm năng và mang lại giá trị cao cho nông sản Việt Nam. Mặc dù được hưởng nhiều lợi thế từ Hiệp định Quan hệ đối tác Kinh tế toàn diện ASEAN-Nhật Bản và Hiệp định Đối tác kinh tế Việt Nam - Nhật Bản nhưng thị phần xuất khẩu rau quả tươi của Việt Nam sang Nhật Bản vẫn đang ở mức thấp, còn rất nhiều dư địa để khai thác (Bộ Công thương, 2011) và đẩy mạnh xuất khẩu mặt hàng rau quả sang thị trường Nhật Bản. Theo Bộ Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn, giá trị xuất khẩu rau quả cả năm 2020 đạt 3,26 tỷ USD, giảm 13% so với năm 2019 song giá trị xuất khẩu rau quả sang thị trường Nhật Bản tăng 5% so với cùng kỳ năm 2019 (TTXVN/Vietnam+, 2021).

Quả vải tươi của Việt Nam có năng suất cao, chất lượng tốt và sản lượng lớn nhưng gặp nhiều khó khăn trong xuất khẩu sang thị trường Nhật Bản. Một trong những rào cản lớn nhất là xử lý kiểm dịch thực vật đối với ruồi đục quả Phương Đông (*Bactrocera dorsalis* Hendel) trên quả vải trước khi xuất khẩu để gỡ bỏ lệnh cấm của Nhật Bản đối với quả vải tươi của Việt Nam.

Việc nghiên cứu biện pháp xử lý kiểm dịch thực vật bằng xông hơi methyl bromide trừ ruồi đục quả Phương Đông (*B. dorsalis* Hendel) trên quả vải tươi của Việt Nam xuất khẩu sang Nhật Bản là yêu cầu cấp bách giải quyết khó khăn của các tỉnh trồng vải ở phía Bắc và của Nông nghiệp nhằm đẩy mạnh kim ngạch xuất khẩu trong thời gian tới.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Loài côn trùng nghiên cứu: Ruồi đục quả Phương đông (*Bactrocera dorsalis* Hendel, họ Diptera, bộ Tephritidae). Quần thể ruồi đục quả Phương đông (*B. dorsalis* Hendel) được thiết lập và nhân nuôi nhân tạo 8 thế hệ tại Phòng thí nghiệm Côn trùng thuộc Viện Bảo vệ thực vật (từ năm 2000). Phòng nhân nuôi ruồi được duy trì ở $26 \pm 2^\circ\text{C}$ và độ ẩm 60 - 70% RH và chu kỳ chiếu sáng là 10 : 14.

Quả vải tươi thí nghiệm được thu thập từ vùng trồng vải giống vải “Thiếu” thuộc huyện Lục Ngạn, tỉnh Bắc Giang thu hoạch tháng 6 - 7 hàng năm, đường kính của quả là 3 - 4 cm. Vườn thu quả vải thí nghiệm trồng theo VietGAP hoặc GlobalGAP. Trọng lượng quả là 21 - 23 gram/quả.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp nhân nuôi ruồi đục quả Phương đông (*Bactrocera dorsalis*) và lây nhiễm vào quả vải tươi

a) Phương pháp nhân nuôi pha trưởng thành

Tổng số 15.000 cá thể *B. dorsalis* trưởng thành nuôi trong lồng nuôi (kích thước 180 × 50 × 160 cm; Hình 1). Bốn lồng ruồi đã được duy trì trong phòng thí nghiệm (New South Wales Agriculture, 2015).

Thức ăn nhân nuôi: 2 kg hỗn hợp Men thủy phân Enzym (Yeast Hydrolysate Enzymatic) (Walker *et al.*, 1996) và đường nguyên chất tỷ lệ 1 : 4 (Suksom *et al.*, 2010) được trộn trong khay đặt bên trong lồng nuôi.

Trứng của *B. dorsalis* được thu thập trong vòng 15 - 60 ngày sau khi trưởng thành vũ hóa bằng thiết bị thu trứng chuyên dụng (đường kính lỗ: 9 cm, sâu: 97 cm, rộng: khoảng 1600 pimjoles 0,5 cm cách nhau 1 cm). 50 ml nước ép ổi tươi được đổ vào thiết bị thu trứng để *B. dorsalis* đẻ trứng và thu trứng trong 1 giờ.

b) Phương pháp nhân nuôi pha sâu non và pha nhộng

Trứng thu được (trong 1 giờ), trộn trứng với dung dịch thạch để giữ độ ẩm và để kiểm soát mật độ (FAO/IAEA/USDA, 2014). 1,5 kg khoai lang làm thức ăn cho sâu non được rải trên khay inox (48,5 × 33,5 × 2,0 cm). Sau đó, hỗn hợp trứng và thạch được đổ lên giấy ăn đã trải sẵn trên mặt khay thức ăn. Đưa khay vào lồng nuôi nhộng (62 × 47 × 170 cm) và đặt trong phòng tối ở $26 \pm 2^\circ\text{C}$ và 60 - 70% RH. Đáy lồng có khay chứa mùn đặt sẵn. Bảy ngày sau, nhộng bắt đầu vũ hóa, nhộng được thu bằng cách sàng mùn của rồi cho vào khay inox (130 × 15 × 8 cm; Hình 1) đã được đặt trong lồng nuôi trưởng thành.

Hơn 15.000 nhộng của *B. dorsalis* được đặt trong một lồng nuôi trưởng thành, được giữ trong phòng thí nghiệm ở nhiệt độ $26 \pm 2^\circ\text{C}$ và ẩm độ 60 - 70% RH.



Hình 1. Lồng nhân nuôi ruồi đục quả Phương Đông (*Bactrocera dorsalis*)

(Nguồn ảnh: Nguyễn Thị Thanh Hiền và cộng tác viên, Viện Bảo vệ thực vật).

c) *Quản lý nhân nuôi B. dorsalis*

Tỷ lệ trứng nở được kiểm tra bằng cách sử dụng 300 trứng (100 trứng trên mỗi gạc) đặt trên 3 mảnh giấy đen ướt (đường kính của lỗ: 7 cm) trong đĩa petri (Hình 1). Đĩa petri được đậy bằng nắp và cho vào hộp nhựa (16 cm x 23 cm x 13 cm; Hình 1). Hộp nhựa được bảo quản trong phòng thí nghiệm ở 26 ± 2 C và 60 - 70% RH. Số lượng trứng nở được đếm dưới kính lúp soi nổi trong 48 giờ sau khi trứng đẻ.

d) *Vị trí lây nhiễm của trứng hoặc sâu non Bactrocera dorsalis vào quả vải tươi*

Trứng được cấy vào quả theo phương pháp Tam giác như sau:

Vỏ quả vải được cắt thành ô hình tam giác ở giữa quả, một phần thịt quả phía dưới được cắt đi để tạo lỗ thoát khí. Sau đó, cấy 10 trứng/sâu non lên bề mặt thịt quả, dùng parafilm đậy lên ô tam giác đó (Hình 2).



(A) Vị trí lây nhiễm trứng *B. dorsalis* vào quả vải tươi



(B) Vị trí lây nhiễm sâu non *B. dorsalis* vào quả vải tươi



(C) Quả vải tươi sau khi lây nhiễm được đậy parafilm

Hình 2. Lây nhiễm ruồi đục quả Phương Đông (*Bactrocera dorsalis*) vào quả vải tươi

2.2.2. *Phương pháp thí nghiệm*

a) *So sánh tính miễn cảm của các giai đoạn phát triển của B. dorsalis*

- Lựa chọn các giai đoạn phát triển của *B. dorsalis* đưa vào thí nghiệm: Trứng trưởng thành (18 - 25 giờ sau đẻ), sâu non tuổi 1 (25 - 52 ngày sau khi trứng đẻ), sâu non tuổi 2 (52 - 61 ngày sau khi trứng đẻ) và sâu non tuổi 3 (> 61 ngày sau khi trứng đẻ) của *B. dorsalis*.

- Số lượng quả vải tươi thí nghiệm: Sử dụng tổng số 420 quả (20 quả vải tươi/giai đoạn phát triển/túi để nhân nuôi).

- Đo nhiệt độ của quả vải tươi và buồng xử lý: Thiết bị được sử dụng để theo dõi là Testo 108. Nhiệt độ của 10 quả vải tươi được lấy ngẫu nhiên và buồng xử lý được đo trước và sau khi xông hơi.

- Chuẩn bị lây nhiễm *B. dorsalis* vào quả vải tươi: 10 trứng già được lây nhiễm nhân tạo vào một quả vải tươi, 20 quả vải tươi sử dụng lây nhiễm ruồi đục quả/1 lần nhắc lại, 60 quả vải tươi/công thức.

- Buồng xử lý: Buồng xử lý xông hơi (thể tích 1 m³). Có 4 ống đo nồng độ và 1 ống dẫn thuốc. Các quả đã được lây nhiễm *B. dorsalis* được đặt trong các hộp riêng biệt, sau đó được đặt vào giữa hộp carton có chứa các quả không lây nhiễm ruồi đục quả. Tổng trọng lượng quả không lây nhiễm ruồi đục quả/lần lặp lại là 75 kg (15 hộp catton), tương đương với 225 kg/công thức.

+ Kiểm tra độ kín khí của buồng xử lý: Sử dụng áp kế ống chữ U để kiểm tra độ kín khí của buồng xông hơi. Áp kế ống chữ U gồm một ống nhựa và một cái thước. Các vạch bên cạnh thước chỉ áp suất 200 Pa và 100 Pa.



Hình 3. Kiểm tra độ kín của buồng xử lý

+ Đo nồng độ khí: sử dụng thiết bị Riken Keiki FI 21 loại 03. Mỗi buồng xử lý có 4 ống đo nồng độ: 2 ống đo buồng xử lý và 2 ống đo hộp đựng quả vải tươi.

- Bố trí thí nghiệm: Quả vải tươi được xử lý xông hơi Methyl bromide ở 6 công thức (liều lượng lần lượt là 16, 24, 32, 40, 48 và 56 g/m³) và một đối chứng ở điều kiện nhiệt độ không khí thực tế trong quá trình thí nghiệm là từ 27 - 29°C. Mỗi công thức lặp lại 3 lần.

- Xác định tỷ lệ chết: Quả được bố sau xông hơi 43 ngày, nếu có cá thể ruồi đục quả nào còn hoạt động được tính là sống sót.

- Xử lý số liệu: Số liệu tỷ lệ chết đã được hiệu chỉnh theo công thức Abbott và phân tích bằng quy trình Probit và Logit bằng cách sử dụng Polo Plus phiên bản 2.0 để đánh giá mức độ chống chịu với methyl bromide.

b) Xác định hiệu quả xử lý xông hơi đối với trứng trưởng thành của *B. dorsalis* ở thí nghiệm quy mô nhỏ

Xác định liều lượng xông hơi bằng methyl bromide hiệu quả nhất có thể tiêu diệt 100% *B. Dorsalis* theo phương pháp của Rahim và cộng tác viên (2005).

- Giai đoạn phát triển của *B.dorsalis* đưa vào thí nghiệm: Trứng trưởng thành của *B.dorsalis* được sử dụng trong thí nghiệm dựa trên kết quả thu được từ thí nghiệm so sánh tính miễn cảm (là giai đoạn chống chịu nhất).

- Số lượng quả vải tươi thí nghiệm: Sử dụng 1.440 quả vải tươi (360 quả vải tươi/công thức 120 quả vải tươi/lần lặp lại). Đối chứng gồm 360 quả vải tươi.

- Đo nhiệt độ của quả vải tươi và buồng xông hơi: Sử dụng thiết bị Testo 108 để đo nhiệt độ của 10 quả vải tươi ngẫu nhiên và buồng xông hơi tại thời điểm trước và sau khi xông hơi.

- Chuẩn bị lây nhiễm *B. dorsalis* vào quả vải tươi: Mười (10) trứng trưởng thành được lây nhiễm nhân tạo vào một quả vải tươi, 120 quả vải tươi sử dụng thí nghiệm/1 lần nhắc lại, tổng số 1.200 trứng trưởng thành của *B. dorsalis* được sử dụng lây nhiễm vào quả/mỗi lần nhắc lại.

- Buồng xông hơi Methyl bromide: Thể tích 1 m³ (Hình 4). Quả vải tươi đã lây nhiễm ruồi đục quả được đặt trong các hộp riêng biệt, sau đó được đặt ở giữa buồng xông hơi. Tổng khối lượng quả vải tươi của mỗi lần lặp lại là 75 kg (15 hộp carton), tương đương với 225 kg mỗi công thức (chiếm 40% thể tích buồng).

- Bố trí thí nghiệm: Quả vải tươi được xông hơi bằng methyl bromide ở 3 công thức (liều lượng 24 g/m³/2 h, 32 g/m³/2 h và 40 g/m³/2 h) ở nhiệt độ 27 - 28°C. Mỗi công thức nhắc lại 3 lần (Rahim *et al.*, 2005). Lây nhiễm *B. dorsalis* vào quả vải tươi ở công thức đối chứng tiến hành tương tự như ở công thức thí nghiệm.

- Xác định tỷ lệ chết: 3 ngày sau khi xông hơi Methyl bromide để kiểm tra khả năng sống sót của *B. dorsalis*.

- Xử lý số liệu: Hiệu chỉnh kết quả bằng công thức Abbott.



Hình 4. Buồng xử lý xông hơi Methyl bromide ở quy mô nhỏ

c) Thí nghiệm quy mô lớn

Thí nghiệm được tiến hành trong buồng xông hơi lớn (thể tích 7,75 m³).

- Giai đoạn phát triển của *B.dorsalis* đưa vào thí nghiệm: Trứng trưởng thành của *B. dorsalis* được sử dụng để thí nghiệm.

- Số lượng quả vải tươi lây nhiễm ruồi đục quả *B. dorsalis* (1.400 quả vải tươi đã lây nhiễm *B. dorsalis*/lần nhắc lại) với 3 lần lặp lại và 01 đối chứng không xử lý.

- Chuẩn bị lây nhiễm *B. dorsalis* vào quả vải tươi:

Mười (10) trứng trưởng thành được lây nhiễm vào một quả vải tươi. 1.400 quả vải tươi thí nghiệm/1 lần nhắc lại với 3 lần nhắc lại.

- Buồng xông hơi Methyl bromide: Thể tích 7,75 m³ (kích thước 3 × 2,05 × 1,25 m) (Hình 5). Các quả vải tươi đã lây nhiễm *B. dorsalis* được đặt trong các hộp riêng biệt sau đó được đặt ở giữa buồng xử lý. Các hộp carton (kích thước 39 × 28,5 × 10,5 cm) xếp vào buồng xử lý. Khối lượng hộp có quả vải tươi là 5 kg/hộp. Tổng khối lượng quả đã lây nhiễm *B. dorsalis* là 1.200 kg/lần lặp lại (240 thùng carton, chiếm 70% thể tích buồng).



Hình 5. Buồng xử lý xông hơi Methyl bromide ở quy mô lớn

- Bảo quản vải quả tươi đã xử lý và chưa xử lý: Quả vải tươi bảo quản trong túi polypropylene và giữ ở nhiệt độ 22 - 25°C.
- Xác định tỷ lệ chết: Kiểm tra tỷ lệ sống sót sau khi xử lý 3 ngày (Hình 6).



Hình 6. Kiểm tra kết quả thí nghiệm sau xử lý 3 ngày

- Xử lý số liệu: Hiệu chỉnh kết quả theo công thức Abbott. Số liệu thí nghiệm được xử lý bằng phần mềm Excel và phân tích thống kê bằng chương trình SPSS 13.0 for Windows.

2.3. Thời gian và địa điểm nghiên cứu

- Thời gian nghiên cứu: Từ tháng 5/2018 - 7/2020.
- Địa điểm nghiên cứu: Trung tâm Kiểm dịch thực vật Sau nhập khẩu I (Cục Bảo vệ thực vật), Viện Cơ Điện Nông nghiệp và Công nghệ sau thu hoạch.
- Địa điểm nhân nuôi ruồi đục quả *Bactrocera dorsalis*: Viện Bảo vệ thực vật.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

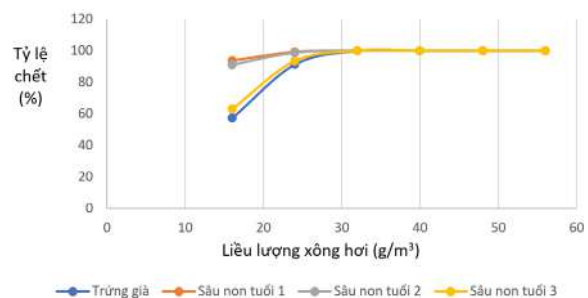
3.1. So sánh tính miễn cảm của các giai đoạn phát triển của *Bactrocera dorsalis*

So sánh tỷ lệ chết giữa 4 giai đoạn phát triển của trứng và sâu non được trình bày trong bảng 1.

Ở liều 16 g/m³, giai đoạn trứng trưởng thành là giai đoạn chống chịu nhất với tỷ lệ chết là 57,2% và tỷ lệ chết của sâu non tuổi 3, 2 và 1 lần lượt là 62,9%, 91,0% và 93,6%. Ở liều 24 g/m³, tỷ lệ chết ở giai đoạn trứng trưởng thành là 91,2% và tỷ lệ chết của sâu non tuổi 3, 2 và 1 lần lượt là 93,4%, 98,7% và 99,1%. Ở các liều từ 32 g/m³ 56 g/m³, không còn cá thể nào sống sót ở tất cả các pha trong thí nghiệm. (Hình 7).

Bảng 1. Tỷ lệ chết của các giai đoạn phát triển của *B. dorsalis*

Liều lượng (g/m ³)	Tỷ lệ chết (%)			
	Trứng trưởng thành	Sâu non tuổi 1	Sâu non tuổi 2	Sâu non tuổi 3
56	100,0	100,0	100,0	100,0
48	100,0	100,0	100,0	100,0
40	100,0	100,0	100,0	100,0
32	100,0	100,0	100,0	100,0
24	91,2	99,1	99,0	93,4
16	57,2	93,6	92,8	92,9



Hình 7. Tỷ lệ chết của *B. dorsalis* sau xông hơi methyl bromide

Kết quả phân tích Probit và logit cũng cho thấy giai đoạn trứng trưởng thành có khả năng chống chịu cao nhất với methyl bromide so với sâu non tuổi 1, 2 và 3. LDP9 của trứng trưởng thành và sâu non tuổi 1, 2 và 3 lần lượt là 51.102, 45.248, 46.646 và 49.750 (Bảng 2).

Bảng 2. Kết quả phân tích probit trong thí nghiệm xông hơi methyl bromide

Giai đoạn phát triển	Thời gian gây chết ước tính (phút)							
	LD50	95%	LD95	95%	LD99	95%	LDP9	95%
Trứng trưởng thành	15,306	(13,945-16,380)	25,127	(23,379-27,807)	30,857	(27,871-35,977)	51,102	42,325-68,679
Sâu non tuổi 1	8,498	(5,738-10,328)	16,903	(15,639-18,090)	22,475	(20,595-26,253)	45,248	35,203-75,371
Sâu non tuổi 2	9,385	(7,223-10,896)	18,146	(17,127-19,319)	23,846	(21,921-27,367)	46,646	37,366-69,226
Sâu non tuổi 3	14,569	(13,371-15,518)	24,14	(22,678-26,274)	29,758	(27,184-33,934)	49,750	41,875-64,446

3.2. Hiệu quả xông hơi đối với trứng trưởng thành của *Bactrocera dorsalis* ở thí nghiệm quy mô nhỏ

Kết quả được thể hiện trong bảng 3. Nhiệt độ

quả vải tươi là tương đối đồng đều giữa các nghiệm thức. Nhiệt độ của quả trước và sau xử lý lần lượt dao động từ 23,4 - 24°C và 24,5 - 25,4°C.

Bảng 3. Nhiệt độ của quả vải tươi

Liều lượng (g/m ³)		Nhiệt độ (°C)									
		24	TXL	23,7	23,7	23,7	23,7	23,8	23,6	23,9	23,7
	SXL	24,8	25,0	25,1	25,0	25,0	24,9	25,1	25,1	24,8	25,3
32	TXL	23,6	23,7	23,6	23,5	23,8	23,8	23,9	23,7	23,5	23,8
	SXL	24,9	24,9	24,9	24,8	25,2	24,9	25,3	25,1	24,5	25,2
40	TXL	23,7	23,6	23,9	23,6	23,4	23,7	23,8	23,6	24,0	23,7
	SXL	25,0	25,0	25,4	24,8	24,7	24,8	25,1	25,0	25,5	24,9
Đối chứng	TXL	23,5	23,5	24,0	23,8	23,9	23,9	23,6	23,7	23,9	23,7
	SXL	24,8	24,6	25,4	25,0	25,1	25,2	24,9	25,0	25,1	25,1

Ghi chú: TXL: Trước xử lý; SXL: Sau xử lý.

Bảng 4. Kết quả thí nghiệm xông hơi methyl bromide quy mô nhỏ trừ *Bactrocera dorsalis*

Liều lượng (g/m ³)	Số lượng sống sót	Tổng số	Tỷ lệ sống sót (%)	Tỷ lệ chết (%)	Tỷ lệ chết đã hiệu chỉnh (%)
Đối chứng	966	2898	80,50	19,50	0,00
	957				
	975				
24	3	3	0,08	99,92	99,90
	0				
	0				
32	0	0	0,00	100,00	100,00
	0				
	0				
40	0	0	0,00	100,00	100,00
	0				
	0				

Kết quả cho thấy một số trứng trưởng thành của *B. dorsalis* còn sống sót ở liều lượng 24 g/m³/2 h nhưng không tìm thấy cá thể sống sót ở liều 32 và 40 g/m³ (Bảng 4). Như vậy, liều lượng hiệu quả nhất là 32 g/m³/2 h và 40 g/m³/2 h để kiểm soát *B. dorsalis* trên quả vải xuất khẩu.

3.3. Hiệu quả xông hơi trừ *B. dorsalis* ở thí nghiệm quy mô lớn

3.3.1. Kết quả đo nhiệt độ quả vải tươi

Nhiệt độ của quả vải tươi được đo trước và sau khi xông hơi. Kết quả được trình bày trong bảng 6. Số liệu trong bảng cho thấy nhiệt độ quả tương đối đồng đều giữa các công thức.

Kết quả cho thấy tất cả 42.000 trứng trưởng thành của *B. dorsalis* trong 3 lần nhắc lại đều bị giết chết hoàn toàn. Trứng trưởng thành của *B. dorsalis* không còn sống sót sau xông hơi 3 ngày ở liều 32 g/m³/2 h. Kết quả ở công thức đối chứng cho thấy tỷ lệ sống là 81,91% (Bảng 5).

Bảng 5. Nhiệt độ trong quả vải tươi ở thí nghiệm quy mô lớn

Ngày xử lý	Liều lượng xông hơi Methyl bromide (g/m ³)	Thời điểm đo	Số lượng trung bình quả vải tươi thí nghiệm (\pm SD)
25/7/2018	32 (Chamber)	Trước khi xử lý	24,5 \pm 0,262
		Sau khi xử lý	25,6 \pm 0,057
26/7/2018	32 (Chamber)	Trước khi xử lý	26,0 \pm 0,140
		Sau khi xử lý	27,1 \pm 0,325
27/7/2018	32 (Chamber)	Trước khi xử lý	24,7 \pm 0,158
		Sau khi xử lý	25,8 \pm 0,095
25/7/2018	Đối chứng	Trước khi xử lý	24,5 \pm 0,25
		Sau khi xử lý	25,6 \pm 0,067
26/7/2018	Đối chứng	Trước khi xử lý	24,6 \pm 0,221
		Sau khi xử lý	25,6 \pm 0,184
27/7/2018	Đối chứng	Trước khi xử lý	24,7 \pm 0,158
		Sau khi xử lý	25,8 \pm 0,108

Bảng 6. Hiệu quả xông hơi trừ *B. dorsalis* ở thí nghiệm quy mô lớn

Ngày thí nghiệm	Liều lượng (g/m ³)	Số lượng sống sót	Tổng số	Tỷ lệ sống (%)	Tỷ lệ chết (%)	Tỷ lệ chết đã hiệu chỉnh (%)
25/7/2018	Đối chứng	11.477	34.401	81,91	18,09	0
26/7/2018		11.772				
27/7/2018		11.152				
25/7/2018	32	0	0	0	100	100
26/7/2018		0				
27/7/2018		0				

IV. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

4.1. Kết luận

- Pha trứng trưởng thành của *B. dorsalis* có sức chống chịu cao hơn so với pha sâu non.

- Xông hơi quả vải tươi bằng methyl bromide ở liều 32 g/m³/2 h hoàn toàn đáp ứng yêu cầu xử lý kiểm dịch thực vật trừ ruồi đục quả phương đông (*B.dorsalis*) của cơ quan Kiểm dịch thực vật Nhật Bản.

4.2. Đề nghị

Sử dụng kết quả nghiên cứu này để xây dựng tiêu chuẩn cơ sở hoặc tiêu chuẩn quốc gia về biện pháp xử lý kiểm dịch thực vật quả vải tươi xuất khẩu sang Nhật Bản bằng xông hơi methyl bromide trừ ruồi đục quả phương đông (*B.dorsalis*).

LỜI CẢM ƠN

Nhóm tác giả xin gửi lời cảm ơn chân thành đến các chuyên gia thuộc Cơ quan Kiểm dịch thực vật, Cục An toàn thực phẩm và Người tiêu dùng, Bộ Nông Lâm Ngư nghiệp Nhật Bản (MAFF) đã hỗ trợ hướng dẫn kỹ thuật cho các thí nghiệm được mô tả trong bài báo này và phê duyệt báo cáo để cho phép quả vải thiều của Việt Nam xuất khẩu vào Nhật Bản.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Bộ Công thương, 2011. *Hiệp định đối tác kinh tế toàn diện ASEAN - Nhật Bản (AJCEP) và Hiệp định Đối tác Kinh tế Việt Nam - Nhật Bản (VJEP)*. Nhà xuất bản Công thương, Hà Nội, 2011, 618 trang.

TTXVN/Vietnam+, 2021. Giá trị xuất khẩu rau quả cả năm 2020 đạt 3,26 tỷ USD, giảm 13%. Địa chỉ: <https://www.vietnamplus.vn/gia-tri-xuat-khau-rau->

qua-ca-nam-2020-dat-326-ty-usd-giam-13/689033.vnp; truy cập ngày 11/01/2021.

FAO/IAEA/USDA, 2014. *Product Quality Control for Sterile Mass-Reared and released Tephritid Fruit Flies, Version 6.0*. International Atomic Energy Agency, Vienna, Austria, 164 pages.

New South Wales Agriculture, 2015. Establishing Mother colony for Mass Rearing Queensland Fruit Fly for Sterile Insect Release.

Rahim M., Z. Sulaiman and M.E. Faridah, 2005. The effectiveness of Methyl bromide fumigation as quarantine treatment against oriental fruit fly and melon fly in carambola, *J. Trop. Agric. and Fd. Sc.* 33(1) (2005): 155-162.

Suksom Chinvinijkul, Pinkaew, Supaap & Orankanok, Watchreeporn, 2010. Influence of prerelease diet to *Bactrocera dorsalis* (Hendel) and *Bactrocera correcta* (Bezzi) sterile males on mating pairs. 8th International Symposium on Fruit flies of economic importance. Valencia (Spain) 26th September to 1st October 2010. Cristial Vidal Quist and María Juan Blasco.

Walker G.P., E.Tora Vueti, E.L.Hamacek and A.L.Allwood, 1996. Laboratory rearing techniques for Tephritid fruit flies in the South Pacific. In: *Management of Fruit flies in the Pacific -ACIAR proceedings*, No. 76, 1996, page 14 5-152.

Study on quarantine of oriental fruit fly (*Bactrocera dorsalis*) on fresh lychee fruit by methyl bromide fumigation

Le Nhat Thanh, Hoang Kim Thoa, Ha Thanh Huong, Nguyen Viet Hai, Ho Thi Xuan Huong, Nguyen Thi Thanh Hien, Le Son Ha, Nguyen Manh Hieu, Nguen Quang Hieu, Nguyen Thi Thu Huong

Abstract

The results of susceptibility tests showed that *B. dorsalis* mature eggs were more resistant than larvae and the results of mortality confirmation tests confirmed that all of 42000 *B. dorsalis* mature eggs were completely killed by Methyl bromide fumigation treatment at dose 32 g/m³ for two hours. In the large-scale mortality test, infested fruits were treated at the dose of 32 g/m³ in carton boxes (size 39 × 28.5 × 10.5 cm) and box weight of 5 kg; all boxes occupying no more than 70% of the chamber volume; the processing chamber temperature was maintained at 27 - 30°C during the treating time.

Keywords: Fresh lychee fruits, oriental fruit fly (*Bactrocera dorsalis*), methyl bromide fumigation, quarantine

Ngày nhận bài: 11/01/2021

Ngày phản biện: 19/01/2021

Người phản biện: TS. Dương Minh Tú

Ngày duyệt đăng: 29/01/2021

TỐI ƯU HÓA MỘT SỐ THÀNH PHẦN DINH DƯỠNG TRONG MÔI TRƯỜNG LÊN MEN CHÌM NHÂN SINH KHỐI CHỦNG *Azotobacter chroococcum*

Nguyễn Thu Hà¹, Đào Văn Thông²

TÓM TẮT

Azotobacter chroococcum là vi khuẩn có khả năng cố định nitơ được sử dụng trong sản xuất phân bón vi sinh vật. Nhằm tối ưu một số thành phần môi trường nuôi cấy *Azotobacter chroococcum* VACC 86, công trình nghiên cứu đã ứng dụng phương pháp qui hoạch thực nghiệm các biến ảnh hưởng theo phương pháp hàm mong đợi và sử dụng công cụ hỗ trợ tối ưu là phần mềm Design Expert Version 12.0.3.0. Kết quả đã xác định được hàm lượng dinh dưỡng tối ưu là glucose 11,9991 g/l, K₂HPO₄ 0,978683 g/l và MgSO₄ 0,328847 g/l. Kết quả áp dụng mô hình tối ưu cho thấy vi khuẩn *Azotobacter chroococcum* VACC 86 được lên men nhân sinh khối trên môi trường sản xuất tối ưu đáp ứng yêu cầu về mật độ vi khuẩn và hoạt tính sinh học.

Từ khóa: *Azotobacter chroococcum*, hàm lượng dinh dưỡng tối ưu, lên men chìm nhân sinh khối, phương pháp qui hoạch thực nghiệm

¹ Viện Thổ nhưỡng Nông hóa; ² Viện Môi trường Nông nghiệp